

UFR Sciences & Techniques Côte Basque
Université de Pau et des Pays de l'Adour
Licence Biologie des Organismes

Maladie de Steinert et recherche clinique : l'expérience de l'hôpital marin d'Hendaye

CORRIHONS Estelle

Stage effectué du 5/03/2012 au 04/05/2012 à
L'Hôpital Marin de Hendaye
BP 411
64700 HENDAYE
sous la direction scientifique de Dr URTIZBEREA J.Andoni



"Le présent rapport constitue un exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager la responsabilité de l'Entreprise ou du Laboratoire d'accueil"

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur Jean-Pierre AUBIN, le directeur de l'Hôpital Marin qui m'a permis d'effectuer ce stage, Monsieur J.Andoni URTIZBEREA, Praticien hospitalier de médecine physique et réadaptation, et directeur du centre de référence neuromusculaire de l'Hôpital Marin d'Hendaye, qui fut mon maître de stage et qui m'a beaucoup appris.

Je souhaite également remercier l'équipe du docteur URTIZBEREA, composée de Madame Ana-Maria COBO, généticienne et attachée de recherche clinique à l'Hôpital Marin d'Hendaye ainsi que Madame Laurence CORIDON, secrétaire du docteur URTIZBEREA, pour leur accueil, leur écoute et leur aide. Je souhaite également remercier tout particulièrement tous les patients rencontrés lors des consultations qui ont accepté ma présence pour leur suivi et qui ont contribué au bon déroulement de mon stage. Enfin je souhaite également remercier Madame Virginie LAURIER, attachée de recherche clinique, qui m'a gentiment accueillie lors d'une journée passée dans le centre de référence Prader-Willi.

AVANT-PROPOS

L'Hôpital Marin d'Hendaye est un établissement de l'Assistance publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP) situé à Hendaye, dans les Pyrénées-Atlantiques (64). Ses activités principales étant les soins de suite et de réadaptation ainsi que les soins de longue durée. L'hôpital comprend 320 lits au total avec un nombre d'admissions de 486 patients ayant un âge moyen compris entre 20 et 65 ans, et 530 personnes travaillent au sein de cet établissement. Il est composé de quatre unités fonctionnelles constituées d'équipes travaillant en réseaux avec les hôpitaux parisiens. Les pôles regroupent chacun deux unités fonctionnelles :

- Le Pôle 1: SSR Handicaps Lourds et Maladies Rares Neurologiques constitué de :
 - ⇒ L'unité de rééducation et de réadaptation, UF3 (pavillon Ribadeau-Dumas) accueille des adolescents et des adultes lourdement handicapés: pathologies neuromusculaires, pathologies neurodégénératives, traumatismes crâniens, blessés médullaires, para et tétraplégiques, des adultes polyhandicapés et infirmes moteurs cérébraux. Cette unité propose 25 lits d'accueil temporaire. C'est dans l'UF3 qui est le centre de référence des maladies neuromusculaires GNMH, que j'ai réalisé mon stage. Ce centre est le résultat de l'association des hôpitaux de Garches, Necker, Mondor et Hendaye, qui propose de nombreux services comme la consultation externe en myologie, les hospitalisations ainsi qu'une activité de télémedecine. A l'Hôpital marin d'Hendaye, le centre de référence est régi par un médecin (le docteur URTIZBEREA), une généticienne (Mme COBO) ainsi que par une secrétaire (Mme CORIDON). A ce trio, se rajoute un ensemble de professionnels agissant dans un cadre multidisciplinaire : médecins, kinésithérapeutes, ergothérapeutes, psychomotriciens, diététiciens, ainsi qu'un cabinet d'odontologie et une unité de radiologie.
 - ⇒ L'unité fonctionnelle pour patients polyhandicapés: 140 lits dédiés à la prise en charge de patients adultes âgés de 20 à 60 ans en séjour de longue durée.
- Le Pôle 2: Maladies Rares et Troubles du Comportement constitué de :
 - ⇒ L'unité consacrée au syndrome Prader-Willi et autres maladies rares apparentées, réservée à des patients adultes jeunes associant obésité grave et trouble du comportement. Elle offre 16 lits d'accueil temporaire. Les séjours proposés permettent un bilan de santé physique et mental, un accompagnement dans la perte de poids et la réadaptation à l'effort, et enfin, la construction d'un projet de soins de suite et de réadaptation.
 - ⇒ L'unité fonctionnelle pour patients avec troubles autistiques: 120 lits spécialisés dans la prise en charge de patients adultes autistes en séjour de longue durée; quelques lits pour des séjours temporaires avec diversification en cours, handicap mental associé à des pathologies organiques et neuro-psychiatriques.

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	2
Avant-propos	3
Table des matières	4
Introduction	5
Matériel et méthodes :	6
1). Les patients du centre de référence GNMH :	6
2). Outils de la recherche clinique pour le suivi des patients :	7
2.1). Les consultations :	7
2.1.1). Présentation de la consultation :	7
2.1.2). Apport de la consultation :	7
2.2). Les bases de données :	8
2.2.1). La base de données CEMARA :	8
2.2.2). La base de données DMScope :	8
2.2.3). La base de données Access:	9
2.2.4). La base de données MFM :	9
2.3). Les tests complémentaires :	10
2.3.1). Les tests à visée diagnostique :	10
2.3.2). Les tests anticipants la maladie de Steinert :	10
2.3.3). Le test musculaire :	11
Résultats et discussion :	12
1). Données du registre Access:	12
1.1). Etude de l'âge des patients :	14
1.2). Répartition des patients suivant les 3 formes cliniques de la maladie :	14
2). Etude d'une famille complexe :	16
2.1). L'enquête génétique :	16
2.2). Les tests génétiques : étude du gène DMPK :	17
2.2.1). Par PCR :	18
2.2.2). Détermination de la taille de l'expansion du triplet (CTG) n :	18
3) . Le suivi des patients grâce aux consultations :	20
4.1). Mesure de la Fonction Motrice (MFM) :	20
4.2). Quelques statistiques :	22
4 .2.1). Suivi des patients lors de la consultation externe :	22
4 .2.1). Suivi des patients lors de la consultation par télé médecine :	24
4). Perspectives d'avenir :	24
4.1). Perspectives de traitement contre la maladie :	24
4.2). Amélioration des outils de travail :	25
Conclusion.....	27
Références bibliographiques :	28
Annexes.....	29

INTRODUCTION

Dans le cadre de ma dernière année de Licence Biologie des Organismes, j'ai réalisé un stage dont le but était l'initiation à la recherche clinique. La recherche clinique est définie par deux éléments principaux, la description de l'histoire naturelle des maladies ainsi que le développement thérapeutique. Ce dernier consiste à la réalisation d'essais cliniques qui auront pour but le suivi de l'évolution d'un traitement d'essai sur des patients, afin d'évaluer son efficacité. Tandis que la description de l'histoire naturelle correspond à l'étude complète de la maladie, de son origine à son aspect clinique, c'est cette étape qui va donc permettre la constitution des cohortes pour les essais thérapeutiques, elle est donc particulièrement importante pour la recherche clinique. Durant mon stage, je me suis donc particulièrement intéressée à cette dernière étape. Pour cela, j'ai intégré pendant deux mois le centre de référence neuromusculaire GNMH de l'Hôpital marin d'Hendaye, sous la direction de mon maître de stage, J. Andoni URTIZBEREA, en collaboration avec Ana-Maria COBO-ESTEBAN. Nous avons décidé de nous intéresser plus particulièrement à la maladie de Steinert étant une des maladies la plus souvent suivie à l'Hôpital marin dans le cadre du centre de référence neuromusculaire.

Cette maladie est une dystrophie myotonique d'origine génétique, découverte par Steinert, Batten et Gibbs (1909). Elle est due à une amplification des répétitions d'un trinucléotide CTG, situé sur le gène codant pour la myotonine protéine kinase (DMPK). Ce gène est situé sur le bras long du chromosome 19. Cette maladie touche aussi bien les hommes que les femmes et est transmise suivant le mode autosomique dominant. La maladie de Steinert affecte les muscles, lesquels s'affaiblissent 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, système nerveux et l'oeil) : c'est une maladie multisystémique. 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 bénignes (la personne est porteuse de l'anomalie génétique de la maladie de Steinert mais n'en manifeste aucun ou peu de signe même jusqu'à un âge très avancé), à des formes classiques, ou encore, à l'inverse, à des formes sévères, comme la forme congénitale (qui se manifeste dès la naissance). La prévalence de la maladie de Steinert est estimée à 5/100 000 habitants ce qui fait d'elle une des maladies neuromusculaires la plus fréquente à l'âge adulte. Le nombre d'habitants des Pyrénées-Atlantiques étant de 650 356, on devrait recenser dans ce département, environ 32 personnes atteintes ou simplement porteuses de la maladie. Afin d'établir ces résultats, de nombreux tests sont essentiels tels que l'observation, les tests génétiques, les tests prénataux ainsi que plus rarement, un électromyogramme.

Durant toute la durée de mon stage je me suis donc intéressée à l'étude et au suivi de cette maladie dans le cadre de la recherche clinique. Ceci consistait à participer aux consultations, à étudier tous les dossiers des patients Steinert ayant pour but l'alimentation des différentes bases de données et enfin à suivre des protocoles cliniques. C'est ce que nous allons voir dans la prochaine partie de ce rapport. Enfin, nous verrons les résultats obtenus à la suite de mes 2 mois de stage quant au suivi des malades Steinert répertoriés en Aquitaine.

MATERIEL ET METHODES :

Afin de réaliser au mieux le suivi des patients Steinert recensés en Aquitaine, plusieurs méthodes sont à présenter. Lorsqu'une personne présente les signes caractéristiques de la maladie (myotonie ¹, cataracte, faiblesse musculaire, trouble cardiaque, trouble du sommeil, troubles et douleurs intestinaux), son médecin traitant ou encore un spécialiste dans les domaines touchés par la maladie de Steinert (œil, cœur...) lui prescrit un rendez-vous dans un centre de référence des maladies neuromusculaires, comme c'est le cas du centre GNMH.

1). Les patients du centre de référence GNMH :

L'élément essentiel de mon stage, et donc de la recherche clinique, est le patient. Les patients de l'hôpital sont différenciés en trois catégories, les patients dits « externes », venant de l'extérieur de l'hôpital, les patients dits « internes », ceux résidant au pavillon Ribadeau-Dumas ainsi que les patients traités dans le cadre de la télémedecine. Le centre accueille aussi bien des adultes que des enfants avec cependant une proportion de consultations pour adulte supérieure à celle pour enfant. Durant mon stage, j'ai surtout été en contact avec les patients externes, lors de la consultation. Les patients vus en consultation, sont dirigés à l'Hôpital marin dans le cadre du centre de référence neuromusculaire. Ils sont suivis plus ou moins régulièrement suivant leur symptômes et l'avancement de leur maladie. Certains patients peuvent n'être revus qu'une à deux fois par an, tandis que d'autres patients plus atteints ou présentant une forme plus sévère de la maladie sont revus plus régulièrement lors des consultations. Enfin, certains patients demandent un séjour au pavillon Ribadeau-Dumas d'une durée moyenne d'un mois, pouvant ainsi être pris en charge sur une longue durée et donc plus particulièrement suivis si besoin est (évolution cardiaque et respiratoire de la maladie). Le suivi des patients est un élément essentiel de la consultation puisqu'il permet de faire un point sur l'évolution de la maladie chez le patient, il doit cependant être adapté pour chacun d'entre eux, tout dépendra de l'évolution plus ou moins lente et grave de la maladie ou encore de leur évolution familiale (souhait de maternité).

