



DÉCEMBRE 2022

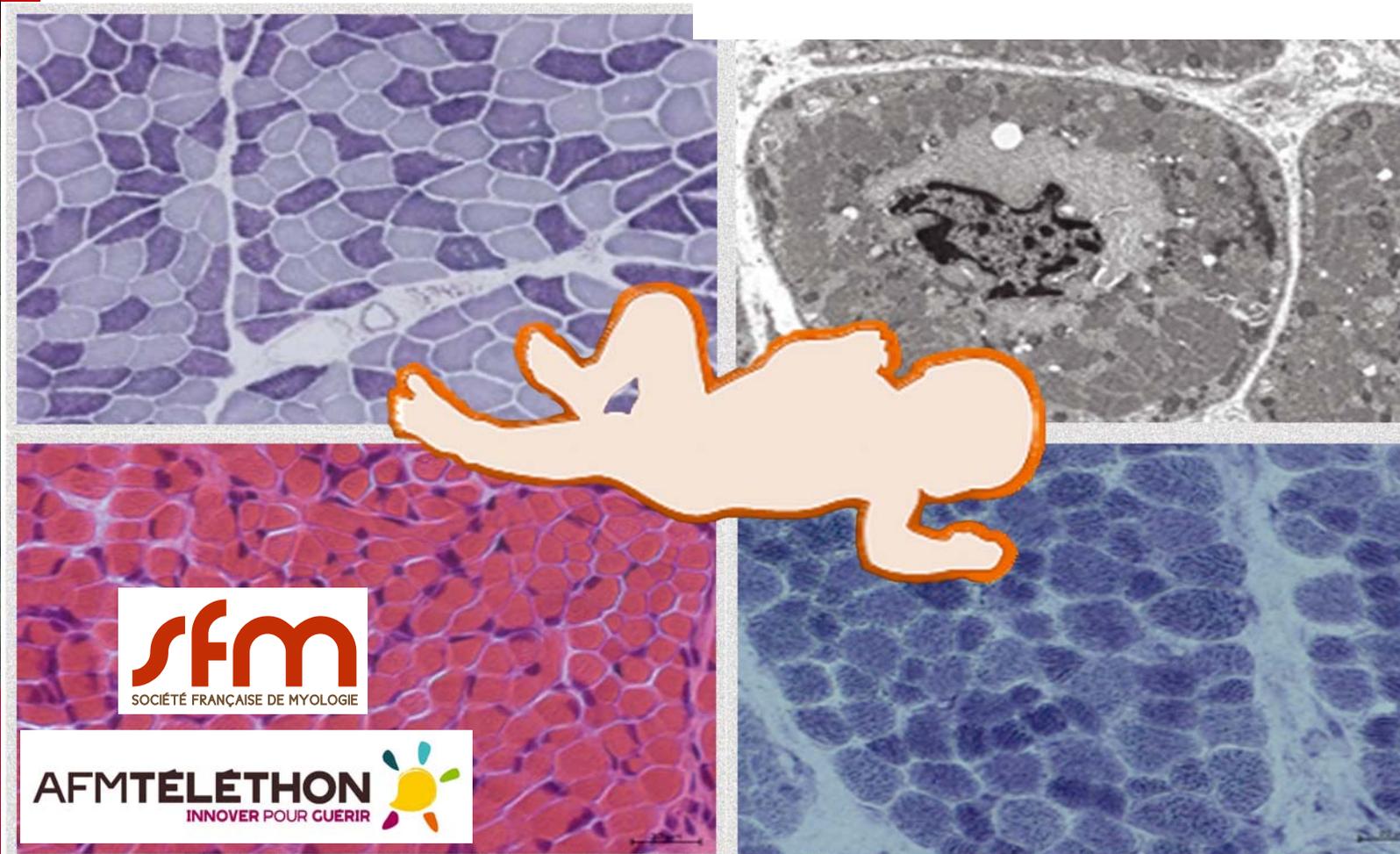
Hors série n° 1

p 1 > 56

volume 38

> www.medecinesciences.org

Les cahiers de **myologie**



AFMTÉLÉTHON
INNOVER POUR GUERIR



AFM TÉLÉTHON
DONNEZ-NOUS LA FORCE DE GUÉRIR



**POUR SAUVER
MA FILLE,
JE NE LÂCHE RIEN**
LE TÉLÉTHON PEUT TOUT CHANGER

france•tv

telethon.fr
service gratuit
+ prix appel **3637**

2-3 DÉC. 2022





DIRECTEUR DE LA PUBLICATION

Gilles Bloch
Président-Directeur général
de l'Inserm

RÉDACTION

RÉDACTEUR EN CHEF
Jean-Luc Teillaud (Paris)

RÉDACTEUR EN CHEF ADJOINT
Thierry Jouault (Paris-Lille)

**SECRÉTAIRE GÉNÉRAL
DE LA RÉDACTION**
François Flori (Paris)

ADJOINT À LA RÉDACTION
Jean-Pierre Hardelin (Paris)

CONSEILLER SCIENTIFIQUE
Hervé Chneiweiss (Paris)

DIRECTRICE ÉDITORIALE
Martine Krief-Fajnzylberg

**CONSEILLER ET REPRÉSENTANT
DE L'INSERM**
Michel Pohl

EDP Sciences
17, avenue du Hoggar
91944 Les Ulis Cedex, France
Tél. : 06 09 34 98 84
Fax : 01 49 85 03 45
francois.flori@edpsciences.org

Indexée dans
PubMed/Medline
Current Contents,
série Life Sciences
EMBASE/Excerpta Medica
PASCAL
CABS
BIOSIS

Numéro hors série : Les Cahiers de Myologie (revue invitée)

SOMMAIRE

ÉDITORIAL

- 5 L'innovation thérapeutique à tout prix ?
J. Andoni Urtizbera

PRIX SFM IMPULSION

- 6 HDAC6, une désacétylase très spécifique porteuse d'espoir thérapeutique
Alexis Osseni, Laurent Schaeffer

MISES AU POINT

- 13 Les agrégats nucléaires dans la dystrophie musculaire oculopharyngée
Alexis Boulinguez, Fany Roth, Hadidja Rose Mouigni, Gillian Butler-Browne,
Vincent Mouly, Capucine Trollet
- 17 Biopsie musculaire en période néonatale et périnatale : une évaluation
rétrospective de 535 cas
Norma Beatriz Romero, Mai Thao Bui
- 29 L'annonce diagnostique d'une maladie neuromusculaire à l'âge adulte
Bettina Beaujard, Anthony Béhin, Marie-Carmen Castillo, Marcela Gargiulo

PRISE EN CHARGE

- 35 Les nouvelles recommandations HAS dans la gestion de la trachéotomie
chez les patients neuromusculaires
Sandrine Ségovia-Kueny, Christian Devaux, Emmanuel Maxime, Frédéric Lofaso

LU POUR VOUS

Génétique

- 39 Vers une meilleure détection des variants introniques et autres anomalies
d'épissage complexes dans les dystrophinopathies
Valérie Allamand

Pré-Clinique

- 40 Les cellules CAR-T : des nouvelles armes dans la lutte contre la fibrose
musculaire ?
Alexandra Bayer-Wildberger, Jean-Thomas Vilquin

Clinique

- 42 Thermosensibilité et déficits en protéine trifonctionnelle mitochondriale
Gorka Fernández-Eulate

Clinique

- 44 Myopathies inflammatoires et anoctaminopathies : les points-clés pour éviter
les erreurs diagnostiques
Emmanuelle Salort-Campana



COMITÉ ÉDITORIAL

Claire Crignon (Paris)
Paul Czernichow (Paris)
Aurélien de Reyniès (Paris)
Carine Franc (Villejuif)
Hélène Gilgenkrantz (Paris)
Bruno Giros (Montréal)
Marcel Goldberg (Paris)
Bruno Goud (Paris)
Jacques Haiech (Strasbourg)
Frédéric Jaisser (Paris)
Bertrand Jordan (Marseille)
Anne-Marie Moulin (Paris)
Anna Salvetti (Lyon)
Sophie Sibénil (Paris)
Alain Tedgui (Paris)

COMITÉ ÉDITORIAL

« JEUNES POUSSÉS »

Nolween Adam (Paris)
Laurent Aussel (Marseille)
Régis Blaise (Paris)
Agnès Bonnot (Paris)
Boubacar Mohamed (Paris)
Sophie Sibénil (Paris)
Sylvia Soares (Paris)

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Joël Bockaert (Montpellier)
Denis Duboule (Genève)
Gérard Friedlander (Paris)
Thierry Galli (Paris)
Simone Gilgenkrantz (Nancy)
Michel Goldman (Bruxelles)
Jean-Pierre Grünfeld (Paris)
Axel Kahn (Paris) †
Jean-Claude Kaplan (Paris)
Jean-François Lacronique (Paris)
Arnold Munnich (Paris)
Jean-Paul Ortonne (Nice)
Marc Peschanski (Évry)
Jacques Piette (Liège)
Jacques Pouyssegur (Nice)
Bernard Rossier (Lausanne)
Guy Rousseau (Bruxelles)
Philippe Sansonetti (Paris)
Germain Trugnan (Paris)
Gilbert Vassart (Bruxelles)
Éric Vivier (Marseille)

Le Fonds de recherche du Québec-santé (FSRQ), l'un des membres fondateurs de médecine/sciences, soutient la revue pour sa diffusion aux chercheurs et médecins québécois



CAS CLINIQUE

- 46 La grande variabilité phénotypique des mutations du gène *RYR1*
Mohamed Islam Kediha, Sonia Nouioua, Meriem Tazir, Damien Sternberg, Joël Lunardi, Lamia Ali Pacha

MYOLOGIE DANS LE MONDE

- 49 La deuxième École Balte de Neuromyologie
J. Andoni Urtizberea, Edoardo Malfatti, Pierre G. Carlier

FICHE TECHNIQUE

- 52 Dystrophie musculaire facio scapulo-humérale : vers un diagnostic moléculaire étendu à la FSHD2
Frédérique Magdinier, Benjamin Ganne, Mégane Delourme, Karine Nguyen, Rafaëlle Bernard

56 AGENDA

PHOTO DE COUVERTURE : © Valérie Allamand (d'après les images de biopsies musculaires contenues dans l'article de Norma Beatriz Romero, page 17 de ce numéro).





médecine/sciences a été le fruit d'une coopération entre le gouvernement de la République française et le gouvernement du Québec, à la suite d'une recommandation de la Commission permanente de coopération franco-québécoise.

médecine/sciences est membre du Committee on Publication Ethics (COPE) www.publicationethics.org

CRÉDITS PHOTOS :

Page 6 : © Alexis Osseni ;
Page 13 : © Alexis Boulinguez ;
Page 17 : © Norma Beatriz Romero ;
Page 29 : © Michel Fardeau ;
Page 35 : © INCa ;
Page 39 : © Luis Garcia ;
Page 40 : © Véronique Catros ;
Page 42 : © Nadine Camougrand ;
Page 44 : Anthony Béhin ;
Page 46 : Joël Lunardi ;
Page 49 : © DR ;
Page 52 : Hélène Gilgenkrantz.

