

SAVOIR & COMPRENDRE
REPÈRES

DIAGNOSTIC des maladies neuromusculaires

Le diagnostic d'une maladie neuromusculaire repose sur un interrogatoire médical, un examen clinique et des examens complémentaires (analyses biologiques, immunologiques, électromyogramme, imagerie, étude de muscle (biopsie))... Les analyses génétiques qui ont pour but d'aboutir au diagnostic génétique s'appuient sur ces données. Parvenir à un diagnostic précis peut demander du temps : les maladies neuromusculaires sont parfois difficiles à différencier et une même maladie peut se manifester différemment d'une personne à l'autre. L'évolution des connaissances et des technologies, qu'il s'agisse de l'imagerie, de la découverte de nouveaux anticorps ou du séquençage nouvelle génération pour étudier l'ADN, tend heureusement à réduire ce délai. La démarche diagnostique est facilitée par la collaboration de nombreux spécialistes reconnus et impliqués dans les maladies neuromusculaires : membres de l'équipe médicale pluridisciplinaire (neurologue, neuropédiatre, généticien…), chercheurs, biologistes moléculaires, ainsi que des bioinformaticiens et des scientifiques, capables d'analyser et de valider les données générées par les nouvelles technologies de séquençage des gènes.

AFMTÉLÉTHON
INNOVER POUR GUÉRIR

UN DIAGNOSTIC précis

Avoir un diagnostic de maladie neuromusculaire, c'est mettre fin à l'incertitude face à des symptômes qui touchent la fonction motrice ou d'autres fonctions comme la respiration ou la fonction cardiaque. Savoir de quelle maladie neuromusculaire on est atteint et quelle en est la cause, génétique ou immunitaire, permet d'optimiser la prise en charge médicale, donne accès à un conseil génétique fiable et à la participation aux essais cliniques.

Une maladie neuromusculaire ?

Les maladies neuromusculaires sont des maladies du muscle ou de son innervation. Dans ces maladies, dont beaucoup sont évolutives, les muscles se contractent faiblement ou pas du tout. Cela entraine des difficultés motrices, respiratoires, cardiaques… selon le cas.
Il existe plus de 200 maladies neuromusculaires qui se distinguent par le moment de leur apparition (dès la naissance, dans l'enfance, à l'adolescence, chez l'adulte jeune ou plus âgé), l'étendue et la gravité de l'atteinte musculaire et ses conséquences sur l'organisme (orthopédiques, respiratoires, cardiaques, digestives...) et par leurs causes (la majorité est d'origine génétique, certaines sont auto-immunes ou inflammatoires...).

SOMMAIRE

Un diagnostic précis 2
L'interrogatoire et l'examen clinique 3
Les examens complémentaires 4
La démarche diagnostique ... 7
Vers le diagnostic génétique 8
Le temps du diagnostic 10



© AFM-Téléthon / Julian Renard

Des symptômes qui amènent à consulter un médecin

Le plus souvent, ce sont les symptômes touchant la fonction motrice (difficultés à se relever, à se déplacer, à soulever et manipuler les objets, chutes) qui amènent à consulter un médecin, généralement son médecin traitant. Il peut s'agir d'autres symptômes : fatigabilité, difficulté à avaler, troubles respiratoires, cardiaques ou troubles cognitifs... Lorsque le médecin traitant soupçonne une maladie neuromusculaire, il oriente la personne, l'enfant ou le nouveau-né et ses parents, vers un neurologue ou un neuropédiatre exerçant dans une consultation spécialisée dans ces maladies (un centre de référence ou un centre de compétences maladies neuromusculaires par exemple).

Un diagnostic précis

Lors de la consultation neuromusculaire, la démarche diagnostique vise à confirmer qu'il s'agit bien d'une maladie neuromusculaire et à identifier laquelle (myopathie de Duchenne, myopathie des ceintures, maladie de Charcot-Marie-Tooth, amyotrophie spinale proximale, myosite…) ainsi que l'anomalie génétique (pour les maladies d'origine génétique) ou les auto-anticorps (pour les maladies auto-immunes ou inflammatoires) en cause. Selon les situations, ce "diagnostic précis" est plus ou moins long à obtenir.
Même en son absence, la prise en charge médicale symptomatique en consultation neuromusculaire pluridisciplinaire se met en place en s'adaptant aux besoins de la personne.

L'INTERROGATOIRE et l'examen clinique

Lors de la première rencontre entre le patient et le médecin spécialiste, l'interrogatoire et l'examen clinique ont pour but de cerner les caractéristiques de la maladie. L'objectif est de s'assurer qu'il s'agit bien d'une maladie neuromusculaire et d'émettre des hypothèses sur le type de maladie neuromusculaire.