Beaucoup de patients viennent d'eux-même car la maladie de Steinert étant peu connue de certains médecins, leur orientation vers ce dernier n'est pas spontanée. Pour combler ce manque d'information, de nombreuses associations sont en contact avec les patients et notamment l'AFM (Association Française contre les Myopathies). Elle réunit scientifiques, médecins, ergothérapeutes, juristes... qui lui permettent d'avancer plus vite sur le chemin des médicaments et d'aider plus efficacement les malades en les écoutant, les conseillant et en les dirigeant vers des structures spécifiques à leur maladie comme le centre de référence GNMH. Cette association joue un rôle majeur dans la recherche clinique de part son implication dans la recherche médicamenteuse mais aussi grâce à son implication financière puisqu'elle rémunère, par exemple, l'attachée de recherche clinique du centre neuromusculaire d'Hendaye. Ce dernier poste a un rôle clé, notamment pour son implication dans le suivi des patients puisque chaque personne atteinte de la maladie de Steinert est enregistrée dans des bases de données en ligne comme DMScope et CEMARA par l'attachée de recherche clinique.

¹ Caractérisée par une lenteur et une difficulté à la décontraction au cours des mouvements effectués volontairement.

2). Outils de la recherche clinique pour le suivi des patients :

2.1). Les consultations :

2.1.1). Présentation de la consultation :

La consultation externe est ouverte toute l'année aux patients venant principalement de la région Aquitaine mais aussi de la région Midi-Pyrénées et d'Espagne. Globalement, les patients souffrant de la maladie de Steinert correspondent à 22 % des maladies diagnostiquées lors des consultations et représentent la plus importante proportion des pathologies traitées à l'Hôpital Marin (les pathologies neuromusculaires représentent une grande diversité, il en existerait plus de 150 d'après la nomenclature internationale) puisque cette maladie est très répandue dans le Sud-Aquitain et dans la province basque du Guipuzcoa, où la maladie est très présente puisque la prévalence est estimée à 1/3 800 habitants.

Les séjours temporaires dans le pavillon Ribadeau-Dumas sont au nombre de 56 / an , accueillant des patients atteints de pathologies neuromusculaires comme c'est le cas pour la maladie de Steinert.

La télémedecine est utilisée par le Docteur URTIZBEREA afin de suivre des patients dans toute la France mais aussi à l'étranger (DOM-TOM compris) via internet, téléphone ou encore par courrier papier. Cette activité représente plus de 200 dossiers, souvent difficiles, de pathologies neuromusculaires.

2.1.2). Apport de la consultation :

Durant les consultations qui ont chacune une durée d'une heure, les objectifs des patients et du médecin sont variés. Les patients viennent pour un suivi, un conseil génétique ou encore pour l'établissement de leur diagnostic. Ils relatent alors leurs sentiments et les douleurs qu'ils ressentent face à la maladie, leur projet futur (naissance d'un enfant), et les difficultés qu'ils rencontrent au quotidien. Ainsi, une liste des complications entraînées par la maladie est dressée, et permet d'envisager, d'éventuels examens complémentaires. Les consultations sont majoritairement basées sur l'examen du patient , afin d'établir un diagnostic ou, une fois ce dernier décrit, afin de pouvoir visualiser au mieux pour le docteur, l'évolution de la maladie, pour cela, des photos et des vidéos sont souvent réalisées, dans le but de garder une trace de l'observation effectuée. En effet, l'observation est un élément essentiel pour le diagnostic de cette maladie puisqu'elle présente des signes visuels bien distincts, le visage de ces malades a une forme particulièrement évocatrice caractérisée de diplégie faciale, le visage est long et émacié, on note la présence d'un faciès figé, d'une bouche entrouverte aux allures de « carpe » et un ptosis ² assez marqué. De plus, une atteinte de l'élocution et une myotonie marquée sont aussi des signes très évocateurs de cette maladie.(Barois 1998). Une photo représentant un patient atteint de la maladie est disponible en annexe 1.

Certains patients viennent également en consultation pour qu'un spécialiste neuromusculaire, dans le cas présent, leur révèle l'identité de leur maladie souvent méconnue par les médecins généralistes (le docteur URTIZBEREA suivant les maladies neuromusculaires rares). Pour cela, l'analyse de scanner, d'IRM, de prise de sang ou encore de radio et de biopsie musculaire est nécessaire. De plus, ces consultations sont très importantes pour le centre de référence que constitue l'Hôpital marin d'Hendaye car les patients reçus pour des consultations souffrent de maladie extrêmement rare, la découverte de leur maladie est alors un excellent progrès pour la recherche quand celles-ci font appel à de nouvelles découvertes (principalement géniques). L'objectif des

² Chute de la paupière supérieure

consultations est donc double, elles sont principalement consacrées au patient et à leur bien-être mais permettent aussi de faire avancer la recherche. Mais, durant les consultations, le médecin n'est pas le seul acteur puisque l'attachée de recherche clinique joue aussi un rôle car il a pour but de remplir pour chaque patient, une fiche spécifique à une base de données, qui va ensuite permettre le suivi de tous les patients rencontrés lors des consultations.

2.2). Les bases de données :

Les bases de données jouent un rôle majeur dans l'établissement du diagnostic puisqu'elles permettent de renseigner le personnel médical sur des critères bien particuliers de la maladie comme c'est le cas des résultats génétiques, de l'évolution de la maladie dans la famille ou encore de l'évolution de la force musculaire. Pour cela, 4 bases de données principales sont utilisées par l'attachée de recherche clinique.

2.2.1). La base de données CEMARA :

Cette base de données est une base très générale. CEMARA repose sur l'enregistrement d'un nombre limité d'informations recueillies chez tous les patients pris en charge pour une ou plusieurs maladies rares. Les informations recueillies concernent les patients et les unités de soins. Elle permet de nous renseigner sur des données principalement basées sur des renseignements démographiques (date de naissance, lieu de résidence, type de pathologie, changement de prise en charge, changement d'unité de prise en charge ou du décès). Cette base a pour finalité principale de contribuer à l'élaboration et à l'amélioration de la prise en charge des maladies rares.

2.2.2). La base de données DMScope :

DM-scope est une base de données récente, spécialisée dans la maladie de Steinert. C'est avant tout un outil pour améliorer la connaissance et la prise en charge des dystrophies myotoniques. Les médecins des centres de référence, des consultations neuromusculaires de métropole et des départements d'outre-mer, ou les attachés de recherche clinique, sont invités à remplir un questionnaire papier standardisé pour chaque patient atteint de DM1 et à le transmettre au centre de référence d'Henri-Mondor, qui en assure la saisie informatique et la validation des données. Ce questionnaire est anonyme, mais identifié par un code. Le document, utilisable comme support de consultation, est principalement constitué de cases à cocher : type de mutation, évaluation musculaire, cardiaque, respiratoire, hormonale, digestive... les praticiens participants peuvent directement consulter et imprimer les données de leurs patients. L'objectif de cette base de données est donc de faciliter le suivi des patients. De plus, cette base demandant beaucoup d'informations comme le type de mutation, il est aussi demandé de réaliser un arbre généalogique afin d'étudier et de mettre en évidence le type de transmission de la maladie. En effet, la réalisation d'arbre généalogique est un outil essentiel pour le diagnostic et le suivi de cette maladie, celle-ci étant à transmission autosomique dominante et pouvant être anticipée puisque l'affection se manifeste plus précocement et devient plus grave de génération en génération. Il est de plus en plus fréquent que la maladie de Steinert soit découverte à l'occasion d'une enquête familiale, visant à constituer l'arbre généalogique de la famille. Il va alors être possible de déterminer qui est à risque d'être porteur de l'anomalie responsable de la maladie. C'est ainsi que certains membres de la famille peuvent

apprendre qu'ils sont porteurs de l'anomalie génétique sans ressentir aucune gêne (diagnostic pré-symptomatique). La réalisation de l'arbre généalogique est donc un élément très important de la base de données pour le suivi des patients et de leur maladie.

2.2.3). La base de données Access:

Cette base de données a été réalisée en interne et est donc spécifique à l'Hôpital marin. Elle est mise à jour, comme les précédentes par l'attachée de recherche clinique. Cette base permet de regrouper en une seule, les informations contenues dans les deux précédentes, et permet un suivi plus facile et précis des patients. En effet, dans cette base on peut trouver : les données démographiques des patients, un agenda dans lequel est noté toutes les consultations des patients, les données moléculaires, la date des tests moléculaires, leur état ainsi que le laboratoire dans lequel ils ont été réalisés.

2.2.4). La base de données MFM :

Cette dernière base permet de recueillir tous les résultats obtenus suite à la passation d'une MFM (Mesure de la Fonction Motrice). La Mesure de la Fonction Motrice (MFM) est une échelle quantitative qui permet de mesurer les capacités fonctionnelles motrices chez une personne atteinte d'une maladie neuromusculaire, comme c'est le cas pour la maladie de Steinert. Quels que soient le diagnostic et l'importance des déficiences motrices, la MFM permet de :

- préciser la symptomatologie et l'évolution des maladies neuromusculaires,
- orienter les mesures rééducatives et adaptatives,
- faciliter la communication entre les différents acteurs de la prise en charge,
- sélectionner des groupes homogènes de patients en vue d'essais thérapeutiques.

Validée en 2004, la MFM est à ce jour la seule échelle validée et publiée, de mesure fonctionnelle utilisable dans la plupart des maladies neuromusculaires, chez les patients âgés de 6 à 60 ans. Lors de chaque examen, une série de 32 ou 20 activités musculaires est demandée aux patients, comprenant des exercices précis avec une position de départ définie de façon rigoureuse et qui doivent être réalisés sans aide extérieure et sont cotés de 0 (échoué) à 3 (réussi). Les exercices sont répartis en 3 dimensions : D1 (station debout et transferts), D2 (motricité axiale et proximale) et D3 (la motricité distale). Le résultat final étant ensuite inscrit dans la base de données MFM, qui recueille les résultats des MFM de tous les patients enfant ou adulte présentant une maladie neuromusculaire identifiée ou suspectée et qui permet donc un suivi rapide et détaillé de l'évolution de la force musculaire des patients grâce aux courbes individuelles d'évolution MFM que fournies la base. Ces courbes sont présentées dans les figures 6 et 7.