INDEX DES ANNONCEURS :

AFM-Téléthon, 2^e couv. – SFM-Filnemus, p. 27, p. 46, p. 48. – Global Registry COL6. – Le billet du lundi, p. 42. – EDPsciences, p. 44. – WMS 2023, 3^e couv. – AFM-Téléthon, p. 55, 4^e couv.

The Fonds de recherche du Québec-santé (FSRQ), one of the founding members of *médecine/ sciences*, supports the journal for its dissemination to Quebec researchers and physicians

Special issue: *Les Cahiers de Myologie* (invited journal)

CONTENTS

EDITORIAL

- 5 Therapeutic innovation at all costs?

J. Andoni Urtizbera

SFM "IMPULSION" AWARD

- 6 HDAC6, a very specific deacetylase with a potential therapeutic role?

Alexis Osseni, Laurent Schaeffer

FOCUS

- 13 Nuclear aggregates in oculopharyngeal muscular dystrophy

Alexis Boulinguez, Fany Roth, Hadidja Rose Mouigni, Gillian Butler-Browne, Vincent Mouly, Capucine Trollet

- 17 Muscle biopsy in the neonatal and perinatal period: a retrospective study of 535 cases

Norma Beatriz Romero, Mai Thao Bui

- 29 Disclosing a diagnosis of a neuromuscular disease in adulthood

Bettina Beaujard, Anthony Béhin, Marie-Carmen Castillo, Marcela Gargiulo

MANAGEMENT

- 35 New HAS recommendations for managing tracheotomy in neuromuscular patients

Sandrine Ségovia-Kueny, Christian Devaux, Emmanuel Maxime, Frédéric Lofaso

LITERATURE REVIEWS

Genetics

- 39 Towards a better detection of intronic variants and other complex splicing abnormalities in dystrophinopathies

Valérie Allamand

Preclinical studies

- 40 CAR-T cells: new therapeutic weapons to fight muscle fibrosis?

Alexandra Bayer-Wildberger, Jean-Thomas Vilquin

Clinical research

- 42 Thermosensitivity and mitochondrial trifunctional protein deficiencies

Gorka Fernández-Eulate

Clinical research

- 44 Inflammatory myopathies and anoctaminopathies: key points to avoid misdiagnosis

Emmanuelle Salort-Campana

CASE REPORT

- 46 The high phenotypic variability of *RYR1* gene mutations

Mohamed Islam Kediha, Sonia Nouioua, Meriem Tazir, Damien Sternberg, Joël Lunardi, Lamia Ali Pacha



WORLDWIDE MYOLOGY

49 The Second Baltic School of Neuromyology

J. Andoni Urtizberea, Edoardo Malfatti, Pierre G. Carlier

TECHNICAL SHEET

52 Facio-scapulo-humeral muscular dystrophy: towards a molecular diagnosis extended to FSHD2

Frédérique Magdinier, Benjamin Ganne, Mégane Delourme, Karine Nguyen, Rafaëlle Bernard

56 FORTHCOMING MEETINGS

REVUE PRODUITE ET HÉBERGÉE PAR

EDP Sciences
17, avenue du Hoggar
91944 Les Ulis Cedex, France
Tél. : 06 09 34 98 84
Fax : 01 49 85 03 45
francois.flori@edpsciences.org

IMPRIMEUR

Corlet, Imprimeur, S.A.
ZI route de Vire,
14110 Condé-sur-Noireau, France
N° 83406

INFOGRAPHIE, MISE EN PAGE

Desk
25, boulevard de la Vannerie
53940 St-Berthevin, France

SERVICE ABONNEMENTS

EDP Sciences
17, avenue du Hoggar
PA de Courtabœuf
91944 Les Ulis Cedex A, France
Tél. : 01 69 18 75 75
Fax : 01 69 86 06 78
subscribers@edpsciences.org

Copyright© « Médecine/Sciences-Inserm ». Publication périodique mensuelle. Tous droits de reproduction à des fins de vente, de location, de publicité ou de promotion réservés à l'éditeur. Commission paritaire n° 1122 T 81597
Dépôt légal :
à parution
ISSN n° 07670974
ISSN électronique n° 1958-5381

Comité de pilotage de ce numéro

Emmanuelle Salort-Campana
J. Andoni Urtizberea
Valérie Allamand
Gisèle Bonne
Bénédictine Chazaud
Guilhem Solé

Ont participé à ce numéro

Lamia Ali Pacha
Valérie Allamand
Alexandra Bayer-Wildberger
Bettina Beaujard
Anthony Béhin
Rafaëlle Bernard
Alexis Boulinguez

Mai Thao Bui
Gillian Butler-Browne
Pierre G. Carlier
Marie-Carmen Castillo
Mégane Delourme
Christian Devaux
Gorka Fernández-Eulate
Benjamin Ganne
Marcela Gargiulo
Mohamed Islam Kediha
Frédéric Lofaso
Joël Lunardi
Frédérique Magdinier
Edoardo Malfatti
Emmanuel Maxime
Hadidja Rose Mouigni

Vincent Mouly
Karine Nguyen
Sonia Nouioua
Alexis Osseni
Norma Beatriz Romero
Fany Roth
Emmanuelle Salort-Campana
Laurent Schaeffer
Sandrine Ségovia-Kueny
Damien Sternberg
Meriem Tazir
Capucine Trollet
J. Andoni Urtizberea
Jean-Thomas Vilquin

COVER PHOTO : © Valérie Allamand (adapted from muscle biopsy images contained in Norma Beatriz Romero's article, page 17 of this issue).



Éditorial

L'innovation thérapeutique à tout prix ?

J. Andoni Urtizbera

> « De l'audace, encore de l'audace, toujours de l'audace » disait Danton en 1792. Certes, mais la fin justifie-t-elle toujours les moyens ? On est en droit de se le demander à la lumière de l'actualité récente en matière de thérapies innovantes pour la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). L'annonce du décès du premier patient ayant bénéficié d'une technologie CRISPR-Cas9 à visée thérapeutique a suscité un vif émoi dans la communauté myologique au sens large.

Pour mieux comprendre les raisons et les répercussions de cette issue tragique et de ce qui pourrait s'apparenter, en première lecture, à un *fiasco*, il faut remonter à quelques années en arrière. Nul n'est besoin de rappeler, surtout dans ces colonnes, le mécanisme d'action de cette technique révolutionnaire de biologie moléculaire co-découverte en 2012 par des chercheuses, l'une américaine, l'autre française, toutes deux nobélisées depuis. CRISPR-Cas9 fait partie des nouveaux outils d'édition du génome capables de réparer toutes sortes de défauts d'un gène donné. Des résultats très concluants, issus notamment des travaux d'Eric Olson au Texas, ont déjà été obtenus dans des modèles cellulaires et animaux (souris, chien) de la DMD. S'il y avait consensus pour penser que CRISPR-Cas9 constitue un outil très puissant promis à un bel avenir, les avis restaient et restent partagés quant au meilleur timing pour tester la technique chez l'homme malade, la crainte du *off-targeting* et le manque de recul, malgré le succès de l'expérimentation animale, étant souvent mis en avant par les partisans d'un certain attentisme.

Ce saut dans l'inconnu a néanmoins été franchi par une biotech américaine dans des conditions très particulières. Cure Rare Disease n'est pas une start-up de la biopharma comme les autres. Basée à Boston, elle se revendique à but non lucratif et vise à apporter des solutions thérapeutiques issues de la connaissance des gènes, dont CRISPR-Cas9 mais pas seulement, pour les maladies génétiques rares en général et les ultra-rares en particulier. Son président-fondateur, Rich Horgan, un jeune entrepreneur primé par le magazine Forbes, avait une raison supplémentaire de s'intéresser au sujet : son frère cadet Terry, souffrait de DMD. Après avoir levé suffisamment de fonds pour financer un premier essai clinique, le jeune trentenaire s'est lancé

dans un essai que l'on pourrait qualifier de passionnel. Le seul patient sélectionné pour l'étude était relativement âgé (27 ans), non-ambulant et vraisemblablement à un stade avancé de sa maladie. Ce malade n'était autre que son frère Terry. L'essai référencé CRD-TMH-001 a reçu la bénédiction à la fois de la Food & Drug Administration (FDA) et des conseillers scientifiques de Cure Rare Disease parmi lesquels figurent d'éminents spécialistes comme Monkol Lek et Robert J. Brown. Avant même que le patient bénéficie, au cours de cet été 2022, d'une injection intraveineuse unique d'un AAV contenant des éléments du système CRISPR-Cas9, des voix s'étaient élevées, notamment en Europe, pour dénoncer cette fuite en avant tout en alertant sur la crainte qu'une telle étude ne prouve rien *in fine*.

Terry Horgan est décédé à 27 ans dans des circonstances encore peu claires. La communication autour de cet événement tragique reste très verrouillée au motif, en grande partie légitime, qu'une enquête d'imputabilité est en cours. À ce stade, les experts en sont donc réduits à spéculer sur l'implication de plusieurs facteurs. Si les dangers liés à l'utilisation des AAV en clinique humaine commencent à être bien documentés, ce n'est pas vraiment le cas pour l'édition génomique de type CRISPR-Cas9. Les autres facteurs à potentiellement incriminer concernent l'âge du patient et le fait qu'une cardiomyopathie, généralement inéluctable à ce stade de la maladie, aurait pu décompenser à l'occasion de cette thérapie.

Toujours est-il qu'un sentiment de gâchis prédomine après cet échec. D'aucuns craignent même que le principe de l'utilisation de l'édition génomique en clinique humaine ne soit remis en cause et qu'un moratoire soit mis en place comme cela avait été le cas, dans les années 1990, lors des premières expérimentations humaines de thérapie génique à base d'adénovirus. Pour Rich Horgan, il s'agit sans doute d'une triple peine : son frère n'est plus ; un sentiment de culpabilité doit l'habiter même si lui et son frère ont agi en toute connaissance de cause ; les investisseurs et donateurs risquent fort de se détourner de Cure Rare Disease, au moins pour un moment. ♦

Therapeutic innovation at all costs?

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.



J. Andoni Urtizbera

Institut de Myologie, Paris, France
andoni.urtizbera@gmail.com

TIRÉS À PART

J.A. Urtizbera

► L'histone désacétylase 6 (HDAC6) est envisagée aujourd'hui comme une cible thérapeutique de choix dans le traitement de nombreuses maladies. L'expression de HDAC6 est fortement augmentée dans un ensemble varié de maladies. Depuis une dizaine d'années, une pléiade de nouveaux inhibiteurs sélectifs de l'activité de HDAC6 ont été synthétisés et caractérisés. De nombreuses études ont démontré l'efficacité et les effets bénéfiques des inhibiteurs de HDAC6 dans différents cancers, maladies neurodégénératives ou inflammatoires, ainsi que dans diverses maladies neuromusculaires. Tous les mécanismes d'actions de HDAC6 expliquant l'effet de son inhibition dans les pathologies ne sont pas encore connus. Nous avons récemment montré que HDAC6, *via* la régulation du réseau de microtubules, joue un rôle au niveau des jonctions neuromusculaires en contrôlant l'acheminement des récepteurs de l'acétylcholine. ◀

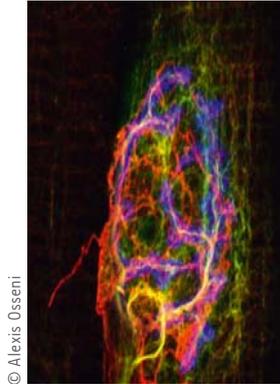
HDAC6, une désacétylase aux multiples visages

Son nom est très évocateur : histone désacétylase 6 ou encore HDAC6. Bien que membre de la grande famille des histones désacétylases (HDACs), HDAC6 est cytoplasmique et n'est pas connue pour désacétyler les histones nucléaires. Le rôle de HDAC6 est décidément tout autre : elle est impliquée dans des processus biologiques indispensables au fonctionnement cellulaire, notamment la liaison et le transport des protéines ubiquitinées et la désacétylation de protéines cytoplasmiques. HDAC6 se distingue donc nettement des autres HDACs. Membre de la classe IIb de la famille HDAC, l'histone désacétylase 6 est une protéine cytoplasmique de 1 215 acides aminés (*Figure 1*) composée

Vignette : image confocale AiryScan illustrant une jonction neuromusculaire murine et son réseau de microtubules. Fluorescence verte (tubuline tyrosinée), rouge (tubuline acétylée), et bleue (récepteur de l'acétylcholine).

