



AVANCÉES DE LA RECHERCHE

Avancées dans la myopathie facio- scapulo-humérale

- > Dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale
- > Maladie de Landouzy-Dejerine
- > *Facio-scapulo-humeral muscular dystrophy (FSHD)*

JUIN 2013

Ce document présente l'état actuel des connaissances scientifiques sur la myopathie facio-scapulo-humérale, mis à jour à l'occasion des Journées des Familles 2013 de l'AFM-Téléthon. Il est téléchargeable sur le site internet de l'AFM-Téléthon :

WEB www.afm-telethon.fr.

Pour en savoir plus sur la myopathie facio-scapulo-humérale, vous pouvez consulter le *Zoom sur... la myopathie facio-scapulo-humérale* et les *Repères Savoir et Comprendre* qui traitent de sujets scientifiques, médicaux, psychologiques et sociaux. Destinés aux personnes atteintes de maladies neuromusculaires et à leurs familles, ils sont disponibles sur le site internet de l'AFM-Téléthon et auprès du Service régional de votre région.

Ces documents ne peuvent en aucun cas se substituer à l'avis d'un médecin, même s'ils peuvent vous faciliter le dialogue avec l'équipe soignante.



SOMMAIRE

Rédaction

▪ Myoinfo,
Département d'information sur
les maladies neuromusculaires
de l'AFM-Téléthon, Évry

Validation

▪ Dr Julie Dumonceaux, Institut
de Myologie, Hôpital Pitié-
Salpêtrière, Paris.

Faits marquants	2
Qu'est-ce que la myopathie facio-scapulo-humérale ?.....	3
A quoi la myopathie facio-scapulo-humérale est-elle due ? ...	3
Où en est la recherche dans la myopathie facio-scapulo-humérale ?	4
Des recommandations françaises pour la prise en charge	4
Des études de corrélations génotype/phénotype.....	4
Des bases de données pour mieux connaître la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale	5
Mieux comprendre l'influence de la contraction de la région <i>D4Z4</i>	6
L'activation du gène <i>DUX4</i> module l'expression d'autres gènes.....	6
<i>DUX4</i> est nécessaire mais pas suffisant pour induire la maladie.....	7
<i>DBE-T</i> , un ARN non codant qui activerait l'expression de gènes dans la région en cause dans la FSH	8
Identification de deux nouveaux acteurs impliqués dans la FSH.....	8
Des marqueurs biologiques de la FSH	9
Des mécanismes moléculaires de mieux en mieux compris	10
Mise au point d'une nouvelle technique de diagnostic moléculaire.....	10
Des modèles animaux pour explorer les mécanismes de la FSH.....	10
Des pistes thérapeutiques	11
Greffe de myoblastes autologues.....	11
Une supplémentation en antioxydants.....	12
L'entraînement physique régulier à l'essai.....	12

*
* *
* *

Faits marquants

> **Identification de deux nouveaux acteurs dans la FSH**

- Une souris n'exprimant pas le **gène *FAT1*** présente les mêmes symptômes que dans la maladie humaine : même topographie d'atteinte musculaire, lésion vasculaire de la rétine...

- Le **gène *SMCHD1*** est impliqué **dans la FSH de type 2**.

> **Des recommandations françaises pour la prise en charge de la FSH** ont été publiées.

> **L'Observatoire national français des patients atteints de DMFSH** est mis en place. Parlez-en avec votre médecin.
www.fshd.fr

> **Le rôle de *DUX4* dans le développement de la FSH** se précise : mécanisme d'activation en cascade, activation de nombreux gènes...

> **Des marqueurs biologiques de la FSH** ont été caractérisés, tels que l'expression de certains gènes ou de microARN.

> **Essai de thérapie cellulaire par greffe de myoblastes autologues** chez 9 personnes atteintes de FSH.



Les données sont en cours d'analyse.

> **Essai d'une supplémentation en antioxydants** chez 54 personnes atteintes de FSH

Les données sont en cours d'analyse.

> **Essai de l'entraînement physique régulier** chez 30 personnes atteintes de FSH.

Une phase d'extension est en cours de recrutement d'un minimum de 12 personnes atteintes de FSH ayant participé à la première partie de l'essai.

Qu'est-ce que la myopathie facio-scapulo-humérale ?

La myopathie facio-scapulo-humérale (FSH) est une maladie musculaire, d'origine génétique. Elle fait partie des maladies dites "rares" et touche 5 à 7 personnes sur 100 000, les femmes comme les hommes.

Les premiers symptômes (diminution de volume, asymétrie et faiblesse des muscles du visage et des membres supérieurs) apparaissent à l'adolescence ou à l'âge adulte. L'atteinte musculaire est extrêmement variable d'une personne à l'autre. Son évolution est lente dans la plupart des cas avec des périodes de stabilisation de durées variables.

La prise en charge vise essentiellement à prévenir les complications et à améliorer le confort de vie.

*Une **maladie** est dite **rare** quand elle touche moins d'une personne sur 2 000. Les maladies rares font l'objet d'une politique de santé publique commune dans les domaines de la recherche, de l'information et de la prise en charge.*

A quoi la myopathie facio-scapulo-humérale est-elle due ?