2.3). Les tests complémentaires :

Afin de remplir avec une grande précision les fiches de renseignements des bases de données, des tests complémentaires doivent être réalisés, c'est le cas par exemple des tests génétiques à visée diagnostique, permettant notamment de connaître la nature de la mutation. Enfin, suite à la réalisation de l'arbre généalogique de la famille, certains membres peuvent découvrir qu'ils sont porteurs sains de la maladie, celle-ci pouvant être transmise à la descendance, certains tests anticipants la maladie sont disponibles comme le test ayant pour but le diagnostic pré-natal et le test ayant pour but un diagnostic pré-implantatoire. En complément, un test musculaire peut confirmer le diagnostic de la maladie, il s'agit de l'électromyogramme. Cependant, ce dernier n'est pas prescrit en priorité car il permet de mettre en évidence une décharge myotonique dans le muscle, or tous les patients atteints de la maladie ne présentent pas cette décharge.

2.3.1). Les tests à visée diagnostique :

Le test génétique est devenu depuis une quinzaine d'années le moyen le plus fiable pour affirmer un diagnostic avec certitude. Il nécessite le consentement éclairé de celui ou celle chez qui il est pratiqué, ou de ses parents s'il s'agit d'un mineur. En effet, les personnes sujettes au test génétique doivent donner leur accord après avoir reçues toutes les informations nécessaires sur le déroulement du test, ses conséquences, et les alternatives possibles. Des exemples de consentements éclairés utilisés par l'Hôpital sont disponibles en annexes 2 et 3.

Le test consiste à étudier sur l'ADN obtenu à partir d'un prélèvement sanguin, la présence d'une répétition anormale de triplets de nucléotides (CTG) dans le gène DMPK situé sur le chromosome 19. Entre 5 et 35 triplets, le test est négatif, et la personne est considérée comme non atteinte de la maladie de Steinert. Entre 37 et 50 triplets, on parle de "pré-mutation", ce qui signifie que le nombre de répétition de triplets est supérieur à la normale mais pas assez élevé pour se traduire par des manifestations cliniques, cependant son instabilité peut donner lieu à l'apparition de la maladie dans la descendance. Enfin, au-delà de 50 triplets, le diagnostic de la maladie de Steinert est confirmé. Certaines formes congénitales s'accompagnent d'une expansion pouvant aller jusqu'à plusieurs milliers de triplets. Les tests génétiques permettant de diagnostiquer la maladie sont principalement l'étude moléculaire du gène DMPK qui consiste à rechercher l'expansion d'une répétition (CTG)_n, en région 3' non codante du gène DMPK par analyse de fragment après PCR. Enfin, des analyses complémentaires doivent être réalisées grâce au Southern-Blot afin de mesurer la taille des grandes expansions.. Ces analyses sont réalisées à partir d'un simple prélèvement sanguin. Ces tests génétiques ne sont pas réalisés à Hendaye mais dans des laboratoires parisiens permettant une très grande précision dans les résultats.

2.3.2). Les tests anticipants la maladie de Steinert :

Deux tests permettant d'anticiper la maladie de Steinert sont à présent connus, il s'agit du diagnostic pré-natal et du diagnostic pré-implantatoire (DPI).

Le diagnostic pré-natal est techniquement réalisable. Il consiste à rechercher l'anomalie génétique (répétition excessive du nombre de triplet) sur les villosités chorales ³ après biopsie du trophoblaste ⁴ à 12 semaines d'aménorrhée ⁵ ou sur les cellules amniotiques prélevées par amniocentèse à 16 semaines de grossesse. Ces examens peuvent entraîner une fausse

³ Constituants du trophoblaste qui proviennent uniquement du fœtus.

⁴ Tissus embryonnaire à l'origine du placenta.

couche dans environ 1% des cas. Si l'enfant est porteur du gène muté, il sera difficile de prévoir la gravité exacte de la maladie. En revanche, s'il n'a pas hérité de l'anomalie génétique, il sera indemne ainsi que sa descendance.

Le diagnostic pré-implantatoire est réalisé sur l'oeuf fécondé avant son implantation dans l'utérus maternel. C'est une technique complexe nécessitant dans un premier temps une fécondation in vitro. On prélève ensuite sur les embryons âgés de 3 jours, 2 cellules sur lesquelles on recherche l'anomalie génétique. Seuls les embryons indemnes sont alors réimplantés dans l'utérus maternel. Cette technique permet ainsi d'éviter l'interruption volontaire de grossesse au cas où le fœtus serait atteint.

2.3.3). Le test musculaire :

L'électromyographie (EMG) est un examen qui permet de mettre en évidence l'aspect caractéristique d'une myotonie : l'examen consiste à mesurer l'activité électrique du muscle à l'aide d'aiguilles-électrodes insérées dans certaines masses musculaires. Il montre la présence de « décharges myotoniques » lors de la contraction du muscle, qui s'accompagnent d'un bruit caractéristique de l'appareil à EMG (comme un avion en piqué). (Recondo 2001).

⁵ l'absence des règles ou menstruation

RESULTATS ET DISCUSSION :

Le suivi des patients est l'élément essentiel de mon stage, afin d'étudier au mieux la maladie de Steinert. Pour cela, plusieurs outils sont nécessaires comme il a été vu précédemment, nous allons donc voir concrètement ce qu'ils apportent lors du suivi des patients dans le cadre de la recherche clinique. Les données utilisées pour les résultats suivants sont fournies dans la figure 1.

1). Données du registre Access:

Durant mon stage, j'ai pu étudier les patients atteints de la maladie de Steinert, qui sont répertoriés en Aquitaine. Nous étudierons ainsi l'âge des patients et leur répartition selon les 3 formes cliniques de la maladie. Voici les données dont je me suis servie pour cette partie :

Patient	Date de naissance:	Sexe	Age du début:	Département de résidence	Age actuel:	Nombre de triplet CTG	Forme contractée
1	18/03/1992	M	8	33	20	500-350	Classique
2	06/09/1981	M	17	64	30	533-867	Classique
3	01/03/1983	M	22	64	29	350	Classique
4	11/09/1948	F	50	64	63	57	Bénigne
5	08/11/1964	M	20	64	47	630	Classique
6	21/01/1969	F	29	40	43	600-1000	Classique
7	03/10/1966	M	0	64	45	Inconnu	Congénitale
8	03/09/1983	M	25	64	28	Inconnu	Classique
9	27/03/1987	F	0	64	25	3500	Congénitale
10	02/01/1958	F	36	64	54	100	Bénigne
11	21/04/1987	F	3	64	25	900-733	Classique
12	06/07/1950	M	35	64	61	367-167	Classique
13	06/11/1951	M	25	64	60	133-400	Classique
14	21/11/1965	F	16	40	46	1930	Classique
15	19/07/1969	F	40	64	42	57	Bénigne
16	24/10/1960	F	48	64	51	Inconnu	Bénigne
17	03/06/1986	F	0	64	25	Inconnu	Congénitale
18	14/12/1964	F	30	64	47	160	Classique
19	22/07/1954	M	49	40	57	1100	Classique
20	12/08/1962	F	33	64	49	Inconnu	Classique
21	04/05/1973	M	26	40	39	300-533	Classique
22	19/12/1949	M	50	64	62	730	Classique
23	18/05/1969	M	39	64	42	430	Classique
24	28/05/1980	M	0	64	31	Inconnu	Congénitale
25	19/05/1956	F	24	64	55	Inconnu	Classique
26	27/10/1963	F	33	64	48	767-467	Classique
27	07/04/1977	F	9	64	35	1400	Classique
28	18/11/1978	F	15	64	33	560	Classique
29	12/04/1953	M	30	64	59	500-833	Classique
30	11/01/1981	M	24	40	31	Inconnu	Classique
31	05/11/1985	M	20	64	26	833-1033	Classique
32	10/05/1957	F	49	64	55	133	Bénigne

33	18/12/1980	M	11	64	31	967-667	Classique
34	15/06/1951	F	50	40	60	66	Bénigne
35	03/03/1987	F	0	64	25	1267	Congénitale
36	02/10/1949	F	35	64	62	200-866	Classique
37	28/11/1923	F	28	64	88	Inconnu	Bénigne
38	21/04/1980	M	20	40	32	500	Classique
39	15/05/1995	M	0	64	16	Inconnu	Congénitale
30	18/02/1980	F	24	64	32	93	Bénigne
41	27/11/1978	F	31	64	33	100	Bénigne
42	04/10/1959	M	40	64	52	400-900	Classique
43	04/06/1990	M	14	64	21	Inconnu	Classique
44	04/02/1969	F	17	64	43	Inconnu	Classique
45	31/08/1975	F	20	64	36	Inconnu	Classique
46	22/06/1963	M	10	64	48	Inconnu	Classique
47	10/05/1969	M	26	64	43	333-567	Classique
48	29/12/1966	M	17	64	45	Inconnu	Classique
49	24/03/1938	F	54	64	74	Inconnu	Bénigne
50	06/04/1966	M	15	64	46	Inconnu	Classique
51	31/10/2006	F	4	64	5	Inconnu	Bénigne
52	04/11/1976	F	29	64	35	Inconnu	Classique
53	24/03/1938	M	40	64	74	250	Classique
54	27/12/1966	M	38	64	45	52	Bénigne
55	11/03/1950	M	40	64	62	Inconnu	Bénigne
56	21/06/1986	F	20	40	25	200-550	Classique
57	17/12/2008	M	0	64	3	1000	Congénitale
58	08/02/1987	M	2	64	25	150-400	Classique
59	24/02/1969	M	30	64	43	100	Bénigne
60	02/06/1961	F	37	64	50	Inconnu	Classique
61	21/03/1963	M	19	64	49	830	Classique
62	04/07/1974	F	33	64	37	266-500	Classique
63	24/06/1955	F	48	40	56	Inconnu	Classique
64	18/11/1985	F	0	40	26	Inconnu	Congénitale
65	11/08/1976	M	20	40	35	400-233	Classique
66	17/01/1965	M	26	64	47	400-767	Classique
67	03/11/1963	F	24	64	48	730	Classique
68	10/10/1960	F	38	64	51	120	Bénigne
69	05/10/1932	M	47	64	79	64	Bénigne
70	09/07/1975	M	27	64	36	53	Bénigne
71	17/01/1942	F	40	64	70	667	Classique
72	05/07/1971	M	36	64	40	400	Classique
73	16/12/1954	F	56	64	57	64	Bénigne
74	24/06/1961	F	20	64	50	2100	classique
75	17/08/1949	F	40	64	62	Inconnu	classique

Figure 1: Représentation des données concernant les patients Steinert recensés en Aquitaine, qui ont contribué aux résultats statistiques de mon rapport.

1.1). Etude de l'âge des patients :

Les patients Steinert que j'ai étudié sont ceux suivis à Hendaye. Ils sont au nombre de 75 avec autant de femmes que d'hommes ayant des âges compris entre 3 et 88 ans (en 2012), résultats extraits de la base de données Access uniquement, étant la base de données la plus complète.

