

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES  
DE BAMAKO (USTTB)



Faculté de Médecine et  
d'Odontostomatologie



ANNEE UNIVERSITAIRE 2017-2018

N°.....

## THESE

Etudes clinique, paraclinique et génétique des dystrophinopathies  
dans le Service de Neurologie du CHU du Point G

Présentée et soutenue publiquement le 04/07 /2018 Devant la Faculté de  
Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)

Par

**M. MAIGA Alassane Dit Baneye**

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

**(Diplôme d'Etat)**

JURY

Président : Pr. Mahamadou TRAORE

Membre : Dr. Salimata DIALLO

Directeur : Pr Cheick Oumar GUINTO

Co-Directeur : Dr Guida LANDOURE

## *Dédicace*

Je dédie ce travail à ma mère, **Zeinab Jiba Maiga**, et à mon père **Abdoul Karim Baneye Maiga**, protecteurs de mes rêves et de mes aspirations, pour qui rien n'est hors de notre portée pour peu qu'on veuille fournir le minimum d'effort.

Parents combattifs, aimants et aimables, votre courage, votre amour et votre dévouement, qui n'ont d'égal que votre sens profond de la famille, ont marqué mon existence. Trouvez dans ce travail un brin de tout mon attachement et de toute ma reconnaissance pour vous. Puisse Allah vous bénir de sa grâce infinie et vous garder le plus longtemps possible à nos côtés, Ameen.

## *Remerciement*

A **ALLAH Azza Wazal** : Le Tout Miséricordieux, Le Très Miséricordieux, Celui par Qui tout est possible et Qui embrasse toute chose de Sa science.

Au Sceau des Prophètes, **Muhammad** (Prières et Salut sur Lui, Sa famille, Ses compagnons et tous ceux qui L'auront suivi jusqu'au jour du jugement dernier).

A ma grande mère **Zaliatou Touré** : merci de m'avoir inculqué quelques bribes de cette valeur hautement humaine qu'est l'altruisme, ce travail est aussi le tien, qu'Allah t'accorde longue vie.

A mes frères et sœurs **Mohamed Maiga, Aïssata Maiga, Hadeye Maiga, Aminata Maiga, Djibrila Maiga, Ibrahim Maiga, Rahmatou Maiga** : il paraît qu'on ne choisit pas sa famille mais moi je vous aurais choisis quand même, merci d'avoir été patients avec moi même quand ce n'était pas évident par moment, qu'Allah resserre les liens du sang.

Aux familles **Touré, Sylla, Maiga, Cissé, Wangara, Konaté, Diakhaby** : grâce à vous je sais ce que ça fait de s'ouvrir aux autres, merci pour votre affection inconditionnelle et votre soutien indéfectible, qu'Allah préserve ces liens qui nous unissent.

Aux **Dr. Touré Youssouf B et Dr. Sylla Djigui** : d'un certain 08 Février 2008 à maintenant, on en a parcouru du chemin et on y est arrivé par la grâce d'Allah. Merci d'avoir été mes compagnons d'infortune tout au long de ce périple et bonne carrière à vous.

Au **Dr. Maiga Mahamadou Almahamoudou** : mon frère et très estimé « *Co-esprit Alpha* », avec toi, j'ai appris que le savoir était en perpétuel mouvement et qu'on se devait de suivre ce mouvement quitte à briser les conventions, merci de m'avoir fait découvrir ce monde où la logique semble arriver à bout de tout, bonne carrière à toi.

Au **Dr. Mohamed Emile Dembélé**, étonnant personnage et très respecté compagnon, des bancs de la faculté de médecine au service de Neurologie en passant par les groupes virtuels de discussion médicale, je peine toujours à trouver un terme pour te qualifier et une façon de te montrer toute ma reconnaissance. Qu'Allah te bénisse toi, toute ton ascendance et toute ta descendance, qu'Il te rende au centuple tout ce que tu as fait pour moi.

A ma tendre moitié **Mme Maiga Djena Gassama** : merci Habibi, d'avoir dit OUI quand il aurait été plus facile pour toi de dire NON, d'avoir cru en nous même quand on rencontrait des vents contraires et de m'avoir ouvert les yeux sur toutes mes options. Qu'Allah te récompense de la meilleure des manières et renforce notre union.

A toute la famille **Gassama** : merci pour la confiance, le soutien et l'accompagnement, j'espère pouvoir m'en montrer digne.

### **Au personnel du Service de Neurologie du CHU du Point G**

**-Pr. Cheick Oumar Guinto** : notre illustre maître, plus que des leçons de neurologie et de médecine, ce sont des leçons de la vie que vous nous avez prodiguées. Merci pour votre façon exceptionnelle de transmettre le savoir, qu'Allah vous accorde une très longue carrière et une plus longue vie.

**-Dr. Landouré Guida** : votre modestie, votre sagesse, votre sens élevé du devoir, votre ouverture d'esprit et votre spiritualité font de vous un mentor exceptionnel. Votre contact est de ceux qui bouleversent une vie. Je ne saurais jamais vous exprimer toute ma gratitude pour m'avoir embarqué avec vous dans cette aventure extraordinaire qu'est la recherche et j'espère un jour pouvoir me montrer digne de cette confiance portée à ma modeste personne. Qu'Allah vous récompense et vous garde longtemps parmi nous afin que nous puissions profiter de votre lumière.

**-Aux docteurs et thésards du Service de Neurologie du CHU du Point G : Dr. Karambé Mamadou, Dr. Sissoko Adama, Dr. Coulibaly Thomas, Dr. Cissé Lassana, Dr. Coulibaly Toumany, Dr. Bagayoko Hamidou, Dr. Dicko Ousmane, Dr. Sacko Mahamadou, Alex Joël, Toussaint, César Donald, Samir Hassana, Mohmath Josias, Cissé Aba, Dagnon Fatoumata, Traoré Oumou, Cissé Cheick Abdel Kader, Sididé Cheick Oumar, Mody Dramé** merci de m'avoir accueilli à bras ouvert dans la grande famille de la Neurologie et d'avoir fait de mon séjour l'un des plus marquants, ce travail est tout aussi le vôtre.

A toute l'équipe de Neurogénétique : **Pr Guinto Cheick Oumar, Pr Mahamadou Traore, Pr Souleymane Coulibaly, Dr Sango Hammadoun A, Dr Guida Landouré, Dr Samassékou Oumar, Dr Seybou H Diallo, Dr Coulibaly Thomas, Dr Coulibaly Souleymane dit Papa, Dr Diallo Salimata, Dr Cissé Lassana, Dr Diarra Salimata, Dr. Taméga Abdoulaye, Dr. Yalcouyé Abdoulaye, Dr. Bocoum Abdoulaye, Dr. Dembélé Mohamed Emile, Oumou Traoré, Cheick Abdel Kader Cissé, Adama Témé, Cheick Oumar, Allaye Abary Bocoum, Kadidiatou Diallo Issouf Ballo**: avec vous, j'ai saisi tout le sens du travail en équipe. Merci pour votre soutien. Notre collaboration a été riche d'enseignements et d'expériences.

A tout le personnel du Service de Neurologie du CHU du Point G : **infirmiers, aides-soignants et techniciens de surface**, merci d'avoir fait de cet environnement de travail commun une famille où l'on se sent comme chez soi.

A tout le personnel du Centre de Santé de Référence de Kita : merci de m'avoir inculqué mes premiers réflexes de médecin et de m'avoir aidé à affronter ma peur de rentrer au bloc opératoire, ce travail est l'aboutissement de tous vos efforts.

A l'ensemble de l'association des ressortissants du Nord- Mali «**GAAKASSINEY**», merci d'avoir instauré un climat familial pour nous à la faculté de médecine.

A l'Association des Etudiants en Médecine ressortissants de Kita

A toute la Septième Promotion du Numerus Clausus en Médecine « **Pr. Aliou Bah** ».

A toutes les équipes de **FMPOS Students, Espace Médical et MEDICA : Dr. Mohamed Emile Dembélé, Dr. Wash, Dr. Beli**, merci pour ces échanges très fructueux sur la médecine en particulier et les sciences en général.

A tous mes illustres maîtres de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie : merci pour l'enseignement et le savoir prodigué, je tacherai de vous honorer en m'en rendant digne.

A tous mes camarades, aînés et cadets des facultés de Médecine et d'Odontostomatologie et de Pharmacie : Merci d'avoir rendu cette aventure plus agréable, bonne continuation à tous.

**A tous les membres de la Société Malienne de Génétique Humaine.**

**A tous les membres de la Société Africaine de Génétique Humaine.**

**A tous les membres de la Société Malienne de Neurosciences.**

**A nos partenaires de la National Institute of Health NIH/NINDS.**

**A tous les membres du Consortium H3Africa.**

**A tous les membres de H3Africa Fellows's Club.**

**A tout le personnel de la FMOS/FAPH.**

**A tout le personnel du Service Center Mali.**

**A tous mes enseignants depuis le primaire.**

**A tout le personnel du CHU du Point G.**

**A tous les habitants du quartier du Point G**

Aux **patients** sans qui nous ne serions pas là aujourd'hui ainsi qu'à leurs familles.

A tous ceux dont j'ai croisé la route pendant mon cycle, petits et grands. C'est votre contact qui m'a façonné et me façonne encore.

A ceux qui luttent tous les jours contre la maladie. La guérison est rarement celle que l'on attend.

**A tous ceux dont les noms n'ont pas été cités mais qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.**

## *Hommage aux membres du Jury*

**A notre Maitre et Président du jury :**

**Pr. TRAORE Mahamadou**

- Directeur de recherche à l'INRSP ;
- Professeur de génétique à l'USTTB ;
- Co-investigateur de l'étude sur les pathologies neurologiques héréditaires au Mali ;
- Président de la Société Malienne de Génétique Humaine ;
- Membre du consortium Human Hereditary and Health in Africa (H3Africa);
- Membre de la Société Africaine de Génétique Humaine ;
- Membre de la Société Malienne de Neurosciences.

*Cher Maitre, à votre contact, nous avons été frappés par votre grand sens de l'humanisme et de la droiture. Vos qualités scientifiques de chercheur chevronné couplées à votre grandeur d'âme ainsi qu'à vos qualités de pédagogue vous place sans aucun doute, pour nous, au rang de maître de référence.*

*Merci d'avoir accepté d'apporter votre lumière à ce travail et trouvez ici, cher maître, l'expression de notre profond respect. Qu'ALLAH vous accorde longue vie et une bonne santé.*

**A notre Maître et Juge**

**Dr. DIALLO Salimata**

- Spécialiste en Neurologie
- Praticien Hospitalier au CHU Gabriel Touré
- Membre des Sociétés Malienne de Neurologie et de Neurosciences
- Membre de la Société Malienne de Génétique Humaine
- Membre du Consortium H3Africa

*Cher Maître, merci de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail en acceptant juger ce travail et d'apporter un regard nouvel. Au-delà de vos qualités scientifiques de clinicienne aguerrie dont je peux témoigner, cela relève de votre abord facile et de votre profond désir à faire bouger les lignes de la science et de la recherche au Mali. Veuillez recevoir ici, cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.*



**A notre Maitre et Co-directeur de Thèse**

**Docteur LANDOURE Guida**

- Spécialiste en Neuro génétique (MD, PhD);
- Praticien hospitalier au CHU du Point G;
- Maitre-assistant à la FMOS ;
- Investigateur principal de l'étude sur les pathologies neurologiques Héréditaires au Mali;
- Secrétaire général de la Société Malienne de Génétique Humaine;
- Membre de la Société Malienne de Neurosciences;
- Membre de la Société Africaine de Génétique Humaine;
- Membre de la Société Américaine de Génétique Humaine;
- Membre du consortium Human Hereditary and Health in Africa (H3Africa).

*Cher Maître, très distingué Mentor, l'attachement et la sympathie sans faille que vous nous témoignez depuis le début de cette aventure en disent long sur votre humilité, votre générosité et vos hautes qualités humaines, morales et spirituelles. Votre passion, votre dynamisme, votre dévouement pour la science sous toutes ses formes mais plus particulièrement pour la recherche n'ont de cesse de nous surprendre et de nous émerveiller. Nous nous sentons extrêmement chanceux de vous avoir eu comme mentor pour nous ouvrir la voie vers la recherche dans la génétique à travers le prisme de votre foi en une science universelle accessible à tous.*

*Cher maître, veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.*

**A notre Maitre et Directeur de Thèse**

**Professeur GUINTO Cheick Oumar**

- Maitre de Conférences à la FMOS ;
- Responsable de l'enseignement de la neurologie à la FMOS ;
- Praticien hospitalier au CHU du Point G ;
- Coordinateur du DES de Neurologie ;
- Chef de Service de Neurologie au CHU du Point G ;
- Président de la Société de Neurologie du Mali ;
- Membre de la Société Malienne de Neurosciences ;
- Membre du Consortium Human Heredity and Health in Africa;

*Cher Maitre, l'hommage dû à votre rang ne peut être contenu en ces quelques lignes tant nous avons été séduit par votre ouverture d'esprit, votre rigueur scientifique, votre humanisme, votre intégrité morale, vos qualités d'enseignant hors pairs et votre dévouement pour les sciences médicales et plus particulièrement pour la neurologie. Mille Merci de nous avoir honoré de votre enseignement car plus qu'un maître vous avez fait figure de père pour nous. Merci pour la confiance et l'honneur que vous nous avez fait en nous acceptant dans votre Service et dans l'équipe de Neurogénétique.*

*Soyez rassuré, cher maître de notre entière disponibilité et de notre profonde gratitude.*

## *Liste des abréviations*

<b>AAV :</b>	Adeno Associated Virus
<b>AD :</b>	Autosomique Dominante
<b>AR :</b>	Autosomique Récessive
<b>ADNc :</b>	Acide DésoxyriboNucléique complémentaire
<b>ADP :</b>	Adénosine DiPhosphate
<b>ARNm :</b>	Acide RiboNucléique messenger
<b>ATP :</b>	Adénosine TriPhosphate
<b>BMD :</b>	Dystrophies Musculaires de Becker
<b>Ca<sup>++</sup> :</b>	Ions calcium
<b>CAH :</b>	Hypoplasie Congénitale des surrénales
<b>CMT :</b>	Charcot Marie Tooth
<b>CPK :</b>	Créatine PhosphoKinase
<b>CPT :</b>	Capacité Pulmonaire Totale
<b>CRF :</b>	Capacité Résiduelle Fonctionnelle
<b>CV :</b>	Capacité Vitale
<b>CVF :</b>	Capacité Vitale Forcée
<b>Db :</b>	Dystrobrevine
<b>DGGE:</b>	Direct Gradient Gel Electrophoresis
<b>DMD :</b>	Dystrophies Musculaires de Duchenne
<b>DMOP:</b>	Dystrophie musculaire oculopharyngée
<b>DMED :</b>	Dystrophie Musculaire d'Emery-Dreifuss
<b>DO :</b>	Densité Optique
<b>EDTA :</b>	Acide Ethylène Diamine Tétracétique.
<b>ECG:</b>	Electrocardiogramme
<b>EMG :</b>	Electromyographie
<b>FKRP:</b>	Fukutin-Related Protein
<b>FMOS :</b>	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

<b>FSH :</b>	Dystrophie musculaire Facio-Scapulo-Humérale
<b>GRMD:</b>	Golden Retriever Muscular Dystroph
<b>HLA:</b>	Human Leukocyte Antigen
<b>LDH:</b>	Lactate déshydrogénase
<b>LGMD:</b>	Limb-Girdle Muscular Dystrophy
<b>IEC:</b>	Inhibiteur de l'enzyme de conversion
<b>IRM :</b>	Imagerie par Résonance Magnétique
<b>Kb:</b>	kilobase
<b>kDa:</b>	kiloDalton
<b>MAPH:</b>	Multiplex amplification and Probe Hybridization
<b>MEB:</b>	Muscle-Eye-Brain
<b>Mdx:</b>	Muscular dystrophy X-linked
<b>MLPA :</b>	Multiplex Ligation dependent Probe Amplification
<b>NIH :</b>	National Institute of Health
<b>Nos :</b>	Nitric Oxyde synthase
<b>Pb :</b>	Paire de base
<b>PCR :</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PM:</b>	Promoteur Musculaire
<b>PP :</b>	Promoteur des cellules de Purkije
<b>PTT :</b>	Protein Truncation Test
<b>QI :</b>	Quotient Intellectuel
<b>RACH :</b>	Récepteur de l'Acétylcholine
<b>RT-PCR :</b>	Real Time-PCR
<b>ROT :</b>	Reflexes osteo-tendineux
<b>SH:</b>	Src Homology Domains
<b>SMA:</b>	Spinal Muscular Amyotrophy
<b>SSCP:</b>	Single Strand Conformation Polymorphism
<b>SYN:</b>	Syntrophine
<b>TBE:</b>	Tris Buffered EDTA
<b>TE:</b>	Tris EDTA

**XLDC:** X-Linked Dilated cardiomyopathie

**XR:** Récessive liée à X

## *Table des figures*

Figure 1 Coupe macroscopique du tissu musculaire (source AFM Téléthon).....	29
Figure 2 Coupe microscopique de la cellule musculaire .....	30
Figure 3 Coupe microscopique montrant les complexes glycoprotéiques de la cellule musculaire.....	31
Figure 4 Localisation du gène DMD sur le chromosome X .....	33
Figure 5 Schéma détaillé de la protéine Dystrophine, corrélé au gène DMD (situé en dessus). Pm : promoteur du gène .....	35
Figure 6 Exemple de mutation hors phase et en phase. ....	36
Figure 7 Corrélation théorique génotype-phénotype. Source : AFM Téléthon.....	39
Figure 8 Image illustrant le mode de transmission des dystrophinopathies .....	41
Figure 9 A : Attitude en hyperlordose. B : Marche sur la pointe des pieds et légère hypertrophie des mollets. C : présence d'une hypertrophie des mollets. (Source : C. Fernandez et al. 2010) .....	42
Figure 10 Ensemble de postures décrites par Gower .....	43
Figure 11 Expression membranaire normale (à gauche) VS anormale (à droite) de la Dystrophine par immunomarquage. ....	44
Figure 12 Principe de la thérapie génique : <i>Un mini-gène est encapsulé dans un vecteur et injecté dans l'organisme. Ce mini-gène s'intègre au génome et est transcrit puis traduit en une protéine plus courte. La traduction de ce mini-gène se fait en complément de la traduction du gène muté du patient.</i> .....	58
Figure 13 Schématisation de la thérapie par saut d'exon .....	61
Figure 14 Image de chromatogramme. ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 15 Répartition selon le type de pathologie neurologique héréditaire .....	75
Figure 16 Répartition selon le type de dystrophinopathie .....	75
Figure 17 Répartition selon l'âge de début des symptômes. ....	77
Figure 18 Répartition selon l'âge au moment du diagnostic .....	77
Figure 19 Répartition selon le groupe ethnique .....	78

Figure 20 Répartition selon l'origine géographique .....	78
Figure 21 Répartition selon le résultat du test génétique .....	80
Figure 22 Pédigrée de la famille 1. Notez que seuls les garçons sont atteints et on ne suspecte aucune transmission à partir des hommes. La flèche indique le patient index et l'asterix les sujets vus en consultation. ....	82
Figure 23 Pédigrée de la famille 2 : A noter que seuls les garçons sont atteints et l'individu IV.7 a eu deux garçons de mariages différents qui ont la maladie et en plus sa mère a perdu deux frères dans les mêmes conditions. ....	84
Figure 24 Pédigrée de la famille 3 : Nous notons ici aussi que trois individus de sexe masculin de la même fratrie sont affectés .....	86

*Liste des tableaux*

Tableau 1 Récapitulatif de quelques différentiels cliniques et génétiques de la DMD ..... 52

Tableau 2 Répartition selon caractère familial ou sporadique ..... 76

Tableau 3 Répartition selon le mode de transmission..... 76

Tableau 4 : Récapitulatifs de quelques signes cliniques retrouvés chez nos patients..... 79

Tableau 5 Résultats du bilan paraclinique ..... 79

## *Table des matières*

1	Introduction :.....	20
2	Objectifs :.....	23
2.1	Objectif général : .....	23
2.2	Objectifs spécifiques :.....	23
3	Généralités : .....	25
3.1	Définition :.....	25
3.2	Epidémiologie :.....	26
3.3	Rappels : .....	26
3.3.1	Rappels Historiques .....	26
3.3.2	Rappels anatomo-physiologiques du tissu musculaire :.....	28
3.3.3	Rappel physiopathologique :.....	32
3.3.4	Rappels génétiques :.....	32
3.4	Diagnostic:.....	40
3.4.1	Diagnostic positif :.....	40
3.4.2	Diagnostic différentiel :.....	50
3.5	Prise en charge, conseil génétique et perspectives thérapeutiques.....	53
3.5.1	Prise en charge symptomatologique et pluridisciplinaire :.....	53
3.6	Pronostic et complications :.....	64
4	Notre étude.....	66
4.1	Méthodologie :.....	66
4.1.1	Cadre et lieu d'étude :.....	66
4.1.2	Type et période d'étude :.....	67
4.1.3	Critères de l'étude.....	67
4.2	Procédure .....	67



4.2.1	Enrôlement.....	67
4.2.2	Les examens clinique et paraclinique.....	68
4.2.3	Génétique et biologie moléculaire.....	69
4.3	Variables .....	72
4.4	Recueil et analyse des données.....	72
4.5	Considération éthique .....	72
4.6	Les limites de l'étude :.....	72
5	Résultats: .....	74
5.1	Prévalence globale des dystrophinopathies :.....	75
5.2	Le type de dystrophinopathie : .....	75
5.3	Caractère familial ou sporadique :.....	76
5.4	La notion de consanguinité :.....	76
5.5	Le mode de transmission .....	76
5.6	Le sexe :.....	76
5.7	Age de début des symptômes : .....	77
5.8	Age au moment du diagnostic clinique .....	77
5.9	Le Groupe ethnique : .....	78
5.10	L'origine géographique .....	78
5.11	Le motif de consultation :.....	79
5.12	Les signes cliniques .....	79
5.13	Le bilan paraclinique .....	79
5.14	Le test génétique :.....	80
5.15	La prise en charge :.....	80
5.15.1	Médicale :.....	80
5.15.2	Orthopédique :.....	81

5.16	Evolution :.....	81
5.17	Les Observations : .....	82
5.17.1	Famille 1 :.....	82
5.17.2	Famille 2 :.....	83
5.17.3	Famille 3 :.....	86
6	Commentaire et discussion : .....	89
6.1	Epidémiologie :.....	90
6.2	Données sociodémographiques : .....	91
6.3	Données cliniques :.....	91
6.4	Données paracliniques :.....	93
6.5	Données génétiques : .....	93
6.6	Prise en charge :.....	94
6.7	Evolution :.....	94
7	Conclusion et perspectives.....	96
8	Recommandations :.....	99
	Références .....	101
	Annexes .....	114
	Fiche signalétique.....	120
	Serment d’hippocrate .....	124

# *Introduction*

### 1 Introduction :

Par le terme de dystrophie musculaire on définit un ensemble d'affections souvent à transmission héréditaire qui touche de manière primitive les muscles squelettiques, cardiaques et lisses. Avant l'ère de la biologie moléculaire, ces maladies ont été classées selon la présentation clinique et le mode de transmission.

Les dystrophinopathies, représentées essentiellement par la dystrophie musculaire de Duchenne de Boulogne (DMD) et de Becker (BMD), constituent la cause la plus fréquente des myopathies de l'enfant de sexe masculin (**Brooke, 1989**).

La DMD étant la plus grave et la plus fréquente de ces myopathies (1/3500 nouveau-nés masculins), elle entraîne un lourd handicap (**Darras BT et al. 2015**). A côté de cette forme très sévère, sont décrites la BMD (10 fois moindre que la DMD) qui est une forme à évolution plus tardive et plus lente, et d'autres formes de présentations cliniques plus atypiques (**Desguerre 2009**).

La DMD et la BMD qui sont les formes classiques se caractérisent par une dégénérescence lente des fibres musculaires (**Konagaya, Honda et al. 1995**). Le diagnostic est basé sur l'âge de début qui est généralement avant 3 ans chez les DMD et plus tardif chez les BMD (entre 5 et 15 ans). Les signes de début sont un déficit musculaire prédominant à la racine des membres entraînant des difficultés à courir ou à monter les escaliers, des chutes fréquentes et une hypertrophie des mollets (**Desguerre 2009**).

L'évolution de la maladie se traduit entre autre par une perte de la marche avant 13 ans chez les DMD et après 16 ans chez les BMD (**Desguerre 2009**) et le décès est avant 25 ans chez les DMD et après 30 ans chez les BMD (**Eagle 2007**). Ces deux affections se transmettent par le mode gonosomique récessif et sont consécutives à des mutations affectant le gène de la Dystrophine localisé en Xp21 codant pour une protéine impliquée dans l'ancrage des protéines du sarcolemme aux protéines cytosquelettiques (**Monaco 1986, Koenig 1987**). La différence phénotypique entre DMD et BMD serait due au site de délétion dans le gène *DMD*.

Si l'expression clinique des dystrophinopathies et leur profil évolutif sont souvent évocateurs, leur identification sur des bases moléculaires demeure indispensable pour un diagnostic précis et une meilleure prise en charge (conseil génétique, diagnostic prénatal).

Bien que des études purement cliniques aient été mentionnées au Mali, seuls deux cas génétiquement confirmés furent rapportés à ce jour (**K.G Meilleur et al, 2012**). D'où la nécessité de mener cette étude clinico-génétique sur un plus large échantillon afin à définir le spectre encore mal connu de cette pathologie au Mali en particulier, et dans la sous-région en général.

# *Objectifs*

## **2 Objectifs :**

### **2.1 Objectif général :**

- Etudier les dystrophinopathies dans le Service de Neurologie du CHU Point G

### **2.2 Objectifs spécifiques :**

- Décrire la symptomatologie clinique chez les patients présentant un phénotype de dystrophinopathies dans le service de Neurologie du CHU Point G ;
- Décrire les signes paracliniques de ces dystrophinopathies ;
- Décrire et caractériser les anomalies génétiques sous-jacentes ;

# *Généralités*



### 3 Généralités :

#### 3.1 Définition :

Les dystrophinopathies sont des maladies dégénératives héréditaires progressives de la fibre musculaire. Elles sont transmises de manière récessive et liées à une mutation anormale du gène DMD situé au niveau du chromosome Xp21. Ce gène code pour une protéine appelée Dystrophine qui est responsable du maintien de l'architecture cellulaire des muscles (**Konagaya et al. 1995**). Le spectre de ces atteintes comprend des dégénérescences musculaires progressives allant d'une forme asymptomatique à de formes plus graves. Les groupes les plus importants sont la dystrophie musculaire de Duchenne et Dystrophie musculaire de Becker (**Tuffery-Giraud et al. 2009**).

Bien que certaines formes soient compatibles avec la vie avec un pronostic relativement favorable, jusqu'à ce jour, aucun traitement ne s'est montré capable d'enrayer le cours inexorable des formes classiques (DMD et BMD). Seules des mesures palliatives dans le domaine de l'orthopédie et de la réanimation permettent de prolonger la vie au-delà de la 20<sup>ème</sup> année. Cependant, les recherches thérapeutiques pour cette pathologie progressent et impliquent l'utilisation des oligonucléotides ou le remplacement génique (**Goyenvalle, 2011**). A l'aube des années 1980, notre savoir sur la dystrophie musculaire de Duchenne (la forme classique la plus fréquente des dystrophinopathies) se limitait à une bonne connaissance de la symptomatologie clinique et à la notion d'une hérédité récessive liée au sexe: seuls les garçons sont atteints, les mères transmettrices sont asymptomatiques mais ont dans deux tiers des cas une élévation de la créatine kinase plasmatique. Malgré des recherches intensives, aucun mécanisme physiopathologique n'avait été démontré et aucun indice ne permettait de mettre en cause une protéine musculaire particulière. Dès leur apparition les techniques de génie génétique et de biologie moléculaire ont laissé entrevoir la possibilité d'une démarche entièrement nouvelle consistant à localiser sur le génome, puis à cloner et en fin de compte à identifier, les gènes inconnus qui, comme pour la DMD et la BMD, se manifestent par une pathologie génétique indiscutablement monofactorielle. Cette approche consistant à isoler d'abord un gène inconnu, puis à en déduire son contenu informationnel et la protéine qu'il spécifie, a reçu le nom mérité de « génétique inverse ».

Commencée en 1980, la quête du gène DMD a fini par conduire au but en 1986-1987 (**Monaco 1986, Koenig 1987**).

### 3.2 Epidémiologie :

Il demeure difficile d'évaluer avec précision l'incidence et la prévalence réelle des dystrophinopathies, les sources épidémiologiques étant rares ou même inexistantes pour certaines parties du monde. Néanmoins, une revue de la littérature scientifique, publiée fin Mars 2014, a été réalisée pour évaluer la prévalence des myopathies de Duchenne et de Becker dans le monde qui restent les plus fréquentes des dystrophinopathies à ce jour. Il en ressort une estimation de la prévalence pour la DMD de 4,78 pour 100 000 hommes et pour la BMD de 1,53 pour 100 000 hommes. Dans la population pédiatrique, la fréquence est pour la DMD de 12,57 pour 100 000 garçons et pour la BMD de 1,35 pour 100 000 garçons (**Jean. K. Mah et al, 2014**).