La myopathie facio-scapulo-humérale (FSH) est une maladie d'origine génétique. Elle est due à une anomalie génétique située sur le chromosome 4 à l'extrémité du chromosome dans une région appelée 4q35. Cette région chromosomique est habituellement constituée de 11 à 100 répétitions d'un fragment d'ADN appelé *D4Z4*.

Dans la FSH, le nombre de répétitions *D4Z4* d'un des 2 chromosomes 4 est diminué : il y a entre 1 et 10 répétitions. Les chercheurs parlent de la "contraction" ou du "raccourcissement" de cette région.

Le mécanisme moléculaire en cause dans le déclenchement de la maladie n'est pas précisément identifié à ce jour.

Généralement, plus le nombre de répétitions est faible, plus la maladie est sévère et risque de se déclarer précocement.

Cependant et pour des raisons encore inconnues, les signes de la maladie sont très variables d'une personne à l'autre, y compris entre des personnes d'une même famille porteuses de la même anomalie génétique.

*Les **maladies** (d'origine) **génétiques** sont des maladies dues à des anomalies de l'ADN, c'est-à-dire de l'information qui détermine le fonctionnement biologique de notre organisme. Cette information est présente dans nos cellules sous forme de chromosomes. Nous l'héritons de nos parents et nos enfants héritent de la nôtre. C'est pourquoi les maladies génétiques sont souvent familiales, c'est-à-dire qu'il peut y avoir plusieurs membres d'une même famille atteints par la maladie héréditaire.*

La grande majorité des personnes atteintes de FSH (95% des FSH) sont atteintes de FSH de type 1 (FSH1). Elles présentent une diminution du nombre de répétitions *D4Z4* sur le chromosome 4. A cette diminution du nombre de répétitions, sont associées une modification de l'organisation de la chromatine qui est moins compacte dans cette région (les scientifiques parlent de "relaxation de la chromatine") et une diminution de la méthylation (hypométhylation) de l'ADN.



Cinq pour cent des personnes avec des signes de dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale ne présentent pas de diminution du nombre de répétitions D4Z4 sur le chromosome 4. Les médecins parlent de FSH de type 2 (FSH2). Ces personnes présentent, elles aussi, une relaxation de la chromatine et une hypométhylation de l'ADN. Cette relaxation de la chromatine est associée chez 80% des patients FSH2 à des mutations dans le gène *SMCHD1*.

Les caractéristiques cliniques de la FSH2 sont similaires à celles de la FSH1 et semblent indépendantes du nombre de répétition *D4Z4*.

Où en est la recherche dans la myopathie facio-scapulo-humérale ?

La myopathie facio-scapulo-humérale (FSH) est une des maladies neuromusculaires les plus complexes et les plus difficiles à comprendre. Cependant, la recherche est très active pour essayer d'identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires à l'origine de la maladie et pour développer des traitements innovants.

Une centaine de chercheurs, scientifiques et représentants d'associations de patients se sont réunis le 6 novembre dernier à San Francisco (États-Unis) pour l'édition 2012 du Congrès de l'*American FSH Society* qui s'est déroulé cette année en ouverture de la Société Américaine pour la Génétique Humaine.

Au cours de ce congrès, soutenu par l'AFM-Téléthon, le point a été fait sur le mécanisme génétique, les diverses caractéristiques de la FSH et le développement de traitements potentiels de la maladie. Un des temps forts de ce congrès a été l'annonce de la découverte de l'implication du gène *SMCHD1* dans la FSH2.

Des recommandations françaises pour la prise en charge

Les recommandations pour la prise en charge de la FSH issues d'un travail coordonné par deux médecins de Centre de référence "Maladies neuromusculaires" français ont été publiées en avril 2012. Basées sur une revue de la littérature, elles ont été élaborées avec des spécialistes médicaux et paramédicaux réunis en atelier lors de Journées de Recherche Clinique organisées par l'AFM-Téléthon.

Elles abordent tous les aspects de la prise en charge multidisciplinaire, du diagnostic à la prise en charge rééducative et l'appareillage en passant par le conseil génétique et une évaluation régulière fonctionnelle, motrice respiratoire, cardiaque, sensorielle...

Des études de corrélations génotype/phénotype

Les études de corrélations génotype/phénotype recherchent l'existence de liens entre les caractéristiques génétiques, le génotype, et les caractéristiques s'exprimant de façon apparente, le phénotype (taille, couleur et forme des yeux, couleur des cheveux, manifestations d'une maladie...). On peut ainsi identifier une relation plus ou moins étroite entre la présence d'une anomalie génétique de tel ou tel type et celle de telles ou telles manifestations d'une maladie génétique.

Une étude clinique de corrélations génotype-phénotype, soutenue par l'AFM-Téléthon, et coordonnée par S. Attarian (Marseille), a été lancée fin 2007. Le but de ce projet est d'étudier la proportion de sujets qui expriment la maladie parmi les sujets porteurs de la délétion. Ce projet vise également à déterminer dans quelle mesure la taille de la répétition *D4Z4* normale et certains facteurs

L'expression des gènes correspond à la quantité de protéine fabriquée à partir de ce gène. Un gène fortement exprimé conduit à la production de grosse quantité de protéine, un gène faiblement exprimé à la production de petite quantité de protéine.



environnementaux (accident, anesthésie,...) jouent un rôle dans la variabilité des manifestations de la FSH.

