



## AVANCÉES DE LA RECHERCHE

# Avancées dans la dystrophie myotonique de Steinert

- > Maladie de Steinert
- > Myotonie de Steinert
- > Dystrophie myotonique de type 1
- > DM1
- > *Dystrophia myotonica*
- > *Atrophia myotonica*
- > Syndrome de Curschmann-Batten-Steinert
- > Myopathie de Steinert

JUIN 2012

Ce document présente l'état actuel des connaissances scientifiques sur la dystrophie myotonique de type 1 ou maladie de Steinert, mis à jour à l'occasion des Journées des Familles 2012 de l'AFM-Téléthon. Il est téléchargeable sur le site internet de l'AFM-Téléthon : **WEB** [www.afm-telethon.fr](http://www.afm-telethon.fr).

Pour en savoir plus sur la maladie de Steinert, vous pouvez consulter le *Zoom sur... la maladie de Steinert* 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 l'AFM-Téléthon 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 votre équipe soignante.



## SOMMAIRE

## Rédaction

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

## Validation

▪ Dr Geneviève Gourdon  
Inserm U 383  
Hôpital Necker-Enfants  
Malades, Paris

▪ Dr Guillaume Bassez  
Centre de Référence Maladies  
Neuromusculaires  
INSERM U955  
CHU Henri Mondor, AP-HP,  
Créteil

Qu'est-ce que la maladie de Steinert ? .....	2
A quoi la dystrophie myotonique de Steinert est-elle due ? ..	2
Où en est la recherche ? .....	4
Une accumulation toxique de l'ARN messager anormal.....	4
Une expansion de triplets instable .....	6
D'autres facteurs à découvrir .....	7
Des registres de patients pour mieux connaître la dystrophie myotonique de Steinert .....	7
Mieux comprendre les manifestations de la maladie de Steinert .....	8
Des modèles cellulaires et animaux pour explorer les mécanismes de la maladie de Steinert .....	9
La surexpression de la protéine MBNL1 améliore la myotonie des souris modèles de DM1 .....	10
La surexpression de la protéine CUGBP1 favorise le phénotype de myotonie chez les souris modèles de DM1 .....	10
Les pistes thérapeutiques actuelles visent principalement à contrer le mécanisme moléculaire de la maladie .....	10
Des études cliniques pour réduire les symptômes de la maladie et améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de maladie de Steinert .....	12

\*  
\*      \*

## Qu'est-ce que la maladie de Steinert ?

*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.*

*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*

La maladie de Steinert (ou dystrophie myotonique de type 1) est une maladie dite "rare". Elle affecte les muscles, lesquels s'affaiblissent (dystrophie) et ont du mal à se relâcher en fin de contraction (myotonie). Elle atteint aussi d'autres organes (cœur et appareil respiratoire, appareil digestif, système endocrinien et système nerveux) : c'est une maladie multisystémique.

La maladie de Steinert touche les femmes comme les hommes. L'importance des symptômes est très variable d'une personne à l'autre, y compris parmi les membres d'une même famille. La maladie de Steinert peut donner lieu à des formes asymptomatiques (la personne est porteuse de l'anomalie génétique de la maladie de Steinert mais n'en manifeste aucun signe même jusqu'à un âge très avancé) ou à déclaration très tardive, ou encore, à l'inverse, à des formes sévères, qui se manifestent dès la naissance (formes congénitales).

La prise en charge est, pour l'instant, symptomatique. Elle vise essentiellement à prévenir les complications, notamment cardiaques et respiratoires et à améliorer le confort de vie des personnes atteintes de maladie de Steinert.

## A quoi la dystrophie myotonique de Steinert est-elle due ?

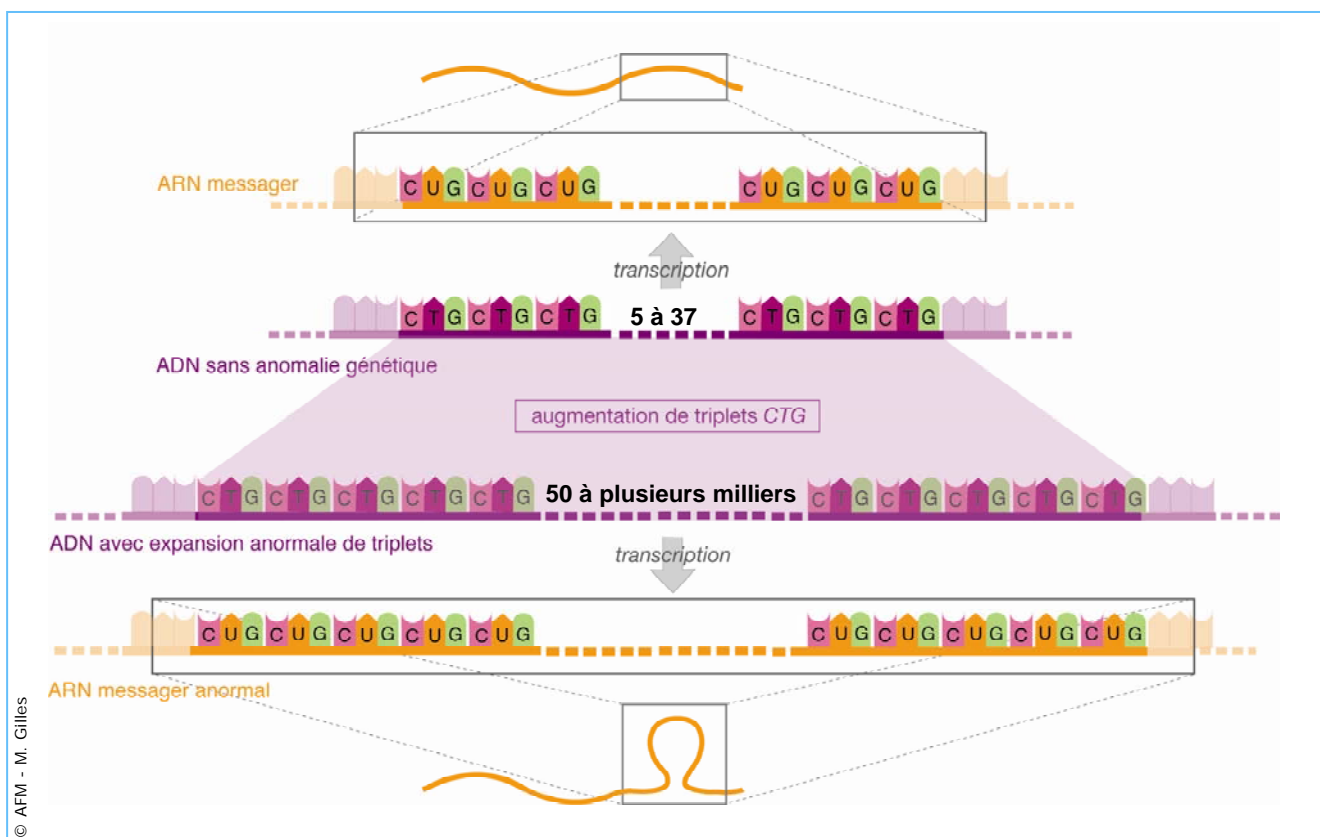
La maladie de Steinert est une maladie d'origine génétique. Elle est due à une anomalie génétique située sur le chromosome 19. Il s'agit d'une expansion pathologique d'une petite séquence d'ADN

