

DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE

Autres appellations : myopathie de Duchenne, maladie de Duchenne, dystrophie musculaire de Duchenne de Boulogne, myopathie de Duchenne de Boulogne, DMD

Mise à jour : juin 2006, Tuy Nga Brignol (M.D.); validation, J. Andoni Urtizberea (M.D.); copyright AFM

Qu'est-ce que la dystrophie musculaire de Duchenne ?

Décrite en 1860 par le docteur Duchenne, à Boulogne-sur-Mer, la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) ou myopathie de Duchenne ("Duchenne muscular dystrophy" en anglais) est la plus répandue des myopathies de l'enfant : elle concerne 1 garçon sur 3500 à la naissance.

C'est une maladie génétique à transmission récessive liée au chromosome X : la maladie est transmise par les mères et seuls les garçons sont atteints.

Comment se manifeste-t-elle ?

La dystrophie musculaire de Duchenne est une maladie qui touche l'ensemble des muscles de l'organisme (muscles squelettiques, muscle cardiaque et muscles lisses).

L'enfant atteint présente en général peu de signes de la maladie avant l'âge de 3 ans mais il marche parfois tard, tombe souvent et se relève difficilement. Au fil des années, apparaît une faiblesse musculaire progressive des membres et du tronc. Bientôt la montée des escaliers, puis la marche, vers 10-12 ans, deviennent impossibles et l'utilisation des membres supérieurs se limite progressivement. Une scoliose souvent grave se développe, parfois avant, mais le plus souvent après la perte de la marche.

L'atteinte des muscles respiratoires rend l'enfant particulièrement sensible aux infections broncho-pulmonaires et au risque de décompensation ventilatoire.

Même si l'atteinte du muscle cardiaque ne se manifeste que tardivement, elle doit être recherchée précocement dès l'âge de 6-7 ans.

Comment évolue-t-elle ?

L'évolution de la maladie est marquée par l'apparition de rétractions des tendons, puis par la perte de la marche et par l'apparition d'une scoliose. En général, le recours occasionnel au fauteuil roulant est nécessaire vers l'âge de 8-9 ans, puis son utilisation définitive au début de l'adolescence permet au jeune garçon de conserver une autonomie de déplacement. Au delà du déficit moteur périphérique, ce sont les complications respiratoires (en rapport avec une hypoventilation alvéolaire) et cardiaques (cardiomyopathie) qui dominent le tableau. Depuis les progrès réalisés dans la prise en charge, l'espérance de vie dépasse désormais largement la vingtième année.

Comment fait-on le diagnostic ?

La découverte d'un déficit moteur associé à une pseudohypertrophie musculaire et une élévation des enzymes musculaires chez un jeune garçon doit faire évoquer de principe le diagnostic de myopathie de Duchenne.

La biopsie musculaire permet de certifier le diagnostic de dystrophie de Duchenne ou de Becker grâce à l'étude de la protéine en cause dans ces deux maladies alléliques, la dystrophine.

Il est maintenant possible de différencier la maladie de Duchenne de certaines autres dystrophies musculaires progressives de l'enfant (sarcoglycanopathies, déficit en FKRP notamment). Ceci est important notamment pour le conseil génétique.

En France le réseau des laboratoires qui réalisent le diagnostic moléculaire des DMD et DMB a développé des techniques qui permettent à ce jour de faire le diagnostic direct de plus de 95% des mutations (délétions, duplications, mutations introniques et exoniques...) présentes chez les malades. La précision du diagnostic moléculaire devrait permettre d'utiliser des thérapeutiques moléculaires adaptées au type de mutation.

Que peut-on faire ?

Il y a beaucoup à faire. Même s'il n'existe pas encore de traitement curatif de cette maladie, on peut ralentir son évolution grâce à une prise en charge pluridisciplinaire : orthopédique, respiratoire, cardiaque, nutritionnelle, etc. Cette prise en charge indispensable, précoce, régulière et permanente permet à l'enfant de conserver sa qualité de vie en limitant les conséquences de la maladie.

