

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2015

THESE N°: 144

LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE
DE L'AMYOTROPHIE SPINALE PROXIMALE
A PROPOS DE 133 CAS

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Hanane MERHNI

Née le 17 Mai 1989 à Rabat

Ancienne Médecin Interne du CHU Ibn Sina de Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : SMA – Gène *SMN* – Exon 7 – PCR-digestion enzymatique.

JURY

Mr. A. SEFIANI

Professeur de Génétique Médicale

Mme. I. RATBI

Professeur Agrégé de Génétique Médicale

Mr. O. AGADR

Professeur de Pédiatrie

Mme. N. BIROUK

Professeur de Neurologie

Mme. Y. KRIOUILE

Professeur de Pédiatrie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا
مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ
الْحَكِيمُ

سورة البقرة: الآية: 32

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSaid Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYA OUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADN AOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie

Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes

Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie

Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
 Pr. ECHARRAB El Mahjoub
 Pr. EL FTOUH Mustapha
 Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
 Pr. ISMAILI Hassane*
 Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
 Pr. TACHINANTE Rajae
 Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Neurochirurgie
 Traumatologie Orthopédie
 Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
 Pr. AIT OURHROUI Mohamed
 Pr. AJANA Fatima Zohra
 Pr. BENAMR Said
 Pr. CHERTI Mohammed
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
 Pr. EL HASSANI Amine
 Pr. EL KHADER Khalid
 Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
 Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
 Pr. HSSAIDA Rachid*
 Pr. LAHLOU Abdou
 Pr. MAFTAH Mohamed*
 Pr. MAHASSINI Najat
 Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
 Pr. NASSIH Mohamed*
 Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Générale
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Pédiatrie
 Urologie
 Rhumatologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie-Réanimation
 Traumatologie Orthopédie
 Neurochirurgie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
 Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
 Pr. BALKHI Hicham*
 Pr. BENABDELJIL Maria
 Pr. BENAMAR Loubna
 Pr. BENAMOR Jouda
 Pr. BENELBARHDADI Imane
 Pr. BENNANI Rajae
 Pr. BENOUECHANE Thami
 Pr. BEZZA Ahmed*
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 Pr. BOUMDIN El Hassane*
 Pr. CHAT Latifa
 Pr. DAALI Mustapha*
 Pr. DRISSI Sidi Mourad*
 Pr. EL HIJRI Ahmed
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 Pr. EL MADHI Tarik
 Pr. EL OUNANI Mohamed

Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Neurologie
 Néphrologie
 Pneumo-phtisiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Rhumatologie
 Anatomie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale

Pr. ETTAIR Said
 Pr. GAZZAZ Miloudi*
 Pr. HRORA Abdelmalek
 Pr. KABBAJ Saad
 Pr. KABIRI EL Hassane*
 Pr. LAMRANI Moulay Omar
 Pr. LEKEHAL Brahim
 Pr. MAHASSIN Fattouma*
 Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine
 Pr. SABBABH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. EL MANSARI Omar*
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie

Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique

Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GANA Rachid
 Pr. GHARIB Nouredine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia
 Pr. KEBDANI Tayeb
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
 Pr. LOUZI Lhoussain*
 Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MAHI Mohamed*
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. MOUTAJ Redouane *
 Pr. MRABET Mustapha*
 Pr. MRANI Saad*
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. RABHI Monsef*
 Pr. RADOUANE Bouchaib*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TABERKANET Mustafa*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
 Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. AGDR Aomar*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik

Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Neuro chirurgie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Anesthésie réanimation
 Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologique
 Parasitologie
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale

Médecine interne
 Pédiatre
 Chirurgie Générale
 Neurologie
 Neuro-chirurgie
 Radiologie

Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. AZENDOUR Hicham*
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamy
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. ZOUHAIR Said*

Chirurgie Cardio-vasculaire
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie
 Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique

Pr. LEZREK Mounir
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Ophtalmologie
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale
 Hématologie
 Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
 Pr. ABOUELALAA Khalil*
 Pr. BELAIZI Mohamed*
 Pr. BENCHEBBA Driss*
 Pr. DRISSI Mohamed*
 Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
 Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
 Pr. EL OUAZZANI Hanane*
 Pr. ER-RAJI Mounir
 Pr. JAHID Ahmed
 Pr. MEHSSANI Jamal*
 Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
 Anesthésie Réanimation
 Psychiatrie
 Traumatologie Orthopédique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumophtisiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie pathologique
 Psychiatrie
 Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
 Pr. AIT EL CADI Mina
 Pr. AMRANI HANCHI Laila
 Pr. AMOUR Mourad
 Pr. AWAB Almahdi
 Pr. BELAYACHI Jihane
 Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
 Pr. BENCHEKROUN Laila
 Pr. BENKIRANE Souad
 Pr. BENNANA Ahmed*
 Pr. BENSEFFAJ Nadia
 Pr. BENSGHIR Mustapha*
 Pr. BENYAHIA Mohammed*
 Pr. BOUATIA Mustapha
 Pr. BOUABID Ahmed Salim*
 Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
 Pr. CHAIB Ali*
 Pr. DENDANE Tarek
 Pr. DINI Nouzha*
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
 Pr. ELFATEMI Nizare
 Pr. EL GUERROUJ Hasnae
 Pr. EL HARTI Jaouad
 Pr. EL JOUDI Rachid*

Pharmacologie – Chimie
 Toxicologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Réanimation Médicale
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie-Chimie
 Hématologie
 Informatique Pharmaceutique
 Immunologie
 Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chimie Analytique
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie
 Cardiologie
 Réanimation Médicale
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Neuro-Chirurgie
 Médecine Nucléaire
 Chimie Thérapeutique
 Toxicologie

Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHANIMI Zineb
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Pédiatrie
 Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

****Enseignants Militaires***

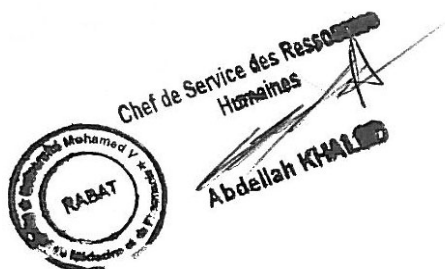
2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbès	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines

- 9 JAN 2015





DEDICACES



A Mes parents : El MOFID Fatma et MERHNI Mohamed. *Ma réussite et mon bonheur ont toujours été vos soucis permanents. Merci pour votre soutien tout au long de ces années. vous ne ménagez aucun effort pour que ma sœur, mon frère et moi ne manquions de rien. Recevez à travers ce travail, exaucement de vos vœux, fruit de votre abnégation, de vos sacrifices et de vos conseils toute mon affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu vous garder encore longtemps parmi nous.*

Ma sœur Zainab, mon frère Oussama. *Infinie tendresse. Merci d'être là. Je vous en suis profondément reconnaissante.*

Merci à ma famille. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance. Merci pour votre soutien.

Que Dieu vous bénisse.





REMERCIEMENTS



A notre maître et Président de thèse

Monsieur le Professeur SEFIANI Abdelaziz

Professeur de Génétique Médicale

qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je vous remercie de m'avoir accueillie au sein du service de génétique médicale de RABAT, où j'ai pu découvrir la grande diversité de cette discipline passionnante et travailler avec beaucoup de plaisir. Je vous remercie pour votre enseignement. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus grande estime et de mon profond respect.





A notre maître et Rapporteur de thèse

Madame le Professeur RATBI Ilham

Professeur de Génétique Médicale

qui me fait l'honneur de diriger cette thèse. Je vous remercie de m'avoir confié ce sujet et pour l'aide précieuse et considérable que vous m'avez apportée tout au long de ce travail. Merci pour votre soutien et votre confiance. Je vous adresse l'expression de ma sincère reconnaissance.





A notre maître juge de thèse

Monsieur le Professeur AGADR Aomar.

Professeur de Pédiatrie

Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant de le juger. Recevez notre reconnaissance. Trouvez ici le témoignage de notre sincère reconnaissance





A notre maître juge de thèse

Madame le Professeur KRIOUILE Yamna.

Professeur de Pédiatrie

*Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Veuillez trouver ici
l'expression de mes plus sincères remerciements et de ma profonde estime.*





A notre maître juge de thèse

A Madame le Professeur BIROUK Nezha.

Professeur de Neurologie

Je suis très honorée que vous ayez accepté de faire partie du jury de cette thèse. Je vous remercie sincèrement de juger ce travail et vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde considération.





A Madame le Docteur SBITI Aziza. Je vous remercie de m'avoir formée à la génétique moléculaire et de m'avoir transmis, avec beaucoup de bienveillance, votre expérience et partagé avec moi votre intérêt pour les maladies neuromusculaires. Je vous adresse tous mes remerciements et l'expression de ma sincère reconnaissance.

Merci à toutes les personnes grâce à qui ce travail a été possible :

A tous les médecins qui ont collaboré à ce travail en nous communiquant les informations cliniques de leurs patients.

A Madame RATBI Ilham pour son aide bibliographique et pour sa relecture et ses conseils.





Merci à toute l'équipe du département de génétique médicale de RABAT de m'avoir accueillie si chaleureusement en fin d'internat et permis de découvrir la génétique clinique.

Merci à tous les médecins du service pour leur enseignement au cours de mon cursus.

Merci à Madame BELMAHI Latifa de m'avoir soutenue de m'avoir aidée depuis mon arrivée au département. Merci pour la richesse de votre soutien, pour votre très grande disponibilité, votre rigueur et votre dévouement.





Merci au Dr NATIQ ABDELHAFID de m'avoir fait découvrir, avec beaucoup de disponibilité et de gentillesse, la cytogénétique moléculaire.

Merci à l'ensemble des équipes de génétique clinique, de biologie moléculaire et de cytogénétique pour la qualité de leur accueil et leur enseignement.

Merci à tous les médecins qui depuis mes premières années d'études médicales m'ont enseigné la médecine avec passion et humanité.

Merci aux techniciennes, aux infirmières et à tous les professionnels qui ont enrichi ma formation de leur expérience.





Merci aux patients.

Merci à mes collègues, de diverses spécialités. Merci pour ces moments partagés, pour votre soutien et votre amitié.

Merci à mes amies, rencontrées au fil de ces années d'études et les autres, de divers horizons.

Merci pour tout.





SOMMAIRE

I-REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	1
1-INTRODUCTION GENERALE.....	3
2-HISTORIQUE.....	6
3-RAPPEL ANATOMIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE	9
3-1-VOIES DE CONDUCTION MOTRICES	9
3-2-PHYSIOPATHOLOGIE	14
4-EPIDEMIOLOGIE	17
4-1-INCIDENCE ET PREVALENCE GENERALES	17
4-2-EPIDEMIOLOGIE DE LA SMA AU MAROC	20
5-DIAGNOSTIC POSITIF	22
5-1-CLASSIFICATIONS	22
5-2-FORMES CLINIQUES	28
5-2-DIAGNOSTIC PARACLINIQUE	32
5-2-1-Le diagnostic moléculaire	32
5-2-2-L'électromyogramme (EMG)	33
5-2-3-Biopsie musculaire	38
5-2-4-Les enzymes sériques	39
5-2-5-Le test immunologique.....	39
6-DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS	41
6-1-L'amyotrophie spinale liée à l'X	41
6-2-L'amyotrophie spinale avec détresse respiratoire de type I	41
6-3- L'amyotrophie spinale scapulopéronière	42

6-4- L'amyotrophie spinale avec hypoplasie pontocérébelleuse (Pontocerebellar hypoplasia with spinal muscular atrophy ou PCH1)	42
6-5-La dystrophie myotonique de Steinert dans sa forme congénitale	42
6-6-Les syndromes myasthéniques congénitaux	43
6-7-Les dystrophies musculaires congénitales	43
6-8-Les myopathies congénitales	44
6-9-La neuropathie hypomyélinisante congénitale	44
6-10-L'ischémie médullaire anté- ou périnatale	45
6-11-Le syndrome de Prader-Willi	45
7- BASES GENETIQUES ET PATHOLOGIE MOLECULAIRE	47
7-1-MODE DE TRANSMISSION	47
7-2- Le locus SMA.....	49
7-3-Le gène SMN	52
7-4-La protéine SMN	56
7-5-Pathologie moléculaire du gène SMN	61
7-6-Gènes modificateurs	64
7-7-Corrélation génotype-phénotype	66
8-CONSEIL GENETIQUE, DIAGNOSTIC PRENATAL, DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE ET DIAGNOSTIC GENETIQUE PRE-SYMPTOMATIQUE	75
8-1-Conseil génétique	75
8-2-Diagnostic prénatal	79
8-3-Diagnostic préimplantatoire	80

8-4-Diagnostic génétique pré-symptomatique	84
8-5-Procréation médicalement assistée et SMA	85
9-PRISE EN CHARGE DES PATIENTS SMA	87
10-STRATEGIES ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES	89
10-1/ Activation du gène SMN2 : les inhibiteurs d'histones déacétylases et les autres composés chimiques.....	91
10-2/ Inclusion de l'exon 7 dans le transcrit issu du gène SMN2.....	93
10-3/ Stabilisation de la protéine SMN et augmentation de sa traduction à partir du gène SMN2	96
10-4/ Neuroprotection	96
10-5/ Thérapie génique et remplacement cellulaire	97
II-PATIENTS ET METHODES	98
1-Cadre d'étude	99
2-Documents étudiés et Patients	99
3-Méthode d'étude	100
RESULTATS	110
1-Caractéristiques épidémiologiques	111
1-1-La répartition des malades en fonction du sexe	111
1-2-Enquête généalogique	112
1-3-L'âge de début des symptômes	115
2-Caractéristiques cliniques	116
2-1-La présentation clinique	116
2-2-La répartition des malades SMA en fonction du type et du genre	117

3-Caractéristiques paracliniques	117
3-1-L'EMG	117
3-2-Le dosage des CPK	118
3-3-La biopsie musculaire	118
4-Résultats de l'étude moléculaire	118
DISCUSSION	120
1- Facteurs épidémiologiques	121
1-1-Prévalence	121
1-2-Sexe.....	123
1-3-Histoire familiale et consanguinité	125
2-Caractéristiques cliniques	127
3-Données paracliniques	132
4-Evolution	133
5-Données moléculaires	135
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	137
ANNEXE.....	139
RESUME	143
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	146

***LISTE DES
ILLUSTARTIONS***

ABREVIATIONS

AA	: acide aminé
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide Ribonucléique
Bet	: Bromure d'éthidium
°C	: Degré Celsius
CB	: Cajal Body
CBC	: Cap Binding Complex (complexe de fixation à la coiffe)
CBP	: Cap Binding Protein (protéine de fixation à la coiffe)
CPK	: Créatine-phospho-kinase.
DO	: Densité optique
dNTP	: Désoxyribonucléotide 5' triphosphate
EDTA	: Ethylène diamine tétraacétate
EMG	: Electromyogramme.
Fig.	: Figure
FIV	: Fécondation in vitro.
Gems	: Gemini of coiled bodies
kb	: kilobase
kD	: KiloDaltons.
µl	: Microlitre
Min	: Minute
mM	: Millimolaire
nm	: Nanomètre

NAIP	: Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein
ng	:Nanogramme
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
pb	:Paire de bases
PBS	:Phosphate buffer saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
Pmol	: Picomoles
RNP	: RiboNucléoParticule/complexe ribonucléoprotéique
Rpm	: Révolution par minute
Sd	: Syndrome
Sm	: Protéine spécifique du motoneurone.
SMA	: Spinal Muscular Atrophy (amyotrophie spinale)
SMN	: Survival of Motor Neuron (survie des motoneurones)
SMN	: Gène humain de survie des Motoneurones
Smn	: Gène murin de survie des Motoneurones
snoRNA	: Small nucleolar RNA (petit ARN nucléolaire)
SLB	: Solution de la Lyse des globules Blanc
Taq	: Thermus Aquaticus polymerase
TE	:Tris EDTA
UsnRNA	: U rich small nuclear RNA (petit ARN nucléaire riche en U)
UsnRNP	
nucléaire)	: U rich Small Ribonucleoprotein Particle (petite particule ribonucléoprotéique
UTR	: Untranslated Region
UV	: Ultra-Violet

V : Volt

VCN : vitesses de conduction nerveuse

Ne sont pas incluses dans ce tableau (a) les abréviations internationales utilisées pour désigner les acides aminés (nomenclature à 3 lettres ou à une lettre), ni (b) les abréviations internationales des unités de mesure (ml, mg, s, h, etc.) ni (c) celles de certains composants de la substance vivante (ATP, RNA, DNA, mRNA, etc.) pour lesquels l'abréviation internationalement acceptée a été gardée.

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: Organisation générale de la voie pyramidale.

Figure 2: Organisation de la voie motrice pyramidale dans la moelle épinière.

Figure 3 : Localisation du motoneurone antérieure de la moelle épinière

Figure 4: 1-EMG d'un sujet atteint de la SM / 2-EMG d'un sujet normal.

Figure 5: Mode de transmission d'une maladie autosomique récessive. (ex de la SMA)

Figure 6: Structure du locus SMA.

Figure 7 : Différences de séquence primaire et d'épissage entre les transcrits SMN1 et SMN2

Figure 8 : Modèle de régulation de l'épissage de l'exon 7

Figure 9 : Rôle de la protéine SMN dans la biogenèse des snRN

Figure 10 : Localisation de la protéine SMN dans les Gems (1) ; et dans les motoneurones (2).

Figure 11: Organisation génomique du locus SMA. (Région 5q11-q13)

Figure 12 : Élément inversé répété de 500 Kb en 5q11q13 D.après Lunn et Wang (Lunn and Wang 2008)

Figure 13 : Production de la protéine SMN à partir des gènes *SMN1* et *SMN2*

Figure 14: Cibles potentielles pour la thérapie de la pathologie SMA.

Figure 15: Inclusion de l'exon 7 par stratégies non pharmacologiques

Figure 16: Les étapes de l'extraction de l'ADN au sel.

Figure 17: Les étapes de l'extraction de l'ADN au Kits commercialisés.

Figure 18: Schéma des différentes étapes de la PCR

Figure 19 : La différence nucléotidique entre les deux copies SMN.

Figure 20: Site de restriction de l'enzyme Dra 1 au niveau du SMN2.

Figure 21: Répartition des malades SMA en fonction du sexe.

Figure 22: Le taux de consanguinité dans notre cohorte.

Figure 23: Répartition des patients par tranche d'âge. (Age de début des symptômes).

Figure 24: Les différentes présentations cliniques retrouvées chez notre cohorte.

Figure 25: Répartition des malades en fonction du type et du genre.

Figure 26 : Profils électrophorétiques des copies SMN1 et SMN2 après PCR-digestion.

Figure27: La fréquence des hétérozygotes pour la SMA dans différentes populations.

Figure28: La fréquence des types de SMA selon les populations.

Figure29:La fréquence de la délétion de 1'exon 7 du gène SMN dans notre recrutement de malades.

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Classification clinique des amyotrophies spinales proximales D'après Munsat et Davis (Munsat and Davies 1992) et Wang *et al.* (Wang *et al.* 2007)

Tableau 2: Principales mutations ponctuel 1 du gène SMN1 décrites chez les patients atteints d'amyotrophie spinale. (Ins : Insertion, Dup : Duplication, Del : Deletion)

Tableau 3: Nombre de copies du gène *SMN2* dans un génome normal et dans un génome SMA.

Tableau 4 : Distribution du nombre de copies du gène *SMN2* chez 375 patients atteints de SMA D'après Feldkötter *et al.* (Feldkötter *et al.* 2002)

Tableau 5 : Phénotypes et taux d'expression de la protéine SMN extraite de lignées lymphoblastoïdes (%).

Tableau 6 : les antécédents familiaux des patients SMA

Tableau 7 : Résultats du dosage sérique des CPK de notre cohorte.

Tableau 8 : La fréquence des hétérozygotes pour la SMA dans différentes populations.

Tableau 9 : Taux de consanguinité dans différentes population.

I-REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



INTRODUCTION

1-INTRODUCTION GENERALE:

L'amyotrophie spinale infantile est une maladie neurodégénérative héréditaire qui affecte l'enfant ou l'adolescent et qui se caractérise :

-Cliniquement, par une atteinte motrice périphérique à type d'hypotonie et de déficit musculaires généralement symétriques, affectant de façon variable mais toujours ascendante le tronc et particulièrement les muscles; respiratoires, les membres inférieurs plus que les membres supérieurs et la musculature proximale plus que la musculature distale;

-Anatomiquement, par la dégénérescence primaire et sélective des motoneurons alpha de la corne antérieure de la moelle épinière et atteignant dans les formes les plus sévères le tronc cérébral et plus rarement le thalamus, le cervelet, les corps géniculés et le système nerveux central dans son ensemble réalisant alors une atrophie cortico-sous-corticale ;

-Génétiquement, par la transmission autosomique récessive d'une mutation du gène *SMN* localisé sur le bras long du chromosome 5.

-Sur le plan moléculaire, l'ASI est liée dans 95%des cas à une délétion homozygote du gène *survival motor neurone (SMN)*. Ce gène est localisé dans la région télomérique du chromosome 5 en 5q13. Il est dupliqué en miroir en une copie centromérique dite *SMN2*, qui a la même structure et la même organisation que *SMN1* à l'exception de 5 substitutions nucléotidiques, dont 2 au niveau des séquences exoniques (exon 7 et 8) et 3 sur des jonctions exon-intron.

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence de la délétion homozygote du gène en cause lors de l'analyse de l'ADN obtenu à partir d'un prélèvement de sang ou d'un frottis buccal. [1]

Avec une incidence variant de 1/10 000 à 1/25 000 naissances selon les auteurs, l'amyotrophie spinale est, après la dystrophie musculaire de Duchenne, la maladie neuromusculaire la plus fréquente chez l'enfant. Elle est, parmi les maladies génétiques à

transmission autosomique récessive connues et qui mettent en jeu le pronostic vital, la plus fréquente après la mucoviscidose dans les populations caucasiennes [2].

La sévérité de l'atteinte est variable, allant de formes graves débutant précocement dans l'enfance à des formes de début plus tardif et dont l'évolution est plus lente. Quatre types ont été définis (I à IV) en fonction de l'âge de début de l'évolution de la maladie. Le type I, correspondant aux formes précoces, est divisé en trois sous-types (Ia à Ic). La SMA de type Ia représente la forme la plus sévère de SMA. Elle se manifeste dès la naissance et entraîne un décès en période néonatale. Le quatrième type correspond à l'amyotrophie spinale survenue à l'âge adulte. [1]

A l'heure actuelle, le traitement de la SMA demeure essentiellement symptomatique. Cependant, au cours de ces dernières années, les efforts de compréhension de la régulation de l'épissage du gène *SMN1* ont permis d'ouvrir plusieurs pistes thérapeutiques, certaines ayant débouché sur des essais cliniques (Nurputra *et al.* 2013).

Le premier objectif de ce travail serait de disposer, de la façon la plus précise possible, de données épidémiologiques et moléculaires de la SMA dans la population marocaine,

Le second objectif de ce travail est d'établir une stratégie nationale de diagnostic et de prise en charge des hypotonies congénitales en général et de la SMA en particulier sans omettre l'importance de la place du conseil génétique.

En effet, le laboratoire de génétique moléculaire est régulièrement sollicité pour des demandes de diagnostic de SMA en période néonatale en cas d'hypotonie congénitale sans étiologie évidente, en cas d'ASI familiale ou dans le cadre d'un conseil génétique.

Une meilleure connaissance de la présentation néonatale des formes les plus sévères de la maladie permettra de mieux cibler les indications des analyses moléculaires pour le diagnostic de SMA pour une prise en charge multidisciplinaire plus précoce pour essayer d'améliorer le pronostic fonctionnel, sachant que le pronostic vital reste très réservé.



HISTORIQUE

2-HISTORIQUE

*En 1891, Guido Werdnig rapporte les deux premiers cas d'une atrophie musculaire progressive, maladie familiale à laquelle il donne alors son nom [3].

*Entre 1893 et 1900, Johann Hoffmann décrit quatre autres cas d'« atrophie musculaire progressive », établit l'origine médullaire de la maladie et rattache son nom à cette maladie, devenue depuis la maladie de Werdnig Hoffmann [4].

*En 1899, Sevestre décrit un cas de paralysie flasque chez un nouveau-né [5].

*Les premières formes congénitales de la maladie auraient été décrites par Hermann Oppenheim en 1900 sous l'appellation de « myotonie congénitale » rebaptisée en 1908 par Collier et Wilson « amyotonie congénitale » [6].

*L'existence de formes anténatales est évoquée pour la première fois avec la description en 1902 par Beevor d'anomalies de la mobilité intra-utérine chez des mères ayant donné naissance à des enfants atteints d'amyotrophie spinale [7].

*Kugelberg (1945), Wohlfart, Fex et Eliasson (1955), Kugelberg et Welanders (1954 et 1956) rapportent les premières séries d'une forme débutant après l'âge de la marche, d'évolution lente et qui prendra le nom de maladie de Wohlfart Kugelberg Welanders [8] [9].

*La première monographie consacrée à la maladie de Werdnig Hoffmann paraît en 1950. Brandt y présente une étude approfondie de 112 enfants atteints d'amyotrophie spinale, appartenant à 69 familles. Il détermine le caractère autosomique récessif de la maladie [10].

Les nombreuses études cliniques et génétiques de ces trente dernières années aboutissent à la certitude de l'homogénéité génétique des maladies de Werdnig Hoffmann et Kugelberg Welanders par la localisation du gène responsable en 1990 et son identification en 1995.

En 2000 une mise au point de modèles animaux murins a été réalisée.

-QUELQUES DATES :

1891	Première description de la maladie par Werding.
1893	Deuxième description par Hoffmann qui établit quelques années plus tard l'origine médullaire de la maladie.
1945	Première description de la forme à début tardif et d'évolution chronique par Kugelberg.
1949	Mode de transmission récessif établi par Brandt.
1961	Première classification de la maladie sur la base de l'âge de début et de l'évolution par Byers et Banker.
1990	Localisation du gène responsable des trois formes de la maladie en 5q11.2-q13.3 par Melki, Brzustowicz et Gilliam.
1991	Mise au point d'une classification clinique de référence par le Consortium International SMA.
1995	Identification du gène <i>SMN</i> et de son rôle déterminant dans l'apparition de la maladie.
2000	Mise au point de modèles animaux murins.

***RAPPEL
ANATOMIQUE ET
PHYSIOPATHOLOGIE***

3-RAPPEL ANATOMIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE :

3-1-VOIES DE CONDUCTION MOTRICES :

L'organisation générale de la motricité volontaire correspond à une chaîne de deux neurones, neurone central et neurone périphérique (notions de paralysie centrale et de paralysie périphérique). Il existe deux catégories des voies motrices :

-Les unes sont directes et monosynaptiques et constituent la voie cortico-spinale directe, présente dans le faisceau pyramidal (FIGURE 1 et 2). Elle est constituée par une chaîne de deux neurones.

*Le premier neurone est le neurone central, au trajet strictement cortico-spinal. Sa lésion pathologique, quel qu'en soit le niveau (cerveau, tronc cérébral, moelle épinière), se traduit par une paralysie centrale, avec *spasticité*.

*Le deuxième neurone est le motoneurone de la corne ventrale ou motoneurone périphérique dont l'axone forme les fibres nerveuses motrices des racines spinales et des nerfs périphériques. Sa lésion pathologique se traduit par une paralysie périphérique, qui est flasque (ex. SMA ; Poliomyélite).

-Il existe enfin des voies neurologiques motrices indirectes, poly synaptiques, constituant le système des voies motrices extra-pyramidales. Leur atteinte se traduit par des troubles moteurs centraux, avec *rigidité de type plastique*.

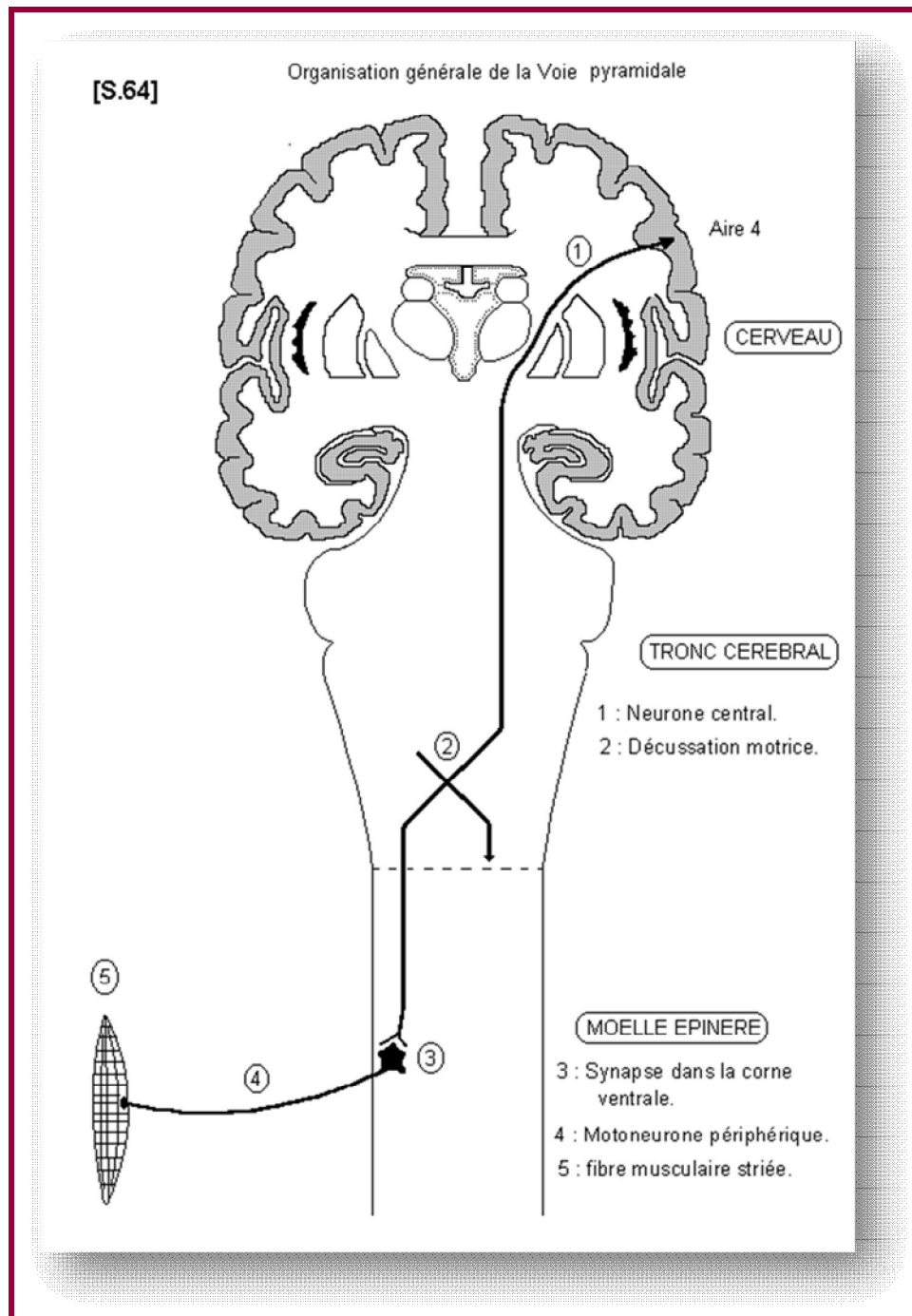


Figure 5: Organisation générale de la voie pyramidale.

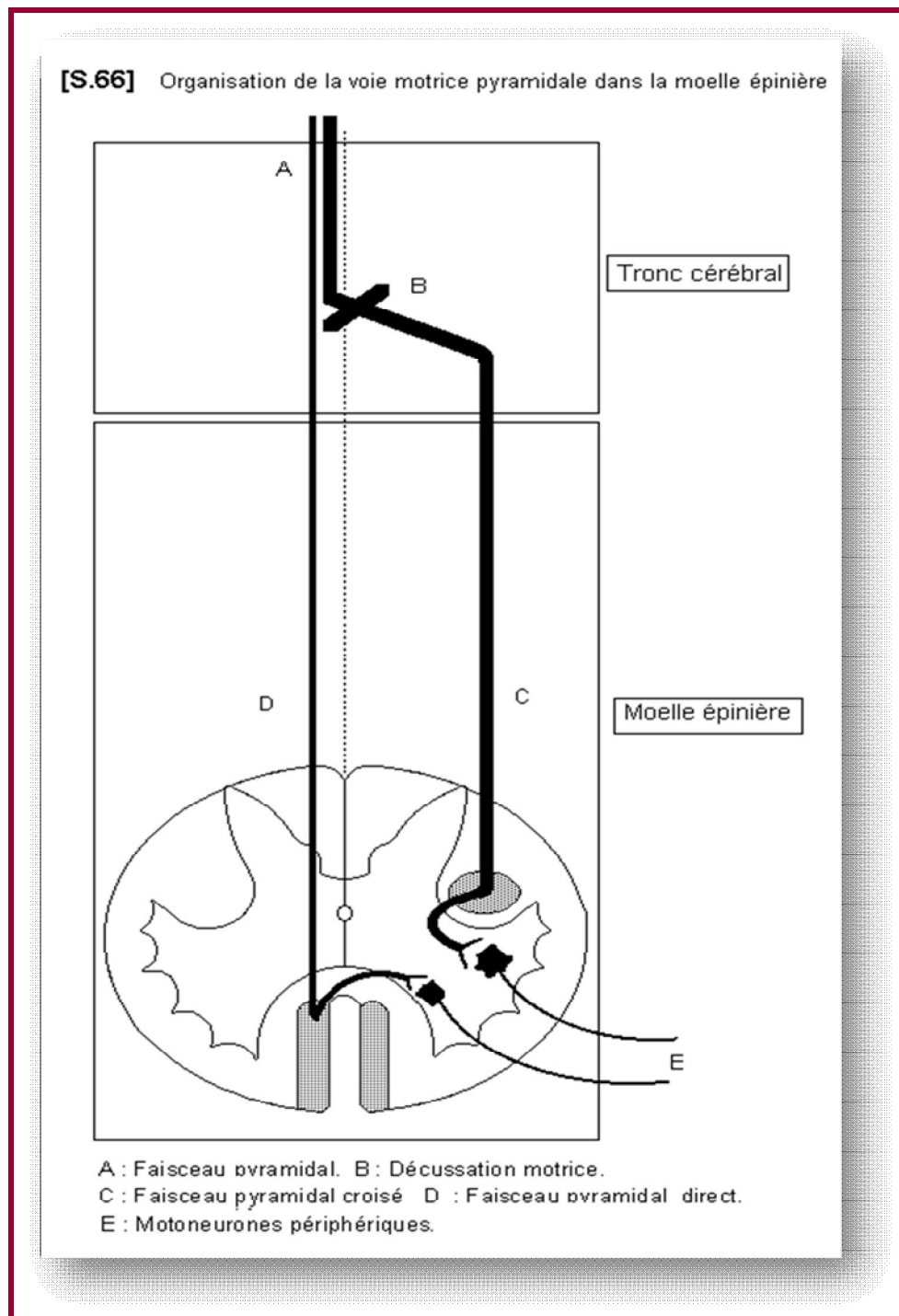


Figure 6: Organisation de la voie motrice pyramidale dans la moelle épinière.

L'amyotrophie spinale proximale, également appelée amyotrophie spinale infantile (en anglais *spinal muscular atrophy* ou SMA) est caractérisée par la **dégénérescence des motoneurones alpha de la corne antérieure de la moelle épinière** (FIGURE 3) à l'origine d'un déficit progressif de la force musculaire et d'une amyotrophie, sans atteinte sensitive, ni cognitive, ni des voies longues (Chabrol *et al.* 2010).

Ces altérations résultent de la délétion homozygote du gène, *SMN* (*Survival of Motor Neuron*) qui code pour une protéine à localisation ubiquitaire (cerveau, foie, cœur, os, lymphocytes, muscles...) présente en grandes quantités à l'état normal, dans la moelle épinière et le tissu musculaire. L'atteinte clinique ; de gravité variable ; intéresse le système nerveux dans son ensemble. Les noyaux moteurs des nerfs crâniens sont tous plus ou moins atteints. Une sémiologie bulbaire riche dans certaines formes est fréquemment associée. Les fasciculations linguales sont retrouvées dans les formes graves de type I ou II avec atteinte du nerf hypoglosse (XII). La présence de signes associés traduisant une atteinte diencephalique, cérébelleuse ou centrale ne doit pas faire rejeter d'emblée le diagnostic de SMA.

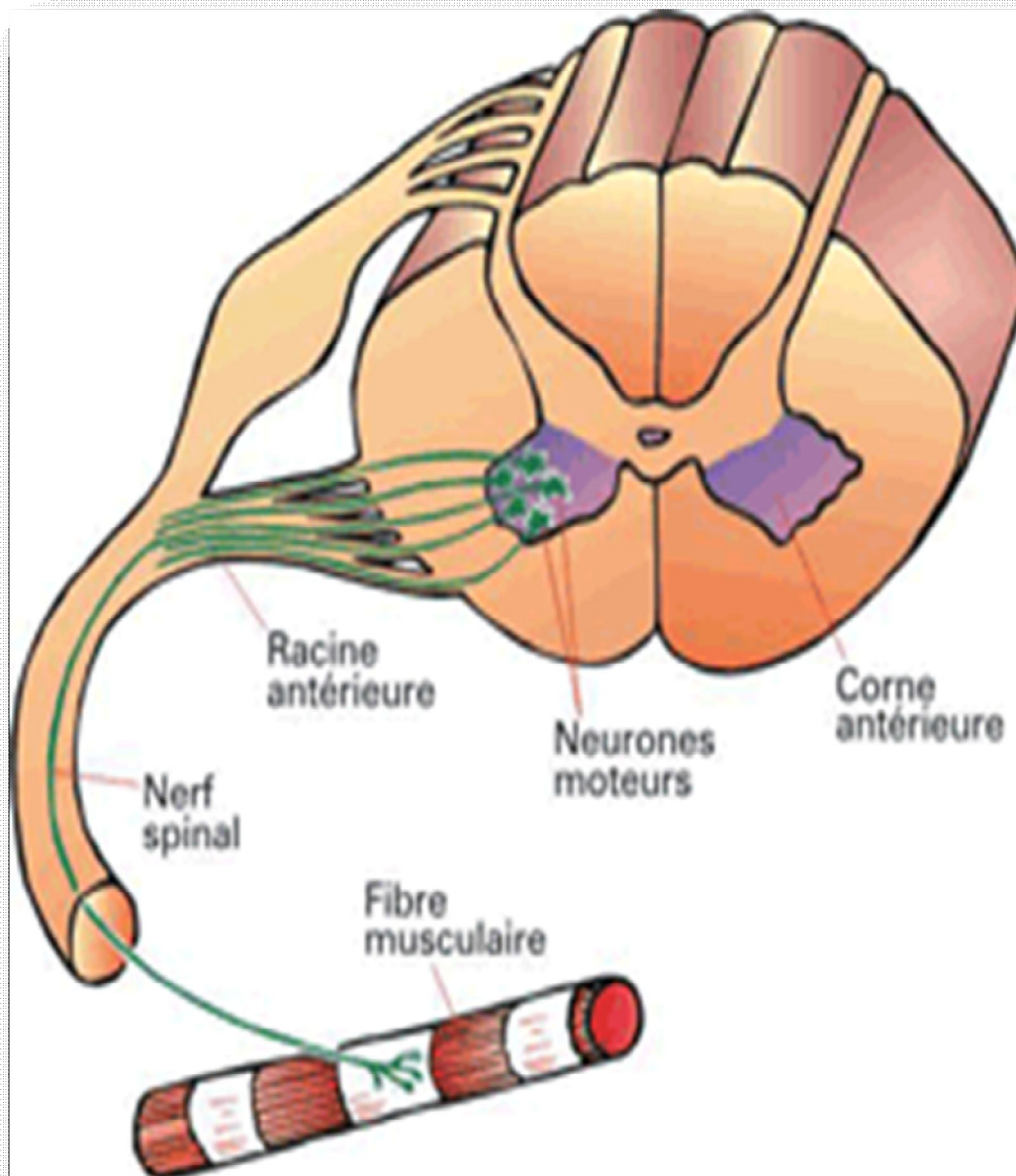


Figure 7 : Localisation du motoneurone antérieure de la moelle épinière

3-2-PHYSIOPATHOLOGIE :

Sur le plan physiopathologique, les altérations (plus ou moins importantes selon le type de SMA) siègent essentiellement au niveau des motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière (dégénérescence) et de leur organe cible, le muscle (atrophie).

Elles résultent de la délétion homozygote d'un gène situé sur le bras long du chromosome 5. Ce gène, *SMN* (*Survival of Motor Neuron*) code une protéine à localisation ubiquitaire (cerveau, foie, cœur, os, lymphocytes...) présente en grandes quantités à l'état normal, dans la moelle épinière et le tissu musculaire. Il est établi avec certitude que le taux résiduel de la protéine SMN au niveau de certains tissus (moelle épinière, muscle) est étroitement corrélé au phénotype de la maladie. [11]

De nombreuses inconnues subsistent néanmoins dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie. Le rôle exact de la protéine SMN dans les différents tissus et les mécanismes intimes de son mode d'action ne sont pas entièrement élucidés. Ainsi son déficit dans le foie, le cœur, l'os, n'entraîne apparemment aucun trouble chez les patients atteints de SMA. Il est cependant établi que la protéine SMN intervient dans la maturation de certains ARN indispensables à la survie du motoneurone et que cette action s'exerce par le biais d'un complexe protéique macromoléculaire dont les composants ne sont pas encore tous identifiés.

Sur le plan étiopathogénique, mise à part la responsabilité du gène *SMN* et son altération dans plus de 95% des cas de SMA, toutes les explications demeurent hypothétiques. Il persiste une large zone d'ombre dans laquelle de nombreux points sont peu ou pas expliqués. Il en est ainsi:

- des mécanismes déterminant l'apparition et l'évolution de la maladie,
- de l'origine première du dérèglement qui aboutit à la dégénérescence motoneuronale ;

Le point de départ de la maladie est-il nerveux ou musculaire, SMN étant exprimée aussi bien dans le tissu nerveux que dans le muscle? S'agit-il d'un défaut de reconnaissance réciproque nerf-muscle qui aboutit à la dégénérescence de l'un et de l'autre ?

Plusieurs voies de recherches ont été explorées durant ces vingt dernières années. L'hypothèse d'une origine embryonnaire est basée sur la mise en évidence de certains aspects fœtaux dans les tissus nerveux et musculaire d'enfants atteints de SMA. L'hypothèse d'une défaillance ou d'une déficience d'un facteur de croissance nerveuse repose sur le déclenchement prématuré de l'apoptose neuronale. Cette hypothèse suscite un grand intérêt pour ses applications thérapeutiques. [12]

D'autres recherches sur l'existence d'interactions entre le nerf et son organe cible le muscle suggèrent l'existence d'un facteur d'origine musculaire nécessaire à la survie des motoneurones. L'absence de ce facteur serait le point de départ d'un dérèglement ou d'un déclenchement prématuré du processus de dégénérescence naturelle des motoneurones. Des recherches plus récentes suggèrent que la maladie n'est pas spécifique du motoneurone et qu'elle peut être reproduite directement au niveau du tissu musculaire chez un modèle murin dont on a réalisé une délétion ne portant que sur les fibres musculaires, les motoneurones étant laissés intacts. Les conséquences les plus délétères de la maladie sont essentiellement l'insuffisance respiratoire de type restrictif et les complications orthopédiques. [13]



EPIDEMIOLOGIE

4-EPIDEMIOLOGIE :

Les études épidémiologiques sur les amyotrophies spinales sont rares. L'amyotrophie spinale est, après la dystrophie musculaire de Duchenne, la maladie neuromusculaire la plus fréquente chez l'enfant. Elle est parmi les maladies génétiques à transmission autosomique récessive connues et qui mettent en jeu le pronostic vital, la plus fréquente après la mucoviscidose dans les populations caucasiennes [14].

4-1-INCIDENCE ET PREVALENCE GENERALES:

***Rappel :**

Le terme d'incidence désigne le nombre d'enfants nés au cours d'une année et qui vont développer la maladie. Ce nombre est exprimé par rapport au nombre de nouveau-nés vivants au cours de la même période.

Le terme de prévalence désigne le nombre d'individus atteints dans une population donnée à un moment donné ou au cours d'une période donnée exprimé par rapport au nombre total d'individus exposés au risque de la maladie.

***Données mondiales:**

Dans le cas d'une maladie autosomique, la population tout entière est exposée au risque. La SMA est parmi les pathologies génétiques relativement fréquentes. L'incidence des SMA varie de 1/10 000 à 1/25 000 (Zerres *et al.* 1986) [14] selon les pays, les études et le type de SMA.