Réalisée sur 5 centres (Angers, Bordeaux, Lausanne, Marseille, Toulouse), cette étude a inclus 194 personnes (67 patients et 127 personnes apparentées). L'analyse des données est en cours.

Des résultats préliminaires présentés au congrès Myology 2011, organisé par l'AFM-Téléthon, montrent la répartition suivante du nombre de répétitions *D4Z4* :

- 52,3% des patients présentaient 7 répétitions *D4Z4*
- 17,9% des patients présentaient 8 répétitions *D4Z4*
- 13,4% des patients présentaient 9 répétitions *D4Z4*
- 10,5% des patients présentaient 10 répétitions *D4Z4*
- 1,5% des patients présentaient 11 répétitions *D4Z4*

L'âge moyen d'apparition des premiers symptômes est de 30 ans.

Étude clinique

- Étude multicentrique de corrélations phénotype-génotype
- 194 personnes ont été incluses (67 personnes atteintes de FSH et 127 personnes apparentées)
- Les données sont en cours d'analyse.

En 2012, une autre équipe (Taiwan) a montré que plus la longueur des fragments *D4Z4* est courte, plus l'atteinte musculaire est importante chez 24 patients atteints de FSH. Elle a également observé des liens entre l'atteinte musculaire analysée par imagerie, le niveau de créatine kinase dans le sérum et les scores de sévérité cliniques.

Des bases de données pour mieux connaître la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale

Le développement de registres de patients permet d'effectuer un recensement exhaustif des personnes atteintes d'une maladie et de préciser l'histoire naturelle de celle-ci. La détermination de l'histoire naturelle d'une maladie est un pré-requis important avant la mise en place de traitements ou d'essais cliniques.

Un Observatoire national français des patients atteints de DMFSH

Un Observatoire national français de patients atteints de dystrophie musculaire FSH (DMFSH), coordonné par S. Sacconi (Centre de référence de Marseille/Nice) vient d'être créé. Il a pour but de collecter les données épidémiologiques sur la FSH (FSH1 et FSH2) en France, de permettre le recrutement de patients dans les essais cliniques et de développer des recommandations sur la prise en charge de la maladie. Les données, anonymes, sont obtenues par auto-questionnaire et/ou par fiche d'évaluation clinique remplie par le médecin. Le projet a reçu l'accord des autorités réglementaires et devrait commencer à inclure des patients en mai 2013.

WEB www.fshd.fr

L'observatoire national français des patients atteints de DMFSH

- Objectif : recenser toutes les personnes atteintes FSH1 et de FSH2 afin de mieux connaître l'histoire naturelle de la maladie et faciliter la recherche sur ces maladies.
- Coordinateur : S.Sacconi (Nice)

WEB www.fshd.fr

Un registre national de la FSH aux États-Unis

Aux États-Unis, il existe un Registre National des dystrophies myotoniques (DM) et de la FSH. Cette base de données a pour but

Ce que les médecins appellent l'histoire naturelle d'une maladie est la description des différentes manifestations d'une maladie et de leur évolution au cours du temps en l'absence de tout traitement (médicaments, kinésithérapie, chirurgie...).

Les registres de patients sont des recueils centralisés de données médicales concernant des personnes atteintes par une même maladie. Ces données sont fournies, avec l'autorisation de celles-ci dans le respect du secret professionnel, par les médecins qui les suivent. Les registres permettent de mieux connaître l'évolution et la répartition de la maladie et d'en améliorer la prise en charge.



d'aider à mettre en place d'autres bases de données dans les maladies rares et à créer des registres internationaux dans la DM et la FSH. Il reprend également les caractéristiques démographiques et génétiques des participants. En novembre 2011, le registre comprenait 1611 membres inscrits et a permis de faciliter 24 études. Il détenait les résultats des tests génétiques de 56,2% des participants.

Mieux comprendre l'influence de la contraction de la région D4Z4

Même si l'origine de la maladie est sans doute plurifactorielle, la contraction de la région *D4Z4* semble jouer un rôle essentiel. Les effets de la contraction de la région *D4Z4* restent encore largement inconnus. Plusieurs hypothèses, qui ne s'excluent pas les unes les autres, sont émises par les chercheurs.

Une suppression incomplète du gène DUX4

L'explication la plus simple réside dans le fait que la perte d'un nombre critique de répétitions *D4Z4* compromet la structure d'un gène situé dans les répétitions.

En 2007, une équipe dirigée par A. Belayew (Belgique) et soutenue par l'AFM-Téléthon depuis plusieurs années, a montré que le gène *DUX4* est actif dans les muscles de personnes atteintes de FSH mais pas dans ceux d'individus sains. En 2010, un consortium international réunissant 8 laboratoires de France, d'Espagne, des Pays-Bas et des États-Unis, a confirmé l'implication du gène *DUX4* dans le développement de la FSH par l'analyse de l'ADN de plusieurs centaines de patients et de milliers d'individus sains.