Représentation graphique des âges des patients

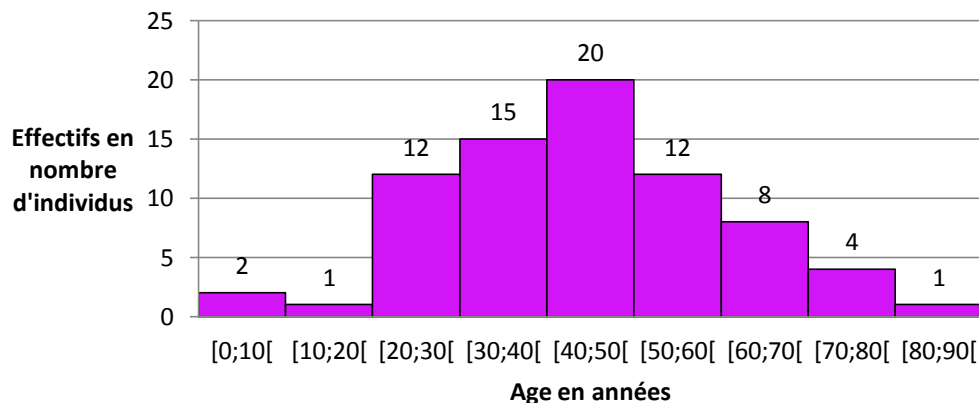


Figure 2 : Histogramme représentant les âges des patients atteints de la maladie de Steinert, en nombre d'individus (N=75).

D'après ce graphique, on voit que l'âge moyen des patients Steinert vus à l'Hôpital marin d'Hendaye est de 43,46 ans soit environ 43 ans avec une dispersion de plus ou moins 16,23 ans. Le patient le plus jeune ayant 3 ans et le plus âgé ayant 88 ans, ceci représente une étendue de 85 ans pour l'âge des patients atteints de cette maladie. La population représentant les malades Steinert est très variée et diversifiée par le grand nombre de patients, ayant tous un âge très différents. Ceci met bien en évidence le fait que la maladie touche les personnes à n'importe quel âge. Pour définir plus précisément ces patients, nous allons les répartir suivant la forme de la maladie de Steinert qu'ils ont contractée.

1.2). Répartition des patients suivant les 3 formes cliniques de la maladie :

Cliniquement, il existe trois formes dans la maladie de Steinert :

- La forme congénitale qui est la forme la plus grave de la maladie de Steinert. Elle est présente dès la naissance et même parfois dès la période intra-utérine, elle s'observe donc chez les nouveaux-nés de mères atteintes de la maladie de Steinert. A la naissance, l'enfant est très mou (hypotonique), il présente des difficultés à téter et à avaler il présente aussi souvent des troubles respiratoires qui peuvent conduire au décès.(Association française contre les myopathies.2006). Le nombre de répétitions de (CTG) dans cette forme est de 1000 à 3000, ce qui représente une forme très grave de la maladie, puisqu'elle est létale dans 16 % des cas. Elle est présente à 10,7% chez les patients Steinert du centre.
- La forme classique (comprenant la forme adulte et infantile), elle apparaît en moyenne vers l'âge de 30 ans mais peut survenir plus tôt dans l'adolescence pour la forme adulte et

avant 10 ans pour la forme infantile. Cliniquement, on peut distinguer une atteinte musculaire avec notamment une faiblesse musculaire et une diminution du volume des muscles. Ceci va entraîner un ptosis, des difficultés à prononcer les mots, à relever la tête, à monter les escaliers, à se relever de la position assise ... Au bout de quelques années certaines personnes devront utiliser une canne ou encore un fauteuil roulant. A l'inverse, certains patients resteront peu gênés toute leur vie. La myotonie est aussi observée ainsi qu'une atteinte cardiaque (accélération des palpitations, irrégularité du battement cardiaque, risque de mort subite), des troubles oculaires (cataracte), des troubles neurologiques (somnolence avec une tendance à s'endormir facilement et pendant longtemps), des troubles respiratoires, endocriniens, digestifs et une calvitie précoce. Cette forme de la maladie se traduit par une extension du nombre de répétition (CTG) compris entre 100 et 2000. Elle représente 65,3 % des patients, c'est la forme la plus présente chez les patients du centre. Et enfin,

- La forme bénigne, c'est la forme la moins grave, elle caractérise souvent les patients dits pauci-symptomatiques, qui ne présenteront qu'une cataracte, une calvitie dans certains cas et un déficit musculaire minime ou absent. Les symptômes apparaissent vers 30-40 ans. Cependant, même dans ce cas le risque d'atteinte cardiaque n'est pas exclu et impose une surveillance spécifique. Cette forme de la maladie se traduit par une expansion du nombre de répétitions en (CTG) compris entre 37 et 150. Elle représente 18 % des patients. (Association française contre les myopathies.2006).

Enfin, il est à noter que les sujets sains ont un nombre de répétitions (CTG) compris entre 5 et 35.

L'évolution est habituellement lentement progressive mais une dégradation rapide parfois à la faveur d'une infection ou d'une chirurgie peut être observée.

La capacité de travail est limitée à terme chez 70% des patients. Enfin, l'espérance de vie est diminuée à cause de la mortalité accrue par complications pulmonaires et cardiaques.

Voici comment ces trois formes sont réparties chez les patients suivis par le Docteur URTIZBEREA :

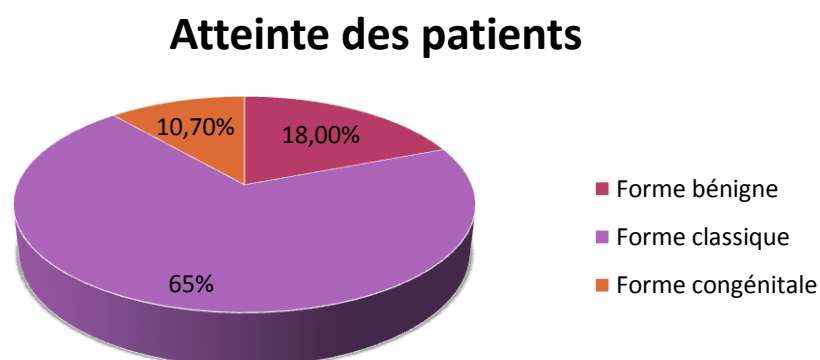


Figure 3 : Représentation graphique en camembert des formes de la maladie de Steinert contractées par les différents patients (N=75) en %

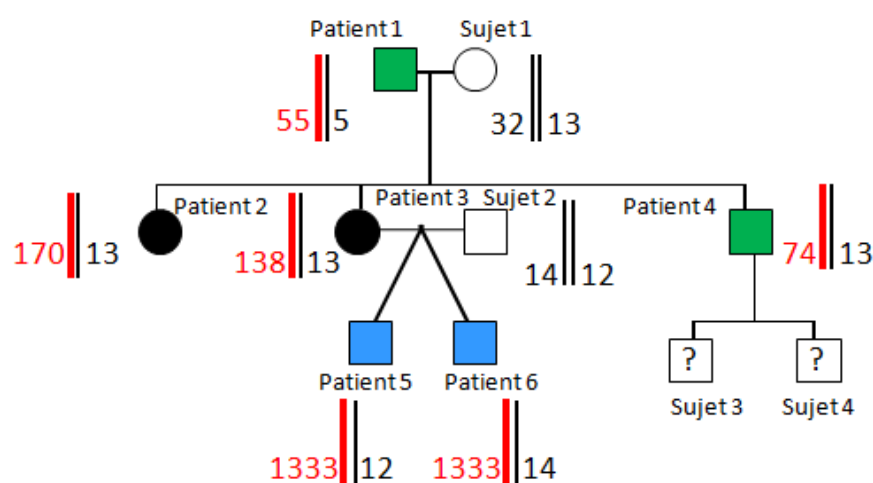
D'après ce graphique, on s'aperçoit que la majorité des patients suivis sont atteints de la forme classique de la maladie de Steinert (cette dernière étant la plus fréquente). De plus, d'après les données fournies en annexes, on remarque que l'âge moyen des patients atteints de la forme classique au début de l'apparition de leur symptôme est de 43 ans, l'âge moyen des patients atteints de la forme bénigne au début de l'apparition de leurs symptômes est de 44 ans et enfin l'âge moyen des patients atteints de la forme congénitale au début de l'apparition de leurs symptômes est de 0 puisque cette dernière apparaît dès la naissance, ce qui correspond bien à l'âge attendu généralement.

2). Etude d'une famille complexe :

Durant mon stage, je me suis plus particulièrement intéressée à une famille où la maladie de Steinert est présente depuis quelques générations mais méconnue de tous (voir figure 4). La découverte de cette maladie a eu lieu lors de la naissance, suite à une fécondation in-vitro, de jumeaux atteints de la forme congénitale de la maladie. Les jumeaux présentant un caractère hypotonique à leur naissance, la maladie de Steinert a été diagnostiquée et ensuite recherchée au sein des générations précédentes, nous allons donc voir tout le travail de recherche et d'analyse menant au diagnostic de la maladie.

2.1). L'enquête génétique :

Lors de la consultation avec un nouveau patient atteint de la maladie, un arbre généalogique est établi, cette maladie étant à transmission autosomique dominante, il est intéressant d'étudier la famille entière du patient. De plus, l'arbre génétique permet de déceler d'éventuelle forme bénigne (en complément des tests génétiques) et donc les sujets à risque dans la famille de contracter la maladie mais aussi et surtout de la transmettre. Voici un exemple d'arbre réalisé au cours de mon stage :



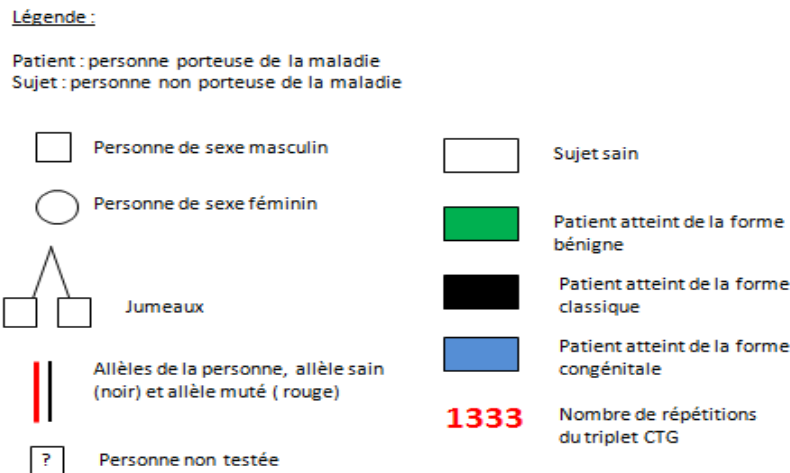


Figure 4 : Représentation d'un arbre génétique d'une famille atteinte de la maladie de Steinert aussi appelée dystrophie myotonique de type 1 (DM1).

Sur cet arbre, on remarque un grand nombre de sujets atteints ou non de la maladie de Steinert. On remarque ainsi que dans cette famille, 4 sujets sont des personnes non porteuses de la maladie dont 2 n'ont pas été testés. 2 patients sont atteints de la forme bénigne de la maladie de Steinert. 2 patients sont atteints de la forme classique de la maladie de Steinert et enfin, 2 patients sont atteints de la forme congénitale de la maladie.