Tous types confondus, l'incidence des SMA est estimée à :

- 6 pour 100 000 naissances au Canada durant la période allant de 1956 à 1965 (Winsor *et al.* 1971),[15]
- 5,6 pour 100 000 naissances en Suisse entre 1960 et 1969 (Zellweger et Hanhart, 1972). [16]

***Pour les formes de type I, l'incidence varie de 1 pour 10 000 à 1 pour 25 000. Elle est estimée à :

-5,5 pour 100 000 en Finlande de 1971 à 1985 (Ignatius et Donner, 1989), [17]

-5 pour 100 000 en Hongrie durant la période de 1973 à 1980 (Czeizel et Hamula, 1989), [18]

-3,9 pour 100 000 naissances au Royaume-Uni de 1966 à 1971 (Pearn, 1973). [19]

***Pour les formes de types II et III, l'incidence est estimée à :

-1,6 pour 100 000 naissances en Finlande de 1971 à 1985 (Ignatius et Donner, 1989), [17]

- 11,2 pour 100 000 naissances au Royaume-Uni de 1960 à 1969 (Pearn, 1978). [20]

Pour la France, une projection de ces chiffres donnerait, sur la base de 700 000 naissances annuelles, 30 nouveaux cas de type I et 35 de types II et III.

L'incidence serait particulièrement élevée dans certaines communautés en Israël (Fried *et al.* 1977) [21], à Madagascar et à l'île de la Réunion (Pascalet-Guidon *et al.*, 1984) [22] et de manière générale dans les pays du pourtour méditerranéen et du Moyen-Orient où la consanguinité reste élevée.

La prévalence des SMA est variable selon les pays, les auteurs et le type de SMA. Tous types confondus, la prévalence des SMA est estimée à :

- 0,73 pour 100 000 habitants au Canada de 1962 à 1964 (Winsor *et al.* 1971), [15]

- 4,2 pour 100 000 habitants en Norvège pour l'année 1983 (Tangsrud et Halvorsen, 1988) [23].

Si l'on prend en compte seulement les formes de types II et III, la prévalence est estimée à :

- 4 pour 100 000 habitants en Norvège pour l'année 1983 (Tangsrud et Halvorsen) [23],

- 1,2 pour 100 000 habitants au Royaume-Uni en 1971 (Pearn, 1978) [20].

Elle est estimée pour le type I à 0,17 pour 100 000 habitants en 1983 en Norvège (Tangsrud et Halvorsen, 1988) [23].

La prévalence des formes chroniques est estimée à 1,6 pour 100 000 habitants en Allemagne pour l'année 1980 (Thieme *et al.* 1994) [24]. Emery (1971) estime à 1/50 la fréquence des hétérozygotes pour les SMA autosomiques récessives [25]. Pearn (1973) estime la prévalence du gène à l'état hétérozygote (porteurs sains) en Angleterre à 1/80 [19].

***Répartition par sexe:**

Dans le type I, le *sex-ratio* de 1 (Pearn, 1978) est conforme au caractère autosomique récessif de la maladie [20]. Tous types confondus, le sexe masculin prédomine dans un rapport de 3 hommes pour 2 femmes sans que la sévérité clinique soit corrélée à l'un ou l'autre sexe (Rudnik-Schöneborn *et al.* 1994) [26]. Il semble cependant que les SMA type III prédominent dans le sexe masculin dans un rapport de 7 pour 3 alors que les formes de types I et II prédominent dans le sexe féminin (Hausmanowa-Petrusewicz, 1979) [27].

***La consanguinité:**

La consanguinité comme dans toutes les maladies récessives est un facteur favorisant important dans l'émergence de la maladie. Le taux de mariages consanguins est nettement plus élevé chez les couples ayant donné naissance à des enfants atteints de SMA par rapport aux couples n'ayant pas d'enfants malades. Les chiffres vont de 2,5% à 7,7% pour les mariages consanguins à 0,2% pour une population standard (Feingold *et al.* 1977) [28]. Dans la série de Pearn (1973), l'écart est encore plus significatif (5% à 0,1%) [19].

***Origines géographiques et ethniques:**

L'incidence serait particulièrement élevée dans certaines communautés en Israël (Fried *et al.* 1977) [21], à Madagascar et à l'île de la Réunion (Pascalet-Guidon *et al.* 1984) [22] et de manière générale dans les pays du pourtour méditerranéen et du Moyen-Orient où la consanguinité reste élevée.

4-2-EPIDEMIOLOGIE DE LA SMA AU MAROC :

Le taux de consanguinité chez les couples mariés est élevé au Maroc (15,25- 19,9) et dans certaines régions, il dépasse > 28 (Cherkaoui et al 2005), résultant en une forte incidence et prévalence des troubles génétiques autosomiques récessives. Le coefficient de consanguinité moyen dans la population générale marocaine est 0,0065, en tenant compte de ce facteur, la prévalence de la SMA est portée à 1 /1900 selon la formule de Wright. En outre, les patients porteurs d'une délétion homozygote du gène SMN1, représentant 95/100 tous types confondus, ce qui signifie que nos résultats prévoient une prévalence de 1 /1,800 pour tous les types de SMA. Ce chiffre confirme que la SMA est l'une des maladies génétiques les plus répandues dans la population marocaine. [29]

La fréquence des hétérozygotes pour le délétion de l'exon 7 du gène SMN au Maroc, a été calculée en utilisant la PCR en temps réel par Lyahiai et al 2011. Cette fréquence était estimée approximativement à 1 sur 25 individus marocains. Ces résultats prouvent que la fréquence des hétérozygotes pour la SMA au Maroc est plus haute que dans les populations européennes (de 1/50 à 1/80). [30]

En supposant que l'équilibre de Hardy-Weinberg est respecté, cette fréquence porteuse de (1/25) signifierait une prévalence calculée SMA de 1/ 2500 .Ce chiffre confirme que la SMA est l'une des maladies génétiques les plus répandues dans la population marocaine.



DIAGNOSTIC POSITIF

5-DIAGNOSTIC POSITIF :

L'amyotrophie spinale est le nom qu'on donne à un groupe de maladies héréditaires caractérisées par la faiblesse et l'atrophie des muscles. En réalité, la présentation clinique associée à la SMA est un continuum et il existe des chevauchements phénotypiques entre les différents types. La rapidité d'évolution et l'espérance de vie sont corrélées à l'âge de début: plus la maladie débute à un âge précoce, plus l'évolution est rapide et plus le pronostic est sévère. [31](Bertini *et al.* 2005).

5-1-CLASSIFICATIONS:

La SMA est classiquement divisée en quatre types en fonction de l'âge de début et de l'évolution de la maladie (Tableau 1) selon la classification du Consortium International qui représente une base nécessaire pour les études génétiques et pour les essais thérapeutiques multicentriques.

****Classification du Consortium International SMA:***

La première classification, établie au début des années 1990 par Munsat et Davis, était basée sur l'âge d'apparition des premiers signes de la maladie [32][33] (Munsat 1991) (Munsat and Davies 1992) Cette classification s'est enrichie d'un type IV défini par un début après 30 - 40 ans (Zerres). Une seconde classification, basée sur des critères fonctionnels, a été proposée par Wang *et al.* en 2007[34]. Cette classification, plus objective, repose sur les dernières acquisitions motrices de l'enfant (Wang *et al.* 2007). Le type I et le type II représentent les formes les plus fréquentes de SMA [35] [36] (Ogino, Wilson, and Gold 2004) (Chabrol *et al.* 2010). Aujourd'hui cette classification est toujours utilisée, mais elle n'est pas toujours adaptée à la réalité de la maladie. Au sein d'un même groupe, il faut savoir que le profil évolutif est très variable d'un individu à l'autre.

	Age de début	Acquisitions motrices	Décès
Type I (Maladie de Werdnig-Hoffmann)	0-6 mois	Station assise libérée non acquise	Avant 2 ans
Type II	6-18 mois	Station assise acquise Absence d'acquisition de la marche	Après 2 ans
Type III (Maladie de Kugelberg-Welander)	Après 18 mois	Marche libérée acquise	Age adulte
Type IV	2 ^{ème} -3 ^{ème} décade	Marche préservée	Age adulte

Tableau 1 : Classification clinique des amyotrophies spinales proximales D. après Munsat et Davis (Munsat and Davies 1992) et Wang *et al.* (Wang *et al.* 2007)

****Classification fonctionnelle de Dubowitz :***

La classification fonctionnelle de Dubowitz (1991), clinique, simple et pratique, est basée sur la capacité de l'enfant à s'asseoir, à se lever et à marcher sans aide. Utilisée pendant longtemps comme référence, la classification de Dubowitz distingue trois formes :

- forme sévère : la station assise sans aide est impossible ;
- forme intermédiaire : station assise sans aide possible, position debout et marche sans aide impossibles ;
- forme légère (ou bénigne) : station debout et marche sans aide possibles.

Dubowitz considère cependant que la subdivision en trois types est arbitraire et que la sévérité de l'atteinte est variable à l'intérieur de chaque groupe. [37]

****Classification numérique décimale de Dubowitz :***

Partant de la classification numérique (types 1, 2, 3) qui ne rend pas compte du continuum de sévérité clinique entre les groupes et à l'intérieur de chacun d'eux, Dubowitz (1995) propose une classification numérique et décimale. Compromis entre les classifications numériques et les classifications fonctionnelles, cette classification distingue le type 1 (sévere), le type 2 (intermédiaire) et le type 3 (bénin) suivis d'une décimale allant,

par gravité décroissante, de 1 à 9. Ainsi le sous-type 1.1 représenterait la forme la plus grave, le sous-type 3.9 la forme la moins grave et le type 4.0 le normal. Cette classification permet une codification de la sévérité clinique nécessaire aux études de corrélations génotype-phénotype devenues possibles depuis l'identification du gène en cause. Elle facilite également le conseil génétique et le diagnostic prénatal. Le sous-type moyen 1.5 du type 1 (sévère) présente les traits habituels de la forme sévère de SMA :

- incapacité d'élever les membres contre pesanteur,
- absence du maintien de la tête,
- pas de difficulté à s'alimenter,
- pas d'accumulation pharyngée de sécrétions,
- aucun signe évident de détresse respiratoire.

Cependant en raison du déficit des muscles intercostaux et du type abdominal de respiration, l'enfant reste très exposé au risque d'une décompensation respiratoire pouvant résulter d'une infection, même banale, des voies aériennes supérieures. Dans le sous-type moyen 2.5 du type 2 (intermédiaire), l'enfant s'assoit correctement sans aide, le dos droit mais est incapable de maintenir cette position et de soulever un poids avec ses membres. Pour Dubowitz, le pronostic vital relève essentiellement de la fonction respiratoire. Ainsi, dans le groupe du type 2 certains enfants peuvent survivre jusqu'à l'adolescence et l'âge adulte tandis que d'autres peuvent décéder précocement dans l'enfance ou l'adolescence du fait de leur insuffisance respiratoire. Le sous-type moyen 3.5 correspond à l'enfant ayant acquis une marche correcte et stable, mais qui peut la perdre lors du pic de croissance pubertaire. [38]

****Classification garchoise :***

La classification de Barois, basée sur le moment d'apparition des premiers symptômes, distingue trois types :

- le type I comporte deux sous-types :

*** le type I « vrai » très précoce apparaît avant l'acquisition de la tenue de tête ; il réalise une tétraplégie avec hypotonie généralisée et marquée ; ce type regroupe les formes anté- et néonatales ;

*** le type I « bis » apparaît au cours du deuxième trimestre de la vie avant l'acquisition de la station assise ;

- le type II atteint les enfants de 6 (acquisition de la station assise) à 18 mois (limite supérieure de l'âge de la marche chez l'enfant sain) ;

- le type III atteint les enfants après l'acquisition de la marche ; la maladie peut apparaître jusqu'à la fin de l'adolescence et l'âge adulte.

→ En 1998, Barois propose une classification dans laquelle apparaissent des formes anténatales et des formes néonatales. Il y est fait également référence à l'intérieur d'un même type au critère de sévérité et au pronostic. Les nuances concernent surtout le type I dans lequel Barois distingue trois formes :

- formes anténatales ;
- formes débutant entre 0 et 3 mois parmi lesquelles on distingue des « formes sévères » et des « formes moins sévères » ;
- formes débutant entre 3 et 6 mois : ces formes peuvent avoir un début brutal et une évolution aiguë ou au contraire un début et une évolution progressifs.

Se basant sur les résultats préliminaires d'une étude prospective multicentrique, Barois (2000) considère que la date de début comme critère de classification est peu informative. La maladie peut passer longtemps inaperçue. Parfois le diagnostic est fait très tôt. La date précise de début de la maladie n'est pas toujours connue. Ainsi, une diminution de la mobilité fœtale a été retrouvée rétrospectivement même dans certaines formes juvéniles.

Barois (2000) propose alors une classification basée sur des critères fonctionnels :

- type I qui comporte deux variantes : enfant n'ayant jamais tenu sa tête ; enfant ayant tenu sa tête, mais n'ayant jamais tenu assis ;

- type II : acquisition de la position assise et, parfois, d'une marche précaire et anormale ;
- type III : enfant ayant marché et couru normalement.

Cette classification rejoint celle du Consortium International SMA et permet de définir des groupes homogènes. [39]

***Autres classifications**

D'autres classifications ont été proposées. Elles ont surtout un intérêt historique et sont le plus souvent basées sur la précocité des symptômes et/ou la sévérité et l'évolutivité de l'atteinte (Byers et Banker, Brooke, Fried et Emery, Hausmanowa) et sur la fonction (Evans).

→ La classification de Byers et Banker (1961) et celle de Brooke (1977) retiennent trois groupes :

- SMA I = forme aiguë : survenue précoce (avant 3 mois), évolution sévère ;
- SMA II = forme intermédiaire : débute après 6 mois, fait « le plein » de paralysies rapidement, puis reste définitivement stable ;
- SMA III = forme juvénile : début entre 5 et 15 ans, évolution lente, ou forme adulte débutant entre 15 et 50 ans. [40]

→ Fried et Emery (1971) classent les amyotrophies spinales en quatre types :

- le type I, sévère, ou maladie de Werdnig-Hoffmann débute à la naissance ou dans les tout premiers mois de la vie ; le décès survient habituellement avant l'âge de deux ans ;
- le type II, forme intermédiaire débute entre 3 et 15 mois ; la survie peut aller au-delà de 4 ans ;
- le type III, forme juvénile ou maladie de Kugelberg-Welander, débute après 24 mois ; l'évolution est bénigne ;

- le type IV ou forme de l'adulte débute après l'âge de 20 ans. [41]

→ La classification fonctionnelle d'Evans et Drennan (1981) est basée sur la capacité physique maximale que le sujet est capable de développer. Elle distingue trois groupes :

- groupe I : la force est insuffisante pour l'acquisition d'une position assise autonome ; le contrôle de la tête est médiocre ;
- groupe II : le contrôle de la tête est acquis ; la position assise est possible mais impossible à partir de la position couchée ; la marche est impossible même avec orthèse ;
- groupe III : la station debout et la marche sont possibles, mais restent précaires. [42]

→ La classification de Hausmanowa-Petrusewicz (1986) est basée sur l'âge lors de l'apparition des signes cliniques, de l'arrêt de la marche et du décès, et sur l'évolution des symptômes. Elle distingue quatre formes :

- la forme infantile sévère (type Ia) : début à la naissance, décès entre 2 et 4 ans ;
- la forme infantile prolongée (type Ib) débute également à la naissance ; la marche est impossible, mais la survie est prolongée, habituellement au-delà de 10 ans ;
- la forme infantile intermédiaire ou tardive (type II) débute entre 2 et 6 ans, l'arrêt de la marche survient après 1 à 10 ans, la survie est prolongée ;
- la forme bénigne (type III) débute entre 2 et 15 ans et se caractérise par une évolution progressive bénigne et une espérance de vie proche de la normale. [43]

→ La classification de Zerres (1997) est basée sur l'âge de début et l'âge de décès. Il ne paraît pas possible, étant donnée l'extrême variabilité de l'évolution et de la prise en charge, d'établir une corrélation entre l'âge de début de la maladie et la date de décès. [44]

5-2-FORMES CLINIQUES :

La plupart des patients souffrant d'amyotrophie spinale présentent des signes cliniques de la maladie dès l'enfance. Il existe une forte corrélation entre l'âge d'apparition des symptômes et la sévérité de l'atteinte, de sorte que, plus la maladie commence précocement et moins le pronostic vital est favorable. C'est selon ce critère que les SMA infantiles ont été classées en 3 types. (Pearn, 1978 ; Pearn, 1980 ; Munsat et al, 1990 ; Munsat & Davies, 1992 et pour revue, Wirth et al, 2006a). [45]

- Le type I : maladie de Werdnig-Hoffmann ou amyotrophie spinale infantile sévère (OMIM #253300)

Ce type représente environ 35% de la totalité des amyotrophies spinales. Les effets de l'amyotrophie spinale de type I sont constatés pendant les 6 premiers mois de la vie et affectent souvent les enfants avant même la naissance. Les mères ont pu remarquer une diminution des mouvements du fœtus en fin de grossesse. Après quelques semaines ou mois de vie, on observe une grande faiblesse musculaire de l'enfant (hypotonie). Il ne peut pas tenir sa tête, rouler sur lui-même et s'asseoir seul. Les muscles qui permettent de téter et d'avaler peuvent être affectés d'où les difficultés de déglutition et d'alimentation. Leur intelligence est parfaitement normale. Leur sensibilité n'est pas atteinte. L'atteinte musculaire commence par la racine des membres (hanches et épaules) pour remonter jusqu'aux extrémités (pieds et mains). Le plus dangereux est l'atteinte des muscles du système respiratoire. La toux est faible et inefficace et la capacité à se défendre contre les affections respiratoires est réduite. Les difficultés respiratoires sont généralement la cause majeure du décès de ces enfants. La plupart des praticiens informent les parents au moment du diagnostic que les enfants atteints d'amyotrophie spinale de type I ne vivent pas plus de deux ans. Il y a pourtant de part le monde des enfants plus âgés, et même des adultes atteints d'amyotrophie spinale de type I. Les atteintes sont en effet très variables suivant les individus, et cette diversité rend toute certitude impossible quant à la durée de vie réelle d'un enfant atteint. [46][47]

Dans le 134th ENMC international workshop en 2005, une classification des différents types de SMA, plus détaillée que celles rapportées précédemment, est présentée. Dans cette classification, la SMA de type I est divisée en trois groupes distincts :

- Le type Ia caractérise la forme sévère néonatale avec rétractions articulaires et absence de motricité à la naissance, associée à un mauvais pronostic et nécessitant souvent une ventilation mécanique en période néonatale.
- Le type Ib correspond à la SMA de type I classique avec une acquisition médiocre de la tenue de tête.
- Le type Ic représente une minorité de patients qui acquièrent une tenue de tête, parfois une station assise avec appui et est associé à un meilleur pronostic (Bertini *et al.* 2005). [48]

Cette forme typique est caractérisée par une absence d'acquisition de la station assise. La maladie se manifeste avant l'âge de 6 mois, par une diminution de la force musculaire, initialement au niveau des racines et prédominant aux membres inférieurs. Cette atteinte, à peu près symétrique, évolue vers une quadri parésie flasque. Les mouvements des extrémités sont longtemps préservés. Aux membres, elles constituent le point de départ de multiples déformations (*flexum* et luxation de hanche, *flexum* de genou, *varus* équin des pieds, déformations des poignets et des mains...).

La motricité distale est généralement épargnée aux quatre membres. L'examen met en évidence une abolition des réflexes ostéo-tendineux. L'atteinte bulbaire se manifeste par des fasciculations des mains et de la langue ainsi qu'une atrophie de la langue. Une diplégie faciale modérée, une atteinte des masticateurs et des troubles de la succion et de la déglutition peuvent exister. L'oculomotricité est habituellement épargnée. Au tronc, l'atteinte motrice entraîne un déséquilibre de la croissance rachidienne qui aboutit à la constitution d'une cypho-scoliose. L'atteinte des muscles paraspinaux est à l'origine d'une hypotonie du tronc. L'atteinte des muscles intercostaux entraîne une insuffisance respiratoire progressive. La toux est inefficace. Le diaphragme étant préservé, une respiration abdominale paradoxale et une déformation du thorax en carène sont observées. Au cou,

l'atteinte est constante. L'enfant perd habituellement le contrôle de sa tête avec une perte précoce de la tenue de tête. Il peut exister une atteinte du tronc cérébral, principalement des paires crâniennes et du bulbe. L'atteinte des nerfs crâniens est à l'origine de troubles de la déglutition, de troubles de la succion et d'une faiblesse du cri. L'atteinte des centres bulbaires est à l'origine de troubles des fonctions respiratoire et cardiaque prenant souvent l'aspect de troubles dysautonomiques, pouvant aller jusqu'à la mort subite. Il n'y a pas de trouble sensitif, pas de trouble sphinctérien, et classiquement, pas d'atteinte des fonctions supérieures. D'autres appareils sont également atteints. La sphère digestive est affectée par des troubles divers ; troubles de la déglutition, reflux gastro-œsophagien, dilatation gastrique aiguë et constipation chronique. Associés à l'absence d'autonomie alimentaire, ces troubles entraînent fréquemment un état de dénutrition. Ces enfants risquent, en outre, une déshydratation, une hypoglycémie et une acidose métabolique en cas de jeûne prolongé ou de vomissements répétés. L'évolution est marquée par une aggravation progressive. L'insuffisance respiratoire chronique, aggravée par les infections respiratoires et les fausses routes, entraîne un décès avant 2 ans, généralement avant 12 à 18 mois. Compte-tenu de la sévérité du pronostic et de l'absence de traitement curatif, la prise en charge de ces patients est essentiellement palliative (Chabrol *et al.* 2010) (D'Amico *et al.* 2011) (Bertini *et al.* 2005, Jong, Chang, and Wu 1998). [49]

- Le type II : amyotrophie spinale infantile intermédiaire (OMIM #253550)

Ce type représente environ 45% de la totalité des amyotrophies spinales. Les effets de l'amyotrophie spinale de type II sont généralement constatés entre l'âge de 6 mois et l'âge de 18 mois. On observe chez l'enfant une faiblesse et une atrophie de la masse musculaire. Le degré d'atteinte est très variable selon les individus. L'évolution de la maladie est lente et progresse par paliers. La faiblesse musculaire touche surtout les muscles des jambes et du tronc. La prédisposition aux affections respiratoires dépend de la manière dont les muscles respiratoires sont touchés. Généralement, il n'y a pas de difficultés ni pour avaler ni pour téter. Les enfants peuvent généralement s'asseoir et tenir leur tête. Ils peuvent aussi se tenir debout. Mais ces capacités se réduisent au fur et à mesure qu'ils prennent du poids. Cependant, une bonne prise en charge orthopédique permet de réduire voire éviter les

déformations de la colonne vertébrale et les rétractions tendineuses. L'espérance de vie d'un enfant atteint d'amyotrophie spinale de type II n'est pas réellement évaluable et dépend de l'atteinte musculaire et respiratoire. Le plus grand danger vient des affections respiratoires, pneumonie ou autres, contre lesquelles l'enfant combat difficilement. [46]

- Le type III : maladie de Kugelberg-Welander ou amyotrophie spinale juvénile (OMIM #253400)

Ce type représente environ 8% de la totalité des amyotrophies spinales. Les effets de l'amyotrophie spinale de type III sont constatés vers l'âge de 3 ou 4 ans, après l'acquisition de la marche et parfois plus tard. On observe un affaiblissement musculaire entraînant une démarche dandinante plus ou moins gênante. Le réflexe rotulien (du genou) est absent. Les enfants peuvent s'asseoir, marcher et se tenir debout, mais ces capacités diminuent avec la prise de poids. La sensibilité et les fonctions mentales ne sont pas atteintes. Il peut y avoir des déformations de la colonne vertébrale conduisant à une scoliose plus ou moins prononcée. Une bonne prise en charge orthopédique permet de réduire voire d'éviter ces déformations pouvant avoir une influence sur les fonctions respiratoires. L'espérance de vie d'un enfant n'est généralement pas affectée par une amyotrophie spinale de type III, car, dans la plupart des cas, il n'y a pas d'atteinte respiratoire. [46]

-Le type VI: Amyotrophie spinale adulte (OMIM #271150)

Chez certains patients, les signes cliniques apparaissent plus tardivement, début après 30 - 40 ans (Zerres), et sont de moindre intensité, on parle alors d'amyotrophie spinale adulte de type IV. Dans ce cas, on observe une paralysie progressive des muscles des membres inférieurs et en conséquence une atrophie de ces muscles. Les muscles des cuisses et des avant-bras s'affaiblissent. Dans certains cas, il peut y avoir une atteinte respiratoire. Généralement, la progression de la maladie est assez rapide après le début des symptômes, mais l'espérance de vie n'est pas mise en cause. [50]

Aujourd'hui cette classification est toujours utilisée, mais elle n'est pas toujours adaptée à la réalité de la maladie. Au sein d'un même groupe, il faut savoir que le profil évolutif est très variable d'un individu à l'autre.

5-2-DIAGNOSTIC PARACLINIQUE :

Le diagnostic de SMA étant avant tout clinique, le diagnostic génétique est le plus sûr moyen pour le diagnostic de certitude. Sa pratique est généralisée et quasi systématique dès que la clinique est évocatrice. Il a supplanté tous les autres moyens diagnostiques paracliniques, en particulier la biopsie musculaire et l'électromyogramme. Les autres examens complémentaires ne sont pas nécessaires dans le diagnostic mais ils ont une valeur d'orientation diagnostique.

Le diagnostic, guidé par l'analyse clinique, est devenu moléculaire. L'analyse de l'ADN, obtenu par un prélèvement de sang ou de salive, a supplanté tous les autres moyens diagnostiques (biopsie, électromyographie). Cet examen, de pratique simple, permet un diagnostic rapide et fiable dans presque la totalité des cas.

5-2-1-Le diagnostic moléculaire :

-Indications :

Le test est indiqué chez tout enfant qui présente le phénotype de la maladie. Il est particulièrement important dans certaines formes limites. Il peut aider au pronostic, sachant que les grandes délétions vont de pair avec les phénotypes les plus sévères. Cet aspect n'est cependant pas encore en routine.

-Principe :

Le gène *SMN* étant connu et cloné, le diagnostic consiste à mettre en évidence la lésion moléculaire grâce à l'étude de l'ADN extrait des leucocytes ou d'un simple prélèvement salivaire. Il est ainsi possible de confirmer le diagnostic clinique, en évitant la biopsie musculaire et les examens électriques et d'accéder plus facilement, plus rapidement et plus sûrement au diagnostic et à une prise en charge adaptée et au conseil génétique.

-Technique :

L'ADN est extrait des leucocytes d'un prélèvement de sang ou à partir d'un prélèvement salivaire. Le procédé le plus couramment employé pour le diagnostic génétique moléculaire de la SMA est l'amplification en chaîne *in vitro* ou « *Polymerase Chain*

Reaction » (PCR) du gène. C'est actuellement la méthode la plus rapide, la plus simple et la plus sensible pour rechercher sur un gène identifié et séquencé une mutation ponctuelle ou une micro-délétion. Elle consiste à amplifier la région du gène, siège éventuel du remaniement, à l'aide d'amorces oligonucléotidiques. Après digestion par une enzyme qui va reconnaître spécifiquement le gène *SMN* de sa copie, une électrophorèse en gel d'acrylamide permet ensuite de différencier un allèle normal d'un allèle délété grâce à la visualisation des fragments d'ADN par fluorescence en présence d'un intercalant (bromure d'ethyidium). La région critique de la maladie est caractérisée par la présence de plusieurs séquences répétées incluant des gènes. Le gène *SMN* a une copie qui lui est très homologue en position centromérique. Ces deux gènes ne diffèrent que par deux paires de bases situées sur les exons 7 et 8. Cette copie est présente dans 95,5% des contrôles et entrave la détection de l'absence de *SMN*. Basée sur cette différence, une méthode simple, rapide et commode (Van der Steege *et al.* 1995) ne nécessite ni PCR radioactive, ni électrophorèse et permet d'obtenir des résultats clairs et sans ambiguïté en un jour. Elle peut être utilisée pour faciliter le conseil génétique et le diagnostic prénatal chez les familles dans lesquelles l'ADN de l'enfant atteint n'est plus disponible.

-Résultats :

Le diagnostic est confirmé lorsqu'on observe dans le gène *SMN1* : une délétion homozygote *SMN1*. Une délétion hétérozygote *SMN1* n'élimine pas le diagnostic et nécessite la recherche d'une mutation ponctuelle. [51]

D'autres méthodes plus développées peuvent être utiles au diagnostic : Le séquençage ciblé haut débit, la PCR quantitative....

5-2-2-L'électromyogramme (EMG)

-Indications :

L'EMG permet d'identifier l'origine neurogène de l'atrophie musculaire et d'affirmer l'atteinte du motoneurone de la corne antérieure devant la constatation de vitesse de conduction nerveuse normale. Dans la stratégie diagnostique de la SMA, la place de l'EMG est discutable depuis l'avènement du diagnostic génétique. Dans l'immense majorité des cas,

une forte présomption clinique permet de surseoir à l'EMG et de poser directement l'indication du test génétique.

-Principe :

L'EMG se déroule en deux phases :

*la phase de détection au cours de laquelle est recueilli un tracé ou électromyogramme.

*la phase de stimulo-détection qui permet de mesurer les vitesses de conduction motrice et/ou sensitive.

La détection se fait à l'aide d'une aiguille-électrode enfoncée dans la masse charnue du muscle exploré. Elle permet l'appréciation sonore et l'analyse visuelle des potentiels d'action motrice (forme, amplitude, durée) qui sont recueillis d'abord au repos puis lors de la contraction volontaire. La stimulo-détection consiste à stimuler directement un nerf (tronc ou racine) moteur et/ou sensitif, à évaluer la latence d'apparition du potentiel d'action (ou du potentiel sensitif pour la conduction sensitive) et à déterminer la vitesse de conduction nerveuse motrice et/ou sensitive. (VCNM/S).

-Résultats :

L'interprétation de l'EMG est d'autant plus délicate que l'enfant est plus jeune. Le tracé est parfois normal au début de la maladie. Le tracé, caractéristique, permet d'affirmer la nature neurogène de l'atteinte. Au repos, le tracé comporte une activité spontanée régulière et lente faite de potentiels de fibrillations, de fasciculations, de décharges spontanées d'unités motrices et de potentiels lents de dénervation.

Les potentiels de fibrillations, typiques d'une atteinte neurogène, sont retrouvés dans 35% des cas chez des enfants atteints de SMA de types Ia, Ib et II [52]. Les fibrillations se traduisent par de petits potentiels de durée brève (0,5 à 2 ms) et de faible amplitude (30 à 150 mv). Ces potentiels sont polyphasiques (bi- voire triphasiques) et reviennent 2 à 10 fois par seconde. Ils sont identifiés par leur phase initiale toujours positive sauf pour ceux qui sont recueillis dans la région de la plaque motrice. Ils ne sont recherchés que dans un muscle

chaud et disparaissent dès que le muscle se refroidit. Les potentiels de fasciculations de basse fréquence (1 cycle/3-4 sec) ont une grande valeur diagnostique dans les atteintes de la corne antérieure comme les SMA. Ils ne sont, cependant, retrouvés que chez 4,6% des enfants atteints de la forme Ia et 18,2% des formes Ib et II. Enregistrés avec des électrodes de surface, les potentiels de fasciculations traduisent une activité spontanée de plusieurs groupes de fibres musculaires ou d'unités motrices réalisant une contraction visible et palpable du muscle. Ces potentiels sont rencontrés à l'état normal et ne diffèrent en rien des potentiels de fasciculations rencontrés dans les atteintes de la corne antérieure de la moelle, si ce n'est par leur fréquence de répétition. En effet, leur basse fréquence (1 potentiel/3-4 sec) est un bon critère de différenciation des potentiels de fasciculations bénignes (1 potentiel/sec). Les potentiels de fasciculations ont une grande signification diagnostique dans les atteintes de la corne antérieure de la moelle comme l'amyotrophie spinale, la sclérose latérale amyotrophique et la poliomyélite dans sa phase préparalytique aiguë. Les décharges spontanées d'unité motrice sont retrouvées dans 69,2% des muscles examinés. Il s'agit de décharges rythmiques battant à la vitesse de 5-18 Hertz pouvant être activées ou au contraire inhibées par le mouvement volontaire. Ces décharges peuvent persister durant des heures et pendant le sommeil à ondes lentes, mais jamais durant la phase de sommeil paradoxal.

Les potentiels lents de dénervation sont caractérisés par leur longue durée (10 ms) et une faible amplitude. Ils sont comparables en cela aux potentiels de fibrillation. Leur forme caractéristique « en dents-de-scie » est en faveur d'un processus de dénervation. Leur origine est inconnue. Ils traduisent probablement l'activité de fibres musculaires uniques. Difficile à obtenir chez les tout-petits, le tracé d'effort est pauvre, fait essentiellement de potentiels unitaires, amples et larges. Lors de l'activité volontaire, les tracés obtenus sont également pauvres, traduisant une réduction du nombre d'unités motrices. Les potentiels unitaires amples (jusqu'à 10 mV) et larges (plus de 20 ms) y prédominent et pulsent à des fréquences égales ou supérieures à 25 c/s. Cependant, le tracé n'est pas toujours typique et peut même être normal au début de la maladie. Mais chez les patients atteints de la forme Ia,

les potentiels sont, soit nettement plus courts, polyphasiques et de faible amplitude, soit plus larges et plus amples que ceux qui sont retrouvés chez l'enfant normal. [52]

La réduction du nombre d'unités motrices se traduit, lors de l'activité volontaire, par un tracé pauvre et parfois si pauvre qu'on peut, lors des contractions maximales, distinguer des potentiels individuels. Dans les atteintes de la corne antérieure, les aspects sont très caractéristiques: tracés faits de grands potentiels d'unité motrice (pouvant atteindre parfois 10 mV) sur un fond de silence électrique. En effet, certains neurones peuvent échapper à la dégénérescence. Leurs axones envoient alors des ramifications à certaines fibres musculaires dénervées. Il se forme alors des unités motrices de taille plus importante mais en nombre réduit, qui se manifestent électriquement par des potentiels très larges et très amples. [52] Les vitesses de conduction nerveuse motrice et sensitive (VCNM/S) sont habituellement normales. Hausmanowa (1988) retrouve des vitesses de conduction motrice légèrement ralenties dans 30% des cas. [52] Ce ralentissement affecterait plutôt la partie proximale du nerf. Pour Moosa et al. (1976) les vitesses de conduction motrice seraient accélérées dans 75% des cas. [53] Ce ralentissement affecterait autant la partie proximale que la partie distale du nerf (Imai *et al.* 1990). [54] Utilisant les latences des réponses M et F, Imai *et al.* ont étudié les VCNM tout le long des nerfs médian et cubital, de la moelle épinière jusqu'au muscle, chez 14 patients présentant les « formes les moins sévères de la maladie de Werdnig-Hoffmann ». Ils constatent un ralentissement significatif des VCNM tant au niveau proximal qu'au niveau distal sur les deux nerfs. Toutefois, même ralenties, les VCNM au niveau du segment proximal restent plus rapides que celles du segment distal mais toujours dans les mêmes proportions que la série de contrôle. Les auteurs concluent que les anomalies de la conduction motrice dans la maladie de Werdnig-Hoffmann sont diffuses sur tout le trajet du nerf, ce qui permet d'éliminer un processus de dégénérescence rétrograde dans lequel les axones concernés seraient sévèrement endommagés. [57]

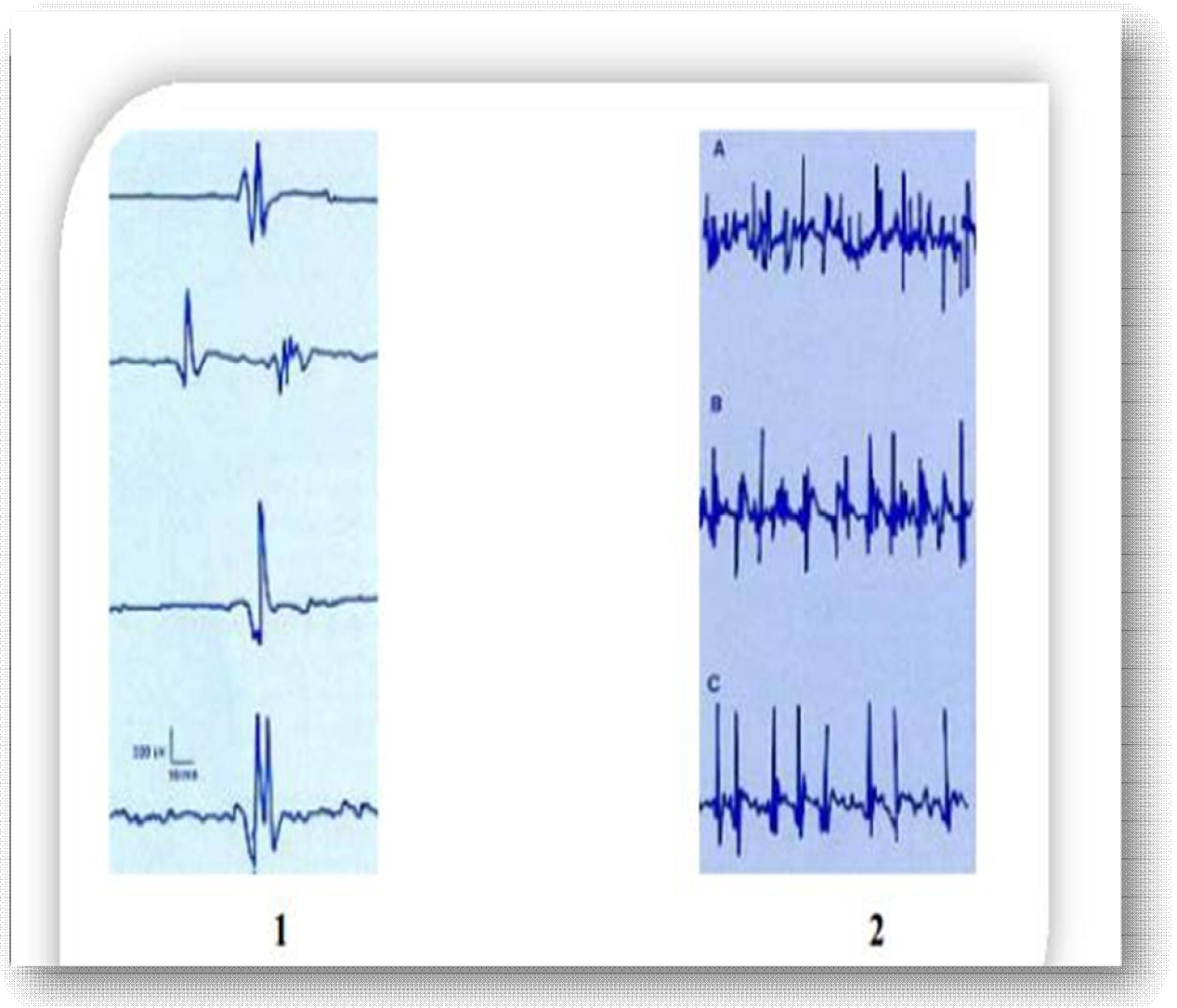


Figure 8: 1-EMG d'un sujet atteint de la SMA

2-EMG d'un sujet normal.

5-2-3-Biopsie musculaire :

Le prélèvement est fait sur un muscle atteint en dehors des zones de pression, des zones traumatisées ou immobilisées. En pratique il s'agit le plus souvent d'un quadriceps ou d'un deltoïde. Le prélèvement est fait en respectant le sens des fibres et en évitant tout écrasement ou déchirure.

- un bloc est fixé au formol puis inclus en paraffine pour étude histologique (colorations courantes ; hématoxyline éosine, PAS (Acide Périodique et Schiff), trichrome de Gomori) ;

- le deuxième bloc est congelé sans fixation et permet les études histo-enzymologiques (activité myosine ATPasique, activités oxydatives) complétées éventuellement par des études biochimiques, immunocytochimiques, sur coupes au cryostat ;

- le troisième bloc fixé au glutaraldéhyde, est destiné à l'étude en microscopie électronique si nécessaire.

La biopsie doit être faite au minimum 15 jours après l'EMG.

C'est un examen peu douloureux, habituellement pratiqué sous anesthésie locale. Certaines équipes pratiquent la biopsie à l'aiguille. [55]

-Indications

Une présentation myopathique peut motiver la réalisation d'une biopsie musculaire. L'analyse histologique du muscle retrouve des fibres atrophiques, regroupées en îlots de fibres de même type (« grouping ») (Buchthal and Olsen 1970). [56]

-Résultats

Les résultats sont délicats à interpréter en raison de l'immaturité du système musculaire chez le jeune enfant. L'atrophie fasciculaire confirme la dénervation. Les fibres musculaires sont de taille inégale. Des faisceaux de fibres atrophiques (fibres de type I, les plus atrophiques, et de type II) de contour arrondi, avec un diamètre de 5 à 8 microns, avoisinent des faisceaux de fibres de type I, normales ou hypertrophiques, arrondies, de

diamètre 3 à 4 fois supérieur au diamètre normal (Serratrice *et al.*, 1994). L'examen des structures intracellulaires sur les colorations oxydatives retrouve un halo riche en ribosomes à la périphérie des fibres atrophiques, des anomalies nucléaires sur de petits bouquets pycnotiques et des anomalies de type foetal (Serratrice, *op. cit.*). La biopsie montre parfois une atrophie diffuse des fibres. Parfois, la biopsie est normale au début de la maladie. [55]

2-5-4-Les enzymes sériques :

Le test biochimique le plus souvent demandé dans les maladies neuromusculaires est le dosage du taux sérique de la créatine kinase ; enzyme qui permet de transformer l'ADP en ATP ; système fournisseur d'énergie musculaire immédiate. La créatine kinase est présente en quantité considérable dans le muscle et cette enzyme est libérée dans le sang lorsque les fibres musculaires sont lésées. La valeur de la créatine kinase dépend du sexe et de l'âge mais aussi de l'exercice musculaire effectué dans les heures précédant le dosage. La concentration de la créatine kinase dans le sérum des sujets atteints de la SMA est habituellement normale mais peut être modérément élevée sans dépasser dix fois la valeur normale.

2-5-5-Le test immunologique:

La mesure du taux de la protéine SMN permet de diagnostiquer la maladie et de suivre l'efficacité de certaines stratégies thérapeutiques en développement visant à augmenter la quantité de SMN. Kolb et coll. ont développé un test immunologique qui, à l'aide d'un anticorps anti-SMN, permet de mesurer la concentration en SMN dans le sang périphérique. La technique est aussi fiable que le Western blot et plus simple d'utilisation: la lyse cellulaire n'est pas nécessaire, un petit échantillon sanguin suffit, et plusieurs analyses peuvent être menées simultanément. Ce nouveau test immunologique pourrait donc servir au diagnostic de la SMA et devenir un marqueur d'efficacité dans le cadre d'essais thérapeutiques (Stephen Jet al; 2006). [57]

**DIAGNOSTICS
DIFFERENTIELS**

6-DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS :

La présentation clinique de la SMA de type Ia est relativement spécifique et l'analyse du gène *SMN1* permet une confirmation rapide du diagnostic. Cependant, plusieurs types de maladies neuromusculaires peuvent se présenter en période néonatale avec une présentation proche de celle de la SMA de type Ia. Les amyotrophies spinales non liées au gène *SMN1* se présentent également avec des signes d'atteinte du motoneurone qui regroupent :

6-1-L'amyotrophie spinale liée à l'X

X-linked spinal muscular atrophy ou XL-SMA, dans sa forme la plus sévère, se manifeste dès la naissance par un tableau d'arthrogrypose avec des rétractions multiples, une hypotonie, une faiblesse musculaire avec abolition des réflexes ostéotendineux et une atteinte respiratoire entraînant un décès dans les premiers mois de vie. Le contact visuel est préservé. Des fractures, des complications orthopédiques ainsi qu'une cryptorchidie peuvent être observées (Greenberg *et al.* 1988) [58]. La maladie est due à des mutations du gène *UBA1* localisé en Xp11.23 (Kobayashi *et al.* 1995) [59].