Normalement, le gène *DUX4* est réprimé : il est inactif chez l'adulte (sauf dans les testicules). La diminution du nombre de répétitions *D4Z4* chez les personnes atteintes de FSH, fait qu'il est moins efficacement réprimé. Ceci expliquerait pourquoi le gène *DUX4* est actif dans les muscles des personnes atteintes de FSH.

D'autre part, la surexpression de *DUX4* dans 2 modèles animaux, la souris et le poisson zèbre, entraîne des anomalies histologiques et fonctionnelles caractéristiques de la FSH, même si chez la souris, il n'y a quasiment aucune atteinte musculaire.

Une surexpression du gène FRG1

Une autre hypothèse est que la contraction de la région *D4Z4* influence l'expression de gènes voisins, notamment les gènes *FRG1* et *ANT1*.

Des souris modèles surexprimant le gène *FRG1* développent une myopathie. Cependant, la maladie manifestée par les souris n'est pas tout à fait similaire à la maladie humaine.

En 2012, l'étude d'une souris modèle surexprimant *FRG1* depuis l'âge de 3 semaines (sans signe de la maladie) jusqu'à 14 semaines (développement complet des signes dystrophiques) a mis en évidence un début d'apparition des signes dystrophiques à l'âge de 4 semaines. La surexpression de *FRG1* entraîne des défauts des cellules satellites qui contribueraient à l'apparition de la maladie dans ces souris.

L'activation du gène DUX4 module l'expression d'autres gènes

En 2012, une équipe américaine a identifié plus d'un millier de gènes interagissant avec le gène *DUX4*. Quand *DUX4* est exprimé, c'est-à-dire que la protéine *DUX4* est produite par la cellule, l'activité de certains gènes est modifiée, suggérant un contrôle

Les cellules satellites sont des cellules souches situées à proximité des cellules musculaires. Les cellules souches possèdent à la fois la capacité de se multiplier à l'identique pour produire de nouvelles cellules souches et celle de donner naissance, dans des conditions déterminées, à des cellules différenciées (cellules sanguines, cellules du foie, cellules musculaires...). Lors d'une lésion du muscle squelettique, les cellules satellites sont rapidement activées pour régénérer le muscle.



direct de DUX4 sur ces gènes. L'identification de ces gènes devrait permettre de mieux comprendre l'effet toxique exercé par DUX4 sur les muscles.

Une activation en cascade de PITX1 initiée par DUX4

L'activation du gène *DUX4* module, en particulier, l'expression du gène *PITX1*, qui est augmentée dans la FSH.

Très récemment, une étude de l'expression des protéines DUX4 et PITX1 dans des myotubes atteints ou non de FSH suggère l'existence d'un mécanisme d'activation en cascade.

Une fibre musculaire contient de nombreux noyaux localisés en périphérie de la cellule. Dans la FSH, la protéine DUX4 est exprimée dans un noyau de myotube sur 200. Un mécanisme en cascade pourrait expliquer pourquoi une protéine DUX4 si peu exprimée entraîne les lésions musculaires observées dans la FSH : le gène *DUX4* serait activé dans un petit nombre de noyaux et la protéine DUX4 produite diffuserait jusqu'aux noyaux voisins où elle activerait, entre autres, le gène *PITX1*. A son tour, la protéine PITX1 produite alors diffuserait jusqu'aux noyaux voisins et continuerait d'étendre cette cascade d'activation.

Un myotube est formé par la fusion de plusieurs myoblastes (cellules précurseurs des cellules musculaires). Les myotubes se différencient ensuite en fibres musculaires

DUX4 module l'expression de gènes impliqués dans le développement

D'autres travaux ont récemment montré que DUX4 module l'expression de nombreux gènes impliqués dans le développement. Ces modifications d'expression de gènes ont été spécifiquement observées dans des muscles atteints de FSH et non dans des muscles contrôles sans FSH, soulignant le rôle de DUX4 dans le développement de la maladie.

DUX4 est nécessaire mais pas suffisant pour induire la maladie

Une étude de l'expression de la protéine DUX4 dans des cellules et des tissus musculaires de personnes atteintes de FSH et de membres non atteints de leur famille a été réalisée. Contrairement à ce qui a été précédemment publié dans la littérature, l'expression de DUX4 a aussi été mise en évidence chez certaines personnes non atteintes (et pas uniquement chez les personnes atteintes). DUX4 était toutefois exprimé plus fortement chez les personnes atteintes de FSH. Par ailleurs, l'expression de DUX4 n'était pas toujours corrélée à la sévérité de la maladie puisque dans certains cas, malgré une forte expression de DUX4 dans le muscle de personnes atteintes de FSH, celui-ci ne présentait pas de faiblesse musculaire apparente. DUX4 semble donc nécessaire mais pas suffisant pour induire la maladie.

Une étude à grande échelle (801 volontaires sains et 253 patients atteints de FSH issus du registre FSH italien) a montré que 3% des volontaires sains présentaient également une diminution du nombre de répétitions D4Z4. De plus, le nombre de répétitions D4Z4 était assez variable chez les personnes atteintes de FSH.