La prévalence globale actuelle est estimée à environ 1 garçon sur 3500 pour la DMD et de 1 garçon sur 18000 pour la BMD, les autres formes étant beaucoup plus rares.

Aux états unis, selon une étude publiée par **Rottimi et al en 2015**, la prévalence de la DMD pour les garçons âgés de de 5 à 9 ans était de 1,51/100000 garçons entre 2006 et 2010 et celle de la BMD était de 1,38/100000 garçons en 2010.

En Afrique du sud, on estimait la prévalence de la DMD à 1/100000 garçons et celle de la BMD à 1/755000 garçons (**Ballo. R et al, 1995**).

Au Mali, une étude pilote réalisée par Meilleur K.G en 2011 rapporte deux mutations de *Novo* impliquées dans la DMD sur quatre familles DMD enrôlées dans le protocole (**K.G. Meilleur et al, 2011**).

### 3.3 Rappels :

#### 3.3.1 Rappels Historiques :

Les premières descriptions de cas de myopathie de Duchenne (DMD) remontent à la première moitié du 19<sup>ème</sup> siècle (**Tyler 2003**). Giovanni Semmola aurait décrit le premier cas de myopathie de Duchenne en 1829 mais son article original ayant été perdu, c'est à Charles Bell qu'est attribuée la première description en 1830. Ces premières descriptions succinctes rapportent une fatigue progressive débutant dans la petite enfance et touchant

d'abord les membres inférieurs sans symptômes nerveux indiquant qu'il n'y a pas d'atteinte de la moelle épinière.

Il a fallu attendre Richard Partridge en 1847 pour obtenir un premier examen pathologique à l'occasion d'un séminaire à la Pathological Society of London. Il examina deux frères présentant les mêmes symptômes de faiblesse commençant par les bras et les jambes. Il releva que leurs sœurs n'étaient pas atteintes et fut le premier à examiner les muscles (à l'œil nu).

Cependant, la description qu'il fait de son patient est tellement brève qu'il est pratiquement impossible d'être sûr qu'il s'agit bien d'un cas de DMD.

C'est en 1851 que le premier examen clinique et pathologique non ambigu de DMD est décrit dans l'article d'Edward Meryon sous le nom de "progressive muscular weakness". Son premier patient était issu d'une famille de dix enfants dont les quatre garçons présentaient une faiblesse musculaire progressive. Meryon présenta dans son article la progression de la maladie chez le frère aîné. Le patient présenta des signes de faiblesse musculaire dès le plus jeune âge, perdit la marche à onze ans et décéda à 16 ans d'une insuffisance respiratoire. Meryon fut le premier à faire une autopsie sur un patient DMD et à examiner les fibres musculaires au microscope à une époque où la microscopie n'en était qu'à ses débuts. Il remarqua que les fibres musculaires étaient détruites et que des "globules d'huiles et de la matière granulaire" les remplaçaient. Meryon décrivit également le cas de ses frères et d'autres fratries dans de nombreux articles jusqu'en 1870. Cependant, tous les cas qu'il décrit comme une faiblesse musculaire progressive ne sont pas des DMD. En effet, il décrivit également le premier cas de myopathie de Becker (BMD) et des cas de myopathie des ceintures. Cette hétérogénéité de patients est une des raisons pour lesquelles Duchenne accusera plus tard Meryon de ne pas avoir décrit les premiers cas de myopathie de Duchenne mais simplement des cas d'atrophie musculaire progressive.

Duchenne examina son premier cas de DMD en 1858 et le décrivit en 1861 dans son livre sous le nom de Paraplégie hypertrophique de l'enfance de cause cérébrale puis Paralysie pseudo-hypertrophique musculaire. Malgré la ressemblance avec les cas décrits par Meryon, Duchenne insista sur le fait que la pathologie qu'il décrit est différente. Duchenne obtint la priorité de découverte de cette myopathie malgré les contestations de Meryon.

Grâce à l'emporte-pièce histologique qu'il fabriqua en 1865, Duchenne put réaliser des biopsies plus sûres et moins invasives qu'auparavant. Duchenne fut le premier à décrire les principales caractéristiques cliniques de la DMD :

- Faiblesse musculaire au début de la maladie, généralement dans les membres inférieurs
- Lordose et marche dandinante
- Hypertrophie des muscles (second stade)
- Aggravation progressive et généralisation de la maladie (troisième stade)
- Diminution ou absence de contractions musculaires aux stimuli électriques (stade avancé)
- Absence de fièvre, de troubles sensoriels, de problèmes de vessie et intestinaux durant la maladie.

R. Gower contribua également significativement à établir les bases cliniques de la myopathie de Duchenne. En 1874, il examina ses premiers patients. Il s'intéressa à la transmission de la maladie et remarqua la présence d'antécédents familiaux uniquement du côté maternel.

Il émit alors l'hypothèse que la maladie était transmise par l'ovule. Cependant, ce que l'on retiendra de lui est la description de la méthode particulière qu'utilisent les patients pour se relever du sol, connue aujourd'hui sous le nom de signes de Gowers.

### **3.3.2 Rappels anatomo-physiologiques du tissu musculaire :**

Les formes classiques de dystrophinopathies (DMD et BMD) sont des pathologies touchant de façon primitive et progressive le muscle squelettique, cardiaque et lisse entraînant ainsi une symptomatologie diverse et variée qui rend nécessaire la connaissance du muscle dans sa structure et son fonctionnement.

Etant responsables du maintien de notre posture, de la respiration et de nos mouvements, les muscles représentent 40 à 50 % de la masse totale de notre corps.

Il en existe trois types en fonction de leur rôle et de leur localisation:

- Le muscle strié ou squelettique : est responsable du maintien de la posture et est sous le contrôle du système nerveux somatique (volontaire), il représente la majorité de notre système musculaire avec près de 400 muscles différents.
- Le muscle lisse : qui constitue le tissu musculaire viscéral tapissant la paroi de la plupart des viscères (intestins, œsophage, paroi interne des vaisseaux etc...) est contrôlé par le système nerveux autonome (involontaire).

- Le muscle cardiaque : qui est spécifique au cœur et histologiquement proche du muscle strié, cependant il ne peut ni être contrôlé activement par la volonté ni n'obéit au système nerveux autonome entièrement car possède son propre système de conduction électrique, ce qui le rend en grande partie indépendant.

Chaque muscle comprend :

Une partie centrale charnue, fuselée, faite de fibres musculaires alignées dans le même sens et regroupées en faisceaux.

Un ou plusieurs tendons fibreux qui relient la partie charnue à un os à chacune de ses extrémités (à l'exception des muscles orbiculaires des lèvres et des muscles peauciers). Ces tendons peuvent être très courts ou très longs. Seule la partie charnue est contractile et peut se développer sous l'action des contractions.

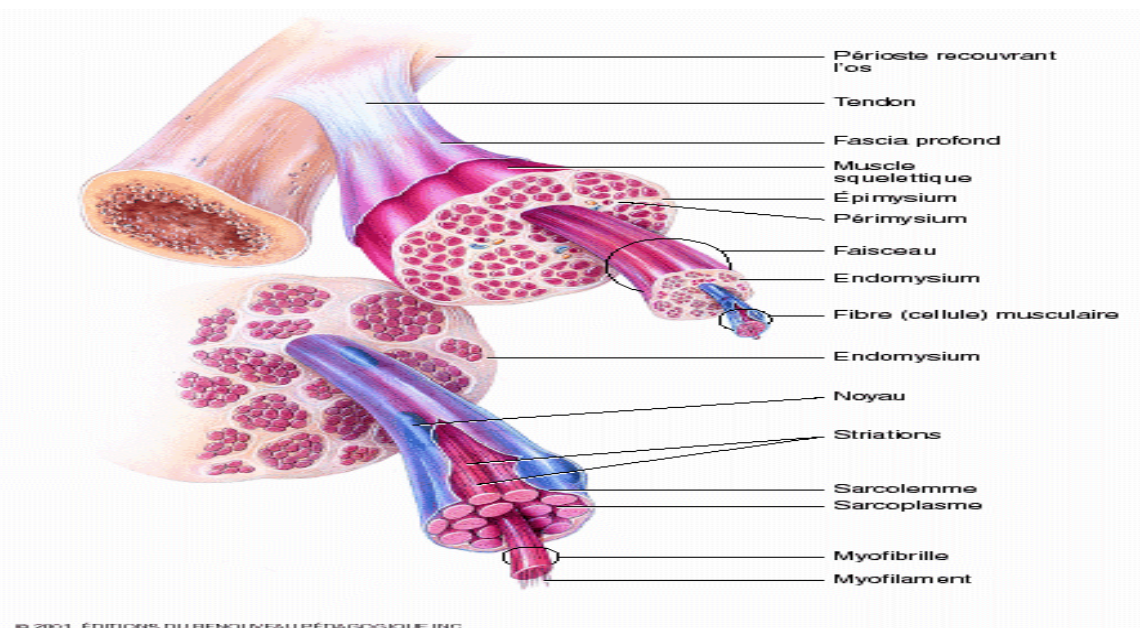


Figure 1 Coupe macroscopique du tissu musculaire (source AFM Téléthon)

### Vue au microscope:

L'unité contractile élémentaire du muscle est la myofibrille, alternance de fins filaments d'actine et de filaments plus épais de myosine. Le raccourcissement du muscle contracté est assuré par le glissement des filaments d'actine le long des filaments de myosine.

Les myofibrilles sont regroupées en fibres musculaires, formées par la fusion de milliers de cellules musculaires, et entourées d'une fine membrane renfermant les noyaux cellulaires et les structures énergétiques telles les mitochondries. C'est à ce niveau que les fibres nerveuses



viennent stimuler la contraction du muscle.

Les fibres musculaires sont regroupées en faisceaux entourés chacun d'une membrane fibreuse ; ces faisceaux sont déjà bien visibles à l'œil sur la section d'une tranche de viande. L'ensemble des faisceaux regroupés forme le muscle.

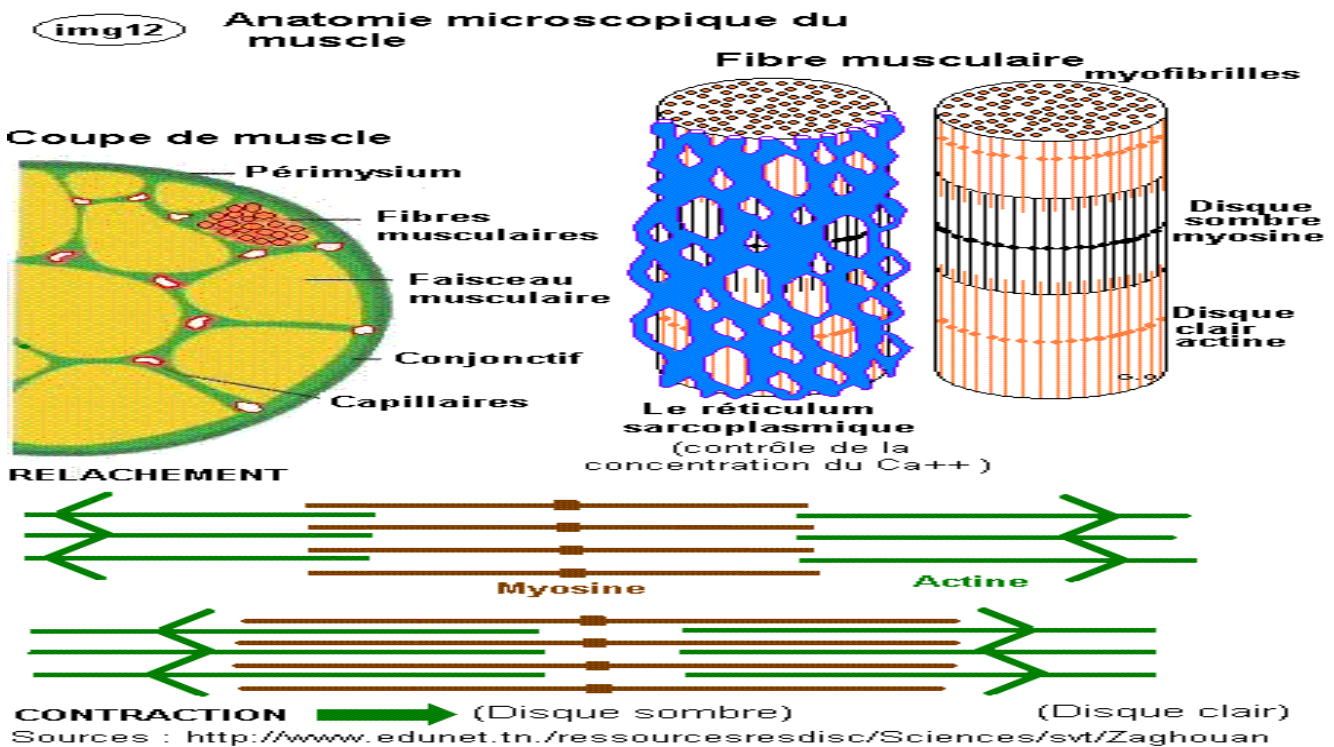


Figure 2 Coupe microscopique de la cellule musculaire

## Propriétés des muscles:

Les muscles possèdent quatre propriétés fondamentales :

- la contractilité ou capacité à se contracter sous l'effet d'une commande nerveuse, volontaire ou réflexe,
- l'excitabilité ou capacité à réagir et à propager une stimulation électrique,
- l'extensibilité ou capacité à s'étirer au-delà de sa longueur de repos,
- l'élasticité ou capacité à retrouver sa longueur de repos après un étirement ou une contraction.

La contraction des muscles squelettiques, variable selon leur richesse en fibres rapides ou lentes, est toujours plus puissante et rapide que celle des muscles lisses situés dans les viscères.

## Au niveau cellulaire et moléculaire

Le fonctionnement de la cellule musculaire revêt un mécanisme plus complexe qu'il n'y paraît, dans le sens où elle fait intervenir des complexes glycoprotéiques diverses (Fig.3) dont chacun joue un rôle essentiel dans le mécanisme de fonctionnement global de la cellule musculaire. Ces protéines sont réparties entre différentes structures de la cellule musculaire, ainsi on retrouve:

- L'actine, la myosine, la Dystrophine ou complexe de la Dystrophine, les Sarcoglycanes, la Dysferline, les Dystroglycanes etc.... au niveau de la membrane cytoplasmique ou sarcolemme;
- La calpaïne dans le cytoplasme ou sarcoplasme;
- L'Emerine et la lamine au niveau de la membrane nucléaire

Tous ces complexes glycoprotéiques participent à leur échelle à la stabilisation du muscle lors des mouvements mécaniques et à l'amortissement des effets éventuels des traumatismes musculaires par un mécanisme de régénération spontanée.

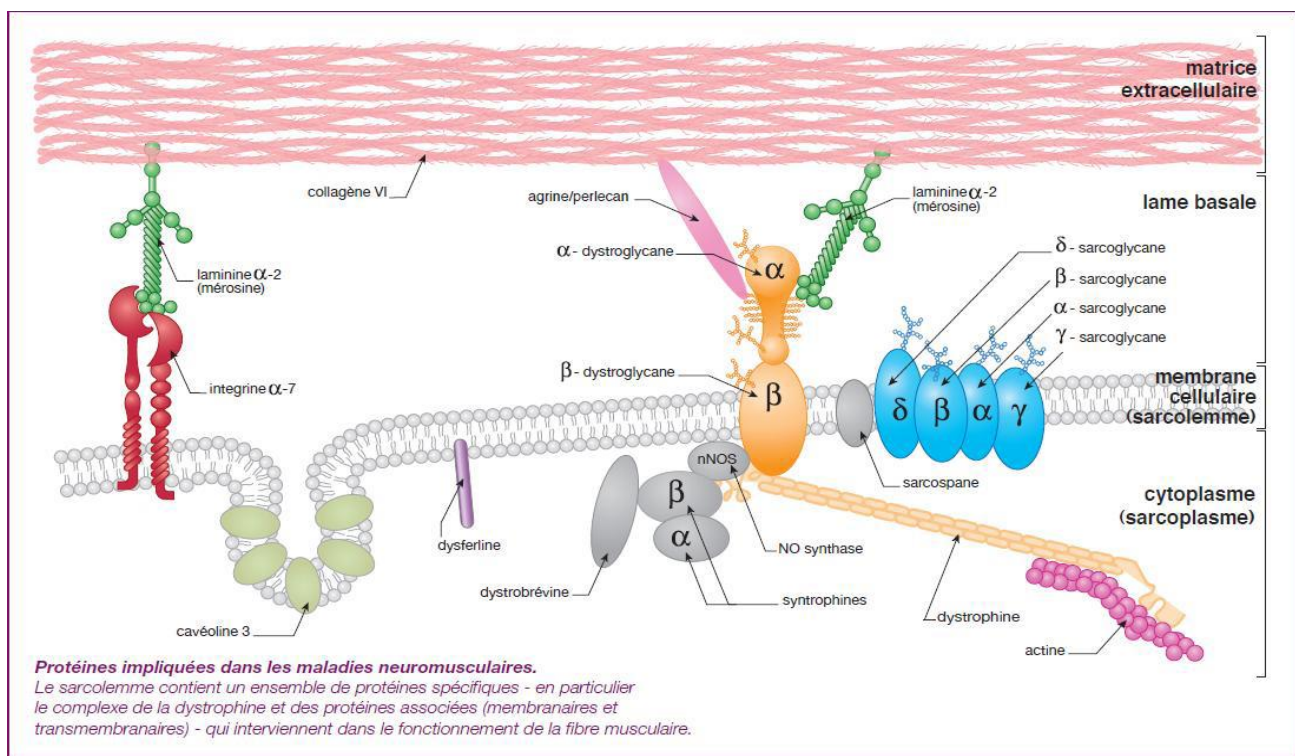


Figure 3 Coupe microscopique montrant les complexes glycoprotéiques de la cellule musculaire (Source : Myobase)

### 3.3.3 Rappel physiopathologique :

Sa compréhension est essentielle et permet non seulement de comprendre les signes cliniques, paracliniques et génétiques mais aussi d'envisager les approches thérapeutiques déjà disponibles ou innovantes qui sont pour la plupart à l'étude.

La dystrophine étant un élément structural important dans les cellules musculaires, son absence entraîne une fragilité structurelle et une accumulation cytoplasmique de protéines normalement absentes des fibres musculaires (**Pestronk 1982, Straub 1997**). En effet, l'intégrité de la membrane semble compromise, particulièrement pendant les contractions soutenues (**Head 1994**). L'absence de dystrophine entraîne une délocalisation des protéines associées à la dystrophine de la membrane et une déstabilisation des costamères, conduisant à une fragilité de la membrane (**Rybakova 2000**). Il a été démontré que les fibres de petit diamètre sont moins nécrosées que les fibres musculaires de grand diamètre (**Boland 1995**). De plus, la dégénérescence continue des muscles nécessite leur régénération quasi-permanente épuisant les stocks de cellules satellites nécessaires (**Heslop 2000, Snow 1978**). Une fois ces cellules épuisées, les patients perdent leur capacité de régénération et la dégénérescence musculaire ne peut être enrayée (**Price 2007**).

Le calcium aurait également un rôle important dans la nécrose des cellules musculaires. En effet, une accumulation de calcium a été observée dans des fibres musculaires de patients DMD (**Bodensteiner 1978**) et un influx massif de calcium a été démontré à travers des membranes déficientes en dystrophine (**De Backer 2002**). Dans un premier temps, le mécanisme d'homéostasie calcique compense cet apport de calcium mais lorsque des micro lésions apparaissent dans le sarcolemme, l'homéostasie ne suffit plus et la concentration intracellulaire de calcium augmente (**Tinsley 1998**). Des protéases, dont les calpaines, sont alors recrutées, détruisant les protéines membranaires et conduisant à une entrée massive de  $Ca^{2+}$  et à la mort cellulaire.

### 3.3.4 Rappels génétiques :

#### 3.3.4.1 Le gène *DMD* :

Le gène de la Dystrophine est le plus grand gène humain connu : il s'étend sur 2,5 millions de paires de bases et représente 0,1 % du génome humain et est situé sur le bras court du chromosome X (locus Xp21.2) (Fig. 4). Il a été séquencé pour la première fois en 1986



(**Monaco 1986, Koenig 1987**). Les introns (régions non codantes) comptent pour 99 % du gène. Il existe des formes longues et des formes courtes de Dystrophine. La séquence codante des formes longues *full-length* compte 14 000 paires de bases (**Monaco 1992, Coffey 1992**). Elle comporte trois promoteurs différents M, B et P reliés à un premier exon spécifique qui s'associe ensuite à 78 autres exons, soit un total de 79 exons. Le promoteur M (pour muscle) est actif dans le muscle squelettique et cardiaque (**Koenig 1989**), le promoteur B (pour *brain*) est actif dans l'hippocampe et le cortex cérébral (**Nudel 1989, Chelly 1990**) et le promoteur P (pour Purkinje) est actif dans les cellules de Purkinje du cervelet (**Chelly 1990**). Ces trois formes sont probablement fonctionnellement équivalentes car elles ne diffèrent que par les quelques premiers acides aminés. Un quatrième promoteur a été identifié par **Nishio (1994)** : le promoteur L (Dp4271) mais des travaux plus récents indiquent que ce promoteur est artéfactuel (**Whewey 2003**). Il existe également une expression très faible de Dystrophine *full-length* dans les lymphocytes. Le gène de la Dystrophine possède aussi quatre promoteurs internes qui donnent naissance à des protéines plus courtes dépourvues de l'extrémité N-terminale mais possédant l'extrémité COOH-terminale. Pour chacun de ces promoteurs internes, un exon unique s'ajoute à l'exon 30, 45, 56 ou 63 pour générer des produits de respectivement 260, 140, 116 ou 71 kDa.

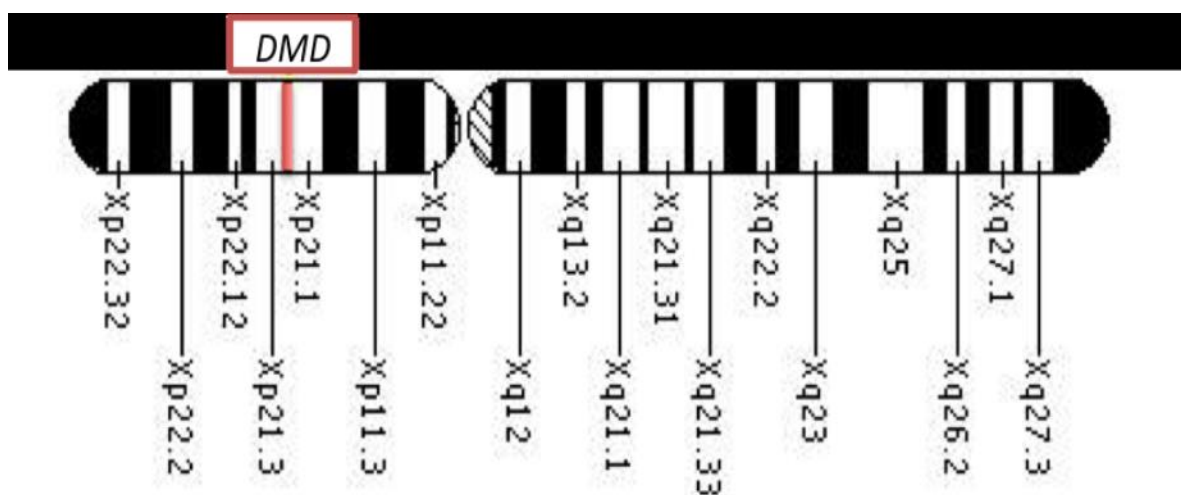


Figure 4 Localisation du gène DMD sur le chromosome X (Source : Genetics Home Reference/ NIH)

La Dystrophine Dp260 est exprimée à haute concentration dans la rétine mais aussi dans le cœur et le cerveau (**D'Souza 1995**). La Dystrophine Dp140 kDa est exprimée dans le cerveau, la rétine et le rein (**Lidov 1995**). La Dystrophine Dp116 est exprimée dans le nerf périphérique (**Byers 1993**). La Dystrophine Dp71 est détectée dans un grand nombre de tissus

extramusculaires squelettiques mais pas dans le muscle squelettique lui-même. À côté de ces sept formes, le gène de la Dystrophine produit de nombreuses isoformes au travers d'événements d'épissage alternatif (concernant particulièrement les exons 68, 71 à 74 et 78) et par l'utilisation de différents signaux poly-A. Ces événements interviennent de façon tissu-spécifique.

### 3.3.4.2 La protéine Dystrophine :

N'est décrite ici que la forme longue de dystrophine exprimée dans le muscle. Il s'agit d'une protéine membre de la famille de l' $\alpha$ -actinine et de la spectrine, en forme de bâtonnet mesurant 150 nm de long et comptant 3 684 acides aminés, pour un poids moléculaire total de 427 kDa (**Koenig 1988, Blake 2002**). Elle est très hydrophile sur l'ensemble de sa longueur, avec 31 % d'acide chargés. Dès 1988, **Koenig et al.** l'avaient séparée en quatre domaines dont les propriétés se sont par la suite précisées (Fig. 5) :

- Un domaine N-terminal de fixation à l'actine qui correspond aux acides aminés 14 à 240. Le domaine fixation à l'actine qui a été découvert grâce à son homologie avec l' $\alpha$ -actinine (**Gimona 1998**) ;
- Un domaine central (acides aminés 253 à 3040) dit domaine « rod » (bâtonnet) ; il s'agit d'un très grand domaine formé par 24 éléments répétés « spectrine-like » en forme de triple hélice d'environ 109 acides aminés. Ces répétitions sont interrompues par quatre segments riches en proline appelés régions charnières ou « hinge ». Les répétitions 15 et 16 sont séparées par une région de 18 acides aminés qui est un site majeur de protéolyse de la Dystrophine. Chaque répétition contient trois hélices appelées  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  et  $\alpha 3$ . Les hélices  $\alpha 1$  et  $\alpha 3$  sont formées chacune par sept tours. L'hélice  $\alpha 2$  a une structure plus complexe. Chaque segment répété est codé par deux exons, toujours interrompu par un intron inséré toujours exactement au même endroit dans la répétition (**Koenig 1988, Winder 1995**) ;
- Un domaine riche en cystéine (acides aminés 3 080 à 3 360) contenant le site de fixation pour la  $\beta$ -dystroglycane, une protéine du complexe membranaire (**Ikura 1996**) ;

- Un domaine C-terminal (acides aminés 3361 à 3685) qui n'a d'homologie avec aucune protéine connue en dehors des protéines liées à la Dystrophine que sont l'utrophine (DRP1), la dystrophin-related protein 2 (DRP2) et les dystrobrevines (**Blake 1995**). Ce domaine contient les sites de fixation pour les syntrophines.

La fonction de la Dystrophine découle de sa structure : elle vise à rattacher l'actine au complexe membranaire de la Dystrophine, dont fait partie le  $\beta$ -dystroglycane, pour former un pont entre le cytosquelette et la matrice extracellulaire et protéger les fibres musculaires contre les dommages entraînés par la contraction musculaire.

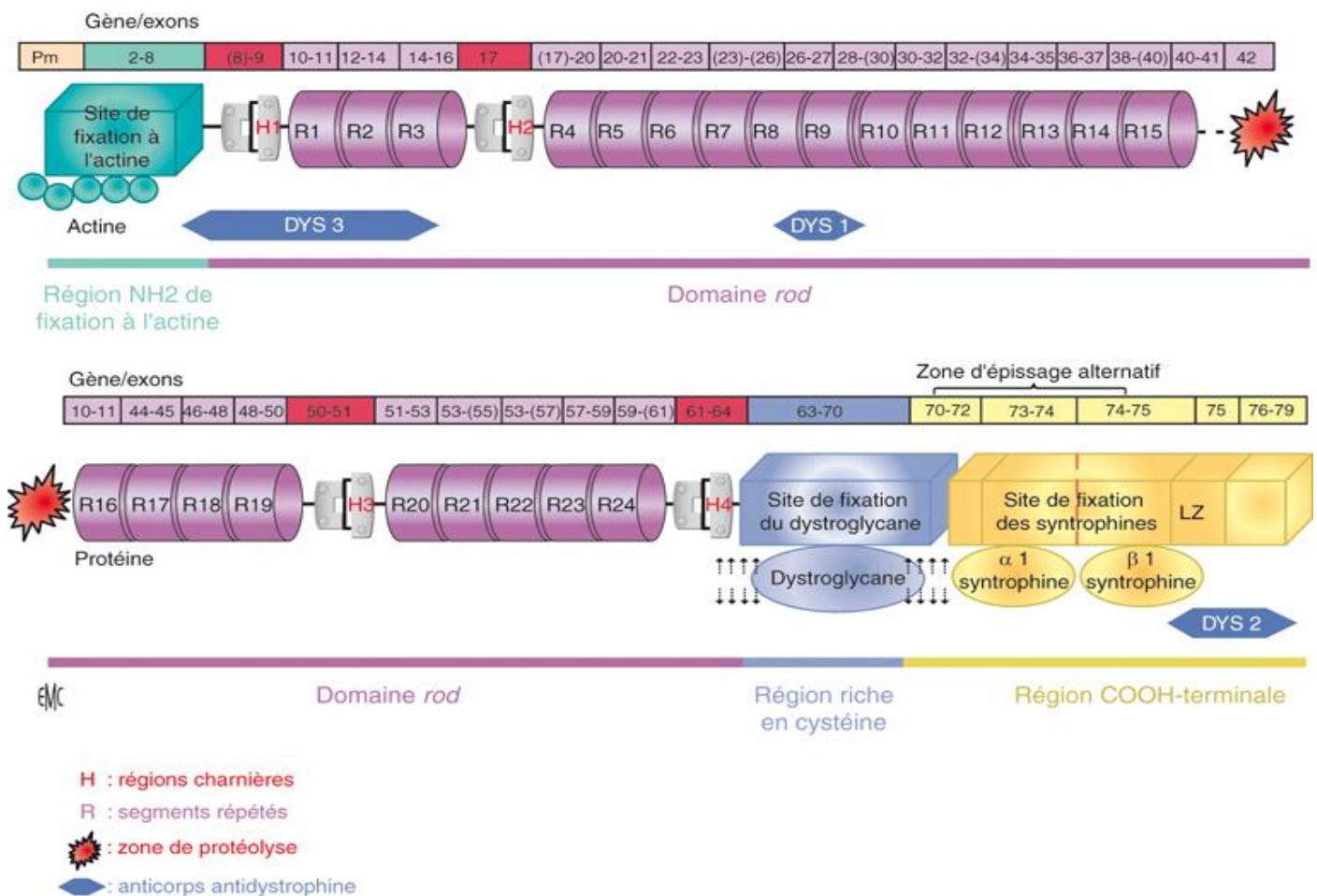


Figure 5 Schéma détaillé de la protéine Dystrophine, corrélé au gène DMD (situé en dessus). Pm : promoteur du gène (C. Fernandez et al. 2010)

### 3.3.4.3 Les mutations :

Les dystrophinopathies sont des maladies récessives liées à l'X. Dans 70% des cas, la mutation est transmise par la mère porteuse saine. Dans 30% des cas, il s'agit d'une mutation *de novo* (**Matsuo 1996**).