Cette arbre met donc bien en évidence le caractère héréditaire de la maladie, de plus on remarque que le nombre de triplets de nucléotide (CTG) et donc la taille de la région instable, augmente au cours des générations, ceci est le phénomène d'anticipation. La maladie se déclarant de plus en plus tôt (dès la naissance pour la 3^{ème} génération) et de plus en plus gravement. Généralement, à la première génération, les signes sont modérés (cataracte) ; à la seconde l'atteinte devient multi-systémique (forme classique) et enfin, à la troisième génération, 10% des mères atteintes peuvent avoir un enfant contractant la forme congénitale de la maladie. C'est le schéma typique qui est représenté sur l'arbre. De plus, il faut noter qu'il existe une certaine corrélation entre la taille de l'expansion et la sévérité de la maladie : plus l'expansion est grande, et plus le risque d'évolution péjorative de la maladie est élevé. Cette maladie devenant donc de plus en plus grave au fil des générations, il est important pour les personnes suspectant d'être porteuses de la maladie de se faire tester.

2.2). Les tests génétiques : étude du gène DMPK :

On a vu précédemment que pour confirmer ou non le diagnostic de Steinert, une étude moléculaire du gène DMPK codant pour la myotonine protéine kinase, localisé sur le chromosome 19 dans la partie 3' non-codante, est nécessaire. En effet, c'est ce gène qui est à l'origine de la maladie puisqu'il a été mis en évidence que l'ARN mutant transcrit à partir de ce gène anormal, contenant les triplets CUG, s'accumule dans le noyau de la cellule et se lie avec de nombreuses protéines pour former un noyau intranucléaire anormal. Cette accumulation d'ARN muté (comprenant les CUG mais aussi des ARNm provenant des gènes voisins) va perturber le fonctionnement normal de la cellule et va ainsi perturber le bon fonctionnement de l'épissage alternatif de l'ARN de certaines protéines. Et c'est donc ce dernier phénomène qui ne se réaliserait pas normalement dans la maladie et qui en est l'origine. De même sont expliquées ainsi les atteintes

multisystémiques de la maladie, en particulier la cataracte et l'atteinte cardiaque dont les gènes sont spatialement voisins du DMPK.

J'ai donc étudié plus particulièrement ce gène qui joue le rôle principal dans la maladie de Steinert. L'analyse a été réalisée à partir d'un simple échantillon sanguin. L'origine de la maladie étant une augmentation du nombre de répétition du triplet CTG sur le gène muté, on réalise sur ce dernier une PCR ainsi qu'un Southern-Blot.

2.2.1). Par PCR :

La PCR est une technique de réplication ciblée in vitro. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon sanguin, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie du gène DMPK. Une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN a ainsi été réalisée. Chaque réaction met en oeuvre deux amorces ou « primers » dont les extrémités 3' pointent l'une vers l'autre, en bornant la séquence à amplifier. Cette technique a ainsi permis d'identifier les répétitions CTG dans le génome à partir des échantillons d'ADN.

2.2.2). Détermination de la taille de l'expansion du triplet (CTG) n :

Cette dernière étape permet de connaître la taille de l'expansion du triplet dans le gène du patient, elle se fait par Southern-Blot. L'ADN à analyser est digéré par une enzyme de restriction (comme BamHI), les fragments ensuite obtenus sont soumis à une électrophorèse afin d'observer des migrations en fonction de leur taille. On fixe ensuite l'ADN sur une membrane de nylon, puis la solution est mise à incuber dans un sac contenant une solution d'une sonde radioactive complémentaire du fragment d'ADN qu'on cherche (comme la sonde pGB2.6). Après d'autres manipulations complexes, on va pouvoir comparer les distances de migration avec des fragments de DNA radioactifs de tailles connues qui servent de marqueurs de taille afin d'analyser la structure du gène. La séquence cible de l'ADN génomique correspondant à la maladie de Steinert a donc pu être détectée. Voici les résultats obtenus après la réalisation de la PCR et du Southern-Blot.

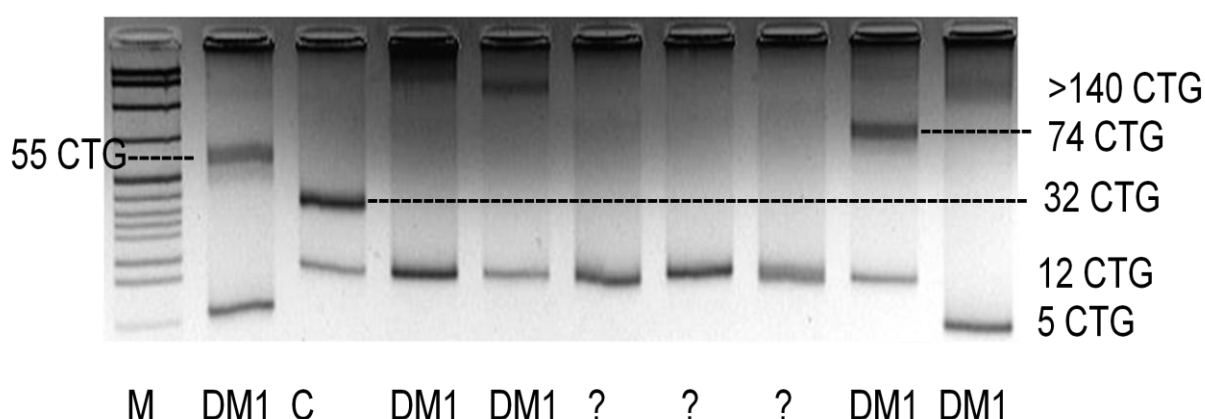


Figure 4 : Résultat de la PCR correspondant à la famille présentée précédemment, réalisée par Ana-Maria COBO, généticienne et attachée de recherche clinique à l'Hôpital marin d'Hendaye (Cobo 2007).

Cette analyse correspond à notre famille présentée précédemment dans l'arbre génétique. On remarque que l'analyse a été effectuée sur 9 membres de la famille. Tout à gauche, est représenté le puit du gel d'agarose, le gel est moulé avec un peigne qui forme ensuite les puits où l'on dépose un marqueur de poids moléculaire : pBR322 DNA/MspI (New England Biolabs).

Sur le deuxième puit, on peut apercevoir 2 bandes, la première en 5 CTG et la deuxième en 55 CTG, ces deux bandes correspondent donc aux deux allèles du patient 1, qui est atteint de la forme bénigne de la maladie.

Sur le troisième puit, on peut apercevoir 2 bandes, la première étant à environ 13 CTG et la deuxième à 32 CTG, ces deux bandes correspondent donc aux deux allèles du sujet 2, qui est sain.

Sur la quatrième puit, on peut apercevoir 1 bande à 13 CTG ainsi qu'un SMEAR⁶, supérieur à 140 CTG, ceci correspond donc aux deux allèles du patient 3, atteint de la forme classique de la maladie.

Sur le cinquième puit, on remarque une bande à 13 CTG ainsi qu'une deuxième bande aux alentours des 140 CTG, on peut donc en déduire que ceci correspond aux deux allèles du patient 4 (13 et 138 CTG), atteint de la forme bénigne de la maladie.

Sur le sixième puit, on remarque la présence d'une seule bande à 12 CTG, ce résultat ne peut donc pas être interprété car on n'aperçoit pas la présence d'une autre bande et donc du second allèle, c'est aussi le cas pour les puits suivants, à savoir les puits 7 et 8, on va donc par la suite réaliser un Southern-blot, afin de trouver la taille de l'expansion du second allèle.

Sur le neuvième puit, on aperçoit deux bandes, une située à 13 CTG, et l'autre située à 74 CTG, on peut donc en déduire que ceci correspond aux deux allèles du patient 6, qui est donc atteint de la forme bénigne de la maladie.

Enfin, sur le dixième puit, on aperçoit une bande à 5 CTG ainsi qu'un SMEAR présent au-delà de 140 CTG, ceci correspond à une étude portée sur un autre patient, non présent dans la famille étudiée.

Sachant que 5 CTG est toujours associé à une bande de 10 kb, que 11-14 CTG sont toujours associés à une bande de 9 kb, que 15-38 CTG sont toujours associés à une bande de 10 kb et que les bandes de plus de 40 CTG correspondent à des bandes >10kb (entre 10,1 et 10,4, on peut ou non les distinguer à l'oeil nu), on peut donc conclure que cette famille comprend, seulement 2 sujets avec des allèles normaux, 6 sujets avec des allèles mutés et 2 sujets non testés, ce qui est favorable aux résultats évoqués précédemment.

Cette méthode a donc été utilisée pour analyser les prélèvements sanguins des patients atteints de la maladie de Steinert. La PCR a permis un criblage à haut débit des allèles expansés dans le cadre de cette maladie. Cette méthode s'adapte particulièrement bien à une manipulation rapide, en utilisant une petite quantité d'ADN et a un débit d'échantillonnage élevé. Grâce à cette méthode, l'expansion de triplet CTG a pu être observée et définie chez 5 patients de la famille présentée, 2 sujets restent encore en attente, la réalisation d'un Southern-Blot est alors nécessaire pour définir la taille de leur expansion du triplet mis en cause dans la maladie de Steinert.

Voilà les résultats obtenus à partir des prélèvements sanguins des patients présentés dans l'arbre précédent, après analyse par Southern-Blot:

⁶ Multitude de « bandes » observées sur gel d'agarose lorsque l'ADN génomique qui présentent une grande instabilité somatique.

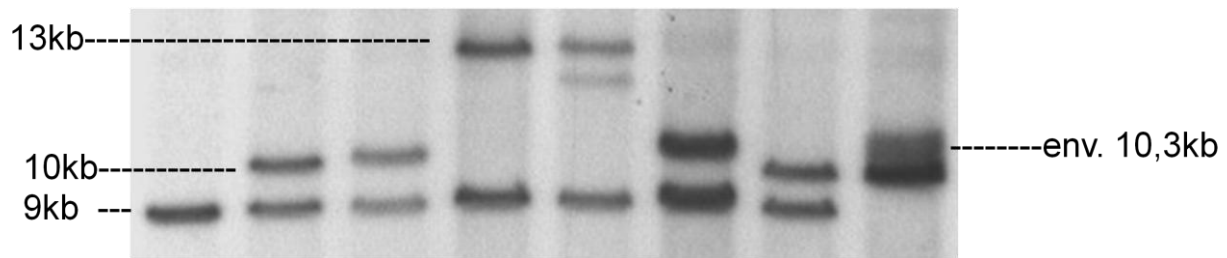


Figure 5 : Résultat du Southern-blot réalisé par Ana-Maria COBO ESTEBAN, généticienne et attachée de recherche clinique à l'Hôpital marin d'Hendaye. (Cobo 2007).

Les allèles normaux sont compris entre 9 et 10 kb, au-delà, ils sont considérés comme pathologiques. On remarque donc que les séquences spécifiques à la maladie de Steinert sont celles situées au dessus de 10 kb.

Afin d'établir le diagnostic génétique à partir de ces résultats, il faut soustraire la bande supérieure observée à la bande inférieure pour ainsi obtenir la taille de l'expansion du triplet CTG. Par exemple, sur le puit 4, on observe deux bandes, une à 9 kb et une deuxième à 13 kb, soit $13-9=4$ kb. Une fois la taille de l'extension donnée, il faut ensuite la convertir en CTG, pour cela, il suffit de convertir les kb en pb et de diviser le tout par 3. Soit $4 \text{ kb} = 4000 \text{ pb} / 3 = 1333 \text{ CTG}$.