Reconstituer l'histoire de la maladie

Lors de la consultation neuromusculaire, la personne ou l'enfant et sa famille rencontrent le médecin spécialiste. Il s'agit souvent du neurologue ou du neuropédiatre.
Ce dernier les interroge pour recenser les faits marquants liés à la maladie (en médecine, on parle d'interrogatoire) : âge d'apparition et nature des symptômes, étapes du développement psychomoteur, difficultés à la marche, fréquence des chutes, âge de la perte de la marche, difficultés des bras et des mains, douleurs dans les muscles des membres (myalgies), intolérance à l'effort, vitesse d'évolution des symptômes...
Le médecin leur demande également s'il y a des antécédents de maladie dans la famille.
Les maladies neuromusculaires étant majoritairement héréditaires, il cherche à identifier le mode de transmission de la maladie (autosomique dominant ou récessif, récessif lié au chromosome X) : il fait figurer sur un arbre généalogique les personnes apparentées à la personne malade (père, mère, frères, sœurs, oncles, tantes…), note les éventuels liens de consanguinité et l'existence de symptômes et événements chez ces derniers, comme des problèmes musculaires, des troubles cardiaques, oculaires, des cas de mort subite…

Repérer les signes cliniques évocateurs

Le médecin identifie les signes cliniques évoquant une maladie neuromusculaire : fatigabilité excessive, chutes fréquentes, déficit moteur associé ou non à une diminution du volume des muscles (atrophie musculaire), déformations orthopédiques, difficultés respiratoires ou cardiaques, faible tonus musculaire à la naissance…
Dans certaines maladies, l'atteinte peut provoquer des troubles de la vue, de l'audition, de la digestion, de la sensibilité ou encore des troubles cognitifs qui retentissent sur les apprentissages ou le comportement.
L'examen clinique renseigne sur l'état des articulations : sont-elles raides ou au contraire trop souples (hyperlaxes) ? La capacité des muscles à se contracter et à se relâcher est aussi évaluée, ainsi que les douleurs musculaires (localisation, fréquence, intensité). Un examen neurologique complet permet de vérifier s'il existe ou non une atteinte du système nerveux central associée.

EN PRATIQUE

Expliquez précisément ce que vous ressentez

Lors du premier entretien, le médecin vous pose de nombreuses questions destinées à orienter le diagnostic. Décrivez-lui précisément les difficultés que vous rencontrez régulièrement ou ponctuellement, qu'elles soient motrices ou liées à d'autres aspects comme la respiration, la digestion, le sommeil, le comportement, le bien-être, la vie quotidienne... Soyez précis. Pour ne rien oublier, notez au jour le jour ce dont vous voudriez parler avec le médecin. Si d'autres membres de votre famille ont des symptômes similaires, signalez-le aussi au médecin.

Préciser où se situe l'atteinte musculaire

Lors de l'examen clinique, le médecin étudie la répartition de la faiblesse de certains muscles : racines des membres (on parle

Localisation de l'atteinte musculaire



L'atteinte proximale *concerne les muscles proches de l'axe du corps (muscles proximaux), situés aux racines des membres : muscles des épaules et des bras pour les membres supérieurs, muscles des hanches et des cuisses pour les membres inférieurs.*

L'atteinte distale *concerne les muscles éloignés de l'axe du corps, situés aux extrémités des membres : muscles des mains et des avant-bras pour les membres supérieurs, muscles des pieds et des jambes pour les membres inférieurs.*



d'atteinte proximale) ou leurs extrémités (on parle d'atteinte distale), atteinte symétrique à gauche comme à droite (dystrophie musculaire de Duchenne, myopathie des ceintures, amyotrophie spinale proximale) ou asymétrique (myopathie facio-scapulo-humérale, myopathie à inclusions…), atteinte du tronc (dystrophie musculaire congénitale de type sélénopathie, maladie de Pompe…).
Cette analyse clinique ne suffit pas toujours à identifier les zones atteintes : les techniques d'imagerie musculaire (Imagerie par résonance magnétique - IRM, scanner, échographie) permettent alors de mieux visualiser les zones touchées.

Évaluer le déficit moteur

De nombreux tests analytiques et fonctionnels évaluent l'importance de l'atteinte musculaire et son retentissement sur la motricité. Le testing manuel musculaire mesure la capacité de contraction du muscle et sa capacité à réaliser un mouvement dans toute son amplitude, contre résistance ou non.
Le déficit moteur est coté de 0 (absence totale de contraction) à 5 (mouvement normal).

Pour analyser l'impact fonctionnel de l'atteinte motrice dans différentes situations de la vie quotidienne, d'autres échelles fonctionnelles sont utilisées.
Parmi celles-ci, la MFM (Mesure de la Fonction Motrice) évalue plusieurs situations : la station debout et les transferts, la station assise, la motricité des muscles proximaux, la motricité distale…, ainsi que la capacité à réaliser des mouvements comme marcher, se relever du sol, lever les bras, monter les escaliers, se coiffer... Le test de "6 minutes de marche" évalue la distance de marche parcourue durant 6 minutes.

Des mesures quantitatives de la force musculaire peuvent être réalisées grâce à des appareils comme le dynamomètre. Des outils d'évaluation, les "Myotools", ont d'ailleurs été développés à l'Institut de Myologie (Paris) pour évaluer notamment la force musculaire (ainsi que la fonction musculaire dans la vie quotidienne) : par exemple, le "MyoGrip" est un dynamomètre qui mesure la force de préhension, le "MyoPinch" mesure celle de la pince pouce-index, ou encore le "MoviPlate" évalue la motricité distale du membre supérieur… Ces outils sont utilisés aussi dans le cadre des essais cliniques.

LES EXAMENS complémentaires

Des examens complémentaires sont nécessaires pour éclaircir la situation initiale ou conforter le médecin dans ses premières hypothèses. Les premiers éléments cliniques orientent le médecin vers les investigations nécessaires pour différencier les maladies.