(triplet de nucléotides *CTG*) au niveau du gène *DMPK* (pour *dystrophia myotonica protein kinase*) qui perturbe le fonctionnement normal de la cellule.

Habituellement, le gène *DMPK* contient à l'une de ses extrémités une petite séquence d'ADN (de trois nucléotides *CTG*) qui est répétée, à l'état normal, entre 5 et 37 fois. Dans la maladie de Steinert, le nombre de ces répétitions de *CTG* augmente allant de 50 jusqu'à plusieurs milliers de triplets. Les chercheurs parlent "d'amplification" des répétitions ou "d'expansion" de triplets.

La maladie de Steinert fait partie des maladies à triplets au même titre que d'autres maladies génétiques telles la chorée de Huntington, le syndrome de Kennedy, la dystrophie musculaire oculopharyngée ou la maladie de Friedreich par exemple.

Un **nucléotide** est l'unité de base de la molécule d'ADN et est de 4 sortes différentes (A, T, G, C). A chaque combinaison de 3 nucléotides (triplet ou trinuéclotide) sur le gène correspond un acide aminé dans la protéine.



### **L'expansion de triplets CTG dans la maladie de Steinert**

La maladie de Steinert est due à l'augmentation importante du nombre de répétition d'une petite séquence d'ADN, composée de 3 nucléotides (triplets, ou trinuéclotides).

A chaque groupe de 3 nucléotides *CTG* sur le gène correspondent 3 nucléotides *CUG* sur l'ARN messager. Lorsque le triplet *CUG* est répété un trop grand nombre de fois, l'ARN messager comporte une longue chaîne *CUG* (boucle jaune en bas) qui affecte l'activité de la cellule et provoque les signes de la maladie de Steinert.

Dans la maladie de Steinert, le nombre de répétitions *CTG* varie d'un individu à l'autre, y compris parmi les membres d'une même famille. Il peut même varier au cours de la vie d'une personne ou selon les cellules ou l'organe considéré. De façon générale, plus le nombre de répétition *CTG* est élevé, plus les manifestations de la maladie sont sévères et précoces. La corrélation entre ces paramètres n'est toutefois pas parfaite. Dans le cerveau par exemple, il n'a été mis en évidence aucune corrélation entre la longueur des répétitions *CTG* et l'atteinte neuropathologique.

Le nombre de répétitions peut augmenter à chaque nouvelle génération. Cette amplification varie selon qu'elle se transmet par le



père ou la mère et la taille initiale des répétitions. Ceci explique que les manifestations de la maladie puissent être plus marquée de génération en génération. C'est le phénomène dit "d'anticipation".

## Où en est la recherche ?

La recherche sur la dystrophie myotonique de Steinert (DM1) contribue et bénéficie aussi des avancées faites dans le domaine des maladies génétiques dues à des expansions instables (maladies à triplets ou à quadruplets), car il existe de grandes similitudes au niveau des mécanismes moléculaires en jeu.

Les IX<sup>e</sup> Journées annuelles de la Société Française de Myologie (SFM) ont été consacrées cette année à la DM1. Elles ont réuni, du 3 au 5 novembre 2011 à Angers, une centaine de médecins et de chercheurs européens impliqués dans cette maladie.

Des présentations sur les particularités de la forme infantile de la maladie de Steinert, la prise en charge des manifestations neuro-ophtalmologiques, cardiaques et respiratoires de la maladie ont permis de lancer les discussions.

Les actualités dans les approches expérimentales et thérapeutiques ont été exposées, avec la présentation du modèle murin "DMSXL" de la DM1 (avec plus de 1 000 répétitions CTG) développé par l'équipe de G. Gourdon (Paris) et la description des anomalies observées au cours de l'épissage alternatif dans la DM1.

Une mise au point sur les approches thérapeutiques dans la DM1 a insisté plus particulièrement sur la destruction des ARN messagers anormaux toxiques et le ciblage des agrégats anormaux. L'intérêt des cellules souches pluripotentes pour mieux comprendre et traiter la DM1 a été souligné par la chercheuse C. Martinat (I-Stem).

D'autres thèmes comme les aspects psychologiques et les altérations au niveau du cerveau dans la DM1 et la DM2, les manifestations cliniques atypiques de la DM2 et un "parcours de soin intégré" à Sherbrooke (Canada) ont été développés.

Une réunion du consortium international consacré aux dystrophies myotoniques (IDMC) se tient tous les deux ans.

La 8<sup>ème</sup> édition (IDMC-8), soutenue par l'AFM-Téléthon, s'est déroulée du 30 novembre au 3 décembre 2011 en Floride. Plusieurs thèmes sur les mécanismes des maladies, les modèles animaux et cellulaires, les caractéristiques cliniques et les biomarqueurs, le cerveau dans les dystrophies myotoniques... ont été discutés. Une grande partie du programme était plus particulièrement consacrée aux approches thérapeutiques dans les dystrophies myotoniques avec une quinzaine de présentations d'études sur des modèles cellulaires et animaux (pré-cliniques).