Une faible méthylation de la région D4Z4 dans la FSH

On a observé, chez les personnes atteintes de FSH, que l'environnement de la région *D4Z4* était chimiquement différent : le phénomène dit d'hypométhylation y serait plus prononcé qu'ailleurs dans le génome. Cette modification du niveau de méthylation module d'une part la structure des chromosomes et leurs interactions avec la membrane du noyau et d'autre part l'expression de certains gènes.

L'hypométhylation est une modification épigénétique de l'ADN. La méthylation de l'ADN influence l'expression des gènes : une faible méthylation (hypométhylation) favorise la forte expression d'un gène alors qu'un haut niveau de méthylation (hyperméthylation) inactive le gène, qui n'est plus exprimé.

DBE-T, un ARN non codant qui activerait l'expression de gènes dans la région en cause dans la FSH

Une équipe italienne, soutenue par l'AFM-Téléthon, a montré, en 2012, que la FSH était due à un excès de production de protéine. En effet, la réduction des séquences répétées *D4Z4* dans la FSH provoquent un excès de production de protéines à partir de la production d'un ARN non-codant, DBE-T. DBE-T serait directement responsable de l'activation de l'expression de gènes dans la région en cause dans la FSH provoquant une production de protéines accrue qui interviendrait dans l'apparition de la maladie.

Une altération de la structure nucléaire

Enfin, une perturbation dans l'organisation du noyau de la cellule pourrait être impliquée dans les mécanismes pathogènes à l'origine de la FSH.

Identification de deux nouveaux acteurs impliqués dans la FSH

Si l'implication de la région *D4Z4* se confirme peu à peu dans la FSH, d'autres gènes extérieurs à cette région pourraient également participer au mécanisme de développement d'une FSH.

Le gène *FAT1* impliqué dans la FSH de type 1

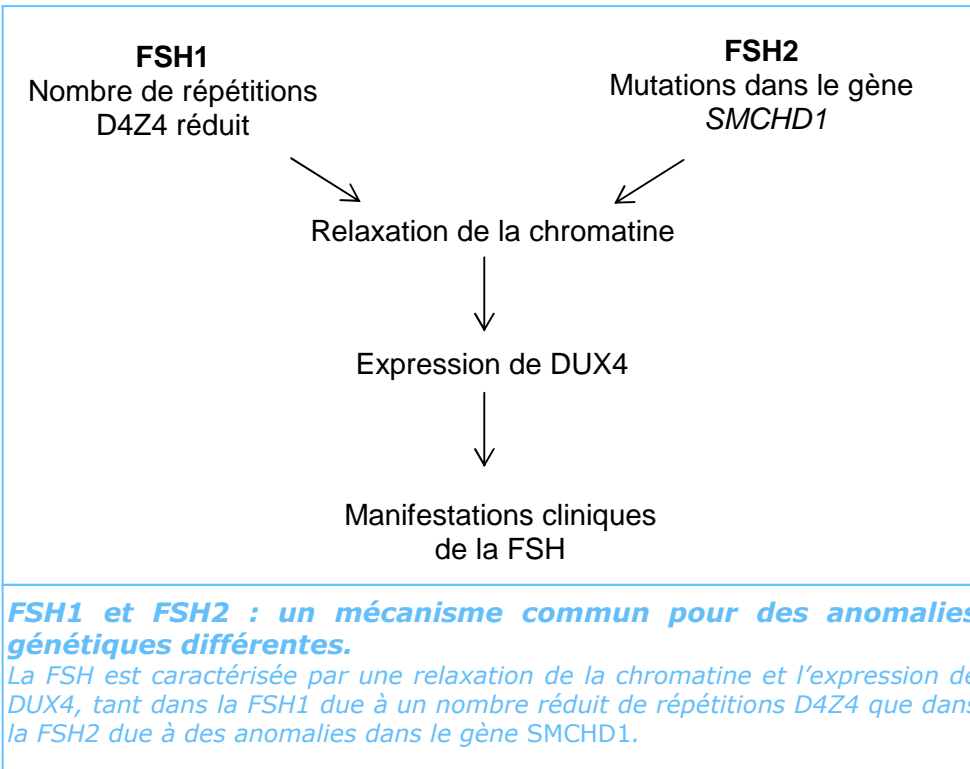
Lors du congrès Myology 2011, l'implication d'un nouveau gène, le gène *FAT1*, localisé à proximité des répétitions *D4Z4*, a été présentée.

Une collaboration française dirigée par F. Helmbacher (Marseille) et soutenue par l'AFM-Téléthon, a montré qu'un modèle de souris n'exprimant pas *FAT1* reproduisait les signes cliniques de la FSH. Au cours du développement embryonnaire, le déficit en *FAT1* perturberait la migration cellulaire provoquant, après la naissance, une réduction de la masse musculaire au niveau des épaules ainsi que des symptômes non musculaires caractéristiques de la FSH, tels qu'une atteinte des vaisseaux sanguins de l'œil. L'équipe a mis en évidence une forte diminution de l'expression de *FAT1* dans les muscles de deux fœtus humains atteints d'une FSH.