Rechercher les marqueurs biologiques

Des dosages biologiques sont réalisés à partir d'un prélèvement de sang. Ils permettent de détecter certaines enzymes qui sont relarguées par le muscle dans le sang, en cas de lésions musculaires importantes : la créatine kinase (CK ou CPK pour créatine phosphokinase), l'aldolase, la lactico-déshydrogénase. Dans la dystrophie musculaire de Duchenne notamment, le taux sanguin de CPK peut augmenter beaucoup en début de maladie puis diminuer progressivement au cours du temps ; de manière plus générale, un taux normal de CPK ne permet pas d'exclure le diagnostic de maladie neuromusculaire.
En cas de suspicion de myasthénie auto-immune, le dosage d'auto-anticorps anti-RACh ou anti-MuSK (dirigés respectivement contre le récepteur à l'acétylcholine ou le récepteur de la tyrosine kinase) est primordial. Si une myopathie inflammatoire (myosite) est évoquée, la présence d'auto-anticorps spécifiques dans le sang sera aussi recherchée (anti-SRP, anti-MDA-5...).

Si une myopathie métabolique est suspectée, la recherche de myoglobine dans les urines ou d'autres dosages métaboliques (lactates, pyruvates,…) dans le sang et d'autres liquides biologiques (urines, liquide céphalo-rachidien) sont proposés.

Identifier l'origine de l'atteinte : muscle ou nerf moteur

L'électroneuromyogramme (ENMG) est une examen qui permet, grâce à de fines aiguilles implantées dansle muscle (un peu comme des aiguilles d'acupuncture),

d'enregistrer l'activité électrique d'un muscle dans différentes conditions : au repos, après une contraction volontaire, après une stimulation électrique. L'ENMG permet aussi de mesurer la vitesse de circulation du signal électrique dans les fibres nerveuses.

• Si les troubles viennent du muscle, l'origine est myopathique (ou myogène), comme dans les dystrophies musculaires progressives (dystrophie musculaire de Duchenne, dystrophies des ceintures…) ou d'autres myopathies.

• Si les troubles viennent du nerf moteur qui innerve le muscle, l'origine est neuropathique (ou neurogène), comme dans l'amyotrophie spinale proximale (SMA) ou la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT). S'il s'agit d'une CMT, la mesure de la vitesse de conduction du nerf permet d'en préciser le type (forme démyélinisante, axonale ou intermédiaire).

L'électromyogramme peut indiquer aussi la nature des troubles :

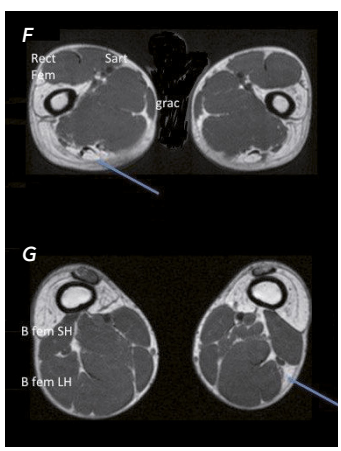
- difficulté d'excitation de la fibre musculaire empêchant le relâchement du muscle après sa contraction (myotonie) comme dans la maladie de Steinert ;
- anomalie de la transmission de l'influx nerveux entre le nerf et le muscle, empêchant la contraction de ce dernier, comme dans la myasthénie.

Visualiser le muscle : l'imagerie musculaire

Dans certaines maladies neuromusculaires, le tissu musculaire peut être remplacé par du tissu fibreux ou du tissu adipeux ; dans d'autres, il y aura une inflammation.

Le volume et la "composition" du muscle peuvent être visualisés par les techniques d'imagerie. Trois techniques sont utilisées couramment, avec pour objectif d'obtenir les images les plus informatives tout en restant le moins invasif possible.

• **L'imagerie par résonance magnétique** (IRM musculaire) peut être réalisée sur le corps entier ou sur des segments du corps. L'IRM musculaire tend à être de plus en plus utilisée, en raison de la grande qualité des images obtenues. L'IRM est très utile en particulier si on suspecte une composante inflammatoire associée à la myopathie, car elle permet de différencier les signaux liés à l'inflammation de ceux liés aux remaniements graisseux visibles dans les dégénérescences musculaires.



© Robert Carlier, Imagerie Médicale, hôpital Raymond Poincaré, Garches.

***IRM musculaire** chez un jeune homme de 19 ans, atteint d'une myopathie non étiquetée. Partie supérieure (F) et moyenne (G) des cuisses apparaissant en coupe. Le muscle préservé apparait en gris foncé ; la transformation adipeuse du muscle apparait en blanc.*

• **Le scanner** est plus adapté aux membres inférieurs qu'aux membres supérieurs. Il permet de visualiser le volume et la densité des muscles, la symétrie de l'atteinte ou la sélectivité des zones touchées. Il peut révéler certaines anomalies invisibles à l'examen clinique. L'inconvénient de cette technique réside dans l'exposition aux radiations ionisantes (comme dans n'importe quelle radiographie). Ces examens sont donc limités au strict nécessaire.

• **L'échographie** est encore peu pratiquée en France, mais peut apporter de manière non invasive et très rapide des informations diagnostiques utiles, par exemple montrer une désorganisation de l'architecture du muscle. Cette technique peut difficilement être réalisée sur l'ensemble des muscles.