En France, les glucocorticoïdes sont peu ou pas prescrits dans la prise en charge de la DMD. Par contre, dans plusieurs autres pays européens et outre-Atlantique, les glucocorticoïdes sont utilisés avec des résultats encourageants. Une revue Cochrane (avril 2004) commanditée par l'AFM et l'ENMC a confirmé que les glucocorticoïdes étaient efficaces dans la myopathie de Duchenne pour améliorer la force motrice pendant au moins 6 mois, prolonger la marche pendant au moins 2 ans et peut-être ralentir la survenue des complications cardio-respiratoires.

Dans une étude publiée en mars 2005, une équipe française coordonnée par D. Duboc (Hôpital Cochin) et H.M. Bécane (Institut de Myologie), a également démontré l'effet préventif du péridopril sur l'insuffisance cardiaque chez des enfants atteints de DMD.

A quoi est-elle due ?

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est liée à l'absence d'une protéine des fibres musculaires appelée dystrophine. La dystrophine est codée par le gène *DMD*, localisé sur le chromosome X. Ce gène a été identifié en 1986, et son produit la dystrophine a été découverte en 1987.

La dystrophine est localisée sous la membrane cellulaire de la fibre musculaire. Elle est associée à des protéines qui forment un complexe reliant à travers la membrane cellulaire l'extérieur (matrice extracellulaire) et l'intérieur (cytosquelette) de la fibre musculaire. Un défaut de la dystrophine entraîne la rupture de ce lien et provoque une fragilisation de la membrane de la cellule musculaire. La membrane musculaire, fragilisée, ne résisterait plus aux contraintes imposées lors de la contraction, et la fibre musculaire serait détruite, en libérant les enzymes musculaires (CPK) dans le sang.

Dans environ 65% des cas de DMD, la mutation induit un décalage du cadre de lecture, entraînant la formation d'une protéine de dystrophine non fonctionnelle.

Des mécanismes de régénération du muscle mieux connus : Les cellules satellites présentes en périphérie des fibres musculaires interviennent dans le mécanisme de régénération du muscle : ne se multipliant habituellement pas dans la fibre musculaire mature, elles sont capables de se multiplier à nouveau en cas de lésion de celle-ci. Plusieurs équipes de recherche ont montré qu'une apoptose (processus complexe conduisant à la mort cellulaire) accrue des cellules satellites du muscle squelettique dans les dystrophies musculaires était un des facteurs qui empêchait sa régénération.

A l'inverse, une protéine appelée ADAM faciliterait la régénération musculaire. Des souris mdx surexprimant le facteur ADAM, glycoprotéines de la surface cellulaire, montrent une diminution de la nécrose et de l'inflammation du muscle. Cette diminution a pu être corrélée avec l'expression augmentée de l'utrophine, de l' $\alpha 7$ intégrine et des glycoprotéines associées à la dystrophine (DAP). Des facteurs du type ADAM pourraient donc être utilisés pour faciliter la régénération du muscle.

Quels sont les modèles animaux ?

A côté de la souris *mdx*, il existe une souris transgénique surexprimant une protéine kinase calcium/calmoduline dépendante (CaMKIV). La CaMKIV active la formation des mitochondries. La souris présente un accroissement important du nombre des mitochondries, une sur-expression des gènes mitochondriaux et des gènes nucléaires (codant des protéines mitochondriales) ainsi qu'une nette augmentation du pourcentage de fibres musculaires de type I. Ce modèle permettra de préciser les conditions de la biogénèse mitochondriale pour améliorer les performances musculaires.

Avant de passer à des essais chez l'homme, il est utile d'en faire sur des modèles animaux de plus grande taille quand ils existent.

En dehors du modèle spontané de chien (GRMD ou golden retriever muscular dystrophy) à phénotype variable mais souvent proche de celui connu dans la myopathie de Duchenne humaine, d'autres mutants canins sont en cours d'étude.

Chez le chat, un mutant a été sélectionné en Suisse et un autre aux USA.

Les études des mécanismes de la maladie sont réalisées chez les invertébrés.