HDAC6, une désacétylase très spécifique porteuse d'espoir thérapeutique

Alexis Osseni^{1,2}, Laurent Schaeffer^{1,2}



© Alexis Osseni

¹Laboratoire Physiopathologie et Génétique du Neurone et du Muscle (INMG-PGNM), CNRS UMR 5261, INSERM U 1315, Université de Lyon, UCBL1, France.

²Centre de Biotechnologie Cellulaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France. alexis.osseni@univ-lyon.fr

de cinq domaines caractéristiques bien spécifiques [1]. Les différents domaines comprennent à son extrémité N-terminale un signal d'export nucléaire (NES) conservé qui empêche son accumulation dans le noyau. Ensuite, on retrouve les deux domaines catalytiques (DD1 et DD2) responsables de l'élimination du groupe acétyl d'un résidu lysine spécifique. Le quatrième domaine SE14 garantit que HDAC6 s'ancre de manière stable dans le cytoplasme. Enfin, à son extrémité C-terminale se localise un domaine à doigt de zinc de liaison à l'ubiquitine (UBD) interagissant avec les composants de la voie ubiquitine-protéasome [2]. En effet, grâce à son domaine de liaison à l'ubiquitine, HDAC6 joue un rôle essentiel dans la réponse cellulaire aux protéines mal repliées et agrégées. HDAC6 participe au recrutement des agrégats de protéines ubiquitinylées dans l'agrésome [3]. On notera également que HDAC6 est le seul membre de la famille HDAC qui possède deux domaines catalytiques désacétylases en tandem. Cette duplication est nécessaire à l'activité de désacétylation de la tubuline, mais elle reste encore mal étudiée. En définitive, cet ensemble de domaines fait de HDAC6 une enzyme unique au sein de la famille des HDACs. HDAC6 est principalement connue pour son activité désacétylase de protéines cytoplasmiques. Au début des années 2000, le premier substrat physiologique identifié de HDAC6 fut l' α -tubuline [4]. En effet, HDAC6 a été décrite pour la toute première fois comme une désacétylase spécifique capable de réguler l'acétylation des microtubules. Comme leur nom l'indique, les microtubules sont des tubes de petit diamètre, des filaments cylindriques du cytosquelette présents dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes et sont constitués de

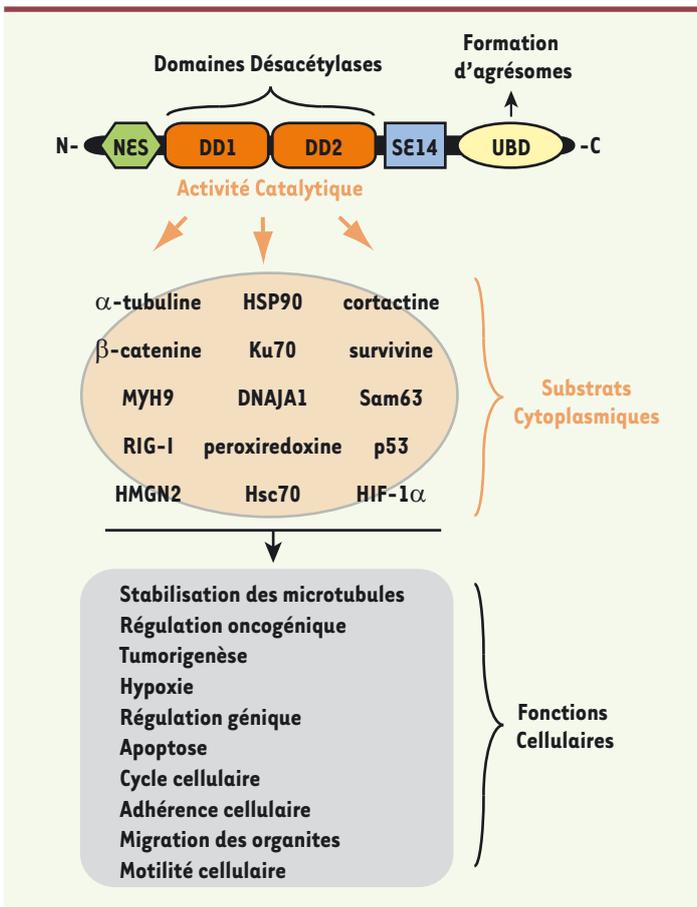


Figure 1. HDAC6 : structure et fonction. Plusieurs processus cellulaires sont régulés par HDAC6 qui désacétyle de nombreux substrats cytoplasmiques grâce à ses deux domaines désacétylases.

tubuline α et de tubuline β . L'acétylation de la tubuline α a lieu au niveau de la lysine 40 qui est située dans la lumière des microtubules. Les modifications post-traductionnelles des microtubules, telles que l'acétylation, la tyrosination, la polyglutamylation et la polyglycylation, sont importantes pour la régulation de la polymérisation/dépolymérisation des microtubules [5]. En particulier, l'acétylation de l' α -tubuline est un déterminant et un marqueur de la stabilité des microtubules. Elle est notamment connue pour réguler les déplacements intracellulaires dépendant des microtubules. Depuis plus de 15 ans, de nombreux autres substrats cytoplasmiques de HDAC6 ont été identifiés tels que la cortactine, HSP90, la survivine, Ku70, la β -caténine, p53, HIF-1 α , K-ras, Tat, 14-3-3 ζ , Hsc70, HMGN2, Sam68, DNAJA1, MYH9, et RIG-I. Ces nouveaux substrats sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires tels que l'adhérence, la motilité et la migration cellulaire, la formation d'aggresomes, la réponse au stress, l'hypoxie, l'expression des gènes, le cycle cellulaire, ou la mort cellulaire via l'apoptose. HSP90, une protéine chaperonne, fut le deuxième substrat de l'HDAC6 identifié après la tubuline [6]. Cette protéine est surexprimée en réponse au stress cellulaire et agit sur les protéines impliquées dans les signalisations prolifératives/anti-apoptotiques et dans le contrôle du cycle cellulaire. L'acétylation de HSP90 régule

sa stabilité ; en désacétylant HSP90, HDAC6 régule les niveaux de HSP90 et contrôle ainsi de nombreuses oncoprotéines et la propagation de la réponse cellulaire à l'inflammation [6].

Les nouveaux inhibiteurs sélectifs de HDAC6 et la pertinence thérapeutique de cette inhibition

Au cours des dernières décennies, la compréhension croissante des mécanismes épigénétiques a permis l'expansion rapide des connaissances sur le rôle des HDACs dans le développement du cancer. Les inhibiteurs de HDACs représentent une classe de médicaments antitumoraux intéressante compte tenu de la série de réponses moléculaires et biologiques qu'ils induisent et de leur faible toxicité pour les cellules normales. Étant donné que les HDACs modulent diverses fonctions cellulaires notamment celles impliquées dans la survie des cellules et qu'elles sont souvent surexprimées dans les cancers, la découverte des liens entre l'acétylation des histones et les pathologies malignes a incité au développement de nouveaux médicaments ciblant les HDACs. Dix-huit HDACs ont été identifiées à ce jour chez l'homme et sont regroupées dans différentes classes qui tiennent compte de leurs spécificités structurales et/ou catalytiques. Dans de nombreuses maladies, l'expression et l'activité des HDACs sont accrues et les inhibiteurs généraux des HDACs exercent leurs effets biologiques via l'hyperacétylation d'un grand nombre de protéines cellulaires impliquées dans la mort cellulaire, l'arrêt du cycle cellulaire, la sénescence ou encore l'autophagie. De manière reproductible, l'augmentation de l'acétylation des protéines est inversement corrélée à la prolifération et à la survie des cellules, conduisant ainsi à l'arrêt de la croissance et à la mort des cellules tumorales. Sur cette base, les inhibiteurs d'HDACs ont fait l'objet de nombreux essais cliniques (Tableau 1). Certains inhibiteurs ont démontré un potentiel thérapeutique prometteur dans des pathologies telles que le lymphome cutané à cellules T, les syndromes myélodysplasiques ou le lymphome diffus à grandes cellules B. Le ginivostat, un inhibiteur général d'HDACs, a montré son efficacité dans des modèles de souris dystrophiques et est cours d'évaluation clinique pour la dystrophie musculaire de Duchenne [7,8]. Dans les modèles animaux, une récupération fonctionnelle et morphologique a été démontrée dans des muscles de souris dystrophiques traitées avec la trichostatine A, un inhibiteur général des HDACs [9]. De même, l'administration d'un inhibiteur général des HDACs dans un modèle de souris atteinte d'amyotrophie spinale permet aux motoneurons de la moelle épinière d'être protégés de

Inhibiteurs des HDACs	Cible des HDACs	Essai Clinique
Vorinostat	Toutes classes	Phase I / II / III
Givinostat	Toutes classes	Phase I / II
Ricolinostat (ACY-1215, rocolinostat)	Classe IIb (HDAC6)	Phase I / II
Acide Valproïque	Classe I et IIa	Phase I / II
Acide butyrique	Classe I et IIa	Phase I / II
Nicotinamide	Classe III	Phase I / II
Citarinostat (ACY-241)	Classe IIb (HDAC6)	Phase I
Romidepsine	Classe I	Phase I
Trichostatine A	Toutes classes	Pré-Clinique
Tubastatine A	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
Tubacine	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
Nexturastat A (NextA)	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
HPOB	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
ACY-1083	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
ACY-775	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
CY-738	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
WT161	Classe IIb (HDAC6)	Pré-Clinique
Sirtinol	Classe III (Sirt1 et Sirt2)	Pré-Clinique
Cambinol	Classe III (Sirt1 et Sirt2)	Pré-Clinique

Tableau I. Classification des inhibiteurs de HDACs dans les essais cliniques.

la dégénérescence augmentant ainsi la durée de vie de ces souris [10]. Cependant, une certaine toxicité des inhibiteurs généraux des HDACs limite leur utilisation chez l'homme. Elle pourrait être due à leur manque de spécificité qui réduirait leur profil de tolérance. Afin de préserver leurs effets bénéfiques tout en réduisant leur toxicité, des composés plus sélectifs ont été développés. La classe IIb, et notamment HDAC6, est apparue comme une arme thérapeutique de choix.