D'autres examens possibles

D'autres explorations ou examens permettent de savoir si d'autres organes sont atteints par la maladie, ce qui permet d'affiner le diagnostic. Des examens cardiologiques, respiratoires, ophtalmologiques, auditifs peuvent être pratiqués. Si on suspecte une maladie métabolique (glycogénoses…), des tests ciblés seront prescrits, comme une épreuve d'effort sur bicyclette ergonomique, un grip-test au niveau de l'avant-bras (évaluant la force maximale de préhension, la résistance à la fatigue et le métabolisme musculaire à l'effort). Des dosages biologiques (lactate, pyruvate,…) avant, pendant et après l'effort peuvent y être associés.

Analyser la structure des cellules musculaires et leurs protéines

La biopsie musculaire consiste à prélever, dans une zone musculaire préservée (épaule, cuisse), un petit fragment de muscle (0,5 cm^2 environ). Ce geste chirurgical est effectué par un médecin, sous

anesthésie locale, voire générale. Une partie du fragment recueilli permet d'étudier la structure des cellules musculaires et leur contenu protéique.

• L'observation de la structure des fibres musculaires au microscope optique après coloration ou marquage (techniques histologiques), permet de voir si ces fibres sont abimées, en réparation, voire déstructurée...

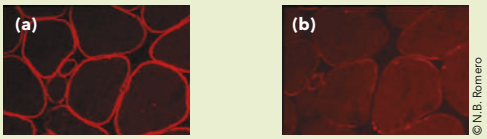
La microscopie électronique est une technique complexe réservée à des cas bien précis : elle fournit des images très détaillées de la structure interne des cellules : filaments, bâtonnets, inclusions….

• Des coupes de tissu musculaire traitées avec des anticorps fluorescents se liant à certaines protéines des fibres musculaires servent à mettre en évidence leur présence (présence d'un marquage) ou leur absence (il n'y a pas de marquage) (ex : photos a et b).

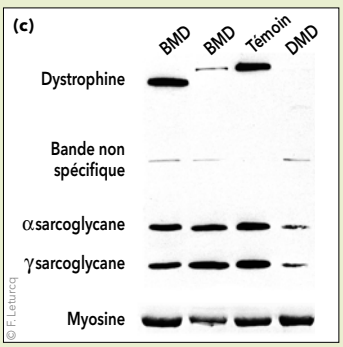
• L'extraction des protéines des cellules musculaires, leur séparation par électrophorèse et leur repérage par marquage (*western Blot*) (photo c) permettent de détecter une anomalie de la taille de certaines protéines ou leur absence.

POUR INFO

Mettre en évidence certaines protéines des cellules musculaires



Visualisation par immunocytochimie de l'α-dystroglycane sur des coupes de muscle d'une personne non malade (a) et d'une personne atteinte d'une maladie neuromusculaire (b). En (a), la protéine apparait en rouge en périphérie des cellules, alors qu'en (b), elle est absente.



Résultat de *Western-blot* visualisant la dystrophine et d'autres protéines (bandes noires) chez des témoins non malades et chez des patients atteints de dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) ou de Becker (BMD).

Chez le patient atteint de DMD, la dystrophine est absente (pas de bande correspondante) et les α et γ sarcoglycane sont moins abondantes.

Chez ceux atteints de BMD, la dystrophine est moins abondante ou décalée car plus petite.

Ces approches sont utiles en amont du diagnostic génétique, pour déterminer le gène ou le panel de gènes à étudier par séquençage : par exemple, si l'on constate l'absence d'une protéine donnée, on peut rechercher l'anomalie dans le gène correspondant. Ou encore, si la clinique oriente vers plusieurs maladies proches, on peut étudier l'ensemble des gènes (panel de gènes) liés à ces maladies.

Elles le sont aussi **après une analyse génétique dont le résultat est incertain ou négatif,** pour revenir à l'analyse du contenu protéique du muscle. Après une biopsie, une partie de l'échantillon de muscle est d'ailleurs congelé pour des études qui pourront être faites au fur et à mesure de l'acquisition de nouvelles connaissances.

Légende du tableau ci-contre

OBTENTION DES DONNÉES CLINIQUES

A Lors de la consultation multidisciplinaire neuromusculaire, le malade consulte le médecin spécialiste (neuropédiatre ou neurologue) qui pose des hypothèses diagnostiques d'après les symptômes.

B Le médecin prescrit les examens complémentaires utiles pour affiner le diagnostic.

C Une fois les données cliniques et les résultats des examens obtenus, un diagnostic de maladie neuromusculaire peut souvent être posé. Le médecin doit l'annoncer au malade lors d'un rendez-vous de consultation.

OBTENTION DES DONNÉES GÉNÉTIQUES

D Un laboratoire de diagnostic effectue les analyses génétiques pour rechercher l'anomalie génétique en cause. Cela peut prendre plusieurs mois.

E Dans certains cas ces analyses sont faites dès l'hypothèse diagnostique.

Dans les maladies neuromusculaires, un réseau de laboratoires de diagnostic couvre toute la France, et permet d'analyser différents groupes de gènes (on parle de "panels de gènes"). Le médecin adresse au laboratoire *ad hoc* l'échantillon du malade (sang) et prescrit le périmètre génétique à couvrir.
Si les données génétiques confirment le diagnostic, le médecin annonce au malade l'anomalie génétique en cause.