Le ver nématode *Cænorhabditis elegans* est particulièrement intéressant, par sa facilité d'élevage et l'obtention facile de nombreux mutants.

Plus récemment un modèle a été obtenu chez la drosophile.

Le Poisson zèbre possédant la mutation SAPJE présente une différenciation musculaire normale suivi d'une dégénérescence musculaire évoquant une dystrophie type Duchenne. Cette mutation touche le gène orthologue du gène DMD. On retrouve dans ce modèle animal les protéines du complexe dystrophine/DAP, ainsi que les sarcoglycanes. L'injection d'un oligonucléotide antisens pour la dystrophine induit une réduction de la production de celle-ci, désignant ce modèle de poisson zèbre comme approprié à l'étude des dystrophies musculaires.

Où en est la recherche ?

L'existence de modèles animaux (souris, chiens, ...) atteints de DMD a permis de réaliser en 1997 les premiers essais de thérapie génique chez l'animal. L'élaboration d'un "minigène" (ADN complémentaire raccourci) de la dystrophine permet son inclusion dans un vecteur de type AAV (adénovirus associé, dix fois plus petit que l'adénovirus). Après injection intramusculaire du vecteur, les dystrophines tronquées produites sont retrouvées dans la membrane cellulaire des souris *mdx* dont la dystrophie musculaire peut ainsi se corriger jusqu'à 80%. Des travaux sont en cours pour tester les potentialités thérapeutiques de ces constructions.

De récentes études scientifiques ont montré que, dans la myopathie de Duchenne, il existe un défaut d'oxygénation du muscle à l'exercice susceptible d'entraîner une souffrance tissulaire liée au manque d'oxygène (ischémie). Le déficit en dystrophine tant au niveau de la fibre musculaire que du revêtement des vaisseaux artériels (endothélium vasculaire) entraînerait une perturbation de la production de monoxyde d'azote (NO). L'absence ou la diminution de production de ce vasodilatateur local entraînerait un manque d'oxygénation (ischémie) du muscle lors de l'effort. Le NO déclenche en outre une production d'utrophine bénéfique chez la souris *mdx* privée à la fois de dystrophine et d'utrophine.

Une équipe des Pays-Bas a montré (février 2006) que les cellules hMSCs (cellules souches mésenchymales humaines) participent à la myogenèse en fusionnant avec des myoblastes issus de patients atteints de DMD et apportent ainsi la séquence codante de la dystrophine au sein des myotubes formés.

Quelles sont les pistes thérapeutiques à l'étude ?

Thérapie génique

Le saut d'exon a pour objectif de supprimer la partie du code comprenant l'erreur afin de rétablir le cadre de lecture et permettre à la cellule de fabriquer la protéine absente. La dystrophine produite est plus courte. Mais si les acides aminés manquants ne sont pas essentiels, la protéine peut être fonctionnelle. Le saut d'exon est induit par de petites molécules appelées « oligonucléotides anti-sens ».

L'équipe de L. Garcia (Généthon) a fait exprimer une dystrophine fonctionnelle dans la cellule musculaire de la souris *mdx*, grâce à l'injection par voie intra-artérielle ou intramusculaire, d'un vecteur AAV (*Adeno Associated Virus*), couplé à une petite molécule d'ARN U7. Cette technique a permis le saut de l'exon 23 pour rétablir le cadre de lecture (décembre 2004). Elle a été ensuite appliquée chez le chien GRMD (modèle de la DMD). Le saut multi-exons ainsi testé *in vivo*, ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques chez les patients DMD. De nouveaux vecteurs (AAV et lentivirus) destinés à être utilisés chez l'homme ont aussi été développés. En mars 2006, une équipe italienne confirme l'intérêt du saut d'exon dans la dystrophie musculaire de Duchenne en injectant le couple AAV-U1 par la veine de la queue de la souris *mdx*.

Deux problèmes principaux se posent dans l'utilisation de vecteurs viraux ou de plasmides (vecteurs d'origine bactérienne) en thérapie génique : la diffusion limitée du transgène et le risque de réaction immunitaire contre le vecteur ou le produit du gène. L'administration *in utero* pourrait améliorer le transfert des vecteurs car la masse tissulaire du fœtus est faible, les barrières biologiques ne sont pas encore développées et le système immunitaire est immature.