6-2-L'amyotrophie spinale avec détresse respiratoire de type I

Spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 ou SMARD1 se manifeste classiquement dans les premiers mois de vie par une hypotonie, un déficit moteur avec des réflexes ostéotendineux abolis et une arthrogrypose distale. Comme dans la SMA liée au gène *SMN1*, l'atteinte est évolutive et il existe une atteinte respiratoire sévère, mais celle-ci est d'origine diaphragmatique. Le contact visuel est préservé. La SMARD1 se différencie de la SMA liée au gène *SMN1* par la topographie de la faiblesse musculaire, qui est initialement distale. Un retard de croissance intra-utérin, une neuropathie axonale et une dysautonomie peuvent être observés (Grohmann *et al.* 2003) (Eckart *et al.* 2012) [60] [61]. La transmission est autosomique récessive, liée au gène *IGHMBP2*, localisé en 11q13.2-q13.4 (Grohmann *et al.* 2001). [62]

6-3- L'amyotrophie spinale scapulopéronière :

(Scapuloperoneal spinal muscular atrophy ou SPSMA) est caractérisée par une faiblesse et une atrophie progressive touchant les muscles scapulopéroniers et une paralysie laryngée (DeLong and Siddique 1992)[63]. Il existe une variabilité d'expression et des formes avec arthrogrypose congénitale ont été rapportées (Berciano *et al.* 2011) [64]. La maladie est due à des mutations du gène *TRPV4* en 12q24.1-q24.31 et se transmet sur un mode autosomique dominant (Deng *et al.* 2010). [65]

6-4- L'amyotrophie spinale avec hypoplasie pontocérébelleuse (Pontocerebellar hypoplasia with spinal muscular atrophy ou PCH1) :

Elle est à l'origine, le plus souvent dès la naissance, d'une faiblesse musculaire généralisée, d'une hypotonie sévère, d'une arthrogrypose et d'une atteinte respiratoire. Les réflexes ostéotendineux sont vifs et il existe un retard de développement sévère avec une absence de contact visuel (Barth 1993) (Rudnik-Schöneborn *et al.* 2013) [66]. Il s'agit d'une maladie autosomique récessive due à des mutations du gène *EXOSC3* localisé en 14q32.2 (Wan *et al.* 2012).[67]

6-5-La dystrophie myotonique de Steinert dans sa forme congénitale :

Elle se manifeste en période néonatale par une hypotonie globale majeure avec une hypomobilité, des rétractions articulaires, des troubles de la succion/déglutition et une détresse respiratoire mettant en jeu le pronostic vital. La dystrophie myotonique de Steinert se caractérise par une atteinte de la face et un aspect particulier de la bouche, en chapeau de gendarme. Les problèmes orthopédiques sont fréquents, à type de pieds bots, torticolis, cyphose, luxation de hanche (Chabrol *et al.* 2010) [49]. La transmission de la maladie est autosomique dominante, avec un phénomène d'anticipation. La transmission est maternelle (même si d'exceptionnels cas de transmission paternelle ont été décrits), la présence de signes cliniques chez la mère oriente le diagnostic mais ces signes peuvent être absents. Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une expansion de triplets CTG en 3. du gène *DMPK* (Mahadevan *et al.* 1992). [68]

6-6-Les syndromes myasthéniques congénitaux :

Se sont des affections hétérogènes sur le plan clinique et génétique. Les signes en période néonatale associent de manière variable une hypotonie, des rétractions articulaires, une atteinte respiratoire, une atteinte faciale et bulbaire, des éléments dysmorphiques (palais ogival, visage allongé) et une atteinte oculaire (ptosis, ophtalmoplégie) qui est évocatrice. Les signes cliniques sont fluctuants et aggravés par les infections. Plusieurs gènes codant pour différentes protéines de la jonction neuromusculaire sont impliqués dans les syndromes myasthéniques congénitaux. Les particularités cliniques, l'électromyogramme et l'étude de la réponse aux inhibiteurs de l'acétylcholine estérase permettent d'orienter le diagnostic (Abicht *et al.* 2012) [69]. La myasthénie néonatale est secondaire au passage transplacentaire d'anticorps antirécepteur de l'acétylcholine maternels et concerne 10 à 15% des enfants de mère myasthénique. La maladie débute dans les premières heures de vie et les symptômes disparaissent en quelques jours à trois mois. La myasthénie néonatale est caractérisée par une faiblesse généralisée, des difficultés alimentaires, des difficultés respiratoires, une diplégie faciale (Namba, Brown, and Grob 1970) [70]. Il existe une forme fatale, beaucoup plus rare, qui se manifeste par une arthrogrypose et est associée à un mauvais pronostic. La sévérité de l'atteinte chez le fœtus n'est pas liée à la sévérité de l'atteinte chez la mère, celle-ci pouvant être asymptomatique (Vincent *et al.* 1995). [71]

6-7-Les dystrophies musculaires congénitales :

Se sont un groupe d'affections très hétérogènes sur le plan clinique et génétique. Elles peuvent se manifester par une faiblesse musculaire et une hypotonie à la naissance et, dans certains cas, s'associent à des rétractions articulaires, une atteinte respiratoire, une atteinte cognitive d'intensité variable, des malformations cérébrales et/ou oculaires et une élévation du taux de CPK plasmatique. Le diagnostic repose sur l'analyse histologique du muscle et les marquages immunohistochimiques (Mercuri and Muntoni 2012). [72]

6-8-Les myopathies congénitales :

Se sont un groupe hétérogène de maladies neuromusculaires. Elles se manifestent le plus souvent à la naissance, par une hypotonie, une faiblesse musculaire globale avec une attitude en grenouille, une hyporéflexie, des éléments dysmorphiques (visage allongé, palais ogival), une atteinte respiratoire, bulbaire, faciale, un ptosis et une ophtalmoparésie, sans atteinte cognitive. Dans certains cas, il existe des signes d'immobilisme foetal avec arthrogrypose. L'imagerie musculaire et la biopsie musculaire permettent dans certains cas d'orienter le diagnostic (North 2011). Certaines myopathies congénitales peuvent avoir une présentation proche de celle de la SMA de type Ia, comme la myopathie myotubulaire liée à l.X, la myopathie à némaline et la myopathie à central cores. [73]

6-9-La neuropathie hypomyélinisante congénitale :

Elle peut se manifester en période néonatale par une hypotonie sévère, une faiblesse musculaire, une aréflexie et une détresse respiratoire. Le diagnostic est basé sur l'étude des vitesses de conduction nerveuse. Des mutations *de novo* du gène *MPZ* sont le plus souvent en cause (Warner *et al.* 1996) (Sevilla *et al.* 2011) [74] [75]. Par ailleurs, un très grand nombre de causes différentes peuvent être à l'origine d'une hypotonie néonatale sévère, les plus fréquentes sont les infections materno-foetales, les anomalies du système nerveux central (malformations cérébrales) et les anomalies chromosomiques (telles que la trisomie 21 et différents syndromes micro-délétionnels). Plus rarement il s'agit d'anomalies métaboliques (telles que le syndrome de Smith-Lemli-Opitz, le syndrome de Zellweger, la maladie de Pompe, des maladies mitochondriales) (Prasad and Prasad 2011). Dans la majorité des cas, la présence de signes cliniques ou biologiques associés ou l'existence d'un contexte particulier permettent d'orienter le diagnostic. Une hypotonie d'origine centrale sera évoquée en cas de troubles sensoriels et/ou d'atteinte des voies longues, et/ou d'anomalie du périmètre crânien. En cas de doute, la réalisation d'examen complémentaires tels qu'une IRM cérébrale et médullaire, un caryotype sanguin (ou CGH array) et un bilan métabolique peuvent permettre de préciser la cause de l'hypotonie. [76]

6-10-L'ischémie médullaire anté- ou périnatale :

Elle peut se manifester par une symptomatologie proche de celle de la SMA de type Ia, avec une quadriparésie néonatale, initialement flasque. L'histoire obstétricale, l'existence d'un mauvais contact oculaire en rapport avec une atteinte centrale souvent associée et la présence d'un syndrome sous-lésionnel permettent d'évoquer le diagnostic, qui sera confirmé par les examens neurophysiologiques et l'IRM médullaire (Chabrol *et al.* 2010). [49]

6-11-Le syndrome de Prader-Willi :

Ce syndrome est classiquement évoqué comme un diagnostic différentiel de la SMA chez le nouveau-né. En effet, le syndrome de Prader-Willi se manifeste à la naissance par une hypotonie sévère, des réflexes ostéotendineux faibles, des troubles de la succion. Cependant l'éveil est altéré et il existe des éléments dysmorphiques évocateurs (rétraction bitemporale, bouche aux coins tombants) et dans la majorité des cas, il n'y a pas d'atteinte respiratoire (Oiglane-Shlik *et al.* 2006) [77]. Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une anomalie de méthylation au locus du gène *SNRPN* en 15q11q13. Dans la très grande majorité des cas, il s'agit d'une anomalie génétique survenue *de novo*. Plusieurs mécanismes sont à l'origine d'un syndrome de Prader-Willi: délétion sur le chromosome d'origine paternelle, disomie uniparentale maternelle et rarement anomalie du centre de l'empreinte (Ledbetter *et al.* 1981) (Butler and Palmer 1983), (Nicholls *et al.* 1989), (Buiting *et al.* 2003)[78][79][80][81]. Actuellement, la méthyl-PCR est devenue la méthode de choix pour confirmer le diagnostic du syndrome de Prader-Willi.

***BASES GENETIQUES
ET PATHOLOGIE
MOLECULAIRE***

7- BASES GENETIQUES ET PATHOLOGIE MOLECULAIRE :

7-1-MODE DE TRANSMISSION :

L'analyse des trois formes de la SMA révèle un mode de transmission récessive autosomique, dans les types I, II et III. La valeur du coefficient de ségrégation est proche de la valeur attendue (0,25) dans une maladie autosomique récessive, par contre, dans le type II ce coefficient est significativement abaissé, du fait d'un excès des cas sporadiques soulevant l'hypothèse de mutations récentes dominantes ou récessives ou de phénocopies, dans les formes de type III. Un mode de transmission autosomique dominant a aussi été observé (type III et IV), il s'agit d'entités génétiques distinctes qui sont beaucoup plus rares que les formes récessives autosomiques. Un mode de transmission récessif lié à l'X peut être observé chez les patients de type VI. D'autre part, il existe une forme sévère d'amyotrophie spinale associée à une arthrogrypose transmise selon un mode récessif lié à l'X. Enfin, une autre forme transmise selon le même mode est connue sous le nom de Syndrome de Kennedy ou amyotrophie Bulbo spinale, ce syndrome est dû à une expansion anormale d'une répétition CAG codant pour ce segment poly glutamine qui est situé dans le gène codant pour le récepteur aux androgènes.

L'amyotrophie spinale proximale infantile se transmet selon un mode autosomique récessif. Une maladie est transmise selon le mode autosomique récessif si le gène en cause est porté par un autosome et si la présence de deux allèles mutés du gène est nécessaire pour que la maladie se manifeste. Les malades sont homozygotes pour le gène en cause. A chaque grossesse, le risque que l'enfant soit malade est de 25%. [82]

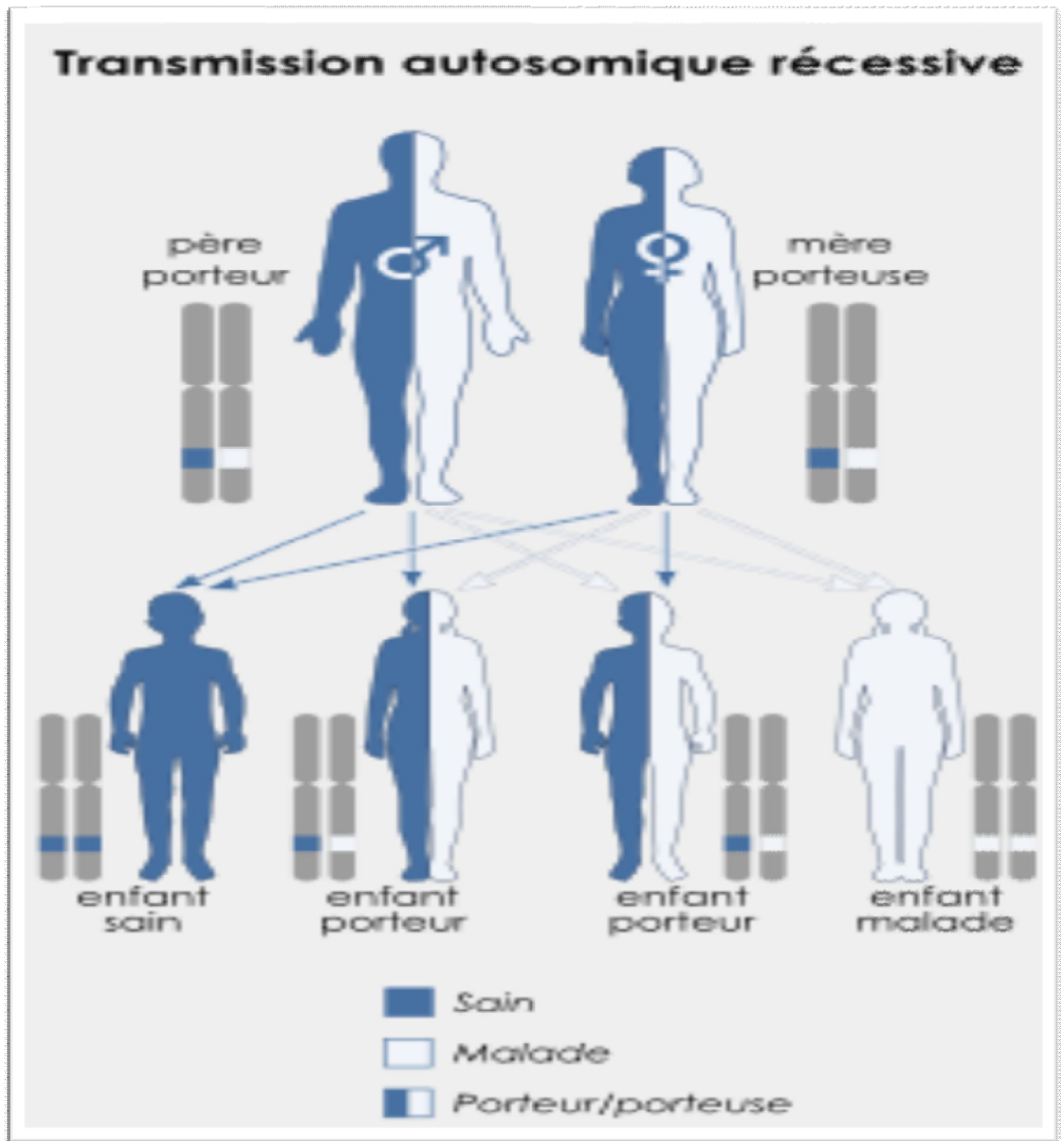


Figure 5: Mode de transmission d'une maladie autosomique récessive. (ex de la SMA)

*Caractéristiques d'une maladie autosomique récessive :

-Il y a autant de filles que de garçons atteints parce que le gène impliqué est sur un autosome.

-Il n'y a pas de personnes malades à toutes les générations, car la plupart du temps, les sujets atteints naissent de parents hétérozygotes, porteurs sains (A/a).

-Un couple à risque est formé par deux conjoints porteurs sains hétérozygotes (A/a).

-Il a, à chaque grossesse:

*un risque de 25% d'avoir un enfant atteint (homozygote a/a).

*une probabilité de 50% d'avoir un enfant porteur sain (hétérozygote A/a) qui peut avoir un enfant atteint si, et seulement si, son conjoint est lui-même porteur sain (avec un risque de 1/4).

*une probabilité de 25% de donner naissance à un enfant sain (homozygote A/A) qui ne peut pas avoir d'enfant atteint.

Un sujet malade qui se marie à un sujet normal donne habituellement naissance à des enfants normaux car les porteurs sains (A/a) sont beaucoup plus rares que les individus sains homozygotes (A/A). La maladie, du fait de la faible dimension des familles humaines, peut ne toucher qu'une personne dans une famille. Le cas isolé ne signifie donc pas nécessairement cas de novo (mutation survenue dans la lignée germinale de l'un des parents).

7-2- Le locus SMA:

En 1990, des expériences de clonage positionnel du gène impliqué dans les SMA ont permis d'identifier une région chromosomique associée à cette maladie. Cette région est située sur le bras long du chromosome 5, dans la région q11.2-13.3 (**Figure6**) (Brzustowicz et al, 1990 ; Gilliam et al, 1990 ; Melki et al, 1990b ; Melki et al, 1990a)[83][84][85]. Chez l'homme, le locus SMA est situé dans une région génomique très complexe qui contient des séquences répétitives, des pseudogènes et des séquences analogues à des transposons. Ces

observations suggèrent qu'il s'agit d'une région très instable (Francis et al, 1993 ; Kleyn & Gilliam, 1993 ; Kleyn et al, 1993 ; Melki et al, 1994) [86][87][88]. Une caractérisation plus poussée a mis en évidence une région chromosomique particulière constituée d'une duplication inversée d'environ 500 kb dont chaque élément contient 4 gènes. Le gène *SMN* (*Survie des MotoNeurones*) (Lefebvre et al, 1995)[89], le gène codant la protéine NAIP (*Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein*) (Roy et al, 1995)[90], le gène codant la protéine p44, qui est une sous-unité du facteur de transcription TFIIF, et enfin le gène *H4F5*, dont la fonction est inconnue (Burglen et al, 1997 ; Scharf et al, 1998)[91][92]. Pour chacun de ces gènes une copie télomérique et une copie centromérique sont présentes (**Figure6**). Chez l'homme, il existe donc deux gènes codant la protéine SMN : *SMN1* (OMIM #600354) et *SMN2* (OMIM #601627). La duplication est également retrouvée chez les primates (Rochette et al, 2001), cependant la copie *SMN2* est propre à l'homme. Par contre, chez toutes les autres espèces, un seul gène code la protéine SMN (pour revue, Paushkin et al, 2002)[93][94]. Les plus petites délétions caractérisées chez les patients atteints de SMA ont permis d'identifier le gène *SMN* comme le gène dont la mutation entraîne la SMA (Lefebvre et al, 1995)[89]. Il se compose de 27 kb réparties en 9 exons qui sont retrouvés dans un ARNm de 1,7 kb (Burglen et al, 1996)[95]. Le codon stop est situé juste après l'exon 7, ainsi l'exon 8 est non codant. La copie télomérique du gène *SMN* appelée *SMN1* ou *SMNt* est absente chez 95% des patients atteints de SMA et elle présente des mutations faux-sens, non-sens ou encore des décalages du cadre de lecture chez les 5% restants (Lefebvre et al, 1995)[89]. La copie centromérique du gène *SMN*, homologue à 99 % à la copie télomérique est appelée *SMN2* ou *SMNc* (Lefebvre et al, 1995)[89]. Les 2 gènes sont transcrits. L'analyse de leurs promoteurs a montré que ces éléments sont quasiment identiques tant au niveau de leur séquence qu'au niveau de leur activité (Echaniz-Laguna et al, 1999 ; Monani et al, 1999)[96][97]. Le gène *SMN2* est présent chez tous les patients, alors qu'il est absent chez 5 % des individus non atteints (Lefebvre et al, 1995), sans aucune conséquence clinique, ce qui indique qu'il n'est pas indispensable à la survie des motoneurones. C'est à partir de ces observations que le gène *SMN1* et non le gène *SMN2* a été reconnu comme le gène lié à la maladie (Lefebvre et al, 1995)[89].

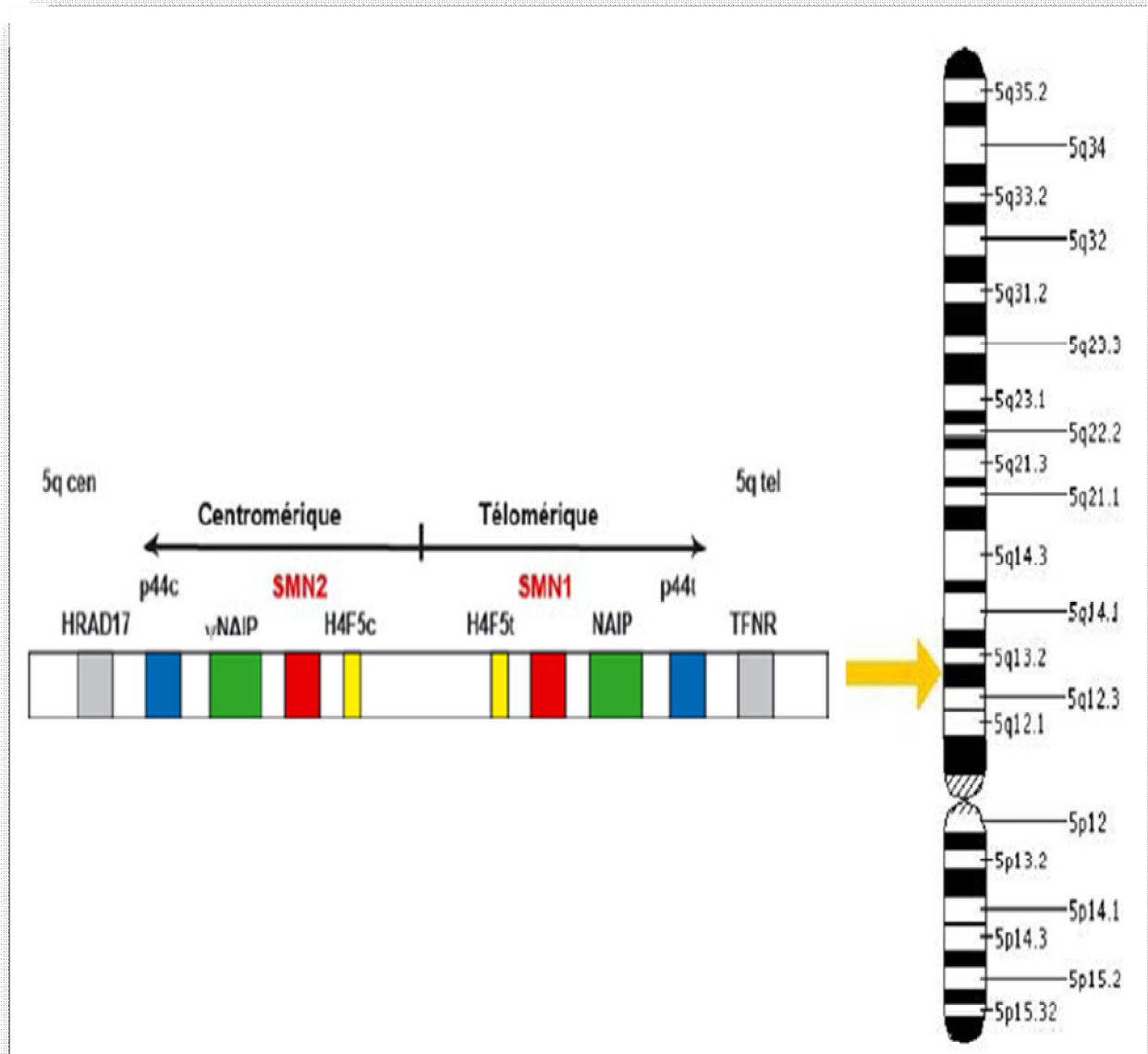


Figure 6: Structure du locus SMA,

Le locus SMA est situé à l'extrémité centromérique du bras long du chromosome 5 en position 5q11.2-13.3. Le locus SMA contient les gènes SMN1 et 2 dans une région dupliquée centromérique et télomérique. Cette région contient également trois autres gènes : p44, NAIP et H4F5. D'après Lefebvre et al, 1995.

7-3-Le gène SMN :

En janvier 1995, SMN a été identifié comme le gène responsable des amyotrophies spinales proximales liés au chromosome 5, ce gène est présent en deux copies :

*Une copie télomérique ou SMNt (SMN1) composée de 20Kpb constitué de 9 exons ; 1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 qui sont exprimés en un transcrit de 1,7 Kilobases (Kb) (Burglen et al ; 1996 ; Chen et al ; 1998), le codon stop est situé après l'exon 7, et l'exon 8 est non codant (Lefebvre et al ; 1995), SMNt code pour une protéine de 32Kda (294 acides aminés). [95][98][89]

*Et une copie centromérique ou encore appelée SMNc qui est homologue à la copie télomérique à 99% (Monami et al ; 1999). [97]

Le gène *SMN1* se distingue du gène *SMN2* uniquement par 5 paires de bases (1 dans l'intron 6, 1 dans l'exon 7, 2 dans l'intron 7 et 1 dans l'exon 8) (**Figure 7**). Ces différences n'ont aucun effet sur la séquence en acides aminés de la protéine car elles sont silencieuses (Lefebvre et al, 1995 ; Burglen et al, 1996 et pour revues, Wirth, 2000 ; Wirth et al, 2006a). [89][95][99][100]

Les ARNm obtenus à partir des 2 gènes sont identiques à l'exception de 2 nucléotides situés dans les exons 7 et 8. Plus précisément, une transition en position +6 de l'exon 7 est responsable de l'épissage alternatif de l'ARN pré-messager du gène *SMN2*. Quand le nucléotide est une cytosine (C) comme dans le gène *SMN1*, l'exon 7 est reconnu et inclus dans la protéine. Si c'est une thymine (T), comme dans le gène *SMN2*, l'exon 7 est exclu de la majorité des ARNm (**Figure 7**). Les mécanismes gouvernant l'épissage alternatif de l'ARN pré-messager du gène *SMN2* restent encore peu clairs. Deux hypothèses ont été proposées pour l'expliquer (**Figure 8**) (pour revues, Wirth et al, 2006a ; Singh, 2007)[100][101]. Au moins trois éléments activateurs d'épissage (*exonic splicing enhancer* [ESE]) sont contenus dans l'exon 7. La transition pourrait soit interrompre un élément activateur de l'épissage de l'exon 7 liant le facteur d'activation de l'épissage ASF/SF2. Cet événement causerait alors le saut de l'exon 7 (Cartegni & Krainer, 2002 ; Cartegni et al, 2006)[102][103]. Soit la transition dans l'exon 7 crée un élément inhibiteur de l'épissage

(*exonic splicing silencer* [ESS]) permettant la fixation d'un répresseur de l'épissage, hnRNP-A1. La liaison du répresseur sur l'exon 7 du gène *SMN2* réprimerait alors son inclusion (Kashima & Manley, 2003 ; Kashima et al, 2007).[104][105]

Ces deux modèles ne sont pas mutuellement exclusifs et il est possible que les deux mécanismes coexistent (**Figure8**). Les ARNm complets sont donc presque exclusivement produits par le gène *SMN1* alors que la forme prédominante codée par le gène *SMN2* (90 % environ) est dépourvue de l'exon 7 (Lefebvre et al, 1995 ; Gennarelli et al, 1995) [89][106](**Figure8**). L'ARNm tronqué code une protéine raccourcie de 16 résidus du côté carboxy-terminal, qui est instable *in vivo* (Vitte et al, 2007).[107]

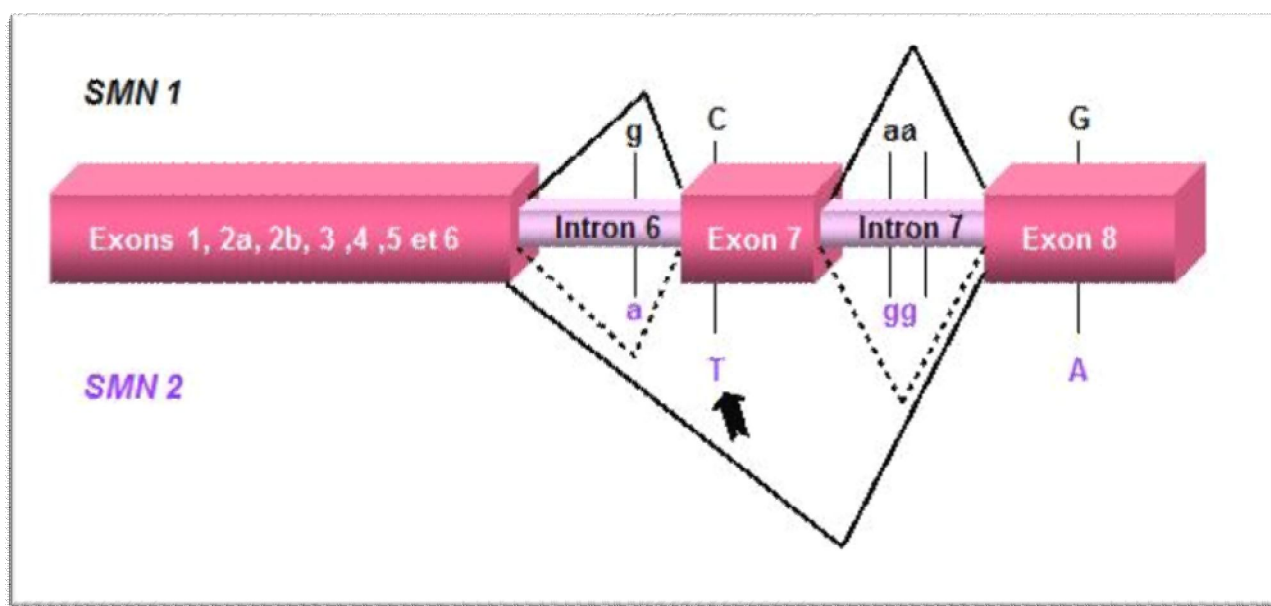


Figure 7 : Différences de séquence primaire et d'épissage entre les transcrits SMN1 et SMN2

Le gène SMN2 diffère en 5 positions par rapport au gène SMN1. La substitution d'une cytosine (C) en thymine (T) dans l'exon 7 du transcrit du gène SMN2 (voir flèche) entraîne un épissage alternatif de l'exon 7. Les traits pleins représentent les séquences de l'ARN pré-messager majoritairement épissées. Les traits en pointillés représentent les séquences minoritairement épissées. Pour revue, Wirth et al, 2006a.

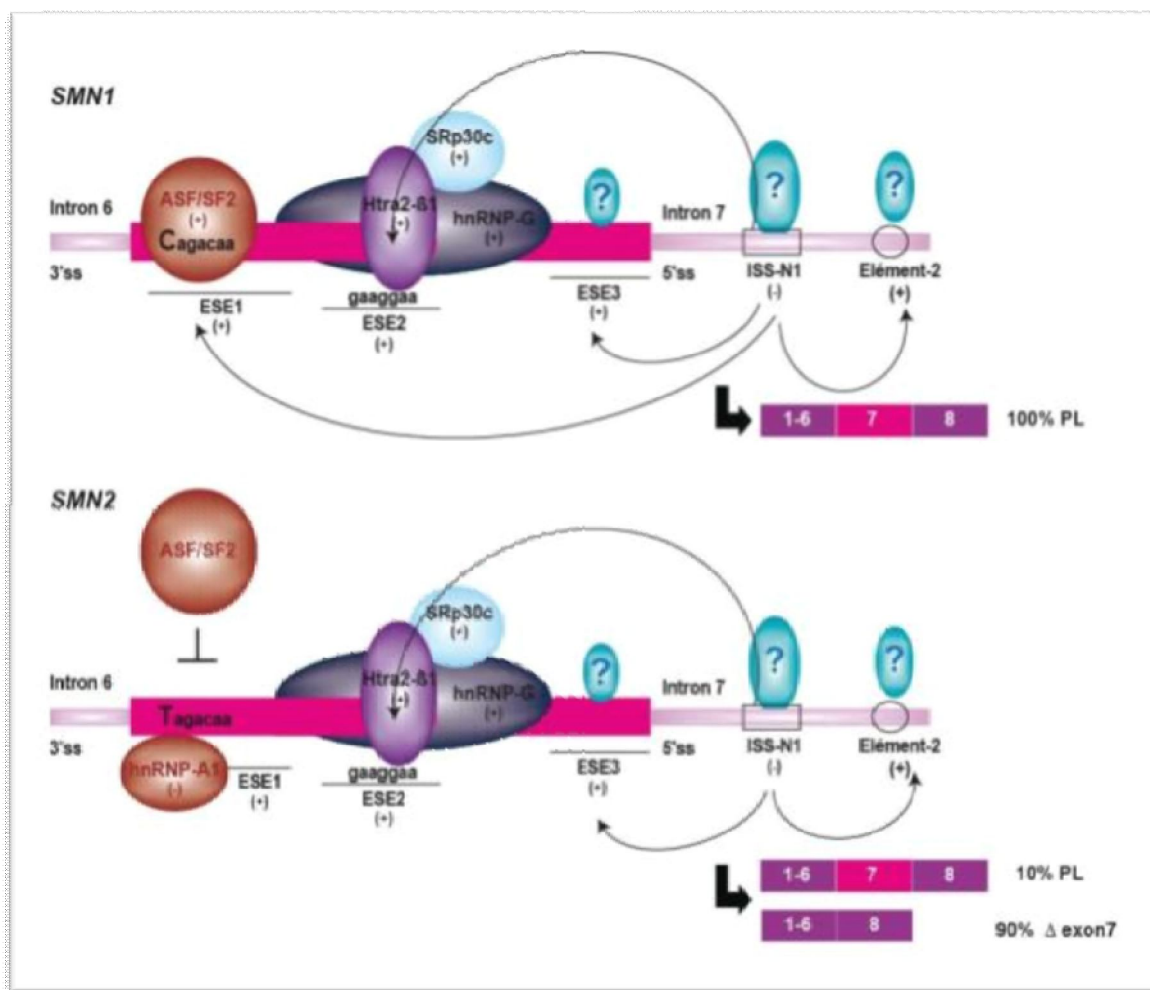


Figure 8 : Modèle de régulation de l'épissage de l'exon 7

L'exon 7 de SMN1 contient une séquence heptamérique (ESE1) à son extrémité 5' reconnue par la protéine SR : ASF/SF2. Dans SMN2, la transition de C vers T empêcherait la fixation de ASF/SF2, ce qui entraînerait le saut de l'exon 7. De plus, la transition de C vers T favoriserait l'effet inhibiteur de hnRNP-A1 et faciliterait l'exclusion de l'exon 7. Les gènes SMN1 et SMN2 contiennent tous deux un ESE dans la partie centrale de l'exon 7 (ESE2) qui est reconnu par Htra2-β1 et ses partenaires d'interaction hnRNP-G et SRp30c. Ensemble, ils facilitent l'inclusion de l'exon 7 dans les gènes SMN1 et SMN2. Les transcrits pleine longueur (PL) de SMN seraient produits seulement lorsque le domaine ESE2 est intact. De plus, l'exon 7 contient à son extrémité 3' un site ESE3, un autre élément activateur de l'épissage de l'exon. Dans l'intron 7, un site ISS (ISS-N1) pourrait exercer ses fonctions inhibitrices sur l'inclusion de l'exon 7. ESE : exonic splicing enhancer. ISS : intonic splicing silencer. Pour revue Wirth et al, 2006a.

7-4-La protéine SMN :

Le gène *SMN1* code pour la protéine SMN (*Survival Motor Neuron*) qui est une protéine de petite taille (38 KDa) comportant 294 acides aminés. Elle ne possède aucune homologie significative avec des protéines déjà connues (Lefebvre *et al.* 1995)[89]. Elle est codée par le gène *SMN1* et sa copie centromérique *SMN2* (Covert *et al.* 1997) [108]. *SMN2*, subissant un épissage alternatif, donne lieu à deux types de transcrits dont l'un ne possède pas l'exon 7. Il en résulterait une protéine proche de SMN ne différant d'elle que par son extrémité « C-terminale » (Lefebvre *et al.* 1995) [89].

La protéine SMN, produit du gène *SMN*, est d'expression ubiquitaire. Elle est exprimée dans le cytoplasme et le noyau des cellules de nombreux tissus de l'organisme, notamment la moelle épinière, le muscle, l'os, le cœur, le cerveau et le foie. Elle est présente dans le cytoplasme et le noyau des cellules. D'autres tissus dans lesquels la protéine est exprimée à l'état normal semblent apparemment épargnés par la maladie. Les mécanismes moléculaires intimes qui déterminent son mode d'action et son rôle exact ne sont pas entièrement élucidés. Dans le noyau, la protéine SMN est localisée au sein de structures nucléaires particulières appelées Gems pour *gemini of coiled bodies*(FIGURE 10). Les Gems semblent être étroitement associés aux corps de Cajal (ou *coiled bodies*). Les corps de Cajal contiennent un niveau élevé de *small nuclear ribonucleoproteins* (snRNP) qui jouent un rôle clé dans le mécanisme de l'épissage (Liu and Dreyfuss 1996) [109]. Son niveau d'expression est étroitement corrélé au phénotype morbide, les formes sévères allant de pair avec de très faibles quantités de protéine SMN intracellulaire sans homologie avec d'autres protéines connues, ce n'est ni une protéine circulante, ni une protéine de structure. L'insuffisance de production de protéine SMN fonctionnelle est à l'origine de la SMA. La sévérité de la maladie est corrélée au taux de protéine SMN, les formes les plus sévères étant associées à des faibles taux de protéine. (Lefebvre *et al.* 1997) [110]. D'autres tissus dans lesquels la protéine est exprimée à l'état normal semblent apparemment épargnés par la maladie. Les mécanismes moléculaires intimes qui déterminent son mode d'action et son rôle exact ne sont pas entièrement élucidés. Il est cependant établi avec certitude que SMN est une protéine qui a la propriété de lier l'ARN, cette propriété relevant d'une séquence

particulière située au niveau de son extrémité C-terminale, la mutation du gène est fréquemment localisée au niveau de la partie codant l'extrémité C-terminale altérant donc sa liaison avec l'ARN, son action s'exerce par le biais d'un complexe protéique macromoléculaire dont les composants ne sont pas encore tous identifiés, SMN intervient dans le processus menant à la maturation de certains transcrits indispensables à la survie du motoneurone, le trouble du métabolisme de l'ARN est le ou l'un des facteurs les plus déterminants dans la physiopathologie de la maladie, l'action de SMN est potentialisée par son interaction synergique avec d'autres protéines intervenant comme facteurs de survie des motoneurones.

La protéine SMN appartient à un complexe multiprotéique composé de SMN sous forme oligomérisée, de Gemines, d'Unrip (*Unr-interacting protein*) et de protéines Sm (*RNA binding proteins*). Le complexe SMN intervient dans l'assemblage des snRNP (*small nuclear ribonucleoproteins*) du spliceosome dans le cytoplasme. Le complexe SMN permet la liaison des protéines Sm aux snRNAs. Les snRNP ainsi formés pourront subir une hyperméthylation de la coiffe et une maturation de l'extrémité 3 et être importés dans le noyau (**Figure 9**). Dans le noyau, les snRNP participent à l'épissage des ARN pré-messagers (Paushkin *et al.* 2002) (Pellizzoni, Yong, and Dreyfuss 2002) (Gabanella *et al.* 2007) [94][111][112].

Zhang *et al.* ont montré, chez des modèles murins, que le déficit en protéine SMN est responsable de défauts d'épissage de divers gènes et dans différents tissus tels que la moelle épinière, le cerveau et le rein, suggérant que la SMA est une maladie générale de l'épissage (Zhang *et al.* Cell 2008) [113]. Il est intéressant de souligner que, chez un patient atteint d'une forme sévère de SMA, a été observé un effondrement du complexe mineur tri-snRNPs U4atac/U6atac/U5, associé à des anomalies d'épissage de certains introns, démontrant un lien entre le déficit en protéine SMN et les altérations d'épissage (Boulisfane *et al.* 2011) [114]. A ce jour, aucun lien causal n'a pu être établi entre les anomalies d'épissage et la pathogenèse de la SMA, en particulier l'atteinte spécifique du motoneurone.

Par ailleurs, d'autres études suggèrent un rôle spécifique de la protéine SMN dans les cellules neuronales. Des études, chez le zebrafish et chez des modèles murins de SMA, ont montré un rôle spécifique de la protéine SMN dans la croissance névritique, la différenciation neuronale, la maturation des voies axonales et le développement de la jonction neuromusculaire (Fan and Simard 2002) (McWhorter *et al.* 2003) (Shafey, MacKenzie, and Kothary 2008) [115][116][117]. Enfin, d'autres études se sont intéressées à l'implication de la dynamique du cytosquelette dans la pathogenèse de la SMA. En effet, les modifications de la dynamique du cytosquelette interviennent dans l'axonogenèse des motoneurones. Des observations ont suggéré un lien, dans la SMA, entre le défaut de protéine SMN et la dérégulation du cytosquelette, à l'origine d'un défaut dans l'axonogenèse (Bowerman, Shafey, and Kothary 2007) (Oprea *et al.* 2008) (Bowerman *et al.* 2009) (Wen *et al.* 2010) [118][119][120][121].

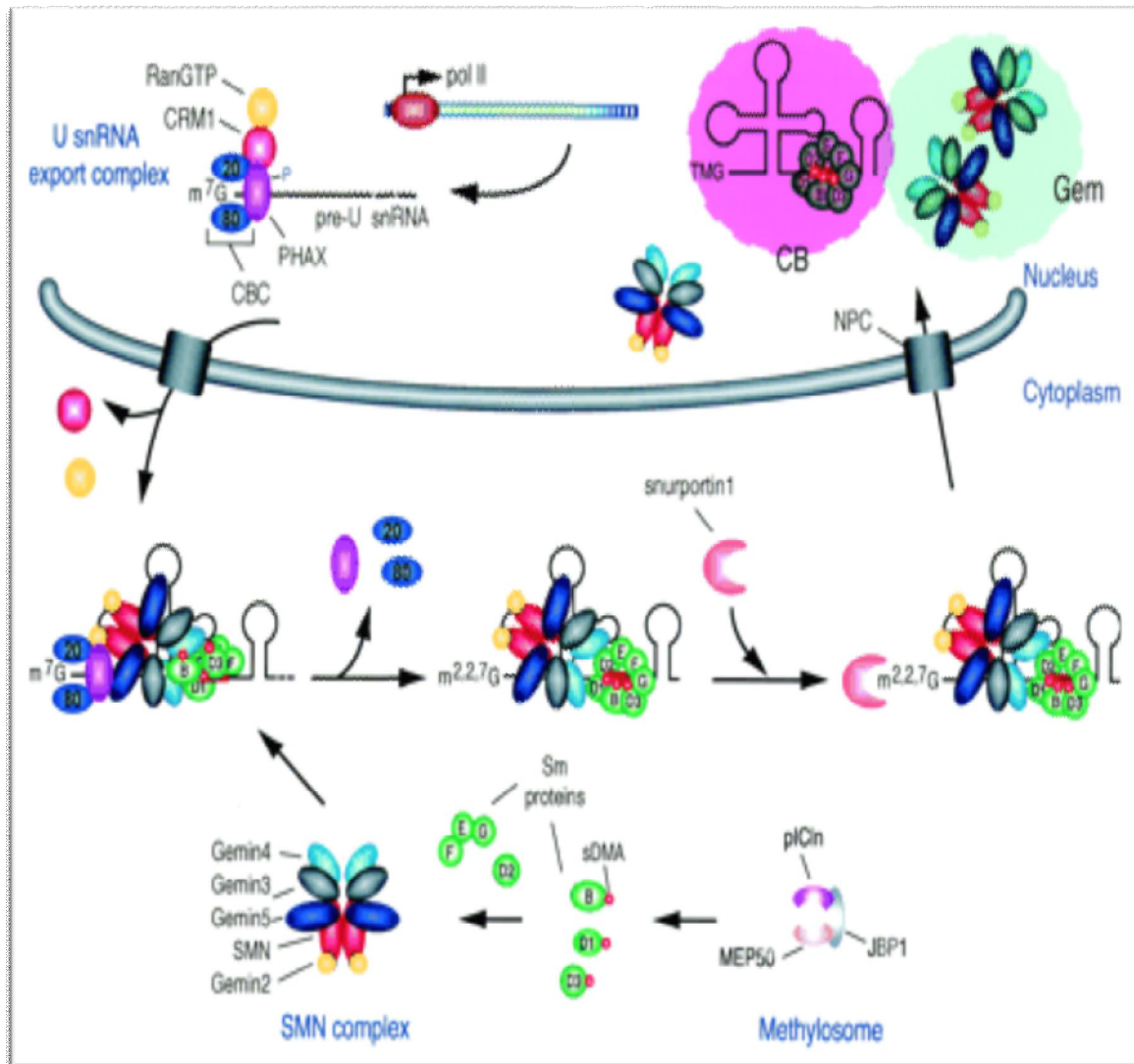


Figure 9 : Rôle de la protéine SMN dans la biogenèse des snRN (SnRNA: small nuclear RNA; CB: Cajal body; NPC: nuclear pore complex D'après Paushkin et al. (Paushkin et al. 2002)

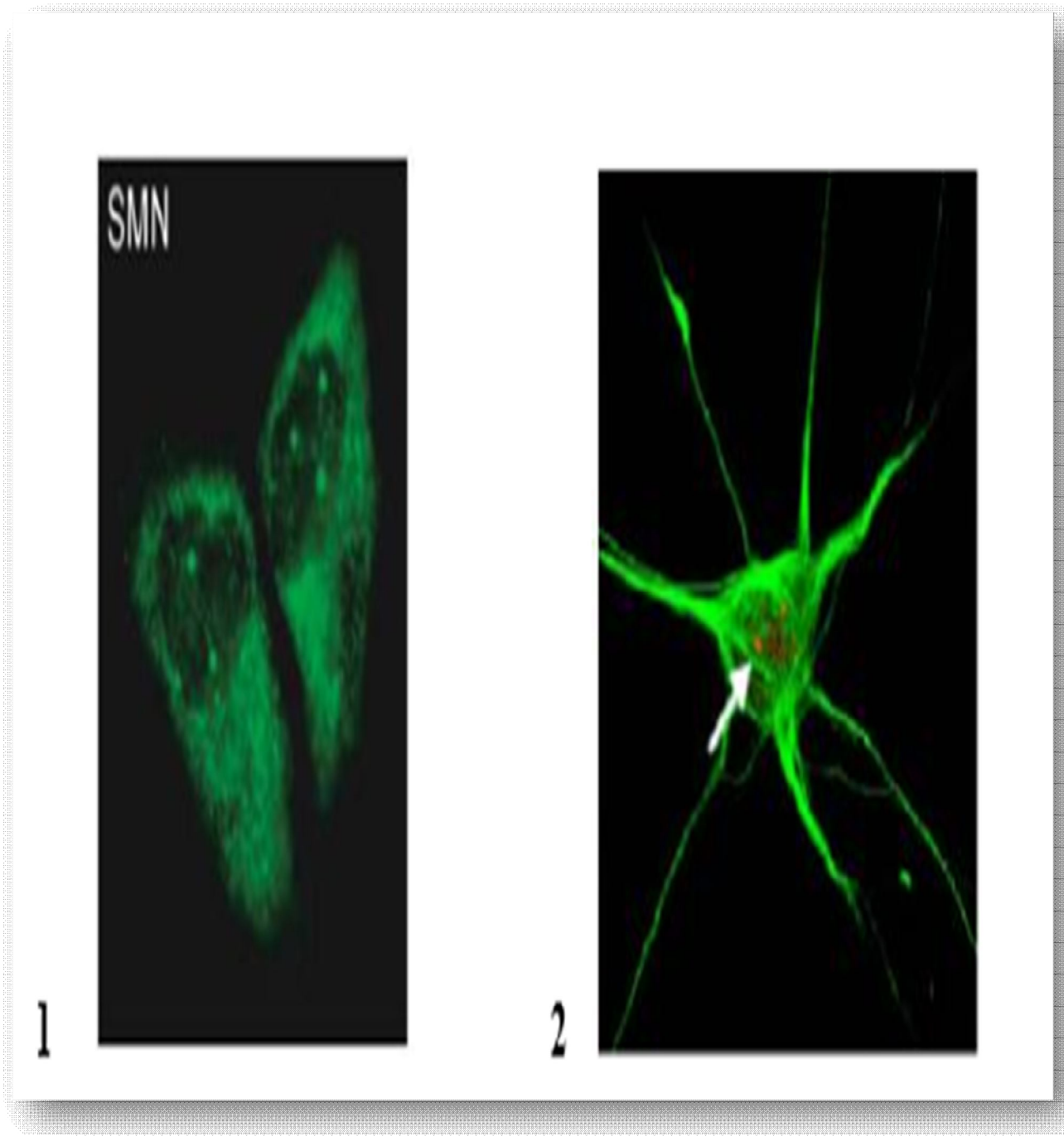


Figure 10 : Localisation de la protéine SMN dans les Gems (1) ; et dans les motoneurones (2).