F Lorsque ces données ne sont pas concluantes ou négatives, d'autres investigations cliniques et génétiques pourront être faites par la suite, car les connaissances progressent. Le médecin en informe le malade qui poursuit de toute façon son suivi médical en consultation neuromusculaire et sa prise en charge.

LA DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE

C'est un processus qui s'appuie sur la clinique, les examens complémentaires et sur les analyses génétiques : il nécessite la collaboration de nombreux professionnels (médecins spécialistes, radiologistes, biologistes, généticiens…).

A — INTERROGATOIRE ET EXAMEN CLINIQUE

- Histoire de la maladie (âge du début, premiers symptômes, évolution…)
- Examen clinique complet - Examen neuromusculaire
- Arbre généalogique (antécédents familiaux, mode de transmission…)
- Tests analytiques et fonctionnels

HYPOTHÈSES DIAGNOSTIQUES

B — EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

Analyses biologiques selon le contexte
- CPK, LDH, aldolase…
- Auto-anticorps (RAch, Musk, HMGCR, SRP, Jo-1…)
- Autres bilans biologiques

et

Imagerie musculaire
- IRM
- Scanner
- Échographie

Examens ciblés en fonction des éléments cliniques

Biopsie musculaire
- **structure et morphologie des cellules musculaires**
- **présence de protéines : immunohistochimie, *western blot***

Electro neuro myogramme (EMG)

Tests d'effort Bilans métaboliques

Bilans inflammatoire et immunologique

Recherche d'anticorps

- Dystrophie musculaire de Duchenne ou de Becker (DMD/DMB)
- Dystrophies musculaires des ceintures (LGMD)
- Myopathies congénitales
- Myopathies inflammatoires
- Myopathies métaboliques…

- Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT)
- Myasthénie auto-immune
- Syndrome myasthénique congénital (SMC)
- Syndromes myotoniques (maladie de Steinert - DM1, DM2)
- Neuropathies périphériques dysimmunitaires

- Myopathies métaboliques…
- Myopathies mito-chondriales

Myosites (dermatomyosites, polymyosites…) : myopathies inflammatoires

- Amyotrophies spinales proximales (SMA)
- Myopathie facio-scapulo-humérale (FSH)
- Fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP)

C — DIAGNOSTIC DE MALADIE NEUROMUSCULAIRE

D — ANALYSES GÉNÉTIQUES : DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE

- Recherche de l'anomalie génétique ciblée sur le gène supposé être en cause
- Recherche génétique sur plusieurs gènes : panels de gènes (séquençage à haut débit – NGS)
- Analyse sur tous les gènes (exome entier) (pas encore utilisé couramment en clinique)

RÉSULTAT POSITIF
Identification de l'anomalie génétique
Confirmation génétique du diagnostic

RÉSULTAT NON CONCLUANT
Variation génétique identifiée mais de signification inconnue
Pas de confirmation génétique du diagnostic

RÉSULTAT NEGATIF
Absence de la cause en l'état des connaissances
Pas de confirmation génétique du diagnostic

E

F

VERS LE DIAGNOSTIC génétique

L'analyse de l'ADN, en particulier la lecture de sa séquence, a pour but d'identifier l'anomalie génétique en cause dans la maladie. Différentes techniques peuvent être utilisées ; le séquençage à haut débit permet, en particulier, d'analyser des centaines de gènes à la fois, augmentant les chances de retrouver cette anomalie génétique.

Analyser l'ADN pour identifier l'anomalie génétique en cause

Le diagnostic génétique est basé sur l'étude de l'ADN, molécule qui constitue les gènes.
L'analyse de l'ADN du patient est effectuée à partir d'un échantillon de ses cellules sanguines, recueilli lors d'une prise de sang. Cette analyse permet de rechercher l'anomalie génétique en cause dans la maladie. Il peut s'agir :
- de "petites" mutations. Ce sont des anomalies très localisées d'un gène : remplacement d'un nucléotide par un autre, insertion ou suppression d'un ou plusieurs nucléotides… ;
- de "grands" réarrangements. Ils couvrent de grandes parties d'un gène : suppressions (délétions) ou ajouts de régions entières d'ADN dans un gène (duplications d'un ou plusieurs exons, expansion de triplets…).

Le séquençage de l'ADN

Le séquençage de l'ADN est une technique qui permet de lire l'enchainement des nucléotides de l'ADN, sa séquence, pour détecter l'anomalie.
Les techniques classiques de séquençage (technique de Sanger, MLPA), ou des techniques ciblant d'autres anomalies génétiques comme les réarrangements de l'ADN (puces à ADN/CGH array) sont toujours utilisées en fonction des informations cliniques et moléculaires liées au patient.
Les techniques de séquençage de l'ADN nouvelle génération sont plus sensibles et performantes. Le "séquençage à haut débit" (séquençage nouvelle génération ou NGS pour *New Generation Sequencing*) permet de lire en parallèle des centaines de morceaux d'ADN issus du génome d'un individu : on parle de séquençage massif en parallèle. Il est possible de séquencer plusieurs centaines de gènes impliqués dans un groupe de maladies (panel de gènes), tout comme l'ensemble des séquences codantes du génome d'un individu, l'exome, qui abrite 85 % des mutations responsables des maladies génétiques. Trois options de séquençages sont possibles :
- l'analyse d'un gène cible ou d'une région de ce gène ; elle est effectuée lorsque le gène de la maladie suspectée est connu ; le résultat est rapidement obtenu ;
- l'analyse d'un panel de gènes, soit plusieurs centaines de gènes ;
- l'analyse de l'exome entier, c'est-à-dire l'ensemble des régions codantes des gènes.