Deux nouveaux transporteurs de gènes non viraux restaurent efficacement l'expression de la dystrophine chez la souris *mdx*. Une collaboration franco-américaine a montré que des copolymères à blocs (vecteurs synthétiques utilisés pour transporter des molécules d'ADN ou d'ARN) permettent de transférer le gène de la dystrophine dans des muscles squelettiques de souris *mdx* restaurant ainsi la production de cette protéine dans un grand nombre de fibres musculaires.

Une équipe américaine a amélioré l'efficacité d'un plasmide en couplant celui-ci avec une enzyme spéciale permettant l'intégration de l'ADN dans le génome de l'animal traité. Cette technique a permis de restaurer l'expression de la dystrophine chez la souris *mdx* dans de nombreuses fibres musculaires.

Dans une étude publiée en février 2006, une équipe britannique a utilisé des oligonucléotides anti-sens d'un type particulier : le morpholino phosphodiarnidate. L'injection intraveineuse hebdomadaire pendant trois semaines de ces molécules a restauré l'expression de la dystrophine dans l'ensemble des muscles squelettiques de la souris, avec amélioration de la fonction musculaire. Cependant, le niveau d'expression de la dystrophine est très variable d'un muscle et l'autre, mais contrairement aux vecteurs viraux, ils ne provoquent pas de réactions.

Thérapie cellulaire

Des travaux récents ont montré que les cellules souches hématopoïétiques pouvaient contribuer à la régénération du muscle squelettique chez la souris *mdx*. Ces cellules seraient capables dans des conditions spécifiques de se différencier en cellules musculaires.

En 2005, les équipes de C. Dani (Inserm) ont réussi à obtenir, à partir de tissu adipeux de jeunes donneurs, des cellules souches multipotentes dénommées hMADS («*Human Multipotent Adipose Derived Stem Cell*»).

La cellule souche hMADS est capable de donner naissance *in vitro* à une cellule musculaire, osseuse, adipeuse ou de cartilage, en fonction de son environnement. Transplantées en faible quantité chez la souris *mdx*, ces cellules ont entraîné une expression importante et à long terme de la dystrophine humaine.

Autres pistes thérapeutiques

La sur-expression du facteur de croissance IGF-I (*Insulin-like growth factor-1*) dans les muscles de souris *mdx* réduit la pathologie dystrophique. Mais l'utilisation d'IGF-I n'est pas envisageable pour l'instant chez l'homme en raison d'importants effets secondaires.

La myostatine est un inhibiteur endogène de la croissance musculaire. Sa suppression chez la souris *mdx* atténue la dystrophie musculaire. Des essais cliniques chez l'homme utilisant des anticorps bloquants contre la myostatine (laboratoire pharmaceutique Wyeth, USA) ont débuté.

L'inhibiteur de protéase " BBIC " (*Bowman-Birk Inhibitor*) testé dans le laboratoire de L. Sweeney (USA) sur les souris *mdx* améliorerait la stabilité de la cellule musculaire et n'aurait pas d'effets secondaires. Un essai clinique de phase I est planifié avec le NIH (Kenneth Fischbeck-*National Institute of Health*-USA).

L'inhibiteur de protéase " MYODUR " est un inhibiteur des calpaïnes, qui sont sur-activées en absence de dystrophine, conduisant à une dégradation excessive de protéines. Un essai de phase I est prévu par la société de biotechnologie Ceptor Corporation (T. Michele - USA). Des publications ont rapporté l'amélioration du phénotype dystrophique des souris *mdx* par l'héréguline, et la restauration de la fonction et de la densité vasculaires chez les souris *mdx* par la gentamycine.

Dans une étude publiée en décembre 2005, une équipe franco-américaine a administré, par voie intrapéritonéale, de la L-arginine chez des souris *mdx*. Les capacités régénératrices et les propriétés contractiles des muscles, ainsi que certains paramètres histologiques ont été améliorés.