A cause de sa très grande taille, le taux de mutations du gène *DMD* est plus élevé que la moyenne. En effet, des milliers de mutations ont été référencées sur le gène (**Aartsma-Rus 2006, Tuffery-Giraud 2009**). Les mutations les plus courantes sont des délétions intragéniques d'un ou plusieurs exons (~70%). Une région hautement mutagène (point chaud) a été identifiée entre les exons 45 et 53. Les petites mutations (petites délétions, insertions et mutations ponctuelles) représentent 20% des cas répertoriés. Plus rarement, des duplications d'un ou plusieurs exons ont été rapportées (~10%).

Les mutations sont classées dans deux catégories : les mutations en phase (in-frame) et les mutations hors-phase (out-of-frame). La séquence codante du gène présente dans les exons est lue par codon (triplet de nucléotides) lors de la traduction de l'ARN messager en protéine, chaque codon correspondant à un acide aminé. Si une délétion d'exons entraîne la suppression d'un nombre entier de codons, la traduction de la protéine se fera sans décalage du cadre de lecture (mutation en phase). La protéine produite sera écourtée et présente dans les cellules. Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque les exons supprimés contiennent un codon incomplet, le cadre de lecture est décalé et la traduction de la dystrophine sera interrompue par un codon stop (mutation hors phase) et entrainera la production d'une dystrophine tronquée dans sa partie C-terminale et qui sera rapidement dégradée (Fig.6).

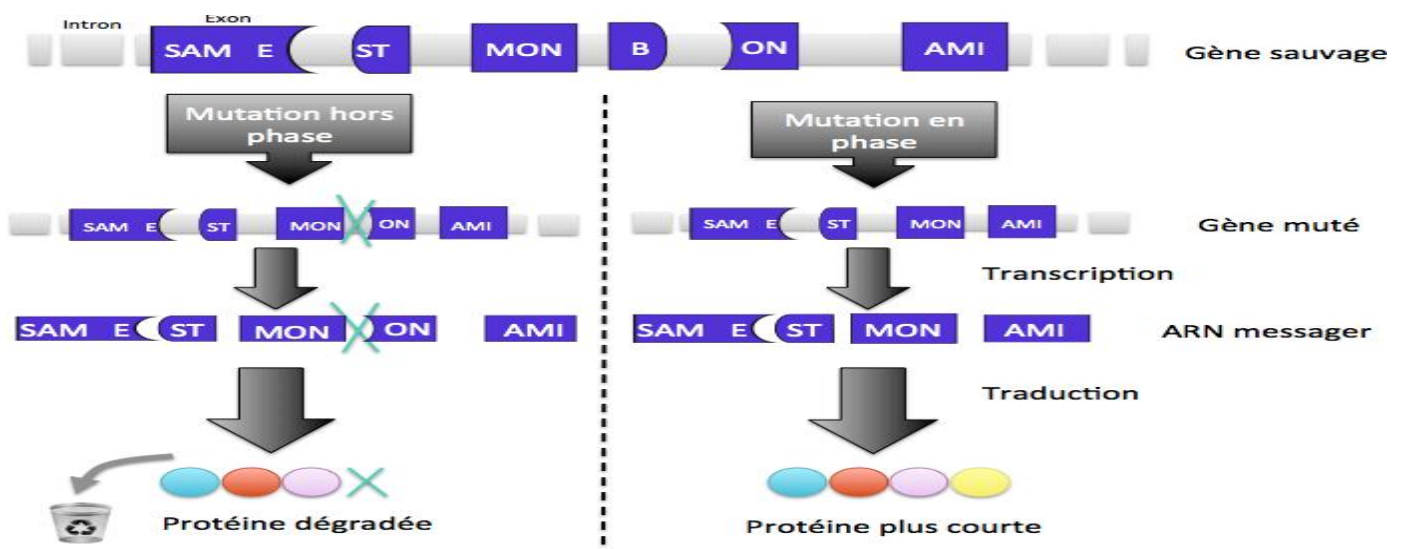


Figure 6 Exemple de mutation hors phase et en phase. (Source : R. Ben Yaou et al. 2016 ; cahier de myologie)

### 3.3.4.4 Corrélation génotype-phénotype

La première difficulté pour proposer une corrélation génotype - phénotype précise est la définition des phénotypes. Un consensus de classification des patients dans les groupes

phénotypiques en fonction de l'âge de perte de la marche est utilisé. Si le patient perd la marche avant 12 ans, il a un phénotype DMD, après 16 ans, il a un phénotype BMD et entre 12 et 16 ans il est de phénotype intermédiaire (IMD) (**Tuffery-Giraud 2009**). Ce consensus ne classe les patients qu'en fonction des grands groupes phénotypiques.

Cependant une règle dite "règle de Monaco" a été proposée dès 1988 et établit un lien entre les phénotypes observés et la préservation du cadre de lecture de la Dystrophine (**Monaco 1988**). D'un côté, les mutations décalant le cadre de lecture de la protéine font apparaître un codon STOP prématuré et conduisent à une absence de dystrophine dans les cellules et à une myopathie de Duchenne. D'un autre côté, les mutations conservant le cadre de lecture de la protéine conduisent à la production en plus faible quantité que dans les cellules saines d'une dystrophine tronquée et sont observées chez les myopathes de Becker.

Cependant cette règle ne concerne que les grands groupes phénotypiques (BMD, DMD) et ne permet pas d'expliquer l'hétérogénéité des symptômes observés au sein de ces groupes.

De plus, cette règle comporte des exceptions estimées entre 8 et 9% des mutations rapportées dans la Leiden Muscular Dystrophies Database (**Aartsma-Rus 2006**) mais peut atteindre jusqu'à 30% selon les études (**Kesari 2008**).

Une partie de ces exceptions peut être expliquée grâce à l'évolution des techniques de diagnostic génétique. Les premiers diagnostics génétiques réalisés utilisaient la PCR pour rechercher la présence de certains exons sur l'ADN complémentaire ; or cette technique non exhaustive laisse un doute sur l'étendue réelle des mutations des patients (**Beggs 1991**). Une délétion identifiée comme étant en phase peut, en réalité, impliquer plus d'exons que ceux détectés initialement et décaler le cadre de lecture conduisant à une absence de Dystrophine caractéristique d'un phénotype DMD et inversement (**Taylor 2007, Taylor 2008**). Ces dernières années, l'avancée des techniques de biologie moléculaire a permis d'identifier les mutations présentes chez les patients de façon sûre par des techniques de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), de RT-PCR de tous les exons et de séquençage d'ADN (**Flanigan 2009, Kesari 2008, Deburgrave 2007**). Il est donc important de vérifier la méthode d'identification utilisée pour détecter une mutation chez un patient diagnostiqué il y a plusieurs années et, si possible, refaire des analyses.



Une autre partie de ces exceptions peut s'expliquer par des phénomènes épigénétiques. En effet, il a été observé chez des patients porteurs d'une mutation décalant le cadre de lecture, un saut d'exon "naturel" dans une partie des cellules. Dans ces cellules, le cadre de lecture de la protéine est recalé et permet la production d'une faible quantité de dystrophine tronquée conduisant à un phénotype BMD (**Gurvich 2008**). Ces phénomènes sont rares, localisés à certaines cellules et difficilement prévisibles.

Enfin, certaines mutations conservant le cadre de lecture sont observées chez des patients atteints de myopathies sévères (DMD) (**Muntoni 2003**). Une partie de ces mutations est observée dans les domaines de liaison à l'actine (ABD1) et au —dystroglycane (—DG) (**Beroud 2007, Tuffery-Giraud 2009**). Il semblerait donc que les mutations impliquant des modifications dans les domaines de liaison à l'actine et au —dystroglycane soient plus délétères que celles modifiant le domaine central. Cependant, de nombreuses mutations conduisant aussi à un phénotype DMD ont été observées dans le domaine central.

Récemment, une étude clinique montre que la troncature du domaine de liaison à la nNOS dans le domaine central délocalise la nNOS de la membrane chez certains patients et est associée à un phénotype BMD sévère (**Gentil 2012**).

La règle de Monaco n'est donc pas suffisante pour corréler de façon précise génotype et phénotype.

Récemment, des études ont été réalisées sur l'hétérogénéité clinique des patients atteints de DMD (**Desguerre 2009, Humbertclaude 2012**). Ces études ont montré une hétérogénéité du phénotype DMD du point de vue des atteintes musculaires, mentales, respiratoires et cardiaques.

Différents sous-groupes phénotypiques ont ainsi pu être déterminés en combinant soit, l'atteinte musculaire et respiratoire (**Humbertclaude 2012**), soit l'atteinte musculaire et mentale (**Desguerre 2009**). De plus, une corrélation partielle entre ces sous-groupes phénotypiques et la localisation de la mutation a pu être établie concernant l'atteinte mentale. En effet, les mutations présentes après l'exon 30 et affectant les isoformes plus courtes, sont observées chez les patients présentant une atteinte cognitive. Cependant, aucune corrélation n'a pu être réalisée entre la localisation de la mutation et l'atteinte musculaire et cardiaque.

Le but principal de ces études n'est pas de proposer une corrélation génotype-phénotype mais d'aider à interpréter les résultats des essais cliniques et de guider le choix des patients à inclure dans les essais en fonction de leur atteinte clinique.

L'hétérogénéité clinique des patients BMD est plus importante que celle des patients DMD et l'évolution lentement progressive de la maladie rend plus difficile la classification des patients en sous-groupes phénotypiques. Ainsi, sont considérés comme BMD, des patients confinés en fauteuil roulant à 20 ans et décédés avant 40 ans, et des patients de 50 ans présentant uniquement des crampes. Cependant, une échelle permettant de définir la sévérité d'un BMD à partir des symptômes cliniques (GMWS : Gardner-Medwin-Walton Score) (**Gardner-Medwin D 1974**) est utilisée par les cliniciens. Une difficulté supplémentaire est la description de phénotypes variables pour une même mutation (**Anthony 2011**).

Ceci pourrait s'expliquer par l'âge différent des patients qui sont à des stades différents de la maladie mais aussi par la différence des points de cassure intronique dans le cas de délétion d'exons (**Gentil 2012**).

A l'heure actuelle, il n'existe aucune corrélation claire entre phénotype observé et génotype. Cette corrélation est pourtant indispensable pour proposer de nouvelles thérapies aux patients.

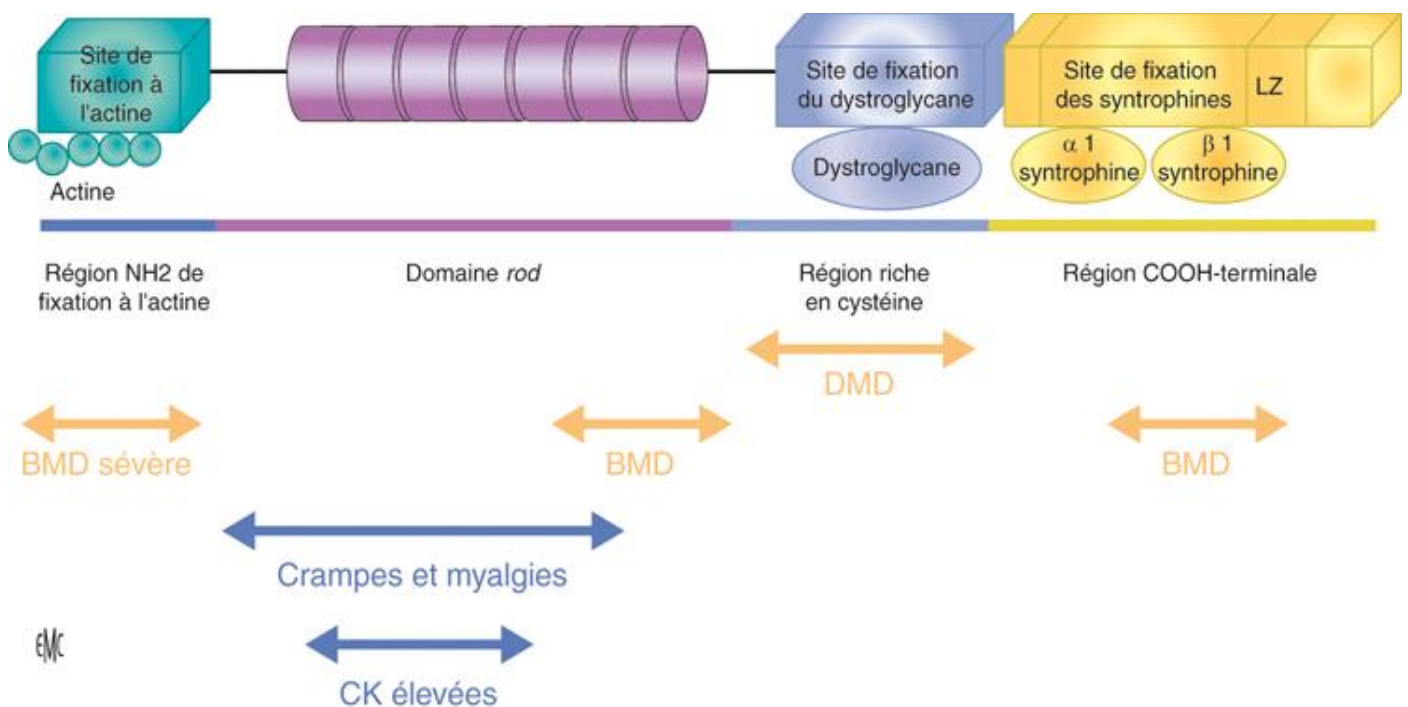


Figure 7 Corrélation théorique génotype-phénotype. Source : AFM Téléthon

### 3.4 Diagnostic:

Le diagnostic des dystrophinopathies se pose en s'aidant d'éléments cliniques, paracliniques et, grâce aux avancées importantes de la biologie moléculaire, de tests génétiques de plus en plus performants objectivant le gène défectueux en cause tout en se basant sur l'histoire familiale parfois très évocatrice, même si la part des cas sporadique est importante.

La DMD étant la plus répandue et la mieux comprise, il nous a semblé pertinent de la choisir comme type de description.

#### 3.4.1 Diagnostic positif :

##### 3.4.1.1 Type de description : Dystrophie musculaire de Duchenne (DMD)

**3.4.1.1.1 Examen clinique** : on retrouve

###### 3.4.1.1.1.1 A l'interrogatoire :

- Parfois, une notion de cas similaires dans la famille dont le pedigree établira le mode de transmission (récessif lié à X), donc ce sont les garçons qui manifestent le plus la maladie (Fig.8) ;
- Une acquisition tardive de la marche ;
- L'âge de début des symptômes qui est généralement avant 5 ans mais rarement avant 3 ans ;
- Des difficultés à courir comme ses camarades d'âge, et à monter les escaliers ;
- Une fatigabilité à l'effort et des douleurs musculaires.

###### 3.4.1.1.1.2 L'examen physique

- Un déficit moteur symétrique touchant plus les muscles proximaux que les muscles distaux (**Camirand, 2004**).
- Une abolition des réflexes idiomusculaires : absence de contraction à la percussion du muscle ;
- Les ROT aussi peuvent être diminués ou abolis en fonction de l'évolution de la maladie,
- Une amyotrophie de degré variable prédominant en proximal avec parfois décollement de l'omoplate et une hypertrophie des mollets (Fig.9) ;



- Le signe du Tabouret : des difficultés à passer de la position assise à la position debout ;
- Le signe du foulard : le patient peine à maintenir les bras levés au-dessus de la tête ;
- Le signe de Gowers : ensemble de postures adoptées pour passer de la position couchée à la position debout (**Blake et al. 2002**). (Fig.10) ;
- A des degrés variables, une cyphoscoliose, signe de l'atteinte du muscle du cou (sterno-cléido-mastoïdien, fléchisseurs de la nuque, para spinaux) ;
- Une hyperlordose lombaire, signe d'atteinte des muscles axiaux (Fig.9) ;
- Une démarche dandinante avec trouble de la statique dus à la hanche qui n'arrive plus à se stabiliser du fait de l'atteinte du moyen fessier ;
- Une tendance à marcher souvent sur les orteils et à se pencher en arrière pour maintenir son équilibre (Fig.9);
- Des troubles psycho-comportementaux chez environ 30% des patients se manifestant par des difficultés d'apprentissage et d'assimilation, un déficit de l'attention et de la mémoire et une hyperactivité chez les enfants d'âge scolaire (**Boyce et al. 1991**). ;

Autant de signes qui, associés aux informations recueillies pendant l'interrogatoire, nous permettent de cadrer les examens complémentaires à réaliser pour confirmer le diagnostic.

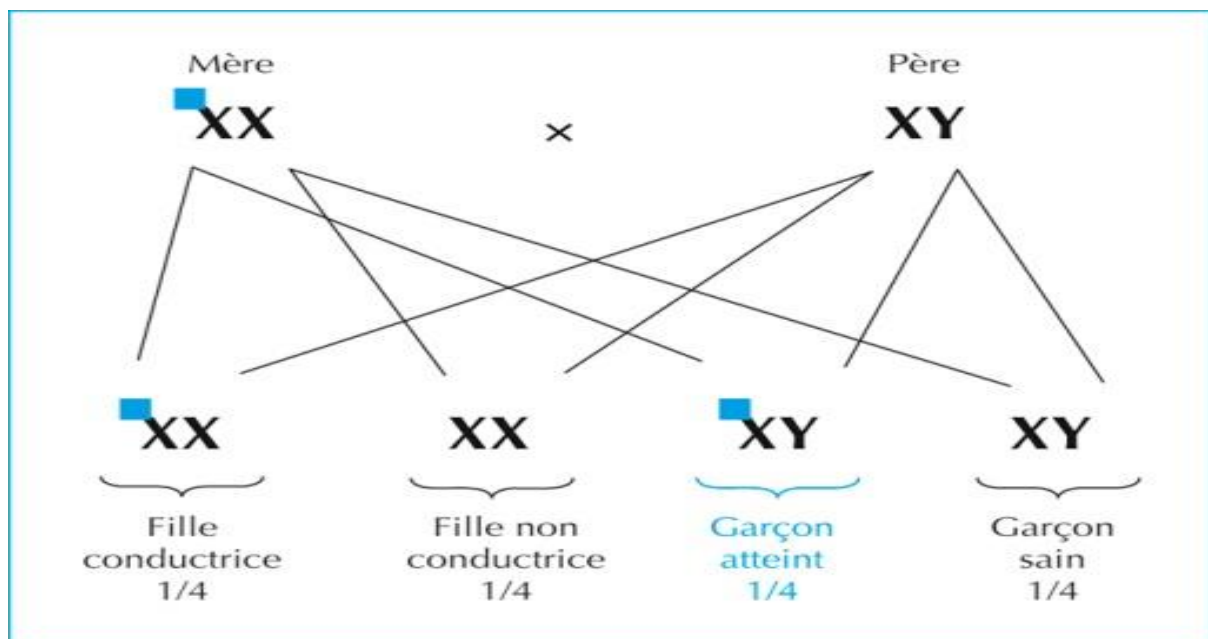


Figure 8 Image illustrant le mode de transmission des dystrophinopathies (Source : Sandra W et al. 2014)



Figure 9 A : Attitude en hyperlordose. B : Marche sur la pointe des pieds et légère hypertrophie des mollets. C : présence d'une hypertrophie des mollets. (Source : C. Fernandez et al. 2010)

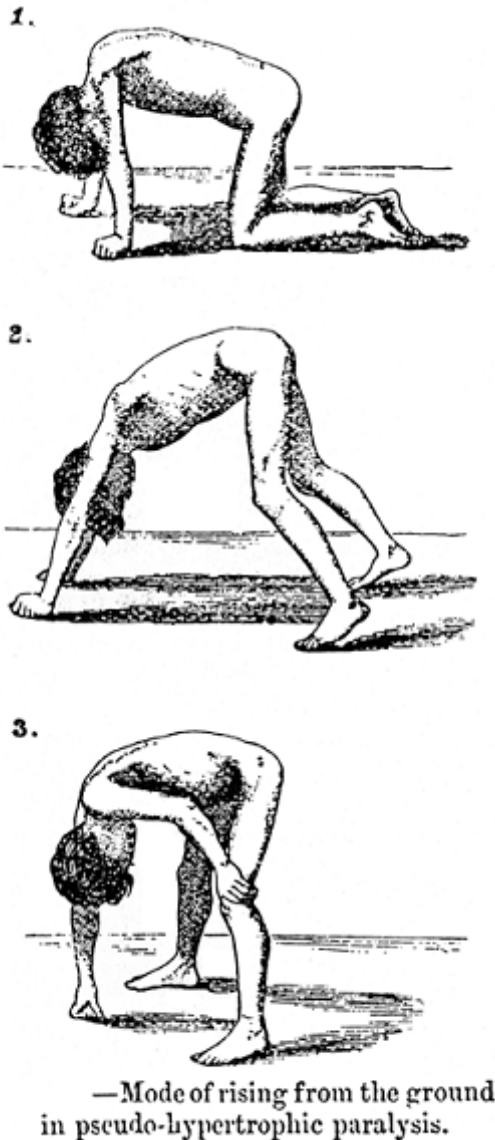


Figure 10 Ensemble de postures décrites par Gower (Source : Engel et al. 1994)

#### 3.4.1.1.2 Examens paracliniques :

De plus en plus précis, ils permettent de conforter le diagnostic et d'éliminer les différentiels.

Il s'agira entre autres de :

**Doser les enzymes musculaires**, notamment la Créatine Phosphokinase (CPK), pyruvate kinase, lactico-déshydrogénase, aldolase anhydase carbonique (Ghozlane, 2001), dont le taux sanguin chez les patients dystrophiques peut atteindre 50 à 200 fois le taux normal, traduisant une destruction musculaire massive mais non spécifique

**L'électromyogramme** : L'électromyogramme (EMG) permet de recueillir et d'analyser des signaux électriques par l'intermédiaire de fines aiguilles- électrodes implantées dans le muscle étudié (Ghozlane, 2001). Il permet d'affirmer devant des troubles moteurs une

origine neuropathique (dites aussi neurogène ou myogène). Dans la mesure où cet examen n'est pas discriminatif, il n'est indiqué que lors d'une suspicion d'atteinte neurogène ou devant un tableau atypique.

**L'imagerie musculaire** : Echographie quantitative, scanner et imagerie par résonance magnétique (IRM) ont été proposés par certains auteurs pour améliorer le dépistage des conductrices. Encore peu employées dans un but diagnostique, ces technologies sont essentiellement utilisées au cours de l'appréciation de l'extension des lésions (**Rott et al. 1985**).

**La biopsie musculaire** : Doit se faire sur un muscle pas trop atrophié, non-exploré récemment et par une aiguille à EMG. Le plus souvent, la biopsie permet le diagnostic définitif de la DMD en objectivant un processus de nécrose-régénération des fibres musculaires avec prolifération de tissu conjonctif orientant vers une dystrophie. Avec des techniques d'immunomarquage sur coupe, on arrive à mettre en évidence le déficit en Dystrophine par immunofluorescence comme sur les coupes ci-dessous (fig. 11)

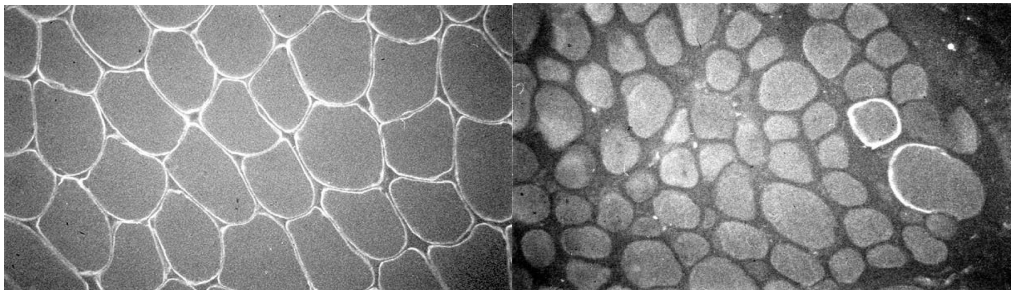


Figure 11 Expression membranaire normale (à gauche) VS anormale (à droite) de la Dystrophine par immunomarquage. (Source : Salima B. 2006, thèse de médecine)

**3.4.1.1.2.1 L'ECG et l'échographie cardiaque :** sont réalisés pour dépister l'atteinte du muscle cardiaque et ainsi prévenir les complications inhérentes. Des anomalies électrophysiologiques et une dysfonction ventriculaire gauche peuvent être observées, respectivement en rapport avec une fibrose du tissu de conduction et du muscle myocardique. Les anomalies électrophysiologiques sont représentées par une tachycardie sinusale, un intervalle PQ court et un allongement du QT, des blocs de branche et auriculoventriculaires, des arythmies diverses et une hyperexcitabilité ventriculaire qui pourraient être en relation avec le taux élevé de mort subite chez les patients atteints de cardiomyopathies évoluées (**C. Fernandez et al. 2010**).

*Des explorations pulmonaires :* pour déterminer la capacité pulmonaire vitale totale

### **3.4.1.1.2.2 Matériels et méthodes de diagnostic génétique :**

Les méthodes les plus couramment utilisées actuellement sont les PCR multiplex semi-quantitatives et la MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) (**C. Fernandez et al. 2010**). Ces techniques sont simples, de coût modéré, et réalisables sur prélèvement de sang. Elles permettent en étant combinées d'analyser l'ensemble des 79 exons du gène de la Dystrophine. Elles ont donc remplacé la PCR multiplex classique qui n'étudiait que 17 des 79 exons du gène. Elles permettent donc de détecter tous les grands remaniements (délétion ou duplication d'un ou plusieurs exons), et de les borner avec précision. Deux autres techniques, le test de troncation de la protéine dit *protein truncation test* réalisable à partir d'un fragment de muscle ou le séquençage complet du gène sont utilisés en cas de normalité de la MLPA et PCR semi-quantitative. Ces deux dernières techniques sont beaucoup plus difficiles et coûteuses et ne sont effectuées que dans des laboratoires de référence. Le Southern blot n'est plus utilisé en pratique.

- **PCR multiplex semi-quantitative :**

La PCR semi-quantitative est une PCR multiplex qui étudie en deux jeux d'amorces 44 exons du gène de la dystrophine à partir de l'acide désoxyribonucléique (ADN) extrait des leucocytes du patient. Cette technique est basée sur l'interruption de la PCR en phase exponentielle. Deux jeux de fragments de tailles différentes marqués par un fluorochrome



sont obtenus et analysés sur le séquenceur automatique. Les aires de chaque pic sont comparées entre elles et avec un ADN témoin. Cette technique est la version moderne de la PCR multiplex élaborée en 1988 par Chamberlain qui a mis au point cette technique rapide pour détecter les délétions en coamplifiant au cours d'une même réaction les exons les plus fréquemment délétés dans la DMD.

- **MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) :**

La MLPA est une nouvelle technique à haute résolution qui permet de détecter des variations dans le nombre de copies de séquences génomiques. Elle permet la détection de remaniements génétiques par l'amplification simultanée d'environ 40 séquences cibles. La quantité relative de chaque produit de PCR est proportionnelle au nombre de copies de la séquence cible dans la matrice initiale. Les différences de taille des produits permettent leur séparation sur un séquenceur automatique, et les aires et tailles des pics sont quantifiées. Étant donné qu'il existe une sonde par exon et que le gène de la Dystrophine contient 79 exons et un promoteur, il faut réaliser deux lots de sondes différentes de MLPA et donc faire deux fois la technique pour chaque patient pour couvrir l'ensemble des exons.