Repérer les variations du génome

Quelle que soit la technique utilisée, le séquençage vise à repérer des variants génétiques de l'ADN, dans les régions codantes des gènes. Un travail important d'analyse des données et de caractérisation de ces variants retrouvés chez le patient permettra de savoir si l'un deux correspond à la maladie suspectée ou à une autre maladie non diagnostiquée en clinique, ou de savoir s'il est pathogène ou non.

POUR INFO

ADN, nucléotide, gène, séquençage…

Génome. Le génome humain est formé par l'ensemble des gènes, dont le nombre est estimé à 23 000. Les gènes comportent les instructions moléculaires nécessaires à la fabrication des protéines, molécules indispensables au fonctionnement et à la structure de nos cellules.

Séquence d'ADN, nucléotides. Les gènes sont constitués d'ADN, un enchaînement de 4 molécules appelés nucléotides qui se différencient par les bases qui les constituent : A, T, C, G. Dans chaque gène, ces nucléotides s'enchaînent d'une façon particulière donnant la recette de fabrication de la protéine correspondante. Cet enchainement est appelé "séquence".

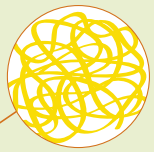
Exons, exome, introns. Chaque gène contient des régions d'ADN dites "codantes", les exons, qui sont utilisées par la cellule pour fabriquer les protéines (un gène « code » une protéine). L'ensemble des séquences codantes de notre génome est appelé **exome** (il représente 1 à 2 % de notre génome). Entre ces régions codantes, sont situés des régions non codantes appelées introns.

Variations dans l'ADN. Environ 0,5 % du génome diffère d'un individu à l'autre ; ce qui correspond à des millions de variations possibles • Certaines d'entre elles sont courantes dans la population et ne sont pas pathogènes : on parle de **polymorphismes**. Elles rendent chaque individu unique.
• D'autres variations dites "**anomalies génétiques ou mutations**" entrainent une maladie.
• Il existe aussi beaucoup de variations de l'ADN dont on ignore si elles sont ou non responsables d'une maladie : on parle alors de **variants génétiques.**

LE PRINCIPE DU SÉQUENÇAGE À HAUT DÉBIT

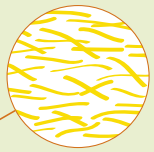


Prélèvement de sang pour obtenir des cellules du patient.

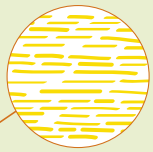


L'ADN génomique est extrait des cellules.

• Fragmentation de l'ADN au hasard
• Chaque fragment est recopié (amplification) des centaines de fois et intègre un signal fluorescent permettant de visualiser les séquences.

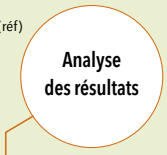


• Lecture en parallèle dans le séquenceur des fragments d'ADN obtenus
• Chaque fragment d'ADN ayant été recopié, il est lu de nombreuses fois
• Le séquençage est d'autant plus fiable et sensible qu'il couvre la majeure partie des régions génétiques d'intérêt et accumule les lectures d'un même fragment.





• Les nombreuses données générées sont analysées par de puissants logiciels
• Les séquences d'ADN lues sont comparées à des séquences de référence (réf) de gènes connus (maladies neuromusculaires) afin d'identifier les variants génétiques (ex : **A** à la place de **T**).



• Caractérisation des variants
De quelle nature est l'anomalie (délétion, mutation ponctuelle…) ? Est-elle connue ou située sur un gène connu (comparaison avec les bases de données maladies neuromusculaires) ?… Quels sont ses effets probables sur le gène identifié ?
• Résultat positif : l'anomalie implique un gène connu dans une maladie neuromusculaire caractérisée.
• Résultat incertain : le gène porteur de l'anomalie correspond à l'hypothèse clinique mais l'anomalie est inconnue : il faudra confirmer son lien causal avec la maladie.
• Résultat négatif : aucun variant n'a été identifié. Revenir à la clinique par la suite permettra d'obtenir d'autres données (examens, biopsie…) pour orienter une future analyse génétique.

• **Le séquençage à haut débit** permet d'analyser des régions génétiques de grande taille et beaucoup de gènes à la fois, grâce à des appareils plus puissants, rapides et sensibles.
• **L'analyse des données** nécessite de gros moyens informatiques, des compétences pointues en bioinformatique et en biogénétique et du temps : il faut plusieurs mois entre le séquençage et la communication des résultats au patient.
• **Des allers-retours entre la clinique et la génétique** restent indispensables pour interpréter les données.

EN PRATIQUE

Diagnostic génétique dans les maladies neuromusculaires : comment ça se passe ?

À l'ère du séquençage à haut débit, la démarche diagnostique dans les maladies neuromusculaires reste une démarche raisonnée et basée sur l'expertise clinique. L'hypothèse diagnostique s'appuie sur l'examen clinique et sur des examens complémentaires le cas échéant.
Les examens génétiques à effectuer sont définis par le médecin de la consultation neuromusculaire (et l'équipe pluridisciplinaire dont le généticien) en fonction de ces éléments cliniques et paracliniques, ainsi que des connaissances actuelles sur les maladies neuromusculaires.