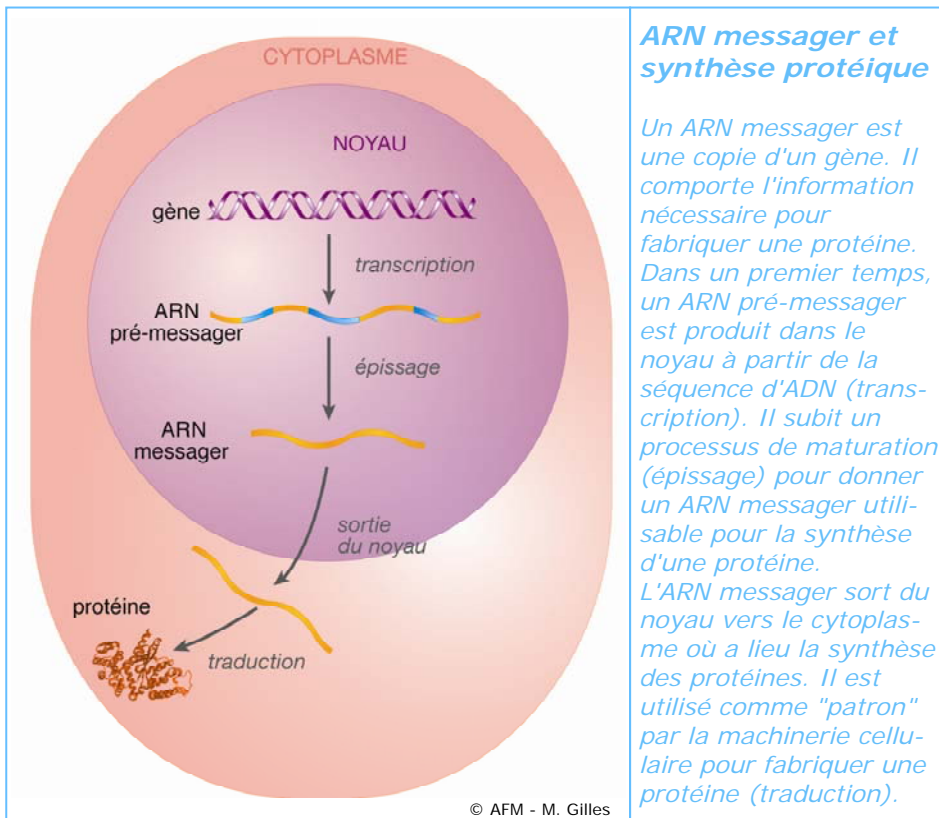
## Une accumulation toxique de l'ARN messenger anormal

L'hypothèse scientifique communément admise concernant les mécanismes d'apparition de la maladie de Steinert repose sur le rôle toxique de l'ARN messenger anormal produit à partir de la séquence d'ADN qui comporte l'anomalie génétique.

En effet, pour produire la protéine DMPK, il faut disposer d'un plan de montage. C'est le rôle de l'ARN messenger. Il est produit dans le noyau par copie du gène *DMPK*. Après maturation, l'ARN messenger sort du noyau pour servir de guide à la fabrication de la protéine DMPK.

*L'épissage est une étape de la fabrication des protéines. Dans la première étape, la transcription, le message du gène est "transcrit" en ARN messenger (un peu comme une photocopie de la région d'ADN qui porte le gène). Dans la seconde étape, l'épissage, l'ARN messenger est "épissé" : certaines parties sont coupées et les morceaux restants sont réunis en un seul brin d'ARN messenger mature qui ne contient que les informations nécessaires pour aider la synthèse de la*

*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...).*



Dans la maladie de Steinert, lorsque le gène *DMPK* est transcrit en ARN messager, l'expansion anormale de répétitions *CTG* qu'il comporte se retrouve aussi transcrite dans l'ARN messager. Trop long et formant sans doute des boucles anormales au niveau des répétitions, l'ARN anormal ne peut pas sortir du noyau et permettre la synthèse de la protéine *DMPK*. Les molécules d'ARN messager anormal s'accumulent dans le noyau en formant des agrégats dans lesquels certaines protéines nucléaires sont piégées. La présence de ces agrégats provoque des perturbations de l'expression de certains gènes.

Les chercheurs ont ainsi découvert que certaines protéines n'étaient pas synthétisées sous leur forme adulte chez les personnes atteintes de la maladie de Steinert.