HDAC6 est devenue une molécule prometteuse en raison de ses fonctions et des substrats non-histones qu'elle cible. D'autre part, l'inhibition de HDAC6 ne semble pas causer de toxicité sévère, comme le montre la bonne tolérance des différents inhibiteurs développés ayant une capacité préférentielle à inhiber HDAC6. En résumé et compte tenu de l'effet des inhibiteurs de HDAC6 sur la progression de plusieurs maladies, cette enzyme représente une cible pharmacologique potentielle pour permettre une inhibition sélective dans la famille des HDACs, réduisant ainsi les risques de toxicité liés aux effets non spécifiques des inhibiteurs généraux des HDACs. Au cours de la dernière décennie, de nombreux inhibiteurs sélectifs de HDAC6 ont été développés et étudiés jusqu'à présent. Surtout, et lorsque l'on considère l'inhibition de HDAC6 comme une approche thérapeu-

tique pour les maladies, il est important de mentionner que les souris déficientes en HDAC6 présentent un développement normal et que l'hyperacétylation de la tubuline, observée dans la plupart des tissus en raison de l'absence de HDAC6, n'a que des effets négligeables [11]. L'ensemble de ces données démontre que les souris survivent bien sans HDAC6 et que l'hyperacétylation de la tubuline n'est pas préjudiciable au développement normal des mammifères. Les différentes études réalisées montrent que l'inhibition de HDAC6 a surtout des effets en conditions pathologiques, suggérant que HDAC6 fonctionnerait comme un facteur de réponse au stress. Cette hypothèse se vérifie au niveau moléculaire puisque l'expression de HDAC6 est contrôlée par les facteurs de transcription FoxO, notamment impliqués dans la réponse au stress. La régulation de l'expression de HDAC6 par les facteurs FoxO explique sans doute l'augmentation de l'expression de HDAC6 dans de nombreuses situations pathologiques [12] (Tableau II).



	Maladie	Journal
Cancers	Astrocytome	2008 - BMC Cancer
	Cancer de l'ovaire	2008 - Clinical Cancer Research
	Cancer du sein	2017 - Nature Cell Biology
		2004 - Clinical Cancer Research
	Carcinome épidermoïde	2004 - Cancer Science
	Carcinome hépatocellulaire	2009 - Cancer Letters
	Carcinome urothélial	2012 - Oncology Reports
		2014 - Cancer Biology & Therapy
	Glioblastome multiforme	2017 - Cancer Letters
		2020 - Cell Death & Disease
	Leucémie aigüe myéloïde	2005 - Leukemia
	Leucémie lymphoïde chronique	2011 - Oncology
	Lymphome cutanés	2008 - Histopathology
	Lymphome diffus à grandes cellules B	2009 - Histopathology
Lymphome du manteau	2010 - Expert Opinion on Therapeutic Targets	
Lymphome T périphérique	2009 - British Journal of Haematology	
Myélome multiple	2014 - Epigenetics	
Diabète	Rétinopathie diabétique	2020 - Antioxidants
Maladie cardiaque	Fibrose cardiaque	2016 - Cardiology
	Protéinopathie cardiaque	2014 - PNAS
Maladie inflammatoire	Maladie inflammatoire chronique de l'intestin	2017 - Biological and Pharmaceutical Bulletin
	Ostéoarthrite	2020 - The American Journal of Pathology
	Polyarthrite rhumatoïde	2015 - International Journal of Rheumatic Diseases
Maladie neurodégénérative	Amyotrophie spinale	2011 - Biochemical and Biophysical Research Communications
		2013 - Journal of Alzheimer's Disease
	Maladie d'Alzheimer	2013 - EMBO Molecular Medicine
		2015 - Translational Research & Clinical Interventions
	Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT2)	2018 - Nature Communications
	Maladie d'Huntington	2013 - Molecular Neurodegeneration
	Maladie de Parkinson	2013 - Molecular Neurodegeneration
Maladie neuromusculaire	Sclérose latérale amyotrophique	2013 - Journal of Biological Chemistry
		2013 - Human Molecular Genetics
	Syndrome de Rett	2015 - Journal of Molecular Medicine
Maladie osseuse	Dystrophie musculaire de Duchenne	2022 - Nature Communications
Maladie osseuse	Achondroplasie	2016 - Human Molecular Genetics
Maladie psychique	Dépression	2012 - Plos One
Maladie pulmonaire	Bronchopneumopathie chronique obstructive	2005 - The New England Journal of Medicine
	Hypertension artérielle pulmonaire	2017 - Scientific Reports

Tableau II. Listes des maladies présentant une surexpression et/ou hyper activité de HDAC6.

La surexpression et l'augmentation de l'activité de HDAC6 sont associées à l'étiologie de plusieurs cancers, du lupus érythémateux disséminé, de maladies inflammatoires et de maladies neurologiques diverses telles que le syndrome de Rett ou les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. La tubacine fut la première molécule identifiée capable d'inhiber sélectivement HDAC6 [13]. Les inhibiteurs identifiés depuis sont indiqués dans le *Tableau 1*. L'inhibition de HDAC6 par la tubacine provoque l'acétylation de la tubuline qui induit l'apoptose dans les cellules de leucémie aiguë lymphoblastique, diminue la mobilité cellulaire et inhibe l'interaction entre HDAC6 et les moteurs moléculaires de la famille des dynéines. Bien que les données précliniques obtenues avec la tubacine soient prometteuses, la haute lipophilie de ce composé n'a pas permis d'envisager des essais cliniques. Pour remédier à cette limitation, la tubastatine A, un dérivé de la tubacine, a été développée [14]. Parmi tous les inhibiteurs sélectifs de HDAC6, la tubastatine A est le composé le plus connu, le plus utilisé et le plus spécifique de HDAC6 par rapport aux autres HDACs. La tubastatine A a initialement été décrite pour son effet neuroprotecteur [15]. Depuis, son action protectrice a été démontrée dans différentes maladies neurodégénératives, neuromusculaires, inflammatoires, dans les cancers, les fibroses et les hypertensions artérielles. Malgré des résultats précliniques très prometteurs, ce composé s'est révélé avoir une biodisponibilité réduite limitant grandement son intérêt thérapeutique. En conclusion, la tubacine et la tubastatine A ne sont pas pour l'instant optimisées pour une administration orale et n'ont donc pas été testées dans des essais cliniques de phase I. À ce jour, parmi les nombreuses molécules capables d'inhiber sélectivement HDAC6, le ricolinostat (ACY-1215, rocilinostat) et le citarinostat (ACY-241) apparaissent comme les candidats médicaments les plus prometteurs et sont actuellement évalués dans des essais cliniques de phase I et II. Le ricolinostat est le premier inhibiteur sélectif de HDAC6 à générer des résultats prometteurs dans les essais cliniques. Cependant, malgré une très bonne tolérance [16], l'activité du ricolinostat en tant qu'agent unique est limitée et les combinaisons avec d'autres molécules thérapeutiques (non inhibitrices de HDAC6) se sont révélées plus efficaces. Le citarinostat est un dérivé du ricolinostat. Il est administrable par voie orale grâce à une meilleure solubilité que les autres inhibiteurs. Le ricolinostat et le citarinostat sont actuellement évalués en mono- et polythérapies dans des essais cliniques de phase I et II chez des patients atteints de cancers. Ils semblent potentialiser l'action des agents anticancéreux ce qui permet d'espérer qu'ils augmenteront le taux de guérison des patients qui présentent une forte expression de HDAC6 (*Tableau II*).

L'intérêt thérapeutique de l'inhibition de HDAC6 a également été investigué dans d'autres pathologies que le cancer. Des études ont montré que HDAC6 joue un rôle central dans les chondrodysplasies à membres courts causées par des mutations de *FGFR3* [17]. Dans cette étude préclinique, les auteurs montrent que le traitement avec des inhibiteurs de HDAC6 améliore la croissance osseuse. La tubastatine A a également des effets anti-inflammatoires et anti-rhumatismaux significatifs dans les modèles de polyarthrite rhumatoïde et participe ainsi à limiter la destruction des articulations via l'inhibition des voies de signalisation du TNF- α et de l'IL-6 [18].

Enfin, HDAC6 a également été proposée comme une cible pertinente dans les maladies neurodégénératives comme la sclérose latérale amyotrophique (SLA) [19]. La suppression de HDAC6 prolonge considérablement la survie des souris modèles de SLA et maintient l'intégrité des axones moteurs. À noter toutefois que l'inhibition de HDAC6 ne permet pas de retarder l'apparition des symptômes. D'autre part, le laboratoire de Ludo Van Den Bosch a examiné l'impact de l'inactivation de HDAC6 dans différents modèles murins de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) [15,20]. Ces modèles de souris CMTs reproduisent les symptômes humains qui affectent le transport axonal et diminuent les niveaux de tubuline acétylée. Ils montrent que l'hyperactivation de HDAC6 est associée aux CMTs et concluent que l'inhibition de HDAC6 améliore les déficits axonaux en préservant le transport axonal via les microtubules et en favorisant la réinnervation des muscles.

Rôle de l'inhibition de HDAC6 et de l'axe microtubule-HDAC6-paxilline dans la formation et le maintien de la jonction neuromusculaire

Comme décrit précédemment, l'inhibition de HDAC6 réduit, dans les CMT, la perte axonale et préserve les jonctions neuromusculaires. Les jonctions neuromusculaires (JNM) sont les synapses qui permettent la transmission de l'influx nerveux aux muscles pour contrôler leur contraction. Chez les vertébrés, la transmission synaptique s'effectue grâce à la libération d'acétylcholine par la terminaison nerveuse qui active les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (RACH) localisés dans la membrane musculaire. Lorsqu'ils lient l'acétylcholine, ces récepteurs initient la dépolarisation de la membrane musculaire qui va entraîner la contraction musculaire. Le réseau de microtubules joue un rôle important pour la stabilisation des jonctions neuromusculaires [21]. Les jonctions neuromusculaires hébergent une sous-population de microtubules stables et régulés par différentes modifications post-traductionnelles telles que la tyrosination et l'acétylation [22,23]. La région sous-synaptique des fibres musculaires produit activement les constituants de la membrane post-synaptique de la JNM. Ceci implique une activité importante de transport de vésicules entre l'appareil de Golgi et la membrane le long des microtubules et suggère l'implication de microtubules stables. En 2020, nous avons montré que HDAC6 est accumulée au niveau des jonctions neuromusculaires [24]. Cette accumulation de HDAC6 laisserait supposer une désacétylation et une déstabilisation globale des