• Le médecin prescrit le périmètre de l'analyse génétique, c'est-à-dire les gènes ou le panel de gènes à analyser pour rechercher l'anomalie génétique. Lorsqu'il n'y a pas de porte d'entrée clinique particulière, c'est-à-dire qu'aucune maladie ne peut être envisagée après les examens cliniques et complémentaires, le médecin peut prescrire une analyse génétique par séquençage sur une liste de gènes unique, comprenant les gènes fréquemment impliqués dans les maladies neuromusculaires.

• L'échantillon de sang du patient prélevé à la consultation et la prescription médicale indiquant la recherche génétique à effectuer (gène, panel de gènes…) sont adressés au laboratoire de génétique à même de traiter cette demande. En France, il existe 27 laboratoires de génétique moléculaire impliqués dans le diagnostic des maladies neuromusculaires, dont 18 pratiquent le séquençage à haut débit. Chaque laboratoire est spécialisé dans la recherche de certains gènes ou panels de gènes, avec une complémentarité d'un laboratoire à l'autre.

• Si les résultats de cette première recherche sont négatifs ou non concluants, le médecin pourra envisager un autre panel de gènes, voire étendre la recherche génétique à l'exome du patient.
Le diagnostic génétique nécessite pour le patient de signer un consentement éclairé et repose sur le dialogue avec le médecin. Lorsque les résultats sont disponibles, le médecin les annonce au patient et se doit de répondre à toutes ses questions.

• Un résultat négatif n'implique pas un arrêt du suivi médical, bien au contraire. Le patient continue d'être pris en charge à la consultation pluridisciplinaire neuromusculaire et de bénéficier de l'avancée des connaissances pour un diagnostic ultérieur. D'autres analyses pourront être faites par la suite.

LE TEMPS du diagnostic

L'évolution des connaissances dans les maladies neuromusculaires tant sur le plan clinique que génétique ainsi que l'évolution des techniques, augmentent les chances de parvenir à un diagnostic précis. Si certains diagnostics sont encore difficiles à établir, l'errance diagnostique tend à se réduire, notamment grâce à la collaboration des professionnels impliqués dans cette recherche du diagnostic.

Mettre un nom sur sa maladie

Les essais cliniques dans les maladies neuromusculaires sont maintenant une réalité. Dans bon nombre de maladies, ces essais ciblent une anomalie génétique précise : connaitre son diagnostic génétique représente donc un espoir de bénéficier d'un traitement adapté. Si l'absence de diagnostic précis n'empêche pas d'avoir une prise en charge adaptée en consultation neuromusculaire, savoir de quelle maladie on est atteint contribue à mieux adapter les traitements et permet de savoir contre quoi l'on se bat.
Le diagnostic précis donne aussi accès à un conseil génétique et permet d'informer ses proches. Les apparentés peuvent ainsi accéder aux tests génétiques pour connaître leur propre statut génétique. Savoir si l'on est porteur ou non de l'anomalie génétique, et quel risque on a de transmettre la maladie ouvre de nouvelles perspectives pour soi-même.
Connaître le nom de sa maladie est souvent un soulagement. En France, l'accès au diagnostic génétique est possible sur prescription médicale quel que soit son lieu de résidence : c'est le médecin de la consultation neuromusculaire qui prescrit les tests diagnostiques adéquats. Ces derniers sont pris en charge par l'assurance maladie, sauf exception (les études d'exome ne sont pas encore pris en charge, ce qui devrait changer d'ici quelques années).



© AFM-Téléthon / Christophe Hargoues

Connaître son diagnostic aide à se projeter dans l'avenir.

POUR INFO

Un groupe d'étude en myologie pour résoudre les situations cliniques difficiles

Le groupe d'étude en myologie (GEM) regroupe des cliniciens, des chercheurs, des anatomo-pathologistes, des biologistes moléculaires... Ce groupe se réunit 3 à 4 fois par an pour réfléchir de façon collégiale à des situations cliniques complexes, notamment celles de patients qui se trouvent dans une impasse diagnostique. Chaque médecin référent peut apporter son point de vue et le confronter à des experts de la myologie. Les dossiers non résolus peuvent être soumis à nouveau à discussion ultérieurement et bénéficier des connaissances acquises dans le domaine. Un groupe dédié aux maladies du nerf périphérique (GEN) poursuit les mêmes buts.

L'obtention d'un diagnostic repose sur un travail collaboratif entre professionnels

Si le diagnostic clinique repose sur les cliniciens des consultations spécialisées neuromusculaires, le diagnostic génétique s'appuie sur un réseau de biologistes moléculaires appartenant à des laboratoires français et étrangers. L'accès à un diagnostic génétique précis s'appuie sur l'interaction entre le médecin chargé du diagnostic clinique, le généticien clinicien et le biologiste moléculaire et, avec le développement du séquençage à haut débit, sur des biogénéticiens et bioinformaticiens capables d'analyser les abondantes données

générées par cette technique.
Des bases de données répertorient les anomalies génétiques connues dans les maladies neuromusculaires ; la structuration actuelle de ces bases de données devrait permettre d'optimiser la recherche de diagnostic et le recensement des patients en vue des essais cliniques. Ces bases sont régulièrement alimentées par les chercheurs et les cliniciens. Plusieurs maladies neuromusculaires ont désormais leur base de données : les dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker, les laminopathies, les dysferlinopathies, la maladie de Steinert…