7-5-Pathologie moléculaire du gène SMN :

***Les délétions :**

Le gène *SMN* est absent ou tronqué chez environ 95% des malades atteints de SMA (Lefebvre *et al.* 1995 ; Cobben *et al.* 1995 ; Hahnen *et al.* 1995), toutes formes confondues. Malgré leur hétérogénéité clinique, l'homogénéité génétique des différents types de SMA est établie. La copie *SMN1* est modifiée (absente ou tronquée) chez 95% des malades toutes formes confondues. Elle est toujours présente dans une population contrôle. La copie *SMN2* n'est présente que dans 95% d'une population contrôle. Elle peut être présente sans empêcher la maladie lorsque *SMN1* est tronquée. Elle peut être tronquée sans entraîner la maladie lorsque *SMN1* est présent. Les deux gènes ne sont jamais simultanément absents chez un individu. L'absence simultanée du gène *SMN1* et de sa copie centromérique, *SMN2*, est probablement létale [89][122][123].

Le diagnostic moléculaire est basé sur la recherche de la délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN1* car l'existence de gènes hybrides rend la recherche des autres divergences moins fiables. Les mécanismes moléculaires responsables de la perte de *SMN1* dans les allèles sont de deux types :

1. Une délétion complète de *SMN1* qui peut parfois également emporter *SMN2*
2. Une conversion génique qui augmente ainsi le nombre de copies de *SMN2*.

Dans environ 2% des cas, ces remaniements surviennent au moment de la conception (événement *de novo*). La description de mutations ponctuelles a confirmé le rôle primordial de *SMN1*. La plupart des mutations sont retrouvées dans les exons 3, 6, et 7 siège d'importants domaines fonctionnels (« Tudor », domaines de dimérisation et de liaison aux facteurs d'épissage et aux ARN). Les patients sont hétérozygotes composites, porteurs d'une délétion de *SMN1* sur un chromosome et d'une mutation sur la seule copie présente. Les nouvelles mutations sont dues essentiellement à des crossing-over inégaux survenant entre unités répétitives au cours des méioses paternelles, il en résulte des délétions de taille variable. Ce statut peut toucher toutes les formes des SMA. La recherche de la délétion hétérozygote est donc un préalable à la recherche de mutations et ceci chez des patients au

diagnostic clinique certain, confirmé par la biopsie musculaire et la mesure de s vitesses de conduction nerveuse. Dans les familles consanguines, il est indispensable d'étudier l'homozygotie du locus 5q13 avant d'entamer la recherche de mutations. L'absence du gène SMN1 à l'état homozygote est plus fréquemment observée chez les patients atteints de SMA I et II (96% et 94% respectivement) que chez les patients atteints de SMAIII. Alors que la majorité des patients SMAI sont porteurs de réelles délétions de SMN1, la majorité des patients de type II et III présentent une absence du gène SMN 1 à l'état homozygote en raison de la conversion de SMN1et SMN2, il y a donc augmentation du nombre de copies du gène SMN2 (Wirth et al, 1999). Cette conversion porte soit sur le gène entier, soit sur une partie de celui-ci. Dans ce dernier cas, des gènes SMN hybrides possèdent en général l'exon 7 du gène SMN2 et l'exon 8 du gène SMN1. [124]

***Les mutations ponctuelles :**

Environ 5% des patients atteints de SMA ne présentent pas de délétion du gène *SMN1* mais des mutations dans ce gène (**Tableau**). A l'heure actuelle, 40 mutations ont déjà été identifiées, parmi lesquelles des mutations non-sens et faux-sens, des décalages du cadre de lecture, des inversions et des mutations dans un site d'épissage. La plupart des mutations faux-sens sont localisées dans une région très conservée des exons 6 et 7 (Y272C, T274I, G275S et G279C/V) ces mutations réduisent la capacité d'oligomérisation de la protéine SMN. Si on compare la SMA à d'autres maladies génétiques dans lesquelles le gène est complètement absent, la SMA présente l'avantage d'ouvrir des perspectives thérapeutiques simples et certainement efficaces consistant à réguler la transcription du gène SMN afin de promouvoir l'apparition de la forme intacte de la protéine exprimée par SMN2. (Talbot et al, 1997 ; Hahnen et al, 1997 ; Lorson et al, 1998 ; Sun et al, 2005). [125][126][127][128]

La mutation E134K est une autre mutation fréquemment retrouvée (**Tableau2**) qui abolirait l'interaction de la protéine SMN avec certains de ces partenaires protéiques tels que les protéines Sm (Buhler et al, 1999). [129]

Nomenclature standard de changement de nucléotides	Changement d'un seul acide aminé	Autre nomenclature utilisée dans la littérature	Site de mutation	Type de mutation	Type de SMA
5C>G (Parsons et al. 1998)	A2G	38C>G	Exon 1	Faux sens	II, III
22_23insA (ou 22dupA) (Tsai et al. 2001)				Décalage du cadre de lecture	I ou II
43C>T (Wirth et al. 1999)	Q15X	78C>T		Non sens	I, III
81_81+1insG (ou 81dupG) (Skordis et al. 2001)		Q27insG		Décalage du cadre de lecture	II
91_92insT (ou 91dupT) (Wirth et al. 1999)		124insT	Exon 2a	Décalage du cadre de lecture	I
208_209insGTGT (Wirth et al. 1999)		241-242ins4	Exon 2b	Décalage du cadre de lecture	III
275G>C (Kotani et al. 2007)	W92S		Exon 3	Faux sens	I
305G>A (Sossi et al. 2001)	W102X			Non sens	II, III
(Cusco et al. 2004)	I116F			Faux sens	I
399_402delAGAG (Bussaglia et al. 1995 ; Cusco et al. 2003 ; Martin et al. 2002)		430del4		Décalage du cadre de lecture	I, II, III
400G>A (Sossi et al. 2001 ; Wirth. 2000)	E134K	433G>A		Faux sens	I
(Cusco et al. 2004)	Q136E			Faux sens	I
439_443delGAAGT (Brabe et al. 1996 ; Sossi et al. 2001)		425del5, 472del5		Décalage du cadre de lecture	I
509_510delGT (Parsons et al. 1998)		542delGT	Exon 4	Décalage du cadre de lecture	I, II, III
558delA (Wirth et al. 1999)		591delA		Décalage du cadre de lecture	II
585_586insT (ou 585dupT) (Wirth. 2000)		618insT		Décalage du cadre de lecture	I
683T>A (Tsai et al. 2001)	L228X		Exon 5	Non sens	I ou II
734C>T (Rochette et al. 1997)	P245L	767C>T	Exon 6	Faux sens	III
740_74insC (ou 472dupC) Martin et al. 2002)		773insC		Décalage du cadre de lecture	III
768_778dupTGCTGATGCTT (ou 770_780dupCTGATGCTTTG) (Parsons et al. 1996 ; Parsons et al. 1998 ; Martin et al. 2002 ; Wirth. 2000)		813ins/dup11, 800ins11		Décalage du cadre de lecture	I, II
785G>T (Hahnen et al. 1997 ; McAndrew et al. 1997)	S262I	818G>T		Faux sens	III
815A>G (Lefebvre et al. 1995 ; Rochette et al. 1997 ; Wirth et al. 1999 ; Wirth. 2000)	Y272C	848A>G		Faux sens	I, II, III
821C>T (Wirth et al. 1999 ; Wirth. 2000)	T274I	854C>T		Faux sens	II, III
823G>A (Skordis et al. 2001)	G275S			Faux sens	III
834+2T>G (ou IVS6+2T>G) (Martin et al. 2002)		c.867+2T>G	Intron 6	Site d'épissage	I
IVS6-18_IVS6-12delCCTTTAT (Lefebvre et al. 1995 ; Wirth. 2000)		c.868-11del7		Site d'épissage	I
IVS6-2A>G (Eggermann et al. 2008)		c.868-2A>G		Site d'épissage	I
835G>T (Wang et al. 1997)	G279C	868G>T	Exon 7	Faux sens	II, III
836G>T (Talbot et al. 1997)	G279V	869G>T		Faux sens	I
IVS7+4_IVS7+7delAGTC (Lefebvre et al. 1995 ; Wirth. 2000)		c.922+3del4	Intron 7	Site d'épissage	II
IVS7+6T>G (Wirth et al. 1999)		c.922+6T>G		Site d'épissage	III
EX8del (Gambardella et al. 1998)			Exon 8	Délétion	II, III

Tableau2: Principales mutations ponctuel 2 du gène SMN1 décrites chez les patients atteints d'amyotrophie spinale. (Ins : Insertion, Dup : Duplication, Del : Deletion)

7-6-Gènes modificateurs :

***NEURONAL APOPTOSIS INHIBITORY PROTEIN (NAIP) :**

Identifié simultanément à *SMN* par l'équipe canadienne d'Alex Mackenzie (Roy et al. 1995), La taille de ce gène est de 5,5 KD, il contient 17 exons (Chen et al. 1998). *NAIP* ou *Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein* code une protéine à forte homologie avec une protéine prévenant l'apoptose de cellules d'insectes. Localisée à l'intérieur de la cellule, elle interviendrait dans le processus programmé naturel de la mort cellulaire. La délétion du gène *NAIP* entraînerait l'absence de cette protéine et la survenue précoce de la mort motoneuronale. *NAIP* est voisin et proche de *SMN*, en position distale par rapport à ce dernier. Il est également dupliqué en miroir du côté centromérique du chromosome. [90][98]

***P44, FACTEUR DE TRANSCRIPTION :**

Le gène *P44* code l'une des sous-unités du complexe de transcription générale TFIIH (Burglen et al. 1996). *P44* est voisin de *NAIP*, en position télomérique par rapport à lui. La mutation de *p44* est retrouvée chez 15% des malades atteints de SMA, toutes formes confondue (Carter et al. 1997). Il est cependant plus fréquemment mis en cause dans le type I que dans les types II et III. [95][130]

*** Le gène H4F5 :**

En 1998, un autre gène candidat est identifié au niveau de l'extrémité 5' du gène *SMN*, ce gène appelé H4F5 ou SERF1 ; se compose de 6,5Kb contient dans le dernier intron le marqueur polymorphique 212 qui est délété dans les SMA type I. De nouvelles études ont montré que SERF est une protéine nucléaire, son rôle reste mal défini. (Burglen et al, 1997 ; Scharf et al, 1998) [91][92]

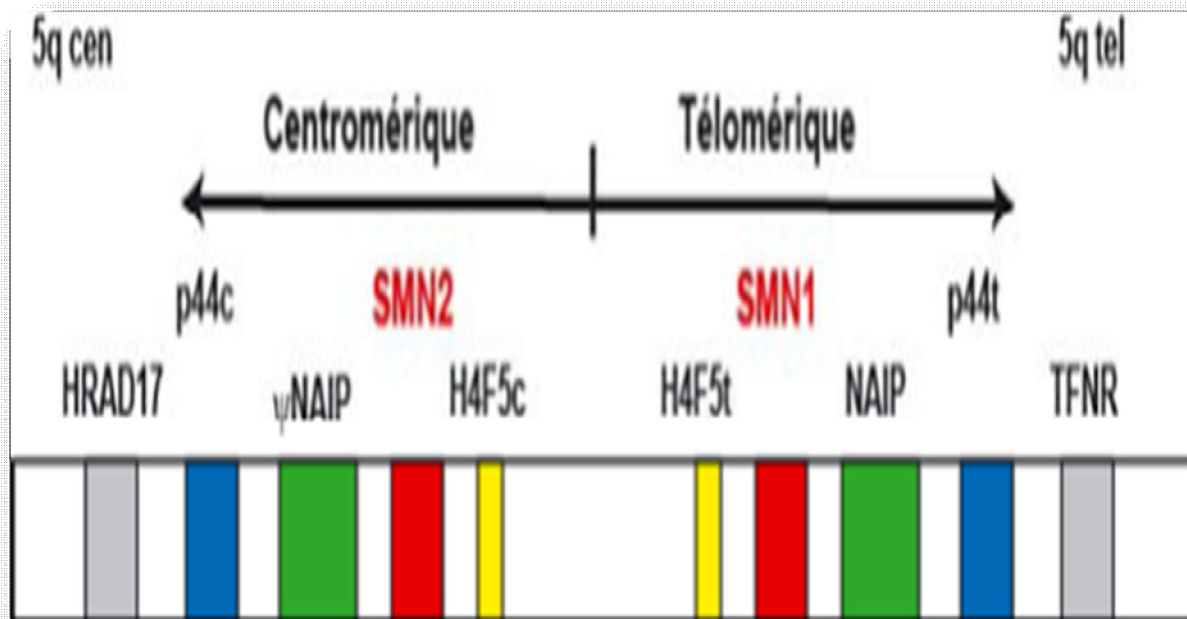


Figure 11: Organisation génomique du locus SMA. (Région 5q11-q13)

Les 04 gènes *SMN*, *NAIP*, *P44* et *H4F5* sont dupliqués en miroir du côté centromérique du chromosome 5.

7-7-Corrélation génotype-phénotype:

Il existe une très grande variabilité dans la sévérité des différentes présentations cliniques associées à la SMA. Cette variabilité est expliquée en grande partie par la présence d'un gène modificateur, le gène *SMN2*. Les gènes modificateurs représentent des cibles thérapeutiques potentielles et la connaissance de ces gènes et de leurs rôles est un enjeu important pour l'élaboration de pistes thérapeutiques dans la SMA.

*** Gène *SMN2*, principal gène modificateur de la SMA :**

Le locus 5q11q13 comporte un élément inversé répété de 500 Kb. Le gène *SMN1* se situe dans la partie télomérique de cette région. Dans la partie centromérique de la région 5q11q13, se trouve une copie presque identique au gène *SMN1*, le gène *SMN2* (Lefebvre *et al.* 1995) [89a] (**Fig. 12**).

Le nombre de copies du gène *SMN2* est variable d'un individu à un autre, allant de 0 à 4 et rarement 5 copies (Prior *et al.* 2004)[131] (**Tableau 3**). La présence d'un grand nombre de copies du gène *SMN2* chez des individus porteurs d'une délétion du gène *SMN1* pourrait être expliquée par un phénomène de conversion génique par lequel le gène *SMN2* serait copié au locus télomérique (Burghes 1997) [91]. La séquence des gènes *SMN1* et *SMN2* ne diffère que de 5 nucléotides, ces différences n'entraînant aucune modification sur la séquence d'acides aminés (Lefebvre *et al.* 1995) [89a]. Cependant, le gène *SMN2* n'est que partiellement fonctionnel. En effet, la substitution nucléotidique synonyme en position +6 de l'exon 7 (c.840C>T, p.Phe280Phe) altère un site exonique activateur d'épissage, entraînant l'absence d'inclusion de l'exon 7 dans la majorité des transcrits du gène *SMN2* (Lorson and Androphy 2000)[132]. Ces transcrits aboutissent à la production d'une protéine tronquée qui est instable et rapidement dégradée (Lorson *et al.* 1999) (Monani *et al.* 1999) [133][97]. Un faible taux de transcrit contenant l'exon 7 est toutefois produit à partir du gène *SMN2*. Le gène *SMN1*, quant à lui, produit exclusivement des transcrits pleine longueur (**Fig. 13**).

Génome normal	<i>SMN2</i> <i>SMN1</i> <i>SMN2</i> <i>SMN1</i>
Génome SMA : plusieurs possibilités	<i>SMN2</i> absent absent absent
	<i>SMN2</i> absent <i>SMN2</i> absent
	<i>SMN2</i> <i>SMN2</i> <i>SMN2</i> absent
	<i>SMN2</i> <i>SMN2</i> <i>SMN2</i> <i>SMN2</i>

Tableau 3: Nombre de copies du gène *SMN2* dans un génome normal et dans un génome SMA.

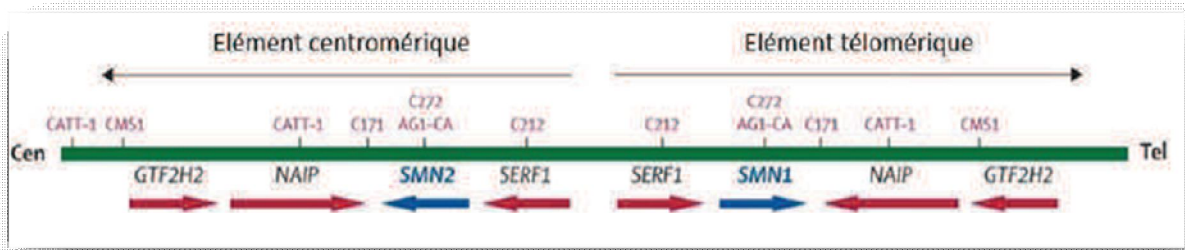


Figure 12 : Elément inversé répété de 500 Kb en 5q11q13 D.après Lunn et Wang (Lunn and Wang 2008)

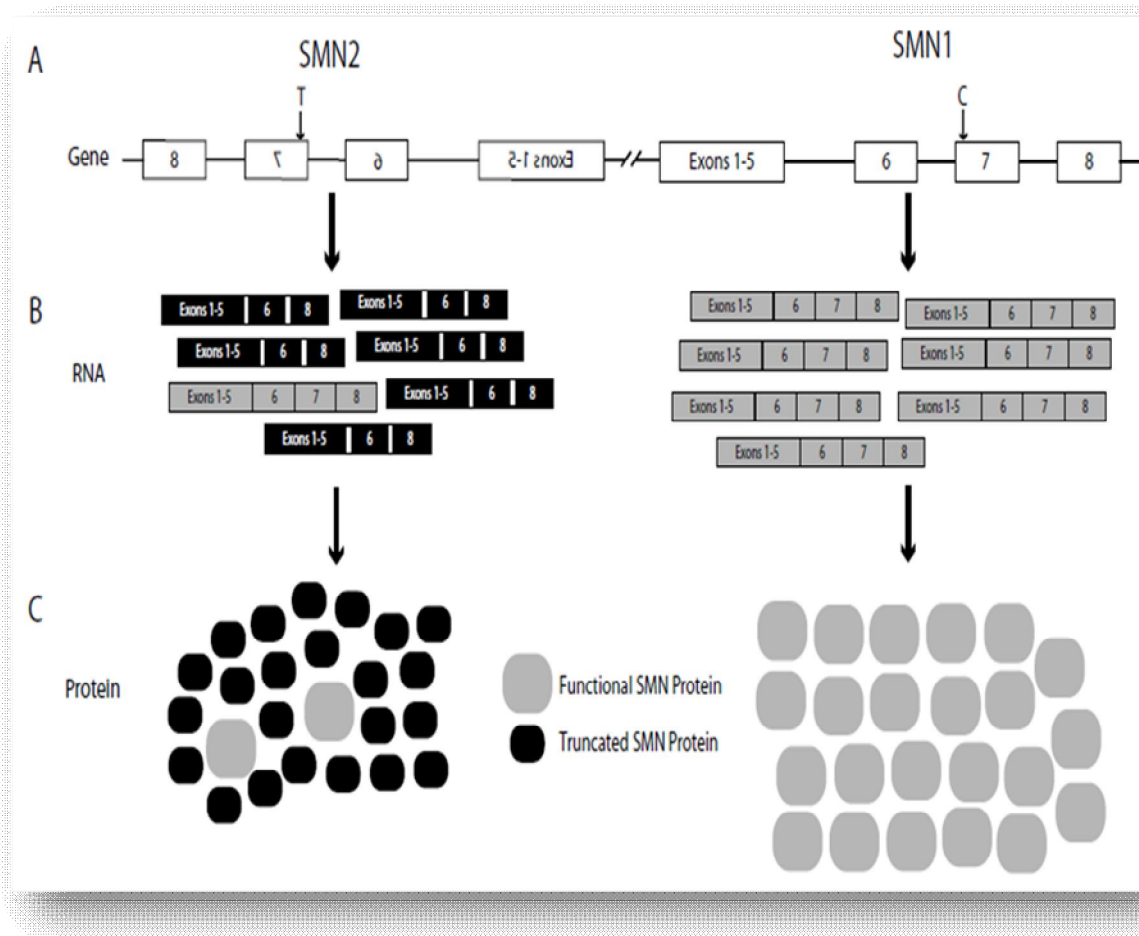


Figure 13 : Production de la protéine SMN à partir des gènes *SMN1* et *SMN2*

Dans la SMA, le gène *SMN2*, par la production d'un faible taux de protéine SMN fonctionnelle, ne compense que partiellement l'absence du gène *SMN1*. Plus le nombre de copies du gène *SMN2* est élevé, plus la production de protéine SMN fonctionnelle est importante et plus la sévérité du phénotype est atténuée. Ainsi, la sévérité de la présentation clinique dans la SMA est inversement corrélée au nombre de copies du gène *SMN2*. Feldkötter *et al.* ont analysé le nombre de copies du gène *SMN2* chez 375 patients atteints de SMA de différents types. 73% des patients atteints de SMA type I ont 2 copies du gène *SMN2*, 82% des patients atteints de SMA type II ont 3 copies du gène *SMN2* et parmi les patients atteints de SMA type III, 51% ont 3 copies du gène *SMN2* et 46% ont 4 copies du gène *SMN2* (Feldkötter *et al.* 2002)[134] (Tableau 4).

Il n'est pas décrit de patient porteur d'une délétion homozygote du gène *SMN1* associée à une délétion homozygote du gène *SMN2*, suggérant que ce génotype n'est pas viable (Lefebvre *et al.* 1995) (Rodrigues *et al.* 1996) [89][135]. Une délétion homozygote du gène *SMN1* associée à une seule copie du gène *SMN2* (génotype 0*SMN1*/1*SMN2*) correspond donc au plus faible taux de protéine SMN pouvant être produit.

Nombre de copies du gène <i>SMN2</i>	1	2	3	4
SMA Type I	6.9%	73.4%	19.7%	0%
SMA Type II	0.0%	10.9%	81.8%	7.3%
SMA Type III	0.0%	3.9%	50.6%	45.5%

**Tableau 4 : Distribution du nombre de copies du gène *SMN2* chez 375 patients atteints de SMA
D'après Feldkötter *et al.* (Feldkötter *et al.* 2002)**

Le gène *SMN2* représente une des principales cibles thérapeutiques dans la SMA. Des stratégies thérapeutiques en cours d'évaluation cherchent à moduler l'expression du gène *SMN2* ou à modifier l'épissage du gène pour générer des transcrits incluant l'exon 7 et augmenter la production de protéine SMN (Seo *et al.* 2013) [136]. Toutefois, la corrélation

entre le nombre de copies du gène *SMN2* et la sévérité de la maladie n'est pas absolue. En effet, un même nombre de copies du gène *SMN2* peut être associé à plusieurs types de SMA et pour un type de SMA donné, le nombre de copies du gène *SMN2* n'est pas toujours identique. De plus, de rares cas de discordance phénotypique intrafamiliale ont été rapportés dans la SMA. Plusieurs observations ont rapporté des patients asymptomatiques porteurs d'une délétion homozygote du gène *SMN1* avec le même haplotype que leurs frères ou sœurs atteints (Hahnen *et al.* 1995) (Cobben *et al.* 1995) (Wang *et al.* 1996) [123][122][137]. Par la suite, d'autres auteurs ont rapporté, chez des membres d'une même fratrie atteints de SMA et porteurs d'un nombre identique de copies du gène *SMN2*, une évolution variable de la maladie. Ces différences intrafamiliales ont été observées pour des patients porteurs de 2, 3 ou 4 copies du gène *SMN2* et concernaient le plus souvent des frères et sœurs atteints de SMA de type III pour qui l'âge de début et l'évolution de la maladie était fortement variable au sein de la fratrie (Wirth *et al.* 1999), (Cuscó *et al.* 2006, Petit *et al.* 2011). Ces observations suggèrent l'existence d'autres facteurs modificateurs dans la SMA. L'absence du gène *SMN1* est compensée par l'expression des copies *SMN2*. Les patients aux phénotypes les moins sévères présentent le plus grand nombre de copies *SMN2*. Cependant, ce type de corrélation ne s'est pas révélé absolu car certains sujets malades peuvent avoir jusqu'à quatre copies *SMN2*. À l'inverse, des sujets sains avec délétion homozygote de *SMN*, ne présentent que deux copies centromériques. Tout porte donc à croire que la variation du nombre de copies *SMN2* n'est pas le seul facteur impliqué dans le mécanisme intime de la variabilité phénotypique. [124][138][139]

*** *Etendue de la délétion et phénotypes:***

Des délétions plus étendues sont plus fréquemment observées dans les formes aiguës néonatales (type I) que dans les formes tardives et d'évolution lente (type III). L'hypothèse est qu'une délétion très étendue pourrait emporter des éléments régulant l'expression du gène *SMN* ou un autre gène dont il est proche et qui jouerait un rôle « modificateur » dans l'expression phénotypique de la maladie. En effet, de larges délétions emportant *SMN* et les deux gènes télomériques qui lui sont proches, *NAIP* et *P44*, sont observées chez 68% des patients atteints de la forme sévère (Roy *et al.* 1995 ; Burlet *et al.* 1996 ; Burglen *et al.*

1996).[90][95] Mais des altérations (délétion ou interruption) de ces deux gènes à l'état homozygote ont été observées chez des patients sains d'un groupe contrôle. Ces données suggèrent que les altérations de *NAIP* et de *P44* seules ne sont pas impliquées dans la survenue d'une SMA, mais que leur association avec une mutation du gène *SMN* pourrait jouer dans le sens de la sévérité clinique. Un patient atteint d'une SMA avec une délétion homozygote du gène *NAIP* présente environ cinq fois plus de risque d'avoir une forme de type I qu'une forme de type II ou III (Sommerville *et al.*, 1997) [140]. Par contre, la présence ou l'absence de *NAIP* ne semble influencer ni sur l'âge de début de la maladie ni sur l'espérance de vie (Taylor *et al.* 1998) [141]. Il faut noter cependant que des délétions limitées au gène *SMN* ou des mutations intragéniques ont pu être observées chez près de 27% des patients de type I. Ceci suggère qu'il existe d'autres mécanismes à l'origine des variations phénotypiques. L'un de ces mécanismes pourrait être le rôle joué par le gène copie *SMN2*), pour moduler l'expression clinique de la maladie (Campbell *et al.*, 1997 ; Burghes, 1997) [142][91].

***Autres gènes modificateurs de la SMA :**

Le rôle, dans la SMA, de gènes localisés à proximité immédiate du gène *SMN1*, comme le gène codant pour la protéine NAIP (neuronal apoptosis Inhibitory protein) ou le gène *GTF2H2* codant pour la protéine p44 (facteur de transcription) n'a pas été démontré (Taylor *et al.* 1998), (Bürglen *et al.* 1997). [141] [91]

En 2008, Oprea *et al.* ont étudié six familles dans lesquelles était observée une discordance phénotypique pour la SMA. Dans ces familles, il existait des femmes asymptomatiques porteuses d'une délétion homozygote du gène *SMN1*. Ces femmes étaient porteuses du même nombre de copies (3 ou 4 copies) du gène *SMN2* que leurs frères ou sœurs atteints. A partir d'analyses de transcriptomes, les auteurs ont mis en évidence, chez ces femmes, une surexpression du gène *PLS3* en comparaison à leurs apparentés atteints. Le gène *PLS3* est localisé sur le chromosome X et code pour la plastine 3. Cette dernière est impliquée dans la dynamique du cytosquelette d'actine et joue un rôle important dans l'axonogenèse. L'équipe d'Oprea a montré qu'une surexpression de *PSL3* dans des modèles

animaux (souris et zebrafish) corrigeait le défaut de croissance des axones associé à la dégénérescence des neurones moteurs dans la SMA. Ainsi, ces auteurs concluent que le gène *PLS3* est donc un gène modificateur de la SMA (Oprea et al. 2008). [119]

***Protéine SMN et phénotypes :**

L'étude de corrélation entre le niveau d'expression de la protéine SMN et les phénotypes montre (Liu *et al*, 1996, Lefebvre *et al*, 1997) [109][110] :

- une réduction très importante du taux de la protéine SMN (taux de 5 à 20%) chez la totalité des patients présentant une forme sévère par rapport à une population contrôle. Cette réduction du niveau d'expression de la protéine SMN est sans rapport avec l'étendue de la délétion et l'altération des gènes *NAIP* et *P44*.
- une réduction nettement moins marquée du niveau d'expression de SMN (taux de 30 à 80%) chez 50% des patients du type II,
- un taux de protéine SMN apparemment normal chez les patients atteints du type III. Plus que dans les autres tissus, c'est dans la moelle épinière que le taux d'expression protéique est le plus affecté.

En effet, chez les enfants atteints d'une forme sévère, le taux de protéine SMN est réduit à 1/100 de sa valeur chez l'enfant sain. Confortant ces résultats, des analyses immunocytochimiques de fibroblastes ont montré une diminution importante du nombre de *gems* chez les enfants atteints de la forme sévère de la maladie (Coover *et al*, 1997) [143]. Ces données suggèrent une forte corrélation entre la sévérité du phénotype et l'effondrement du taux d'expression de la protéine SMN dans les motoneurones. Une corrélation de même nature est suggérée pour la quantité de *gems* intranucléaires dans les fibroblastes.

Phénotype	Taux d'expression de SMN (%)
Formes sévères (types I)	5 à 20%
Formes intermédiaires (types II)	30 à 80%
Formes modérées (type III)	taux identique à celui de personnes saines

Tableau 5 : Phénotypes et taux d'expression de la protéine SMN extraite de lignées lymphoblastoïdes (%).

**CONSEIL GENETIQUE,
DIAGNOSTIC PRENATAL,
DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE
ET DIAGNOSTIC GENETIQUE PRE-
SYMPTOMATIQUE :**

8-CONSEIL GENETIQUE, DIAGNOSTIC PRENATAL, DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE ET DIAGNOSTIC GENETIQUE PRE-SYMPATOMATIQUE :

8-1-Conseil génétique :

La consultation pour conseil génétique permet d'évaluer et de présenter au couple le risque de récurrence de l'amyotrophie spinale dans la famille. La transmission de la SMA obéissant aux règles de l'hérédité mendélienne, ce risque génétique est de 25% pour les germains (frères ou sœurs) d'un enfant atteint de SMA. Il est beaucoup plus faible pour les enfants, neveux ou cousins germains de sujets atteints de la maladie. Le conseil génétique peut conduire à proposer un diagnostic prénatal afin de déterminer le statut génétique de l'enfant à naître par analyse directe de l'ADN fœtal pour rechercher l'anomalie du gène *SMN*.

Cependant, compte tenu de l'hétérogénéité clinique intra- et extra-familiale de la maladie, le conseil génétique et le type de lésion génétique retrouvée dans l'ADN de l'embryon, du fœtus, ou de l'enfant, ne permettent pas de préjuger avec certitude du type et de la sévérité de la SMA. (Melki, 1992) [144]

-Principe :

Le conseil génétique est un acte médical qui évalue la probabilité pour qu'une maladie, survenue dans une famille, s'y manifeste de nouveau. Il s'adresse à une personne, un couple, une famille, et se préoccupe du risque pour les enfants à naître ou déjà nés d'être porteurs d'une anomalie. Sa finalité est d'aider un couple, considéré à risque, en l'informant de manière appropriée, à prendre une décision éclairée d'entreprendre ou non une grossesse.

Le conseil génétique s'appuie sur un dossier médical complet (clinique et paraclinique) et un diagnostic précis du (des) sujet(s) atteint(s). La consultation de conseil génétique recueille dans un premier temps l'ensemble des informations concernant la famille : établissement de l'arbre généalogique, identification des individus atteints et des individus indemnes. Le généticien peut, au besoin, recourir à un ou plusieurs spécialistes de la maladie

afin d'obtenir d'eux des informations médicales sur une personne qu'il ne connaît pas et qui est apparentée au(x) demandeur(s). Le généticien peut également juger utile d'informer, s'ils le désirent, par l'intermédiaire du patient ou du couple à risque, certains apparentés qui encourent eux-mêmes un risque pour leurs enfants.

Les études en biologie moléculaire de l'ADN précisent le statut génétique des personnes concernées : porteur ou non d'une délétion homozygote (personne malade) ou hétérozygote (personne à risque de transmission). Afin de réduire le risque d'erreur, il convient d'éliminer la possibilité de mutation ponctuelle chez le cas index par la confirmation systématique d'une délétion homozygote du gène *SMN1* et d'étudier les deux conjoints simultanément. Au terme des investigations cliniques, paracliniques, généalogiques et moléculaires, le conseil génétique permet, selon que les parents sont porteurs ou non de la lésion génétique, de préciser les risques de transmission à l'enfant à naître. La difficulté pour le couple est de devoir fonder sa décision sur la probabilité de survenue d'un événement, basée sur une information abstraite. Le conseil génétique peut de ce fait être à l'origine d'un dilemme pour un couple qui désire fortement un enfant. Car, loin d'être un simple « message statistique », il pose des problèmes avant tout humains intéressant des sphères sensibles, psychologiques, comportementales, culturelles et religieuses du couple et de chacune de ses composantes à titre individuel. Une fois la grossesse décidée, le conseil génétique peut déboucher sur l'indication d'un diagnostic prénatal pour préciser le statut génétique de l'enfant à naître. [144]

-Indications :

Intervenant, si possible, avant tout nouveau projet de procréation, le conseil génétique dans la SMA concerne tout couple qui décide d'entreprendre une grossesse, qu'il s'agisse d'un couple ayant déjà eu un enfant atteint de SMA, d'un couple ayant interrompu une grossesse après un diagnostic prénatal de SMA, d'un couple dont l'un des membres est atteint d'une SMA ou est porteur de l'anomalie génétique, d'un couple dont l'un des membres (ou les deux) a un ou plusieurs apparentés atteints de la maladie ou est porteur de l'anomalie génétique, d'un couple pour lequel un projet d'union présente, pour les

descendants, un risque particulier de survenue de la maladie, en raison du caractère consanguin de cette union et du fait de l'existence d'un antécédent familial de SMA. [145]

-Calcul du risque :

La SMA est une maladie héréditaire qui se transmet selon le mode autosomique récessif dans plus de 90% des cas. Les deux sexes ont une probabilité égale d'être atteints. La SMA se place au second rang des affections autosomiques récessives après la mucoviscidose.

****RISQUE AVANT ÉTUDE EN GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE :***

La probabilité pour que la maladie récidive dans la descendance d'un couple asymptomatique ayant déjà eu un ou plusieurs enfants atteints est de $\frac{1}{4}$ à chaque grossesse. Ce risque de récurrence passe à $\frac{1}{2}$ si l'un des parents est atteint. Pour les frères et sœurs d'une personne atteinte de SMA, le risque a priori d'avoir un enfant atteint est de $\frac{1}{240}$. Il est de $\frac{1}{320}$ pour les oncles et tantes. La présence d'une délétion hétérozygote chez un frère ou une sœur et de 2 copies du gène *SMN1* chez son conjoint réduit le risque a priori à $\frac{1}{1600}$. Ce qui permet de rassurer le couple et d'éviter le recours à un diagnostic prénatal, le risque de fausse couche étant supérieure à celui d'un fœtus atteint. Le risque a priori de $\frac{1}{1280}$ apparaît être un bon seuil pour proposer une étude moléculaire pour le dépistage des personnes à risque.

**** DÉTECTION D'UNE DÉLÉTION HÉTÉROZYGOTE :***

Depuis 2000, le dépistage des porteurs d'une délétion hétérozygote du gène *SMN1*, est possible. Il permet d'améliorer la précision du conseil génétique dans les familles concernées par une amyotrophie spinale et de réduire le nombre de diagnostics prénatals proposés pour un risque faible. Le dépistage des porteurs d'une délétion hétérozygote du gène *SMN1* est réalisé, en France, dans quatre laboratoires (hôpital Robert Debré et hôpital Necker-Enfants malades à Paris, CHU de Rouen et de Nice) à partir d'un prélèvement de sang sur EDTA effectué au décours d'une consultation de génétique. La détection d'une délétion à l'état hétérozygote est complexe à cause de la duplication du locus SMN et du nombre variable de copies des gènes *SMN1* et *SMN2*. La recherche de délétions

hétérozygotes est particulièrement indiquée dans les familles atteintes d'amyotrophie spinale avec des unions consanguines qui rendent très aléatoire le calcul de risque *a priori*. Chez les adultes appartenant à une famille atteinte et inquiets pour leur descendance, la recherche d'une délétion hétérozygote du gène *SMN1* impose le prélèvement des deux conjoints et leur étude simultanée. Chez les parents d'un cas index présentant une délétion homozygote du gène *SMN1*, l'existence d'une délétion hétérozygote *SMN1* est à vérifier systématiquement pour éliminer, d'une part, une délétion *de novo* dont le risque de récurrence est extrêmement faible et, d'autre part, une duplication *en cis* masquant une délétion sur le second allèle. Lorsque les parents sont tous les deux porteurs d'une délétion hétérozygote, le risque de récurrence est de 1/4. Par ailleurs, la caractérisation d'une délétion hétérozygote *SMN1* chez chacun des parents d'un cas index décédé (n'ayant pas eu de diagnostic génétique) permet de faire une confirmation indirecte du diagnostic d'amyotrophie spinale (importante pour le conseil génétique des apparentés).

***RISQUE RÉSIDUEL :**

Les méthodes de génétique moléculaire ne permettent pas de dépister la totalité des allèles morbides. Il subsiste donc un risque résiduel d'environ 10% dans la réalisation du diagnostic génétique. Ce risque est lié à trois causes :

-Soit l'existence de mutations ponctuelles dans le gène *SMN1* (1,4 à 3,4% des patients), les méthodes utilisées ne détectant que les délétions ;

-soit la duplication *en cis* du gène *SMN1* (3 à 4,8% des sujets hétérozygotes), les techniques de quantification des copies des gènes *SMN1* et *SMN2* ne permettant pas de préciser la situation *en cis* ou *en trans* de ces copies ;

-soit la survenue d'une délétion *de novo* du gène *SMN1* (environ 2% des cas d'amyotrophie spinale). [145][146]

8-2-Diagnostic prénatal :

Un diagnostic prénatal (DPN) peut être proposé dans le cadre du conseil génétique. Les conditions d'application du diagnostic prénatal (DPN) ont été définies par le décret n° 95-559 (Art. 162-17) du 6 Mai 1995 relatif aux analyses de cytogénétique et de biologie pratiquées en vue d'établir un diagnostic *in utero*. Ces analyses doivent avoir été précédées d'une consultation médicale de conseil génétique permettant :

- d'évaluer le risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une maladie d'une particulière gravité, compte tenu des antécédents familiaux ou des constatations médicales effectuées au cours de la grossesse ;
- d'informer la femme enceinte sur les caractéristiques de cette maladie, les moyens de la détecter, les possibilités thérapeutiques et sur les résultats susceptibles d'être obtenus au cours de l'analyse ;
- d'informer la patiente sur les risques inhérents aux prélèvements, sur leurs contraintes et leurs éventuelles conséquences.

Le médecin consulté délivre une attestation signée certifiant qu'il a apporté à la femme enceinte les informations définies ci-dessus. Cette attestation est remise au praticien effectuant les analyses. Le diagnostic prénatal consiste à déterminer le statut génétique de l'enfant à naître par analyse directe de l'ADN du fœtus prélevé soit par choriocentèse (biopsie des villosités chorales à la 10^e semaine d'aménorrhée), soit par amniocentèse (ponction de liquide amniotique à la 16^e ou 17^e semaine d'aménorrhée). Les risques de complications obstétricales et de mort fœtale *in utero* liés à la choriocentèse ou à l'amniocentèse sont comparables et de l'ordre de 1 pour 200. En cas de risque de récurrence d'une SMA, le DPN est idéalement indiqué après une étude familiale complète et un examen de l'ADN du couple et le cas échéant de celui du cas index avant la grossesse. Une fois la grossesse décidée et entreprise, le diagnostic est direct. Il consiste à mettre en évidence une délétion ou, dans de rares cas, une mutation ponctuelle dans le gène *SMN*. Le couple passe alors de la notion de risque à celle de certitude: l'enfant à naître est soit indemne soit atteint. Les techniques de biologie moléculaire nécessitant un délai relativement long (une semaine

en moyenne), la démarche de diagnostic prénatal doit être entreprise le plus tôt possible pour permettre, en cas de diagnostic positif, une éventuelle interruption médicale de grossesse dans les meilleures conditions. [147]

-Amniocentèse :

L'amniocentèse ou ponction de liquide amniotique est pratiquée par voie transabdominale sous contrôle échographique à la 15e ou 16e semaine d'aménorrhée. Elle permet de prélever 10 à 20 ml de liquide amniotique. Les cellules amniotiques contenues dans le liquide peuvent alors être utilisées directement sans culture préalable pour une amplification PCR, ou après culture *in vitro*. L'ADN obtenu est de bonne qualité, mais le prélèvement tardif et le délai de culture ne permettent pas d'obtenir les résultats avant la 18e ou 19e semaine d'aménorrhée. [147]

-Choriocentèse :

La choriocentèse ou prélèvement de trophoblaste est effectuée entre la 10e et la 12e semaine d'aménorrhée. Pratiquée sous échographie, la biopsie des villosités chorales pratiquée au niveau du col de l'utérus permet de ramener un tissu exclusivement fœtal riche en cellules et en ADN. Ce tissu permet une étude directe, sans culture préalable : le résultat est donné au bout d'une semaine en moyenne. La méthode PCR permet l'exploitation d'infimes quantités d'ADN même de qualité médiocre. La puissance de ce procédé peut cependant être à l'origine de l'amplification parasite d'un ADN contaminant d'origine maternelle. [147]

8-3-Diagnostic préimplantatoire :

Depuis le début des années 1990, le diagnostic préimplantatoire (DPI) permet aux parents porteurs d'une anomalie génétique susceptible de donner lieu à une maladie grave et incurable d'envisager une grossesse sans courir le risque d'un avortement thérapeutique, seule solution après un diagnostic prénatal. Cette technique permet également de redonner aux couples présentant le même risque génétique et un problème de stérilité l'espoir de parentalité sans avoir à subir ni traumatisme, ni désillusion. Considéré comme un diagnostic prénatal précoce, il permet d'éviter l'épreuve de l'interruption médicale de grossesse et

commence à être pratiqué en France pour les SMA (Diagnostic prénatal et diagnostic pré-implantatoire sont rigoureusement codifiés par la législation (Loi n° 94-654 du 29 Juillet 1994, Art 162-16 et 162-17, Décret n° 95-559 du 6 Mai 1995, Décret n° 98-216 du 24 Mars 1998).