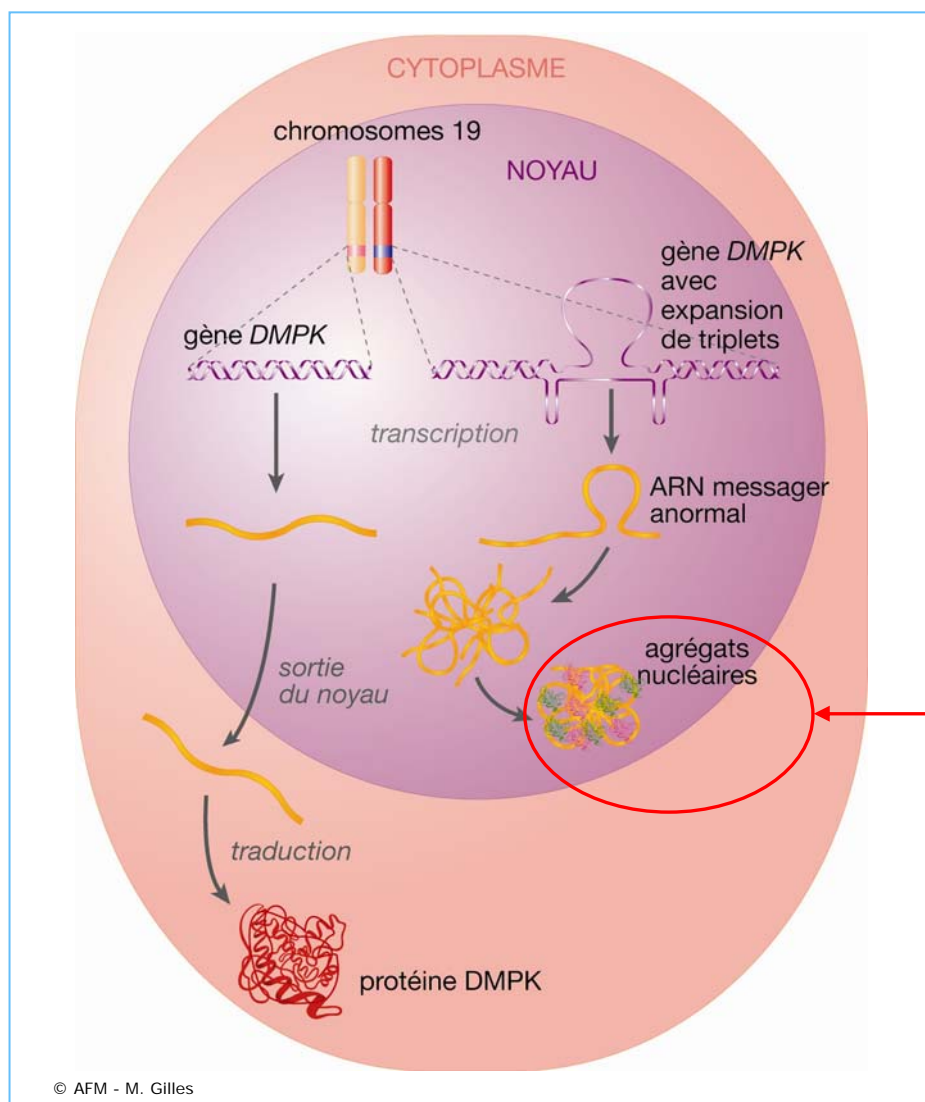
Ceci a été montré, en particulier, pour le canal ionique chlore *CCL1*, pour le récepteur de l'insuline, pour la troponine cardiaque, pour la protéine tau, une protéine qui stabilise le cytosquelette des neurones, et pour la myotubularine, une protéine du muscle squelettique.

L'altération de la synthèse de ces protéines pourrait expliquer l'atteinte de certains des organes touchés dans la maladie de Steinert. Par exemple, l'altération de la synthèse du canal ionique chlore peut expliquer la myotonie. Par ailleurs, on sait que le récepteur de l'insuline est impliqué dans l'utilisation du sucre (glucose) par les cellules et dans la protection contre le diabète. L'accumulation de la protéine tau dans le cerveau est connue pour être toxique dans la maladie d'Alzheimer. La troponine cardiaque est, elle, impliquée dans la contraction du muscle cardiaque (myocarde). Quant à la myotubularine, elle joue un rôle dans le trafic membranaire de la cellule et est essentielle au bon développement du muscle squelettique.

**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 conduit à la production de petite quantité de protéine.

**Le trafic membranaire** est l'ensemble des mécanismes qui permettent à une cellule de faire circuler du matériel d'un compartiment cellulaire à un autre par des petits sacs constitués par une membrane (vésicules).





**Effets toxiques des agrégats nucléaires dans la maladie de Steinert**  
 La présence de ces agrégats toxiques perturbe le fonctionnement de protéines régulatrices (MBNL1, CUG-BP..) et entraîne des anomalies dans l'expression d'autres gènes qui pourraient expliquer certains symptômes :  
 - canal Chlore → myotonie  
 - récepteur de l'insuline → insensibilité à l'insuline  
 - ...

**La formation d'agrégats dans le noyau dans la maladie de Steinert**

Chez les personnes atteintes de maladie de Steinert, un des deux exemplaires du gène DMPK comporte une anomalie génétique. Les ARN messagers produits à partir de cet exemplaire sont anormalement longs, ils ont tendance à se lier à des protéines du noyau en formant des agrégats. La présence de ces agrégats perturbe le bon fonctionnement de la cellule.

L'autre exemplaire du gène, sans anomalie génétique, permet une production de protéine DMPK normale.

Si le lien entre l'altération du canal chlore et la myotonie ainsi que le lien entre l'altération du récepteur de l'insuline et le diabète ont été clairement démontrés, ce n'est pas le cas pour les autres protéines et les manifestations cliniques correspondantes. Il reste encore beaucoup de travail pour découvrir précisément la cascade d'évènements en cause dans l'apparition de tous les symptômes de la maladie de Steinert.

**Une expansion de triplets instable**

Dans le gène DMPK, le nombre de triplets CTG diffère naturellement d'un individu à l'autre, de 5 à 37 répétitions. Dans cet intervalle, le nombre de répétitions ne provoque pas de maladie.



Lorsque le nombre de répétitions de triplet *CTG* augmente et dépasse 50 répétitions, le fonctionnement de la cellule est perturbé et la maladie peut apparaître. De surcroît, l'augmentation importante du nombre de répétitions de triplets *CTG* (plus de 100) rend cette séquence d'ADN très instable : le nombre de répétitions *CTG* peut varier spontanément et il a tendance à augmenter. Plus l'expansion est grande (plus le nombre de répétitions de triplets *CTG* est élevé) et plus l'instabilité est importante.

L'expansion de triplets *CTG* (c'est-à-dire l'augmentation du nombre de triplets *CTG*) se produit le plus souvent lors de la formation des cellules sexuelles (ovules, spermatozoïdes), ce qui explique que le nombre de répétitions peut augmenter d'une génération à l'autre (phénomène d'anticipation).

Ces modifications peuvent également se produire dans les cellules de différents organes. Le nombre de répétitions chez une personne atteinte de maladie de Steinert peut ainsi être différent d'un organe à l'autre et même varier au cours de la vie.

Les effets de cette expansion ne sont pas tant visibles au niveau de la perte de fonction du gène *DMPK* qu'au travers de l'épissage de l'ARN. L'expansion de la répétition du triplet *CTG* est transcrite en répétition *CUG* au sein de l'ARN. Cet ARN anormal (présentant de grandes boucles *CUG*) entraîne l'altération de 2 protéines : une diminution de la protéine de liaison à l'ARN, *MBNL1* (*Muscleblind-like 1*), et une surexpression de la protéine de liaison à *CUG*, *CUGBP1* (*CUG binding protein*).