- **Test de troncation des protéines ou « protein truncation test » (PTT) :**

Ce test, initialement décrit par Roest et al. en 1993, a pour principe l'analyse des produits de la traduction des transcrits (acide ribonucléique messager [ARNm]) de la dystrophine à la recherche de mutations responsables d'un arrêt prématuré de la synthèse protéique (ce qui représente 98 % des mutations ponctuelles des DMD). Cette technique est beaucoup plus efficace que les méthodes conventionnelles basées sur l'étude de l'ADN génomique qui se sont révélées très décevantes en raison du grand nombre d'exons à analyser et de la diversité des mutations. L'analyse des transcrits permet d'étudier la totalité de la séquence codante du gène (79 exons) sous une forme condensée (11 kb). Le PTT se réalise préférentiellement à partir des transcrits musculaires (extraits de la biopsie musculaire) qui donnent un meilleur rendement que les transcrits lymphocytaires. Dans un premier temps, les ARN totaux sont extraits d'un fragment de muscle puis rétrotranscrits. Les fragments de longueur atypique traduisent en général une mutation au niveau d'un site d'épissage. Les produits PCR de taille normale sont traduits in vitro : la présence d'un

peptide de poids moléculaire inférieur à la normale est le témoin d'une protéine tronquée et donc d'une mutation non-sens et conduit au séquençage direct de la région prédite pour porter la mutation.

### **3.4.1.1.3 Evolution naturelle de la maladie :**

En dehors de toute prise en charge, l'évolution de la maladie se traduit irrémédiablement par une perte de la marche avant 13 ans pour dans les cas de DMD et après 16 ans chez les BMD. Des déformations rachidiennes, une insuffisance cardiaque et respiratoire et des troubles cognitifs d'aggravation progressive (30%) font leur apparition. La mort survient avant la 3eme décade dans les cas de DMD et les cas BMD peuvent survivre bien au-delà de la quarantaine pour certains.

### **3.4.1.2 Formes cliniques :**

#### **3.4.1.2.1 Dystrophie musculaire de Becker (BMD) :**

La BMD est caractérisée sur le plan clinique par un phénotype moins sévère que la DMD : les symptômes sont d'apparition plus tardive et l'atteinte musculaire plus lentement progressive. L'âge de début se situe le plus souvent dans l'adolescence mais certains cas peuvent être de révélation beaucoup plus tardive. L'hypertrophie des mollets et les crampes sont très fréquentes. L'âge de la perte de marche est variable mais se situe généralement au début de l'âge adulte ; mais parfois, l'évolution est très lente et une marche autonome est conservée très longtemps. En revanche, même chez un patient présentant une atteinte musculaire périphérique modérée, l'atteinte cardiaque peut être sévère, voire inaugurale. Elle représente la cause principale de décès et justifie une surveillance cardiologique étroite de ces patients (C. Fernandez et al., 2010).

#### **3.4.1.2.2 La forme des femmes porteuses symptomatiques :**

De rares cas de femmes porteuses d'une mutation hétérozygote dans le gène de la Dystrophine mais symptomatiques (DMD ou BMD) ont été rapportés. La cause moléculaire la plus fréquente identifiée est une translocation équilibrée impliquant le chromosome X, interrompant le gène de la Dystrophine et entraînant des perturbations du centre d'inactivation de l'X localisé en Xq13 conduisant à une inactivation systématique de X non transloqué. Seul le X normal est inactivé. Dans d'autres cas, certaines femmes ont une inactivation non randomisée de l'X ; parfois aucune cause évidente ne peut être identifiée.

Selon la littérature, soixante-dix pour cent des porteuses de dystrophinopathies ont une hyperCKémie (S.L wenger *et al.* 1992).

La biopsie musculaire peut montrer un aspect dystrophique, myogène non spécifique, voire des lésions minimales. L'immunohistochimie permet de faire le diagnostic en montrant un marquage typiquement dit en « mosaïque » (alternance de portions de membrane marquées et non marquées) témoignant de l'inactivation au hasard de l'X. Cependant, certaines porteuses de dystrophinopathies peuvent avoir un marquage normal. Le western blot n'est pas en général d'une grande aide pour le diagnostic, cette technique n'est pas hautement quantitative et dans la majorité des cas une grande quantité de Dystrophine normale est synthétisée grâce au gène présent sur l'X normal.

Que les femmes porteuses de dystrophinopathies soient symptomatiques ou pas, une surveillance cardiologique est justifiée car l'atteinte cardiaque est fréquente dans ce contexte : seuls 38 % des femmes porteuses ont un bilan cardiaque totalement normal selon les données de la littérature. Les anomalies observées sont de nature identique à celles rencontrées chez les garçons atteints : anomalies électrocardiographiques (47 %), échographiques (36 %), dilatation ventriculaire (18 %) et même cardiomyopathie dilatée (8 %). Elles sont plus fréquemment observées chez les porteuses de maladie de Duchenne que de maladie de Becker ; dans la série rapportée par **Hoogerwaard et al.**, les cardiomyopathies dilatées authentiques ne concernaient que les patientes porteuses de myopathie de Duchenne. Les explorations sont identiques à celles pratiquées chez les garçons atteints : électrocardiogramme et échographie cardiaque annuels, voire tous les 2 ans en l'absence d'anomalie.

### 3.4.1.2.3 Cardiomyopathie dilatée liée à X :

Il s'agit d'une atteinte myocardique se manifestant par une cardiomyopathie dilatée chez des hommes autour de 20-30 ans, sans signe clinique de myopathie squelettique. Quelques mutations dans le gène de la Dystrophine sont principalement ou exclusivement associées avec une atteinte cardiaque. D'autres mutations, habituellement associées à une forme typique, peuvent dans de rares cas se présenter comme une cardiomyopathie dilatée sans atteinte musculaire. Les CK sont élevées comme dans les dystrophinopathies classiques. Même en l'absence de déficit musculaire, la biopsie d'un muscle périphérique permet



d'aboutir au diagnostic en montrant en immunohistochimie des anomalies identiques à celles observées chez les patients atteints de BMD (**Muntoni F, et al. 1993**).

### 3.4.1.2.4 Dystrophinopathie d'effort :

Depuis le premier cas de dystrophinopathie d'effort décrit par **Gospe et al. en 1989**, de nombreux cas similaires ont été rapportés. Les patients présentent des intolérances à l'exercice, avec myalgies d'effort. Au repos, il n'y a pas de symptôme particulier, au moins au début. Le taux de CK est bien entendu élevé après l'effort mais il reste élevé en permanence même au repos, contrairement à certaines pathologies métaboliques comme par exemple le déficit en CPTII où le taux de CK intercritique est normal. C'est la biopsie musculaire qui permet d'éliminer un diagnostic de myopathie métabolique qui avait parfois été évoqué cliniquement et pose le diagnostic de dystrophie musculaire. L'histologie standard montre en général des anomalies peu sévères en l'absence de déficit moteur fixé mais l'immunohistochimie et le western blot permettent d'affirmer la dystrophinopathie en montrant des anomalies de type Becker (**Drouet A et al. 2002**).

L'évolution de ces patients dont la dystrophinopathie s'est révélée par une intolérance à l'exercice est plus favorable que celle des formes classiques de dystrophinopathie mais peut aussi être sévère. Dans la série de **Comi et al.**, deux patients âgés initialement de 10 et 30 ans, et ensuite âgés de 32 et 61 ans, ont évolué vers une atteinte musculaire modérée à sévère. **Drouet et al.** ont rapporté en 2002 six cas de BMD révélés par une intolérance à l'exercice. Tous ont au dernier suivi (âge moyen de 19 ans) un déficit pelvien, discret dans cinq cas mais sévère dans le cas restant ; deux patients ont une atteinte scapulaire peu sévère et un patient présente une cardiomyopathie. Ces mêmes auteurs ont colligé une série de 36 cas de BMD révélés par une intolérance à l'effort et constatent qu'après en moyenne 10 ans d'évolution, 67 % des patients restent cliniquement stables tandis que 33 % s'aggravent, en général de façon lente et modérée. Un taux résiduel de Dystrophine inférieur à 50 % serait un facteur prédictif de mauvais pronostic dans les dystrophinopathies peu sévères. De même, l'existence d'une cardiomyopathie pouvant progresser de façon indépendante peut grever le pronostic d'une atteinte musculaire parfois peu sévère, incitant dans tous les cas même peu symptomatiques ou asymptomatiques à une surveillance cardiologique régulière.

### 3.4.1.2.5 HyperCKémie isolée :

Rarement, certaines dystrophinopathies sont totalement asymptomatiques et ne se manifestent que par une augmentation isolée du taux de CK. C'est dans ces formes que la biopsie musculaire est le plus trompeuse en montrant parfois un aspect proche de la normale sur l'histologie standard. C'est pourquoi il ne faut pas hésiter à pousser les investigations et à réaliser une étude immunohistochimie et un western blot, voire une étude génétique, même en cas de biopsie musculaire subnormale, chez un garçon qui présente une élévation importante des créatines (**Fernandez C et al., 2006**).

L'évolution des dystrophinopathies révélées par une hyperCKémie isolée paraît assez favorable. Dans les deux grandes études de **Beggs et al.** et **Comi et al.**, les enfants (âge inférieur à 18 ans) comme les adultes présentant une dystrophinopathie révélée par une hyperCKémie isolée sont soit toujours asymptomatiques, soit ont un phénotype BMD très mineur. Concernant les enfants, on peut toujours penser qu'il s'agit d'un stage préclinique ou débutant, certaines dystrophinopathies étant de révélation plus tardive. La description d'adultes asymptomatiques, parfois d'âge supérieur à 50 ans laisse penser que certaines mutations peuvent toujours rester silencieuses ; cependant, il faut toujours garder en tête qu'une même mutation n'aboutit pas toujours au même phénotype chez différents patients atteints.

### 3.4.2 Diagnostic différentiel :

- **Les myopathies des ceintures ou LGMD (Limb-Girdle Muscular Dystrophy) :** groupe hétérogène de myopathies qui présentent des caractéristiques phénotypiques communes avec la DMD bien que moins prononcés sur le plan évolutif, et qui se transmettent sur un mode autosomique récessif ou dominant atteignant ainsi les deux sexes à proportions égales. Les gènes et les protéines associées à ces myopathies sont diverses. L'âge de début varie de 2 à 40 ans.
- **La myopathie d'Emery-Dreifuss :** il s'agit d'une myopathie avec rétraction tendineuse dès l'enfance et trouble de la conduction cardiaque. La mutation est sur le gène EMD codant pour la protéine Emerine. La transmission est autosomique récessive.
- **La dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSH) :** comme son nom l'indique, l'atteinte intéresse plus les muscles de la face, les muscles de la ceinture

scapulaire avec décollement scapulaire et les muscles du bras. La transmission est autosomique dominante.

- *Les myopathies congénitales* : se manifestant d'emblée à la naissance.
- *Les myopathies acquises* : inflammatoires, métaboliques, toxiques et iatrogènes. L'interrogatoire et les investigations complémentaires établissent d'emblée le caractère acquis de ces affections.

# Clinique, paraclinique et génétique des dystrophinopathies au CHU du Point G

**Tableau 1 Récapitulatif de quelques différentiels cliniques et génétiques de la DMD**

Maladie	Phénotypes les plus fréquents	Locus/ Chromosome/ (Gène)	Protéines (PM) Localisation	Mode de transmission	Incidence	Population
<b>DMD</b>	Myopathie proximale sévère de l'enfant	DMD Xp21.2 <i>DYS</i>	Dystrophine (421 kDa) Subsarcolemmique	Récessive lié au sexe	1/3500	Ubiquitaire
<b>BMD</b>	-Myopathie proximale moins évolutive -Cardiomyopathie -Formes bénignes possibles	DMD Xp21.2 <i>DYS</i>	Dystrophine (421 kDa) Subsarcolemmique	Récessive lié au sexe	1/6000 A 1/18000	Ubiquitaire
<b>Myopathie des ceintures</b>	Myopathie proximale lentement progressive	LGMD2A 15q15 <i>CAPN3</i>	Calpaïne 3 (94 kDa) Enzyme cytosolique	Récessive autosomique	Environ 50% des LGMD	Ubiquitaire
<b>Myopathie des ceintures</b>	Myopathie proximale de sévérité variable (type Duchenne, Becker ou bénigne)	LGMD2D 17q12 <i>SGCA</i>	$\alpha$ Sarcoglycane (50 kDa) Sarcolemme	Récessive autosomique	Les plus fréquentes des SGCpathies	Ubiquitaire
<b>Myopathie des ceintures</b>	Myopathie proximale sévère de type Duchenne	LGMD2C 13q12 <i>SGCG</i>	$\gamma$ Sarcoglycane (35 kDa) Sarcolemme	Récessive autosomique	Variable selon les populations	Surtout Maghreb Et Tsigane
<b>Myopathies des ceintures</b>	Myopathie proximale sévère	LGMD2E 4q12 <i>SGCB</i>	$\beta$ Sarcoglycane (43 kDa) Sarcolemme	Récessive autosomique	Rare	Ubiquitaire
<b>Myopathie des ceintures</b>	Myopathie proximale sévère	LGMD2F 5q33 <i>SGCD</i>	$\delta$ Sarcoglycane (35 kDa)	Récessive autosomique	Rare	Ubiquitaire
<b>Myopathie des ceintures</b>	-Soit myopathie proximale peu évolutive de l'adulte -Soit myopathie distale de l'adulte (type Myoshi)	LGMD2B 2p13 <i>DYSF</i>	Dysferline (230 kDa) Sarcolemme	Recessive autosomique	1/1300 dans la population juive du Liban	Ubiquitaire
<b>Myopathie d'Emery-Dreifuss</b>	-Atrophie humero-peronière -Rétractions tendineuses -Trouble de la conduction cardiaque et cardiomyopathie dilatée	EDM Xq28 <i>STA</i>	Emerine (34 kDa) Membrane nucléaire	Récessive lié au sexe	1/300000	Ubiquitaire
<b>Myopathie facio-scapulo-humérale</b>	Amyotrophie de la face, de la ceinture scapulaire et des membres supérieurs	FSH 1 et 2 18p11.32, D4Z4 <i>SMCHD1</i>	DUX4	Autosomique dominant	1-9/100000	Ubiquitaire

### 3.5 Prise en charge, conseil génétique et perspectives thérapeutiques

Sur le plan thérapeutique, il n'existe actuellement aucun traitement curatif de ces maladies mais de nombreux essais cliniques prometteurs sont en cours. La prise en charge consiste donc essentiellement en des soins préventifs et/ou des traitements symptomatiques avec prise en charge des complications par une équipe multidisciplinaire. Certains patients peuvent être inclus dans un essai clinique s'ils en remplissent les critères d'inclusion.

#### 3.5.1 Prise en charge symptomatologique et pluridisciplinaire :

Le traitement par corticothérapie est largement prescrit dans les pays anglo-saxons depuis plus de 15 ans (**Manzur, 2008 ; Bushby, 2004**). Il semble avoir prouvé son efficacité à ralentir l'évolution de la maladie et il est apparu intéressant et suffisamment fiable aux experts français du domaine des dystrophies musculaires progressives pour être prescrit chez les patients suivis en France, quelques années (**Boussaid, 2016**). En effet, de nombreuses études ont rapporté une amélioration sur le plan moteur, sur le plan orthopédique et sur le plan respiratoire : les corticoïdes rallongent la phase ambulatoire, améliorent la force musculaire, diminuent le risque de scoliose et stabilisent la fonction respiratoire (**Markham, 2008**).

En revanche, l'effet de la corticothérapie sur l'atteinte cardiaque est controversé. Il faut également noter que les améliorations observées chez les patients traités semblent être variables d'un patient à l'autre. Avant l'introduction du traitement, il faut vérifier que l'enfant soit à jour dans ses vaccinations en raison de l'augmentation du risque d'infection.

L'introduction du traitement se justifie quand l'enfant ne progresse plus sur le plan moteur (phase de plateau) ou commence à décliner, c'est-à-dire en général vers l'âge de 4 à 8 ans. Il faut bien entendu prendre en compte les effets secondaires et les complications possibles de la corticothérapie au long cours : le risque d'ostéoporose est important et une supplémentation en vitamine D et calcium est nécessaire.

Le mécanisme d'action précis des corticoïdes est encore mal connu. Les principales hypothèses sont : la diminution locale de l'inflammation créée par la nécrose des fibres musculaires lors des contractions musculaires en l'absence de Dystrophine, et probablement d'autres actions au niveau du rôle de signalisation du complexe transmembranaire auquel est normalement reliée la Dystrophine (**Daftary, 2007**). L'immunosuppression créée par les

corticostéroïdes pourrait elle aussi être au centre du mécanisme d'action bénéfique de ce traitement.

La Prednisone (Prednisone) et le Deflazacort sont les deux principaux types de stéroïdes utilisés dans le traitement de la DMD. On estime qu'ils agissent de façon similaire et que leurs résultats se valent bien qu'une étude américaine de l'université Rochester ait montré les avantages nets du Deflazacort par rapport au Prednisone, notamment sur le plan des effets secondaires comme la prise de poids qui est moins importante avec le Deflazacort.

La dose conseillée pour débiter le traitement par Prednisone est de 0.75 mg/kg/jour et pour le Deflazacort de 0.9 mg/kg/jour, le matin. Certains enfants présentent des effets secondaires de type comportemental, de courte durée (hyperactivité, sauts d'humeur), quelques heures après la prise du médicament. Chez ces enfants, l'administration du médicament dans l'après-midi pourrait atténuer ces effets.

Pour les patients ambulatoires, le dosage est généralement augmenté en suivant l'évolution de la prise pondérale de l'enfant, et ce jusqu'à 40 kg. La dose maximum de Prednisone est généralement de 30 mg/jour, et celle du Deflazacort de 36 mg/jour.

Les adolescents non ambulatoires qui suivent une thérapie de longue durée par stéroïdes ont généralement un poids supérieur à 40 kg et le dosage de Prednisone par kg peut souvent être réduit entre 0.6 à 0.3 mg/kg/jour. Bien que ce dosage soit inférieur au dosage maximum de 30 mg, les effets bénéfiques de ces thérapies sont significatifs.

Les experts conseillent de commencer par une prise journalière de stéroïdes plutôt qu'un régime de type alternatif. Les données qui seront fournies par les études en cours et les études futures pourraient amener des modifications pour cette recommandation.

La définition de la dose de maintien de Prednisone dépend de la croissance, de la réponse plus ou moins satisfaisante aux stéroïdes et des effets secondaires. Par conséquent, la dose doit être revue lors de chaque visite clinique en fonction du résultat des évaluations effectuées et de la tolérance /gestion plus ou moins facile des effets secondaires.

Chez les garçons recevant une dose relativement faible de stéroïdes (inférieure à la dose de début /kg de poids corporel) et qui commencent à présenter des signes de déclin fonctionnel, il faudra envisager un réajustement de la dose en vue d'un «sauvetage fonctionnel». La dose de stéroïdes sera alors augmentée en fonction de l'objectif fixé et le patient devra se

soumettre à une visite de contrôle au bout de trois mois pour évaluer les effets de l'augmentation de la dose.

Un consensus n'a pas été établi en ce qui concerne la dose optimale de stéroïdes chez le patient non ambulatoire et on ignore l'efficacité des stéroïdes dans la prévention de la scoliose ou dans la stabilisation de la fonction respiratoire ou cardiaque. Cette question mérite une étude plus approfondie.

La prise en charge symptomatique doit intégrer les complications orthopédiques, cardiaques, pulmonaires, nutritionnelles et psychologiques des dystrophinopathies. Sur le plan orthopédique, des séances de kinésithérapie plurihebdomadaires permettent d'améliorer la trophicité musculaire et de lutter contre les rétractions de l'ensemble des articulations liées à la fibrose musculaire. La mise en place d'attelles de posture nocturne peut également être nécessaire. La scoliose est quasi constante et lorsqu'elle atteint un certain degré, il faut recourir à un traitement orthopédique lourd : l'arthrodèse vertébrale qui consiste à fixer l'ensemble des vertèbres au moyen de deux tiges en métal. Concernant la pratique de l'activité physique chez les patients atteints de formes classiques (DMD et BMD), les avis sont partagés mais il semblerait que si les efforts violents sont à éviter, la pratique d'une activité physique douce, en particulier les exercices en piscine, est fortement recommandée pour les patients encore ambulants, et même ceux en fauteuil, dans ce cas sous contrôle médical. L'apparition de douleurs musculaires importantes ou d'une myoglobulinurie dans les 24 heures est le signe d'un effort trop intense avec lyse musculaire induite par la contraction ; ces éléments doivent faire modifier les exercices pratiqués.

Sur le plan cardiaque, un traitement cardioprotecteur par des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) est instauré de façon préventive à l'âge de 10 ans, avant même l'apparition de la cardiomyopathie. Les traitements classiques de l'insuffisance cardiaque peuvent ensuite être utilisés en cas de dysfonction ventriculaire avérée.

Sur le plan respiratoire, tant que la fonction respiratoire surveillée par la capacité vitale forcée (CVF) est normale, des exercices respiratoires sont proposés de façon préventive. Lorsque les chiffres de CVF chutent, témoignant d'une insuffisance respiratoire, une aide par ventilation non invasive (VNI) puis par trachéotomie, peut être proposée.



La malnutrition est un facteur aggravant du mauvais état général des patients atteints de DMD. Une gastrostomie peut être proposée en cas de perte de poids importante ou de trouble de la déglutition et les résultats sont plutôt satisfaisants. Les reflux gastro-œsophagiens et la constipation, liée à l'immobilisation au fauteuil, sont fréquents et font l'objet des traitements médicaux symptomatiques habituels.

Un suivi psychologique peut être nécessaire pour l'enfant et sa famille. Des aides extérieures (auxiliaire de vie, assistant d'éducation) sont souvent nécessaires pour soulager la famille et permettre le maintien de l'enfant dans le système éducatif. Le conseil génétique aussi occupe une place grandissante dans l'arsenal de prise en charge des dystrophinopathies, surtout pour les femmes porteuses désireuses de faire des enfants.

### ***3.5.1.1 Conseil génétique suite à la découverte d'un cas index***

Lorsqu'un cas index de dystrophinopathie est découvert dans une famille, il est important dans un premier temps de définir le statut de sa mère (conductrice ou non), ce qui permet de préciser le conseil génétique pour elle-même et le reste de la famille.

Si l'altération génétique découverte chez le cas index n'est pas portée par sa mère, il s'agit alors d'une néomutation ; le reste de la famille est a priori indemne de la mutation mais la mère du cas index présente quand même un faible risque de récurrence en raison de la possibilité d'une mosaïque germinale (**C. Fernandez *et al.*, 2010**).

Dans les autres cas, il est important de dépister les autres garçons atteints ainsi que les femmes conductrices, avec leur accord et dans le respect des lois de bioéthique. L'enquête et le dépistage familial sont menés par une équipe de généticiens spécialisés. Ce dépistage souvent présymptomatique se justifie par les bénéfices apportés par la prise en charge précoce et la surveillance cardiologique qui seront mis en place chez les sujets atteints. Le dépistage des femmes conductrices permet, outre le suivi cardiologique, de leur proposer un diagnostic prénatal. Sans recourir aux techniques de biologie moléculaire, le dosage des CK est un bon moyen de dépister les garçons atteints et une grande partie des femmes conductrices mais ne peut pas être utilisé pour le diagnostic prénatal.



### 3.5.1.2 Perspectives thérapeutiques et essais cliniques :

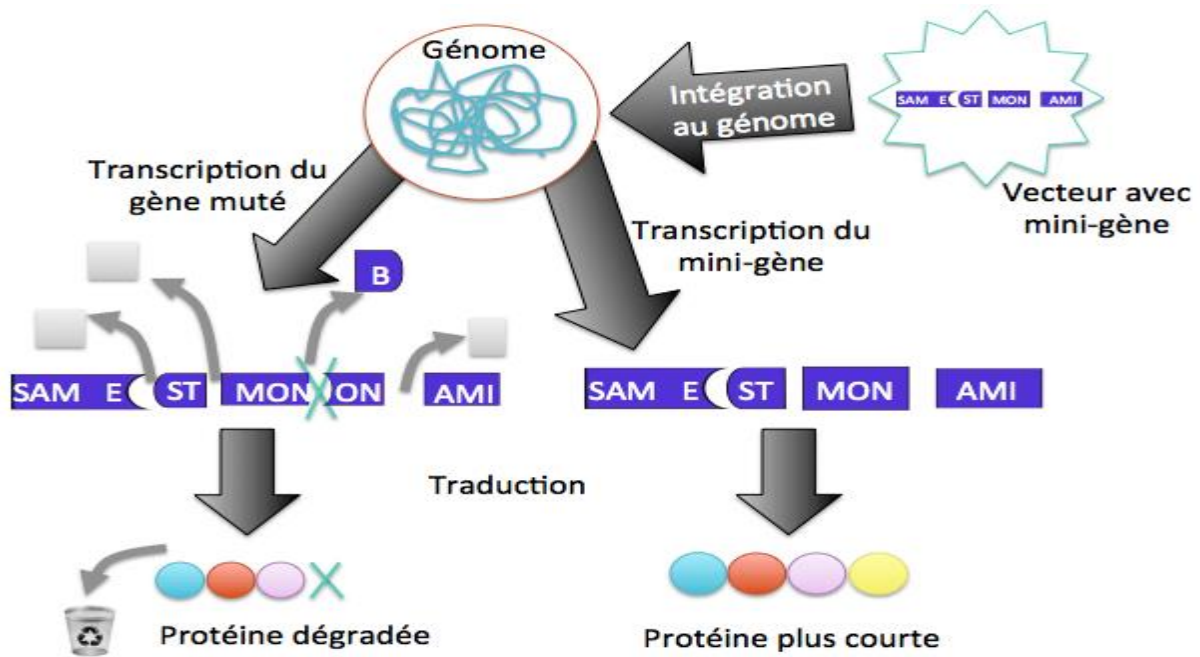
Actuellement et depuis plusieurs années, de nombreuses pistes de recherche sont suivies pour tenter de mettre au point un traitement curatif des dystrophinopathies, avec trois axes de recherche prioritaires : le développement de nouveaux traitements pharmacologiques, la thérapie génique, qui intervient directement sur le gène de la Dystrophine, la thérapie cellulaire qui consiste en la transplantation de cellules saines dans les muscles des patients atteints.

#### 3.5.1.2.1 L'approche pharmacologique :

- **Inhibition de la myostatine** : la myostatine est un peptide d'origine musculaire, membre de la famille *Transforming Growth Factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), qui limite la croissance des cellules musculaires, en agissant de façon autocrine. L'inhibition de la myostatine améliore le phénotype du modèle murin de maladie de Duchenne, la souris *mdx*, et favorise la transplantation de myoblastes dans ce même modèle. Pour l'instant il n'y a pas encore d'étude chez l'homme.
- **La ciclosporine**, molécule inhibitrice de la voie calcium/calmoduline calcine urine dépendante, est aussi un immunosuppresseur. Elle limite l'évolution de la maladie chez les souris *mdx*.
- **La glutamine** : la supplémentation orale par glutamine diminuerait la dégradation protéique chez les patients atteints de maladie de Duchenne mais une étude randomisée récente en double aveugle n'a pas montré de bénéfice fonctionnel significatif.

#### 3.5.1.2.2 Thérapie génique

Ces dernières années, de nombreuses recherches ont été menées afin de mettre en place une thérapie de la myopathie de Duchenne en injectant le gène *DMD* dans les cellules musculaires des patients (figure 12). Le principe est assez simple car il suffit d'injecter un vecteur contenant un gène fonctionnel dans les muscles des patients mais la réalisation est un vrai défi (Goyenvalle 2011).



**Figure 12 Principe de la thérapie génique (Source: AFM Téléthon) :** Un mini-gène est encapsulé dans un vecteur et injecté dans l'organisme. Ce mini-gène s'intègre au génome et est transcrit puis traduit en une protéine plus courte. La traduction de ce mini-gène se fait en complément de la traduction du gène muté du patient.

La première problématique est le choix d'un vecteur efficace et sans risque. Trois types de vecteurs viraux ont été utilisés dans plusieurs études : les adénovirus, les virus adéno associés (AAV) et les lentivirus. Les adénovirus et les lentivirus ont été abandonnés à cause d'une trop grande toxicité et / ou à cause d'un manque d'efficacité. Les virus adéno-associés (AAV) et leur forme recombinante (rAAV) sont donc les vecteurs viraux actuellement utilisés pour les essais thérapeutiques. Ils ont montré une bonne efficacité en produisant des gènes stables dans différents modèles animaux (**Herzog 1999**) ainsi qu'une faible réponse immunitaire de la part de l'organisme hôte (**Manno 2003**).

Cependant, de nouveaux essais thérapeutiques montrent une réponse immunitaire chez les patients (**Mendell 2010, Wang 2010**) et posent un nouveau problème. Des immunosuppresseurs peuvent être utilisés pour empêcher cette réponse immunitaire [Wang 2007] mais la cause de cette réponse immunitaire est encore incertaine. Il est possible que la dystrophine elle-même déclenche cette réponse immunitaire chez les patients. En effet, l'essai clinique de phase I réalisé par Mendell et al. (**Mendell 2010, Bowles 2012**) met en évidence une réponse immunitaire différente et dose dépendante selon les capsides virales utilisées ainsi qu'une activation des lymphocytes T spécifique à la dystrophine chez certains patients.