Technique délicate et contraignante, le DPI nécessite le recours à des équipes qualifiées et entraînées ayant une maîtrise parfaite des technologies. Ajoutée aux difficultés techniques, la présence de la copie centromérique du gène *SMN* complique la détection des délétions de l'exon 7 (Dreesen *et al.* 1998, Handyside *et al.* 1998). La pratique du DPI dans les SMA est à ce jour peu répandue. Avant d'être une avancée conceptuelle, le diagnostic pré-implantatoire (DPI) est d'abord une prouesse technologique associant assistance médicale à la procréation (AMP) et des techniques diagnostiques de biologie moléculaire (FISH -*fluorescence in situ hybridization*- et PCR -*polymerase chain reaction*-) afin d'étudier le gène susceptible d'entraîner la maladie chez le fœtus. En pratique, l'équipe d'assistance médicale à la procréation, après stimulation ovarienne, obtient par cœlioscopie un certain nombre d'ovocytes dont elle réalise la fécondation *in vitro* (FIV). Un biologiste moléculaire autorisé prélève sur tous les blastomères (embryons du 3e jour) une cellule sur les 8 ou 16 existantes à ce stade. L'ADN de cette cellule est amplifié par PCR. Les analyses moléculaires permettent alors de détecter les embryons porteurs de l'anomalie génétique. Les embryons sains sont soit transférés au 4e jour suivant la FIV (Fallon *et al.* 1999) soit mis en congélation en vue d'un transfert ultérieur. Un DPN permet de confirmer le DPI durant la grossesse. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) a été appliqué dès le début des années 1990 en Grande-Bretagne, en Belgique, en Espagne, aux Etats-Unis, en Israël... à diverses maladies génétiques (myopathie de Duchenne, hémophilie, mucoviscidose) et chromosomiques. Une possibilité et un espoir sont ainsi à la portée de nombreux parents qui n'avaient, jusque-là, d'autre recours que celui d'une interruption médicale de grossesse après l'annonce d'un DPN positif. Le diagnostic préimplantatoire (DPI), en France, est autorisé par la loi de bioéthique n°94-654 du 29 juillet 1994. Il faut attendre 1998 pour qu'un décret d'application (décret n°98-216 du 24 mars 1998 relatif au diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro*) définisse la pratique

du DPI. L'arrêté paru au journal officiel du 20 juillet 1999 autorise deux centres (Necker-Béclère à Paris, CHU de Strasbourg) à pratiquer le DPI. En 2000, un troisième centre (hôpital Arnaud de Villeneuve à Montpellier) a également reçu l'agrément pour la pratique du DPI. [148][149][150]

-INDICATIONS :

Moyen mis à la disposition des couples à risque afin d'éviter une « grossesse incertaine » (Fallon *et al.* 1999), le DPI permet d'établir le statut génétique de l'embryon avant le début de la grossesse. C'est une véritable bouée de sauvetage pour les couples ayant eu des parcours lourds. Il permet d'éviter le seul recours au DPN dont le verdict pourrait conduire, une fois de plus, à une interruption de grossesse. Le DPI est une réelle avancée même si le caractère contraignant et aléatoire d'une assistance médicale à la procréation (AMP) n'est pas toujours bien supporté. Il s'adresse aux couples féconds qui présentent un risque génétique et qui désirent éviter l'épreuve d'une interruption médicale de grossesse, les couples ayant eu à subir une ou plusieurs interruptions de grossesse sont particulièrement concernés ; aux couples ayant un risque génétique et présentant un problème de stérilité impliquant le passage obligatoire par l'AMP. Comme beaucoup d'avancées scientifiques touchant aux sphères sensibles de l'individu, le DPI a soulevé de nombreux problèmes éthiques et un débat passionné. La fécondation *in vitro*, les études sur l'embryon et le tri d'embryons qu'elles impliquent ont pu être assimilés à une démarche proche de l'eugénisme. Les craintes soulevées quant aux dérives eugénistes potentielles du DPI reposent sur la possibilité de généraliser cette méthode à d'autres critères de tri et de l'utiliser dans le but d'éliminer des naissances en fonction d'autres critères que ceux définis par la loi. C'est probablement pour cette raison que le nombre de centres habilités à pratiquer le DPI est volontairement limité en France. [150]

-PROCÉDURES :

La procédure de DPI est lourde et complexe. Au terme d'un entretien avec un médecin généticien, le couple est orienté vers un centre de DPI afin d'y obtenir une attestation d'indication de DPI. Le couple s'adresse ensuite à une équipe pluridisciplinaire habilitée à

mettre en œuvre l'AMP. Le contact est également pris avec un laboratoire de biologie moléculaire dûment autorisé à réaliser l'analyse d'ADN sur une cellule embryonnaire. La loi stipule que « le diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées in vitro sur l'embryon n'est autorisé qu'à titre exceptionnel » et l'assortit de conditions rigoureuses :

- un médecin exerçant dans les centres de diagnostic prénatal pluridisciplinaire autorisé doit attester que le couple, « du fait de sa situation familiale, a une forte probabilité de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic » et que « ... l'anomalie a été préalablement et précisément identifiée chez l'un des parents ».
- les deux membres du couple doivent exprimer par écrit leur consentement à la réalisation du diagnostic ;
- le diagnostic ne peut avoir d'autre objet que la recherche de cette affection ainsi que les moyens de la prévenir et de la traiter ;
- il ne peut être effectué que dans un établissement autorisé de façon spécifique après avis de la Commission Nationale de Médecine et de Biologie de la Reproduction et du Diagnostic Prénatal. [147]

-RÉSULTATS :

En 1998, un DPI réalisé aux Pays-Bas (Dreesen JC. et al.) a permis de donner naissance à des jumeaux sains chez un couple ayant eu un enfant atteint de SMA. Une publication américaine (Fallon L. et al. 1999) a rapporté la réalisation du DPI chez trois couples ayant eu dans les antécédents un enfant atteint de SMA de type 1 confirmé par diagnostic moléculaire. [148][150].

Neuf embryons étaient sains, trois atteints de SMA et un avec impossibilité d'interprétation. Une des trois mères avait reçu le transfert d'embryons sains et avait donné naissance à des jumeaux sains. En 2001, le DPI a été réalisé avec succès (Daniels G. et al. Royaume-Uni) chez quatre couples sur cinq (porteurs de SMA), donnant naissance à six bébés sains, dont deux jumeaux et trois triplés. En 2003, une équipe française (Moutou C. et

coll.) a analysé, par PCR duplex dans le cadre d'un DPI, sept embryons dont six sains et un atteint de SMA. Le transfert de quatre embryons n'a pas donné suite à une grossesse. En 2004, une équipe israélienne (Malcov M. et coll.) a réalisé le DPI chez quatre couples porteurs de SMA avec la technique d'amplification par PCR niché. Une analyse moléculaire a été réalisée avec succès chez 34 embryons dont 15 embryons sains au bout de sept cycles. Une grossesse a pu être menée à terme donnant naissance à un garçon sain. L'amniocentèse à 17 semaines a confirmé le diagnostic à la fois pour le sexe et l'absence de SMA. [151][152][153]

8-4-Diagnostic génétique pré-symptomatique :

S'adressant aux personnes majeures, le diagnostic génétique pré-symptomatique (DGP) permet de définir le statut génétique de la personne consultante par rapport au risque d'avoir l'anomalie génétique, de la transmettre à sa descendance et de développer la maladie. Ce statut génétique peut être :

- absence d'anomalie génétique ;
- anomalie génétique présente à l'état hétérozygote : la personne est indemne mais elle porte l'anomalie génétique ; la maladie ne se transmet que si le conjoint porte la même anomalie et que les anomalies génétiques portées par les deux conjoints se transmettent en même temps : ce risque est évalué à 1/25 000 dans la population générale ;
- anomalie génétique présente à l'état homozygote : le risque de développer ultérieurement la maladie est important, mais difficile à évaluer. La personne qui transmet l'anomalie génétique est transmise à sa descendance dans tous les cas mais pas la maladie sauf si le conjoint est porteur ou atteint.

Le DGP est théoriquement envisageable chez des personnes ayant des antécédents familiaux de SMA. La définition du statut génétique est importante pour l'élaboration d'un projet de vie et les choix éducatifs et professionnels. Le désir de ces personnes, cliniquement indemnes, de connaître leur statut génétique soulève dans la pratique de nombreux problèmes éthiques liés à l'éventualité de l'annonce d'un résultat positif. En effet, la

révélation d'un statut défavorable peut déstabiliser la personne dans ses relations conjugales, familiales, amicales et professionnelles. Il est donc vivement recommandé aux personnes concernées de bien peser toutes les conséquences découlant de l'annonce d'un diagnostic défavorable. Confronté à des situations parfois difficiles, le généticien clinicien ne peut que se conformer aux principes d'autonomie, de consentement éclairé et de confidentialité. Il est utile que, tout au long de ces démarches, un psychologue assiste aux consultations et accompagne les consultants. [154]

8-5-Procréation médicalement assistée et SMA :

Une équipe espagnole (Tizzano E.F. et al.) a rapporté deux cas d'amyotrophie spinale après procréation médicalement assistée (PMA). Après une première grossesse par PMA, une femme de 32 ans a accouché d'un bébé portant une délétion homozygote du gène *SMN1*. À la deuxième grossesse (également par PMA et utilisant le sperme d'un autre donneur), le diagnostic prénatal a confirmé une délétion homozygote de *SMN1*. Il est donc utile de rechercher la délétion du gène *SMN1* dans les gamètes du donneur lorsque la mère a un statut génétique connu de porteuse saine SMA. [155]

**9-PRISE EN CHARGE
DES PATIENTS SMA**

9-PRISE EN CHARGE DES PATIENTS SMA :

Il n'existe à ce jour aucun traitement étiologique curatif des amyotrophies spinales. Une attitude fataliste a longtemps prévalu dans l'approche de l'amyotrophie spinale. Le décès précoce était considéré comme un critère de diagnostic positif dans les formes les plus sévères de la maladie. Dans la plupart des cas, une limitation des soins de réanimation a été décidée suite au diagnostic de SMA.

Aujourd'hui, les progrès réalisés en appareillage et aides techniques, en rééducation fonctionnelle, en chirurgie et surtout dans les méthodes d'assistance ventilatoire ont considérablement amélioré la qualité de la prise en charge et transformé radicalement le pronostic de la maladie. L'enfant et son entourage peuvent ainsi envisager un véritable projet de vie. Les capacités intellectuelles de l'enfant étant intactes et même parfois supérieures à la normale, il est désormais possible d'envisager pour l'avenir un statut d'adulte inséré dans la vie sociale et professionnelle. Basée sur des principes généraux, la prise en charge est personnalisée et adaptée en fonction de chaque type évolutif, à chaque patient, chaque famille. L'organisation de la prise en charge tient compte de la vie de l'enfant dans et en dehors de sa famille, de ses rythmes et de son évolution. La prise en charge doit être précoce afin de limiter le retard de croissance thoraco-pulmonaire et alvéolaire. Elle doit être étalée tout au long de la vie de l'enfant afin d'assurer les fonctions vitales (respiration, alimentation, hydratation) chaque fois qu'elles sont menacées, de favoriser la croissance alvéolaire qui se poursuit jusqu'à l'âge de 8 ans, d'améliorer le confort et de faciliter l'insertion. La prise en charge est pluridisciplinaire. La maîtrise de la maladie et de ses conséquences aux plans physique, psychologique et social nécessite un travail d'équipe associant de nombreux professionnels de diverses disciplines : pédiatre, neurologue, généticien, médecin rééducateur, chirurgien orthopédiste, réanimateur, psychologue, kinésithérapeute...

La contribution de l'entourage peut être bénéfique pour fournir aux parents l'assistance et le soutien nécessaires au cours de périodes particulièrement délicates. Le milieu associatif peut représenter un cadre adéquat permettant à la famille de partager son expérience et son vécu avec ceux d'autres familles. [156][157]

***STRATEGIES ET
PERSPECTIVES
THERAPEUTIQUES***

10-STRATEGIES ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES :

Actuellement, en dépit des avancées thérapeutiques, les personnes atteintes d'amyotrophie spinale ne bénéficient d'aucun traitement curatif permettant une guérison. Bien que le mécanisme moléculaire responsable de la pathologie SMA n'ait pas encore été précisément défini, les connaissances accumulées ces dernières années ont permis l'émergence de différentes approches thérapeutiques. Plusieurs stratégies, en cours d'étude, consistent à augmenter le taux de protéine SMN pleine longueur. Elles visent l'activation de l'expression du gène *SMN2*, l'augmentation du taux d'inclusion de l'exon 7 dans le transcrit *SMN2* ou la stabilisation de la protéine SMN. D'autres stratégies impliquent l'identification de molécules ayant un rôle protecteur des motoneurones présentant des taux faibles de protéine SMN, le remplacement du gène *SMN1* par thérapie génique et l'introduction de motoneurones ou des cellules musculaires par l'emploi de cellules souches embryonnaires (**Figure14**) (pour revues, Wirth et al, 2006a ; Sumner, 2006 et Sumner, 2007).

[100][50][158]

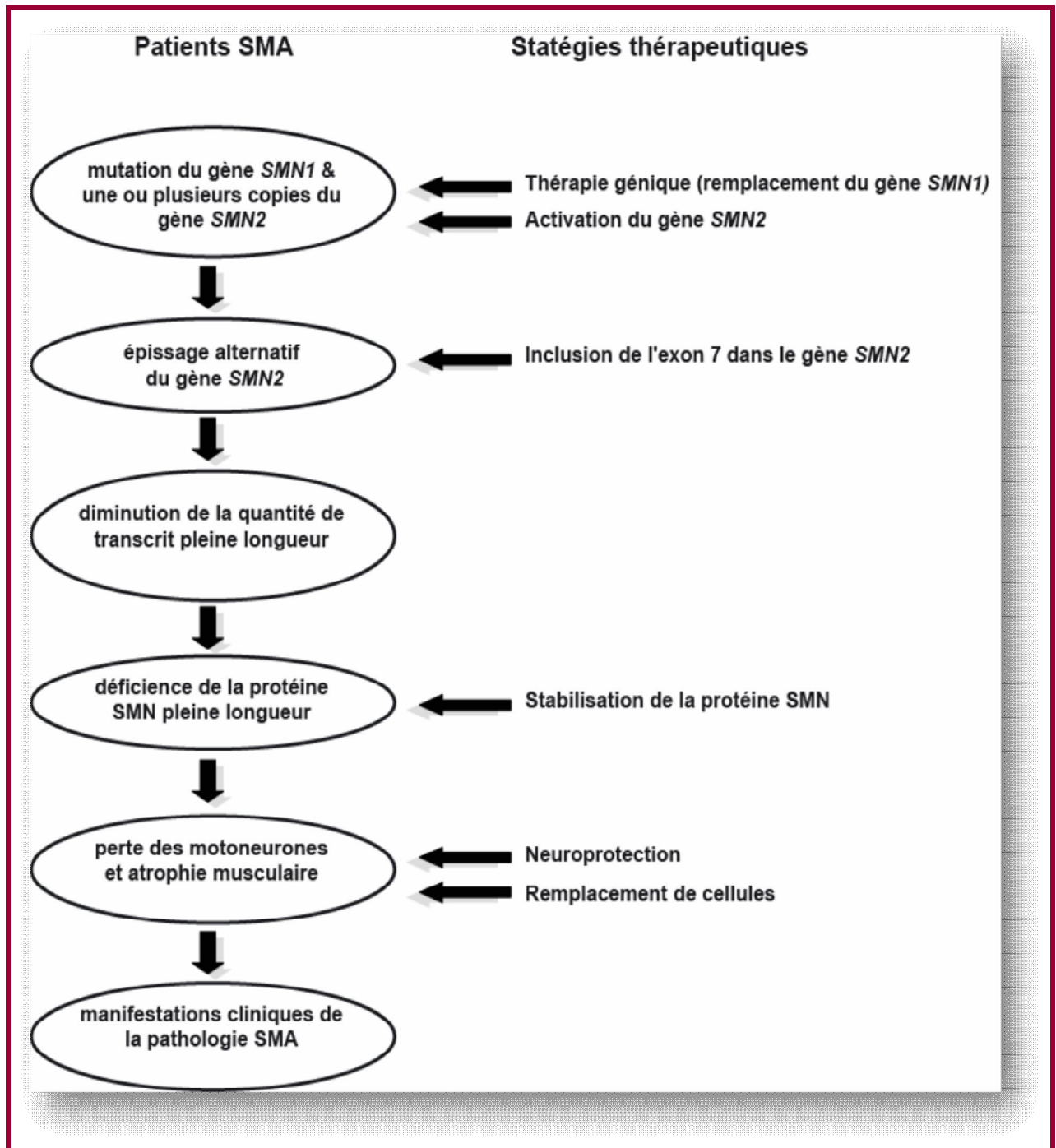


Figure14: Cibles potentielles pour la thérapie de la pathologie SMA.

Différentes approches thérapeutiques ont été envisagées ces dernières années. Plusieurs stratégies, en cours d'étude, consistent à augmenter le taux de protéine SMN pleine longueur. D'autres stratégies impliquent l'identification de molécules ayant un rôle protecteur des motoneurones présentant des taux faibles de protéines SMN, le remplacement du gène SMN1 par thérapie génique et le remplacement des motoneurones ou des cellules musculaires. Pour revues, Sumner, 2006 et Sumner, 2007.

10-1/ Activation du gène SMN2 : les inhibiteurs d'histones déacétylases et les autres composés chimiques:

Plusieurs études ont montré que des composés capables d'inhiber les histones déacétylases (HDAC), des enzymes impliquées dans la modulation de l'expression des gènes (pour revue, Minucci et Pelicci, 2006) pouvaient augmenter la synthèse de la protéine SMN. Certains de ces inhibiteurs sont capables d'activer le promoteur du gène SMN2 et donc de moduler son expression, très certainement par modification du taux d'acétylation des histones du promoteur (Kernochan et al, 2005) [159] [160].

C'est le cas de l'acide valproïque (Brichta et al, 2003 ; Sumner et al, 2003 ; Tsai et al, 2006 ; van Bergeijk et al, 2006 ; Weihl et al, 2006)[161][162][163][164][165], du butyrate de sodium (Chang et al, 2001)[166], du phénylbutyrate (Andreassi et al, 2004 ; Mercuri et al, 2004 ; Brahe et al, 2005) [167][168][169], du benzamide M344 (Riessland et al, 2006)[170], de la trichostatine (Avila et al, 2007)[171] et du SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) (Hahnen et al, 2006)[172]. Ces composés sont, en effet, capables d'augmenter le taux d'ARNm et de protéine SMN, dans des lignées dérivant de cellules de patients atteints de SMA, en activant le promoteur du gène et dans certains cas en favorisant l'inclusion de l'exon 7 dans le transcrit du gène SMN2.

L'acide valproïque atténuerait la mort des motoneurones et augmenterait les fonctions motrices des souris SMA (Tsai et al, 2006). Dans des lignées cellulaires en culture, ce composé pourrait également avoir un effet positif sur la croissance des neurites indépendamment de son effet sur le gène SMN2 (van Bergeijk et al, 2006). La trichostatine A est un inhibiteur des HDAC plus puissant et plus spécifique que les autres composés

utilisés jusqu'alors. Elle permettrait une augmentation de la survie des souris, une diminution de la perte de poids, de meilleurs réflexes de redressement et une meilleure capacité à se mouvoir (Avila et al, 2007).[163][164][171]

L'acide valproïque (USA) (Weihl et al, 2006) et le phénylbutyrate (Italie) (Mercuri et al, 2007) sont actuellement en phase d'étude clinique chez l'homme. Une augmentation de la force musculaire a été décrite chez des patients atteints de SMA de types III et IV traités avec l'acide valproïque (Weihl et al, 2006). Le phénylbutyrate semble bien tolérée par les patients mais ne montre pas d'efficacité (Mercuri et al, 2007). [165][173]

D'autres molécules, différentes des HDAC, auraient la capacité d'activer l'expression du gène SMN2. L'hydroxyurée augmente le taux d'expression du transcrit SMN2, de la protéine SMN et des Gems dans des cultures de cellules provenant de patients atteints de SMA. Cette augmentation varie en fonction de la concentration d'hydroxyurée et du temps de traitement des cellules. D'autre part, l'hydroxyurée est connue pour sa bonne tolérance chez les enfants et sa facilité d'administration par voie orale (Grzeschik et al, 2005). A l'heure actuelle, des essais thérapeutiques de phases II/III de l'hydroxyurée, randomisés, en double aveugle, contre placebo sont en cours au Japon (Liang et al, 2008) et aux USA. Cependant, les premiers résultats n'ont pas mis en évidence d'effets cliniques bénéfiques de ce médicament, des essais cliniques à plus grande échelle avec l'hydroxyurée sont envisagés (Liang et al, 2008). Deux composés : quinazoline et indole augmenteraient également le taux de protéine SMN et le nombre de Gems dans des cellules provenant de patients atteints de SMA. De plus, il semble que les effets de ces deux molécules s'additionnent lorsqu'elles sont utilisées conjointement (Jarecki et al, 2005). Des études sur des composés dérivés de la quinazoline, qui pourraient être plus efficaces, sont actuellement en cours (Thurmond et al, 2008).[174][175][176]

10-2/ Inclusion de l'exon 7 dans le transcrit issu du gène SMN2:

Une augmentation du taux de protéines entières peut également être obtenue par l'utilisation de molécules induisant l'inclusion de l'exon 7 dans les transcrits SMN2. L'aclarubicine favoriserait l'inclusion de l'exon 7 dans des fibroblastes de patients atteints de SMA ou du modèle de souris SMA (Andreassi et al, 2001 ; Ting et al, 2007).[178][179]

Cependant la toxicité élevée de cette molécule ne permet pas de l'envisager comme traitement. Récemment, le salbutamol (albuterol) a permis une augmentation rapide et significative des transcrits SMN2 pleines longueurs dans des fibroblastes de patients atteints de SMA, en favorisant l'inclusion de l'exon 7 dans les transcrits SMN2 (Angelozzi et al, 2008). Au cours d'un essai pilote, le salbutamol avait déjà montré des effets bénéfiques chez des patients atteints de SMA sans causer trop d'effets indésirables (Kinali et al, 2002) ; cette molécule pourrait donc être adaptée à un traitement clinique. D'autres composés présentent des effets similaires : le 5-(Nethyl-N-isopropyl)-amiloride (EIPA) (Yuo et al, 2008) et certains polyphénols (Sakla & Lorson, 2008). [180]181][182][183]

De nombreuses stratégies non pharmacologiques, utilisant des oligonucléotides et des oligoribonucléotides antisens, ont également été mises au point pour favoriser l'inclusion de l'exon 7 dans les transcrits SMN2 (**Figure 15**) :

*L'utilisation d'oligonucléotides antisens réduisant la reconnaissance du site 3' d'épissage de l'exon 8 augmente l'incorporation de l'exon 7 dans les transcrits SMN2 (**Figure 15/A**) (Lim & Hertel, 2001). [184]

*L'utilisation d'oligonucléotides antisens contenant des groupements 2'-O-methyl phosphorotioate ou des petits ARN U7 modifiés portant des séquences anti-sens spécifiques à l'ARNm SMN2, dans des réactions d'épissage in vitro ou introduits dans des cellules en culture, bloque l'accès à la jonction intron7-exon8 et conduisent à une augmentation de l'inclusion de l'exon 7 (**Figure 15/B**) (Madocsai et al, 2005). [185]

*L'inclusion de l'exon 7 peut également être augmentée par l'utilisation d'oligonucléotides antisens dirigés contre des éléments silencieux d'épissage (ISS) (Miyajima et al, 2002 ; Singh et al, 2006 ; Hua et al, 2008).[186][187][188]

*Des oligonucléotides antisens hybrides sont également à l'étude. Ces oligonucléotides, complémentaires à l'exon 7, contiennent des éléments reconnus par des facteurs activateurs de l'épissage de l'exon (ESE) (**Figure15/C**). Ces oligonucléotides restaurent l'incorporation de l'exon 7 dans les transcrits SMN2 dans des fibroblastes dérivés de patients atteints de SMA (Skordis et al, 2003). Des vecteurs viraux sont actuellement en cours de développement afin de délivrer ces oligonucléotides chez des patients atteints de SMA (Baughan et al, 2006). [189][190]

*Des oligonucléotides, complémentaires à l'exon 7, ont également été couplés à des effecteurs synthétiques mimant les fonctions des protéines SR, activatrices d'épissage (**Figure15/D**). Ces molécules, nommées ESSENCE (Exon-Specific Splicing Enhancement by Chimeric Effectors), sont capables de stimuler l'inclusion de l'exon 7 dans les transcrits SMN2 au cours de réactions d'épissage in vitro et dans des fibroblastes dérivés de patients SMA (Cartegni & Krainer, 2003 ; Hua et al, 2007). [191][192]

*Récemment, une nouvelle approche thérapeutique a été développée et repose sur l'épissage en trans (pour revue, Wood et al, 2007) [193]. L'épissage en trans est un processus naturel mais rare chez les mammifères, qui implique un épissage entre deux transcrits produits séparément. L'utilisation de ce procédé offre la possibilité de corriger une mutation dans l'ARN pré-messager et de produire un ARNm sauvage. En effet, un ARN en trans contenant une région antisens à l'ARN pré-messager, des sites d'épissage et les exons nécessaires à la réparation de l'ARN pré-messager permet par remplacement des exons, l'élimination de la région mutée de l'ARN pré-messager défectueux et la production d'un ARNm sauvage. Cette nouvelle technique est maintenant développée dans le cadre de la pathologie SMA. Elle permet l'épissage en trans du transcrit SMN2 dans des fibroblastes issus de patients grâce à des ARN produits à partir de vecteurs viraux dérivés des adénovirus (**Figure15/E**) (Coady et al, 2007). [194]

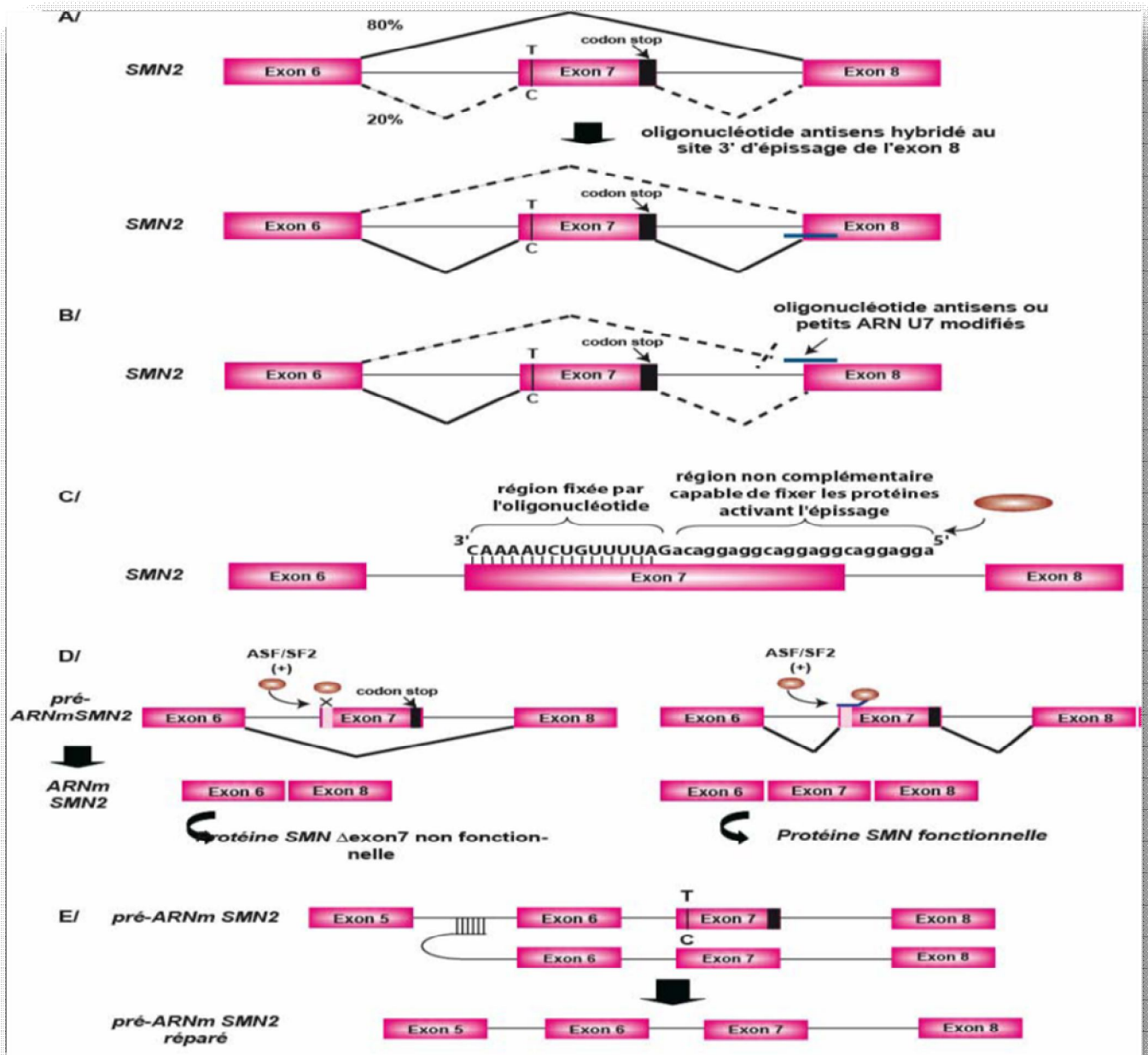


Figure 15: Inclusion de l'exon 7 par stratégies non pharmacologiques

Plusieurs stratégies non pharmacologiques ont été développées ces dernières années pour essayer de favoriser l'inclusion de l'exon 7 dans les transcrits SMN2. D'après Lim & Hertel, 2001 ; Madocsai et al, 2005 ; Skordis et al, 2003 ; Cartegni & Krainer, 2003 et la revue, Wood et al, 2007.

10-3/ Stabilisation de la protéine SMN et augmentation de sa traduction à partir du gène SMN2:

L'indoprofen est un composé qui permet l'augmentation de la production de la protéine SMN à partir du gène SMN2 mais pas à partir du gène SMN1. Ce composé n'agirait pas au stade transcriptionnel mais augmenterait plutôt l'efficacité de la traduction des transcrits SMN2 (Lunn et al, 2004) [195]. Les aminoglycosides auraient également la capacité d'augmenter le taux de protéine SMN et de Gems dans des fibroblastes dérivés de patients atteints de SMA (Wolstencroft et al, 2005 ; Mattis et al, 2006) [196][197]. Ces composés, habituellement utilisés comme antibiotiques, seraient capables d'induire le franchissement des codons stop par les ribosomes et donc de permettre la synthèse d'une protéine entière. Ici, les aminoglycosides permettraient de franchir le codon stop de l'exon 8 et d'ajouter quelques acides aminés à la protéine tronquée qui se substitueraient alors à la partie correspondant à l'exon 7 manquant et conduiraient à la stabilisation de la forme partiellement active de la protéine tronquée (Wolstencroft et al, 2005)[196]. Malheureusement, l'indoprofen comme les aminoglycosides ont une faible capacité de pénétration dans le système nerveux central, les rendant pour l'instant inutilisables pour traiter des patients atteints de SMA.

10-4/ Neuroprotection :

Pour protéger les motoneurones, des substances pharmacologiques ont été sélectionnées pour leur effet connu dans des maladies neuro-dégénératives ou à partir de criblages de molécules augmentant la survie des motoneurones en culture ou stabilisant la pathologie sur un modèle animal. Actuellement deux substances neurotrophiques sont à l'essai, chez l'homme : le riluzole et le TRO19622. Une expérimentation menée sur des souris SMA a révélé un faible bénéfice du riluzole sur la survie des souris et sur une protection de la jonction neuromusculaire (Haddad et al, 2003) [198]. De plus, il semble bien toléré chez des patients atteints de SMA de type I (Russman et al, 2003) [199]. A l'heure actuelle, le riluzole est en essai clinique de phase II/III afin d'évaluer son efficacité et sa tolérance sur la fonction motrice chez des enfants et de jeunes adultes atteints de SMA

de type II ou III. Une autre étude avec la cardiotrophine-1, une drogue neuroprotectrice, a montré une amélioration de la survie des souris SMA et un retard dans l'apparition des défauts moteurs (Lesbordes et al, 2003). [200]

10-5/ Thérapie génique et remplacement cellulaire:

Une étude récente chez la souris apporte des résultats prometteurs en ouvrant la voie à la possibilité d'une thérapie génique pour les patients souffrant d'amyotrophie spinale. En effet, après l'injection de vecteurs lentiviraux (virus EIAV) portant le gène SMN1 dans le muscle d'une souris SMA, le gène a été transporté et exprimé dans les motoneurones de la moelle épinière. Cette injection a permis d'obtenir une expression durable du transgène et de prolonger la survie de l'animal (Azzouz et al, 2004) [201]. Une autre stratégie qui fait l'objet de recherche concerne le « remplacement » de motoneurones grâce à la thérapie cellulaire (pour revue, Nayak et al, 2006) [202]. En l'occurrence, des cellules souches embryonnaires, différenciées en motoneurones ont été transplantées dans la moelle épinière de rats présentant une dégénérescence des motoneurones. Ces cellules ont survécu et ont produit des axones (Harper et al, 2004) [203].

II-PATIENTS ET METHODES

1-Cadre d'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective concernant 295 patients ; avec un âge de début des symptômes qui variait entre la période néonatale et 40 ans ; qui se sont présentés au laboratoire de génétique médicale de Rabat pour suspicion de SMA durant une période de 15 ans, depuis le début de l'année 1996 jusqu'au mois d'Octobre de l'année 2014.

2- Documents étudiés et Patients :

***Documents étudiés au DGM :**

Entre 1996 et 2014, 133 patients ayant une SMA confirmée sur le plan moléculaire ont pu être identifiés à partir de l'étude des dossiers génétiques de tous les patients adressés pour l'étude moléculaire du gène SMN dans le cadre de l'exploration d'une hypotonie ou d'une faiblesse musculaire de cause indéterminée. Les dossiers génétiques des patients ont été étudiés pour préciser les caractéristiques clinico-biologiques et neurophysiologiques de chaque patient selon une grille de recueil de données (fiche d'exploitation préétablie).

***Patients :**

Notre cohorte était représentée par 133 patients appartenant à 131 familles (tous d'origine marocaine) de différentes régions du royaume ; adressés par les services de neuropédiatrie et de neurologie à la consultation de génétique médicale devant une hypotonie congénitale de cause indéterminée ou pour une suspicion d'amyotrophie spinale sur des données électrophysiologiques ou du fait de l'existence de cas familiaux de SMA d'autant plus que les parents sont consanguins. Pour tous les patients, le consentement parental a été obtenu pour réaliser l'étude moléculaire. Ces patients répondaient aux critères de sélection suivants :

****Critères cliniques :**

- Faiblesse musculaire symétrique des membres et du tronc, proximale ou distale prédominant aux membres inférieurs.
- Amyotrophie bilatérale des muscles proximaux des membres, parfois généralisée.

- Hypotonie généralisée surtout dans les formes aiguës (type I).
- Fasciculations au niveau des groupes musculaires atteints ou parfois linguales.
- Réflexes ostéo-tendineux abolis ou faibles.

****Critères paracliniques :**

- EMG en faveur d'une atteinte de la corne antérieure de la moelle épinière.
- CPK normale ou modérément élevées.

A noter que la présence d'une atteinte pyramidale, de troubles sensitifs, d'une paralysie faciale et /ou oculomotrice, d'une diminution des vitesses de conduction nerveuse à l'EMG ainsi qu'une élévation des enzymes musculaires qui dépasse 10 fois la normale, est considéré comme critère d'exclusion de l'étude moléculaire du gène *SMN*.

3-Méthode d'étude :

L'acide désoxyribonucléique (ADN) génomique a été extrait soit à partir de 3 ml de sang périphérique prélevé sur un tube EDTA (acide ethylene diamine tetracétique) ou après la réalisation d'un frottis buccal lorsque le prélèvement sanguin s'avère difficile à réaliser[1]. La recherche de la délétion de l'exon 7 du gène *SMN* a été réalisée par la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) avec création, au niveau de la copie centromérique du gène *SMN* d'un site artificiel de restriction pour l'enzyme *DraI* [1]. Les produits d'amplification étaient contrôlés sur un gel d'agarose à 2 %. La taille attendue de l'amplimère était de 235 pb. Les produits de PCR étaient ensuite digérés par l'enzyme de restriction *DraI* qui reconnaît deux sites au niveau de la séquence amplifiée : un site commun aux deux copies *SMN* et *SMNc* et le site créé artificiellement au niveau de l'exon 7 de *SMNc* permettant de différencier les deux copies du gène *SMN* [1].

***Les étapes de l'étude :**

L'étude moléculaire de la SMA est basée sur plusieurs étapes fondamentales qui sont :

****Recueil des échantillons :**

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de consentement libre et éclairé portant les renseignements et l'accord par une signature des parents pour les mineurs et celle du patient lui-même pour les sujets adultes. L'étape de prélèvement influence directement sur la qualité des résultats analytiques obtenus, donc tout examen moléculaire ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un patient correctement prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuse.

-On prélève 2 tubes à EDTA (Ethylène Diamine Tétra-acétique acide) ou parfois, lorsque le prélèvement s'avère difficile on procède à la réalisation d'un frottis buccal

-Les tubes peuvent être conservés à +4°C ou -20°C pour utilisation ultérieure.

****Méthodes relatives à l'étude de l'ADN :**

*****L'extraction de l'ADN génomique:**

Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN, les autres sources cellulaires peuvent être des tissus (ex : raclage de la muqueuse buccale, biopsie des villosités chorales...). Dans la grande majorité des cas la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome et à la méthode de biologie moléculaire utilisée ultérieurement(PCR)... Le principe de l'extraction consiste en l'isolement des leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges et ensuite un traitement par un détergent (SDS) et une protéinase K. Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au NaCl. Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1). Les deux méthodes d'extraction d'ADN utilisées dans notre étude sont celle par le solvant inorganique (NaCl) et la méthode utilisant le Kit commercialisé dont le but est d'avoir une quantité et qualité d'ADN suffisantes permettant son analyse.

1-Extraction d'ADN au sel :

Elle reste la méthode de référence et passe par 04 étapes essentielles :

- Lyse des globules rouges
- Lyse des globules blancs
- Dénaturation et précipitation des protéines et impuretés
- Précipitation et lavage de l'ADN

2-Extraction par KITs commercialisés :

On peut se servir de cette méthode lorsqu'on dispose d'une faible quantité de sang. Elle est de réalisation rapide et comporte schématiquement 04 étapes fondamentales:

- La fixation de l'ADN
- La digestion par protéase
- Le lavage de l'ADN
- L'élution de l'ADN

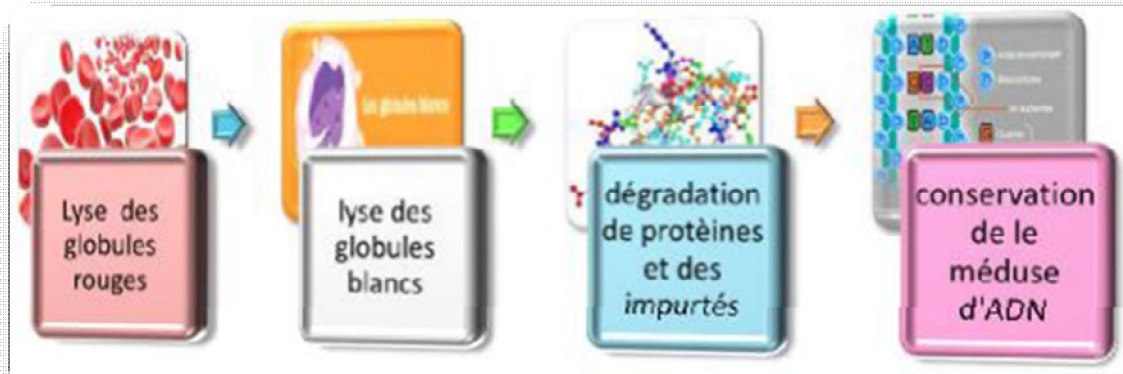


Figure 16: Les étapes de l'extraction de l'ADN au sel.



Figure 17: Les étapes de l'extraction de l'ADN au Kits commercialisés.

***Détermination de la pureté :

L'ADN absorbe à 260nm, alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280nm. L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10µL de l'ADN solubilisé dans 990µL de l'eau distillée stérile). Les densités optiques sont lues à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption respectivement des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile). Par le moyen du rapport de DO 260nm/DO280nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN. On considère que :

-L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport **R=DO260/DO280** est compris entre **1,6 et 2 (1,6<R<2)**.

-L'ADN est contaminé par les protéines si : **DO260/DO280 <1 ,6**.

-L'ADN est contaminé par les ARN si : **DO260/DO280>2**.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées ultérieurement. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par la réextraction de la pelote d'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée. Les ADN purs sont conservés à +4°C jusqu'à utilisation.

***Détermination de la concentration de l'ADN :

C'est une étape fondamentale qui conditionne en partie la réussite de la PCR. La densité optique à 260nm permet de calculer la concentration de l'ADN sachant que :

1unité de DO260nm=50µg /ml d'ADN double brin. Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000µl de TE (10 :1) ayant une DO260nm=0.139

1unité de DO260nm →→→ 50µg/ml d'ADN

0.139 de DO260nm →→→ X

En utilisant la règle de trois on calcule la valeur de l'X : $X=0.139 \times 50 = 6.95 \mu\text{g} / \text{ml}$

En considérant que l'ADN est dilué à 1/100, donc $6,95 \times 100 = 695 \mu\text{g} / \text{ml}$. Donc :

La connaissance de l'ADN en $\mu\text{g/ml}$ = facteur de dilution x DO₂₆₀ x 50 $\mu\text{g/ml}$. La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN qui doivent être suffisamment longues pour être digérés. L'ADN génomique doit donc être manipulé en évitant toute action mécanique violente. Le dosage de la concentration de l'ADN est actuellement de réalisation facile grâce au Nano DROP.

**** L'analyse moléculaire de l'exon 7 du gène *SMNt* :**

Elle consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant l'exon 7 du gène SMN, puis procéder à une digestion par une enzyme de restriction spécifique. La mise en évidence de la délétion de l'exon 7 de la copie télomérique du gène SMN s'effectue en plusieurs étapes successives :

***** Amplification des fragments d'ADN par la « Polymerase Chain Reaction » :**

-Principe :

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique décrite en 1985 par Kary Banks Mullis. Elle permet d'amplifier des séquences d'ADN de manière spécifique et d'augmenter de manière considérable la quantité d'ADN dont on dispose initialement. Cette technique impose de connaître la séquence des régions qui délimitent le segment de l'ADN à amplifier. Ces séquences serviront à synthétiser des oligonucléotides qui auront deux fonctions ; d'abord repérer la partie de l'ADN à amplifier et servir d'amorce à l'ADN polymérase.

-Réalisation pratique :

La technique comporte des cycles successifs. Chaque cycle comprend une succession de trois phases:

1/- une phase de **dénaturation** par la chaleur à 92-95°C pour séparer les deux brins d'ADN

2/- une phase **d'hybridation** avec les deux amorces spécifiques.

Leur fixation est rendue possible grâce à un abaissement de la température à 50-55°C. Un des deux oligonucléotides se fixe sur un brin de l'ADN, le second sur l'autre brin.

3/- une phase **d'extension ou d'élongation** des amorces par l'ADN polymérase à 70-72°C.

Cette technique a pris un essor considérable depuis qu'il est possible d'utiliser une ADN polymérase non activée par la chaleur. Il s'agit de la Taq polymérase isolée d'une bactérie thermophile (*Thermus aquaticus*) adaptée à la vie dans les sources chaudes. Elle permet une automatisation de la technique dans les thermocycleurs. Le nombre de cycles est généralement compris entre 30 et 40, et à la fin de chaque cycle le nombre de brins d'ADN a été multiplié par deux.

***Contrôle des produits de la PCR :

L'appareil à électrophorèse est formé d'une plaque en plexiglas placée horizontalement sur un support plat. Un peigne pour former les puits est aligné parallèlement au sommet de la plaque. L'ensemble est relié par des électrodes à un générateur de courant. De l'agarose a été préparé à une concentration de 1,5% additionné de 10µl de BET (Bromure d'éthidium). La solution d'agarose fondue à la chaleur, refroidie, a été additionnée de 3µl de Bet, un agent s'intercalant entre les brins d'ADN. La solution a été ensuite versée sur la plaque. Après durcissement du gel, le peigne a été enlevé et le gel durci recouvert de tampon TBE 1X. Dans chaque puits du gel, il est déposé :

-15µl de produits d'amplification+2µL BBP (Bleu de Bromophénol).