### D'autres facteurs à découvrir

Il existe probablement, en plus de l'effet toxique de l'accumulation de l'ARN anormal, d'autres mécanismes impliqués dans l'apparition des symptômes. Les identifier permettrait d'améliorer les approches thérapeutiques.

En effet, dans certains modèles animaux de la maladie, l'accumulation d'ARN anormal dans le noyau ne provoque pas d'anomalie de la formation d'autres ARN messagers alors que la maladie est présente sur le plan clinique.

Très récemment, une équipe a mis en évidence une augmentation spécifique de l'expression de la protéine Staufen-1 dans le muscle squelettique de souris modèles de DM1 et dans celui de patients atteints de DM1. Cette augmentation aurait un rôle protecteur dans la DM1 en interagissant avec les répétitions d'ARN. Ce serait un mécanisme compensatoire des fibres musculaires pour retarder ou diminuer l'effet délétère de la diminution de *MBNL1* ou de la surexpression de *CUGBP1*.

D'autre part, il a été montré en 2012 que la faiblesse musculaire dans les dystrophies myotoniques était associée à une dérégulation de l'épissage de l'ARN messager d'un canal calcium (*Ca(V)1.1*) qui contrôle l'excitation/contraction des muscles squelettiques. D'autres expériences sont toutefois nécessaires pour mieux comprendre le rôle de ce canal dans les DM1 et les DM2.

### Des registres de patients pour mieux connaître la dystrophie myotonique de Steinert

Le développement de registres de patients permet d'effectuer un recensement exhaustif des personnes atteintes de dystrophie myotonique de Steinert et de préciser l'histoire naturelle de cette

*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...).*

maladie. La détermination de l'histoire naturelle d'une maladie est un pré-requis important avant la mise en place de traitements ou d'essais thérapeutiques. Ceci est encore plus vrai quand la progression de la maladie est variable et assez lente comme dans la DM1.

L'observatoire français des dystrophies myotoniques, DM-scope, piloté par le Centre de référence des maladies neuromusculaires de l'hôpital Henri-Mondor, à Créteil (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), et financé par l'AFM-Téléthon, est une base de données nationale sur les dystrophies myotoniques, permettant de mieux connaître leur histoire naturelle.

La constitution de ce registre spécifiquement dédié aux dystrophies myotoniques a été initiée en 2008 pour la région parisienne puis étendu au territoire national en 2009. Il recense à l'heure actuelle environ 1150 dossiers (1082 pour la DM1 et 65 pour la DM2), ce qui fait de lui la plus grande base de données mondiale sur les dystrophies myotoniques.

La collecte des données s'effectue dans le cadre des consultations par les médecins qui sont invités à remplir un questionnaire papier standardisé pour chaque patient atteint de DM1 ou DM2 et à le transmettre au centre de référence de l'hôpital Henri-Mondor.

Cette base de donnée constitue un outil puissant pour optimiser la mise en œuvre des traitements disponibles, promouvoir la recherche clinique et le développement de nouvelles thérapies. Elle permet aussi une identification plus rapide des patients répondant aux critères requis pour participer à un essai clinique.

#### **DM-scope : l'observatoire français des dystrophies myotoniques**

- Piloté par le Centre de référence des maladies neuromusculaires de l'hôpital Henri-Mondor (Créteil) et financé par l'AFM-Téléthon
- Objectif : recenser toutes les personnes atteintes de dystrophies myotoniques, afin de mieux connaître l'histoire naturelle de la maladie.
- Parlez-en avec votre médecin de la Consultation spécialisée "Maladies neuromusculaires".

Il existe également le Registre Québécois pour la Dystrophie Myotonique (sous la responsabilité de J. Puymirat), développé au Centre Hospitalier de Québec avec le soutien de l'AFM-Téléthon. Il collecte les données de personnes atteintes de dystrophie myotonique de Steinert et ainsi que celles de membres non atteints de leur famille. Il a pour objectif de mieux comprendre les dystrophies myotoniques et leurs manifestations, de faciliter la participation des patients aux projets de recherche et aux essais cliniques...

#### **Registre Québécois pour la Dystrophie Myotonique**

- Sous la responsabilité de J. Puymirat (Centre Hospitalier de Québec) et financé par l'AFM-Téléthon
- Objectif : recenser toutes les personnes atteintes de dystrophie myotonique de Steinert
- Les patients doivent remplir un questionnaire sur le site internet :  
**WEB** [www.dystrophiemyotonique.chuq.qc.ca/index.html](http://www.dystrophiemyotonique.chuq.qc.ca/index.html)

### **Mieux comprendre les manifestations de la maladie de Steinert**

Une étude sur les causes de l'atteinte respiratoire dans la dystrophie myotonique de Steinert a démarré depuis 2008. Pilotée par une équipe française (Lille) et soutenue financièrement par l'AFM-Téléthon, elle se propose de mesurer sur 5 ans l'évolution de





différents paramètres (atteinte cognitive, somnolence diurne, spirométrie, faiblesse des muscles respiratoires, nombre de répétitions CTG...) qui pourraient expliquer l'atteinte respiratoire et son évolution, chez 160 personnes atteintes de DM1.

Des techniques d'imagerie par résonance magnétique (IRM) ont été appliquées aux muscles et au système nerveux central de personnes adultes atteintes de dystrophies myotoniques pour mieux en comprendre les modifications. Publiés en 2012, les résultats ont montré des volumes musculaires diminués et corrélés à des anomalies cérébrales dans la DM1 et la DM2.

### **Des modèles cellulaires et animaux pour explorer les mécanismes de la maladie de Steinert**

Des modèles animaux ont été développés en laboratoire dans le but de reproduire la maladie, de comprendre les mécanismes pathologiques et de tester de nouvelles approches thérapeutiques. Certains modèles animaux sont élaborés spécifiquement afin de répondre à des questions particulières concernant les mécanismes moléculaires de la maladie. D'autres ne reproduisent la pathologie que dans un seul organe (muscle, cerveau...).

Plusieurs souris modèles de dystrophie myotonique de Steinert ont été développées soit par expansion de triplets *CUG*, soit par inhibition de la protéine MBNL1, soit par surexpression de la protéine CUGBP1.