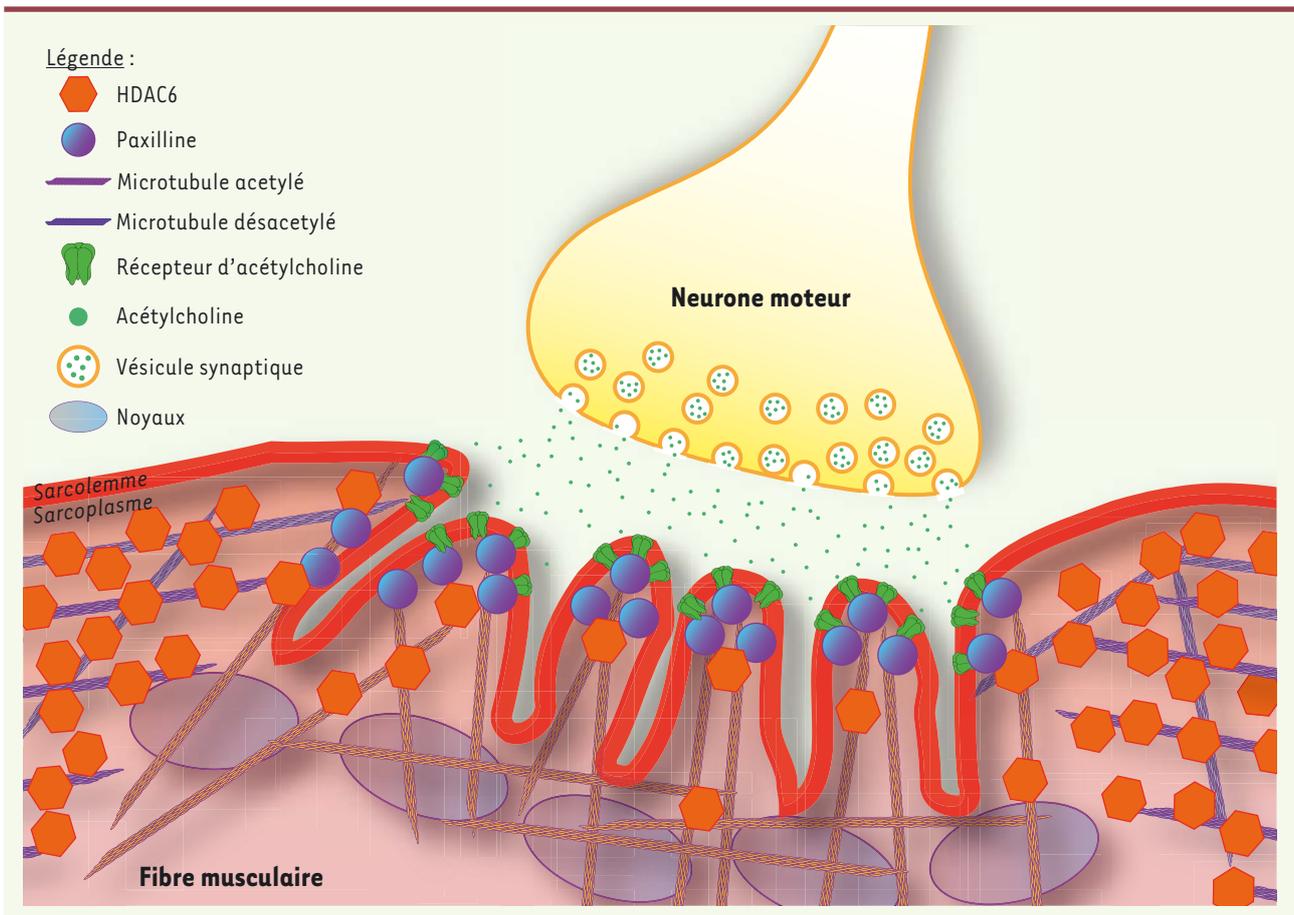


Figure 2. Organisation schématique d'une JNM. Inhibiteur endogène de HDAC6 (en orange), la paxilline (en bleu/violet) colocalise parfaitement avec les RACHs (en vert) au niveau des domaines synaptiques. La présence de la paxilline induit une diminution de l'activité de HDAC6 qui est suivie d'une hyperacétylation du réseau de microtubules (barres en violet). Il en résulte qu'à l'emplacement des RACHs, les microtubules sont stabilisés, ce qui favorise l'acheminement des RACHs et permet la formation d'une jonction neuromusculaire mature. À l'inverse, HDAC6 s'accumule aux JNM, seulement avec une distribution plus large que les RACHs. En absence de paxilline, HDAC6 peut davantage désacétyler les microtubules (barres bleu foncé).

microtubules de la jonction neuromusculaire. Il n'en est rien grâce à la présence de la paxilline, un inhibiteur endogène de HDAC6. À la JNM, la paxilline est parfaitement colocalisée avec le RACH alors que HDAC6 est distribuée de façon plus large (Figure 2). Il en résulte qu'à l'emplacement du RACH, HDAC6 est inhibée et que les microtubules sont acétylés, alors qu'ailleurs HDAC6 est active et désacétyle les microtubules. Ceci permet de créer un réseau de microtubules stables dirigés directement vers les molécules de RACH présentes dans la membrane en face des zones de libération de l'acétylcholine, tout en déstabilisant les microtubules qui ne sont pas dirigés vers ces zones.

HDAC6 étant impliquée dans la dégradation des protéines au cours de l'atrophie musculaire [12] et dans la stabilisation des JNM [24], nous avons traité avec la tubastatine A des souris modèles de la myopathie de Duchenne dans lesquelles on observe une atrophie des fibres musculaires et une fragmentation des JNM. Les souris injectées avec la tubastatine A pendant un mois montrent une réelle amélioration de la

masse et de la fonction musculaire, ainsi qu'une réduction significative de la fragmentation des JNM. L'inhibition de HDAC6 s'avère donc être une nouvelle stratégie thérapeutique à explorer dans les myopathies [25].

Conclusion

Les microtubules étant au cœur de la vie de toutes les cellules, il n'est pas étonnant que l'inhibition de HDAC6 ait un impact dans une grande diversité de situations pathologiques. D'autant que nos travaux ont récemment montré que HDAC6 régule la signalisation du TGF- β en désacétylant le facteur Smad3. Cette nouvelle cible biologique de HDAC6 donne un éclairage nouveau sur les effets bénéfiques de l'inhibition de HDAC6 dans les maladies neuromusculaires, les cancers et les maladies inflammatoires.

La grande diversité de pathologies dans lesquelles l'inhibition de HDAC6 semble avoir un effet bénéfique interpelle et il ne faudrait pas voir les inhibiteurs de HDAC6 comme une panacée. HDAC6 apparaît de plus en plus comme une protéine modulatrice de processus biologiques divers et il est probable que l'utilisation clinique des inhibiteurs de HDAC6 s'avère surtout intéressante pour potentialiser l'action d'autres molécules thérapeutiques, comme ce que les études cliniques déjà réalisées suggèrent. ♦

SUMMARY

HDAC6, a very specific deacetylase with a potential therapeutic role

The cytoplasmic histone deacetylase 6 (HDAC6) is defined today as a new key player in the treatment of many diseases. Overexpression of HDAC6 was observed in a variety of diseases. Over the past ten years, plenty of new selective inhibitors of HDAC6 activity have been synthesized and characterized. Many studies have shown the high efficiency and beneficial effects of HDAC6 inhibitors in many diseases such as cancers, neurodegenerative, inflammatory, or neuromuscular diseases. The mechanisms of HDAC6 action that explain the benefit of its inhibition in various pathologies are still unknown. We have recently shown that HDAC6, via the regulation of the microtubule network, plays a role at the level of neuromuscular junctions by controlling acetylcholine receptor delivery. ♦

REMERCIEMENTS

Alexis Osseni remercie la SFM pour l'attribution du prix Impulsion 2021 pour l'ensemble de ses travaux de recherche, ainsi que l'AFM-Téléthon, l'Inserm, le CNRS, l'UCBL1 et les HCL qui soutiennent activement ses recherches.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Hook SS, Orian A, Cowley SM, et al. Histone deacetylase 6 binds polyubiquitin through its zinc finger (PAZ domain) and copurifies with deubiquitinating enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 13425-13430.
- Seigneurin-Berny D, Verdel A, Curtet S, et al. Identification of components of the murine histone deacetylase 6 complex: link between acetylation and ubiquitination signaling pathways. *Mol Cell Biol* 2001 ; 21 : 8035-8044.
- Boyault C, Zhang Y, Fritah S, et al. HDAC6 controls major cell response pathways to cytotoxic accumulation of protein aggregates. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 2172-2181.
- Hubbert C, Guardiola A, Shao R, et al. HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature* 2002 ; 417 : 455-458.
- Janke C, Bulinski JC. Post-translational regulation of the microtubule cytoskeleton: mechanisms and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011 ; 12 : 773-786.
- Kovacs JJ, Murphy PJM, Gaillard S, et al. HDAC6 regulates Hsp90 acetylation and chaperone-dependent activation of glucocorticoid receptor. *Mol Cell* 2005 ; 18 : 601-607.

- Bettica P, Petrini S, D'Oria V, et al. Histological effects of givinostat in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2016 ; 26 : 643-649.
- Consalvi S, Mozzetta C, Bettica P, et al. Preclinical studies in the mdx mouse model of duchenne muscular dystrophy with the histone deacetylase inhibitor givinostat. *Mol Med* 2013 ; 19 : 79-87.
- Minetti GC, Colussi C, Adami R, et al. Functional and morphological recovery of dystrophic muscles in mice treated with deacetylase inhibitors. *Nat Med* 2006 ; 12 : 1147-1150.
- Liu H, Yazdani A, Murray LM, et al. The Smn-independent beneficial effects of trichostatin A on an intermediate mouse model of spinal muscular atrophy. *PLoS One* 2014 ; 9 : e101225.
- Zhang Y, Kwon S, Yamaguchi T, et al. Mice lacking histone deacetylase 6 have hyperacetylated tubulin but are viable and develop normally. *Mol Cell Biol* 2008 ; 28 : 1688-1701.
- Ratti F, Ramond F, Moncollin V, et al. Histone deacetylase 6 is a FoxO transcription factor-dependent effector in skeletal muscle atrophy. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 4215-4224.
- Haggarty SJ, Koeller KM, Wong JC, et al. Domain-selective small-molecule inhibitor of histone deacetylase 6 (HDAC6)-mediated tubulin deacetylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 4389-4394.
- Butler KV, Kalin J, Brochier C, et al. Rational design and simple chemistry yield a superior, neuroprotective HDAC6 inhibitor, tubastatin A. *J Am Chem Soc* 2010 ; 132 : 10842-10846.
- Ydewalle C d', Krishnan J, Chihab DM, et al. HDAC6 inhibitors reverse axonal loss in a mouse model of mutant HSPB1-induced Charcot-Marie-Tooth disease. *Nat Med* 2011 ; 17 : 968-974.
- Amengual JE, Lue JK, Ma H, et al. First-in-Class Selective HDAC6 Inhibitor (ACY-1215) Has a Highly Favorable Safety Profile in Patients with Relapsed and Refractory Lymphoma. *Oncologist* 2021 ; 26 : 184-e366.
- Ota S, Zhou ZQ, Romero MP, et al. HDAC6 deficiency or inhibition blocks FGFR3 accumulation and improves bone growth in a model of achondroplasia. *Hum Mol Genet* 2016 ; 25 : 4227-4243.
- Vishwakarma S, Iyer LR, Muley M, et al. Tubastatin, a selective histone deacetylase 6 inhibitor shows anti-inflammatory and anti-rheumatic effects. *Int Immunopharmacol* 2013 ; 16 : 72-78.
- Taes I, Timmers M, Hersmus N, et al. Hdac6 deletion delays disease progression in the SOD1G93A mouse model of ALS. *Hum Mol Genet* 2013 ; 22 : 1783-1790.
- Mo Z, Zhao X, Liu H, et al. Aberrant GlyRS-HDAC6 interaction linked to axonal transport deficits in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 1007.
- Ralston E, Lu Z, Ploug T. The organization of the Golgi complex and microtubules in skeletal muscle is fiber type-dependent. *J Neurosci* 1999 ; 19 : 10694-10705.
- Jasmin BJ, Changeux JP, Cartaud J. Compartmentalization of cold-stable and acetylated microtubules in the subsynaptic domain of chick skeletal muscle fibre. *Nature* 1990 ; 344 : 673-675.
- Schmidt N, Basu S, Sladeczek S, et al. Agrin regulates CLASP2-mediated capture of microtubules at the neuromuscular junction synaptic membrane. *J Cell Biol* 2012 ; 198 : 421-437.
- Osseni A, Ravel-Chapuis A, Thomas JL, et al. HDAC6 regulates microtubule stability and clustering of AChRs at neuromuscular junctions. *J Cell Biol* 2020 ; 219.
- Osseni A, Ravel-Chapuis A, Scionti I, et al. Pharmacological inhibition of HDAC6 downregulates TGF- β via Smad2/3 acetylation and improves dystrophin-deficient muscles. 2022 ; 2022 : 13 : 7108.