Réduire l'errance diagnostique

L'identification de la maladie, de la première consultation jusqu'au diagnostic précis, peut prendre plusieurs mois voire plusieurs années en cas de signes cliniques atypiques. Toutes les maladies neuromusculaires, peu fréquentes, ne sont pas toujours connues des professionnels de santé non spécialisés ; ce qui peut retarder l'accès à la consultation spécialisée neuromusculaire ou aboutir à des orientations inappropriées. Cette période d'errance parfois longue provoque une grande incertitude particulièrement difficile à vivre. Le développement de l'information auprès des professionnels de santé et du grand public se poursuit, grâce notamment à la structuration de la "Filière de santé maladies rares neuromusculaires" Filnemus, créée en 2014 dans le cadre du 2e Plan national maladies rares et dont l'AFM-Téléthon est partie prenante. La filière Filnemus, via la commission "Outils diagnostiques" notamment, contribue à accélérer l'accès au diagnostic, en développant les outils techniques et organisationnels à disposition des professionnels impliqués dans le diagnostic (cliniciens, généticiens, bioinformaticiens…).
Enfin, le Plan Génomique 2025, lancé par le Ministère de la Santé en 2017, devrait permettre aux personnes sans diagnostic d'avoir accès, via leur médecin, à des plateformes de séquençage nouvelle génération, afin d'augmenter les chances de caractériser l'anomalie génétique en cause dans leur maladie et d'obtenir un diagnostic précis.

La révision du diagnostic

Certains diagnostics anciens peuvent être remis en question par les avancées de la recherche en biologie moléculaire et les nouvelles connaissances cliniques acquises dans les maladies neuromusculaires.
La démarche de révision diagnostique peut aboutir à un diagnostic plus précis, permettant l'accès à une prise en charge mieux ciblée, le recours au conseil génétique, la possibilité d'informer son entourage et celle de penser sa vie autrement.
Réviser un diagnostic n'est pas une démarche simple, car on ne sait pas toujours où l'on va. Un changement de diagnostic peut modifier le fil de sa vie : on s'est construit avec un nom de maladie et une idée de son évolution au fil du temps, en s'organisant et en faisant des projets selon ces critères. Les décisions antérieures, les repères peuvent être remis en question…
Un nouveau diagnostic peut ne pas être bien vécu, même si le nouveau pronostic qu'il implique est plus favorable.
Enfin, dans un certain nombre de cas, même après de nouvelles investigations, le résultat reste incertain. Cela peut occasionner une véritable déception.
La révision du diagnostic demande donc à être bien accompagnée à la fois par l'équipe médicale et, si la personne le souhaite, par un psychologue.

EN PRATIQUE

De la recherche du diagnostic à son annonce

Si la période d'attente du diagnostic peut être longue et source d'anxiété, l'annonce du diagnostic constitue souvent un acte traumatisant. Elle provoque un choc très important ; les mots prononcés lors de cet entretien particulier ont un impact très fort et ne seront sans doute jamais oubliés par le malade et sa famille. Néanmoins, cette annonce peut aussi apporter un certain soulagement : "enfin, je sais". Il est alors possible de s'appuyer sur ce diagnostic pour envisager l'avenir.

Lors de l'entretien, assimiler les explications que donne le médecin peut être difficile ; on peut être un peu sidéré par ce qui est dit. Il ne faut donc pas hésiter à redemander un autre entretien pour obtenir des explications supplémentaires. Il est possible aussi de bénéficier d'un accompagnement psychologique à ce moment-là. Celui-ci peut se poursuivre dans le temps et apporter une aide solide à la personne atteinte de la maladie ainsi qu'à ses proches.

Les Services régionaux de l'AFM-Téléthon peuvent, de leur côté, fournir un accompagnement lors de la recherche du diagnostic, pendant et après l'annonce. N'hésitez pas à contacter le service régional de votre région. Leurs coordonnées sont disponibles auprès du Service Accueil Familles de l'AFM-Téléthon au n° 0800 35 36 37 (n° vert) ou sur le site internet de l'association *http://www.afm-telethon.fr.*

EN SAVOIR +

www.afm-telethon.fr

www.myobase.org

Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon :
- Organisation des soins et maladies neuromusculaires
- L'annonce du diagnostic... et après
- Conseil génétique et maladies neuromusculaires

https://www.maladiesraresinfo.org

https://www.genetique-medicale.fr

AFMTÉLÉTHON
INNOVER POUR GUÉRIR

Association reconnue d'utilité publique

1, rue de l'Internationale - BP 59 - 91002 Évry cedex
Tél. : 33 (0)1 69 47 28 28 - Fax : 33 (0)1 60 77 12 16
Siège social : AFM - Institut de Myologie
47-83, boulevard de l'Hôpital - 75651 Paris cedex 13
www.afm-telethon.fr

© AFM-Téléthon 05/2017 • ISSN : 1769-1850 • Rédaction : M.O. Schanen-Bergot • Validation : C. André, F. Leturcq, J.A. Urtizberea • e-mail : myoinfo@afm-telethon.fr • Impression : L'Artésienne 03 21 72 78 90