-3µl de marqueur de taille + 10µl H₂O +2µl BBP

En parallèle avec les échantillons, un marqueur de poids moléculaire est déposé dans un puits. Les dépôts se font du côté cathode(-). Le système est ensuite soumis à une migration sous un courant de 90 à 120 volts pendant 1h. Cette analyse permet non seulement l'évaluation de la réussite de l'amplification, mais également d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

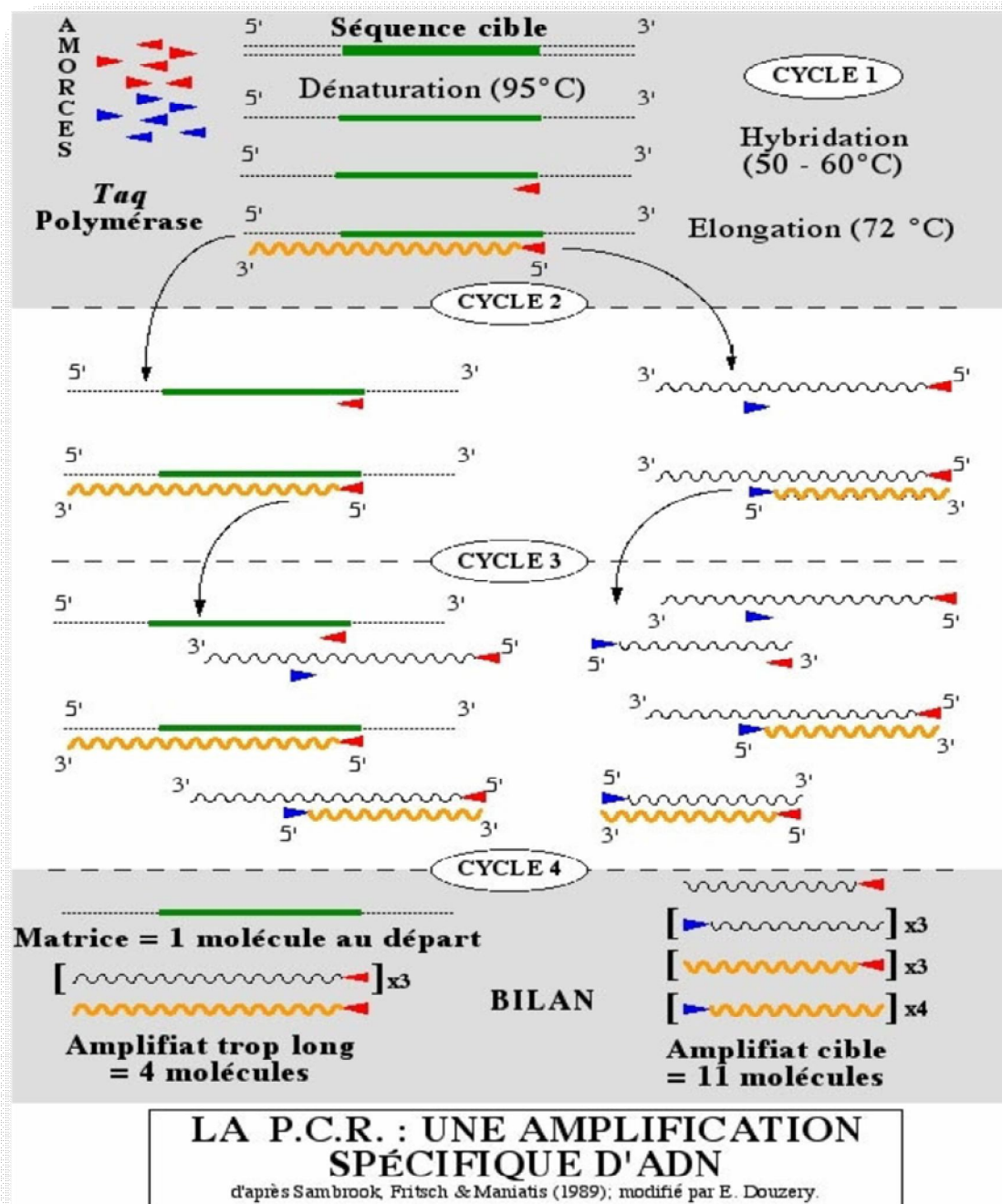


Figure 18: Schéma des différentes étapes de la PCR.

***La digestion enzymatique des produits de la PCR :

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par Dra1, une enzyme de restriction produite par *Deinococcus radiophilus* (anaerobic bacterium) qui reconnaît et clive une séquence bien précise au niveau de la copie centromérique du gène *SMN*. On utilise une différence nucléotidique entre les deux gènes pour créer, à l'aide d'une des amorces de PCR, un site de restriction sur *SMN2* seulement.

***La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose :

En gel d'agarose, la migration des fragments d'ADN dépend de la taille du fragment plus que de la charge de celui-ci. Plus le fragment a une taille élevée, moins la migration par rapport au puits d'inclusion sera importante. A l'opposé les fragments de petite taille auront une distance de migration la plus élevée. Après migration, les fragments séparés sont observés aux rayons ultraviolets grâce à un transilluminateur. La présence du BET dans le gel d'agarose permet la révélation des fragments à l'ultraviolet.

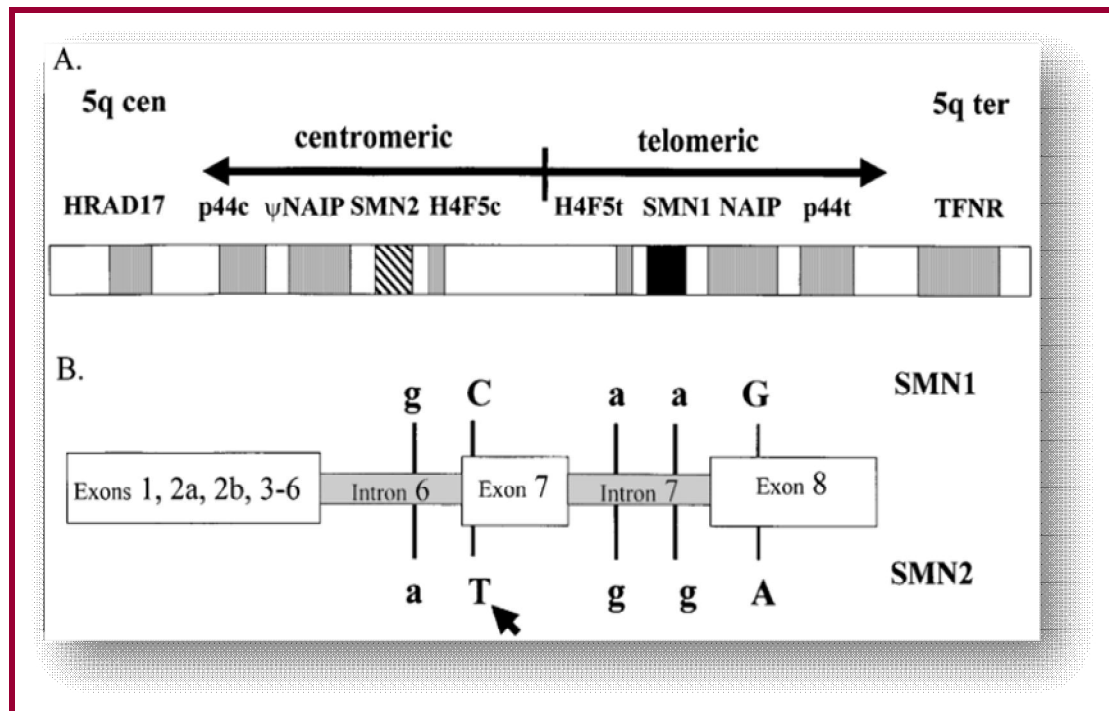


Figure 19 : La différence nucléotidique entre les deux copies SMN.

(Utilité de cette différence pour la création du site de restriction par l'enzyme Dra1.)



Figure 20: Site de restriction de l'enzyme Dra 1 au niveau du SMN2.

RESULTATS

Parmi les 295 patients qui se sont présentés pour suspicion de SMA entre le début de l'année 1996 et le mois d'Octobre de l'année 2014 ; la délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN* a été trouvée chez 133 patients. Nous rapportons ci-dessous les résultats de l'exploitation des données épidémiologiques cliniques et paracliniques des patients ayant une SMA confirmée sur le plan moléculaire. Nos résultats sont les suivants :

- 133 patients de phénotype et génotype SMA appartenant à 131 familles.
- Tous de nationalité marocaine de différentes régions du royaume.
- Colligés des services de Pédiatrie, de Neuropédiatrie et de neurologie des différents CHU ; ainsi que du secteur privé durant la période s'étalant entre le début de l'année 1996 et octobre 2014.

1- Caractéristiques épidémiologiques :

1-1-La répartition des malades en fonction du sexe :

Nos 133 patients ont été répartis en 68 sujets de sexe masculin et 65 de sexe féminin, avec un sexe ratio toutes formes cliniques confondues de 1,04.

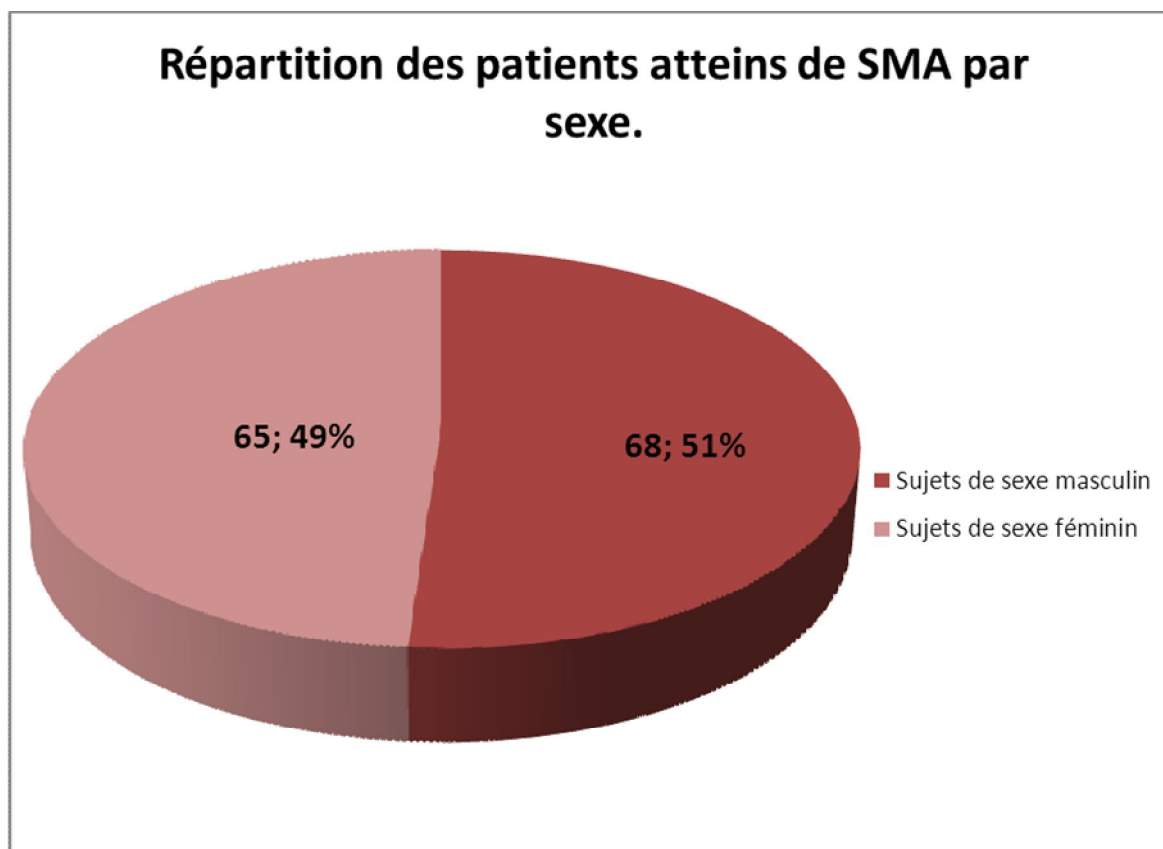


Figure 21: Répartition des malades SMA en fonction du sexe.

1-2-Enquête généalogique :

*La consanguinité :

Sur l'échantillon étudié la consanguinité a été retrouvée chez 54 patients à savoir 40,60%:

-52 patients étaient nés de parents consanguins du 1^{er} degré, (39,1%)

-02 de parents consanguins du 2^{ème} degré. (1,5%)

En revanche, 79 patients (59,4%) atteints de la SMA étaient nés de parents non consanguins.

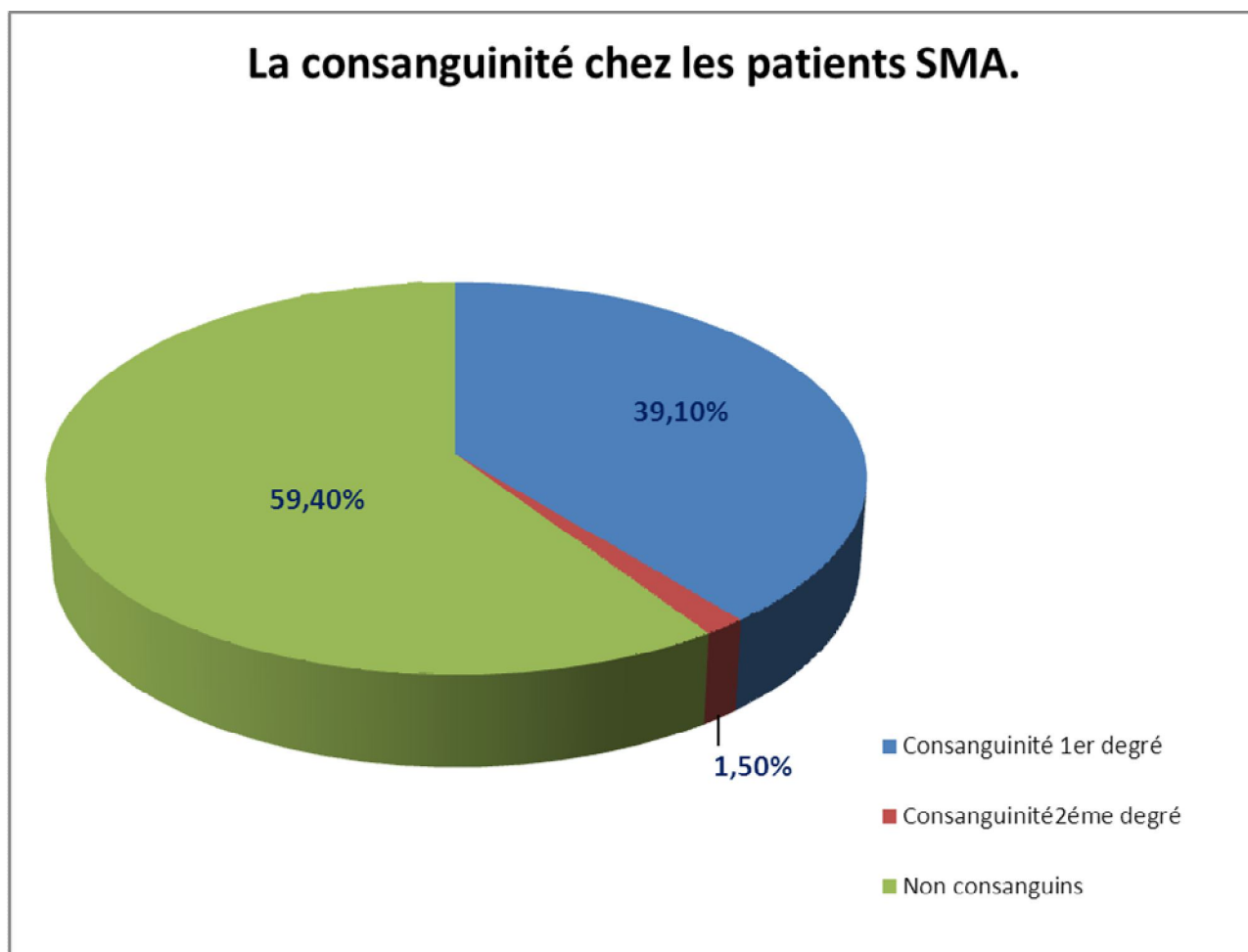


Figure 22: Le taux de consanguinité dans notre cohorte.

*La présence de cas similaires :

Chez 12 patients parmi les 133 étudiés, l'anamnèse avait révélé l'existence de cas familiaux d'hypotonie congénitale ou de faiblesse musculaire intéressant essentiellement les membres inférieurs mais sans confirmation moléculaire de la SMA, dont 07 patients ayant une SMA type I ; 02 de type II et 03 de type III.

Patient	Cas familial
SMA Type I : -S.01 mois -R.03ans -H.03mois (DCD à 06mois) -A.02mois -A.06ans HC+ -A.HC+ DCD à 07mois -F.Z.HC+ SMA Type II : -J. 07mois -A.09mois SMA Type III : -S.02ans -B.02ans -H.02ans DC à 04ans	Frère DCD à 04mois de vie Sœur 08 ans Sœur DCD Frère DCD à 05 mois Frère même tableau Frère DCD même tableau Frère 14 ans + cousine même tableau Sœur DCD à J20 de vie Oncle maternel 02 sœurs aînées sur CR Sœur marche difficile Frère même tableau

Tableau 6 : les antécédents familiaux des patients SMA.

1-3-L'âge de début des symptômes :

Le graphique ci-dessous représente la répartition des patients par tranches d'âge selon la classification du consortium international. Leur âge varie depuis la période néonatale à l'âge de 40 ans. La tranche d'âge de 18mois à 21ans est la plus représentée : elle présente 39,8% de l'effectif.

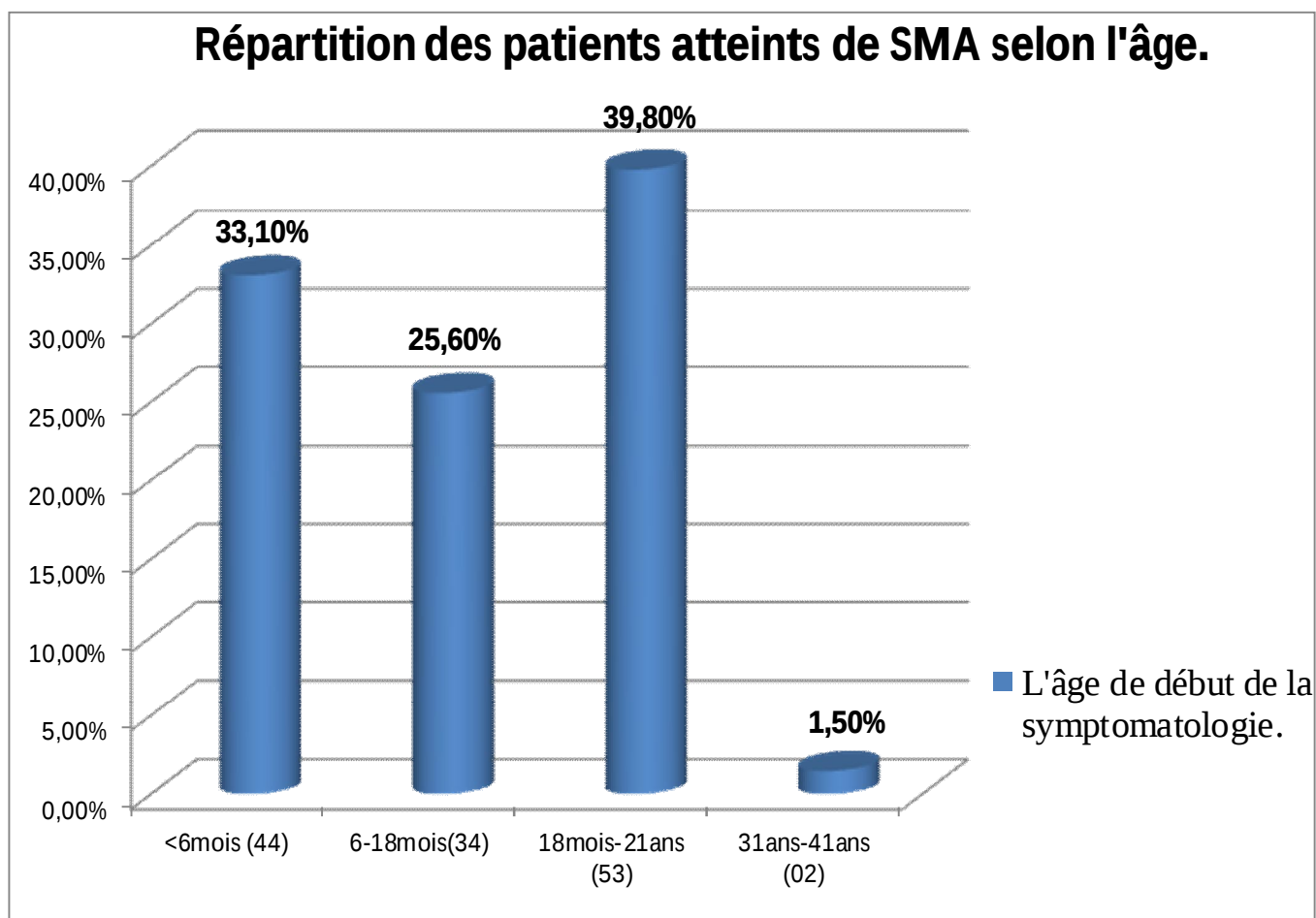


Figure 23: Répartition des patients par tranche d'âge. (Age de début des symptômes).

2- Caractéristiques cliniques :

2-1- La présentation clinique:

Une hétérogénéité clinique a été observée chez notre cohorte. Le signe d'appel initial chez la majorité de nos patients était l'hypotonie congénitale et la régression motrice ; suivies par le retard moteur. Une détresse respiratoire sévère était présente chez 04 nourrissons ayant une SMA type1. La notion de diminution des mouvements actifs fœtaux depuis la vie intra-utérine a été rapportée par les mères de 03 nourrissons.

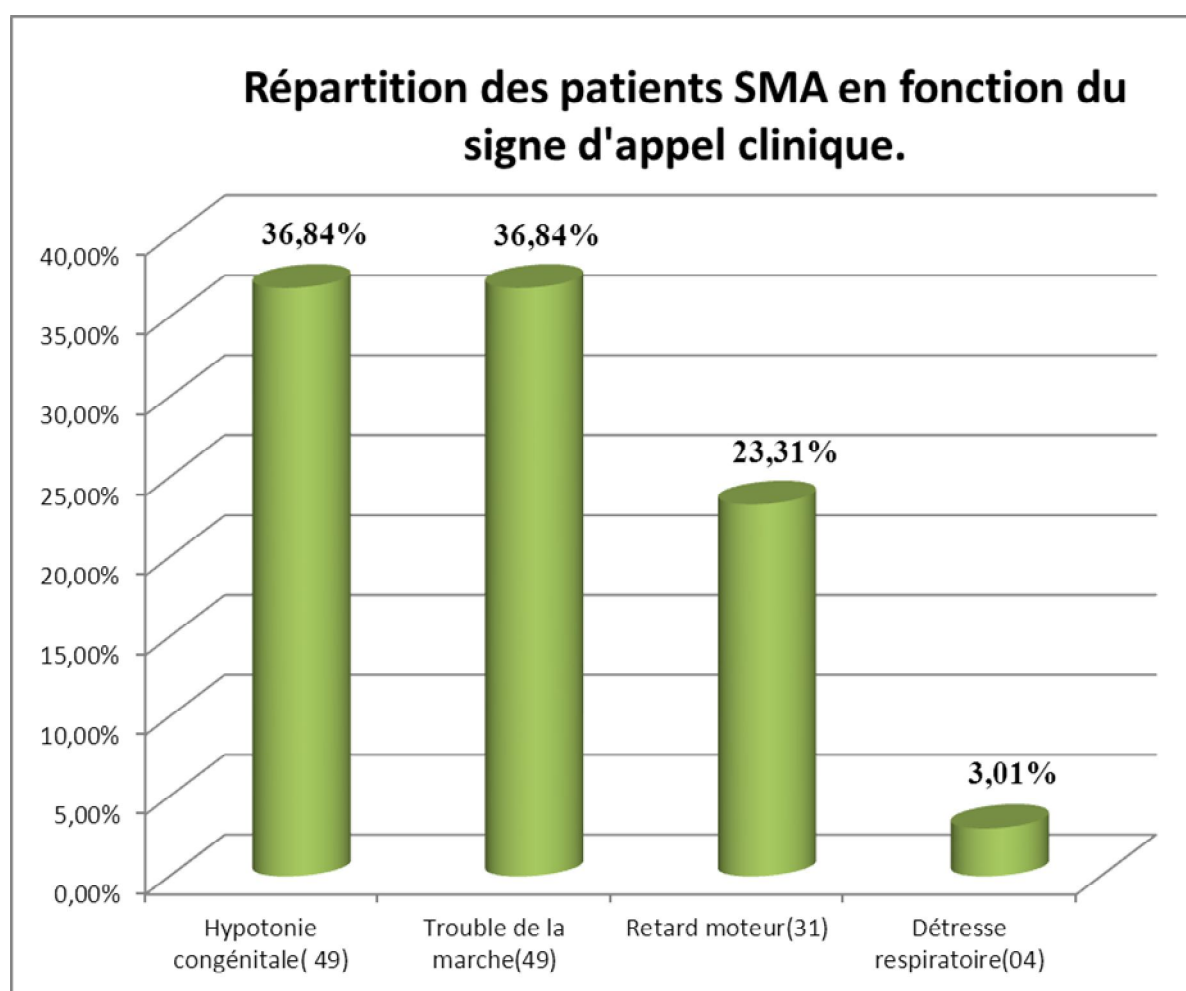


Figure 24: Les différentes présentations cliniques retrouvées chez notre cohorte.

2-2-La répartition des malades SMA en fonction du type et du genre :

Dans notre échantillon de 133 malades, nous avons retrouvé les 4 degrés de sévérité de la maladie décrits selon la classification du consortium international, avec une variation du sexe ratio entre les différents types.

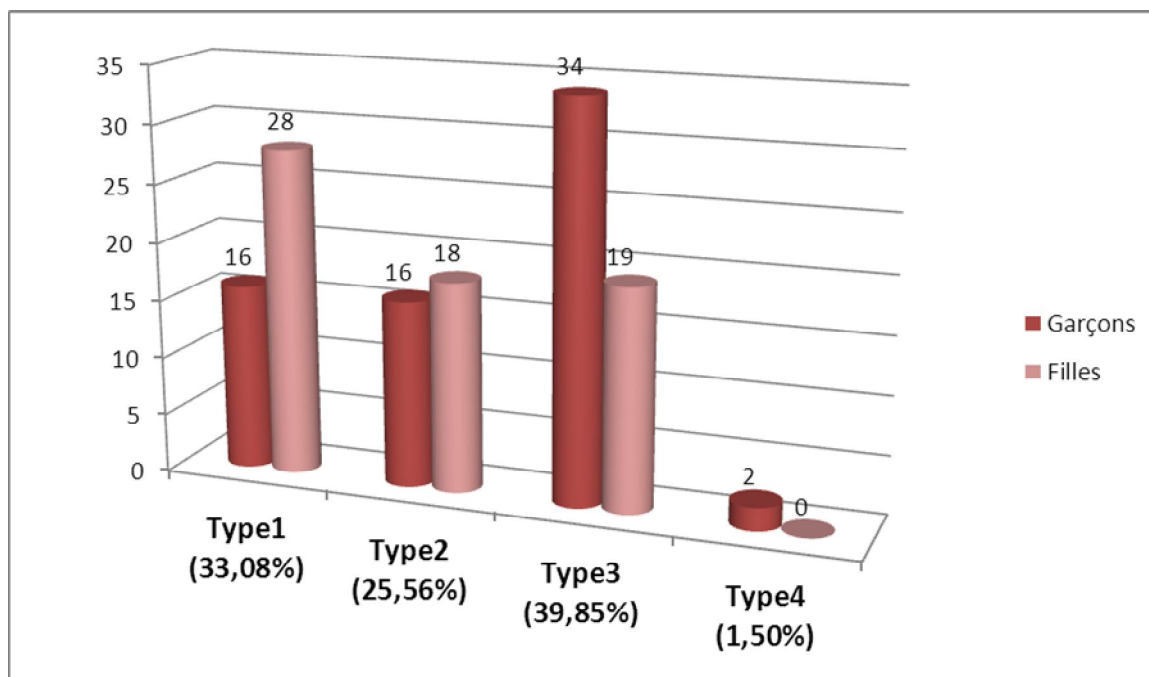


Figure 25: Répartition des malades en fonction du type et du genre.

3-Caractéristiques paracliniques :

3-1-L'EMG :

Cet examen neurophysiologique n'a été réalisé que chez 69 patients de notre série (51,88%). Le tracé était neurogène chez 61 patients, normal chez 03 patients et non concluant chez les 05 autres ou les tracés obtenus ne correspondaient pas à la SMA malgré la forte suspicion clinique. (Myogène ? PRN ? Mixte ?). Chez les 64 patients restants l'EMG n'a pas été réalisé.

3-2-Le dosage des CPK :

Le résultat de l'étude de ce paramètre est illustré par ce tableau ci-dessous:

Taux de CPK	Effectif	Pourcentage
Normal	33	24,81%
Elevé	06	04,51%
non fait	94	70,68%
Total	133	100%

Tableau 7 : Résultats du dosage sérique des CPK de notre cohorte.

On a constaté que $\approx 5\%$ de notre échantillon avait un taux de CPK élevé, alors que $\approx 25\%$ des patients avaient un taux de CPK normal. La majorité des patients n'avait pas réalisé cette analyse.

3-3-La biopsie musculaire :

Cet examen invasif n'a été réalisé que chez 03 patients de notre série. Elle avait objectivé une atrophie musculaire chez le premier patient alors qu'elle était normale chez les deux autres.

4-Résultats de l'étude moléculaire :

Les fragments d'ADN obtenus après migration électrophorétique des échantillons sont représentés sur la figure. Le profil électrophorétique d'un sujet normal correspond à la présence de deux bandes :

- un fragment lourd non digéré qui correspond à *SMN1*.
- un fragment digéré, plus court correspondant à *SMN2* qui migre plus loin.

Chez les 133 patients de notre cohorte, la PCR-digestion a mis en évidence la délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN1* par l'absence du signal au niveau du site de migration de la copie télomérique.

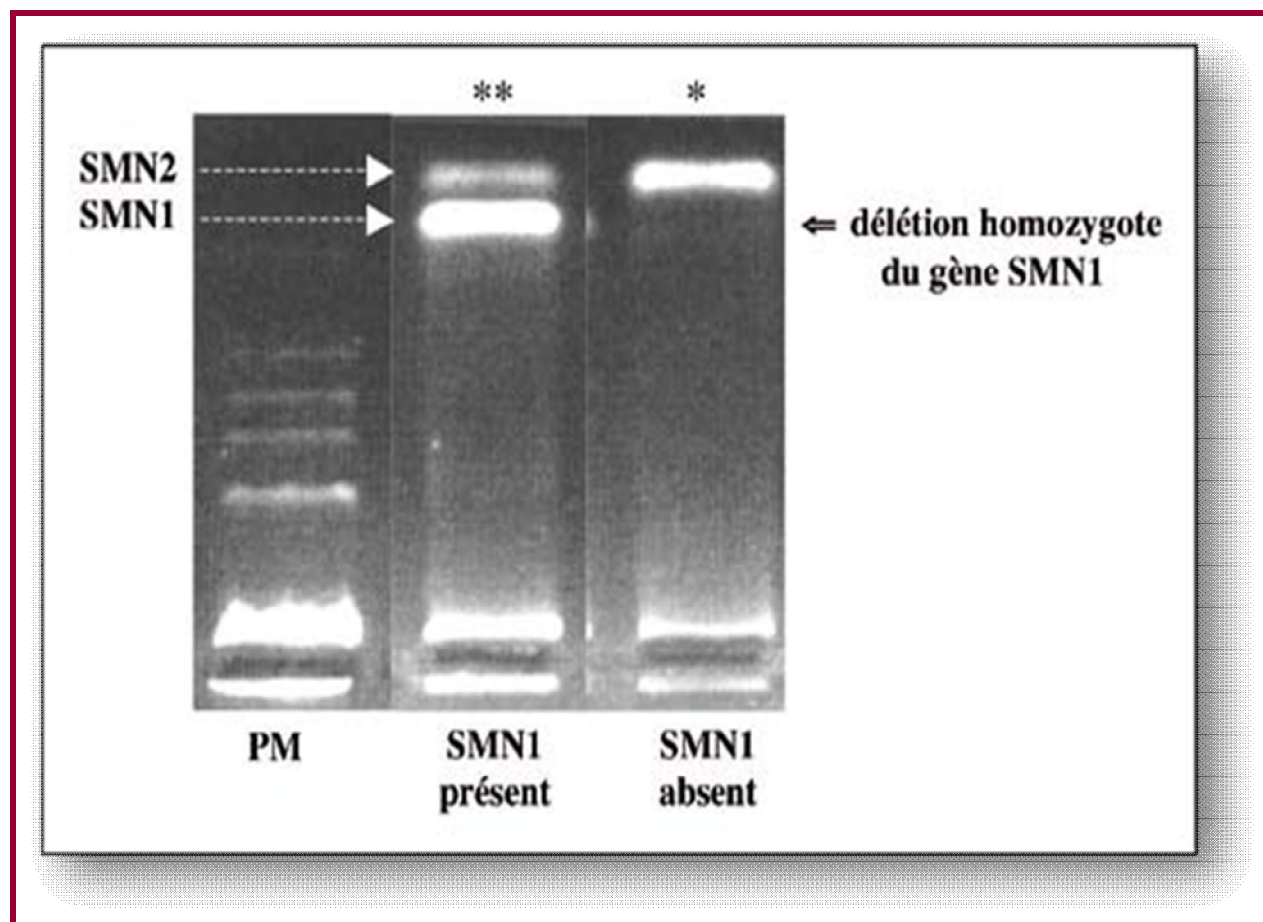


Figure 26 : Profils électrophorétiques des copies SMN1 et SMN2 après PCR-digestion.

* : La délétion homozygote du gène *SMN1*, retrouvée chez 95-98% des patients atteints de SMA classique, se traduit par une absence de signal autour du fragment *SMN1*, et permet de confirmer le diagnostic de SMA.

** : La présence d'un signal *SMN1* ne permet par contre pas de faire la différence entre les patients porteurs de deux copies de *SMN1* (sujets << normaux >> ou malades atteints d'une SMA atypique non liée au gène *SMN1*) et les patients porteurs d'une seule copie de *SMN1* (porteurs sains hétérozygotes ou malades porteurs d'une délétion de *SMN1* sur un allèle et d'une mutation ponctuelle sur l'autre allèle). (PM : Marqueur de Poids Moléculaire)

DISCUSSION

Dans ce travail prospectif et rétrospectif portant sur 295 patients adressés au service de génétique médicale pour suspicion d'amyotrophie spinale ; nous nous sommes intéressés à la recherche de la délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMNt*, du fait de sa récurrence (95% des cas). Cette analyse moléculaire avait objectivé la présence de la délétion homozygote de l'exon 7 de la copie *SMNt* chez 133 patients d'entre eux.

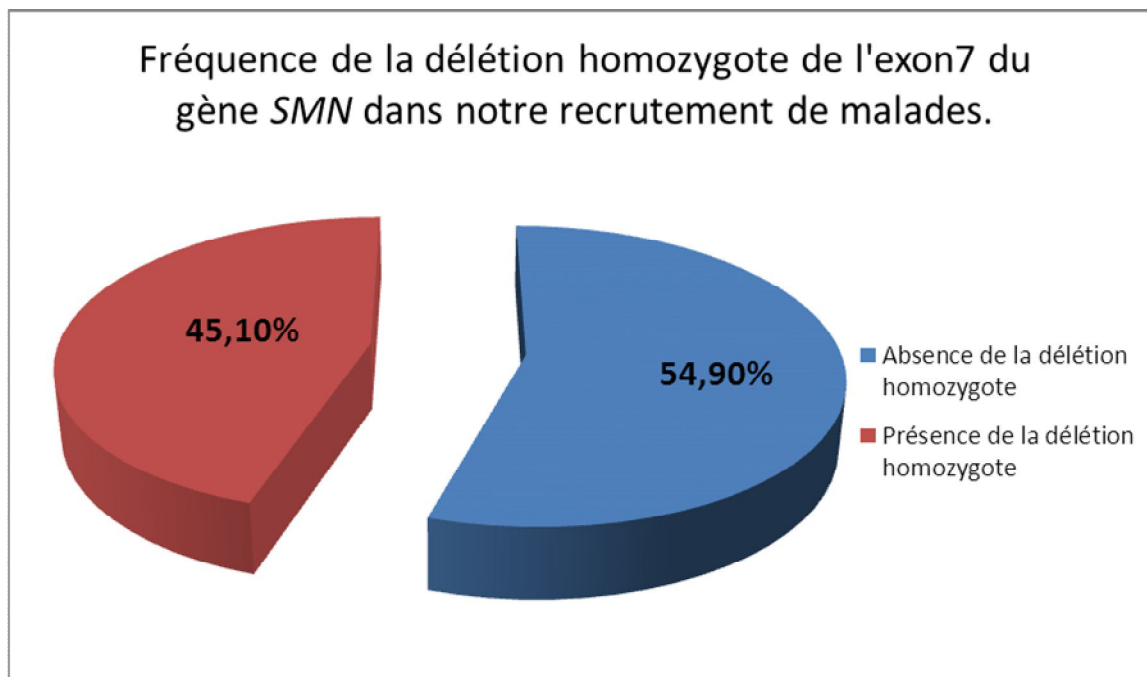


Figure29:La fréquence de la délétion de 2'exon 7 du gène *SMN* dans notre recrutement de malades

1- Facteurs épidémiologiques :

1-1-Prévalence :

La SMA est parmi les pathologies génétiques relativement fréquentes chez l'enfant et sa prévalence a été estimée à 1 sur 10 000 chez les caucasiens [88]. Au Maroc, du fait du taux élevé des mariages consanguins (15,25 %) [29], la fréquence de cette pathologie est très probablement plus élevée que dans les populations européennes.

Très peu d'études épidémiologiques sur la SMA ont été réalisées. Par une approche d'épidémiologie moléculaire PCR-RT, Lyahiai et al. (2011) ont estimé que la fréquence des hétérozygotes corrigée par le taux de consanguinité est de 1/25. En supposant que l'équilibre de Hardy-Weinberg, cette fréquence porteuse 1/25 signifierait une prévalence calculée SMA de 1/2500. [30]

Avec cette forte prévalence de SMA liée à la suppression du gène *SMN1*, les mesures de la santé devraient être mises en œuvre. Le dépistage des porteurs pourrait être un outil utile pour le conseil génétique aux personnes ayant une histoire familiale positive.

Ces résultats montrent que la fréquence des hétérozygotes pour la SMA au Maroc est plus élevée que dans les populations européennes (de 1/50 à 1/80). La fréquence des hétérozygotes dans d'autres pays varient selon les populations au Royaume-Uni (de 1/60 à 1/80), intermédiaire dans le Dakota du Nord, États-Unis (01/41), la Corée (01/47), et l'Australie (1/49), à des fréquences plus élevées (1/37) en Espagne (A. Madrid Rodriguez); (1/31) en Ukraine par O. Soloviov et al 2013; (01/20) en Iran et l'Arabie saoudite (Burd et al, 1991. Mostacciuolo et al, 1992; Thieme et al, 1994; Ludvigsson et al. 1999; Lee et al, 2004; Hasanzad et al, 2010; Goncalves - Rocha et al, 2011).

The frequencies of exon 7 *SMN1* gene heterozygous deletion in different populations

Population/Ethnicity	Number of individuals	Frequency, %	Method of screening	Reference
USA Hispanic	1030	0.8 (1/129)	qPCR	Seoyoung Yoon, et al., 2010 [10]
USA African American	1015	1.1 (1/92)	qPCR	Seoyoung Yoon, et al., 2010 [10]
USA Asian	1027	1.8 (1/57)	"	Seoyoung Yoon, et al., 2010 [10]
Korean	100	2 (1/50)	MLPA	[11]
USA Ashkenazi Jewish	1002	2.2 (1/46)	qPCR	Seoyoung Yoon, et al., 2010 [10]
Chinese	1712	2.39 (1/42)	DHPLC	[12]
Brazilian	150	2.6 (1/38)	DHPLC	[13]
USA, Caucasians	1028	2.7 (1/37)	qPCR	Seoyoung Yoon, et al., 2010 [10]
Germans	140	2.85 (1/35)	"	Bueno, et al., 2011 [1]
Ukraine	370	3.24 (1/31)	"	This study
Iran	200	5 (1/20)	"	Zhu Sheng-Yuan, et al., 2010 [14]

Tableau 8 : La fréquence des hétérozygotes pour la SMA dans différentes populations.

1-2-Sexe:

De manière générale, il n'est pas observé de déséquilibre du sex-ratio dans la SMA(réf). Dans notre série, le sex-ratio calculé à partir des 133 patients de notre cohorte, tous types confondus; est de 1,05(68H/65F). Ce léger déséquilibre du sex-ratio pourrait résulter d'une différence de sévérité de la SMA chez les garçons par rapport aux filles.(Opera et al 2008) En fait, le sex-ratio change en fonction du degré de sévérité de la forme de la SMA, ainsi :

***Pour le groupe 1: Le nombre de patients est de 44 soit 33,1% de l'échantillon étudié ; l'observation de ces malades montre :

Une prédominance du sexe féminin (16 garçons ; 28 filles) avec un sex-ratio de 0,57 (16H/28F) ceci pourrait s'expliquer par la sévérité de la SMA de type 1 chez les garçons, de manière que le décès par détresse respiratoire survient chez eux avant qu'un diagnostic ne soit établi.

***Pour le groupe 2: Le nombre de patients est de 34 soit 25,6% avec un sex-ratio de 0,88 (16 H/18F), nous constatant dans ce type 2 que le sexe féminin prédomine légèrement et le sex-ratio tend vers 1.

***Pour le groupe 3 : Le nombre de patients est de 53 plus élevé que les deux groupes précédents ; 34 sont de sexe masculin contre 19 de sexe féminin ceci donne un sex-ratio de 1,79.

***Pour le groupe 4 : Le nombre de patients de ce groupe est très restreint par rapport aux autres groupes ; parmi les 133 malades de notre cohorte ; nous n'avons eu que 02 malades de sexe masculin.

A travers notre étude il paraît une légère prédominance du sexe masculin par rapport aux filles, avec un sex-ratio de 1,05 (68 G/65F). D'autres auteurs ont rapporté les mêmes résultats (Zerres et Rudnik et al. 1995) (A.Madrid Rodriguez et al.2014 ; 1,6/1) (Ibrahim S et al NeurolIndia2012) et ils ont proposé qu'il y'a un facteur probablement hormonale qui protégerait les filles d'où la diminution marquée du nombre de filles. Le déséquilibre du sex-ratio observé dans les formes très précoces de SMA pourrait être expliqué par l'existence d'une sévérité plus importante de la SMA chez les garçons à l'origine, d'une part de formes létales associées au génotype 0SMN1/1SMN2 et d'autre part d'une plus grande proportion de garçons au sein des formes les plus sévères de SMA. Il est d'ailleurs intéressant de noter que les personnes asymptomatiques décrites avec un génotype 0SMN1/4SMN2 sont dans la grande majorité des cas de sexe féminin (Oprea *et al.* Science 2008) (Jedrzejowska *et al.* 2008) (Bernal *et al.* 2011). Ces observations suggèrent l'existence d'un gène modificateur sexe-dépendant, ce qui pourrait expliquer que la prédominance du sexe féminin dans le

groupe 1 serait une « fausse » prédominance, et que peu de garçons survivent et arrivent au stade du diagnostic moléculaire.[119]

1-3-Histoire familiale et consanguinité:

Les arbres généalogiques établis après enquête auprès de l'ensemble des familles des malades sont très informatifs. Nous avons constaté à travers les arbres généalogiques que la maladie est transmise selon le mode autosomique récessif.

Par ailleurs, nous avons constaté une répartition horizontale des malades dans les 12 familles ayant un antécédent de SMA, ainsi les individus affectés ont appartenu à la même génération, il n'y avait aucun cas des patients affectés dans 02 générations, cette répartition a été également observée par de nombreux auteurs (Shawky et al. 2001). Nous n'avons pas noté de variabilité phénotypique intrafamiliale ; les patients de la même famille présentaient tous le même type de SMA. Dans notre cohorte, au moins un antécédent familial de SMA est rapporté chez 12 patients. Il s'agissait d'un décès à la période néonatale chez la fratrie (05cas) ; d'une faiblesse musculaire avec des troubles de la marche chez la fratrie et les cousins (06cas) et un antécédent familial de SMA type IV chez l'oncle maternel d'un nourrisson de 09mois. L'homogénéité de la présentation clinique au sein de la fratrie est attendue.