TIRÉS À PART

A. Osseni



Tarifs d'abonnement m/s - 2022

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org



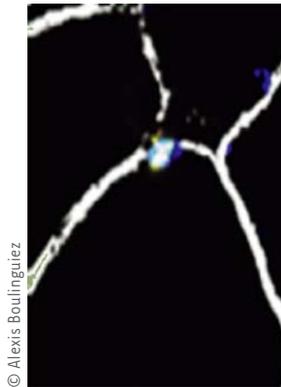
> La dystrophie musculaire oculopharyngée est une des maladies en rapport avec des expansions pathologiques de triplets nucléotidiques. Sa physiopathologie est encore imparfaitement connue même si la présence d'agrégats au niveau des noyaux de la fibre musculaire semble jouer un rôle déterminant. Les travaux fondamentaux présentés ici permettent de mieux comprendre leur composition et leur rôle délétère. Autant d'éléments qui pourraient déboucher sur des voies thérapeutiques nouvelles. <

La dystrophie musculaire oculopharyngée

La dystrophie musculaire oculopharyngée (DMOP) est une maladie génétique rare caractérisée par une expansion de triplets nucléotidiques. En France, sa prévalence est estimée à 1/100 000 alors qu'elle est beaucoup plus élevée ailleurs du fait d'effets fondateurs comme dans la population du Québec (1/1 000) et dans la communauté juive-ouzbèke originaire de Boukhara et ayant migré en Israël (1/600). La DMOP est due à une expansion excessive de 11 à 18 triplets GCN (codant des alanines) située dans le premier exon du gène *PABPN1* codant la *poly(A)-binding protein nuclear 1* (Figure 1A) [1]. *PABPN1* est un facteur de polyadénylation ubiquitaire [2]. L'expansion anormale d'alanines dans le gène *PABPN1* conduit à l'apparition d'agrégats protéiques tubulofilamenteux dans les noyaux des muscles des patients atteints de DMOP [3,4] (Figure 1B). Cliniquement, les patients concernés par la DMOP présentent une faiblesse des muscles releveurs de la paupière supérieure conduisant à une chute des paupières (ptosis), un déficit des muscles pharyngés conduisant à des troubles de la déglutition (dysphagie), et une faiblesse progressive des muscles des membres proximaux [1]. La DMOP est une maladie autosomique dominante et la plupart des patients sont hétérozygotes. Les patients homozygotes sont eux plus sévèrement touchés et les patients hétérozygotes pour un allèle de grande taille (plus de 13 GCN) présentent généralement des symptômes plus précoces et plus sévères [5].

Les agrégats nucléaires dans la dystrophie musculaire oculopharyngée

Alexis Boulinguez, Fany Roth,
Hadidja Rose Mouigni, Gillian Butler-Browne,
Vincent Mouly, Capucine Trollet



Sorbonne Université-Inserm,
Centre de Recherche en Myologie,
Institut de Myologie,
Paris, France.
boulinguez.alexis@gmail.com

De nombreuses études ont émis l'hypothèse d'un rôle délétère des agrégats nucléaires qui seraient responsables de plusieurs types de perturbations tels que le dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome [6,7], l'altération de l'épissage des ARN messagers (ARNm) [8], l'apoptose [9] et le stress du réticulum endoplasmique [10]. De plus, il a été démontré que la réduction des agrégats nucléaires améliorerait le phénotype dans les modèles cellulaires et animaux de la DMOP [6,9-14]. Une approche thérapeutique prometteuse ciblant les agrégats via l'autophagie a déjà fait l'objet d'un essai clinique de phase II à base d'injections intraveineuses de tréhalose [15]. Malgré tous ces éléments encourageants, la contribution exacte de ces agrégats nucléaires à la maladie humaine reste peu claire. En effet, une étude récente chez la drosophile a mis en évidence une absence de corrélation entre le phénotype musculaire et l'agrégation de *PABPN1* [16]. De plus, certaines caractéristiques pathologiques observées dans la DMOP telles que l'altération de la fonction mitochondriale sont à priori à ce jour sans relation directe avec les agrégats de *PABPN1* [17].

Caractérisation des agrégats nucléaires dans la DMOP

Dans ce contexte, et afin de mieux caractériser les agrégats intranucléaires de *PABPN1* dans la DMOP, notre équipe a récemment mené une vaste étude [18] permettant la constitution et l'analyse d'une grande cohorte de 90 biopsies musculaires issues de 73 patients DMOP de



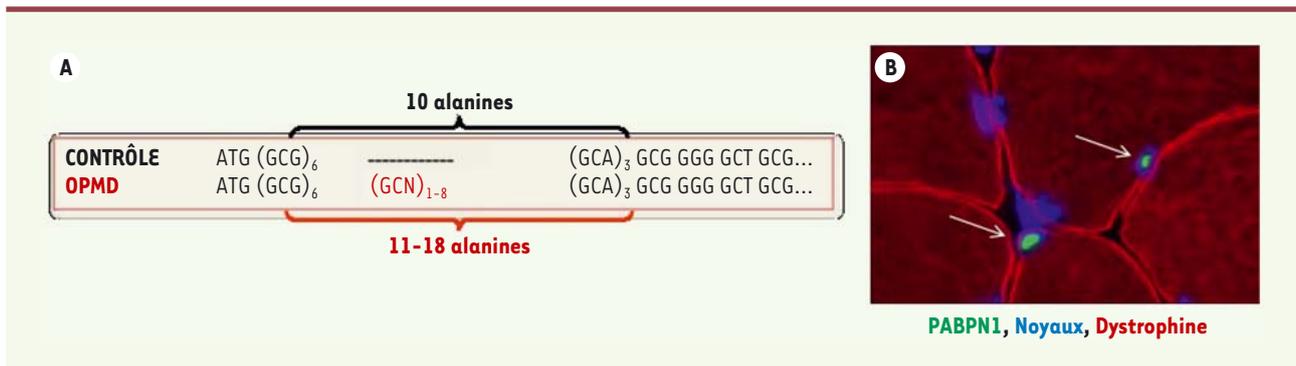


Figure 1. A. Expansion d'alanines dans le gène PABPN1. B. Agrégats nucléaires dans les muscles de patients DMOP.

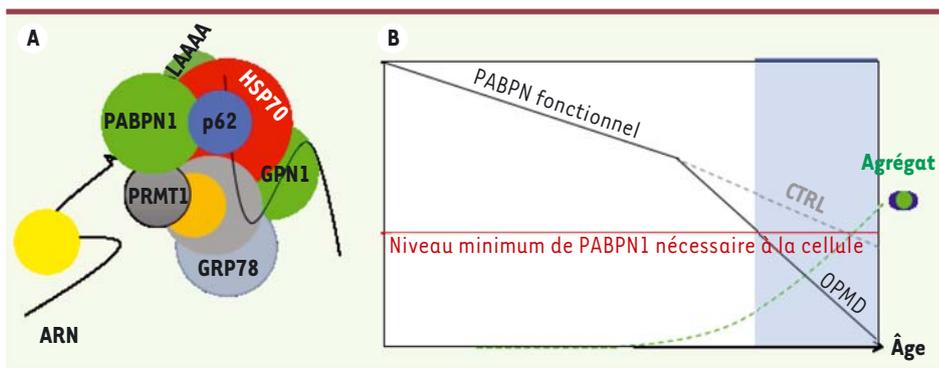


Figure 2. A. Agrégats de PABPN1 : un complexe ribonucléoprotéique. B. rôle toxique progressif des agrégats nucléaires conduisant à une perte de fonction.

génotypes et d'âges différents, et ce grâce à une collaboration internationale. Nous avons montré que l'âge et le génotype influencent les agrégats protéiques : le pourcentage de noyaux des fibres musculaires (ou *myonuclei*) contenant des agrégats PABPN1 augmente avec l'âge ; la protéine chaperonne HSP70 colocalise plus fréquemment avec les agrégats PABPN1 ayant une plus grande expansion de polyalanines. Nous savons depuis plusieurs années que les agrégats présents dans la DMOP sont de véritables complexes ribonucléoprotéiques contenant entre autres les protéines PRMT1 et HSP70 [19], de l'ubiquitine [20], et des ARNm [21]. Dans cette nouvelle étude, nous avons identifié des nouveaux composants des agrégats PABPN1 à savoir : la chaperonne principale du réticulum endoplasmique GRP78/BiP, la protéine ribosomale RPL24, et la protéine de l'autophagie p62 (ou SQSTM1, séquestome 1) (Figure 2A). Nous avons également observé que les *myonuclei* contenant des agrégats sont plus gros que ceux sans agrégats. Une proportion similaire d'agrégats est observée dans les différents muscles à l'exception du muscle pharyngé qui présente moins d'agrégats. Nous faisons l'hypothèse que cette faible proportion est due à la perte des fibres musculaires dans ces muscles pharyngés : le niveau d'expression de la protéine PABPN1 dans ces muscles est particulièrement faible par rapport aux autres muscles et autres tissus. Ce niveau faible combiné à l'accumulation d'agrégats qui séquestrent et donc déplètent le PABPN1 fonctionnel à l'intérieur de la fibre musculaire entraînent une dégénérescence de cette dernière. Pour confirmer cette hypothèse et étudier le statut des agrégats de PABPN1 dans une fibre en régénération, nous avons généré un modèle de xénogreffe de

muscle humain permettant de greffer des échantillons de biopsies de muscles humains DMOP dans le membre postérieur d'une souris immunodéficente. Les fibres musculaires DMOP humaines commencent par dégénérer puis, quelques mois après la xénogreffe, régénèrent. Les agrégats PABPN1 s'y reforment rapidement mais à un niveau moins élevé par rapport à la biopsie musculaire initiale. L'ensemble de nos données obtenues sur des biopsies musculaires provenant de patients atteints de DMOP (augmentation avec l'âge, séquestration de protéines essentielles) va dans le sens du modèle proposé par Apponi *et al.* [22] dans lequel les agrégats auraient un rôle toxique (en partie par séquestration) conduisant à une perte progressive de fonction (Figure 2B). Ce modèle expliquerait pourquoi la DMOP est une dystrophie musculaire d'apparition tardive affectant un ensemble bien spécifique de muscles qui sont caractérisés par leurs faibles niveaux d'expression de PABPN1.