Le deuxième problème majeur est la taille limitée du gène pouvant être transféré dans les vecteurs rAAV (~4,7 kb) alors que l'ARN messager du gène *DMD* avoisine les 14 kb. Par conséquent, des gènes tronqués sont utilisés aboutissant à la production de mini- et de micro-dystrophines. Ces constructions sont basées sur des observations de patients BMD présentant un phénotype léger malgré de très grandes délétions en phase dans le domaine central (**Matsumura 1994, England 1990**). A partir de ces observations, des mini-dystrophines amputées d'une partie du domaine central ont été construites. Ces constructions ne correspondent pas à des mutations observées chez des patients puisqu'elles ne respectent pas les bornes des exons mais celles des répétitions.

Des résultats encourageants ont été décrits chez la souris (**Gregorevic 2008, Gregorevic 2006**) mais le récent essai clinique (**Mendell 2010, Bowles 2012**) ne montre pas d'amélioration chez les patients traités avec un mini gène *\_R3-R21+H3*.

Plusieurs pistes nouvelles sont actuellement en cours d'étude pour remédier aux problèmes décrits précédemment, notamment le problème de la réponse immunitaire observée dans les derniers essais cliniques. L'utilisation d'un promoteur spécifique au muscle comme celui de la créatine kinase au lieu de promoteurs ubiquitaires, tels que le promoteur fort du cytomégalo virus, pourrait limiter la réponse immunitaire (**Cordier 2001, Hartigan-O'Connor 2001**).

De plus, il est important d'optimiser la méthode de distribution des vecteurs viraux dans l'ensemble des muscles afin d'en utiliser une dose minimale pour diminuer la réponse immunitaire tout en étant efficace. Des études préconisent des injections à haut volume ou haute pression pour assurer une dissémination dans tout le corps (**Su 2005, Cho 2000**).

Une autre piste est l'optimisation des codons des mini-gènes en utilisant les codons optimaux permettant une traduction plus rapide des mini-dystrophines dans les cellules (**Foster 2008**).

Une autre voie de recherche est l'injection d'un mini-gène d'utrophine afin de restaurer une partie des fonctions de la dystrophine tout en évitant une réponse immunitaire anti-Dystrophine (**Odom 2008**). Cependant, l'utilisation de l'utrophine ne permet pas la restauration complète du complexe DGC, ni la liaison de nNOS au sarcolemme (**Li 2010**).

Le principe de la thérapie génique dans le cas des dystrophinopathies repose sur l'observation de patients présentant de grandes délétions en phase dans le domaine central et

un phénotype peu sévère (**Matsumura 1994, England 1990**), soulevant l'hypothèse que le domaine central de la dystrophine est superflu. Ces grandes délétions, décrites dans les années 1990, ont été depuis, très peu observées chez des patients. En 2003, Nevo (**Nevo 2003**) publie une étude sur trois patients présentant de grandes délétions dans le domaine central et présentant un phénotype sévère de type DMD. Ce type d'étude clinique et les propriétés de liaison du domaine central à de nombreux partenaires décrites dans plusieurs études devraient remettre en cause l'intérêt thérapeutique de la thérapie génique actuelle. En effet, un choix objectif des répétitions du domaine central à conserver dans le mini-gène de dystrophine à transfecter semble essentiel à réaliser. Il est donc important de connaître le rôle de toutes les répétitions pour proposer une thérapie génique efficace.

### **3.5.1.2.3 Molécule PTC124 :**

La molécule PTC124 est à la frontière entre la pharmacologie et la thérapie génique. Il s'agit d'une molécule qui induit une translecture du codon stop prématuré par le ribosome (lecture forcée). Elle peut être utilisée dans le traitement des maladies génétiques dues à des mutations non-sens qui conduisent à la formation d'un codon stop prématuré dans l'ARNm, donc à l'arrêt de la traduction de l'ARNm et par conséquent la synthèse d'une protéine plus courte et non fonctionnelle. En permettant le passage du codon stop, le PTC124 pourrait restaurer la production d'une protéine de longueur normale et a priori fonctionnelle. Des essais préliminaires réalisés chez la souris puis chez l'homme ont montré une restauration de l'expression de la dystrophine dans le muscle après traitement. Bien entendu, cette approche thérapeutique ne concerne que les patients porteurs d'une mutation non-sens et non ceux porteurs d'une délétion.

### **3.5.1.2.4 Saut d'exons ou « exon skipping » par des oligonucléotides antisens :**

Il s'agit d'une stratégie innovante inspirée des corrélations génotype-phénotype qui ont montré que les délétions qui respectaient le cadre de lecture, même si elles sont d'assez grande taille, s'accompagnent d'un phénotype modéré en raison de la production d'une Dystrophine de taille réduite mais fonctionnelle si les acides aminés manquants ne sont pas essentiels (**Aartsma-Rus, 2009**). Le phénomène du « saut d'exons » se produit naturellement chez certains patients, avec pour conséquence une atténuation du phénotype attendu. L'idée de cette stratégie thérapeutique est d'induire artificiellement un phénomène d'*exon skipping*

pendant l'épissage des pré-ARNm dans le but d'élargir une délétion qui décale le cadre de lecture pour restaurer ce cadre de lecture. Ceci est rendu possible par l'utilisation de petits oligo-déoxy-ribonucléotides antisens bloquant spécifiquement les sites d'épissage de certains exons. L'efficacité d'une telle technique a été prouvée sur des cultures primaires de myoblastes de souris *mdx* mais également sur des cultures de myocytes issus de patients DMD par délétion de l'exon 45. Des études *in vivo* sur les souris *mdx* a montré qu'après injection intramusculaire d'oligonucléotides antisens, des niveaux presque normaux de Dystrophine pouvaient être obtenus et la fonction musculaire améliorée (Bloetzer 2012, Goyenvalle 2011, Fairclough 2011). Même si, chez l'homme, les délétions sont très variables d'un patient à l'autre, le *skipping* de seulement 12 exons différents pourrait restaurer le cadre de lecture de 75 % des mutations. Il reste encore à résoudre le problème du mode de délivrance de ces oligonucléotides puisque chez la souris, seulement 5 % de la dose d'oligonucléotides antisens délivrée par voie systémique atteint les muscles. Un essai clinique chez l'homme est actuellement en cours, avec injection des oligonucléotides par voie sous-cutanée ; il fait suite à une étude de phase I au cours de laquelle quatre patients atteints de DMD avaient bénéficié d'injections intramusculaires d'un oligonucléotide antisens permettant le saut de l'exon 51, rétablissant ainsi le cadre de lecture (Goemans 2011, Cirak 2011). Chez ces quatre patients, un marquage de la dystrophine en immunohistochimie est apparu au niveau de sites injectés, avec confirmation par western blot.

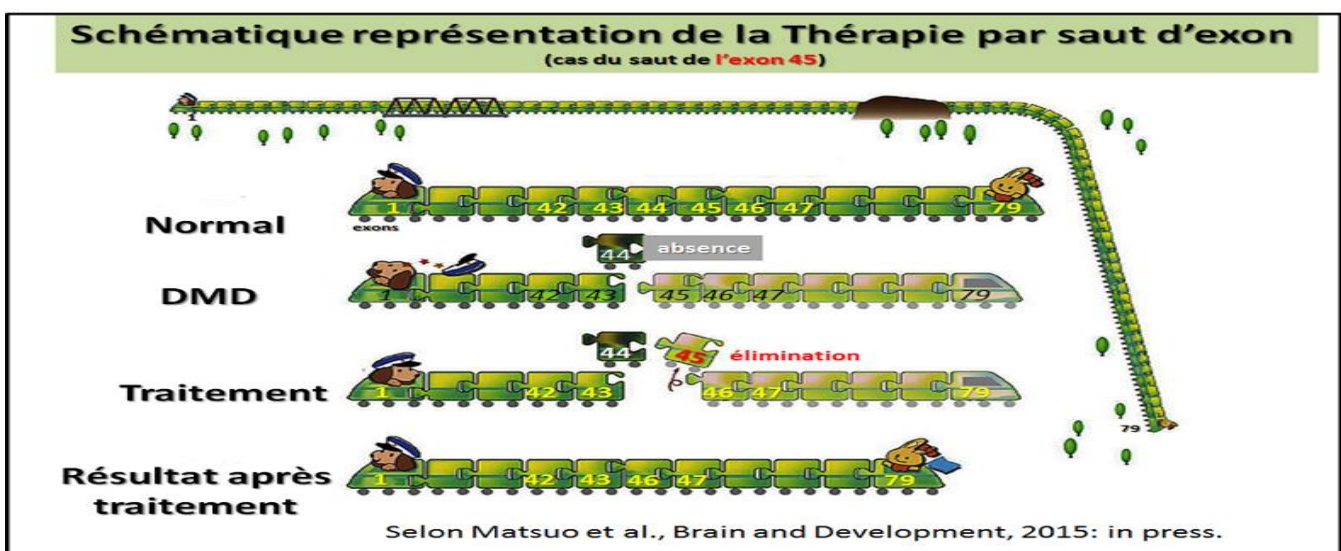


Figure 13 Schématisation de la thérapie par saut d'exon



### 3.5.1.2.5 Up-régulation de l'utrophine :

La surexpression de l'utrophine est une thérapie visant à compenser l'absence de Dystrophine par une surexpression de son paralogue : l'utrophine. L'utrophine et la Dystrophine ont une taille et une structure proche et partagent de nombreux domaines de liaisons (**Fairclough 2011, Tinsley 1992, Winder 1995**). Cependant, l'utrophine est très peu présente dans les muscles squelettiques adultes et est incapable d'assurer toutes les fonctions de liaison de la Dystrophine. Différentes molécules sont étudiées afin de sur-activer le promoteur A responsable de l'expression musculaire de l'utrophine (**Fairclough 2011**). Des études chez la souris ont montré une amélioration du phénotype dans des conditions de vie sédentaires par la restauration du complexe associé à la dystrophine au sarcolemme (**Tinsley 1996, Gilbert 1999**). Le même type d'étude réalisé chez le chien a également montré une amélioration du phénotype (**Cerletti 2003**). Cependant en 2010, **Li et al.**, ont démontré que l'utrophine ne compensait pas complètement la dystrophine chez les souris faisant de l'exercice (**Li 2010**). Un essai de phase I a été réalisé sur une molécule ayant démontré son potentiel thérapeutique chez la souris en diminuant le taux de membranes lésées (**Tinsley 2011**).

### 3.5.1.2.6 La translecture du Codon STOP

La translecture du codon STOP peut être appliquée aux patients présentant une mutation non-sens (mutation conduisant à la génération d'un codon STOP) qui représentent environ 13% des patients DMD (**Fairclough 2011, Bloetzer 2012**).

Les antibiotiques amino-glycosides permettent aux ribosomes d'ignorer les codons STOP et de continuer la synthèse de la protéine. Un essai clinique avec la gentamicine a montré une augmentation de l'expression de la dystrophine et une baisse du taux de créatine kinase dans le muscle squelettique mais il n'a été démontré aucun bénéfice clinique et des questions sur sa toxicité ont été soulevées (**Malik 2010**).

Une deuxième molécule est à l'essai : l'ataluren (PTC124). Cette molécule agit exclusivement sur les codons STOP prématurés. Plusieurs essais cliniques ont été réalisés (dont un en phase IIb) mais les premières analyses n'ont pas montré d'amélioration significative (**Welch 2007, Finkel 2010**). Tous les essais cliniques ont donc été arrêtés mais devraient reprendre prochainement.

### 3.5.1.3 Thérapie cellulaire :

La thérapie cellulaire utilise des cellules souches pour corriger le phénotype des patients DMD (**Farini 2009, Blau 2008, Fairclough 2011**). Une fois transplantées chez le patient, ces cellules doivent fusionner avec les myotubes existant ou en former de nouveaux conduisant à la production d'une dystrophine fonctionnelle (**Price 2007**). Actuellement, il existe deux stratégies.

La première utilise les cellules du patient modifiées génétiquement pour produire une dystrophine fonctionnelle puis réinjectées chez le patient (**Mendell 2006, Chakkalakal 2005**).

La deuxième stratégie utilise les cellules souches d'un donneur sain et injectées chez le patient (**Farini 2009, Partridge 2004**). Les deux méthodes ont leurs avantages et leurs inconvénients.

L'utilisation de cellules du patient permet d'éviter une réponse immunitaire mais leur modification génétique présente une difficulté supplémentaire ainsi que des effets indésirables tels que la transformation des cellules souches pouvant conduire à leur mort (**Rivière 2006, Hacein-Bey-Abina 2003**). L'utilisation de cellules souches d'un donneur sain ne nécessite pas de modification génétique mais elle présente un risque de rejet et nécessite donc une bonne compatibilité immunitaire entre le donneur et le receveur ainsi que l'utilisation d'immunosuppresseurs.

En théorie, la thérapie cellulaire est très prometteuse. En effet, un petit nombre de cellules couplées à un facteur de croissance est nécessaire pour obtenir un effet thérapeutique, mais en pratique, elle présente encore de nombreux obstacles (**Price 2007**). Actuellement, plusieurs recherches portent sur différentes lignées de cellules souches avec des degrés de pluripotence et des potentiels myogéniques différents (**Rouger 2011, Farini 2009, Price 2007**). Quelque soit le type de cellule étudié, les trois principaux critères pour obtenir une thérapie efficace sont la survie, la capacité migratoire et la faible immunogénicité des cellules souches étudiées.

Actuellement les cellules présentant les meilleures chances de succès sont les mesangioblastes (**Price 2007**) et les cellules CD133+ (**Torrente 2007**).

### 3.6 Pronostic et complications :

Les enfants atteints des formes classiques de dystrophinopathies (DMD et BMD) vivent assez rapidement les conséquences du déclin musculaire que provoquent ces affections. Ils ont des difficultés de déplacement en bas âge et se retrouvent le plus souvent en fauteuil roulant autour de l'âge de 12 ans ou avant (**Desguerre, 2009 ; Eagle, 2007**). Les difficultés et complications cardiaques et respiratoires apparaissent le plus souvent vers le début de la vingtaine.

Les complications cardiaques, dont la cardiomyopathie, les anomalies de conduction et les arythmies se retrouvent chez environ le tiers des jeunes de 14 ans et moins et chez toutes les personnes atteintes vers l'âge de 18 ans (**Desguerre, 2009**). Toutefois, les complications cardiaques demeurent asymptomatiques assez longtemps dans la progression de la maladie en raison de la sédentarité qu'impose la maladie. Les complications respiratoires aussi peuvent assombrir le pronostic avec la diminution de la capacité vitale respiratoire (**Bonne et al. 1998**). Leur espérance de vie est considérablement réduite, le décès survenant le plus souvent avant 30 ans (**Eagle, 2007**).



# *Méthodologie*

### 4 Notre étude

Dans le but de mieux approcher les dystrophinopathies et afin de faciliter leur prise en charge, nous avons décidé de mener cette étude pour décrire les différents aspects cliniques, paracliniques et génétiques des dystrophinopathies dans le Service de Neurologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Point "G" Bamako, Mali. Cette étude est incluse dans un protocole plus élargi de recherche sur les maladies neurologiques héréditaires au Mali, financée par les fonds U01HG007044 du « National Institute of Neurological Disorders and Stroke » administré par “National Human Genome Research Institute” comme entité de “NIH Common Fund” des Etats-Unis, une initiative du consortium Human Heredity and Health in Africa (H3Africa).

#### 4.1 Méthodologie :

##### 4.1.1 Cadre et lieu d'étude :

###### 4.1.1.1 Cadre d'étude :

Il s'agissait d'une étude multicentrique dont la partie clinique s'est déroulée dans le Service de Neurologie du CHU du Point "G" et la partie biologique dans le laboratoire de Neurosciences de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS), Bamako, Mali et, au besoin, dans des laboratoires partenaires au National Institutes of Health (NIH) aux U.S.A et University College London(UCL), Londres.

Le C.H.U du Point "G" est un hôpital de 3<sup>ème</sup> référence situé sur une colline au Nord de Bamako.

###### 4.1.1.2 Lieu d'étude :

Notre étude s'est déroulée dans le Service de Neurologie du CHU de Point G dirigé par un Professeur titulaire de neurologie (Chef de Service). Le personnel est composé d'une secrétaire, de quatre médecins spécialistes, sept médecins en spécialisation, 11 étudiants en thèse, deux majors d'infirmiers (A et B), neuf infirmiers et sept techniciens de surface.

Le service dispose de deux salles de consultations et de deux salles d'examens électro-neurophysiologiques (EEG et ENMG), ainsi que de deux (2) unités d'hospitalisations au rez-de-chaussée.

**Unité A :** (18 lits, 10 salles d'hospitalisations dont 2V.I.P, une salle de 1ère catégorie, 6 salles de 2ème catégorie et une salle de 3ème catégorie) avec un bureau pour le major et une salle pour les infirmiers. L'unité est pilotée par trois spécialistes, trois CES, cinq thésards, un major, cinq infirmiers et deux techniciens de surface.

**Unité B :**(19 lits, 10 salles d'hospitalisation dont 2 salles V.I.P, une salle de 1<sup>ère</sup> catégorie, 5 salles de 2<sup>ème</sup> catégorie et 2 salles de 3<sup>ème</sup> catégorie) avec un bureau du major, une salle d'infirmière et une salle de technicien de surface. L'unité est également pilotée par trois spécialistes, quatre CES, six thésards, un major, quatre infirmiers et deux techniciens de surface.

A l'étage, il y'a un bureau et un secrétariat du Professeur, Chef de Service, quatre bureaux pour les spécialistes, une salle des internes, une salle des CES, une salle de formation et de réunion, une salle staff et un laboratoire de biologie moléculaire.

### **4.1.2 Type et période d'étude :**

Il s'agissait d'une étude de recherche active, longitudinale et descriptive. Elle s'est déroulée sur une période allant d'Août 2016 à Février 2018, soit 18 mois.

### **4.1.3 Critères de l'étude**

#### **4.1.3.1 Critères d'inclusion**

Ils sont cliniques et biologiques. Il s'agissait de tous les patients présentant des signes cliniques et/ou biologiques évocateurs de dystrophinopathie, avec ou sans notion de cas familial, ayant consenti verbalement et en écrit.

#### **4.1.3.2 Critères de non inclusion**

Il s'agissait de tout patient non consentant et/ou présentant un autre type de pathologie neurologique héréditaire ou de myopathie, ou vus en dehors de la période de notre étude

## **4.2 Procédure**

### **4.2.1 Enrôlement**

Il s'était fait conformément au protocole de recherche numéro **U01HG007044** sur les maladies neurologiques héréditaires déjà en cours et approuvé par les Comités d'Ethique de la FMOS sous le N° 2017/149/CE/FMPOS et du NIH. La sélection a été faite parmi les familles vues sous le protocole ci-dessus cité et enrôlées après un consentement libre et

éclairé global puis individuel ou un assentiment pour les patients mineurs ou inaptes. Le consentement des patients a été fait dans des locaux sécurisés, non accessible au public pendant l'entretien dans le but de garder les échanges confidentiels. Après présentation des membres de l'équipe de recherche composée de neurologues cliniciens, d'un neurogénéticien et de thésards. Le consentement était obtenu après une explication minutieuse des grandes lignes de l'étude et dans la langue du participant. Le consentement est libre parce que la participation à l'étude de recherche est entièrement volontaire et éclairé car les objectifs et les procédures étaient expliqués en détails avec les risques, inconvénients, inconforts, et les avantages potentiels.

Deux exemplaires de trois fiches de consentements (la fiche de consentement globale de l'étude de recherche **U01HG07044** et les fiches de consentement général pour participer à l'étude et pour l'étude d'ADN de la Branche Neurogénétique du NIH, USA) étaient signés par le participant, l'investigateur et un témoin. Le participant gardait un exemplaire et l'autre était gardé dans les archives de l'étude sous scellé. Certains de ces patients étaient vus au cours de nos consultations neurogénétiques de routine ou référés par des collègues opérant dans d'autres structures. Un numéro d'anonymat unique d'étude était attribué à chaque participant et les familles étaient numérotées par ordre d'enrôlement. Aussi, les parents proches affectés ou non ont été enrôlés pour tester la ségrégation d'éventuelles mutations et servir comme contrôles dans cette étude ou d'autres études futures après consentement.

### **4.2.2 Les examens clinique et paraclinique**

Avant l'examen clinique, l'histoire familiale était recueillie et un arbre généalogique (pédigrée) construit sur un support Power Point. Les patients avaient bénéficié d'un examen clinique réalisé par une équipe pluridisciplinaire comprenant des neurologues (du C.H.U Point "G", C.H.U Gabriel Touré et Hôpital Mère-Enfant Luxembourg) et un neurogénéticien. Un bilan biologique principalement les CPK, mais aussi la LDH, la myoglobine et les hormones thyroïdiennes et complémentaires incluant NFS, VS, CRP, créatininémie, uricémie et une ENMG sont réalisés pour confirmer l'atteinte musculaire d'une part et éliminer les autres étiologies d'autre part. En plus, des consultations spécialisées (cardiologique, pneumologie entre autres) selon l'orientation clinique et les plaintes des patients, ont été demandées pour compléter le tableau clinique. Un traitement symptomatique a été instauré

au besoin pour soulager les patients et leur permettre d'augmenter leur indépendance. Une réévaluation tous les 6 mois a été proposée pour le suivi de l'évolution de la maladie.

### 4.2.3 Génétique et biologie moléculaire

#### **Prélèvement et extraction d'ADN :**

Un prélèvement sanguin de 10ml correspondant à deux cuillérées à soupes a été effectué dans un tube EDTA pour extraire de l'ADN dans le but de faire des analyses génétiques. L'extraction d'ADN a été effectuée en utilisant le Puregene Blood DNA Kit C (QIAGEN, Valencia, CA, USA) qui se compose de:

- RBC cell lysis solution
- Celllysis solution
- Proteinprecipiation solution
- DNA hydration solution
- Guidebook

Les autres réactifs utilisés ne venant pas avec le Kit sont:

- l'isopropranolol pur
- l'éthanol à 70% qui a été préparé dans notre laboratoire en utilisant l'éthanol pur et de l'eau de grade moléculaire.

Nous avons procédé à l'extraction de l'ADN selon le protocole en annexe.

Les parents proches affectés ou non étaient prélevés comme témoins. Le test du gène DMD a été fait dans le laboratoire privé Athena Diagnostics (Atlanta, GA, USA) par PCR Multiplex selon la procédure décrite par Beggs et Chamberlain (Chamberlain *et al.*, 1988 et Beggs *et al.*, 1990).

#### **Amplification de l'ADN par PCR multiplex pour la recherche des macrodélétions du gène de la dystrophine :**

C'est un protocole destinée à amplifier plus d'un amplicon à la fois, généralement en ajoutant un couple d'amorce par type désiré. Les produits de PCR ne seront alors compétitifs que pour la polymérase, les dNTP. La recherche de délétions dans le gène de la dystrophine par deux PCR multiplex selon Chamberlain et Beggs, explorant 19 exons correspondant aux points les plus fréquemment délétés. Cette technique permet de détecter 98% des délétions retrouvées dans 70% des cas de dystrophinopathies.

Chaque réaction de PCR est réalisée dans un volume final de 50µl, contenant 100ng de chaque amorce, 25 mM de dNTP, tampon TC 10X, de la taq polymérase (Eurobio), le DMSO (les conditions d'amplification sont celles décrites par Beggs et Chamberlain). Chaque exon a une taille différente des autres, mais la différence doit être suffisante pour qu'on puisse les distinguer.

L'amplification est réalisée par une réaction de polymérisation en chaîne, ou PCR, qui requiert des amorces pour chaque exon. Les amorces sont des petites séquences d'ADN synthétisées qui se fixent au début et à la fin d'une séquence d'exon. Les petits fragments de gène ainsi obtenus sont séparés par électrophorèse car ils migrent à différentes distances dans une couche de gel et peuvent ensuite être rendus visibles sous forme de bandes de gel, mais à des distances variables. Chaque bande correspond à un des 19 exons amplifiés. Une délétion se manifeste par l'absence d'une ou plusieurs de ces bandes.

L'amplification simultanée de 19 exons du gène de la dystrophine s'effectue par deux mélanges d'oligonucléotides I et II permettant l'amplification de 10 exons et 9 exons simultanément. Les amorces sont choisies de telle façon que les différents produits d'amplification obtenus au sein d'une seule réaction aient de tailles différentes et soient donc facilement individualisés.

- Le mélange I amplifie les exons : 4, 8, 12, 17, 19, 44, 45, 46, 48, 51.

56

- Le mélange II amplifie les exons : Pm, 3, 6, 13, 43, 47, 50, 52, 60.

### **Préparation de la PCR Multiplex :**

1- Vortexer bien le mélange MIX I et MIX II.

2- Dans deux autres tubes Eppendorf de 0,2 ml, déposer 1µl d'ADN du malade et 10µl d'eau distillée dans chacun.

3- Ajouter 35µl du MIX I dans le premier tube et 35µl du MIX II dans le deuxième tube.

4- Placer les tubes dans le thermocycleur contenant le mélange à amplifier et programmer l'appareil à PCR de la manière suivante :

- Dénaturation à 94°C pendant 7 min.

- Hybridation à 56°C pendant 2 min.

- Elongation à 72°C pendant 3 min.

- Dénaturation à 92°C pendant 1 min.
  - Hybridation à 56°C pendant 2 min.
  - Extension finale à 72°C pendant 10 min.
- 5- L'appareil à PCR est mis sur pause à 56°C du premier cycle pour ajouter dans chaque tube 4µl de taq polymérase diluée : 0,8µl de taq polymérase diluée dans 3,2µl d'eau distillée.
- 6- Relancer l'appareil en appuyant sur la même touche après l'extension finale à 72°C, le produit PCR peut être conservé à 4°C.

### **Préparation du gel d'agarose-Nusieve :**

Composition du gel :

- 2% agarose
- 1% Nusieve
- 100ml du TBE X1

Faire chauffer l'agarose/Nusieve au micro-onde pendant 1 à 2 min puis ajouter 10µl de Bromure d'Ethidium.

Laisser refroidir légèrement puis couler le gel et introduire le peigne de façon à ce que les dents forment des puits lors de la polymérisation du gel.

### **Dépôt de l'échantillon :**

Après fixation du gel en position horizontal sur la cuve d'électrophorèse,

- Remplir la cuve avec le tampon TBEX1 jusqu'à ce qu'il recouvre le haut du gel, puis retirer le peigne délicatement.
- Additionner à 12µl du produit PCR 3µl de BBP (Bleu de Bromophénol).
- Déposer dans chaque puits du gel un échantillon en évitant les extrémités du gel.
- Placer les électrodes de façon que la cathode se trouve du côté opposé du dépôt des échantillons par ce que la molécule d'ADN est chargée négativement.
- Brancher le générateur et sélectionner le voltage à 80 volts puis à 100 volts pendant 3 heures jusqu'à la séparation des bandes.
- Examiner le gel sous UV.

### **4.3 Variables**

Des variables sociodémographiques et cliniques ont été évaluées (annexes).

### **4.4 Recueil et analyse des données**

Le recueil des données a été fait sur dossier médical et les informations essentielles sur un fichier Excel. La rédaction du texte sur fichier Word 2010. Les graphes ont été générés à partir de fichiers Excel 2010 et les références par le logiciel Zotero. La fiche d'enquête globale de l'étude générale (annexe) a été utilisée pour le recueil des données. Une autre fiche (annexe) a été utilisée au cours de la consultation pour permettre aux médecins de recueillir toutes les informations possibles des patients souffrant de myopathie.

### **4.5 Considération éthique**

Cette étude a été approuvée par les Comités d'Ethique de la FMOS et du NIH des USA. Les patients et familles ont été enrôlés après un consentement libre et éclairé. Le caractère volontaire de leur participation et la possibilité de leur libre retrait sans répercussion sur la qualité de leur traitement ont été soulignés. Les données et échantillons ont été codés et mis sous scellé. La confidentialité a été renforcée même au sein de l'équipe de recherche en limitant l'accès aux données des patients afin d'éviter une stigmatisation des familles.

### **4.6 Les limites de l'étude :**

La non fonctionnalité de l'IRM durant la période d'étude et la non disponibilité de certaines analyses biologiques qui sont faites à l'extérieur limitent ainsi la sensibilité de nos critères de diagnostic. La biopsie musculaire n'a pu être réalisée chez aucun de nos patients, faute de plateau technique adéquat, limitant ainsi nos explorations paracliniques. L'inaccessibilité de certaines zones ou à d'autres membres de famille limite notre pouvoir d'enrôlement de sujets significatifs, donc l'obtention de bons résultats génétiques. La lenteur de mise en place du laboratoire situé dans le Service de Neurologie du CHU de Point G a retardé certaines expériences telles que le Western Blot et la quantitative RT PCR.

### **4.7 Conflit d'intérêt :**

Les investigateurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt matériel ou financier lié à cette étude.



# *Résultats*

### 5 Résultats:

Sur les 204 familles colisées pendant notre période d'étude dans le protocole de recherche sur les pathologies neurologiques héréditaires, 41 présentaient des pathologies non neurologiques. Cela nous fait donc 163 familles chez qui le diagnostic de pathologie neurologique héréditaire fut évoqué et seulement sept familles totalisant 11 patients présentaient un phénotype de dystrophinopathies.