Pour les patients de la littérature, il est rapporté un antécédent familial de SMA de type I chez la sœur de la mère (Devriendt *et al.* 1996), et l'existence d'au moins un enfant atteint d'une SMA confirmée sur le plan moléculaire chez 36 familles iraniennes, qui se sont présentées pour un diagnostic prénatal (Mahmoud Shekari Khaniani *et al.* 2013). Compte-tenu de la fréquence importante des hétérozygotes dans la population générale, il est naturel de trouver, dans de rares cas, des antécédents familiaux de SMA dans d'autres branches familiales. Les patients rapportés par Korinthenberg *et al* appartiennent à la même fratrie (Korinthenberg *et al.* 1997). Ces trois patients présentent une SMA de type Ia, avec une présentation clinique relativement homogène. Pour trois autres patients de la littérature, il est rapporté une récurrence de SMA pour une autre grossesse du couple, qui s'est terminée dans les trois cas par une interruption médicale de grossesse. Ces trois fœtus présentaient des

signes en période anténatale, faisant supposer l'existence d'une forme très sévère de SMA, du même type que celle déjà observée dans la fratrie (Rijhsinghani *et al.* 1997) (Menke *et al.* 2008) (Parra *et al.* 2011).

En effet, le gène *SMN2*, qui est le principal gène modificateur, est localisé à proximité immédiate du gène *SMN1*. Au sein d'une même fratrie, tous les enfants qui héritent les allèles morbides de leurs parents, héritent du même nombre de copies du gène *SMN2*. Cependant, au sein d'une même fratrie parfois ; les filles présentent des tableaux cliniques moins sévères que les garçons du fait du gène modificateur lié à l'X.

Le taux de consanguinité chez les couples mariés est élevé au Maroc (15,25 % -19,90 %) et, dans certaines régions, il dépasse > 28 % (Bouazzaoui, 1994 ; Cherkaoui *et al.* 2005; Hami *et al.* 2006; Talbi *et al.* 2007 ; Jaouad *et al.* 2009), ce qui entraîne une forte incidence et la prévalence des troubles génétiques autosomiques récessives. Le coefficient de consanguinité moyen dans la population générale marocaine est 0,0065 ; en tenant compte de ce facteur, la prévalence de SMA est portée à 1/1900 d'après la formule de Wright. En outre, les patients ayant la délétion homozygote du gène *SMN1* représentant 95 % du total des formes de la maladie, ce qui signifie que nos résultats prédisent une prévalence de 1/1800 pour tous les types de SMA. Ce chiffre confirme que SMA est l'une des maladies génétiques les plus répandues dans la population marocaine.

Le taux de consanguinité chez nos patients avoisine 40,6% donc cette dernière comme dans toutes les maladies récessives est un facteur favorisant important dans l'émergence de la SMA. Parmi les 133 patients de notre série chez qui le diagnostic de SMA a été confirmé par le test génétique, 54 (40,6 %) étaient nés de parents consanguins. Ce taux de consanguinité, quoique élevé, reste au-dessous de celui estimé à près de 60 % dans les maladies autosomiques récessives au Maroc [29]. Ces résultats sont identiques à ceux retrouvés par d'autres chercheurs comme (Salih *et al.* 1996 ; Majumdar *et al.* 2005 ; Al Jumah *et al.* 2007 ; Tadmouri *et al.* 2009) en particulier au niveau du Moyen-Orient et l'Asie.

Références	Taux de consanguinité	Population
Al Rajeh et al (1998)	81%	Arabie Saoudite
Salahshourifar et al (2007)	65%	Iran
Koul et al (2007)	49%	Oman
Shawky et al (2011)	46%	Egypte
Ibrahim et al (2012)	68%	Pakistan
Cherkaoui et al (2005)	15,25%	Maroc

Tableau 9 : Taux de consanguinité dans différentes population.

En revanche, 79 patients de notre cohorte (59,4%) atteints de la SMA étaient nés de parents non consanguins sur au moins trois générations, ce qui s'expliquerait essentiellement par une fréquence élevée des personnes hétérozygotes pour la délétion de l'exon 7 du gène *SMN* dans la population marocaine. (1/25)

Ce test génétique rentable pourrait être essentiellement utile dans un pays en développement avec un taux élevé de mariages consanguins et une fréquence aussi élevée des personnes hétérozygotes pour la SMA.

2-Caractéristiques cliniques :

Le tableau clinique de la SMA varie selon qu'il s'agisse de tel ou tel type. Bien que le diagnostic positif de certitude est moléculaire ; l'étude clinique reste indispensable et permet d'orienter les investigations et d'éliminer certains diagnostics différentiels. Les quatre types de la SMA ont été retrouvés dans notre échantillon avec certaines différences concernant :

*** le motif de consultation ainsi que l'âge de début :

Pour le type1 : Nbre=44 (33,1%) de l'échantillon

-Depuis la naissance, les signes neurologiques retrouvés de façon constante chez les patients de notre cohorte sont une hypotonie majeure (n=44/44), une motricité spontanée absente ou extrêmement limitée au niveau des extrémités (n=44/44), une absence de réflexes ostéotendineux (n=44/44). La faiblesse musculaire s'accompagnait également d'une abolition des réflexes archaïques (n=44/44). L'existence d'une **amyotrophie**, de **fasciculations linguales** et d'une **attitude en grenouille** semblent également faire partie de la présentation neurologique (respectivement n=10/44, n=08/44 et n=07/44). Dans une série de 33 patients la présentation neurologique est globalement homogène et l'association de ces mêmes signes est retrouvée chez la majorité des patients : hypotonie majeure (n=25/25), motricité spontanée absente ou extrêmement limitée (n=25/25), absence de réflexes ostéotendineux (n=16/16), amyotrophie (n=8/8) et fasciculations linguales (n=14/14). Une attitude en grenouille est rapportée dans deux cas (Vaidla *et al.* 2007), (García-Cabezas *et al.* 2004). Ces signes neurologiques correspondent à ceux observés dans la SMA de type I classique à un stade avancé et sont le reflet de l'atteinte des motoneurones de la corne antérieure de la moelle épinière.

Chez la majorité des patients de la littérature (n=28/31), il existe dès la naissance une détresse respiratoire sévère avec absence de mouvements respiratoires, nécessitant d'emblée une assistance ventilatoire. Ces enfants restent par la suite dépendants de la ventilation artificielle. Cette insuffisance respiratoire, d'emblée sévère, est secondaire à la faiblesse des muscles respiratoires accessoires mais aussi à un certain degré d'hypoplasie pulmonaire (Cunningham and Stocks 1978). Dans notre cohorte, ces patients ne représentaient que 04 parmi les 44 ayant une SMA de type I -tous décédés- ; ceci s'expliquerait essentiellement par la sévérité de ce tableau clinique qui entraîne un décès précoce avant d'établir un diagnostic et il en résulte que la plupart des patients sont sous-diagnostiqués.

L'**atteinte de la succion et de la déglutition** semble constante (n=44/44 dans notre cohorte et n=5/5 dans la littérature). Une **diminution de la motricité faciale** est fréquemment observée (n=28/44 dans notre cohorte et 6/12 dans la littérature). **L'oculomotricité est le plus souvent préservée** (normale chez 44/44 patients de notre cohorte et 13/18 patients de la littérature). Une atteinte de l'oculomotricité a été observée chez les trois patients de la même fratrie rapportés par Korinthenberg *et al.* (Korinthenberg *et al.* 1997) et chez les patients rapportés par Kuo *et al.* et Hergersberg *et al.* (Kuo *et al.* 1999) (Hergersberg *et al.* 2000). Une faiblesse du cri a été rapportée chez deux patients (MacLeod *et al.* 1999). Ces signes correspondent à l'**atteinte du tronc cérébral**, également observée dans les autres formes de SMA, le plus souvent les formes les plus sévères (Petit *et al.* 2011). Aucun patient ne présentait une hypersudation, en rapport avec des **troubles vasomoteurs** fréquemment rencontrés dans certaines formes de SMA (Chabrol *et al.* 2010).

Ces troubles vasomoteurs, relevant probablement d'une dysrégulation neurovégétative, pourraient être l'expression également d'une atteinte tronculaire.

Tous les patients de notre cohorte (n=44/44) ont un **contact visuel préservé**. Pour les patients de la littérature, la présence d'un contact oculaire est rapportée dans n=8/8 cas. La présence d'un contact visuel de bonne qualité témoigne de l'intégrité des fonctions supérieures, comme il est observé dans les autres formes de SMA. Compte tenu de la possibilité d'une souffrance cérébrale néonatale (liée notamment aux troubles ventilatoires), la constatation éventuelle d'une altération du contact visuel doit faire évoquer de principe qu'il puisse être l'expression d'un surhandicap.

Pour le type2 : Nbre=34 (25,6%)

L'âge de début était entre 06 et 18 mois, la position assise était possible alors que la marche était impossible à cause de la faiblesse des 04 membres et surtout les membres inférieurs.

Pour le type3 : Nbre=53 (39,8%)

Le cours clinique de ces patients change considérablement ; au début ils sont capables d'acquérir la marche, plus tard apparaissent des difficultés pour passer de la station assise à la station debout, et la plupart d'entre eux finissent confinés au fauteuil roulant.

Pour le type4 : Nbre=2 (1,5%)

L'âge de début était tardif (Patient1=31ans ; Patient2=40ans). Ces patients pouvaient encore marcher, le début de la maladie est insidieux et l'évolution est très lente. Le nombre de patients de type4 est très restreint par rapport aux autres types ; parmi les malades recensés nous n'avons que 02 malades. Ce résultat concorde avec ceux trouvés par Zérres et les autres auteurs dans les différents pays; qui montrent que ce type IV est rare et elle représente 8% des amyotrophies spinales proximales.

*****La fréquence de différents types de SMA :**

Ce paramètre varie considérablement selon les populations. Les patients de notre cohorte étaient répartis comme suit : Type I (33,1%) ; Type II (25,6%) ; Type III (39,8%) et Type IV (1,5%).

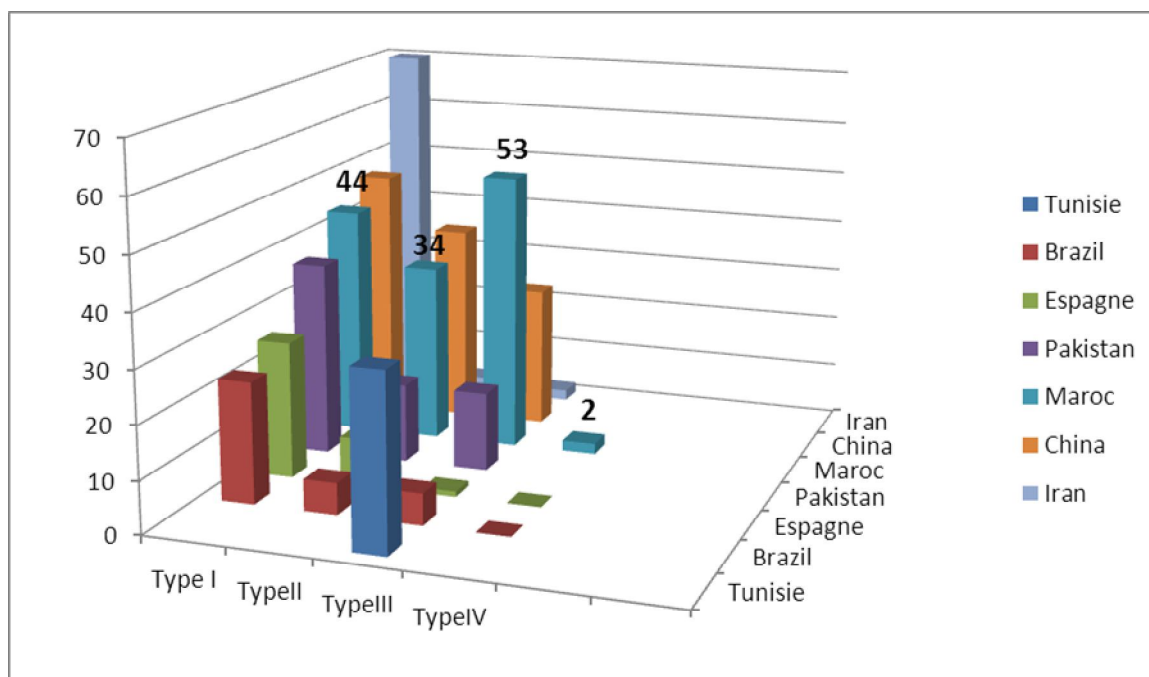


Figure28: La fréquence des types de SMA selon les populations.

La prédominance du type III chez notre population a été rapportée également chez la population tunisienne (I Rekik et al, 2013). Les autres auteurs avaient constaté une nette prédominance du type I. (H Stewart et al 1998 ; A.Madrid Rodriguez et al 2014 ; I Shahnaz et al 2012 ; W.L.Liu et al 2013 ; Pupak Derakhshandeh-Peykar et al 2007). D'après ces observations deux hypothèses pourraient être soulevé :

- Chez la population maghrébine, et du fait de la sévérité clinique de la SMA type I et à moindre degré type II, peu de patients survivent et sont diagnostiqués. Dans le type III et IV, le pronostic vital n'est-plus au mois- pas mis en jeu puisque la détresse respiratoire n'est pas classique.
- L'impact du nombre de copies *SMNc*, des gènes modificateurs et de l'étendue de la délétion qui modulent la sévérité de l'expression clinique de la SMA y compris le type I.

3-Données paracliniques :

***L'EMG :**

L'**électromyogramme** -examen neurophysiologique clé dans l'exploration de toute hypotonie congénitale- lorsqu'il est réalisé, met en évidence un **tracé neurogène** avec des **signes de dénervation** (Bingham *et al.* 1997) (Jong, Chang, and Wu 1998) (Rijhsinghani *et al.* 1997) (Mulleners *et al.* 1996), comme il est classiquement décrit dans la SMA. Le tracé était effectivement neurogène chez 61 patients de notre cohorte. Cet examen était paradoxalement normal chez 03 patients.

Cependant, pour 06 patients, cet examen avait objectivé des tracés atypiques (Myogène ? PRN ? Mixte ?) qui ne correspondraient pas à la SMA classique. **Dans certains cas, une altération des vitesses de conduction sensitive est associée** (Korinthenberg *et al.* 1997), (Vaidla *et al.* 2007), (MacLeod *et al.* 1999), (García-Cabezas *et al.* 2004) (El-Matary *et al.* 2004) (Kuo *et al.* 1999), (Hergersberg *et al.* 2000). La présence d'une neuropathie a été confirmée par l'analyse histologique du nerf chez plusieurs patients (Korinthenberg *et al.* 1997) (Hergersberg *et al.* 2000). Il est intéressant de noter que l'atteinte sensitive était initialement considérée comme un critère d'exclusion pour le diagnostic de SMA (Munsat 1991), (Munsat and Davies 1992). Chez 03 patients, l'EMG n'était pas concluant ; et donc n'a permis aucune orientation diagnostique du fait de la difficulté de sa réalisation et de son interprétation chez les nourrissons et les enfants de bas âge.

***Les enzymes musculaires:**

On a constaté que $\approx 5\%$ de notre échantillon avait un taux de CPK (créatine phosphokinase) élevé, alors que $\approx 25\%$ des patients avaient un taux de CPK normal, alors que la majorité des patients n'avait pas réalisé cette analyse. Un taux normal des enzymes musculaires est retenu très en faveur d'une SMA car l'atteinte est neurogène, il est noté que des taux élevés ont été rapportés dans certains types de SMA de type II et III d'évolution progressive ayant subi des remaniements musculaires et rarement dans des SMA de type I.

***La biopsie musculaire :**

Du fait que l'analyse moléculaire a supplanté cet examen invasif du fait de sa rapidité et de sa certitude ; ces indications restent très restreintes. Une présentation myopathique peut motiver la réalisation d'une biopsie musculaire. L'analyse histologique du muscle retrouve des fibres atrophiques, regroupées en îlots de fibres de même type (« grouping ») (Buchthal and Olsen 1970). L'atrophie a été retrouvée chez l'une des patients, alors que la biopsie était normale chez les deux autres patients. Ceci pourrait s'expliquer par une différence du délai de réalisation de cet examen par rapport au début de la maladie ; de manière que plus la biopsie est réalisée précocément ; plus elle a tendance à être normale.

4-Evolution :

Du fait qu'il existe une très grande hétérogénéité sur le plan clinique il en est de même sur le plan évolutif :

-Les tableaux les plus sévères ont été observés chez les patients ayant le type 1 ou le taux de mortalité est corrélé au degré de la détresse respiratoire.

-Le degré d'invalidité à long terme est variable du fait de l'implication de gènes modificateurs ainsi qu'un nombre variable de copies SMNc

Dans la plupart des cas, la survie des patients atteints de SMA de type Ia n'excède pas **un mois**. La survie moyenne dans notre cohorte est de =9mois (6à12mois). Dans la plupart des cas (n=9/12), une limitation des soins de réanimation a été décidée suite au diagnostic de SMA. La survie moyenne des patients de la littérature est de 25 jours (1 à 122jours). Une limitation des soins actifs est également rapportée pour la plupart des patients. L'évolution de ces patients est marquée par des **complications respiratoires** à type d'**engorgement** et d'**atélectasies**, secondaires aux troubles de la déglutition et par la survenue de **bradycardies** et d'**épisodes d'hypoventilation** secondaires à l'atteinte des centres bulbaires (Wang *et al.* 2007), (Chabrol *et al.* 2010).

Pour la plupart des patients ayant une SMA type I de notre cohorte et trois patients de la littérature (Jong, Chang, and Wu 1998), (MacLeod *et al.* 1999), une autonomie respiratoire initiale est rapportée. Ces patients n'ont pas eu recours à une ventilation assistée immédiatement après la naissance. Ils ont toutefois développé une détresse respiratoire sévère au cours de leur évolution. Ces trois cas peuvent être considérés à la frontière entre le type Ia et le type Ib, rappelant que le spectre clinique de la SMA est un continuum. Un des patients rapporté par Rudnik-Schöneborn *et al.* présente une forme de SMA pouvant également être considérée à la limite entre le type Ia et le type Ib. En effet, ce patient a présenté une détresse respiratoire à la naissance ayant nécessité la mise en place d'une ventilation mécanique mais il ne présentait pas de rétractions articulaires et sa survie a été plus prolongée avec un décès à 122 jours de vie (Rudnik- Schöneborn *et al.* 2008). Falsaperla *et al.* ont rapporté en 2001 une patiente porteuse d'une forme précoce de SMA, confirmée sur le plan moléculaire, avec arthrogrypose congénitale distale sévère, pour qui la survie a été prolongée. Cette patiente, née à 34 SA, a été intubée dans les premières minutes de vie. A 10 jours de vie, la ventilation mécanique a pu être interrompue. Les auteurs rapportent une patiente en vie à l'âge de 6 ans, sans assistance respiratoire, ayant acquis une tenue de tête à l'âge de 10 mois, mais n'ayant pas acquis la station assise. Cette patiente présente des rétractions articulaires distales, une hypotonie sévère, un déficit musculaire global épargnant la face, une absence de réflexes ostéotendineux, des fasciculations linguales, une scoliose, un pectus excavatum et un retard de langage. L'IRM cérébrale a mis en évidence une hypoplasie du corps calleux et une leucomalacie périventriculaire en rapport avec l'anoxie périnatale (Falsaperla *et al.* 2001). Dans cette observation, la cause de la détresse respiratoire initiale n'est pas précisée. Chez les patients atteints de SMA de type I, une survie prolongée, au-delà de deux ans, est parfois observée et semble corrélée au nombre de copies du gène *SMN2* (Petit *et al.* 2011)

5-Données moléculaires:

Sur un total de 295 suspicions de SMA, qui se sont présentées au département de génétique médicale durant la période entre 1996 et 2014 ce diagnostic a pu être confirmé sur le plan moléculaire chez 133 parmi eux.

Dans ce travail, on a démontré que le pourcentage de la délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN* chez la population marocaine est de 45,1% tous types de SMA confondus.

Des résultats semblables aux notre ont été rapporté en Tunisie (45,4%) par I.Rekik et al.2013 mais cet échantillon n'était représenté que par des patients ayant une SMA type III; et en Egypte (54,5%-80%) par Essawi et al 2001 ce qui pourrait indiquer une répartition géographique en relation avec les origines ethniques.

Cependant, d'autres études -à noter que la plupart de ces auteurs à part W.L.Liu ont recherché à la fois la délétion de l'exon 7 et celle de l'exon 8 du gène *SMN*- ont objectivé des fréquences plus élevées ; de 90 à 95% (Hahnen et al ; 1995 Lefebvre et al ; 1995) notamment en Chine ou cette fréquence est estimée à 90,3% (sur une série de 113 patients) (W.L.Liu et al 2013), en Iran cette fréquence avoisine 97% (Pupak et al 2007), en Espagne 86,1% (A.Madrid Rodriguez et al 2014) Pakistan 86% (Ibrahim S et al 2012) UK 88,5% (H Stewart et al 1997) ; Tunisie 95% Mrad R et al 2006. M.Miskovic et al. ont démontré que la délétion isolée de l'exon 7 a été retrouvée chez 6% de leur cohorte faite de 68 patients, alors que 94% avait la double délétion.

Le résultat de notre étude pourrait s'expliquer par le recrutement large des patients suspects de SMA, du fait de la fréquence élevée des porteurs sains dans notre population et comme la SMA est parmi les causes non négligeables des hypotonies congénitales, ou les autres explorations ne permettent pas ; dans la majorité des cas ; de confirmer le diagnostic de SMA du fait de la difficulté de leur réalisation ainsi que leur interprétation.

Les formes sévères des ASI peuvent entraîner le décès du nouveau-né dans les premières semaines de vie dans un tableau de détresse respiratoire, souvent avant même qu'un diagnostic étiologique ne soit établi. Les chances d'une bonne prise en charge des parents par un conseil génétique adéquat et éventuellement un diagnostic prénatal se trouvent ainsi anéanties. Dans ce travail, nous avons confirmé par un test génétique simple, réalisé en première intention pour la plupart des nouveaux-nés et nourissons, le diagnostic de SMA chez 45,1% des patients suspects d'avoir une SMA. Nous proposons donc, dans notre contexte et celui des pays à faibles revenus, que ce test génétique soit un outil diagnostique de première intention dans les hypotonies congénitales. Son intérêt en santé publique est certain avec un gain de temps significatif surtout lorsque le pronostic vital est en jeu et une économie des dépenses en épargnant aux patients des analyses inutiles, onéreuses et parfois non disponibles dans les pays en voie de développement. L'analyse du gène *SMN* serait indiquée, en particulier chez tout nouveau-né ou nourrisson hypotonique, chez qui une cause environnementale (infection, anoxie...) est écartée et parfois même avant la réalisation d'un EMG, difficile à cet âge et parfois non concluant. La caractérisation de la délétion de l'exon 7 du gène *SMN* signe le diagnostic d'ASI et permet ainsi d'adapter la prise en charge médicale de l'enfant, de prodiguer un conseil génétique adéquat aux familles et de leur proposer un diagnostic prénatal. Une consultation de conseil génétique est également proposée aux apparentés à risque avec possibilité d'un diagnostic du statut d'hétérozygote s'ils le souhaitent. Dans les cas où la délétion n'est pas présente, une réévaluation clinique et électrophysiologique est nécessaire. Il peut en effet s'agir soit d'une SMA liée à une autre mutation du gène *SMN*, soit d'une autre pathologie qui s'accompagne d'une hypotonie congénitale.

**CONCLUSION ET
RECOMMANDATIONS :**

Cette étude nous a permis de confirmer le diagnostic d'amyotrophie spinale proximale chez 45,1% de l'ensemble des patients ayant une suspicion diagnostique. Dans les cas où la délétion de l'exon 7 du gène SMN n'a pas pu être repérée, il serait souhaitable :

- de rechercher les mutations ponctuelles par d'autres techniques plus élaborées.
- d'explorer le locus SMA (SMN, NAIP, P44, H4F5) à la recherche d'autres désordres génétiques.
- de chercher la possibilité d'intervention d'autres gènes de susceptibilité.
- ou d'orienter le diagnostic vers d'autres pathologies autosomiques récessives qui miment la SMA.

L'intérêt du dépistage de la délétion de l'exon 7 du gène SMN pour le conseil génétique (Diagnostic prénatal et Diagnostic des hétérozygotes) est évident. En effet, celui-ci est beaucoup plus aisé quand une mutation a été mise en évidence chez le cas index.

Cette étude se poursuit jusqu'à ce jour, son prochain objectif serait la mise au point du diagnostic génotypique direct quantitatif (le nombre de copies SMN1 et SMN2) et une analyse de liaison par microsatellites, afin d'identifier dans une famille de SMA les hétérozygotes simples et composites, de proposer éventuellement un diagnostic prénatal afin d'éviter la récurrence de la maladie au sein des familles affectées et de permettre aux femmes d'avoir des enfants sains.

ANNEXE

FICHE D'EXPLOITATION DES DOSSIERS:

Nom et prénom du patient :

Sexe :

Date de naissance :

Dossier génétique :

1. Antécédents familiaux :

***Antécédent familial d'amyotrophie spinale infantile (SMA) :** ☐ oui ☐ non

Si oui, préciser pour chaque apparenté le lien de parenté, le type de SMA et les résultats de l'analyse moléculaire :

.....

.....

***Consanguinité chez les parents :** ☐ oui ☐ non

Si oui, préciser le degré :

2. Examen à la naissance : (pour le type 1)

Lieu de prise en charge :

Médecin référent :

Apgar : 1' : 5' : 10' :

Mensurations : Poids : Taille : PC :

Détresse respiratoire : ☐ oui ☐ non

Ventilation au masque : ☐ oui ☐ non

Intubation : ☐ oui ☐ non

Si oui, délai suivant la naissance : Durée de l'intubation :

Hypotonie axiale : ☐ oui ☐ non

Motricité spontanée : ☐ normale ☐ faible ☐ absente

Si présence d'une motricité spontanée, préciser à quel niveau :

Attitude en grenouille : ☐ oui ☐ non

Atrophie musculaire : ☐ oui ☐ non

Rétractions : ☐ oui ☐ non

Hanches : ☐ oui ☐ non

Genoux : ☐ oui ☐ non

Chevilles : ☐ oui ☐ non

Orteils : ☐ oui ☐ non

Epaules : ☐ oui ☐ non

Coudes : ☐ oui ☐ non

Poignets : ☐ oui ☐ non

Doigts : ☐ oui ☐ non

ROT : ☐ présents ☐ absents

Fasciculations linguales : ☐ oui ☐ non

Ptosis : ☐ oui ☐ non ☐ NS

Diplégie faciale : ☐ oui ☐ non ☐ NS

Contact oculaire : ☐ normal ☐ altéré ☐ absent ☐ NS

Poursuite oculaire : ☐ normale ☐ altérée ☐ absente ☐ NS

Succion : ☐ normale ☐ altérée ☐ absente ☐ NS

Déglutition : ☐ normale ☐ altérée ☐ absente ☐ NS

Dysmorphie : ☐ oui ☐ non ☐ NS

Si oui préciser :

Autres/commentaires:

.....

.....

3. Examen clinique :

***Age des acquisitions/ régressions motrices :**

***Neuromusculaire :**

***Déficit moteur :**

***Atrophie.....**

4. Evolution :

.....

.....

Age de début des symptômes :

Age au diagnostic :

Age de décès :

Cause du décès :

5. Examens complémentaires :

CPK :

EMG : ☐ réalisé ☐ non réalisé

Résultat :

Merci de joindre le compte rendu

Biopsie musculaire : ☐ réalisée ☐ non réalisée

Résultat :

Merci de joindre le compte rendu

Résultats de l'analyse du gène SMN par PCR-digestion enzymatique :

.....

Autres examen complémentaires réalisés :

.....

.....

Merci de joindre si possible le compte rendu d'hospitalisation du patient.



RESUME

RESUME

Titre: Le diagnostic moléculaire de l'amyotrophie spinale proximale.

Auteur: MERHNI Hanane

Mots clefs: SMA-Gène SMN-exon7-PCR-digestion.

Les amyotrophies spinales proximales (SMA) sont un groupe de maladies neuromusculaires caractérisées par une faiblesse musculaire progressive due à la dégénérescence et la perte des motoneurons antérieurs de la moelle épinière. Selon l'âge de début des symptômes et leur évolution, on distingue quatre types de SMA qui résultent toutes, dans plus de 95% des cas, d'une délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN (survival of motor neuron) en 5q13. Au Maroc, on estime que la fréquence des porteurs sains de cette anomalie génétique est de 1/25, ce qui fait de la SMA l'une des maladies génétiques les plus fréquentes dans notre pays.

Depuis 1996, un test génétique a été mis en place pour le diagnostic moléculaire des SMA au Maroc. Nous avons ainsi analysé l'ADN de 295 patients adressés à notre consultation de génétique pour suspicion de SMA. La délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN a été retrouvée chez 133 patients; dont 40,6% étaient nés de parents consanguins.

Dans les pays comme le Maroc où la fréquence des hétérozygotes pour la SMA est élevée, ce test génétique, devrait être systématiquement proposé et en première intention, après une évaluation clinique attentive.

Le diagnostic moléculaire des SMA permet de poser un diagnostic de certitude rapide, de prodiguer un conseil génétique adéquat aux familles à risque et de proposer, pour les couples qui le souhaitent un diagnostic prénatal.

L'analyse du gène SMN est un exemple parfait de test génétique qui peut être d'un grand intérêt en santé publique, en particulier dans les pays à faible revenu. Nous soulignons par ce travail l'intérêt de la généralisation du diagnostic moléculaire de la SMA par la technique de la PCR-digestion enzymatique dans d'autres centres au Maroc.

Summary

Title: Molecular diagnosis of proximal spinal muscular atrophy.

Author: MERHNI Hanane

Keywords: SMA-SMN gene-exon7-PCR-digestion.

The proximal spinal muscular atrophy (SMA) is a group of neuromuscular disorders characterized by progressive muscle weakness due to the degeneration and loss of anterior motor neurons of the spinal cord. Depending on the age of onset of symptoms and their evolution, there are four types of SMA, which all result in over 95% of cases, a homozygous deletion of exon 7 of the SMN gene (survival of motor neuron) in 5q13. In Morocco, it is estimated that the frequency of healthy carriers of this genetic abnormality is 1/25, which made the SMA one of the most common genetic diseases in our country.

Since 1996, a genetic test has been developed for the molecular diagnosis of SMA in Morocco. We have analyzed the DNA of 295 patients referred to our genetic counseling for suspected SMA. The homozygous deletion of exon 7 of the SMN gene was found in 133 patients; of which 40.6% were born to consanguineous parents.

In countries like Morocco, where the frequency of heterozygotes for SMA is high, genetic testing should be routinely offered as first-line and, after careful clinical assessment, especially in newborns and infants with congenital hypotonia unexplained and prognosis compromise.

The molecular diagnosis of SMA allows to put a quick certainty diagnosis, provide adequate genetic counseling for families at risk and suggest, for couples who want prenatal diagnosis.

The analysis of the SMN gene is a perfect example of genetic testing with an excellent cost / benefit ratio that can be of great interest in public health, especially in low-income countries. We emphasize in this work for the benefit of the generalization of molecular diagnosis of SMA by the technique of PCR-enzymatic digestion in other centers in Morocco.

ملخص

العنوان: التشخيص الجزيئي لضمور العضلات الشوكي الداني.

من طرف: حنان مغني

الكلمات الأساسية: ضمور العضلات الشوكي SMA، المورثة SMN، المنطقة الدالة السابعة، PCR-الهضم الأنزيمي

يعتبر ضمور العضلات الشوكي الداني (SMA) مجموعة من الاضطرابات العصبية و العضلية التي تتميز بضعف العضلات التدريجي الناتج عن تدهور و فقدان الخلايا العصبية الحركية الأمامية للنخاع الشوكي. اعتمادا على سن ظهور الأعراض و تطورها، يمكن تمييز أربعة أنواع و هي تعزى في أكثر من 95% من الحالات، إلى حذف متماثل للمنطقة الدالة السابعة من المورثة SMN (المسؤولة عن بقاء الخلايا العصبية الحركية) المتواجدة في المنطقة 13 من الذراع الطويلة للصبغي رقم 5. في المغرب، تشير الإحصائيات إلى أن نسبة الناقلين السليمين لهذا الخلل الوراثي تبلغ 1 من 25 شخصا، الأمر الذي يجعل الضمور العضلي الشوكي من بين الأمراض الوراثية الأكثر شيوعا في بلدنا. منذ عام 1996، تم تطوير اختبار جيني قصد التشخيص الجزيئي لهذا المرض في المغرب. قمنا بتحليل الحمض النووي ل 295 مريضا تمت إحالتهم على قسم الأمراض الوراثية للاشتباه في إصابتهم بمرض ضمور العضلات الشوكي حيث تم العثور على الحذف المتماثل للإكسون السابع للمورثة لدى 133 من بينهم 40,6% ولدوا من والدين أقارب.

بعد تقييم سريري دقيق للأطفال حديثي الولادة و الرضع في حالة نقص التوتر الخلقي غير المبرر الذي يهدد حياتهم بالخطر، ينبغي إجراء هذا الاختبار الجيني بشكل روتيني خاصة في البلدان حيث تظل نسبة الناقلين السليمين لهذا الخلل الوراثي مرتفعة مثل المغرب.

يمكن هذا التشخيص الجزيئي من تأكيد مرض ضمور العضلات الشوكي بشكل سريع كما يسمح بتقديم النصيحة الوراثية الكافية للأسر المعرضة لخطر الإصابة بهذا المرض و كذلك من اقتراح تشخيص ما قبل الولادة الأزواج الراغبين في ذلك.

يعتبر تحليل المورثة SMN خير مثال للاختبارات الجينية ذات نسبة تكلفة / منفعة ممتازة في مجال الصحة العامة، خاصة في البلدان ذات الدخل المنخفض. نؤكد في هذا العمل على أهمية تعميم التشخيص الجزيئي لمرض الضمور العضلي الشوكي الداني بواسطة تقنية PCR - الهضم الأنزيمي في مراكز أخرى في المغرب.

***REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

- [1] DUBOWITZ V. : « Muscles disorders in childhood ». *W.B. Saunders Company Ltd, Londres, 1995, 540 p.* EMERY A.E.H. : « The nosology of the spinal muscular atrophies ». *J. Med. Genet.*, 1971, 8(4) : 481-495
- [2] ZERRES K., RUDNIK-SCHÖNEBORN S.: « Spinal muscular atrophies ». In: « Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics », 3e édition, 1996, 2(113) : 2387- 2403
- [3] WERDNIG G.: « Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis ». *Arch. psychiatr.*, 1891, 22 : 437-481
- [4] HOFFMANN J. : « Über progressive neurotische Muskelatrophie ». *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 1889, 20 : 661-673
- [5] SEVESTRE M. : « Paralysie flasque des quatre membres et des muscles du tronc (sauf le diaphragme) chez un nouveauné ». *Bull. Soc. Pédiatr.*, Paris, 1899, 1 : 7-13
- [6] COLLIER J., WILSON S.A. K. : « Amyotonia congenita ». *Brain*, 1908, 31: 1
- [7] BEEVOR C.E. : « A case of congenital spinal muscular atrophy (family type) and a case of hemorrhage into the spinal cord at birth giving similar symptoms ». *Brain*, 1902, 25:85- 108
- [8] WOHLFART G., FEX J., ELIASSON L.: « Hereditary proximal spinal muscular atrophy : a clinical entity simulating progressive muscular dystrophy ». *Acta Psychiatr. Neurol.*, 1955, 30: 395-406
- [9] KUGELBERG E., WELANDER L.: « Familial neurogenic (spinal) muscular atrophy simulating ordinary proximal dystrophy ». *Acta Psychiatr. Scand.*, 1954, 29: 42

- [10] BRANDT S.: « Werdnig-Hoffmann's infantile progressive muscular atrophy : clinical aspects, pathology, heredity and relation to Oppenheim's amyotonia congenita and other morbid conditions with laxity of joints or muscles in infants». Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 1950
- [11] BRZUTOWICZ L.M., WILHELMSSEN K.C., GILLIAM T.C. : « Genetic analysis of childhood-onset spinal muscular atrophy ». *Adv. Neurol.*, 1991, 53, (13) : 181-187. BRAUN S., CROIZAT B., LAGRANGE M.C., POINDRON P., WARTER J.M. : « Degeneration of cocultures of spinal muscular atrophy muscle cells and rat spinal cord explants is not due to secreted factors and cannot be prevented by neurotrophins ». *Muscle Nerve*, 1997, 20 : 953-960.
- BURLET P., HUBER C., BERTRANDY S., LUDOSKY M. A., ZWAENEPOEL I. : « The distribution of SMN protein complex in human fetal tissues and its alteration in spinal muscular atrophy ». *Hum. Mol. Genet.*, 1998, 7(12) : 1927-1933
- [12] DAVIES K.E., THOMAS N.H., DANIELS R.J., DUBOVITZ V. : « Molecular studies of spinal muscular atrophy ». *Neuromuscul. Disord.*, 1991, 1(2) : 83-85
- DEMIRKAPI N., BASSEVILLE M., LAGRANGE M. C., BRAUN S., GROS F., CROIZAT B. : « Variations de l'expression de certaines protéines de la moelle épinière et du muscle dans l'amyotrophie spinale infantile ». *Rev. Neurol.*, 1994, 3(150) : 196-200
- [13] FRUGIER T., TIZIANO F.D., CIFUENTES-DIAZ C., MINIOU P., ROBLOT N., DIERICH A., LE MEUR M., MELKI J. : « Nuclear targeting defect of SMN lacking the C-terminus in a mouse model of spinal muscular atrophy ». *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9 : 849-858
- HSIEH-LI H.M., CHANG J.G., JONG Y.J., WU M. H., WANG N.M., TSAI C.H., LI H. : « A mouse model for spinal muscular atrophy ». *Nat. Genet.*, 2000, 24(1) : 66-70

- [14] ZERRES K., RUDNIK-SCHÖNEBORN S.: « Spinal muscular atrophies ». In: « Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics », 3e édition, 1996, 2(113) : 2387- 2403
- [15] WINSOR E.J., MURPHY E.G., THOMPSON M.W., REED T.E. : « Genetics of childhood spinal muscular atrophy ». *J. Med. Genet.*, 1971, 8 : 143-148
- [16] ZELLWEGER H, HANHART E. : « The infantile proximal spinal muscular atrophies in Switzerland ». *Helv. Paediatr. Acta*, 1972, 27 : 355-360
- [17] IGNATIUS J., DONNER M. : « Epidemiology of childhood spinal muscular atrophy ». *Lang H, ed. Lihastautien Kehittyvä Tutkimus Jahoito. Turku Kiasma*, 1989
- [18] CZEIZEL A., HAMULA J. : « A hungarian study on Werdnig-Hoffmann disease ». *J. Med. Genet.*, 1989, 26(12) : 761-763
- [19] PEARN J.H. : « The gene frequency of acute Werdnig-Hoffmann disease (SMA type I). A total population survey in North-east England ». *J. Med. Genet.*, 1973, 10(3) : 260-265
- [20] PEARN J.H : « Genetic studies of acute infantile spinal muscular atrophy (SMA type I). An analysis of sex-ratios, segregation ratios and sex influence » *J. Med. Genet.*, 1978, 15(6) : 414-417
- [21] FRIED K., MUNDEL G. : « High incidence of spinal muscular atrophy type I (Werdnig-Hoffmann disease) in the Karaite community in Israel ». *Clin. Genet.*, 1977, 12 : 250-251
- [22] PASCALET-GUIDON M-J., BOIS E., FEINGOLD J., MATTEI J-F., COMBES J-C., HAMON C. : « Cluster of acute infantile spinal muscular atrophy (Werdnig-Hoffmann disease) in a limited area of Reunion Island ». *Clin. Genet.*, 1984, 26 : 39-42

- [23] TANGSRUD S-E., HALVORSEN S. : « Child neuromuscular disease in Southern Norway. Prevalence, age and distribution of diagnosis with special reference to non Duchenne muscular dystrophy ». *Clin. Genet.*, 1988, 34 : 145-152
- [24] THIEME A., MITULLA B., SCHULZE F. *et al.* : « Chronic childhood spinal muscular atrophy in Germany (West-Thuringen), an epidemiological study ». *Hum. Genet.*, 1994, 93(3) : 344-346
- [25] EMERY A.E.H. : « The nosology of the spinal muscular atrophies ». *J. Med. Genet.*, 1971, 8(4) : 481-495
- [26] RUDNIK-SCHÖNEBORN S., ROHRIG D., MORGAN G. *et al.* : « Autosomal recessive proximal spinal muscular atrophy in 101 sibs out of 48 families : clinical picture, influence of gender and genetic implications ». *Am. J. Med. Genet.*, 1994, 51(1) : 70-76
- [27] HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ I., ZAREMBA J., BORKOWSKA J. : « Chronic form of childhood spinal muscular atrophy. Are the problems of its genetics really solved ? ». *J. Neurol. Sci.*, 1979, 43(2) : 317-327
- [28] FEINGOLD J., ARTHUIS M., CELERS J. : « Génétique de l'amyotrophie spinale infantile : existence de deux formes autosomiques récessives ». *Ann. Genet.*, 1977, 20(1) : 19-23
- [29] Cherkaoui M, Baali A, larrouy G, et al. (2005) Consanguinity, fertility of couples and mortality of children in the high Atlas population (commons of Anougal and Azgour, Marrakesh, Morocco). *Int J Anthropol* 20:199–206/ Jaouad IC, Elalaoui SC, Sbiti A, et al. Consanguineous marriages in Morocco and the consequence for the incidence of auto-somal recessive disorders. *J Biosoc Sci* 2009;5:575–81.