Ainsi, on retrouve les diagnostics établis précédemment, à savoir 6 patients atteints, de forme plus ou moins grave de la maladie de Steinert. Sur les puits 3 et 7, on retrouve nos patients atteints de la forme bénigne à savoir les patients 1 et 6. Sur les puits 6 et 8, on retrouve nos patients atteints cette fois de la forme classique de la maladie à savoir les sujets 3 et 4. Enfin, sur les puits 4 et 5, on peut déterminer la forme clinique des patients 7 et 8 car on aperçoit cette fois, contrairement avec la PCR, les bandes correspondantes au second allèle de nos jumeaux, qui sont estimées à 1333 CTG. On en conclue donc que les bandes 4 et 5 établissent le diagnostic de nos jumeaux qui sont donc atteints de la forme congénitale de la maladie de Steinert.

Les tests génétiques représentent donc la partie la plus importante du diagnostic car ils permettent de le confirmer ou non, et de prévoir d'éventuelles évolutions dans le cadre de la maladie, pour cela, les patients dont le diagnostic s'est révélé positif, pour eux ou pour un membre de leur famille, sont souvent amenés à revoir le docteur URTIZBEREA.

3) . Le suivi des patients grâce aux consultations :

Comme il a été vu précédemment, les patients atteints de la maladie de Steinert sont amenés à revenir à l'Hôpital marin, dans le cadre d'un séjour, d'une consultation externe, ou encore d'un conseil génétique. Lors de chaque consultation (internes et externes), que ce soit la première ou la X ième, le patient relate la description et l'évolution de sa maladie. Comme aucun traitement n'a pour l'instant été découvert, l'examen consiste à évaluer l'évolution des symptômes et surtout l'évolution de la force musculaire des patients. Pour cela un test est réalisé, il s'agit de la Mesure de la Fonction Motrice.

4.1). Mesure de la Fonction Motrice (MFM) :

Lors de certaines consultations, une MFM est réalisée, les résultats obtenus sont inscrits dans la base de données MFM, qui recueille les résultats des MFM de tous les patients. Ainsi, on peut

suivre l'évolution de la force musculaire des patients grâce aux courbes individuelles d'évolution MFM que fournies la base.

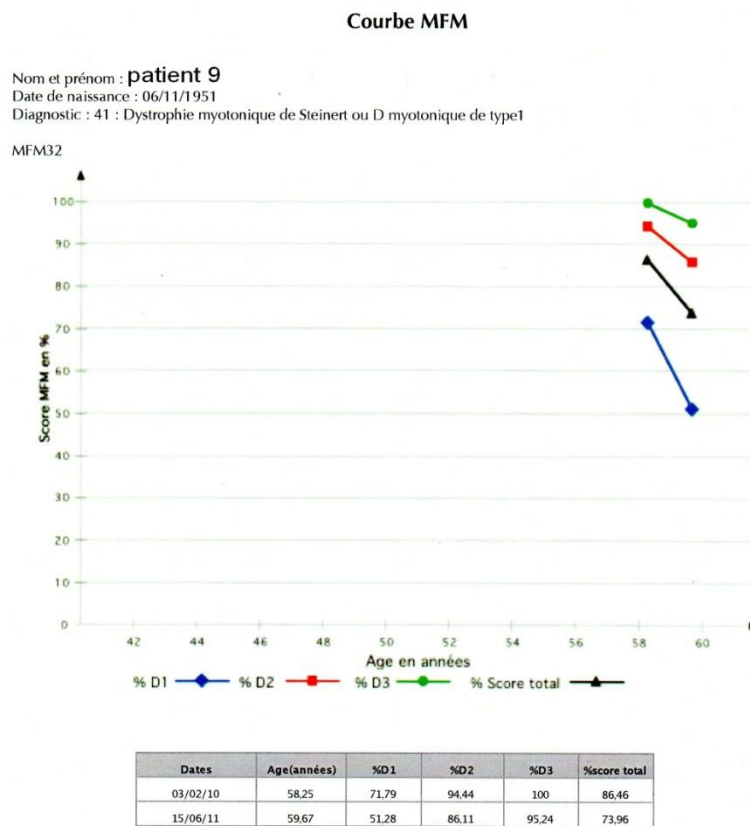


Figure 6 : Courbe MFM du patient 9.

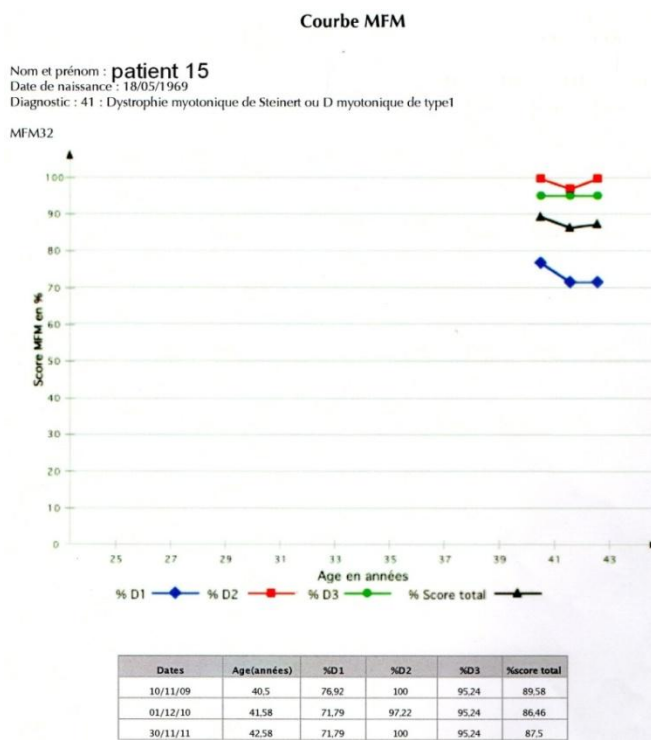


Figure 7 : Courbe MFM du patient 15.

Sur le premier graphique, on remarque la présence de 3 courbes représentant chacune une dimension (D1, D2 ou D3). On remarque que pour chacun de ces domaines, les capacités motrices du patient ont chuté. Ainsi, le patient a perdu 20,51 % de ses capacités motrices dans le domaine « station debout et transferts », la posture debout et le déplacement lui étant devenu plus difficile suite à la diminution progressive de la force musculaire. 8,33 % de la capacité motrice ont aussi été perdus en ce qui concerne la motricité axiale et proximale, ceci est notamment dû à la myotonie présente chez les Steinert et enfin 4,76 % concernant la motricité distale ont aussi été perdus. Cette perte représente au total 12,5 % des capacités motrices en moins, en seulement 1 an.

A l'opposé de ce cas où la tendance générale est la diminution de la capacité motrice du patient, d'autre patient peuvent connaître aussi bien des diminutions de leur capacité motrice que des augmentations pour même atteindre une capacité de 100 %. C'est le cas du patient suivant où l'on remarque que pour la capacité motrice, une diminution puis une augmentation jusqu'à un score final de 100 % ont été observées, tandis que les deux autres dimensions elles, se stabilisent à un score de 71,79 % et 95,24%. Au total, ce patient aura donc perdu seulement 2,08 % de sa fonction motrice sur 2 ans, ce qui représente une évolution de la maladie face à la force musculaire très lente et voir même stable pour l'instant.

On peut donc en conclure que pour une même forme de la maladie contractée (ici la forme classique), l'évolution de la fonction motrice est différente selon les patients. Cette maladie se manifeste donc de façon très variable suivant la forme mais aussi suivant les personnes.

Lors des consultations, les patients relatent donc leurs sentiments face à la douleur mais pas seulement. En effet, beaucoup de patients atteints ou porteurs sains reviennent en consultation pour obtenir un conseil génétique, le plus courant étant lié à un désir de grossesse, il est alors conseillé d'établir un diagnostic pré-natal. Enfin, un suivi régulier des patients est organisé à la suite duquel, des examens complémentaires peuvent être demandés (ex : prise de sang, examen cardiologique...) afin que le patient ait une prise en charge globale de ses symptômes. Nous allons voir maintenant à travers quelques statistiques, le contenu des consultations du docteur URTIZBEREA.

4.2). Quelques statistiques :

Nous allons nous intéresser au contenu de la consultation afin de comprendre à quel point le suivi est important dans les maladies neuromusculaires.

4.2.1). Suivi des patients lors de la consultation externe :

Les trois principales composantes de la consultation externe sont le conseil génétique, le diagnostic mais surtout le suivi des patients, nous allons donc voir comment ces 3 composantes se répartissent lors des consultations à l'Hôpital marin d'Hendaye.

Activité de la consultation externe

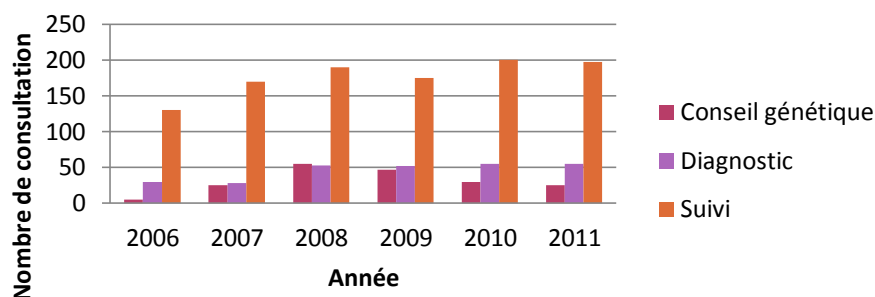


Figure 8: Représentation graphique des activités de la consultation du docteur URTIZBEREA, de 2006 à 2011.

Grâce à ce graphique, on remarque que la composante majeure des consultations repose sur le suivi des patients. Ce qui s'explique car c'est le principal intérêt pour les patients et pour les docteurs, le suivi permet de se renseigner sur l'évolution de leur maladie. La consultation a commencé avec un nombre de 130 consultations concernant un suivi de patient et depuis 5 ans, celle-ci stagne aux alentours des 186 consultations par an ayant pour intérêt le suivi de la maladie. La deuxième principale composante des consultations est le diagnostic, ceci s'explique par la grande proportion de maladie rare que traite les consultations, comme beaucoup de médecins généralistes ne connaissent pas ces maladies, c'est le plus souvent lors de la consultation à l'Hôpital marin d'Hendaye que les patients apprennent la nature de leur maladie. Enfin, le conseil génétique se place en dernière position car il concerne surtout les patients désirant connaître les risques de transmission liés à leur maladie, quand il y a un désir de grossesse par exemple. En effet, ce dernier a pour but d'évaluer le risque de survenue ou de récurrence de la maladie de Steinert, de proposer aux patients différentes solutions de prévention et de les aider à prendre une décision. C'est une démarche médicale ciblée dans le sens où elle s'adresse le plus souvent à un couple et non à un individu, elle concerne une tierce personne, le fœtus ou l'enfant à venir, elle n'aboutit le plus souvent à aucune thérapeutique et la prévention repose sur l'interruption de grossesse ou plus rarement le don de gamètes.