Le stress du réticulum endoplasmique : une piste thérapeutique ?

Plus de quarante ans après la première description des agrégats nucléaires [4], vingt ans après l'identification de la cause génétique [1], et malgré l'accumulation des connaissances, il n'existe toujours pas, à ce jour, de

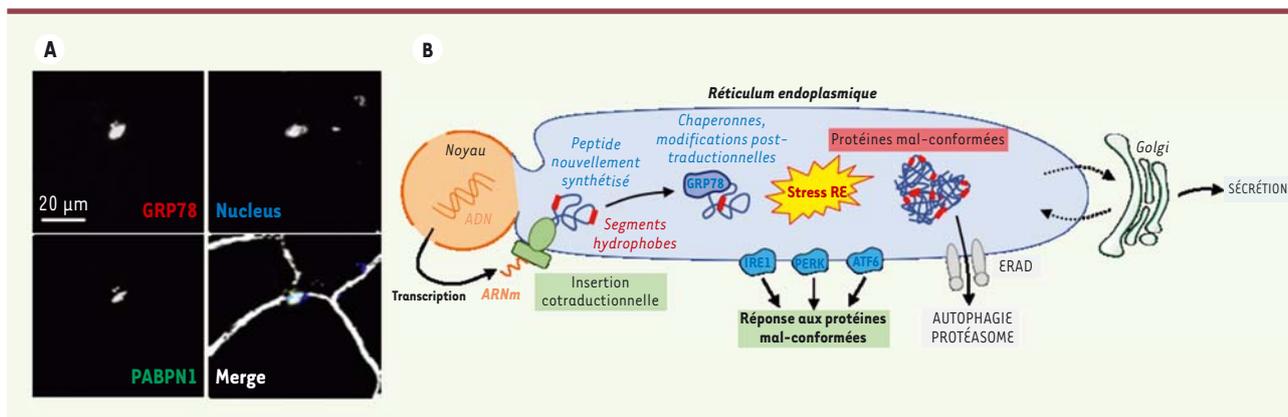


Figure 3. A. Séquestration de la chaperonne GRP78/BIP dans un agrégat nucléaire de PABPN1. B. Schéma du stress du réticulum endoplasmique.

traitement curatif pour la DMOP. Plusieurs approches cellulaires [23], géniques [24-26] et pharmacologiques [10,27] sont en cours d'étude à des stades pré-clinique et clinique. Aujourd'hui encore, cependant, les seules thérapies proposées aux patients sont des traitements symptomatiques destinés à améliorer la déglutition telle que la chirurgie par myotomie ou la dilatation cricopharyngée [28]. Ces interventions ont toutefois une efficacité limitée dans le temps. L'identification de nouvelles cibles thérapeutiques porteuses d'avenir est donc indispensable. Comme la protéine chaperonne Hsp70, la protéine GRP78/BIP est séquestrée dans les agrégats nucléaires de PABPN1 [18] (Figure 3A). GRP78 est la chaperonne principale du réticulum endoplasmique (RE) où elle se lie aux peptides nouvellement synthétisés et transloqués dans le RE pour les stabiliser et permettre l'acquisition de leur conformation [29]. Dans certaines conditions pathologiques telles que le cancer, GRP78 peut se délocaliser du RE et être retrouvé dans d'autres compartiments cellulaires [30]. On ne sait pas si la délocalisation de GRP78 en dehors du RE pourrait minorer la quantité de GRP78 présente dans le RE ou affecter la capacité de conformation du RE.

De manière intéressante, GRP78 est un acteur clé de la réponse aux protéines mal-conformées (ou UPR pour *Unfolded Protein Response*) (Figure 3B) [31]. En effet, à l'homéostasie, une proportion du GRP78 est fixée sur les trois protéines transmembranaires du réticulum : IRE1, PERK et ATF6. Divers stress cellulaires (redox, calcique) ou conditions physiopathologiques (vieillesse, maladie) peuvent rompre l'homéostasie protéique (protéostase) et conduire à l'accumulation de protéines mal-conformées dans la lumière du RE. En réaction, la fraction de GRP78 fixée aux trois senseurs transmembranaires du RE se détache pour augmenter la capacité de conformation de ce dernier. Ceci entraîne l'activation des trois voies de signalisation qui composent l'UPR ; les protéines IRE1, PERK et ATF6 vont conduire à diverses adaptations visant à rétablir la protéostase du RE : arrêt de la traduction protéique, synthèse de chaperonnes, dégradation des protéines mal-conformées etc. La délocalisation de la protéine GRP78 en dehors du RE pourrait ainsi impacter, chez les patients DMOP, la capacité du RE à répondre à un stress du RE. Nous avons montré l'existence d'un stress réticulaire chronique dans les muscles de la souris A17, modèle murin de la DMOP [10]. De plus, un traitement au guanabenz acétate, via l'amélioration

de la réponse UPR [32], réduit les agrégats nucléaires et améliore le phénotype et la fonction musculaire des souris A17 [10]. À ce jour, l'existence d'un stress réticulaire ou la pertinence d'une telle stratégie thérapeutique chez l'homme reste à démontrer. Le RE est le siège de la conformation des protéines résidentes du RE et des protéines de la voie sécrétoire. À ce titre, le RE participe à la protéostase cellulaire globale. Celle-ci implique de nombreux acteurs (protéines chaperonnes, modifications post-traductionnelles) et systèmes de régulation (systèmes autophagie-lysosome et ubiquitine-protéasome) qui sont décrits comme étant dérégulés dans les muscles des patients DMOP [6,7,33]. Ainsi, le développement et l'utilisation de drogues pouvant pallier simultanément les différentes défaillances de la protéostase pourraient s'avérer être une stratégie thérapeutique de premier plan dans la DMOP. ♦

SUMMARY

Nuclear aggregates in oculopharyngeal muscular dystrophy

Oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) is one of the diseases related to pathological expansions of trinucleotides. Its pathogenesis remains unclear although the presence of aggregates within the nuclei of the muscle fiber seems to play an important role. The basic research studies presented here help understand their composition and their deleterious role. These elements may result in new therapeutic avenues. ♦

REMERCIEMENTS

Le premier auteur de l'article, Alexis Boulinguiez, tient à remercier chaleureusement le jury du congrès Myology 2022 organisé par l'AFM-Téléthon à Nice, pour l'attribution du Prix « Jeune Chercheur ». Ses remerciements vont aussi à l'AFM-Téléthon, à l'Inserm, à Sorbonne Université et à l'Institut de Myologie qui soutiennent ce projet.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Brais B, Bouchard JP, Xie YG, et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet* 1998 ; 18 : 164-167.
2. Banerjee A, Apponi LH, Pavlath GK, et al. PABPN1: Molecular function and muscle disease. *FEBS J* 2013 ; 280 : 4230-4250.
3. Gidaro T, Negroni E, Perié S, et al. Atrophy, fibrosis, and increased PAX7-positive cells in pharyngeal muscles of oculopharyngeal muscular dystrophy patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2013 ; 72 : 234-243.
4. Tomé FM, Fardeau M. Nuclear inclusions in oculopharyngeal dystrophy. *Acta Neuropathol* 1980 ; 49 : 85-87.
5. Richard P, Trollet C, Stojkovic T, et al. Correlation between PABPN1 genotype and disease severity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neurology* 2017 ; 88 : 359-365.
6. Abu-Baker A, Messaëd C, Laganier J, et al. Involvement of the ubiquitin-proteasome pathway and molecular chaperones in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2003 ; 12 : 2609-2623.
7. Anvar SY, Hoen PA 't, Venema A, et al. Dereglulation of the ubiquitin-proteasome system is the predominant molecular pathology in OPMD animal models and patients. *Skelet Muscle* 2011 ; 1 : 15.
8. Chartier A, Klein P, Pierson S, et al. Mitochondrial Dysfunction Reveals the Role of mRNA Poly(A) Tail Regulation in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy Pathogenesis. *PLoS Genet* 2015 ; 11.
9. Marie-Josée Sasseville A, Caron AW, Bourget L, et al. The dynamism of PABPN1 nuclear inclusions during the cell cycle. *Neurobiol Dis* 2006 ; 23 : 621-629.
10. Malerba A, Roth F, Harish P, et al. Pharmacological modulation of the ER stress response ameliorates oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2019 ; 10 : 1694-1708.
11. Abu-Baker A, Laganier S, Fan X, et al. Cytoplasmic targeting of mutant poly(A)-binding protein nuclear 1 suppresses protein aggregation and toxicity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Traffic* 2005 ; 6 : 766-779.
12. Bao YP, Sarkar S, Uyama E, et al. Congo red, doxycycline, and HSP70 overexpression reduce aggregate formation and cell death in cell models of oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 47-51.
13. Davies JE, Rubinsztein DC. Over-expression of BCL2 rescues muscle weakness in a mouse model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2011 ; 20 : 1154-1163.
14. Fan X, Dion P, Laganier J, et al. Oligomerization of polyalanine expanded PABPN1 facilitates nuclear protein aggregation that is associated with cell death. *Hum Mol Genet* 2001 ; 10 : 2341-2351.
15. Argov Z, Gliko-Kabir I, Brais B, et al. Intravenous trehalose improves dysphagia and muscle function in oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD): preliminary results of 24 weeks open label phase 2 trial (S28.004). *Neurology* 2016 ; 86.
16. Ribot C, Soler C, Chartier A, et al. Activation of the ubiquitin-proteasome system contributes to oculopharyngeal muscular dystrophy through muscle atrophy. *PLoS Genet* 2022 ; 18 : e1010015.
17. Vest KE, Phillips BL, Banerjee A, et al. Novel mouse models of oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) reveal early onset mitochondrial defects and suggest loss of PABPN1 may contribute to pathology. *Hum Mol Genet* 2017 ; 26 : 3235-3252.
18. Roth F, Dhiab J, Boulinguez A, et al. Assessment of PABPN1 nuclear inclusions on a large cohort of patients and in a human xenograft model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropathol* 2022 ; (in press).
19. Tavanez JP, Bengoechea R, Berciano MT, et al. Hsp70 chaperones and type I PRMTs are sequestered at intranuclear inclusions caused by polyalanine expansions in PABPN1. *PLoS One* 2009 ; 4 : e6418.
20. Calado A, Tomé FM, Brais B, et al. Nuclear inclusions in oculopharyngeal muscular dystrophy consist of poly(A) binding protein 2 aggregates which sequester poly(A) RNA. *Hum Mol Genet* 2000 ; 9 : 2321-2328.
21. Klein P, Oloko M, Roth F, et al. Nuclear poly(A)-binding protein aggregates misplace a pre-mRNA outside of SC35 speckle causing its abnormal splicing. *Nucleic Acids Res* 2016 ; 44 : 10929-10945.
22. Apponi LH, Corbett AH, Pavlath GK. Control of mRNA stability contributes to low levels of nuclear poly(A) binding protein 1 (PABPN1) in skeletal muscle. *Skeletal Muscle* 2013 ; 3 : 23.
23. Périé S, Trollet C, Mouly V, et al. Autologous myoblast transplantation for oculopharyngeal muscular dystrophy: a phase I/IIa clinical study. *Mol Ther* 2014 ; 22 : 219-225.
24. Malerba A, Klein P, Lu-Nguyen N, et al. Established PABPN1 intranuclear inclusions in OPMD muscle can be efficiently reversed by AAV-mediated knockdown and replacement of mutant expanded PABPN1. *Hum Mol Genet* 2019 ; 28 : 3301-3308.
25. Malerba A, Klein P, Bachtarzi H, et al. PABPN1 gene therapy for oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 14848.
26. Strings-Ufombah V, Malerba A, Kao S-C, et al. BB-301: a silence and replace AAV-based vector for the treatment of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Mol Ther Nucleic Acids* 2021 ; 24 : 67-78.
27. Davies JE, Sarkar S, Rubinsztein DC. Trehalose reduces aggregate formation and delays pathology in a transgenic mouse model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2006 ; 15 : 23-31.
28. Trollet C, Boulinguez A, Roth F, et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy. In : Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA) : University of Washington, Seattle, 1993 :
29. Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2005 ; 62 : 670-684.
30. Ni M, Zhang Y, Lee AS. Beyond the endoplasmic reticulum: atypical GRP78 in cell viability, signaling and therapeutic targeting. *Biochem J* 2011 ; 434 : 181-188.
31. Boulinguez A, Staels B, Duez H, et al. Mitochondria and endoplasmic reticulum: targets for a better insulin sensitivity in skeletal muscle? *Biochim Biophys Acta* 2017 ; 9 : 901-916.
32. Wang L, Popko B, Tixier E, et al. Guanabenz, which enhances the unfolded protein response, ameliorates mutant SOD1-induced amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis* 2014 ; 71 : 317-324.
33. Raz V, Dickson G, Hoen PAC 't. Dysfunctional transcripts are formed by alternative polyadenylation in OPMD. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 73516-73528.