Ces 11 patients venant de sept familles présentaient les caractéristiques générales suivantes :

- Tous de sexe masculin,
- 10 Phénotype DMD et un phénotype BMD,
- Agés de 02-16 ans au moment de leur enrôlement
- Aucune notion de consanguinité
- 05 patients : cas familiaux (45,5%),
- 06 patients : cas sporadiques (54,5%).

Parmi nos patients étudiés, deux ont totalement perdu leur autonomie, les rendant ainsi dépendant de chaises roulantes et un est décédé à l'âge de 17 ans par suite de Complications pulmonaires dues à l'évolution de la maladie.

## 5.1 Prévalence globale des dystrophinopathies :

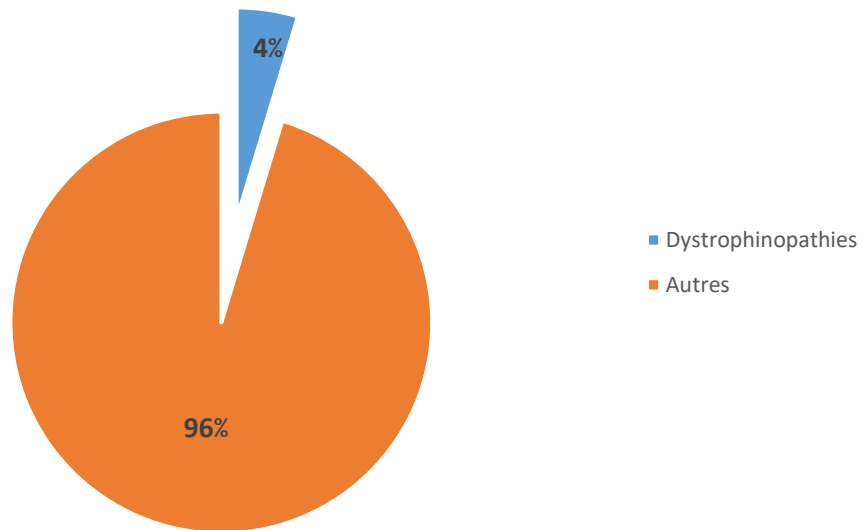


Figure 14 Répartition selon le type de pathologie neurologique héréditaire

Sur les 163 familles enrôlées dans le protocole de recherche sur les maladies neurologiques héréditaires, sept présentaient un phénotype de dystrophinopathies soit **5%** de l'ensemble des familles.

## 5.2 Le type de dystrophinopathie selon le phénotype :

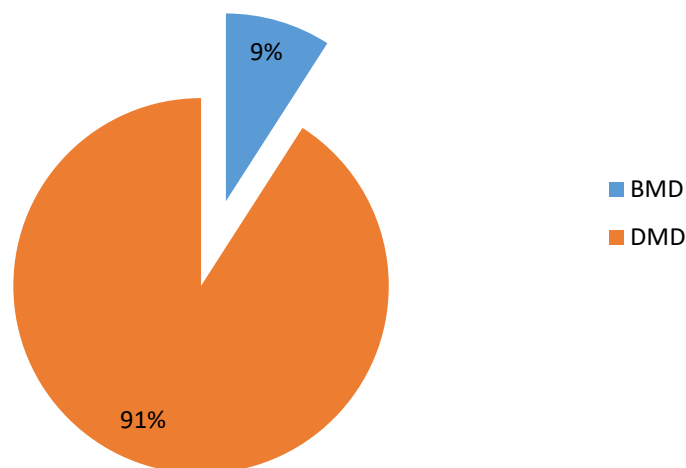


Figure 15 Répartition selon le type de dystrophinopathie

La Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD), forme la plus classique, représente le phénotype le plus retrouvé, soit **91%** des patients enrôlés pour dystrophinopathie contre **9%** pour la dystrophie musculaire de Becker.

## 5.3 Caractère familial ou sporadique :

Tableau 2 Répartition des familles selon caractère familial ou sporadique

Cas	Nombre de familles	Pourcentage
Avec note familiale	<b>04</b>	<b>57,1%</b>
Sporadiques	<b>03</b>	<b>42,9%</b>
Total	<b>07</b>	<b>100%</b>

On a retrouvé une notion de cas similaires dans quatre de nos familles (57,1%) totalisant sept patients (63,6%) et des cas sporadiques dans trois familles (42,9%) totalisant quatre patients (36,4%).

## 5.4 La notion de consanguinité :

Aucune notion de consanguinité n'a été rapportée dans aucune de nos familles.

## 5.5 Le mode de transmission

Tableau 3 Répartition des familles selon le mode de transmission

Mode transmission	Nombre de famille	Pourcentage
Récessive liée à X	<b>04</b>	<b>57,1%</b>
Non évoqué	<b>03</b>	<b>42,9%</b>
Total	<b>07</b>	<b>100%</b>

Le mode de transmission récessif lié à X était évoqué dans quatre de nos famille soit 57,1% et était indéterminé dans 3 familles soit 42,9%.

## 5.6 Le sexe :

La totalité de nos patients étaient de sexe masculin.

## 5.7 Age de début des symptômes :

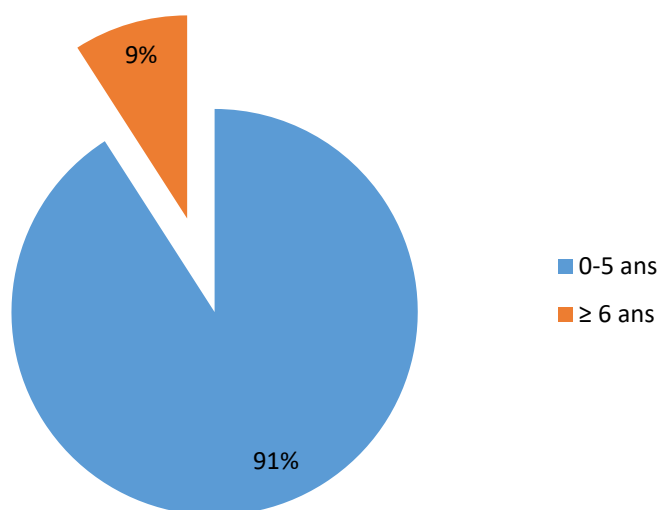


Figure 16 Répartition des patients selon l'âge de début des symptômes.

**91%** de nos patients avaient un âge de début entre **0 et 5 ans** avec un âge moyen de début estimé à **4,7 ans** et des extrêmes allant de **2 à 16 ans**.

## 5.8 Age au moment du diagnostic clinique

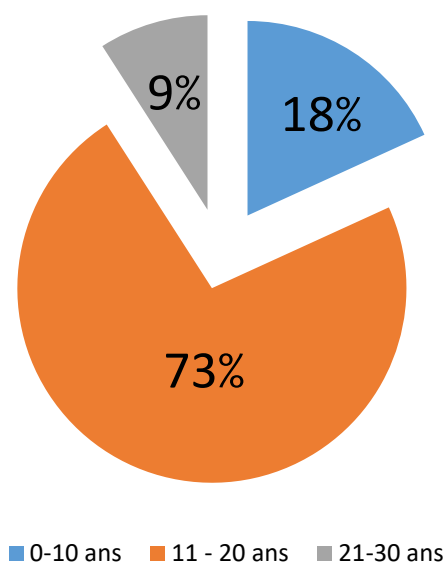


Figure 17 Répartition des patients selon l'âge au moment du diagnostic

**73%** de nos patients avaient entre **11 et 20 ans** au moment du diagnostic clinique.

## 5.9 Le Groupe ethnique :

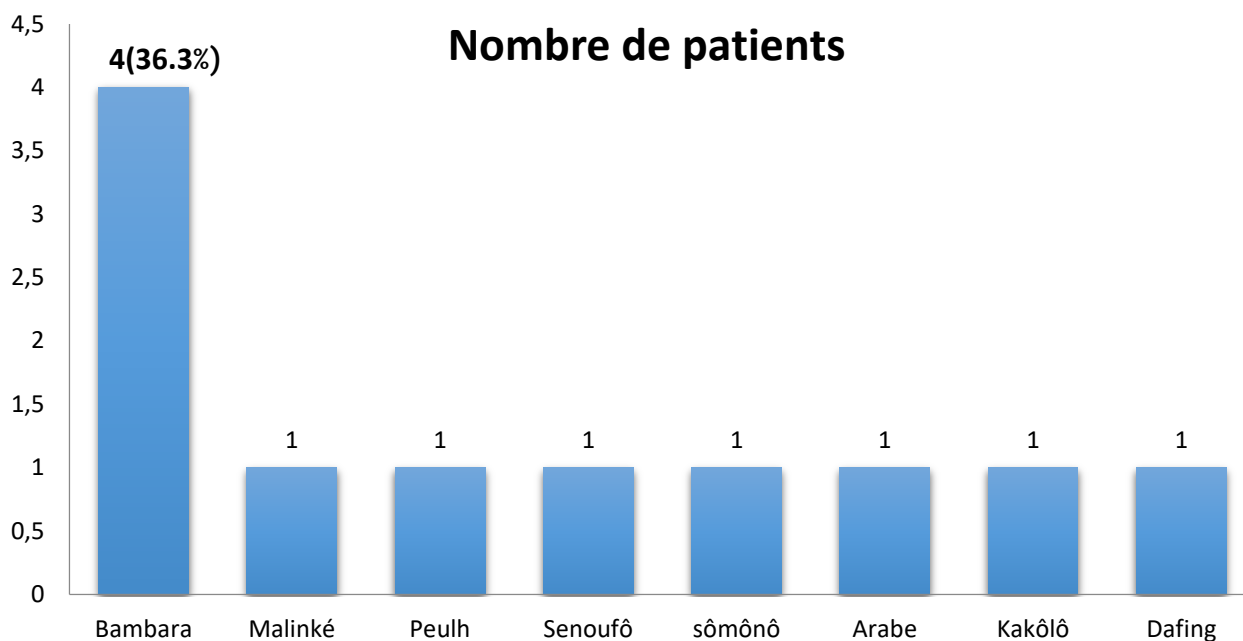


Figure 18 Répartition des patients selon le groupe ethnique

36.3% de nos patients étaient d'ethnie Bambara.

## 5.10 L'origine géographique

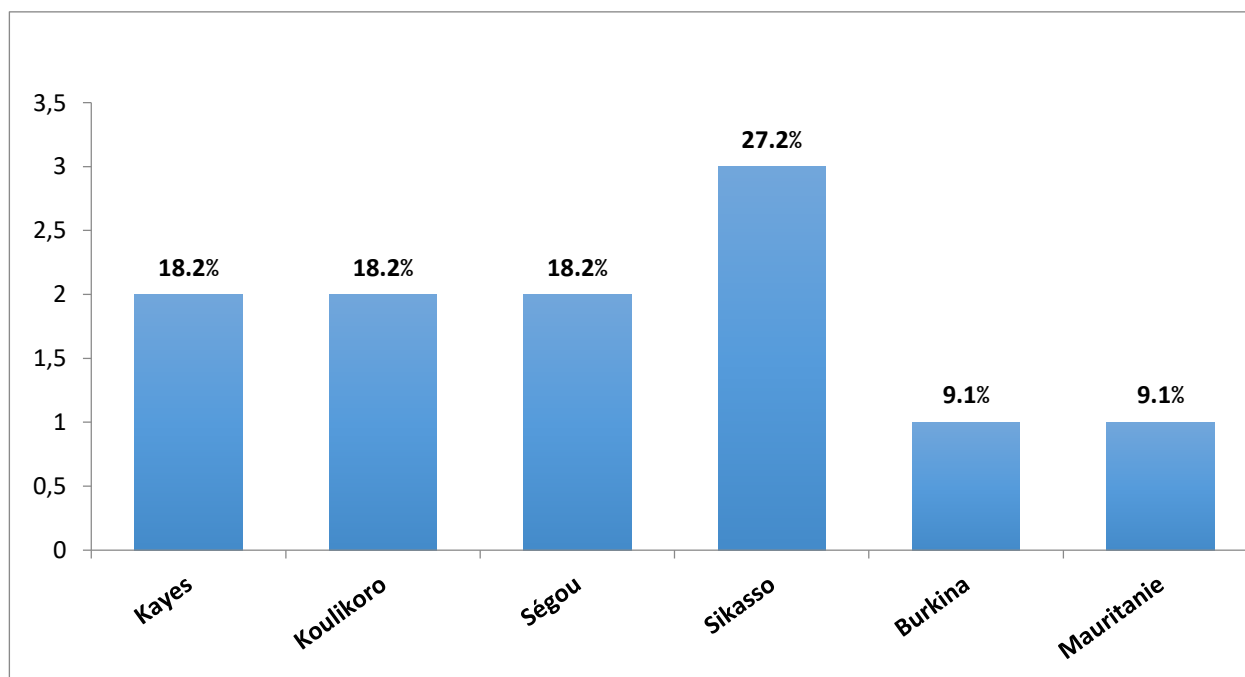


Figure 19 Répartition des patients selon l'origine géographique

27% de nos patients étaient originaire de la région de Sikasso.

### 5.11 Le motif de consultation :

La totalité de nos patients ont consulté pour trouble de la marche.

### 5.12 Les signes cliniques

Tableau 4 : Récapitulatifs de quelques signes cliniques retrouvés chez nos patients

Signes cliniques	Nombres de patients	Pourcentage
Déficit moteur à prédominance proximale des 4 membres	11	100%
Amyotrophie des muscles proximaux	10	91%
Hypertrophie des mollets	11	100%
Reflexes idiomusculaires abolis	11	100%
Déformations rachidiennes	06	54.5%
Déformation ostéotendineuses	05	45.6%
Troubles cognitifs	02	18.2%
Troubles cardio-pulmonaires	02	18.2%
Myalgie	03	27.3%
Perte de la marche	02	18.2%

La totalité de nos patients présentaient un déficit moteur des quatre membres à prédominance proximale, une atrophie, de sévérité variable d'un patient à l'autre, des muscles des ceintures scapulaire et pelvienne, une hypertrophie des mollets et des réflexes idiomusculaires abolis.

### 5.13 Le bilan paraclinique

Tableau 5 Résultats du bilan paraclinique

Résultat	de	Nombre patient	Pourcentage
EMG	Tracé riche en unités motrices, potentiels polyphasiques de courte durée et de faible amplitude	11	100
Taux de CPK	Elévé	11	100
ECG et Echo Cœur	Sans anomalies	11	100



Chez la totalité de nos patients, l'électromyogramme (EMG) était en faveur d'une atteinte myogène avec des tracés riches en unités motrices et des potentiels polyphasiques de courte durée et de faible amplitude.

Le taux sérique de créatine phosphokinase (CPK) était largement au-dessus de la normale (29-200 UI) avec une moyenne de 4405UI /l et des extrêmes allant de 212 à 8572 UI/l.

Le bilan cardiaque a été réalisé chez la totalité de nos patients et n'a révélé aucune anomalie.

### 5.14 Le test génétique :

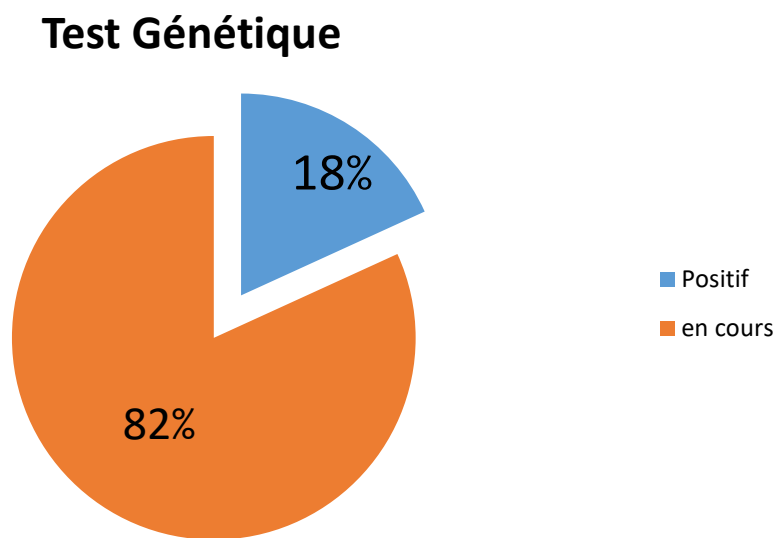


Figure 20 Répartition selon le résultat du test génétique

Le test de confirmation génétique a été demandé chez tous nos patients, deux sont positifs avec une délétion des exons 49 et 50 pour l'un et des 46 à 51 pour l'autre.

Le test est toujours en cours pour les neuf autres patients.

### 5.15 La prise en charge :

#### 5.15.1 Médicale :

Une corticothérapie à base de **Prednisone** avec des mesures hygiéno-diététiques rigoureuses a été instaurée à la dose de 0,75mg/Kg/jr chez **54,5%** de nos patients suite à l'aggravation des troubles de la marche.

Le paracétamol a été utilisé chez **18,2%** de nos patients qui se plaignaient de myalgie.

### **5.15.2 Orthopédique :**

La rééducation fonctionnelle a été proposée à tous nos patients dans le but soit de retarder la perte de la marche soit de diminuer l'importance des rétractions musculo-tendineuses mais seulement **27,3%** ont bénéficié de séances de kinésithérapie en ambulatoire.

### **5.16 Evolution :**

Un suivi correct a été fait chez seulement quatre de nos patients soit 36%. L'évolution était marquée chez deux de nos patients sous corticothérapie par une régression significative des troubles de la marche avec cependant une prise de poids et un tableau d'anasarque ayant motivé un arrêt progressif de la corticothérapie. Un allongement du temps d'autonomie a été observé chez les patients ayant bénéficié des séances de kinésithérapie.

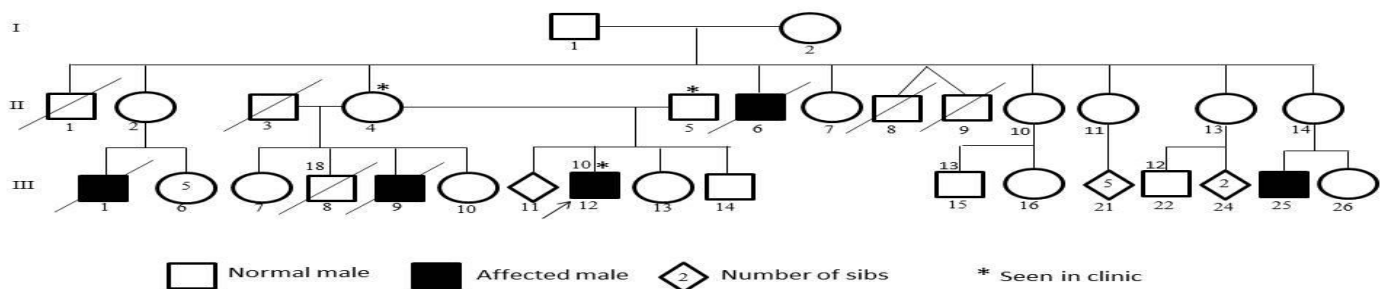
Deux patients ont présenté, de façon progressive, une perte totale de la marche et un patient est décédé suite aux complications respiratoires à l'âge de 17 ans.

**5.17 Les Observations :**

**5.17.1 Famille 1 :**

Il s'agit d'une famille Malienne d'ethnie malinké originaire de la région de Kayes, dont le patient index a été vu en consultation Neurogénétique le 17/04/2014 à l'âge de 10 ans pour des troubles de la marche évoluant depuis l'âge de 4 ans.

L'interrogatoire a permis de retrouver dans les antécédents personnels du patient un retard d'acquisition de la marche, et dans les antécédents familiaux, des oncles maternels, des cousins du côté maternel, et un demi-frère (de même mère mais de père différent) qui présentaient les mêmes symptômes et en seraient décédés. Le patient index est issu d'une famille polygamique recomposée et est le septième enfant d'une fratrie de 9 enfants (Fig.22).



**Figure 21 Pédigree de la famille 1. Notez que seuls les garçons sont atteints et on ne suspecte aucune transmission à partir des hommes. La flèche indique le patient index et l'asterix les sujets vus en consultation.**

Selon l'histoire de la maladie, le début des symptômes remonterait à ses 4 ans marqué des difficultés à la marche et à courir comme ses camarades. L'évolution se fait progressivement vers des chutes fréquentes et une marche dandinante de plus en plus altérée, des performances scolaires médiocres avec troubles de l'attention et de la concentration et une hyperactivité.

L'examen Neurologique a retrouvé un déficit moteur des quatre membres à prédominance proximale, une amyotrophie des muscles trapèzes avec discret décollement scapulaire bilatéral, une hypertrophie bilatérale des mollets, des réflexes idiomusculaires abolis, des réflexes ostéotendineux diminués aux quatre membres, un raccourcissement bilatéral du

tendon d'Achille, une hyperlordose lombaire et les signes de Gowers, du tabouret et du foulard. La marche était dandinante et sur la pointe des pieds avec projection du buste en avant.

Au vu des éléments de l'interrogatoire et de l'examen physique, l'hypothèse de DMD fut évoquée. Des prélèvements sanguins furent ainsi effectués pour le bilan complémentaire (CPK : 10720 UI/l, ASAT : 141 UI/l, ALAT : 309 UI/l, LDH : 1311 UI/l) et le test génétique. L'ENMG a montré un tracé myogène et la consultation cardiologique n'a relevé aucune anomalie.

**Résultat du test génétique** : Délétion des Exons 46 à 52 sur le gène DMD.

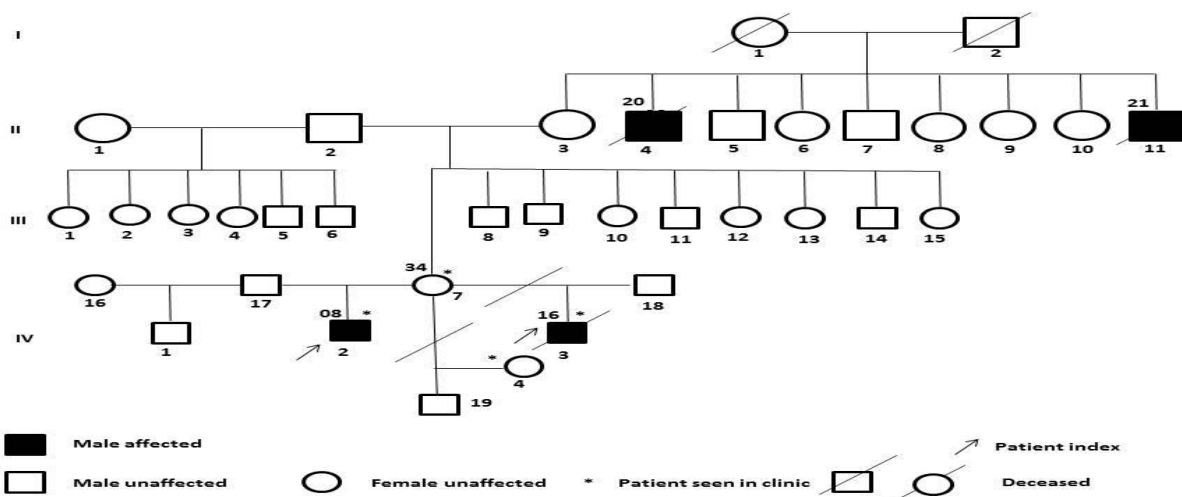
**Evolution** : le patient est revu le **16/08/2016** pour l'annonce du résultat du test génétique et réévaluation clinique. Lors de cette consultation, les parents signalent une aggravation des symptômes, le patient a de plus en plus de difficultés à se relever de lui-même avec accentuation de la lordose et des troubles psycho-comportementaux (déficit de la mémoire à court terme, de l'attention, de la concentration, trouble de la compréhension et incoordination idéative).

Un traitement à base de Prednisone associés aux mesures hygiéno-diététiques fut instauré à raison de 40mg par jour. Rendez-vous avait été donné pour un mois plus tard mais ni le patient ni la famille n'ont été revus depuis.

### 5.17.2 Famille 2 :

Il s'agit d'une famille dont les enfants sont multi ethniques (Bambara, Peulh et Malinké), recomposée, polygame et dont les deux patients index ont été vus en consultation Neurogénétique, l'un pour perte totale d'autonomie et l'autre pour trouble de la marche d'installation progressive.

Dans les antécédents personnels, on retrouve un retard d'acquisition de la marche chez les deux patients, et dans les antécédents familiaux, il ressort des notions de cas similaires dans la famille de leur mère. Les deux patients sont des frères de même mère mais de père différents ce qui sous-entend une transmission maternelle, récessive liée à X (Fig.23)



**Figure 22** Pédigrée de la famille 2 : A noter que seuls les garçons sont atteints et l'individu IV.7 a eu deux garçons de mariages différents qui ont la maladie et en plus sa mère a perdu deux frères dans les mêmes conditions.

**Patient 1:** vu le **24/05/2016** à l'âge de 16 ans pour perte progressive et totale de la marche dont le début remonterait à ses 5 ans marqué par des troubles de la marche d'apparition progressive occasionnant des chutes fréquentes et des difficultés à courir et à monter les escaliers. Les symptômes se sont progressivement aggravés, aboutissant à une impotence fonctionnelle totale des membres inférieurs vers l'âge de 11 ans, rendant le patient dépendant d'une chaise roulante. Des épisodes périodiques de dyspnée assimilés à des crises d'asthme sont rapportés par la mère et pour lesquels il a été mis sous ventoline.

L'examen neurologique a retrouvé un déficit moteur des quatre membres à prédominance proximale, une amyotrophie diffuse scapulo-humérale avec décollement scapulaire bilatéral, une posture ankylosante des coudes, des poignets, des genoux et des pieds, des réflexes ostéotendineux et idiomusculaires abolis et une scoliose à concavité gauche. La marche était impossible.

Au vu de ce qui précède, l'hypothèse de DMD fut évoquée. Un prélèvement sanguin fut effectué en vue du bilan complémentaire et du test génétique (toujours en cours). Les CPK sont ainsi revenus à 651UI/l, l'ENMG a montré des tracés évocateurs d'une atteinte myogène pure et l'examen cardiaque (auscultation, ECG et Echocardiographie) était sans anomalie.

### **Evolution :**

Le patient est revu le **08/06/2016** pour pneumopathie infectieuse nécessitant la mise en route d'un traitement avec rémission complète.

Le patient est encore revu le **15/12/2016** avec des plaintes spécifiques dont une hypotonie des muscles du cou qui ne supportent plus sa tête. A l'examen, on note l'apparition d'une retraction tendineuse au niveau des coudes et des genoux. Le patient est alors mis sous cortancyl 30 mg par jour avec des mesures hygiéno-diététique.

Le patient est revu le **24/01/2017** pour douleurs thoraciques, toux et insomnies. Notre examen a retrouvé des râles crépitants dans les deux champs pulmonaires et une forte fièvre. Il est alors mis sous Amoxicilline+Acide Clavulanique dosé à 1000/125 mg à raison 2000/250 mg/jr.

Le patient est revu le **24/05/2017** pour détresse respiratoire, toux et courbatures, une récurrence de pneumopathie infectieuse est évoquée et Amoxicilline+Acide Clavulanique a été ré-introduit en plus du méthylprednisolone et Solumedrol.

Le patient décédera suite aux complications pneumorespiratoires de sa maladie trois jours plus tard à l'âge de 17 ans.

**Patient 2 :** vu le **24/05/2016** à l'âge de 9 ans pour trouble de la marche d'installation progressive dont le début remonterait à ses 3 ans marqué par des chutes fréquentes, des difficultés à passer de la position couchée/assise à la position debout et à courir sans être essoufflé ou sans chuter. Le patient signale souvent une myalgie diffuse aux membres inférieurs.

L'examen neurologique a objectivé des troubles du comportement à type de déficit de l'attention et d'hyperactivité, un déficit de la mémoire à court terme, un déficit moteur à prédominance proximale aux membres inférieurs, une légère amyotrophie des muscles de la ceinture scapulaire avec décollement scapulaire discret et bilatéral, une hypertrophie des mollets, des réflexes ostéotendineux et idiomusculaires abolis aux quatre membres, les signes de Gowers, du tabouret et du foulard étaient présents. Il avait une marche altérée dandinante sur la pointe des pieds avec projection du buste en haut et en avant.

L'hypothèse de DMD a été retenue et un prélèvement sanguin pour test génétique a été effectué ainsi que pour le dosage des CPK revenu à 212UI/l. L'ENMG a montré des tracés

en faveur d'une atteinte myogène pure. La consultation cardiologie n'a trouvé aucune anomalie.

Un traitement à base de paracétamol pour les myalgies à la dose de 900mg par jour repartis en 3 prises en plus de séances de rééducation fut mis en route.