*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.*

#### **Un nouveau modèle de souris**

L'équipe de G. Gourdon, à l'Hôpital Necker (Paris) a mis au point un modèle de souris appelé "souris *DMSXL*" qui présente plus de 1000 répétitions de triplets *CUG*. Ce nouveau modèle permet de mieux comprendre les bases cellulaires et moléculaires de la maladie. Des études sur la caractérisation musculaire ou cérébrale de ces souris ou des expériences de thérapie génique dans le muscle sont en cours. Dans cette souris *DMSXL*, le gène *DMPK* est exprimé dans les différents tissus, ce qui en fait un bon modèle pour étudier des approches thérapeutiques systémiques (c'est-à-dire de tout l'organisme).

#### **Des modèles cellulaires**

Des modèles cellulaires de la maladie sont également développés par les chercheurs, soit à partir de cellules provenant des malades eux-mêmes, soit en modifiant des cellules saines pour les "transformer" en cellules de type DM1.

Les chercheurs ont ainsi pu montrer que des cellules précurseurs du muscle (cellules responsables de la régénération et de la réparation du muscle en cas de lésion), provenant de personnes atteintes de DM1, ont des capacités prolifératives réduites, dues à un "vieillessement" prématuré.

*Un modèle cellulaire permet d'étudier les mécanismes biologiques d'une maladie à partir de cellules cultivées en laboratoire qui reproduisent les caractéristiques de cette maladie. Ces cellules peuvent provenir de personnes atteintes par la maladie. Un modèle cellulaire permet aussi de tester les effets d'un traitement potentiel.*

#### **Des cellules souches embryonnaires révèlent des anomalies inconnues jusque là dans la DM1**

En 2011, une équipe de l'Institut des cellules souches pour le traitement et l'étude des maladies monogéniques (I-Stem) a utilisé pour la première fois des cellules souches embryonnaires humaines porteuses d'une mutation à l'origine de la DM1 pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le développement de la maladie.

En comparant des cellules embryonnaires atteintes de DM1 à des cellules embryonnaires saines, l'équipe de C. Martinat et M.

Peschanski a mis en évidence, dans la DM1, une pousse exubérante des axones des motoneurones, ainsi qu'une forte réduction du nombre de connexions neuro-musculaires et donc une forte diminution de la transmission d'informations des nerfs vers les muscles. Sur le plan moléculaire, deux gènes de la même famille, *SLITRK2* et *SLITRK4*, voient leur expression diminuée dans la DM1. Ces cellules souches porteuses d'une mutation responsable de la DM1 représentent un bon outil pour identifier des médicaments afin de corriger ces anomalies.

### **La surexpression de la protéine MBNL1 améliore la myotonie des souris modèles de DM1**

Les chercheurs utilisent également les modèles animaux ou cellulaires de la maladie de Steinert pour identifier les gènes dont l'expression est modifiée à cause de la présence toxique des agrégats dans le noyau des cellules.

On sait ainsi que la protéine MBNL1, qui est piégée dans les agrégats formés par les ARN anormaux, joue un rôle clef dans les mécanismes de survenue de la dystrophie myotonique de Steinert (DM1). La suppression de la protéine MBNL1 chez la souris provoque des défauts de maturation de l'ARN messager identiques à ceux produits par une surexpression d'expansion de *CUG* (comme celle qui existe dans la DM1). Par contre, la surexpression de la protéine MBNL1 chez la souris modèle de DM1, qui présente un défaut de maturation de certains ARN messagers, entraîne une normalisation de la maturation de ces ARN messager et une amélioration nette de la myotonie.

### **La surexpression de la protéine CUGBP1 favorise le phénotype de myotonie chez les souris modèles de DM1**

La présence des agrégats formés par l'accumulation d'ARN anormaux perturbe le fonctionnement de la protéine CUGBP1, jouant un rôle pathogénique dans l'apparition de la DM1.

Au début de l'année 2010, une équipe américaine a montré que la surexpression de la protéine CUGBP1 dans le cœur d'une souris participait aux anomalies cardiaques observées dans la DM1.

Fin 2010, cette même équipe a montré que les souris qui expriment 8 fois plus de protéines CUGBP1 au sein de leurs muscles, ont un poids et une performance musculaire diminués et que leurs muscles présentent des caractéristiques histologiques de la DM1. La surexpression de CUGBP1 serait suffisante pour reproduire certaines caractéristiques moléculaires et fonctionnelles de la DM1 chez la souris.

### **Les pistes thérapeutiques actuelles visent principalement à contrer le mécanisme moléculaire de la maladie**

Pour cela, plusieurs approches thérapeutiques sont envisagées :

- détruire l'ARN anormal dont l'accumulation est toxique pour la cellule (techniques apparentées à la "chirurgie du gène"),
- empêcher la séquestration de la protéine MBNL1 par les agrégats anormaux,
- empêcher la surexpression de la protéine CUGBP1 dues aux agrégats anormaux,
- détruire les agrégats anormaux.

### **Détruire l'ARN anormal (toxique)**

La piste thérapeutique visant à détruire l'ARN messager anormal est une des plus avancées et plusieurs équipes dans le monde s'y consacrent. Parmi elles, l'équipe de J. Puymirat (Québec) a



développé depuis plusieurs années un "ARN-médicament", qui entraîne la destruction de l'ARN messager défectueux.

En 2003, cette équipe a réussi à détruire, grâce à cette technologie, 60% à 80% de l'ARN messager défectueux dans des cultures de cellules musculaires humaines.

Lors du 16<sup>ème</sup> congrès de la *World Muscle Society* organisé au Portugal en octobre 2011, J. Puymirat a présenté ses travaux utilisant des oligonucléotides antisens dans le but de diminuer la quantité d'ARN toxiques produites par les cellules atteintes de DM1. Les niveaux d'ARN toxiques ont été réduits jusqu'à 90% dans les cellules en culture. Des résultats similaires ont été obtenus lorsque les oligonucléotides antisens ont été injectés dans le muscle d'une souris modèle de la DM1. J. Puymirat a indiqué qu'ils espéraient lancer le premier essai clinique chez l'homme en 2013.

Des travaux publiés en 2012 ont rapporté une autre approche thérapeutique utilisant des oligonucléotides antisens. Le but est de stimuler une enzyme, la RNase H, qui va dégrader l'ARN toxique de la DM1.