*La **chromatine** est une substance contenue dans le noyau des cellules. Elle est constituée à la fois d'ADN (matériel génétique de la cellule) et de protéines qui organisent et protègent cet ADN. Lorsque la cellule se divise, la chromatine se condense en petits bâtonnets : les chromosomes.*

Le gène *SMCHD1* impliqué dans 80% des FSH de type 2

Très récemment, l'équipe néerlandaise de S. Van der Maarel, en collaboration avec une équipe de Nice, a identifié les anomalies génétiques en cause dans 80% des FSH2. Il s'agit d'anomalies du gène *SMCHD1* (pour *structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain containing 1*), localisé sur le chromosome 18. Ces anomalies entraînent une diminution de la quantité de protéine *SMCHD1* responsable de la relaxation de la chromatine dans la région *D4Z4*, qui permet l'expression de *DUX4*.



Des marqueurs biologiques de la FSH

Un marqueur biologique est une substance biologique mesurable, indicatrice de processus biologiques normaux ou pathologiques, ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique.

Un marqueur biologique peut être prédictif d'une réponse à un potentiel traitement et servir de critère de mesure dans un essai clinique.

Des gènes exprimés spécifiquement dans la FSH

Récemment, une étude a comparé l'expression de gènes dans deux muscles, le biceps (muscle précocement et sévèrement atteint) et le deltoïde (muscle peu atteint) de personnes atteintes de FSH et de membres non atteints de leur famille.

Cent quatre-vingt-huit gènes sont exprimés différemment dans les biceps des personnes atteintes de FSH et dans ceux des membres de leur famille non atteints et sept dans le deltoïde. Aucun de ces gènes ne correspond à un gène de la région en cause dans la FSH, comme *FRG1*, *FRG2*... Aucune différence d'expression de DUX4 n'a été détectée mais son niveau d'expression était très faible.

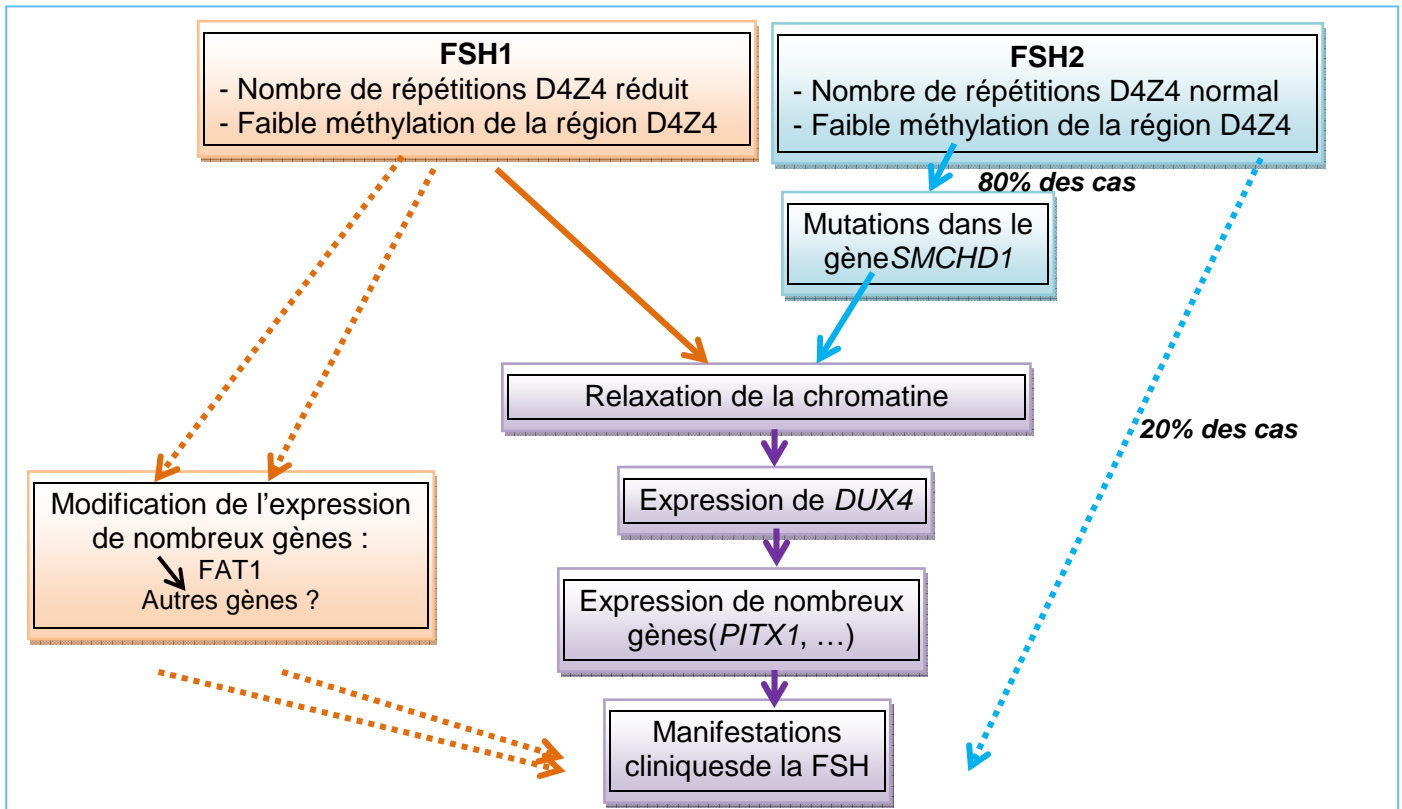
Quinze gènes présentant une expression différente dans les muscles FSH ont été identifiés et peuvent être utilisés comme "signature moléculaire" de la maladie.