Le suivi des patients étant l'activité principale de la consultation, nous allons maintenant voir les principales plaintes des patients face à la douleur ressentie, en étudiant plus particulièrement la répartition des symptômes décrits dans le cadre de la maladie de Steinert :

Plaintes des patients

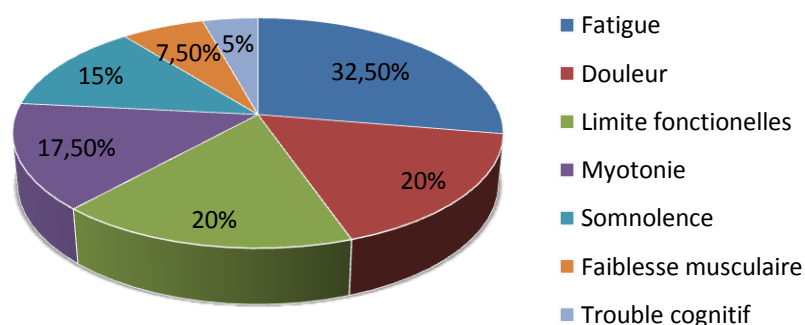


Figure 9 : Représentation graphique en camembert des plaintes des patients atteints de la maladie de Steinert (N=40) en %.

Les douleurs et atteintes ressenties par les patients souffrant de la maladie sont variées mais comprennent principalement la fatigue, la douleur et les limites fonctionnelles qui sont caractéristiques de la maladie. La fatigue est très souvent ressentie dans cette maladie, surtout dans la forme classique, où les patients peuvent souffrir de sommeil diurne, ils s'endorment facilement à n'importe quel moment de la journée, cette somnolence est très gênante dans cette maladie et pour la vie des patients. La douleur et les limites fonctionnelles sont les deux autres principaux symptômes, la douleur est surtout ressentie à cause des problèmes digestifs rencontrés dans la maladie (constipation, calcul dans la vésicule biliaire), à cause des infections pulmonaires, des difficultés respiratoires et aussi à cause de certains problèmes cardiaques pouvant se manifester comme un trouble de la conduction et du rythme cardiaque (Harper 2009). Enfin les limites fonctionnelles gênent beaucoup les patients car la diminution progressive de leur force musculaire les empêchent de mener la vie qu'ils avaient auparavant (diminution des activités et des déplacements), mais la myotonie peut aussi entrer en jeu puisqu'elle atteint les muscles des mains et les mouvements de celles-ci sont alors très limités. Les plaintes des patients concernant leurs douleurs sont donc très variées mais tournent principalement autour de la fatigue, de la douleur et des limites fonctionnelles que provoquent la maladie de Steinert. Cependant, il faut noter que les manifestations de la maladie sont très variables suivant les personnes.

4.2.1). Suivi des patients lors de la consultation par télémedecine :

Les principaux sites des correspondants télémedecine du centre de référence de Hendaye sont l'Europe, le Nord de l'Afrique, les pays d'Amérique Latine et les pays du Moyen-Orient (dont l'Iran) et le Maghreb, avec une grande proportion située au Moyen-Orient. Ces consultations sont réalisées via internet, le téléphone ou le courrier papier. La principale activité des consultations en télémedecine est le suivi des patients mais à partir de 2009, la proportion de télémedecine est devenue aussi importante que le suivi, ceci peut s'expliquer par le développement de cette activité qui est très récent et par la multiplication du nombre de patients qui font appel au docteur URTIZBEREA. Les patients du monde entier étant informés de l'existence de la télémedecine, le suivi de leur maladie (peu connue dans leur pays) est facilité par les nouveaux modes de communication, cependant, le docteur URTIZBEREA se rend fréquemment dans ces pays afin de suivre au plus près ces cas présentant souvent des maladies très rares, peu présentes en France, ce qui explique aussi le nombre de première consultation qui globalement augmente depuis 2006 (Urtizberea 2012).

4). Perspectives d'avenir :

4.1). Perspectives de traitement contre la maladie :

La maladie de Steinert étant une maladie génétique, il est très difficile d'établir un traitement pour lutter contre l'expansion des triplets CTG dans le gène DMPK. Il n'existe donc actuellement aucun traitement permettant de lutter contre la maladie, cependant une prise en charge globale des symptômes peut aider le patient à aller mieux. En effet, le patient doit être suivi au moins une fois par mois par tous les spécialistes concernés par les organes que touchent la maladie (cœur, poumons,

muscles). Afin de lutter contre la myotonie, il est conseillé aux patients d'éviter le froid et de faire des exercices musculaires dans des ambiances chaudes. Sur le plan musculaire, il est conseillé de pratiquer très régulièrement de la kinésithérapie afin d'entretenir la fonction musculaire. Sur le plan cardiaque, une surveillance régulière doit être établie par électrocardiogramme et Holter (électrocardiogramme de longue durée sur 24h ou plus). La pose d'un pacemaker ou d'un stimulateur cardiaque est possible dans certains cas dans un but préventif contre les risques de mort subite très fréquente dans la maladie de Steinert. Sur le plan respiratoire, un bilan régulier doit aussi être établi avec une exploration de la fonction respiratoire et une mesure du dioxygène et du gaz carbonique dans le sang. Cet examen va ainsi permettre de mettre en évidence une hypoventilation liée à des mouvements respiratoires insuffisants. Enfin, la somnolence des patients peut être diminuée grâce à un médicament, le modafinil et la cataracte peut-être opérée. Dans certains cas une prise en charge psychologique est aussi conseillée afin d'aider le patient à se sentir mieux. Aucun traitement n'est donc à ce jour efficace pour lutter contre cette maladie, seul le traitement de quelques symptômes est possible.

4.2). Amélioration des outils de travail :

L'outil de travail le plus important dans la recherche clinique après le patient est les bases de données. Elles permettent en effet de conserver toutes les données essentielles au suivi des patients. Or, le problème actuel est que toute la population, concernant les patients atteints de la maladie de Steinert, n'est pas répertoriée au centre GNMH. Ceci s'explique par le fait qu'un grand nombre de personnes sont simplement porteuses d'une « pré-mutation » et ne manifestent donc aucun symptôme pouvant conduire à la consultation au centre de référence. Ainsi des données manquent pour remplir la base de données, ceci se justifie par le fait que pour atteindre le chiffre de prévalence théorique en Aquitaine, on devrait rescencer 160 personnes atteintes de la maladie de Steinert, or en rescence aujourd'hui 75, grâce aux consultations. Le nombre actuel de personnes qui sont conscientes de leur maladie est donc très faible, ainsi, plus de 80 personnes sont atteintes ou simplement porteuses de la maladie en Aquitaine sans le savoir. Ces personnes contribuent ainsi au renouvellement de la maladie puisque même si la forme est dite « asymptomatique », son mode de transmission ne change pas et sa gravité ne cesse d'augmenter au fil des générations. Il est donc important que ces personnes soient connues du centre car même si la maladie ne se déclare pas, une consultation est toujours conseillée, ne serait-ce que pour un conseil génétique si le patient envisage un éventuel désir de descendance ou encore pour dépister la présence ou non de la maladie chez l'embryon ou le fœtus (diagnostic pré-natal) car ce patient a une probabilité de 50 % de transmettre la maladie à chacun de ses enfants indifféremment du sexe.

De plus, les bases de données ont des limites, on ne peut pas savoir, par exemple, si un patient est suivi à plusieurs endroits différents. Aucune base de données ne permet de créer des arbres généalogiques, je les ai tous réalisés à la main et mis au propre grâce au logiciel PowerPoint. L'alimentation des bases prend également beaucoup de temps et tous les hôpitaux ne disposent pas d'attachée de recherche clinique pour accomplir cette tâche. La base de données CEMARA est longue à compléter et se bloque très facilement, de plus celle-ci demande de renseigner la date de naissance des patients, or les patients vus avant la création de cette base ne peuvent pas tous être rentrés dans la base puisque cette information manque. La base DMScope, elle, se remplit à la main à travers une fiche de renseignements et doit ensuite être envoyée par la poste au régisseur de la base. C'est donc pour cela que beaucoup de professionnels n'alimentent pas ces dernières et engendrent donc la perte de données importantes concernant les patients. Il serait donc nécessaire d'harmoniser toutes les bases de données afin d'obtenir un meilleur suivi de la maladie, et de la recherche clinique.

De plus, une meilleure information au près des médecins pour que les patients soient référés au centre devrait aussi être mise en place.

CONCLUSION

La maladie de Steinert est une maladie génétique complexe et à ce jour incurable. Elle concerne environ une personne sur 20 000 ce qui fait d'elle une des maladies neuromusculaires la plus fréquente. Cependant, elle n'est pas la plus connue, beaucoup de médecins généralistes ignorent l'existence de cette maladie ou ne parviennent pas à la détecter dès les premiers signes, ce qui rend le centre neuromusculaire d'Hendaye indispensable pour les personnes atteintes de cette maladie. Cette dernière étant bien connue par le docteur URTIZBEREA, son diagnostic reste toujours difficile car, mis à part les signes visuels (les patients Steinert ayant un faciès caractéristique), ce dernier repose essentiellement sur des analyses moléculaires à partir d'un échantillon sanguin qui sont réalisées en externe, dans des laboratoires parisiens. Beaucoup de problèmes de diagnostic sont liés aux analyses réalisées dans les laboratoires qui ne se déroulent pas tout le temps dans les meilleures conditions souhaitées pour l'obtention d'un résultat clair, diagnostiquant la maladie. C'est le cas par exemple des SMEAR. De plus, de nouvelles études génétiques menées sur le gène DMPK, mis en cause dans la maladie de Steinert, ont montré la présence d'interruptions (par des bases autres que CTG) à l'intérieur des triplets CTG, ce qui rend l'analyse de ce gène très compliquée. Cette maladie étant très complexe, un suivi régulier des patients doit être mis en place afin de cerner au mieux cette pathologie. L'Hôpital marin d'Hendaye, à travers le docteur URTIZBEREA, réalise donc ce suivi durant lequel, la moindre évolution positive ou négative est observée et notée dans le but d'en connaître d'avantage sur cette maladie qui peut avoir des conséquences gravissimes (comme c'est le cas des problèmes cardiaques contractés par les patients, qui peuvent mener à la mort subite).

A ce jour, la recherche clinique se concentre surtout sur l'histoire naturelle de la maladie, et commence à se développer peu à peu grâce notamment au centre neuromusculaire où est regroupé un grand nombre de patients concernés par la maladie de Steinert. Ceci permet un meilleur suivi et diagnostic de la maladie ainsi, des registres sont mis au point et permettent de mieux connaître l'histoire naturelle de la maladie. Pour le moment, aucun essai clinique n'a donc été officialisé, le gène DMPK étant très complexe. Seuls des essais cliniques visant à diminuer les symptômes ont été réalisés. Cependant, des essais thérapeutiques sur la maladie de Steinert sont actuellement mis en place : « essai de thérapie génétique sur un modèle de souris atteinte de dystrophie myotonique », « étude de corrélation phénotype-génotype pour guider le diagnostic anténatal et mieux connaître l'histoire naturelle de cette affection » et enfin « étude randomisée en double aveugle avec placebo, de l'efficacité du méthylphénidate comme traitement de l'hypersomnolence dans la dystrophie myotonique de Steinert ». Il n'y a donc pas encore de traitement mis en place permettant de guérir de la maladie mais la connaissance de cette dernière s'est beaucoup développée, offrant ainsi des perspectives de traitements considérables. Les prochaines recherches médicales portant sur la maladie de Steinert devront se regrouper autour du mode d'action de l'expansion des triplets CTG dans le gène DMPK.