- [30] Jaber Lyahyai, Aziza Sbiti, Amina Barakat, Ilham Ratbi, and Abdelaziz Sefiani « Spinal Muscular Atrophy Carrier Frequency and Estimated Prevalence of the Disease in Moroccan Newborns » GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS Volume XX, Number XX, 2011 ^a Mary Ann Liebert, Inc.Pp. 1–4 DOI: 10.1089/gtmb.2011.0149
- [31] BERTINI E, BURGHESE A, BUSHBY K, ESTOURNET-MATHIAUD B, FINKEL R.S, HUGHES R.A, IANNACCONE S.T, MELKI J, MERCURI E, MUNTONI F, VOIT T, REITTER B, SWOBODA K.J, TIZIANO D, TIZZANO E, TOPALOGLU H, WIRTH B, AND ZERRES K. 134th ENMC International Workshop : Outcome Measures and Treatment of Spinal Muscular Atrophy, 11-13 February 2005, Naarden, The Netherlands. Neuromuscul Disord 2005 15 (11) 802-16
- [32] MUNSAT T.L. Workshop report International SMA collaboration. Neuromuscular Disorders 1991 1 (2) 81
- [33] MUNSAT T.L, AND DAVIES K.E. International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). Neuromuscul Disord 1992 2 (5-6) 423-8.
- [34] WANG C.H, FINKEL R.S, BERTINI E.S, SCHROTH M, SIMONDS A, WONG B, ALOYSIUS A, MORRISON L, MAIN M, CRAWFORD T.O, TRELA A, and Participants of the International Conference on SMA Standard of Care. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. J Child Neurol 2007 22 (8) 1027-49
- [35] OGINO S, WILSON R.B, AND GOLD B. New insights on the evolution of the *SMN1* and *SMN2* region : simulation and meta-analysis for allele and haplotype frequency calculations. Eur J Hum Genet 2004 12 (12) 1015-23

- [36] CHABROL B, MANCINI J, DULAC O, PONSOT G ET ARTHUIS M. Neurologie pédiatrique. 3^{ème} édition Médecine-Sciences Flammarion 2010 689-93, 740-51, 761-7
- [37] DUBOWITZ V. : « Chaos in classification of the spinal muscular atrophies of childhood ». *Neuromuscul. Disord.*, 1991, 1(2) : 77-80
- [38] DUBOWITZ V. : « Chaos in classification of SMA : a possible resolution ». *Neuromuscul. Disord.*, 1995, 1(5) : 3-5
- [39] BAROIS A. : « Maladies neuromusculaires ». *Progrès en pédiatrie - Nouvelle série, Doin, Paris, 1998, 219 p.*
- [40] BYERS R.K., BANKER B.Q. : « Infantile muscular atrophy ». *Arch. Neurol.*, 1961, 5 : 140-146 / BROOKE M.H. : « Clinical examination of patients with neuromuscular disease ». *Adv. Neurol.*, 1977, 17 : 25-39
- [41] FRIED K., EMERY A.E.H. : « Spinal muscular atrophy type II. A separate genetic and clinical entity from type I (Werdnig-Hoffmann disease) and type III (Kugelberg-Welander disease) ». *Clin. Genet.*, 1971, 2(4) : 203-209
- [42] EVANS G.A., DRENNAN J.C., RUSSMAN B.S. : « Functional classification and orthopaedic management of spinal muscular atrophy ». *J. Bone Joint Surg.*, 1981, 63B(4) : 516-522
- [43] HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ I., ASKANAS W., BADURSKA B., EMERY K.B., FIDZIANSKA A., GARBALINSKA W. : « Infantile and juvenile spinal muscular atrophy ». *J. Neurol. Sci.*, 1968, 6 : 269-287

- [44] ZERRES K., RUDNIK-SCHÖNEBORN S., FORREST E. *et al.* : « A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA) : 569 patients ». *J. Neurol. Sci.*, 1997, 146(1) : 67-72
- [45] Pearn J (1978) Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 15(6): 409-413 Pearn J (1980) Classification of spinal muscular atrophies. *Lancet* 1(8174): 919-922/ Wirth B, Brichta L, Hahnen E (2006a) Spinal muscular atrophy: from gene to therapy. *Semin Pediatr Neurol* 13(2): 121-131
- [46] Hirtz D, Iannaccone S, Heemskerk J, Gwinn-Hardy K, Moxley R, 3rd, Rowland LP (2005) Challenges and opportunities in clinical trials for spinal muscular atrophy. *Neurology* 65(9): 1352-1357
- [47] Bach JR, Vega J, Majors J, Friedman A (2003) Spinal muscular atrophy type 1 quality of life. *Am J Phys Med Rehabil* 82(2): 137-142 /Bach JR (2007) Medical considerations of long-term survival of Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Phys Med Rehabil* 86(5): 349-355
- [48] BERTINI E, BURGHESE A, BUSHBY K, ESTOURNET-MATHIAUD B, FINKEL R.S, HUGHES R.A, IANNACCONI S.T, MELKI J, MERCURI E, MUNTONI F, VOIT T, REITTER B, SWOBODA K.J, TIZIANO D, TIZZANO E, TOPALOGLU H, WIRTH B, AND ZERRES K. 134th ENMC International Workshop : Outcome Measures and Treatment of Spinal Muscular Atrophy, 11-13 February 2005, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 2005 15 (11) 802-16

- [49] CHABROL B, MANCINI J, DULAC O, PONSOT G ET ARTHUIS M. Neurologie pédiatrique. 3^{ème} édition Médecine-Sciences Flammarion 2010 689-93, 740-51, 761-7/ CHABROL B, MANCINI J, DULAC O, PONSOT G ET ARTHUIS M. Neurologie pédiatrique. 3^{ème} édition Médecine-Sciences Flammarion 2010 689-93, 740-51, 761-7
- [50] Sumner CJ (2006) Therapeutics development for spinal muscular atrophy. *NeuroRx* 3(2): 235-245
- [51] VAN DER STEEGE G., GROOTSCHOLTEN P.M., VAN DER VLIES P. : « PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive muscular atrophy ». *Lancet*, 1995, 345 : 985-987
- [52] HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ I. : « Electrophysiological findings in childhood spinal muscular atrophies ». *Rev. Neurol.*, 1988, 144(11) : 716-720
- [53] MOOSA A., DUBOWITZ V. : « Motor nerve conduction velocity in spinal muscular atrophy of childhood ». *Arch. Dis. Child.*, 1976, 51(12) : 974-977
- [54] IMAI T., MINAMI R., NAGAOKA M., ISHIKAWA Y., OKABE M., MATSUMOTO H. : « Proximal and distal motor nerve conduction velocities in Werdnig-Hoffmann disease ». *Pediatr. Neurol.*, 1990, 6(2) : 82-86
- [55] SERRATRICE G., PELISSIER J.F., POUGET J. : «Les maladies neuromusculaires». *Masson, Paris, 1994, 232 p.*
- [56] BUCHTHAL F, AND OLSEN P.Z. Electromyography and muscle biopsy in infantile spinal muscular atrophy. *Brain* 1970 93 (1) 15-30

- [57] Stephen J. Kolb, Amelie K. Robert, F. Olszewski Jr., Elizabeth Ottinger, Charlotte J. Sumner, Kenneth H. Fischbeck, Gideon Dreyfuss. A Novel Cell Immunoassay to Measure Survival of Motor Neurons Protein in Blood Cells BMC Neurology 2006, 6:6doi: 10.1186/1471-2377-6-6
- [58] GREENBERG F, FENOLIO K.R, HEJTMANCIK J.F, ARMSTRONG D, WILLIS J.K, SHAPIRA E, HUNTINGTON H.W, AND HAUN R.L. X-linked infantile spinal muscular atrophy. Am J Dis Child 1988 142 (2) 217-9
- [59] KOBAYASHI H, BAUMBACH L, MATISE TC, SCHIAVI A, GREENBERG F, AND HOFFMAN E.P. A gene for a severe lethal form of X-linked arthrogryposis (X-linked infantile spinal muscular atrophy) maps to human chromosome Xp11.3-q11.2. Hum Mol Genet 1995 4 (7) 1213-6
- [60] GROHMANN K, VARON R, STOLZ P, SCHUELKE M, JANETZKI C, BERTINI E, BUSHBY K, MUNTONI F, OUVRIER R, VAN MALDERGEM L, GOEMANS N.M, LOCHMÜLLER H, EICHHOLZ S, ADAMS C, BOSCH F, GRATAN-SMITH P, NAVARRO C, NEITZEL H, POLSTER T, TOPALOGLU H, STEGLICH C, GUENTHER U.P, ZERRES K, RUDNIK-SCHÖNEBORN S, AND HÜBNER C. Infantile spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1). Ann Neurol 2003 54 (6) 719-24
- [61] ECKART M, GUENTHER U.P, IDKOWIAK J, VARON R, GROLLE B, BOFFI P, VAN MALDERGEM L, HÜBNER C, SCHUELKE M, AND VON AU K. The natural course of infantile spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1). Pediatrics 2012 129 (1) 148-56

- [62] GROHMANN K, SCHUELKE M, DIERS A, HOFFMANN K, LUCKE B, ADAMS C, BERTINI E, LEONHARDT-HORTI H, MUNTONI F, OUVRIER R, PFEUFER A, ROSSI R, VAN MALDERGEM L, WILMSHURST J.M, WIENKER T.F, SENDTNER M, RUDNIK-SCHÖNEBORN S, ZERRES K, AND HÜBNER C. Mutations in the gene encoding immunoglobulin mu-binding protein 2 cause spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. *Nat Genet* 2001 29 (1) 75-7
- [63] DELONG R, AND SIDDIQUE T. A large New England kindred with autosomal dominant neurogenic scapuloperoneal amyotrophy with unique features. *Arch Neurol* 1992 49 (9) 905-8
- [64] BERCIANO J, BAETS J, GALLARDO E, ZIMON M, GARCIA A, LOPEZ-LASO E, COMBARROS O, INFANTE J, TIMMERMAN V, JORDANOVA A, AND DE JONGHE P. Reduced penetrance in hereditary motor neuropathy caused by *TRPV4* Arg269Cys mutation. *J Neurol* 2011 258 (8) 1413-21
- [65] DENG H.X, KLEIN C.J, YAN J, SHI Y, WU Y, FECTO F, YAU H.J, YANG Y, ZHAI H, SIDDIQUE N, HEDLEY-WHYTE E.T, DELONG R, MARTINA M, DYCK P.J, AND SIDDIQUE T. Scapuloperoneal spinal muscular atrophy and CMT2C are allelic disorders caused by alterations in *TRPV4*. *Nat Genet* 2010 42 (2) 165-9
- [66] RUDNIK-SCHÖNEBORN S, SENDEREK J, JEN J.C, HOUGE G, SEEMAN P, PUCHMAJEROVA A, GRAUL-NEUMANN L, SEIDEL U, KORINTHENBERG R, KIRSCHNER J, SEEGER J, RYAN M.M, MUNTONI F, STEINLIN M, SZTRIHA L, COLOMER J, HÜBNER C, BROCKMANN K, VAN MALDERGEM L, SCHIFF M, HOLZINGER A, BARTH P, REARDON W, YOURSHAW M, NELSON S.F, EGGERMANN T, AND ZERRES K. Pontocerebellar hypoplasia type 1 : clinical spectrum and relevance of *EXOSC3* mutations. *Neurology* 2013 80 (5) 438-46

- [67] WAN J, YOURSHAW M, MAMSA H, RUDNIK-SCHÖNEBORN S, MENEZES M.P, HONG J.E, LEONG D.W, SENDEREK J, SALMAN M.S, CHITAYAT D, SEEMAN P, VON MOERS A, GRAUL-NEUMANN L, KORNBERG A.J, CASTRO-GAGO M, SOBRIDO M.J, SANEFUJI M, SHIEH P.B, SALAMON N, KIM R.C, VINTERS H.V, CHEN Z, ZERRES K, RYAN M.M, NELSON S.F, AND JEN J.C. Mutations in the RNA exosome component gene *EXOSC3* cause pontocerebellar hypoplasia and spinal motor neuron degeneration. *Nat Genet* 2012 44 (6) 704-8
- [68] MAHADEVAN M, TSILFIDIS C, SABOURIN L, SHUTLER G, AMEMIYA C, JANSEN G, NEVILLE C, NARANG M, BARCELO J, AND O'HOY K. Myotonic dystrophy mutation : an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* 1992 255 (5049) 1253-5
- [69] ABICHT A, DUSL M, GALLENMÜLLER C, GUERGUELTCHEVA V, SCHARA U, DELLA MARINA A, WIBBELER E, ALMARAS S, MIHAYLOVA V, VON DER HAGEN M, HUEBNER A, CHAOUCH A, MÜLLER J.S, AND LOCHMÜLLER H. Congenital myasthenic syndromes : achievements and limitations of phenotype-guided gene-after-gene sequencing in diagnostic practice : a study of 680 patients. *Hum Mutat* 2012 33 (10) 1474-84
- [70] NAMBA T, BROWN S.B, AND GROB D. Neonatal myasthenia gravis : report of two cases and review of the literature. *Pediatrics* 1970 45 (3) 488-504
- [71] VINCENT A, NEWLAND C, BRUETON L, BEESON D, RIEMERSMA S, HUSON S.M, AND NEWSOMDAVIS J. Arthrogryposis multiplex congenita with maternal autoantibodies specific for a fetal antigen. *Lancet* 1995 346 (8966) 24-5
- [72] MERCURI E, AND MUNTONI F. The ever-expanding spectrum of congenital muscular dystrophies. *Ann Neurol* 2012 72 (1) 9-17

- [73] NORTH K.N. Clinical approach to the diagnosis of congenital myopathies. *Semin Pediatr Neurol* 2011 18 (4) 216-20
- [74] WARNER L.E, HILZ M.J, APPEL S.H, KILLIAN J.M, KOLODRY E.H, KARPATI G, CARPENTER S, WATTERS G.V, WHEELER C, WITT D, BODELL A, NELIS E, VAN BROECKHOVEN C, AND LUPSKI J.R. Clinical phenotypes of different *MPZ (P0)* mutations may include Charcot-Marie-Tooth type 1B, Dejerine-Sottas, and congenital hypomyelination. *Neuron* 1996 17 (3) 451-60.
- [75] SEVILLA T, LUPO V, SIVERA R, MARCO-MARIN C, MARTINEZ-RUBIO D, RIVAS E, HERNANDEZ A, PALAU F, AND ESPINOS C. Congenital hypomyelinating neuropathy due to a novel *MPZ* mutation. *J Peripher Nerv Syst* 2011 16 (4) 347-52
- [76] PRASAD A.N, AND PRASAD C. Genetic evaluation of the floppy infant. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011 16 (2) 99-108
- [77] OIGLANE-SHLIK E, ZORDANIA R, VARENDI H, ANTSON A, MÄGI M.L, TASA G, BARTSCH O, TALVIK T, AND OUNAP K. The neonatal phenotype of Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* 2006 140(11) 1241-4
- [78] LEDBETTER D.H, RICCARDI V.M, AIRHART S.D, STROBEL R.J, KEENAN B.S, AND CRAWFORD J.D. Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 1981 304 (6) 325-9
- [79] BUTLER M.G, AND PALMER C.G. Parental origin of chromosome 15 deletion in Prader-Willi syndrome. *Lancet* 1983 1 (8336) 1285-6
- [80] NICHOLLS R.D, KNOLL J.H, BUTLER M.G, KARAM S, AND LALANDE M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 1989 342 (6247) 281-5

- [81] BUITING K, GROSS S, LICH C, GILLESSEN-KAESBACH G, EL-MAARRI O, AND HORSTHEMKE B. Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes : a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *Am J Hum Genet* 2003 72 (3) 571-7
- [82] Nicole S, Diaz CC, Frugier T, Melki J (2002) Spinal muscular atrophy: recent advances and future prospects. *Muscle Nerve* **26**(1): 4-13
- [83] Brzustowicz LM, Lehner T, Castilla LH, Penchaszadeh GK, Wilhelmsen KC, Daniels R, Davies KE, Leppert M, Ziter F, Wood D, et al. (1990) Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3. *Nature* **344**(6266): 540-541
- [84] Gilliam TC, Brzustowicz LM, Castilla LH, Lehner T, Penchaszadeh GK, Daniels RJ, Byth BC, Knowles J, Hislop JE, Shapira Y, et al. (1990) Genetic homogeneity between acute and chronic forms of spinal muscular atrophy. *Nature* **345**(6278): 823-825
- [85] P, Marcadet A, Aicardi J, Barois A, Carriere JP, Fardeau M, et al. (1990a) Gene for chronic proximal spinal muscular atrophies maps to chromosome 5q. *Nature* **344**(6268): 767-768 / Melki J, Sheth P, Abdelhak S, Burlet P, Bachelot MF, Lathrop MG, Frezal J, Munnich A (1990b) Mapping of acute (type I) spinal muscular atrophy to chromosome 5q12-q14. The French Spinal Muscular Atrophy Investigators. *Lancet* **336**(8710): 271-273
- [86] Francis MJ, Morrison KE, Campbell L, Grewal PK, Christodoulou Z, Daniels RJ, Monaco AP, Frischauf AM, McPherson J, Wasmuth J, et al. (1993) A contig of non-chimaeric YACs containing the spinal muscular atrophy gene in 5q13. *Hum Mol Genet* **2**(8): 1161-1167

- [87] Kley PW, Gilliam TC (1993) Progress toward cloning of the gene responsible for childhood spinal muscular atrophy. *Semin Neurol* **13**(3): 276-282
- [88] Melki J, Lefebvre S, Burglen L, Burlet P, Clermont O, Millasseau P, Reboullet S, Benichou B, Zeviani M, Le Paslier D, et al. (1994) De novo and inherited deletions of the 5q13 region in spinal muscular atrophies. *Science* **264**(5164): 1474-1477
- [89] a / Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, Benichou B, Cruaud C, Millasseau P, Zeviani M, et al. (1995) Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene [see comment]. *Cell* **80**(1): 155-165
- b/Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, Bertrand S, Clermont O, Munnich A, Dreyfuss G, Melki J (1997) Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* **16**(3): 265-269
- c/Lefebvre S, Burlet P, Viollet L, Bertrand S, Huber C, Belser C, Munnich A (2002) A novel association of the SMN protein with two major non-ribosomal nucleolar proteins and its implication in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **11**(9): 1017-1027
- [90] Roy N, McLean MD, Besner-Johnston A, Lefebvre C, Salih M, Carpten JD, Burghes AH, Yaraghi Z, Ikeda JE, Korneluk RG, et al. (1995) Refined physical map of the spinal muscular atrophy gene (SMA) region at 5q13 based on YAC and cosmid contiguous arrays. *Genomics* **26**(3): 451-460
- [91] Burglen L, Seroz T, Miniou P, Lefebvre S, Burlet P, Munnich A, Pequignot EV, Egly JM, Melki J (1997) The gene encoding p44, a subunit of the transcription factor TFIIF, is involved in large-scale deletions associated with Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Hum Genet* **60**(1): 72-79

- [92] Scharf JM, Endrizzi MG, Wetter A, Huang S, Thompson TG, Zerres K, Dietrich WF, Wirth B, Kunkel LM (1998) Identification of a candidate modifying gene for spinal muscular atrophy by comparative genomics. *Nat Genet* **20**(1): 83-86
- [93] Rochette CF, Gilbert N, Simard LR (2001) SMN gene duplication and the emergence of the SMN2 gene occurred in distinct hominids: SMN2 is unique to Homo sapiens. *Hum Genet* **108**(3): 255-266
- [94] Paushkin S, Gubitz AK, Massenet S, Dreyfuss G (2002) The SMN complex, an assemblyosome of ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol* **14**(3): 305-312
- [95] Burglen L, Lefebvre S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, Cruaud C, Munnich A, Melki J (1996) Structure and organization of the human survival motor neurone (SMN) gene. *Genomics* **32**(3): 479-482
- [96] Echaniz-Laguna A, Miniou P, Bartholdi D, Melki J (1999) The promoters of the survival motor neuron gene (SMN) and its copy (SMNc) share common regulatory element. *Am J Hum Genet* **64**(5): 1365-1370
- [97] Monani UR, McPherson JD, Burghes AH (1999) Promoter analysis of the human centromeric and telomeric survival motor neuron genes (SMNC and SMNT). *Biochim Biophys Acta* **1445**(3): 330-336
- [98] Chen L, Yun SW, Seto J, Liu W, Toth M (2003) The fragile X mental retardation protein binds and regulates a novel class of mRNAs containing U rich target sequences. *Neuroscience* **120**(4): 1005-1017
- [99] Wirth B (2000) An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (SMN1) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat* **15**(3): 228-237
- [100] Wirth B, Brichta L, Hahnen E (2006a) Spinal muscular atrophy: from gene to therapy. *Semin Pediatr Neurol* **13**(2): 121-131

- [101] Singh RN (2007) Evolving concepts on human SMN pre-mRNA splicing. *RNA Biol* **4**(1): 7-10
- [102] Cartegni L, Krainer AR (2002) Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN1. *Nat Genet* **30**(4): 377-384
- [103] Cartegni L, Hastings ML, Calarco JA, de Stanchina E, Krainer AR (2006) Determinant of exon 7 splicing in the spinal muscular atrophy genes, SMN1 and SMN2. *Am J Hum Genet* **78**(1): 63-77
- [104] Kashima T, Manley JL (2003) A negative element in SMN2 exon 7 inhibits splicing in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* **34**(4): 460-463
- [105] Kashima T, Rao N, David CJ, Manley JL (2007) hnRNP A1 functions with specificity in repression of SMN2 exon 7 splicing. *Hum Mol Genet* **16**(24): 3149-3159
- [106] Gennarelli M, Lucarelli M, Capon F, Pizzuti A, Merlini L, Angelini C, Novelli G, Dallapiccola B (1995) Survival motor neuron gene transcript analysis in muscles from spinal muscular atrophy patient. *Biochem Biophys Res Commun* **213**(1): 342-348
- [107] Vitte J, Fassier C, Tiziano FD, Dalard C, Soave S, Roblot N, Brahe C, Saugier-Verber P, Bonnefont JP, Melki J (2007) Refined characterization of the expression and stability of the SMN gene products. *Am J Pathol* **171**(4): 1269-1280
- [108] Coover DD, Le TT, McAndrew PE, Strasswimmer J, Crawford TO, Mendell JR, Coulson SE, Androphy EJ, Prior TW, Burghes AH (1997) The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **6**(8): 1205-1214
- [109] Liu Q, Dreyfuss G (1996) A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *Embo J* **15**(14): 3555-3565

- [110] Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, Bertrand S, Clermont O, Munnich A, Dreyfuss G, Melki J (1997) Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* **16**(3): 265-269
- [111] Pellizzoni L, Yong J, Dreyfuss G (2002b) Essential role for the SMN complex in the specificity of snRNP assembly. *Science* **298**(5599): 1775-1779
- [112] Gabanella F, Butchbach ME, Saieva L, Carissimi C, Burghes AH, Pellizzoni L (2007) Ribonucleoprotein assembly defects correlate with spinal muscular atrophy severity and preferentially affect a subset of spliceosomal snRNPs. *PLoS ONE* **2**(9): e921
- [113] Zhang Z, Harris D, Pandey VN (2008a) The FUSE binding protein is a cellular factor required for efficient replication of hepatitis C virus. *J Virol* **82**(12): 5761-5773 / Zhang Z, Lotti F, Dittmar K, Younis I, Wan L, Kasim M, Dreyfuss G (2008b) SMN deficiency causes tissue-specific perturbations in the repertoire of snRNAs and widespread defects in splicing. *Cell* **133**(4): 585-600
- [114] BOULISFANE N, CHOLEZA M, RAGE F, NEEL H, SORET J, AND BORDONNE R. Impaired minor trisnRNP assembly generates differential splicing defects of U12-type introns in lymphoblasts derived from a type I SMA patient. *Hum Mol Genet* 2011 **20** (4) 641-8
- [115] FAN L, AND SIMARD L.R. Survival motor neuron (SMN) protein : role in neurite outgrowth and neuromuscular maturation during neuronal differentiation and development. *Hum Mol Genet* 2002 **11** (14) 1605-14
- [116] MCWHORTER M.L, MONANI U.R, BURGHES A.H, AND BEATTIE C.E. Knockdown of the survival motor neuron (Smn) protein in zebrafish causes defects in motor axon outgrowth and pathfinding. *J Cell Biol* 2003 **162** (5) 919-31

- [117] SHAFEY D, MACKENZIE A.E, AND KOTHARY R. Neurodevelopmental abnormalities in neurosphere-derived neural stem cells from SMN-depleted mice. *J Neurosci Res* 2008 86 (13) 2839-47
- [118] BOWERMAN M, SHAFEY D, AND KOTHARY R. SMN depletion alters profilin II expression and leads to upregulation of the RhoA/ROCK pathway and defects in neuronal integrity. *J Mol Neurosci* 2007 32 (2) 120-31
- [119] OPREA G.E, KRÖBER S, MCWHORTER M.L, ROSSOLL W, MÜLLER S, KRAWCZAK M, BASSELL G.J, BEATTIE C.E, AND WIRTH B. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008 320 (5875) 524-7
- [120] BOWERMAN M, ANDERSON C.L, BEAUVAIS A, BOYL P.P, WITKE W, AND KOTHARY R. SMN, profilin IIa and plastin 3 : a link between the deregulation of actin dynamics and SMA pathogenesis. *Mol Cell Neurosci* 2009 42 (1) 66-74
- [121] WEN H.L, LIN Y.T, TING C.H, LIN-CHAO S, LI H, AND HSIEH-LI H.M. Stathmin, a microtubule destabilizing protein, is dysregulated in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2010 19 (9) 1766-78
- [122] COBBEN J.M, VAN DER STEEGE G, GROOTSCHOLTEN P, DE VISSER M, SCHEFFER H, AND BUYS C.H. Deletions of the survival motor neuron gene in unaffected siblings of patients with spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 1995 57 (4) 805-8
- [123] HAHNEN E, FORKERT R, MARKE C, RUDNIK-SCHÖNEBORN S, SCHÖNLING J, ZERRES K, AND WIRTH B. Molecular analysis of candidate genes on chromosome 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy : evidence of homozygous deletions of the *SMN* gene in unaffected individuals. *Hum Mol Genet* 1995 4 (10) 1927-33

- [124] Wirth B, Herz M, Wetter A, Moskau S, Hahnen E, Rudnik-Schoneborn S, Wienker T, Zerres K (1999) Quantitative analysis of survival motor neuron copies: identification of subtle SMN1 mutations in patient with spinal muscular atrophy, genotype-phenotype correlation, and implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet* **64**(5): 1340-1356
- [125] Talbot K, Ponting CP, Theodosiou AM, Rodrigues NR, Surtees R, Mountford R, Davies KE (1997) Missense mutation clustering in the survival motor neuron gene: a role for a conserved tyrosine and glycine rich region of the protein in RNA metabolism? *Hum Mol Genet* **6**(3): 497-500
- [126] Hahnen E, Schonling J, Rudnik-Schoneborn S, Raschke H, Zerres K, Wirth B (1997) Missense mutations in exon 6 of the survival motor neuron gene in patient with spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mol Genet* **6**(5): 821-825
- [127] Lorson CL, Strasswimmer J, Yao JM, Baleja JD, Hahnen E, Wirth B, Le T, Burghes AH, Androphy EJ (1998) SMN oligomerization defect correlates with spinal muscular atrophy severity. *Nat Genet* **19**(1): 63-66
- [128] Sun Y, Grimm M, Schwarzer V, Schoenen F, Fischer U, Wirth B (2005) Molecular and functional analysis of intragenic SMN1 mutations in patient with spinal muscular atrophy. *Hum Mutat* **25**(1): 64-71
- [129] Buhler D, Raker V, Luhrmann R, Fischer U (1999) Essential role for the tudor domain of SMN in spliceosomal U snRNP assembly: implications for spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **8**(13):2351-2357
- [130] Carter T.A, Bonnemann C.G, Wang C.H, Obici S, Parano E, De Fatima Bonaldo M, Ross B.M, Penchaszadeh G.K, Mackenzie A, Soares M.B, Kunkel L.M et Gilliam T.C. A multicopy transcription repair gene, BTF2p44, maps to the SMA region and demonstrates SMA associated deletions *Hum Mol Gene* **6**:229-36, 1997.

- [131] PRIOR T.W, SWOBODA K.J, SCOTT H.D, AND HEJMANOWSKI A.Q. Homozygous *SMN1* deletions in unaffected family members and modification of the phenotype by *SMN2*. *Am J Med Genet A* 2004 130A (3) 307-10
- [132] LORSON C.L, AND ANDROPHY E.J. An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene *SMN*. *Hum Mol Genet* 2000 9 (2) 259-65
- [133] LORSON C.L, HAHNEN E, ANDROPHY E.J, AND WIRTH B. A single nucleotide in the *SMN* gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 96 (11) 6307-11
- [134] FELDKÖTTER M, SCHWARZER V, WIRTH R, WIENKER T.F, AND WIRTH B. Quantitative analyses of *SMN1* and *SMN2* based on real-time lightCycler PCR : fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 2002 70 (2) 358-68
- [135] RODRIGUES N.R, OWEN N, TALBOT K, PATEL S, MUNTONI F, IGNATIUS J, DUBOWITZ V, AND DAVIES K.E. Gene deletions in spinal muscular atrophy. 1996 *J Med Genet* 33 (2) 93-6.
- [136] SEO J, HOWELL M.D, SINGH N.N, AND SINGH R.N. Spinal muscular atrophy : An update on therapeutic progress. *Biochim Biophys Acta* 2013 1832 (12) 2180-2190
- [137] WANG C.H, XU J, CARTER T.A, ROSS B.M, DOMINSKI M.K, BELLCROSS C.A, PENCHASZADEH G.K, MUNSAT T.L, AND GILLIAM T.C. Characterization of survival motor neuron (*SMN2*) gene deletions in asymptomatic carriers of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 1996 5 (3) 359-65.

- [138] CUSCO I, BARCELO M.J, ROJAS-GARCIA R, ILLA I, GAMEZ J, CERVERA C, POU A, IZQUIERDO G, BAIGET M, AND TIZZANO E.F. *SMN2* copy number predicts acute or chronic spinal muscular atrophy but does not account for intrafamilial variability in siblings. *J Neurol* 2006 253 (1) 21-5
- [139] PETIT F, CUISSET J.M, ROUAIX-EMERY N, CANCES C, SABLONNIERE B, BIETH E, MOERMAN A, SUKNO S, HARDY N, HOLDER-ESPINASSE M, MANOUVRIER-HANU S, AND VALLEE L. Insights into genotype-phenotype correlations in spinal muscular atrophy : a retrospective study of 103 patients. *Muscle Nerve* 2011 43 (1) 26-30
- [140] Sommerville J, Brumwell CL, Politz JC, Pederson T (2005) Signal recognition particle assembly in relation to the function of amplified nucleoli of *Xenopus* oocytes. *J Cell Sci* **118**(Pt 6): 1299-1307
- [141] TAYLOR J.E, THOMAS N.H, LEWIS C.M, ABBS S.J, RODRIGUES N.R, DAVIES K.E, AND MATHEW C.G. Correlation of *SMNt* and *SMNc* gene copy number with age of onset and survival in spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet* 1998 6 (5) 467-74
- [142] Campbell L, Potter A, Ignatius J, Dubowitz V, Davies K (1997) Genomic variation and gene conversion in spinal muscular atrophy: implications for disease process and clinical phenotype. *Am J Hum Genet* **61**(1): 40-50
- [143] Coover DD, Le TT, McAndrew PE, Strasswimmer J, Crawford TO, Mendell JR, Coulson SE, Androphy EJ, Prior TW, Burghes AH (1997) The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **6**(8): 1205-1214
- [144] MELKI J. : « Cartographie génétique des amyotrophies spinales : les applications cliniques ». In : GRISCELLI C., GRAILLOT-GAK C., PAYEN G.G. « *Approches moléculaires des maladies* », Frison- Roche, Paris, 1992 : 71-74

- [145] BENSOUSSAN P. : « L'annonce faite aux parents ». *Neuropsychiatr. Enfance Adolesc.*, 1989, 37(8-9) : 429-440
- [146] BLIN-LAMBERT B., CONVERS E. : « L'annonce du diagnostic ». In : BAROIS A. *et al.* « *Maladies neuromusculaires* », Progrès en Pédiatrie - Nouvelle série, Doin, Paris, 1998 : 15-19
- [147] ALMERAS J. P. : « Les diagnostics prénatal et préimplantatoire ». *Concours Méd.*, 1995 : 362-364
- [148] DREESEN J.C.F.M., BRAS M., DE DIESMULDERS C.E.M., DUMOULIN J.C., COBBEN J.M., EVERS J.L.H., SMEETS H.J.M., GERAEDTS J.P.M. : « Preimplantation genetic diagnosis of spinal muscular atrophy ». *Mol. Hum. Reprod.*, 1998, 4(9) : 881-85
- [149] HANDYSIDE A.H., SCRIVEN P.N., OGILVIE C.M. : « The future of preimplantation genetic diagnosis ». *Hum. Reprod.*, 1998, 13(suppl. 4) : 249-255
- [150] FALLON L., HARTON G.L., SISSON M.E., RODRIGUEZ E., FIELD L.K., FUGGER E.F., GELTINGER M., SUN Y., DORFMANN A., SCHOENER C., BICK D., SCHULMAN J.H., LEVINSON G., BLACK S.H. : « Preimplantation genetic diagnosis for spinal muscular atrophy type I ». *Neurology*, 1999, 53(5) : 1087-1090
- [151] DANIELS R.J., SUTHERS G.K., MORRISSON K.E., THOMAS N.H., FRANCIS M.J., MATHEW C.G. : « Prenatal prediction of spinal muscular atrophy ». *J. Med. Genet.*, 1992, 29 : 165-170
- [152] MOUTOU C., GARDES N., VIVILLE S. : « Duplex PCR for preimplantation genetic diagnosis (PGD) of spinal muscular atrophy ». *Prenat Diagn*, 2003, 23(8): 685-689

- [153] MALCOV M., SCHWARTZ T., MEI-RAZ N. et coll.: "Multiplex-nested PCR for preimplantation genetic diagnosis of spinal muscular dystrophy". *Fetal Diagn Ther.*, 2004, 19(2):199-206
- [154] URTIZBEREA J.A., MIRANDA A. : « Bilan et prise en charge des maladies neuromusculaires ». *Encycl. Med. Chir., Kinésithér. Méd. Phys. Et Réadapt.*, 2001, 26-475-A-10, 11p.
- [155] TIZZANO E.F., CUSCO I. BARCELO M.J., PARRA J., BAIGNET M. : « Should gamete donors be tested for spinal muscular atrophy ? ». *Fertil Steril.*, 2002; 77(2):409-411
- [156] DELMAS M.C., BERARD C. : « Prise en charge globale de l'amyotrophie spinale infantile. Guide pratique pour les équipes médicales ». *Pédiatrie*, 1990, 45 : 457-464
- [157] BAROIS A., ESTOURNET- MATHIAUD B. : « Amyotrophie spinale, prise en charge respiratoire en fonction des aspects cliniques ». In : « *Assistance ventilatoire à domicile* », J.I.V.D., Arnette, Paris, 1994 : 279-293
- [158] Sumner CJ (2007) Molecular mechanisms of spinal muscular atrophy. *J Child Neurol* 22(8): 979-989
- [159] Minucci S, Pelicci PG (2006) Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatment for cancer. *Nat Rev Cancer* 6(1): 38-51
- [160] Kernochan LE, Russo ML, Woodling NS, Huynh TN, Avila AM, Fischbeck KH, Sumner CJ (2005) The role of histone acetylation in SMN gene expression. *Hum Mol Genet* 14(9): 1171-1182

- [161] Brichta L, Hofmann Y, Hahnen E, Siebzehnruhl FA, Raschke H, Blumcke I, Eyupoglu IY, Wirth B (2003) Valproic acid increases the SMN2 protein level: a well-known drug as a potential therapy for spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **12**(19): 2481-2489
- [162] Sumner CJ, Huynh TN, Markowitz JA, Perhac JS, Hill B, Coover DD, Schussler K, Chen X, Jarecki J, Burghes AH, Taylor JP, Fischbeck KH (2003) Valproic acid increases SMN levels in spinal muscular atrophy patient cells. *Ann Neurol* **54**(5):647-654
- [163] Tsai LK, Tsai MS, Lin TB, Hwu WL, Li H (2006) Establishing a standardized therapeutic testing protocol for spinal muscular atrophy. *Neurobiol Dis* **24**(2): 286-295
- [164] van Bergeijk J, Haastert K, Grothe C, Claus P (2006) Valproic acid promotes neurite outgrowth in PC12 cells independent from regulation of the survival of motoneuron protein. *Chem Biol Drug Des* **67**(3): 244-247
- [165] Weihl CC, Connolly AM, Pestronk A (2006) Valproate may improve strength and function in patient with type III/IV spinal muscle atrophy. *Neurology* **67**(3): 500-501
- [166] Chang JG, Hsieh-Li HM, Jong YJ, Wang NM, Tsai CH, Li H (2001) Treatment of spinal muscular atrophy by sodium butyrate. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**(17): 9808-9813
- [167] Andreassi C, Angelozzi C, Tiziano FD, Vitali T, De Vincenzi E, Boninsegna A, Villanova M, Bertini E, Pini A, Neri G, Brahe C (2004) Phenylbutyrate increases SMN expression in vitro: relevance for treatment of spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet* **12**(1): 59-65

- [168] Mercuri E, Bertini E, Messina S, Pelliccioni M, D'Amico A, Colitto F, Mirabella M, Tiziano FD, Vitali T, Angelozzi C, Kinali M, Main M, Brahe C (2004) Pilot trial of phenylbutyrate in spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* **14**(2): 130-135
- [169] Brahe C, Vitali T, Tiziano FD, Angelozzi C, Pinto AM, Borgo F, Moscato U, Bertini E, Mercuri E, Neri G (2005) Phenylbutyrate increases SMN gene expression in spinal muscular atrophy patient. *Eur J Hum Genet* **13**(2): 256-259
- [170] Riessland M, Brichta L, Hahnen E, Wirth B (2006) The benzamide M344, a novel histone deacetylase inhibitor, significantly increases SMN2 RNA/protein levels in spinal muscular atrophy cells. *Hum Genet* **120**(1): 101-110
- [171] Avila AM, Burnett BG, Taye AA, Gabanella F, Knight MA, Hartenstein P, Cizman Z, Di Prospero NA, Pellizzoni L, Fischbeck KH, Sumner CJ (2007) Trichostatin A increases SMN expression and survival in a mouse model of spinal muscular atrophy. *J Clin Invest* **117**(3): 659-671
- [172] Hahnen E, Eyupoglu IY, Brichta L, Haastert K, Trankle C, Siebzehnruhl FA, Riessland M, Holker I, Claus P, Romstock J, Buslei R, Wirth B, Blumcke I (2006) In vitro and ex vivo evaluation of second generation histone deacetylase inhibitors for the treatment of spinal muscular atrophy. *J Neurochem* **98**(1): 193-202
- [173] Mercuri E, Bertini E, Messina S, Solari A, D'Amico A, Angelozzi C, Battini R, Berardinelli A, Boffi P, Bruno C, Cini C, Colitto F, Kinali M, Minetti C, Mongini T, Morandi L, Neri G, Orcesi S, Pane M, Pelliccioni M, Pini A, Tiziano FD, Villanova M, Vita G, Brahe C (2007) Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of phenylbutyrate in spinal muscular atrophy. *Neurology* **68**(1): 51-55

- [174] Grzeschik SM, Ganta M, Prior TW, Heavlin WD, Wang CH (2005) Hydroxyurea enhances SMN2 gene expression in spinal muscular atrophy cells. *Ann Neurol* **58**(2): 194-202
- [175] Liang WC, Yuo CY, Chang JG, Chen YC, Chang YF, Wang HY, Ju YH, Chiou SS, Jong YJ (2008) The effect of hydroxyurea in spinal muscular atrophy cells and patient. *J Neurol Sci* **268**(1-2): 87-94
- [176] Jarecki J, Chen X, Bernardino A, Coover DD, Whitney M, Burghes A, Stack J, Pollok BA (2005) Diverse small-molecule modulators of SMN expression found by high-throughput compound screening: early leads towards a therapeutic for spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **14**(14):2003-2018
- [177] Thurmond J, Butchbach ME, Palomo M, Pease B, Rao M, Bedell L, Keyvan M, Pai G, Mishra R, Haraldsson M, Andresson T, Bragason G, Thosteinsdottir M, Bjornsson JM, Coover DD, Burghes AH, Gurney ME, Singh J (2008) Synthesis and biological evaluation of novel 2,4- diaminoquinazoline derivatives as SMN2 promoter activators for the potential treatment of spinal muscular atrophy. *J Med Chem* **51**(3): 449-469
- [178] Andreassi C, Jarecki J, Zhou J, Coover DD, Monani UR, Chen X, Whitney M, Pollok B, Zhang M, Androphy E, Burghes AH (2001) Aclarubicin treatment restores SMN levels to cells derived from type I spinal muscular atrophy patient. *Hum Mol Genet* **10**(24): 2841-2849
- [179] Ting CH, Lin CW, Wen SL, Hsieh-Li HM, Li H (2007) Stat5 constitutive activation rescues defects in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **16**(5): 499-514
- [180] Angelozzi C, Borgo F, Tiziano FD, Martella A, Neri G, Brahe C (2008) Salbutamol increases SMN mRNA and protein levels in spinal muscular atrophy cells. *J Med Genet* **45**(1): 29-31

- [181] Kinali M, Mercuri E, Main M, De Biasia F, Karatza A, Higgins R, Banks LM, Manzur AY, Muntoni F (2002) Pilot trial of albuterol in spinal muscular atrophy. *Neurology* **59**(4): 609-610
- [182] Yuo CY, Lin HH, Chang YS, Yang WK, Chang JG (2008) 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride enhances SMN2 exon 7 inclusion and protein expression in spinal muscular atrophy cells. *Ann Neurol* **63**(1): 26-34
- [183] Sakla MS, Lorson CL (2008) Induction of full-length survival motor neuron by polyphenol botanical compounds. *Hum Genet* **122**(6): 635-643
- [184] Lim SR, Hertel KJ (2001) Modulation of survival motor neuron pre-mRNA splicing by inhibition of alternative 3' splice site pairing. *J Biol Chem* **276**(48): 45476-45483
- [185] Madocsai C, Lim SR, Geib T, Lam BJ, Hertel KJ (2005) Correction of SMN2 Pre mRNA splicing by antisense U7 small nuclear RNAs. *Mol Ther* **12**(6): 1013-1022
- [186] Miyajima H, Miyaso H, Okumura M, Kurisu J, Imaizumi K (2002) Identification of a cis-acting element for the regulation of SMN exon 7 splicing. *J Biol Chem* **277**(26): 23271-23277
- [187] Singh NK, Singh NN, Androphy EJ, Singh RN (2006) Splicing of a critical exon of human Survival Motor Neuron is regulated by a unique silencer element located in the last intron. *Mol Cell Biol* **26**(4): 1333-1346
- [188] Hua Y, Vickers TA, Okunola HL, Bennett CF, Krainer AR (2008) Antisense masking of an hnRNP A1/A2 intronic splicing silencer corrects SMN2 splicing in transgenic mice. *Am J Hum Genet* **82**(4):834-848

- [189] Skordis LA, Dunckley MG, Yue B, Eperon IC, Muntoni F (2003) Bifunctional antisense oligonucleotides provide a trans-acting splicing enhancer that stimulates SMN2 gene expression in patient fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(7): 4114-4119
- [190] Baughan T, Shababi M, Coady TH, Dickson AM, Tullis GE, Lorson CL (2006) Stimulating full-length SMN2 expression by delivering bifunctional RNAs via a viral vector. *Mol Ther* **14**(1): 54-62
- [191] Cartegni L, Krainer AR (2003) Correction of disease-associated exon skipping by synthetic exon-specific activators. *Nat Struct Biol* **10**(2): 120-125
- [192] Hua Y, Vickers TA, Baker BF, Bennett CF, Krainer AR (2007) Enhancement of SMN2 exon 7 inclusion by antisense oligonucleotides targeting the exon. *PLoS Biol* **5**(4): e73
- [193] Wood M, Yin H, McClorey G (2007) Modulating the expression of disease genes with RNA-based therapy. *PLoS Genet* **3**(6): e109
- [194] Coady TH, Shababi M, Tullis GE, Lorson CL (2007) Restoration of SMN function: delivery of a transsplicing RNA re-directs SMN2 pre-mRNA splicing. *Mol Ther* **15**(8): 1471-1478
- [195] Lunn MR, Root DE, Martino AM, Flaherty SP, Kelley BP, Coover DD, Burghes AH, Man NT, Morris GE, Zhou J, Androphy EJ, Sumner CJ, Stockwell BR (2004) Indoprofen upregulates the survival motor neuron protein through a cyclooxygenase-independent mechanism. *Chem Biol* **11**(11): 1489-1493
- [196] Wolstencroft EC, Mattis V, Bajer AA, Young PJ, Lorson CL (2005) A non-sequence-specific requirement for SMN protein activity: the role of aminoglycosides in inducing elevated SMN protein levels. *Hum Mol Genet* **14**(9): 1199-1210

- [197] Mattis VB, Rai R, Wang J, Chang CW, Coady T, Lorson CL (2006) Novel aminoglycosides increase SMN levels in spinal muscular atrophy fibroblasts. *Hum Genet* **120**(4): 589-601
- [198] Haddad H, Cifuentes-Diaz C, Miroglio A, Roblot N, Joshi V, Melki J (2003) Riluzole attenuates spinal muscular atrophy disease progression in a mouse model. *Muscle Nerve* **28**(4): 432-437
- [199] Russman BS, Iannaccone ST, Samaha FJ (2003) A phase 1 trial of riluzole in spinal muscular atrophy. *Arch Neurol* **60**(11): 1601-1603
- [200] Lesbordes JC, Cifuentes-Diaz C, Miroglio A, Joshi V, Bordet T, Kahn A, Melki J (2003) Therapeutic benefits of cardiotrophin-1 gene transfer in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **12**(11): 1233-1239
- [201] Azzouz M, Le T, Ralph GS, Walmsley L, Monani UR, Lee DC, Wilkes F, Mitrophanous KA, Kingsman SM, Burghes AH, Mazarakis ND (2004) Lentivector-mediated SMN replacement in a mouse model of spinal muscular atrophy. *J Clin Invest* **114**(12): 1726-1731
- [202] Nayak MS, Kim YS, Goldman M, Keirstead HS, Kerr DA (2006) Cellular therapies in motor neuron diseases. *Biochim Biophys Acta* **1762**(11-12): 1128-1138
- [203] Harper JM, Krishnan C, Darman JS, Deshpande DM, Peck S, Shats I, Backovic S, Rothstein JD, Kerr DA (2004) Axonal growth of embryonic stem cell-derived motoneurons in vitro and in motoneuron-injured adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**(18): 7123-7128

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشرعي في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
- وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في.

**التشخيص الجزيئي
لضمور العضلات الشوكي الداني
بصدد 133 حالة**

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

الآنسة: حنان مغني

المزودة في: 17 ماي 1989 بالرباط

طبيبة داخلية سابقة بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: ضمور العضلات الشوكي SMA - المورثة SMN - المنطقة الدالة رقم 7
الهضم الأنزيمي-PCR.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس	السيد: عبد العزيز السفياني أستاذ في علم الوراثة الطبية
مشرف	السيدة: إلهام رتبي أستاذة مبرزة في علم الوراثة الطبية
أعضاء	السيد: عمر أكادر أستاذ في طب الأطفال
	السيدة: نزهة بيروك أستاذة في طب الأعصاب
	السيدة: يامنة كريول أستاذة في طب الأطفال