Identification de microARN exprimés spécifiquement dans la FSH

Les micro-ARN (miARN) sont des petits ARN produits par la cellule qui ne sont pas traduits en protéine. Leur rôle est de réguler l'expression de gènes en bloquant la traduction de l'ARN messager en protéine. L'expression de ces miARN varie en fonction des situations. Dans les maladies neuromusculaires, certains miARN sont exprimés et pas d'autres, et la combinaison des miARN exprimés est différente d'une maladie neuromusculaire à l'autre et spécifique de chacune.



Huit miARN (et 1502 ARN messagers, leur cible) s'exprimant au cours de la prolifération des cellules de façon spécifique ont été identifiés dans la FSH. Plus particulièrement, le miARN-411 est surexprimé et semble jouer un rôle dans le développement du tissu musculaire (myogenèse).



Des mécanismes moléculaires de mieux en mieux compris

L'ensemble des travaux réalisés dans la FSH permettent petit à petit de mieux cerner les mécanismes moléculaires en cause dans le développement de la maladie.

*Un **modèle animal** est un animal qui reproduit les caractéristiques de la maladie (à la fois sur le plan génétique et sur le plan clinique) permettant l'étude des mécanismes de la maladie ou l'essai de traitements potentiels.*

*Le **poisson-zèbre** est un modèle animal couramment utilisé en laboratoire pour mieux comprendre la biologie du développement, la génétique, la formation des organes et le développement de maladies. Il présente les avantages d'une petite taille, d'une reproduction très facile, d'un développement rapide et d'une peau translucide qui laisse voir les organes.*

Mise au point d'une nouvelle technique de diagnostic moléculaire

En 2011, un nouveau test de diagnostic moléculaire de la FSH a été mis au point par l'équipe de N. Lévy (Marseille), soutenue par l'AFM-Téléthon. Cette technique, dite de "peignage moléculaire", consiste à étirer les molécules d'ADN pour mieux y détecter des anomalies génétiques. Elle permet, en particulier, de visualiser de manière plus précise et plus sensible les répétitions *D4Z4* sur le chromosome 4.

Des modèles animaux pour explorer les mécanismes de la FSH

L'obstacle majeur rencontré dans la mise au point d'un modèle animal de la FSH réside dans la toxicité de *DUX4*.

En injectant une très faible quantité de l'ARN messager du gène *DUX4* humain (environ 1 molécule d'ARN pour 1000 cellules) dans des œufs fertilisés de poisson zèbre, une équipe américaine a obtenu un poisson zèbre qui présente des manifestations cliniques de la maladie humaine : anomalies asymétriques des muscles de la face, des yeux, des oreilles, des nageoires... Ce modèle animal



confirme l'importance de l'expression de *DUX4* au cours du développement dans la FSH.

Deux nouveaux modèles de souris transgéniques ont été récemment mis au point : une souris modèle de la FSH exprimant un nombre réduit de répétitions *D4Z4* et une souris contrôle exprimant un nombre normal de répétitions *D4Z4*. La souris modèle de la maladie présente bien une suppression incomplète du gène *DUX4* dans ses cellules musculaires, comme chez l'Homme. Ces deux modèles permettront d'étudier la fonction et la régulation du gène *DUX4 in vivo* et de tester de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Des pistes thérapeutiques

La régulation anormale des gènes dans la FSH étant maintenant un phénomène un peu mieux compris, de nouvelles pistes thérapeutiques ciblant les gènes au voisinage de la région *D4Z4* (*FRG1* en particulier) se développent.

Le rôle pathologique de *DUX4*, confirmé par l'équipe d'A. Belayew, ouvre la voie à de nouvelles stratégies dont le but serait d'empêcher l'expression de ce gène.

Cette équipe a montré que l'inhibition du gène *DUX4* dans des cultures de cellules musculaires de personnes atteintes de FSH permet d'améliorer certains marqueurs de la maladie.

En 2012, une équipe américaine a montré que l'injection du gène *DUX4* dans le muscle de souris les rendait malades. Par contre, l'administration d'ARN interférant avec le gène *DUX4* améliore les signes cliniques de la maladie.

D'autres pistes thérapeutiques ont été étudiées, avec des résultats jusqu'à présent décevants :

- l'acide folique ou une supplémentation en méthionine pour rétablir un niveau de méthylation "normal" de l'ADN de la région *D4Z4* ;
- un inhibiteur calcique, le diltiazem, pour réguler le taux du calcium à l'intérieur de la cellule ;
- la créatine comme potentielle source d'énergie pendant une contraction musculaire ;
- les agonistes bêta-2 (type albutérol ou salbutamol) ou les inhibiteurs de la myostatine pour augmenter la masse musculaire des personnes atteintes de FSH.