La destruction de l'ARN anormal empêche la formation d'agrégats anormaux aussi bien dans des cellules en culture que dans une souris modèle de DM1.

Cette stratégie thérapeutique va être testée dans les souris *DMSXL*.

Une autre équipe, soutenue par l'AFM-Téléthon, a développé des ARN capables de cibler spécifiquement les ARN mutés dans la DM1. Les résultats de l'injection d'ARN U7 sur des cultures de cellules musculaires de patients atteints de DM1, publiés en 2011, ont mis en évidence une dégradation spécifique des ARN mutés (réduction de 71 à 82%), sans toucher les ARN normaux. Des essais sur la souris sont en cours de préparation.

### **Empêcher la séquestration de la protéine MBNL1 par les agrégats anormaux**

En 2009, une équipe américaine a utilisé une thérapie basée sur l'inhibition de l'interaction entre les répétitions *CUG* de la DMPK et la protéine MBNL1, afin de libérer MBNL1 de sa séquestration dans l'ARN. Pour cela, ils ont utilisé des oligonucléotides antisens morpholino de 25 nucléotides (CAG25) qui se lient à l'ARN de la DMPK et empêchent la formation des complexes ARN-MBNL1.

Injectés chez une souris modèle, ces oligonucléotides antisens ont permis une diminution importante des manifestations de la maladie et une diminution du taux d'ARN messagers anormaux dans le muscle. Une équipe hollandaise a obtenu la même année des résultats similaires avec un autre type d'oligonucléotide antisens (CAG7).

Une autre équipe a exploré en 2009 une piste thérapeutique consistant à libérer la protéine MBNL1 séquestrée en criblant une banque de molécules.

Cette équipe a trouvé que la néomycine B et la pentamidine étaient capables, *in vitro*, de détacher MBNL1 des séquences répétées de type *CUG*.

La pentamidine a été capable d'améliorer, en culture, l'épissage de deux des gènes étudiés. Ceci s'est également traduit par la diminution sensible, sur des cellules en culture, de la quantité d'agrégats habituellement observée à l'intérieur des noyaux dans la DM1. La pentamidine a eu également des effets partiellement

*Un oligonucléotide anti-sens est un fragment d'ARN, généralement synthétisés en laboratoire qui peut se lier spécifiquement à un ARN messager naturel (la séquence nucléotidique de l'ARN anti-sens est complémentaire de celle de l'ARN messager). Il peut ainsi intervenir dans l'épissage de l'ARN messager en le modifiant (saut ou incorporation d'exon(s)), en stoppant l'expression d'un gène en stoppant la synthèse de la protéine correspondante)...*



positifs sur l'épissage de deux ARN pré-messagers dans un des modèles murins de la maladie. Toutefois, l'usage de la pentamidine doit se faire à faible dose pour ne pas être toxique.

En 2012, une équipe a trouvé, à partir d'une autre banque de molécule, un composé, le bis-benzamidazole, qui améliore les défauts d'épissage de la DM1 dans des modèles cellulaires ou animaux. L'équipe a ensuite synthétisé une série de composés comportant un nombre variable de molécules de bis-benzamidazole. Ces différents composés ont une forte affinité avec les répétitions d'ARN de la DM1 empêchant la liaison de MBNL1 à ces répétitions d'ARN et perturbant les agrégats nucléaires dans des cultures cellulaires.

Récemment, une autre équipe a identifié un peptide, appelé ABP1, qui cible les répétitions *CUG* d'ARN. Administré par voie orale à une mouche modèle de DM1, il est capable de réduire la formation d'agrégats nucléaires et la dégénérescence musculaire. Dans une souris modèle de DM1, ABP1 diminue également la dégénérescence musculaire. Des études complémentaires avec ABP1 sont prévues dans la souris modèle *DMSXL*.

### **Empêcher la surexpression de la protéine CUGBP1 dues aux agrégats anormaux**

Des travaux récents ont montré chez la souris un effet bénéfique des inhibiteurs de la protéine kinase C (ou PKC), une protéine impliquée dans différentes fonctions cellulaires comme l'apoptose, la prolifération ou la régulation du cytosquelette, et qui stabilise la protéine CUGBP1. L'utilisation d'inhibiteurs de la PKC a permis chez la souris de diminuer la quantité de CUGBP1 entraînant une baisse de la mortalité et une amélioration des problèmes cardiaques.

### **Détruire les agrégats anormaux**

Le développement de plateformes de criblage à haut débit, comme celle installée à I-Stem, permet d'identifier des molécules efficaces pour cibler les agrégats nucléaires toxiques dans la DM1, en vue de les détruire. La plateforme de criblage d'I-Stem a permis notamment d'identifier une molécule déjà commercialisée pour d'autres indications thérapeutiques, qui corrige le défaut d'expression du gène codant le récepteur à l'insuline sur des cultures de cellules musculaires ou de cellules du sang de personnes atteintes de DM1. Elle est actuellement testée sur les souris *DMSXL*.

### **Des études cliniques pour réduire les symptômes de la maladie et améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de maladie de Steinert**

#### **L'Iplex**

Le facteur de croissance IGF-1 (pour *insulin-like growth factor 1*) régule la différenciation et la croissance des muscles. Mais le niveau d'IGF-1 est réduit ou faible chez les patients atteints de DM1.

Le composé Iplex ou somatokine, développé par la société Insméd, est capable de restaurer et de maintenir le niveau d'IGF-1.

Un essai américain a évalué la tolérance du traitement par des doses croissantes de l'Iplex chez 15 patients ambulatoires atteints de DM1. Tous les patients ont réussi à suivre leur traitement pendant les 6 mois. Le traitement a été associé à une augmentation de la masse maigre et à une amélioration du métabolisme, mais aucune augmentation de la force musculaire n'a été observée. De plus, le traitement a été bien toléré chez les patients atteints de

*Le principe du criblage à haut débit (ou HTS pour High Throughput Screening) consiste à confronter plusieurs centaines de milliers de molécules potentiellement thérapeutiques à un modèle biologique d'une maladie génétique et d'observer l'effet de ces molécules. La découverte de nouvelles molécules est donc optimisée statistiquement du fait du très grand nombre de test et a pour but ultime de fournir des lots de molécules candidates pour la mise au point de traitements contre les maladies génétiques.*



DM1, sans effet indésirable, même 4 mois après la fin du traitement.