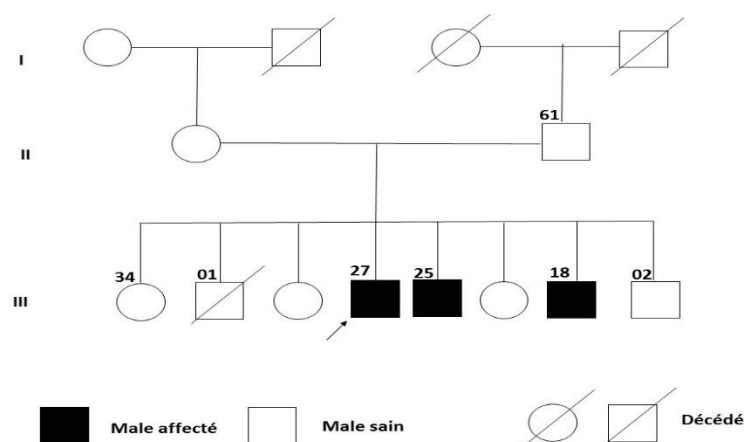
### Evolution :

Le patient est revu le **15/12/2016** pour augmentation de la fréquence des chutes et persistance de la myalgie aux membres inférieurs. Notre examen a objectivé une aggravation du déficit moteur aux membres inférieurs et une marche légèrement plus altérée. Le patient fut alors mis sous corticothérapie, Prednisone à la dose de 30 mg quotidien dont 20 mg le matin et 10 mg à midi. Un traitement adjuvant et un régime hyposodé furent associés.

Le patient est revu le **20/04/2017** pour prise de poids attribuée à la corticothérapie et l'apparition d'une perte de force aux membres supérieurs. Notre examen a retrouvé un déficit moteur des 4 membres à prédominance proximale. Un arrêt progressif de la corticothérapie et une augmentation du nombre de séances de kinésithérapie furent proposés.

### 5.17.3 Famille 3 :

Il s'agit d'une famille d'ethnie Dafing originaire, du Burkina Faso dont le patient index âgé de 27 ans a été vu en consultation neurogénétique le **09/11/2017** pour perte progressive de la marche. L'interrogatoire a permis de dresser le pedigree (Fig. 24), de retrouver un antécédent de baisse brutale de l'acuité visuelle et une notion de cas similaires dans la famille.



**Figure 23** Pédi-grée de la famille 3 : Notons que trois individus de sexe masculin de la même fratrie sont affectés



Le début des symptômes remonterait à ses 16 ans marqué par des troubles de la marche associées à des chutes fréquentes et des difficultés à passer de la position couchée/assise à la position debout. Les symptômes se sont aggravés au fil des années aboutissant à une impotence fonctionnelle totale des membres inférieurs.

L'examen neurologique a retrouvé un déficit moteur des quatre membres à prédominance proximale, des réflexes idiomusculaires et ostéotendineux abolis, une amyotrophie des muscles des ceintures scapulaire et pelvienne, une marche impossible et un signe du foulard positif le tout évoluant progressivement dans un contexte familial.

Sur la base du mode de transmission suspecté et du tableau clinique, l'hypothèse de dystrophie musculaire de Becker (BMD) a été émise. Cependant, une myopathie des ceintures est possible, à cause de l'âge tardif de début des symptômes.

Ainsi un prélèvement sanguin pour test génétique (toujours en cours) et un dosage des CPK (748 UI/l) a été fait. L'ENMG a montré des tracés évocateurs d'une atteinte myogène pure.

# *Commentaires/Discussions*

### 6 Commentaire et discussion :

Les dystrophinopathies constituent un groupe d'affections musculaires cliniquement et génétiquement hétérogène, liées à des mutations dans le gène *DMD* codant pour la Dystrophine. Ce sont des pathologies récessives liées à l'X dont les formes les mieux connues sont les dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker mais d'autres formes ont été plus récemment décrites : cardiomyopathie isolée, intolérance à l'effort, femme porteuse symptomatique et l'hyperCKémie isolée (**C. Fernandez et al. 2010**).

Classiquement, elles se manifestent par un déficit moteur prédominant aux racines des membres et d'évolution progressive avec un âge de début variable en fonction du phénotype dystrophinopathique. Elles se transmettent selon le mode récessif lié à X, ce qui rend les garçons plus susceptibles de développer la maladie. Cependant aucune corrélation n'a été bien établie entre le génotype et le phénotype. Le diagnostic paraclinique passe par le dosage des enzymes musculaires, l'électromyographie, l'histologie et l'immunohistochimie de la biopsie musculaire.

Notre travail, qui est une étude multicentrique, s'est déroulé dans Service de Neurologie du C.H.U du Point G pour sa partie clinique, dans notre laboratoire de Neurosciences de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) de Bamako, pour sa partie biologique et au besoin dans les laboratoires partenaires de la National Institute Of Health (NIH) des USA et de l'University College London (UCL) en Grande Bretagne.

C'est une étude de recherche active, longitudinale et descriptive s'étant étendue sur une période de 18 mois et elle a traité des aspects cliniques, paracliniques et génétiques des dystrophinopathies. Elle a porté sur 11 patients provenant de 7 familles. Tous les patients de sexe masculin et étaient âgés de 2 à 27 ans.

Cette étude est la toute première de cette envergure dans notre pays ayant caractérisé autant de cas de dystrophinopathies sur le plan clinique et paraclinique et ayant apporté des preuves génétiques. Elle a permis, en outre, de jeter les prémises des spectres clinique, paraclinique et génétique encore mal connus des dystrophinopathies au Mali, les études antérieures ayant inclus moins de familles (**K.G Meilleur et al. 2011**) ou s'étant limitées à une caractérisation clinique et biologique pour certaines (**M.S Konaté, 2013**). Elle a contribué aussi à faire la prise en charge symptomatique des patients atteints de ces pathologies dans les limites du

financement disponible de l'étude par patient. La non faisabilité des analyses génétiques telles que le séquençage ciblé de panel de gènes sur place, de l'IRM et la biopsie musculaire et de la kinésithérapie ont constitué les limites de la présente étude.

### 6.1 Epidémiologie :

Durant la période de notre étude, la fréquence des dystrophinopathies était estimée à **5%** sur l'ensemble des pathologies neurologiques héréditaires étudiées dans le protocole. Ce résultat est différent de ceux de **Meilleur K.G et al. (2011)** et **Konaté MS (2013)** qui avaient retrouvé une fréquence de 10,5 % et de 15,4% de dystrophinopathies respectivement dans une étude pilote sur les pathologies neurologiques héréditaires et sur l'ensemble des dystrophies musculaires au service de Neurologie du CHU du Point G. Cette différence s'expliquerait par le type d'étude, la méthodologie utilisée et surtout par la taille de l'échantillon, la première étude n'ayant enrôlé que 11 familles avec des pathologies neurologiques héréditaires et la seconde exclusivement des patients atteints de dystrophie musculaire comparativement à notre échantillon qui était de l'ordre de **590**. Dans notre étude, le type le plus retrouvé était le type DMD avec 91% des cas. Ce résultat, bien que nettement supérieur, confirme ceux de **Salima B. (2006)** en Algérie et de **Pop A et al. (2015)** en Roumanie qui avaient retrouvé respectivement dans leurs séries 54,5% et 68% de phénotype DMD sur l'ensemble des patients souffrant de dystrophinopathies. Cependant, il est à noter que nous n'avons pas encore une confirmation génétique pour tous nos patients. Aussi, d'autres patients dans notre cohorte, présentant un tableau clinique de myopathie, non pris en compte dans cette étude, pourraient avoir une dystrophinopathie, ce qui pourrait changer nos chiffres. Jusqu'à 63,6% de nos patients avaient des antécédents familiaux de cas similaires contre 36,4% de cas sporadiques, ce résultat est proche de celui de **Salima B. (2006)** qui a retrouvé 61% de cas familiaux contre 39% de cas sporadiques, cela confirme les données de la littérature qui estime les cas sporadiques dans les grandes séries à environ 30 à 40%. Aucune notion de consanguinité n'a été établie chez aucun de nos patients malgré le taux très élevé de mariages consanguins dans notre contexte, contrairement à la série de **Salima B. (2006)** qui avait retrouvé une consanguinité parentale chez 43% de ses patients. Le mode de transmission suspecté était le mode récessif lié à X chez 63,6% de nos patients et était non établi chez 36,4% de nos patients considérés comme des cas sporadiques.

Cependant, cette notion de cas sporadiques pourrait évoluer quand nous aurons les résultats du test génétique de tous nos patients et de leurs parents. Dans notre étude, **73%** des patients avaient un âge compris entre 11 et 20 ans au moment du diagnostic clinique avec un âge moyen de 12,3 ans. Ce résultat est différent de celui de **Anita P. et al. (2015)** qui avaient dans leur série, trouvé un âge compris entre 4,33 et 16,5 ans pour l'ensemble de leurs patients. Cette différence s'explique principalement par la méconnaissance de ces pathologies ou un manque de structures adéquates pour leur diagnostic dans notre contexte entraînant ainsi un retard dans le diagnostic clinique. Dans notre étude, l'âge de début des symptômes variait de 2 à 5 ans chez 91% de nos patients avec un âge moyen de début de 4,7 ans. Cet âge moyen est proche de celui rapporté par **Sadanand D et al. (2015)** en inde qui avait retrouvé un âge moyen de début des symptômes de 3,93 ans.

La totalité de nos patients sont de sexe masculin. Ce résultat est similaire à celui de **Salima B. (2006)** dont 100% des patients étaient aussi de sexe masculin, mais différent de celui de **Anita P et al. (2015)** chez qui 13% des patients étaient de sexe féminin et 87% de sexe masculin. Cette différence s'explique par le type d'étude et la méthodologie utilisée mais surtout par l'échantillonnage, leur étude ayant inclus les mères et les sœurs asymptomatiques des patients atteints de dystrophinopathies.

### **6.2 Données sociodémographiques :**

Dans notre étude, 36,3% des patients étaient d'ethnie Bambara, cette prédominance s'expliquerait par le fait que l'ethnie Bambara est majoritaire dans notre pays. Une autre explication pourrait être l'absence d'effet fondateur de cette pathologie dans notre pays.

La majorité de nos patients étaient originaires de la région de Sikasso au sud-est du pays avec 27,3%. Ce résultat est dans la même ligne que celui de l'ethnie puisqu'il s'agit d'une région à forte concentration de Senoufo et de Bambara. Nous notons néanmoins que certains de nos patients d'ethnies Dafing et Arabe étaient originaires de pays voisins, en occurrence le Burkina et la Mauritanie.

### **6.3 Données cliniques :**

La totalité de nos patients ont consulté pour troubles de la marche. Ceci est en conformité avec l'histoire et l'évolution naturelle des formes classiques de ces pathologies qui se

manifestent à leur début par une altération de la démarche et des chutes répétitives aboutissant à la perte totale de la marche à moyen et long terme.

Dans notre étude, à l'examen physique, 100% de nos patients présentaient un déficit moteur des quatre membres à prédominance proximale, une hypertrophie des mollets et des réflexes idiomusculaires abolis aux quatre membres d'apparition progressive. Ce résultat est similaire à celui de **Sadanand D. et al. (2015)** qui avaient retrouvé un déficit moteur proximal chez 100% de leurs patients. Par contre l'amyotrophie des muscles des ceintures scapulaire et pelvienne retrouvée chez 91% de nos patients, apparaît moins dans l'étude de **Sadanand D. et al. (2015)** soit 32%.

Des déformations rachidiennes étaient retrouvées chez 54,5% de nos patients, ce résultat est proche de celui de **Konaté M.S (2013)** qui avait retrouvé une attitude lordotique chez 50% de ses patients DMD. Environ 46% de nos patients présentaient une rétraction ostéotendineuse due à l'évolution naturelle de la maladie. Ce symptôme apparaît plus dans l'étude de **Sadanand D. et al. (2015)** qui l'avaient objectivé chez 60,4% de leurs patients. Cette disparité numérique s'expliquerait par la différence de taille de nos échantillons mais aussi du délai de surveillance ou de la survie des patients. Notre échantillon est nettement inférieur et le temps de suivi plus court. Les troubles cognitifs étaient présents chez 18% de nos patients, contrairement aux études de **Anita P et al. (2015)** et **Sadanand D. et al. (2015)** qui les avaient objectivés respectivement chez 31% et 32,3% de leurs patients. Il est néanmoins proche de celui de **Salima B. (2006)** chez qui 15% des patients présentaient des troubles cognitifs.

Nous avons retrouvé des manifestations pulmonaires chez 18% de nos patients à type de pneumopathie infectieuse, mais il serait difficile d'imputer avec certitude cette pneumopathie à l'affection musculaire étant donné nos moyens d'exploration respiratoire limités.

Sur le plan fonctionnel, 18% de nos patients avaient perdu la marche. Ce résultat est différent de celui de **Salima B. (2006)** qui avaient observé la perte de la marche chez 42,2% de ses patients. Cette différence numérique, bien qu'importante, s'expliquerait par la différence de tailles de nos échantillons mais aussi de la durée de suivi.

Une myalgie a été notée chez 27,3% de nos patients. Il s'agit d'un signe fonctionnel inconstant et qui peut même être révélateur de la maladie dans certaines formes de dystrophinopathies.

### 6.4 Données paracliniques :

Dans notre étude, 100% des patients avaient un taux de CPK élevé et des tracés myogènes purs à l'EMG. Ce résultat est similaire à celui de **Salima B. (2006)** qui avait aussi retrouvé un taux de CPK élevé et des tracés myogènes chez la totalité de ses patients. Cela s'explique par le fait que le dosage de la CPK et l'EMG sont des examens permettant de dépister toute affection musculaire quelle que soit son origine.

L'ECG et l'Echocardiographie étaient sans particularité chez la totalité de nos patients, contrairement à la série de **Sadanand D. (2015)** où 7,5% des patients présentaient une onde Q anormal à l'ECG et 7,4% avaient une cardiomyopathie dilatée à l'échocardiographie. Cela pourrait s'expliquer par la taille de leur échantillon mais aussi par la régularité du suivi des patients dans leur étude contrairement à la nôtre où le suivi n'était pas effectif pour des raisons logistiques ou liées aux patients et leurs familles.

L'IRM musculaires et la biopsie musculaire, quoique progressivement abandonnée, n'ont pas été réalisées à cause de difficultés techniques et infrastructurelles. Les études futures prendront en compte ces aspects pour une plus grande caractérisation

### 6.5 Données génétiques :

Durant l'étude, un prélèvement sanguin pour test génétique à la recherche d'une mutation sur le gène *DMD* a été réalisé chez tous nos patients. Nous n'avons que deux résultats à ce stade et ils sont positifs avec des délétions d'exons sur le gène *DMD*. Le test génétique est toujours en cours chez les 9 patients (82%) restant au moment où nous vous présentons les résultats de notre étude. A ce stade, le type de mutation le plus retrouvé est une délétion d'exons 46-51 et 49-50 sur le gène *DMD*.

Cette tendance, même si susceptible de changer, est différente de celle de **Salima B. (2006)** qui avaient retrouvé 52% de délétions et de **Sadanand D. et al. (2015)** avec 90% de délétions. La différence pourrait venir de la faible taille de notre échantillon. A noter que **Meilleur KG (Meilleur K.G et al. 2011)** avait trouvé une mutation ponctuelle et une délétion dans deux familles maliennes.



Nos deux patients avec un test positif présentaient un phénotype DMD. De telles mutations sont connues pour être fréquemment incriminées dans la survenue de formes classiques DMD (**Desguerre, 2009**).

Notre étude confirme ainsi la corrélation théorique qui pourrait exister entre le phénotype et l'anomalie génétique sous-jacente.

### **6.6 Prise en charge :**

Il n'existe à ce jour aucun traitement curatif connu pour les dystrophinopathies. La prise en charge de nos patients était de ce fait symptomatique et palliatif dans une certaine mesure.

Une corticothérapie de courte durée a ainsi été instaurée chez 54,5% de nos patients qui n'avaient pas encore une marche très altérée. La corticothérapie avait été prouvée bénéfique même si le moment de prescription fait toujours débat (**C. Fernandez et al. 2010**).

Des antalgiques à base de paracétamol ont été prescrits chez **27,3%** qui se plaignaient de myalgie.

Malgré que la rééducation ait été proposée à l'ensemble de nos patients dans le but d'améliorer leur pronostic fonctionnel à court et moyen terme, seuls **27,3%** en ont bénéficié. Cette inobservance dans la rééducation fonctionnelle s'explique par le fait que la majorité de nos patients résident hors de Bamako où se concentre la quasi-totalité des centres de rééducation du pays.

Des essais cliniques pour évaluer certains traitements curatifs qui ont déjà donné des résultats encourageants chez la souris sont en cours, certains (Translarna®) ayant même reçu une autorisation de mise sur le marché conditionnelle aux états unis et en Europe (Institut de Myologie, France).

### **6.7 Evolution :**

Chez **91%** de nos patients qui présentaient un phénotype DMD, l'évolution était d'allure plus rapide que chez les **9%** restants qui présentait un phénotype BMD. Ces données sont confortées par celles de la littérature qui stipule que la DMD correspond à un phénotype plus sévère et plus rapidement progressif que la BMD (**Bussel B et al., 2002**)

L'évolution était aussi marquée par la perte de la marche chez **27,3%** de nos patients, des complications respiratoires chez un seul patient DMD jusqu'à ce jour et qui en est décédé par la suite à l'âge de 17 ans.

# *Conclusion/Perspectives*

### 7 Conclusion et perspectives

Les dystrophinopathies sont un groupe hétérogène sur le plan clinique, paraclinique et génétique. Il s'agit d'affections héréditaires touchant de façon primitive tous les muscles de l'organisme avec une sévérité et un profil évolutif variable d'un type à l'autre.

Bien que bien décrites ailleurs, le Service de Neurologie du CHU du Point "G" a servi de cadre pour cette étude de recherche active, longitudinale et descriptive, sur les aspects cliniques, paracliniques et génétiques des dystrophinopathies. Au terme de cette étude nous avons enregistré 11 patients provenant de sept familles, avec une fréquence globale des dystrophinopathies à 5% parmi les pathologies neurologiques héréditaires et le type DMD représentait 91% de l'ensemble des dystrophinopathies. L'ethnie Bambara était la plus représentée et l'origine géographique la plus retrouvée était la région de Sikasso. Le principal motif de consultation était les troubles de la marche. Seuls les deux phénotypes classiques (DMD et BMD) ont été retrouvés dans notre étude associant chez un garçon : un déficit moteur des quatre membres, une abolition des réflexes idiomusculaires, une hypertrophie des mollets, une amyotrophie des muscles des ceintures scapulaires et pelviennes, des déformations rachidiennes, des rétractions tendineuses et déformations squelettiques, une marche altérée dandinante, le tout évoluant progressivement depuis l'enfance ou l'adolescence. Environ 18% de nos patients présentaient des troubles cognitifs associés à leur tableau, ce qui pourraient supposer l'implication des isoformes B et P (B pour Brain et P pour cellules de Purkinje du Cervelet) de la protéine Dystrophine.

La plupart de nos patients avaient un âge de début avant 5 ans et tous avaient des tracés myogènes à l'EMG et un taux de CPK très élevé.

Sur le plan génétique, nous avons identifié des mutations chez deux patients correspondant à des délétions d'exons sur le gène *DMD*. Le test est en cours pour les neuf autres. Une étude plus élargie dans la sous-région permettra d'uniformiser les données sur les dystrophinopathies. Avec le coût du séquençage génétique qui devient de plus en plus accessible, des études africaines plus élargie deviennent envisageables; permettant ainsi un diagnostic et une prise charge plus adéquate de ces maladies dans cette partie du monde.

Cependant, malgré les avancées réalisées sur le plan de la prise en charge fonctionnelle, aucun traitement ne s'est encore montré capable d'enrayer le cours inexorable de ces

maladies. Néanmoins les perspectives thérapeutiques innovantes ont montré des résultats encourageants chez les souris mdx, dont l'applicabilité à l'homme est en cours d'étude.

Aussi, l'étude de nouvelles populations pourrait aboutir à des découvertes de variantes dont la fonction peut être importante dans le fonctionnement du système neuromusculaire et permettra dans le futur de faire des essais de nouveaux mécanismes thérapeutiques.

# *Recommandations*

### **8 Recommandations :**

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes:

#### **Au Ministère de la santé :**

- Mettre en place un programme de conseil génétique pour les familles ayant des tares génétiques.
- Utiliser les médias pour véhiculer l'information sur l'étude de recherche sur les pathologies neurodégénératives à travers cette pathologie et les risques liés aux mariages consanguins dans des populations ou familles avec des tares génétiques (sketchs et radios entre autres).
- Favoriser la création d'associations de patients souffrant de pathologies neurologiques héréditaires tout en y intégrant un programme de prise en charge gratuite des maladies neurologiques héréditaires, plus précisément des dystrophies musculaires.

#### **Au Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche scientifique :**

- Renforcer l'enseignement de la génétique/biologie moléculaire à la faculté de médecine.
- Organiser des enseignements post universitaires sur les affections musculaires d'origine héréditaire.
- Faciliter la mobilité des chercheurs vers d'autres Universités ou Centres de recherche dans un cadre d'échange de compétences et de connaissance.

#### **Au personnel de santé :**

- Référer tous les cas de trouble de la marche progressive avec une histoire familiale ou non à des structures spécialisées.
- Accentuer la sensibilisation à travers des conseils auprès de la population sur les conséquences et risques chez les ethnies à haute tendance aux mariages intra ethniques et/ou intra-communautaires.
- Intégrer les tradipraticiens dans le processus de références des patients souffrant de troubles neurologiques d'évolution chronique.

#### **Aux populations :**

- Consulter pour tous les cas de trouble progressif de la marche à caractère familial ou pas.
- Faire preuve de plus de tolérance face à ces malades pour réduire la stigmatisation sociale autour des malades ainsi que leurs familles.
- S'organiser en associations de patients pour donner plus de visibilité à leurs maladies et ainsi créer des relations avec d'autres associations de patients dans le monde pour une prise en charge effective de leurs maladies.



# *Références*

## *Références*

**Aartsma-Rus, Annemieke, Ivo Fokkema, Jan Verschuuren, Ieke Ginjaar, Judith Van Deutekom, Gert-Jan van Ommen, et Johan T. Den Dunnen.**

« Theoretic applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations ». *Human mutation* 30, n° 3 (2009): 293–299.

**Aartsma-Rus, Annemieke, Judith CT Van Deutekom, Ivo F. Fokkema, Gert-Jan B. Van Ommen, et Johan T. Den Dunnen.**

« Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: An overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule ». *Muscle & nerve* 34, n° 2 (2006): 135–144.

**Anita, Pop, et Pleşca Doina Anca.**

« Cognitive impairment evaluation in children with dystrophinopathies. »  
*Therapeutics, Pharmacology & Clinical Toxicology* 19, n° 3 (2015).

**Anthony, Karen, Sebahattin Cirak, Silvia Torelli, Giorgio Tasca, Lucy Feng, Virginia Arechavala-Gomez, Annarita Armaroli, Michela Guglieri, Chiara S. Straathof, et Jan J. Verschuuren.**

« Dystrophin quantification and clinical correlations in Becker muscular dystrophy: implications for clinical trials ». *Brain* 134, n° 12 (2011): 3547–3559.

**Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, Arahata K, Specht L, Shapiro F, et al.**

«Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystrophin gene and protein studies». *American journal of human genetics*. 1991;49(1):54.

**Béroud, Christophe, Sylvie Tuffery-Giraud, Masafumi Matsuo, Dalil Hamroun, Véronique Humbertclaude, Nicole Monnier, Marie-Pierre Moizard, Marie-Antoinette Voelckel, Laurence Michel Calemard, et Pierre Boisseau.**

« Multiexon skipping leading to an artificial DMD protein lacking amino acids from exons 45 through 55 could rescue up to 63% of patients with Duchenne muscular dystrophy ». *Human mutation* 28, n° 2 (2007): 196–202.

**Blau, Helen M.**

« Cell therapies for muscular dystrophy ». *N Engl J Med* 359, n° 13 (2008): 1403–1405.

**Bloetzer, Clemens, Joël Fluss, et Pierre-Yves Jeannet.**

« Therapeutic trials for Duchenne muscular dystrophy: between hopes and disappointments ». *Revue médicale suisse* 8, n° 329 (2012): 409–412.

**Boucraut, BJ.**

Dystrophies musculaires liées au gène DMD, myopathie de Duchenne, myopathie de Becker et formes de sexe féminin. Vol. Neurologie, 1991.

**Bowles, Dawn E., Scott WJ McPhee, Chengwen Li, Steven J. Gray, Jade J. Samulski, Angélique S. Camp, Juan Li, Bing Wang, Paul E. Monahan, et Joseph E. Rabinowitz.**

« Phase 1 gene therapy for Duchenne muscular dystrophy using a translational optimized AAV vector ». *Molecular Therapy* 20, n° 2 (2012): 443–455.

**Cerletti, M., T. Negri, F. Cozzi, R. Colpo, F. Andreetta, D. Croci, K. E. Davies, Fernando Cornelio, O. Pozza, et G. Karpati.**

« Dystrophic phenotype of canine X-linked muscular dystrophy is mitigated by adenovirus-mediated utrophin gene transfer ». *Gene therapy* 10, n° 9 (2003): 750.

**Chakkalakal, Joe V., Jennifer Thompson, Robin J. Parks, et Bernard J. Jasmin.**

« Molecular, cellular, and pharmacological therapies for Duchenne/Becker muscular dystrophies ». *The FASEB Journal* 19, n° 8 (2005): 880–891.

**Cho, Won-Kyung, Satoru Ebihara, Josephine Nalbantoglu, Renald Gilbert, Bernard Massie, Paul Holland, George Karpati, et Basil J. Petrof.**

« Modulation of Starling forces and muscle fiber maturity permits adenovirus-mediated gene transfer to adult dystrophic (mdx) mice by the intravascular route ». *Human gene therapy* 11, n° 5 (2000): 701–714.

**Cordier, Laurence, Guang-Ping Gao, Andrew A. Hack, Elizabeth M. McNally, James M. Wilson, Narendra Chirmule, et H. Lee Sweeney.**

« Muscle-specific promoters may be necessary for adeno-associated virus-mediated gene transfer in the treatment of muscular dystrophies ». *Human gene therapy* 12, n° 2 (2001): 205–215.

**Darras, Basil T., M. C. Patterson, et J. F. Dashe.**

« Clinical features and diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophy ».

*Waltham: UpToDate*, 2010.

**Deburgrave, Nathalie, Fatma Daoud, Stéphane Llense, Jean Claude Barbot, Dominique Récan, Cécile Peccate, Arthur HM Burghes, Christophe Bérout, Luis Garcia, et Jean-Claude Kaplan.**

« Protein-and mRNA-based phenotype–genotype correlations in DMD/BMD with point mutations and molecular basis for BMD with nonsense and frameshift mutations in the DMD gene ». *Human mutation* 28, n° 2 (2007): 183–195.

**D’Souza, Vitita N, Nguyen Thi Man, Glenn E Morris, Wolfram Karges, De-Ann M Piliers, Peter N Ray**

« A novel dystrophin isoform is required for normal retinal electrophysiology ».

*Human molecular genetics*, n° 4(1995): 837–842.

**Desguerre, Isabelle, Christo Christov, Michele Mayer, Reinhard Zeller, Henri-Marc Becane, Sylvie Bastuji-Garin, France Leturcq, Catherine Chiron, Jamel Chelly, et Romain K. Gherardi.**

« Clinical heterogeneity of duchenne muscular dystrophy (DMD): definition of sub-phenotypes and predictive criteria by long-term follow-up ». *PloS one* 4, n° 2 (2009): e4347.

**Dey, Sadanand, Asit Kumar Senapati, Alak Pandit, Atanu Biswas, Deb Sankar Guin, Anindita Joardar, Sarnava Roy, et Goutam Gangopadhyay.**

« Genetic and clinical profile of patients of Duchenne muscular dystrophy: experience from a tertiary care center in Eastern India ». *Indian pediatrics* 52, n° 6 (2015): 481–484.

**Emery, Alan EH.**

« The muscular dystrophies ». *The Lancet* 359, n° 9307 (2002): 687–695.

**England, S. B., L. V. B. Nicholson, M. A. Johnson, S. M. Forrest, D. R. Love, E. E. Zubrzycka-Gaarn, D. E. Bulman, J. B. Harris, et K. E. Davies.**

« Very mild muscular dystrophy associated with the deletion of 46% of dystrophin ». *Nature* 343, n° 6254 (1990): 180.

**Fairclough, Rebecca J., Akshay Bareja, et Kay E. Davies.**

« Progress in therapy for Duchenne muscular dystrophy ». *Experimental physiology* 96, n° 11 (2011): 1101–1113.

**Farini, Andrea, Paola Razini, Silvia Erratico, Yvan Torrente, et Mirella Meregalli.**

« Cell based therapy for Duchenne muscular dystrophy ». *Journal of cellular physiology* 221, n° 3 (2009): 526–534.

**Fernandez, C., A. Maues De Paula, D. Figarella-Branger, M. Krahn, R. Giorgi, B.**

**Chabrol, M.-F. Montfort, J. Pouget, et J.-F. Pellissier.**

« Diagnostic evaluation of clinically normal subjects with chronic hyperCKemia ». *Neurology* 66, n° 10 (2006): 1585–1587.

**Finkel, Richard S.**

« Read-through strategies for suppression of nonsense mutations in Duchenne/Becker muscular dystrophy: aminoglycosides and ataluren (PTC124) ». *Journal of child neurology* 25, n° 9 (2010): 1158–1164.

**Flanigan, Kevin M., Diane M. Dunn, Andrew Von Niederhausern, Payam Soltanzadeh,**

**Eduard Gappmaier, Michael T. Howard, Jacinda B. Sampson, Jerry R. Mendell,**

**Cheryl Wall, et Wendy M. King.**

« Mutational spectrum of DMD mutations in dystrophinopathy patients: application of modern diagnostic techniques to a large cohort ». *Human mutation* 30, n° 12 (2009): 1657–1666.