Greffe de myoblastes autologues

La thérapie cellulaire a pour but de remplacer les cellules musculaires anormales par des cellules souches musculaires, les myoblastes.

Cette thérapie fait l'objet d'un essai de tolérance et de faisabilité de phase I/II, réalisé par l'équipe de C. Desnuelle (CHU de Nice, France) et soutenu par l'AFM-Téléthon. Des myoblastes prélevés dans des muscles épargnés par la maladie (muscles du quadriceps) sont greffés dans un muscle malade (muscle jambier antérieur).

L'essai est terminé et les données sont en cours d'analyse.

Essai en cours d'analyse

- Essai multicentrique de tolérance et de faisabilité de phase I/II de thérapie cellulaire par greffe autologue de myoblastes chez 9 personnes atteintes de FSH.
- Phase clinique terminée. Données en cours d'analyse

*Les **cellules souches** possèdent à la fois la capacité de se multiplier à l'identique pour produire de nouvelles cellules souches (auto-renouvellement) et celle de donner naissance, dans des conditions déterminées, à des cellules différenciées (cellules sanguines, cellules du foie, cellules musculaires...).*

*Un **essai de phase I/II** vise à démontrer la faisabilité, la tolérance et si possible l'efficacité d'un traitement en cours d'évaluation chez l'homme.*

*Les **myoblastes** sont les cellules précurseurs des cellules musculaires.*



Le stress oxydatif correspond à une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de molécules toxiques, issues principalement de la respiration cellulaire, les radicaux libres. Ils peuvent endommager les cellules et l'ADN.

*Dans un **essai randomisé**, les participants sont répartis par tirage au sort dans les différents groupes.*

*Un **essai contrôlé** est un essai qui compare l'efficacité de la substance testée à celle d'un placebo ou d'une substance active connue : une partie des participants prend un placebo ou une autre substance active et constitue un groupe "contrôle".*

*Dans un **essai en double aveugle**, ni les patients ni les médecins ne savent quelle alternative de traitement les patients prennent.*

*Au cours d'un essai clinique de **phase II**, un médicament, dont il a été montré au préalable qu'il était bien toléré (au cours d'un essai de phase I) est administré à un groupe de malades dans le but de déterminer l'efficacité thérapeutique, les doses optimales et la sécurité du traitement.*

>> [Essais cliniques et maladies neuromusculaires, Repères Savoir & Comprendre, AFM, Juillet 2010.](#)

Une supplémentation en antioxydants

Il existe chez les patients atteints de FSH non seulement un dysfonctionnement des mitochondries, mais aussi un déséquilibre spécifique du stress oxydatif : augmentation du stress oxydatif et diminution des capacités antioxydantes.

L'utilisation d'antioxydants dans le muscle se révèle être une piste intéressante pour agir ou retarder le stress oxydatif et améliorer les fonctions musculaires dans la FSH.

Un essai clinique randomisé, contrôlé, en double aveugle, visant à évaluer les effets d'une supplémentation en antioxydants pendant 17 semaines chez 54 personnes atteintes de FSH s'est déroulé en France. Les résultats sont en cours d'analyse.

Essai en cours d'analyse

- Essai randomisé, contrôlé, en double aveugle d'une supplémentation en antioxydants dans la FSH : vitamine E (400 mg/j), sélénium (200 µg/j), vitamine C (500 mg/j), zinc (25 mg/j).
- Investigateur principal : Pr J. Mercier (CHU de Montpellier).
- Phase clinique terminée. Données en cours d'analyse.

L'entraînement physique régulier à l'essai

Plusieurs études ont montré une bonne tolérance à l'entraînement physique dans la FSH.

Un essai de phase II est en cours de recrutement pour évaluer l'efficacité sur la fonction musculaire, de la pratique d'un entraînement combiné aérobie et en force, supervisé et à domicile pendant 24 semaines, chez un maximum de 30 personnes atteintes de FSH. Les patients suivront un programme d'activité physique modérée.

Des résultats préliminaires des effets d'un entraînement de 6 mois ont été présentés lors des X^{èmes} journées annuelles de la Société Française de Myologie (qui ont eu lieu du 14 au 16 novembre à Grenoble). Chez les 16 premiers patients inclus à cet essai, ce type d'entraînement s'avère efficace en termes de bénéfices fonctionnels.

Une étude prospective sur 24 mois supplémentaires est en cours de recrutement d'un minimum de 12 personnes atteintes FSH, âgées d'au moins 18 ans, ayant participé à la première partie de l'étude.

Essai en cours

- Essai de phase II, contrôlé, en ouvert d'un entraînement physique régulier à raison de 3 séances hebdomadaires de 35 minutes environ, chez un maximum de 30 personnes atteintes de FSH.
- En cours de recrutement.
- Fin estimée : septembre 2015.

>> Tout au long de l'année, suivez l'actualité de la recherche dans les maladies neuromusculaires sur **WEB** www.afm-teleton.fr > Actualités > Toute l'actualité.