Enfin, un congrès mondial sur la maladie de Steinert sera organisé en octobre 2013. Ce congrès sera l'occasion de discuter de nouvelles connaissances acquises par rapport à la maladie de Steinert, à son évolution et à son traitement.

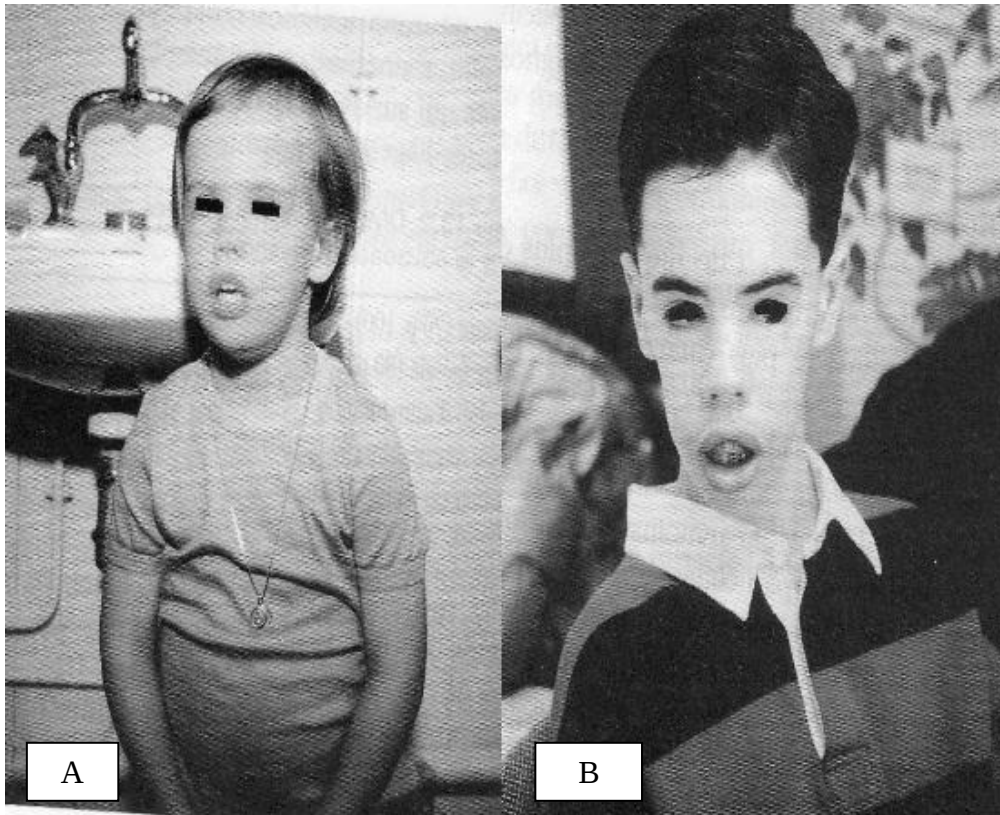
Ce stage a donc été un très bon exemple de recherche clinique puisqu'il m'a directement placé au sein d'une des phases de réalisation d'un essai clinique, qui est la phase préparatoire, dans laquelle il faut étudier l'histoire naturelle de la maladie. Ceci demande d'être au plus près des patients et met bien en évidence les difficultés rencontrées dans ce secteur d'activité à savoir des difficultés de financement, de personnels, de méthode de suivi et de matériel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- Association Française contre les Myopathies. 2006- ***Dystrophie myotonique de Steinert.***
- A. Barois.1998. ***Maladies neuromusculaires.***
- Dra. Ana María Cobo, Unidad de Genética, Hospital Donostia, San Sebastián.2007. ***DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES.***
- Peter Harper.2009. ***Myotonic dystrophy – The facts.***
- Jean de Recondo et Anne-Marie de Recondo. Médecine-Sciences.2001. ***Pathologie du muscle strié. De la biologie cellulaire à la thérapie.***
- J.Andoni Urtizberea *et al.*2012. ***Les cahiers de myologie***

ANNEXES

Annexe 1 :



- Figure 1 : Evolution de la dysmorphie avec l'âge, à 3 ans (A) et à 13 ans (B) – « D'après **Maladies neuromusculaires. A. Barois** ».

Cette photo permet de mettre en évidence la présence d'un faciès allongé, d'une bouche entrouverte et d'un ptosis légèrement visible sur la photo B .

Annexe 2 : Consentement éclairé pour une personne majeure



EXAMEN DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES Consentement pour une personne Majeure

(établi en 3 exemplaires : 1 pour l'intéressé, 1 pour le laboratoire et 1 à conserver dans le dossier médical)

Je, soussigné(e) (nom, prénom)

né(e) le

Certifie avoir reçu du Dr une information compréhensible concernant (nom de la maladie)

J'ai compris qu'une analyse génétique m'est proposée à partir d'un prélèvement sanguin (ou d'autre nature). Cette analyse a pour but de déterminer si un de mes gènes ou un de mes chromosomes présente une anomalie en rapport avec la maladie citée ci-dessus. Ce prélèvement sanguin ne pourra pas être utilisé pour d'autres études sans mon consentement.

Les résultats de cette analyse me seront transmis au cours d'une consultation par le médecin prescripteur. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'au(x) médecin(s) que je désignerai.

J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais. J'ai bien compris les implications possibles du test génétique et je pourrai obtenir toute information complémentaire auprès du médecin cité ci-dessus.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande. Dans ce cas, j'en informerai par écrit le médecin désigné ci-dessus. Cette décision ne modifiera en rien ma prise en charge médicale.

J'accepte que cette analyse génétique soit effectuée dans le but :

- ☐ de rechercher une origine génétique à ma maladie (diagnostic étiologique)
- ☐ de rechercher une mutation présente dans ma famille (gène/mutation :)

J'accepte, que mes résultats soient utilisés pour faciliter la réalisation de tests génétiques chez les membres de ma famille qui en feraient la demande.

☐ OUI ☐ NON

J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale, uniquement dans le cadre de la maladie désignée ci-dessus, sans limitation de temps.

☐ OUI ☐ NON

Fait à le

Signature :

Signature du Médecin :

Les dispositions réglementaires concernant ce consentement sont décrites dans l'article R1131-4 du Code de Santé Publique. Nous vous rappelons que les données vous concernant peuvent faire l'objet d'un traitement informatique et sont protégées par les dispositions de la loi «informatique et libertés » (Loi n°78-17 du Janvier 1978, modifiée). Vous disposez à tout moment d'un droit d'accès et de rectification.

Annexe 3 : Consentement éclairé pour une personne majeure ou mineure .



CONSENTEMENT POUR UNE ETUDE DE GENETIQUE MOLECULAIRE (Décret n° 2000-570 du 23 juin 2000)

Renseignements pour une étude chez une personne majeure

Je soussigné, après avoir reçu les informations nécessaires du
Docteur sur la maladie
.....
accepte que soit réalisée sur ma personne / sur mon enfant (1) une recherche par génétique moléculaire. Cette étude sera réalisée dans
un but diagnostique.

Renseignements pour une étude chez une personne mineure

Nous soussignés.....,
demeurant à
père et/ou mère et/ou tuteur légal de né le.....
demandons au Docteur.....
que soit effectué chez notre enfant une recherche par génétique moléculaire. Celle-ci peut aider au diagnostic de la maladie dont il
souffre ou que présente(nt) un (ou plusieurs) membre(s) de ma famille.

Je consens / je ne consens pas (1) au recueil, à la saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical (ou celui de
mon enfant) par des personnes tenues au secret professionnel. Les données me concernant resteront strictement confidentielles. Je n'en
autorise la consultation qu'aux personnes qui collaborent au diagnostic et/ou aux recherches concernant la maladie dont je suis atteint
(ou mon enfant est atteint). Je pourrai à tout moment demander à ce que les études me concernant soient arrêtées sans aucune
conséquence. J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale, dans le cadre de
la maladie désignée ci-dessus, sans limite de temps.

Conformément à la loi informatique et liberté, je peux exercer mon droit d'accès aux données qui me concernent par l'intermédiaire
d'un médecin de mon choix.

Fait à :
Le

Signature du patient (ou parents de l'enfant) :

(1) rayer les mentions inutiles

Attestation de consultation médicale

Je soussigné(e) Docteur certifie avoir apporté à Madame, Mademoiselle, Monsieur
..... les informations sur les caractéristiques, les moyens de détection, les
possibilités de traitement et de prévention concernant la pathologie :et avoir recueilli
son consentement.

Fait à :
Le

Signature du médecin :

Médecin prescripteur :

Annexe 4 :Tableau des tâches.

Intervenant	Idée originale	Bibliographie	Mise en place du protocole	Collecte des données	Analyse statistique	Rédaction
Principal	JAU	EC	JAU	EC	EC	EC
Secondaire	EC	JAU, AMC	EC	AMC		

EC : Estelle CORRIHONS, stagiaire.

JAU : Jon-Andoni URTIZBEREA, maître de stage.

AMC : Ana-Maria COBO, attachée de recherche clinique.

Annexe 6 : Calendrier du stage :

	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6	Semaine 7	Semaine 8	Semaine 9
Bibliographie									
Consultations									
Analyse des dossiers									
Statistiques									
Rédaction									

Résumé :

Le but de ce stage était l'initiation à la recherche clinique. Cette dernière se compose de deux phases principales : l'étude de l'histoire naturelle de la maladie et la mise en place des essais cliniques. Durant mon stage, j'ai étudié la maladie de Steinert, étant une maladie génétique rare due à l'expansion d'un triplet de nucléotide sur le gène DMPK, localisé sur le bras long du chromosome 19. Cette dernière étant encore méconnue, la recherche clinique débute, j'ai donc réalisé l'étude de l'histoire naturelle de la maladie. Pour cela, des consultations ont été effectuées, des données collectées suite aux consultations ont été enregistrées dans des bases de données, des tests moléculaires (PCR, Southern-Blot) ont été analysés permettant ainsi le diagnostic de la maladie. Un suivi régulier des patients a été mis en place, permettant ainsi d'analyser au mieux l'évolution et la conséquence de la maladie sur les personnes atteintes. Ce rapport expose donc les étapes nécessaires à la mise en place d'essais cliniques, à savoir toutes les étapes menant à la connaissance de l'histoire naturelle de la maladie de Steinert.

Liste de mots clefs :

- recherche clinique
- hôpital
- handicap
- dystrophie myotonique de Steinert
- génétique
- maladie neuromusculaire
- test génétique
- gène DMPK