**Foster, Helen, Paul S. Sharp, Takis Athanasopoulos, Capucine Trollet, Ian R. Graham,**

**Keith Foster, Dominic J. Wells, et George Dickson.**

« Codon and mRNA sequence optimization of microdystrophin transgenes improves expression and physiological outcome in dystrophic mdx mice following AAV2/8 gene transfer ». *Molecular therapy* 16, n° 11 (2008): 1825–1832.

**Gentil, Christel, France Leturcq, Rabah Ben Yaou, Jean-Claude Kaplan, Pascal Laforet, Isabelle Pénisson-Besnier, Caroline Espil-Taris, Thomas Voit, Luis Garcia, et France Piétri-Rouxel.**

« Variable phenotype of del45-55 Becker patients correlated with nNOS $\mu$  mislocalization and RYR1 hypernitrosylation ». *Human molecular genetics* 21, n° 15 (2012): 3449–3460.

**Gilbert, Renald, Josephine Nalbantoglu, Basil J. Petrof, Satoru Ebihara, Ghiabe-Henri Guibinga, Jonathon M. Tinsley, Amine Kamen, Bernard Massie, Kay E. Davies, et George Karpati.**

« Adenovirus-mediated utrophin gene transfer mitigates the dystrophic phenotype of mdx mouse muscles ». *Human gene therapy* 10, n° 8 (1999): 1299–1310.

**Goyenvalle, Aurélie, Jane T. Seto, Kay E. Davies, et Jeffrey Chamberlain.**

« Therapeutic approaches to muscular dystrophy ». *Human molecular genetics* 20, n° R1 (2011): R69–R78.

**Gregorevic, Paul, James M. Allen, Elina Minami, Michael J. Blankinship, Miki Haraguchi, Leonard Meuse, Eric Finn, Marvin E. Adams, Stanley C. Froehner, et Charles E. Murry.**

« rAAV6-microdystrophin preserves muscle function and extends lifespan in severely dystrophic mice ». *Nature medicine* 12, n° 7 (2006): 787.

**Gregorevic, Paul, Michael J. Blankinship, James M. Allen, et Jeffrey S. Chamberlain.**

« Systemic microdystrophin gene delivery improves skeletal muscle structure and function in old dystrophic mdx mice ». *Molecular Therapy* 16, n° 4 (2008): 657–664.

**Gurvich, Olga L., Therese M. Tuohy, Michael T. Howard, Richard S. Finkel, Livija Medne, Christine B. Anderson, Robert B. Weiss, Steve D. Wilton, et Kevin M. Flanigan.**

« DMD pseudoexon mutations: splicing efficiency, phenotype, and potential therapy ». *Annals of neurology* 63, n° 1 (2008): 81–89.

**Hacein-Bey-Abina, Salima, Christof Von Kalle, Manfred Schmidt, Françoise Le Deist, Nicolas Wulffraat, Elisabeth McIntyre, Isabelle Radford, Jean-Luc Villeval, Christopher C. Fraser, et Marina Cavazzana-Calvo.**

« A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency ». *New England Journal of Medicine* 348, n° 3 (2003): 255–256.

**Hartigan-O'Connor, Dennis, Christopher J. Kirk, Robert Crawford, James J. Mulé, et Jeffrey S. Chamberlain.**

« Immune evasion by muscle-specific gene expression in dystrophic muscle ». *Molecular Therapy* 4, n° 6 (2001): 525–533.

**Humbertclaude, Véronique, Dalil Hamroun, Kamel Bezzou, Carole Bérard, Odile Boespflug-Tanguy, Christine Bommelaer, Emmanuelle Campana-Salort, Claude Cances, Brigitte Chabrol, et Marie-Christine Commare.**

« Motor and respiratory heterogeneity in Duchenne patients: implication for clinical trials ». *European journal of paediatric neurology* 16, n° 2 (2012): 149–160.

**Jeppesen, J., Green, A., Steffensen, B. F., & Rahbek, J.**

«The Duchenne muscular dystrophy population in Denmark, 1977–2001: prevalence, incidence and survival in relation to the introduction of ventilator use».

*Neuromuscular Disorders*, 13(10)(2003), 804-812.

**Kesari, Akanchha, Laura N. Pirra, Lakshmi Bremadesam, Orinthal McIntyre, Erynn Gordon, Alberto L. Dubrovsky, V. Viswanathan, et Eric P. Hoffman.**

« Integrated DNA, cDNA, and protein studies in Becker muscular dystrophy show high exception to the reading frame rule ». *Human mutation* 29, n° 5 (2008): 728–737.

**Koenig, M., A. H. Beggs, Mea Moyer, S. Scherpf, K. Heindrich, T. Bettecken, G. Meng, C. R. Müller, M. Lindlöf, et H. Kaariainen.**

« The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion ». *American journal of human genetics* 45, n° 4 (1989): 498.

**Koenig, M., A. P. Monaco, et L. M. Kunkel.**

« The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein ». *Cell* 53, n° 2 (1988): 219–228.

**Koenig, Michel, E. P. Hoffman, C. J. Bertelson, A. P. Monaco, C. Feener, et L. M. Kunkel.**

« Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals ». *Cell* 50, n° 3 (1987): 509–517.

**Leturcq, f. Et Kaplan JC, et j. C. Kaplan.**

« Le diagnostic étiologique des dystrophies musculaires récessives ». *La Lettre du Neurologue* 4, n° 5 (2000): 250–58.

**Li, Deji, Akshay Bareja, Luke Judge, Yongping Yue, Yi Lai, Rebecca Fairclough, Kay E. Davies, Jeffrey S. Chamberlain, et Dongsheng Duan.**

« Sarcolemmal nNOS anchoring reveals a qualitative difference between dystrophin and utrophin ». *J Cell Sci* 123, n° 12 (2010): 2008–2013.

**Mah, Jean K., Lawrence Korngut, Jonathan Dykeman, Lundy Day, Tamara Pringsheim, et Nathalie Jette.**

« A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy ». *Neuromuscular disorders* 24, n° 6 (2014): 482–491.

**Malik, Vinod, Louise R. Rodino-Klapac, Laurence Viollet, Cheryl Wall, Wendy King, Roula Al-Dahhak, Sarah Lewis, Christopher J. Shilling, Janaiah Kota, et Carmen Serrano-Munuera.**

« Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy ». *Annals of neurology* 67, n° 6 (2010): 771–780.

**Matsumura, Kiichiro, A. H. Burghes, Marina Mora, F. M. Tome, Lucia Morandi, Ferdinando Cornello, France Leturcq, Marc Jeanpierre, Jean Claude Kaplan, et Philippe Reinert.**

« Immunohistochemical analysis of dystrophin-associated proteins in Becker/Duchenne muscular dystrophy with huge in-frame deletions in the NH2-terminal and rod domains of dystrophin. » *The Journal of clinical investigation* 93, n° 1 (1994): 99–105.



**Matsuo, Masafumi.**

« Duchenne/Becker muscular dystrophy: from molecular diagnosis to gene therapy ». *Brain and Development* 18, n° 3 (1996): 167–172.

**Meilleur, Katherine Gloria, Souleymane Coulibaly, Moussa Traoré, Guida Landouré, Alison La Pean, Modibo Sangaré, Fanny Mochel, Siona Traoré, Kenneth H. Fischbeck, et Hae-Ra Han.**

« Genetic testing and counseling for hereditary neurological diseases in Mali ». *Journal of community genetics* 2, n° 1 (2011): 33–42.

**Mendell, Jerry R., Katherine Campbell, Louise Rodino-Klapac, Zarife Sahenk, Chris Shilling, Sarah Lewis, Dawn Bowles, Steven Gray, Chengwen Li, et Gloria Galloway.**

« Dystrophin immunity in Duchenne's muscular dystrophy ». *New England Journal of Medicine* 363, n° 15 (2010): 1429–1437.

**Mendell, Jerry R., et K. Reed Clark.**

« Challenges for gene therapy for muscular dystrophy ». *Current neurology and neuroscience reports* 6, n° 1 (2006): 47–56.

**Monaco, Anthony P., Corlee J. Bertelson, Sabina Liechti-Gallati, Hans Moser, et Louis M. Kunkel.**

« An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus ». *Genomics* 2, n° 1 (1988): 90–95.

**Monaco, Anthony P., Rachael L. Neve, Chris Colletti-Feener, Corlee J. Bertelson, David M. Kurnit, et Louis M. Kunkel.**

« Isolation of candidate cDNAs for portions of the Duchenne muscular dystrophy gene ». *Nature* 323, n° 6089 (1986): 646.

**Monaco, Anthony P., Ann P. Walker, Iona Millwood, Zoia Larin, et Hans Lehrach.**

« A yeast artificial chromosome contig containing the complete Duchenne muscular dystrophy gene ». *Genomics* 12, n° 3 (1992): 465–473.

**Muntoni, Francesco, Milena Cau, Antonello Ganau, Rita Congiu, Giuseppina Arvedi, Anna Mateddu, Maria Giovanna Marrosu, Carlo Cianchetti, Giuseppe Realdi, et Antonio Cao.**

« Deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy ». *New England Journal of Medicine* 329, n° 13 (1993): 921–925.

**Muntoni, Francesco, Silvia Torelli, et Alessandra Ferlini.**

« Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes ». *The Lancet Neurology* 2, n° 12 (2003): 731–740.

**Odom, Guy L., Paul Gregorevic, James M. Allen, Eric Finn, et Jeffrey S. Chamberlain.**

« Microtrophin delivery through rAAV6 increases lifespan and improves muscle function in dystrophic dystrophin/utrophin-deficient mice ». *Molecular Therapy* 16, n° 9 (2008): 1539–1545.

**Partridge, Terence A.**

« Stem cell therapies for neuromuscular diseases ». *Acta Neurol Belg* 104, n° 4 (2004): 141–7.

**Price, F. D., K. Kuroda, et M. A. Rudnicki.**

« Stem cell based therapies to treat muscular dystrophy ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1772, n° 2 (2007): 272–283. 1.

**Rivière, C., O. Danos, et A. M. Douar.**

« Long-term expression and repeated administration of AAV type 1, 2 and 5 vectors in skeletal muscle of immunocompetent adult mice ». *Gene therapy* 13, n° 17 (2006): 1300.

**Rouger, Karl, Thibaut Larcher, Laurence Dubreil, Jack-Yves Deschamps, Caroline Le Guiner, Gregory Jouvion, Bruno Delorme, Blandine Lieubeau, Marine Carlus, et Benoît Fornasari.**

« Systemic delivery of allogenic muscle stem cells induces long-term muscle repair and clinical efficacy in duchenne muscular dystrophy dogs ». *The American journal of pathology* 179, n° 5 (2011): 2501–2518.

**Su, Leonard T., Kapil Gopal, Zhonglin Wang, Xiaoqing Yin, Anthony Nelson, Benjamin W. Kozyak, James M. Burkman, Marilyn A. Mitchell, David W. Low, et Charles R. Bridges.**

« Uniform scale-independent gene transfer to striated muscle after transvenular extravasation of vector ». *Circulation* 112, n° 12 (2005): 1780–1788.

**Taylor, Peter J., Sarah Maroulis, Glenda L. Mullan, Robyn L. Pedersen, Aurora Baumli, George Elakis, Sara Piras, Corrina Walsh, Benito Prósper-Gutiérrez, et Fernando De La Puente-Alonso.**

« Measurement of the clinical utility of a combined mutation detection protocol in carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy ». *Journal of medical genetics* 44, n° 6 (2007): 368–372.

**Taylor, Peter John.**

« Molecular genetic analysis of a New South Wales muscular dystrophy cohort ». PhD Thesis, Dissertation, 2008.

**Tinsley, Jonathon, Nicolas Deconinck, Rosie Fisher, David Kahn, Steve Phelps, Jean-Marie Gillis, et Kay Davies.**

« Expression of full-length utrophin prevents muscular dystrophy in mdx mice ». *Nature medicine* 4, n° 12 (1998): 1441.

**Tinsley, Jonathon M., Derek J. Blake, A. Roche, U. Fairbrother, J. Riss, Barbara C. Byth, Alex E. Knight, John Kendrick-Jones, G. K. Suthers, et Donald R. Love.**

« Primary structure of dystrophin-related protein ». *Nature* 360, n° 6404 (1992): 591.

**Tinsley, Jonathon M., Rebecca J. Fairclough, Richard Storer, Fraser J. Wilkes, Allyson C. Potter, Sarah E. Squire, Dave S. Powell, Anna Cozzoli, Roberta F. Capogrosso, et Adam Lambert.**

« Daily treatment with SMTC1100, a novel small molecule utrophin upregulator, dramatically reduces the dystrophic symptoms in the mdx mouse ». *PloS one* 6, n° 5 (2011): e19189.

**Tinsley, Jonathon M., Allyson C. Potter, Steven R. Phelps, Rosie Fisher, Jeffrey I. Trickett, et Kay E. Davies.**

« Amelioration of the dystrophic phenotype of mdx mice using a truncated utrophin transgene ». *Nature* 384, n° 6607 (1996): 349.

**Torrente, Y., M. Belicchi, C. Marchesi, G. D'antona, F. Cogiamanian, F. Pisati, M. Gavina, R. Giordano, R. Tonlorenzi, et G. Fagiolari.**

« Autologous transplantation of muscle-derived CD133+ stem cells in Duchenne muscle patients ». *Cell transplantation* 16, n° 6 (2007): 563–577.

**Tuffery-Giraud, Sylvie, Christophe Bérout, France Leturcq, Rabah Ben Yaou, Dalil Hamroun, Laurence Michel-Calemard, Marie-Pierre Moizard, Rafaëlle Bernard, Mireille Cossée, et Pierre Boisseau.**

« Genotype–phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD–DMD database: a model of nationwide knowledgebase ». *Human mutation* 30, n° 6 (2009): 934–945.

**Walker, Ruth H., James J. Peters, Hans H. Jung, et Adrian Danek.**

« Diagnostic evaluation of clinically normal subjects with chronic hyperCKemia ». *Neurology* 68, n° 7 (2007): 535–536.

**Walton, John Nicholas.**

*Disorders of voluntary muscle*. Churchill, 1969.

**Welch, Ellen M., Elisabeth R. Barton, Jin Zhuo, Yuki Tomizawa, Westley J. Friesen, Panayiota Trifillis, Sergey Paushkin, Meenal Patel, Christopher R. Trotta, et Seongwoo Hwang.**

« PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations ». *Nature* 447, n° 7140 (2007): 87.

**Wenger, Sharon L., Mark W. Steele, Eric P. Hoffman, Mamdouha A. Barmada, et Henry B. Wessel.**

« X inactivation and dystrophin studies in at (X; 12) female: evidence for biochemical normalization in Duchenne muscular dystrophy carriers ». *American Journal of Medical Genetics Part A* 43, n° 6 (1992): 1012–1015.

**Winder, S. J., T. J. Gibson, et J. Kendrick-Jones.**

« Dystrophin and utrophin: the missing links! » *FEBS letters* 369, n° 1 (1995): 27–33.

**Winder, S. J., L. Hemmings, S. K. Maciver, S. J. Bolton, J. M. Tinsley, K. E. Davies, D. R. Critchley, et J. Kendrick-Jones.**

« Utrophin actin binding domain: analysis of actin binding and cellular targeting ». *Journal of cell science* 108, n° 1 (1995): 63–71. s. d.

# *Annexes*

### Annexe 1:

#### Procédure de l'extraction d'ADN

On a procédé à l'extraction selon 6 étapes en utilisant les tubes de 50ml EDTA, avec les numéros des stickers correspondant qui sont les numéros d'enrôlements et de confidentialités des patients.

#### 1<sup>ère</sup> étape:

**Objectifs:** elle a but d'obtenir les globules blancs puisqu'ils contiennent L'ADN.

Après avoir mis 30ml de RBC Cell Lysis Solution, on ajoute de 10ml de sang puis on remue 10fois environ enfin d'obtention un mélange homogène. Ce mélange est mis au repos pendant 5min à une température (15-25°C), puis centrifugé à 25°C à 2000 x g (rcf)\* pendant 2 min. On verse avec précaution le liquide surnageant (hématocytes) dépourvus d'ADN, en gardant 200 µl du liquide résiduel et le culot de globules blancs au fond du tube.

#### 2<sup>ème</sup> étape:

**Objectifs:** Lyser les leucocytes contenant l'ADN.

On procède par l'application du vortex vigoureusement sur le pellet dans liquide résiduel précédemment obtenu brièvement jusqu'à ce que le pellet soit complètement dispersé dans le liquide. On ajoute 10ml de Cell Lysis Solution puis vortex fortement pendant de 10secondes et ainsi une solution gluante est obtenue.

#### 3<sup>ème</sup> étape:

**Objectifs:** Précipiter les protéines (d'assembler les protéines)

On ajoute 3.3 ml de Protein precipitation à la solution obtenue à l'étape 2 et à passer au vortex vigoureusement pendant 20 secondes puis centrifuger à 25°C 2000 x g (rcf)\* pendant 5 secondes.

#### 4<sup>ème</sup> étape:

**Objectif:** c'est de précipiter L'ADN (rassembler l'ADN)

La mise en tube de 10ml de Propanol-2 dans de nouveau tube 50 ml EDTA avec les mêmes numéros d'échantillons respectifs. Une fois la centrifugation terminée le liquide surnageant sera versé dans de nouveaux tubes contenant de Propanol-2, puis remué 50fois jusqu'à la visualisation à l'œil nu d'un filament blanc flottant. Centrifugé à 25°C, 2000 x g (rcf)\* pendant 3 secondes.

Après la centrifugation, on jette le liquide surnageant en gardant le dépôt blanchâtre au fond du tube qui correspond au pelleté d'ADN à sécher pendant 5min.

### **5<sup>ème</sup> étape:**

**Objectif:** Lavage de l'ADN.

On ajoute 10 ml d'éthanol 70%: préparé à partir de 35ml éthanol pur et 15ml d'eau pour un tube de 50ml. Pour débarrasser le culot de toute impureté après de multiples manipulations, il va être lavé en le remuant plusieurs fois. Centrifuger à 25°C à 2000 x g (rcf)\* pendant une seconde car l'étape suivante est très délicate. Une fois la centrifugation terminée, on verse délicatement le liquide surnageant tout en gardant le culot d'ADN, et laisser sécher pendant 15 minutes.

### **6<sup>ème</sup> étapes :**

**Objectif:** Réhydratation de l'ADN

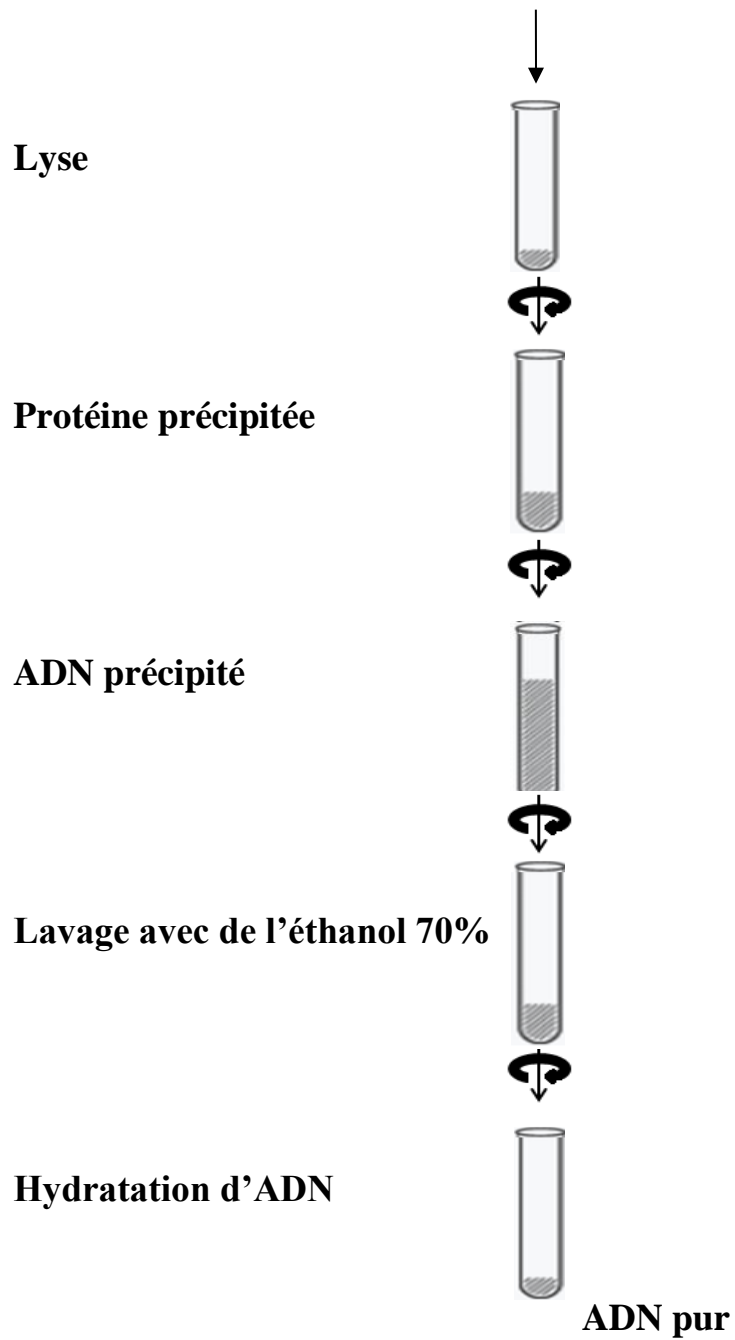
Après le séchage, on ajoute 500ul de DNA Hydratation solution et faire secouer au vortex à une vitesse moyenne jusqu'à une dissolution complète du culot dans la solution, puis placer dans le bain-marie à 65°C pendant une heure.

Une fois l'heure épuisée, centrifugé l'ADN sur une courte durée de quelques secondes pour pouvoir rassembler les gouttelettes éparpillées dans le tube à la suite de l'évaporation. Placer l'échantillon en léger balancement durant toute la nuit.

Le lendemain l'échantillon d'ADN pur sera centrifugé brièvement et mis dans un nouveau tube gradué avec le sticker correspond, conserver dans climat de -80°C pour un stockage prolongé. Et ainsi l'extraction prend fin.



Schéma Simple d'extraction d'ADN



## **Annexe 2**

Fiche technique des dystrophinopathies

Numéro de famille selon l'ordre d'enrôlement

Arbre généalogique

### **ATCD**

Notion de cas familiaux

Notion de consanguinité

Médicaux

Chirurgicaux

### **Examens déjà réalisés**

### **Traitement habituel**

### **HDM:**

Début des symptômes (âge et premier signe) et leurs modes d'installation.

Chronologie ou mode évolutif

### **Examen général:**

Etat général du patient

Les conjonctives

Aires ganglionnaires

Peau et phanères

Poids et la tension artérielle aux deux bras

### **Examen physique:**

### **Examen Neurologique**

Nerfs crâniens

Déficit moteur: des 4 membres à prédominance proximale.

Réflexes

Réflexes: idiomusculaires et ostéotendineux diminués à abolis

Troubles trophiques : amyotrophie diffuse aux ceintures scapulaire et pelvienne

Déformations squelettiques

Examen des autres appareils (cardiaque et respiratoire à la recherche de signe d'atteinte cardio-pulmonaire)

### **Hypothèses diagnostiques:**

La présentation clinique, le mode de transmission et l'âge de début

**Examen complémentaire:** C/Cardiologique, EMG, bilan biologique (CPK, glycémie à jeun, LDH, ALAT, ASAT entre autres...), imagerie musculaire (Scanner et IRM), biopsie musculaire avec immunohistochimie, tests génétiques.

**Traitement:** médicament, Kinésithérapie, psychologique.

**Suivi et évolution:** 6 mois-1an.

**FICHE SIGNALETIQUE**

**Nom:** MAIGA

**Prénom:** Alassane Dit Baneye

**Email:** savani.baneye@gmail.com

**Titre:** Etudes clinique, paraclinique et génétique des dystrophinopathies dans le Service de Neurologie du Centre Hospitalier Universitaire du Point G.

**Année universitaire:** 2017 - 2018

**Ville de soutenance:** Bamako

**Pays d'origine:** Mali

**Lieu de dépôt:** Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie (FMOS) et de la Faculté de Pharmacie (FAPH).

**Secteur d'intérêt:** Neurologie, Neurogénétique, Biologie moléculaire, recherche scientifique

**Résumé :**

Cette étude de recherche a concerné des patients atteints de dystrophinopathie ayant des antécédents de cas familiaux ou non, référés ou vus en consultation dans le Service de Neurologie de l'hôpital de C.H.U Point G du 1<sup>er</sup> Aout 2016 au 31 Janvier 2018 enrôlés dans le protocole de recherche de H3Africa Mali sur les pathologies neurologiques héréditaires. Elle s'était déroulée en deux phases: une première phase clinique et une seconde phase de biologie moléculaire.

Sur les 163 familles colligées en consultation Neurogénétique pour pathologies neurologiques héréditaires pendant la période d'étude, le diagnostic de la maladie de dystrophinopathie a été évoqué dans sept familles soit 5%. Sur ces sept familles totalisant 11 patients, le type DMD a été retenu dans 6 familles avec 10 patients, répondant aux critères d'inclusion soit une prévalence de 91%.

L'âge moyen de début était de 4,7 ans, avec des extrêmes de 2 et 16 ans et les cas avec note familiale prédominant soit avec 63,6%. Tous nos patients étaient de sexe masculin. La région d'origine la plus représentée était Sikasso avec 27,3%. L'ethnie majoritairement retrouvée était les Bambara.

Le mode de transmission récessif lié à X était suspecté chez 63,6% de nos patients chez qui on a retrouvé des notions de cas similaires dans les antécédents familiaux. Aucune notion de

consanguinité parentale n'a été mise en évidence dans ces familles. Sur le plan clinique le phénotype classique (DMD) était le plus retrouvé. L'examen cardiologique était sans particularité chez tous nos patients au moment de l'étude.

Le test génétique a retrouvé une mutation à type de délétion d'exons chez deux de nos patients intéressant les exons 49-50 pour l'un et les exons 46-51 pour l'autre. Le test génétique est toujours en cours pour les neuf autres patients restant.

Le traitement était essentiellement symptomatique incluant la corticothérapie, la kinésithérapie et les antalgiques. L'évolution était lentement progressive dans tous les cas.

Nous déplorons un cas de décès suite aux complications respiratoires de la maladie.

**Mots clés:** dystrophinopathie, DMD, BMD, prévalence, âge de début, phénotype, mode de transmission, Test génétique, traitement, évolution, Mali.

**Abstract**

**Clinical and Genetical study of Dystrophinopathies in the Teaching Hospital of Point G (Bamako, Mali)**

Alassane B Maiga<sup>1</sup>, Amadou Touré<sup>2</sup>, Lassana Cissé<sup>1</sup>, Seybou H Diallo<sup>2</sup>, Salimata Diarra<sup>1</sup>, Abdoulaye Yalcouyé<sup>1</sup>, Abdoulaye Taméga<sup>1</sup>, Mohamed Emile Dembélé<sup>1</sup>, Abdoulaye Bocoum<sup>1</sup>, Thomas Coulibaly<sup>1</sup>, Kenneth Fischbeck<sup>3</sup>, Cheick O Guinto<sup>1</sup>, Guida Landouré<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Service de Neurologie, CHU du Point « G », Bamako, Mali; <sup>2</sup>Service de Neurologie, CHU de Gabriel Touré, Bamako, Mali; <sup>3</sup>Neurogenetics Branch, NINDS, NIH, Bethesda, United States of America

Human dystrophinopathies are X-linked genetic disorders characterized by impairment in the function of dystrophin in a wide range of tissues. Although the clinical expression of dystrophinopathies and their evolutionary profile are often evocative, their identification on molecular bases remains indispensable in our context for an accurate diagnosis and better management of such areas as genetic counseling and prenatal diagnosis. This is the reason why there is a need to carry out this clinical-genetic study on a larger sample in order to define the still poorly understood spectrum of this pathology in Mali in particular, and in the West African sub-region in general.

Patients with dystrophinopathies phenotype were seen and enrolled after giving their consent. In this study, physical exams were performed and blood samples were taken for genetic testing in seven families, totaling 11 patients (all male) with dystrophinopathies phenotype.

Seven families totaling 11 patients with dystrophinopathies phenotype, all male were enrolled. Ten had Duchenne Muscular Dystrophy phenotype and one had Becker Muscular Dystrophy phenotype. The mean age of onset was 4.7 years with extreme of 2 and 16 years old. The pattern of X-linked recessive inheritance was suspected in 63.6% of our patients who had similar case histories in their family history and the other cases were sporadic. Neurological examination has found that in all patients, proximal motor deficit of four limbs, calves hypertrophy and skeletal deformities were present. Genetic testing also found Exon

deletion in *DMD* gene in two patients and the testing is still in progress for the remaining 9 patients.

Our study tends to confirm what is found in scientific literature regarding clinical and genetic patterns of dystrophinopathies and our study may be one of the rare studies in sub-Saharan Africa treating this subject. It is therefore important that further studies are conducted to better understand the spectrum of these poorly understood diseases.

**SERMENT D'HIPPOCRATE**

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

**Je le jure!**