Dans un communiqué de presse daté de janvier 2012, la société Insméd a annoncé que le stock d'Iplex avait été complètement épuisé et qu'elle n'était plus capable d'en fabriquer. Elle cherche des partenaires pour les programmes de développement de l'Iplex.

### Le méthylphénylate

Les personnes atteintes de DM1 souffrent fréquemment d'une hypersomnolence diurne qui pèse sur leur qualité de vie. Le méthylphénidate est un psychostimulant déjà utilisé dans le traitement d'une autre maladie qui entraîne également une hypersomnolence, la narcolepsie.

Les résultats d'un essai canadien de phase III, soutenu par l'AFM-Téléthon, évaluant la tolérance et l'efficacité du méthylphénidate comme traitement de l'hypersomnolence chez 24 personnes atteintes de DM1 ont été publiés en mai 2012 et montrent l'efficacité et la bonne tolérance du méthylphénidate.

Les patients ont été divisés en deux groupes : un groupe a reçu le traitement (20mg/jour de méthylphénidate) pendant 3 semaines puis après une interruption de 2 semaines, le placebo pendant 3 semaines ; l'autre groupe a d'abord reçu le placebo puis le méthylphénidate.

L'hypersomnolence diurne a été significativement réduite pour les 17 patients qui ont terminé l'étude. Par contre, l'humeur et les échelles de vitalité/énergie sont restées semblables sous méthylphénidate et sous placebo.

Le traitement a été bien toléré. Cependant, quelques effets secondaires comme l'augmentation de la nervosité, la perte d'appétit, des nausées et des palpitations ont été rapportés.

Des études sur un plus grand nombre de personnes et sur une plus longue période de traitement sont toutefois nécessaires pour confirmer ces résultats positifs.

### Le modafinil

Le modafinil est un autre psychostimulant, indiqué dans le traitement de la narcolepsie.

En janvier 2011, une revue de l'EMA (Agence européenne du médicament) a conclu que le bénéfice/risque du modafinil n'était favorable que pour la narcolepsie et pour aucune autre indication (du fait d'effets secondaires importants).

Mais une publication récente fait état de l'expérience d'un grand groupe de patients anglais qui ont pris ou qui prenaient encore du modafinil. Deux questionnaires ont été remplis par 145 patients et 146 proches de patients sur les effets bénéfiques et sur les effets indésirables du modafinil. Les résultats ont montré que le modafinil pouvait avoir un effet bénéfique pour une partie des patients qui présentent une somnolence diurne excessive. Parmi les patients, 81% prenaient encore du modafinil contre 19% qui n'en prenaient plus.

### La ventilation non invasive

Dans le domaine de la prise en charge respiratoire, deux études françaises, soutenues financièrement par l'AFM-Téléthon, se déroulent actuellement pour évaluer l'efficacité de la ventilation non invasive dans la maladie de Steinert.

Une des études, l'étude DYVINE (Garches), concerne 160 patients adultes atteints de dystrophie myotonique sur 11 Centres de

*Au cours d'un essai clinique de phase III, un médicament, pour lequel on a déterminé lors d'essais antérieurs l'innocuité et le dosage optimum (essais de phase I et II), est administré à un grand groupe de malades, sur une longue durée, dans le but d'évaluer son efficacité thérapeutique en la comparant à celle d'un traitement de référence ou un placebo. Il permet aussi de mettre en évidence les interactions indésirables et les effets secondaires du traitement à moyen terme. Au terme de cet essai, le médicament peut obtenir une autorisation de mise sur le marché.*

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





*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".*

*Un **essai en ouvert** est un essai thérapeutique dans lequel les médecins et les participants ont connaissance du traitement prescrit.*

*L'**exploration du faisceau de His** (ou exploration électrophysiologique) est un examen cardiaque plus approfondi que l'électrocardiogramme, qui mesure les temps de conduction de l'influx électrique entre les différentes parties du cœur. Cette exploration électrophysiologique se fait par un cathéter monté jusqu'au cœur à partir d'une veine de la cuisse (veine fémorale).*

références "Maladies neuromusculaires" et est prévue pour une durée de 6 ans et demi. Elle évalue la tolérance et l'efficacité à 5 ans de l'introduction précoce de la ventilation mécanique nocturne non invasive. En mai 2012, une quarantaine de participants est incluse dans l'étude. Le recrutement des patients se poursuit.

#### **Essai en cours de recrutement**

- Essai de phase III, randomisé, contrôlé, en ouvert pour évaluer l'intérêt de l'introduction précoce de la ventilation mécanique nocturne non invasive dans la DM1
- Recrutement en cours de 160 personnes atteintes de DM1
- Investigateur principal : Pr D. Orlikowski (Hôpital Raymond Pointcarré, Garches).

L'autre étude (Grenoble) propose de comparer les paramètres respiratoires d'une même personne atteinte de DM1 lors d'une période avec ventilation et lors d'une période (4 semaines) sans ventilation. L'étude impliquera 3 centres et portera sur 35 patients atteints de DM1.

#### **Une stratégie de prise en charge cardiaque améliorée**

En 2012, une équipe française, soutenue par l'AFM-Téléthon, a montré sur une série de 914 personnes atteintes de DM1 suivies en moyenne pendant 7,4 ans, que la réalisation d'une exploration du faisceau de His permettait de préciser l'importance des troubles de conduction cardiaque et de décider en conséquence du traitement approprié (en particulier de la pose d'un pace maker).

Comparée à la surveillance par électrocardiogramme simple, cette méthode, bien qu'invasive, a permis de diminuer de façon significative le risque de mort subite des personnes atteintes de DM1 présentant des troubles de conduction cardiaque importants. L'équipe recommande donc la mise en œuvre de cette stratégie plus invasive pour mieux traiter et prévenir les accidents graves dans la DM1.

>> Tout au long de l'année, suivez l'actualité de la recherche dans les maladies neuromusculaires sur **WEB** [www.afm-telethon.fr](http://www.afm-telethon.fr) > Actualités > Toute l'actualité.