TIRÉS À PART

A. Boulinguez

Retrouvez toutes les Actualités de la Myologie
sur les sites de :

la Société Française de Myologie

www.sfmyologie.org

la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS

www.filnemus.fr



Les maladies neuromusculaires à début néonatal ou périnatal sont généralement très sévères. Leur diagnostic requiert une méthodologie rigoureuse afin de déterminer le plus rapidement possible la cause de la maladie et contribuer ainsi à établir le pronostic vital qui en découle. Les myopathies congénitales sévères associées ou non à une akinésie, à des malformations ou à une arthrogrypose, sont des pathologies très hétérogènes, le plus souvent avec des symptômes qui apparaissent généralement avant la naissance (hydramnios, hypomobilité fœtale, etc.). De nombreux gènes appartenant à plusieurs groupes de maladies neuromusculaires sont à l'origine de ces myopathies sévères à révélation très précoce.

L'étude de la biopsie musculaire en période néonatale est souvent motivée par la gravité extrême du tableau clinique et par les renseignements, plus ou moins spécifiques, qu'elle est en mesure d'apporter. En effet, cette analyse a pour but de rechercher ou de valider un diagnostic précis, voire une étiologie moléculaire donnée. Les résultats de cette étude aident également à envisager l'évolution prévisible de la maladie au cours de cette période néonatale et immédiatement après.

Dans le cadre d'une étude rétrospective, nous avons repris l'ensemble des biopsies musculaires réalisées en période néonatale élargie et analysées dans un même centre du GHU Pitié-Salpêtrière à Paris (d'abord dans les unités Inserm 153 et 523 du Pr Michel Fardeau, puis dans l'Unité de Morphologie Neuromusculaire de l'Institut de Myologie du Dr Norma B. Romero) de 1970 à 2021 inclus (soit sur une période de cinquante-deux ans).

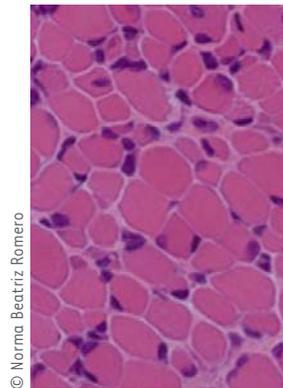
Les objectifs assignés à l'étude étaient les suivants :

- Estimer la fréquence des différentes maladies neuromusculaires rencontrées chez les patients en période néonatale.
- Évaluer la pertinence de l'analyse d'une biopsie musculaire chez ces nourrissons pour établir un diagnostic précis de la maladie, ainsi qu'une orientation sur les investigations complémentaires à effectuer, le pronostic et la prise en charge.
- Apprécier l'importance et l'intérêt de l'étude « systématique » en microscopie électronique, en particulier pour les myopathies congénitales.
- Déterminer la pertinence et la justesse des analyses morphologiques dans l'orientation des études moléculaires.

Biopsie musculaire en période néonatale et périnatale

Une évaluation rétrospective de 535 cas

Norma Beatriz Romero, Mai Thao Bui



© Norma Beatriz Romero

Unité de Morphologie Neuromusculaire, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier-Universitaire Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France.
nb.romero@institut-myologie.org

- Apprécier la contribution apportée par les études morphologiques dans la validation ou la rectification de ces étiologies.

Matériel et méthodes

Sur plus de 600 biopsies musculaires de nourrissons âgés de 0 à 6 mois de vie reçues pour analyses, 535 ont été sélectionnées pour cette étude. Les nouveau-nés avaient au minimum un âge gestationnel de 21 semaines. Les autres cas n'ont pas été retenus du fait de l'absence d'informations complémentaires et/ou de mauvaises conditions de prélèvement ne permettant pas d'effectuer des analyses pertinentes.

Toutes les biopsies musculaires étaient chirurgicales, requérant des gestes très précis et délicats accomplis par des professionnels expérimentés. Elles ont été prélevées, pour la plupart, sur les muscles quadriceps et deltoïde. Il s'agissait plus rarement d'autres sites de prélèvement comme les muscles biceps brachial, jambier antérieur ou grand droit. L'interprétation des anomalies musculaires sur les échantillons de ces nourrissons tenait bien évidemment en compte de l'âge gestationnel du bébé. Ceci a permis d'avoir une évaluation précise du développement musculaire du patient au moment de la biopsie, comme la présence de centralisations nucléaires et/ou la persistance de fibres B de Wohlfart [1].

La cohorte de 535 nourrissons est composée de 54 % de garçons et de 46 % de filles.



Les cas ont été classés en tenant compte des différents domaines/tableaux cliniques afin de faciliter l'interprétation des résultats et leur corroboration avec les hypothèses diagnostiques formulées avant la biopsie musculaire. Les données cliniques, biologiques et moléculaires ont été rétrospectivement analysées.

Deux groupes ont été constitués : le premier groupe correspond à des patients étudiés entre 1970 et 1999, le deuxième groupe comprend ceux analysés entre 2000 et 2021. Le choix de deux périodes distinctes est justifié par l'évolution des techniques de biologie moléculaire à visée diagnostique, soit par séquençage Sanger, soit en NGS (*next-generation-sequencing*) sous forme de panels de gènes ou d'exome entier.

Pour quelques cas appartenant au premier groupe, l'identification du défaut moléculaire a pu être réalisée rétrospectivement. En revanche, pour les cas plus récents (deuxième groupe), l'étude moléculaire a été réalisée chaque fois que cela était possible. Cette démarche d'analyse des deux groupes consécutifs nous a permis de réaliser de façon plus fiable, la confirmation ou l'infirmité des hypothèses diagnostiques formulées au moment de la biopsie musculaire.

Les patients ont été ensuite classés selon deux critères :

- Un critère clinique reprenant les principaux éléments du tableau clinique.

- Un critère morphologique établi lors de l'étude histoenzymologique.

Pour le premier critère, nous avons proposé une classification selon le phénotype clinique des différents patients. Cette classification a été établie pour faciliter l'interprétation des résultats des analyses de la biopsie musculaire et effectuer une corroboration avec les hypothèses diagnostiques initiales.

Critère clinique

Tous les patients présentaient une hypotonie majeure généralisée comme symptôme principal, le plus souvent en association avec une amyotrophie. La notion d'une atteinte respiratoire et/ou d'une dépendance à une assistance respiratoire a également été prise en compte. Cinq groupes, avec deux sous-groupes pour le premier d'entre eux, ont ainsi été définis :

- Groupe 1 : hypotonie globale majeure et amyotrophie, comprenant un sous-groupe 1A (avec ou sans assistance respiratoire) et un sous-groupe 1B (avec arthrogrypose et/ou dysmorphie/malformations - avec ou sans assistance respiratoire)

- Groupe 2 : hypotonie globale et amyotrophie avec atteinte multi-systémique (hyperlactacidémie, cytolysé hépatique)

- Groupe 3 : hypotonie globale et amyotrophie avec cardiomyopathie

- Groupe 4 : hypotonie globale et amyotrophie avec élévation des créatines-phosphokinases (CPK)

- Groupe 5 : hypotonie globale et amyotrophie avec atteinte du système nerveux central au premier plan

Critère morphologique

La classification morphologique a été établie à partir des observations de la biopsie musculaire. Nous avons étudié les prélèvements musculaires de façon assez homogène avec la réalisation systématique d'un

large panel de techniques histologiques et histo-enzymologiques (Figure 1).

Une étude en microscopie électronique a pu être envisagée chaque fois que l'on disposait d'un prélèvement spécifique fixé dans de bonnes conditions.

À la suite de ces études morphologiques, plusieurs groupes de maladies musculaires ou d'anomalies ont été identifiés :

- Myopathies congénitales (myopathie congénitale structurales et myopathies congénitales sans anomalies spécifiques).

- Maladies musculaires métaboliques.

- Maladies du nerf périphérique, du motoneurone et de la jonction neuromusculaire (JNM).

- Dystrophies musculaires (BM : DM Congénitale & DM Progressive).

- Lésions inflammatoires.

- Anomalies peu significatives.

- Muscles sans anomalies morphologiques.

Analyse des données

Un recensement de la totalité des 535 cas a été effectué en fonction du tableau clinique prévalant au moment de la demande de la biopsie musculaire, et en fonction des critères morphologiques identifiés. Un pourcentage a été calculé pour chaque présentation clinique et pour chaque critère morphologique. Ces données sont représentées dans les Figures 2 et 3.

Environ 43 % des biopsies analysées correspondaient à un pattern morphologique évoquant des erreurs innées du métabolisme. On trouve ensuite, par ordre de fréquence, les myopathies congénitales puis les lésions musculaires par atteinte du nerf périphérique, du motoneurone ou de la JNM. Dans le groupe des myopathies congénitales qui représente environ 20 % des cas, 17 % correspondent aux myopathies congénitales structurales et 3 % s'apparentent à des myopathies congénitales plus rares, sans lésions spécifiques, mais dont le tableau pouvait parfois faire évoquer des anomalies du développement.

Les autres groupes étaient moins représentés : 8 % correspondaient à des dystrophies musculaires, dont des DM progressives ou congénitales et 1 % seulement à des lésions inflammatoires importantes.

Deux autres groupes ressortent du lot : l'un correspondant à celui où les anomalies observées sont peu évocatrices d'un diagnostic morphologique particulier (10 %), et l'autre regroupant des cas de biopsies de muscle sans anomalie histologique ou histoenzymologique observée au moment de l'analyse (8 %), ce

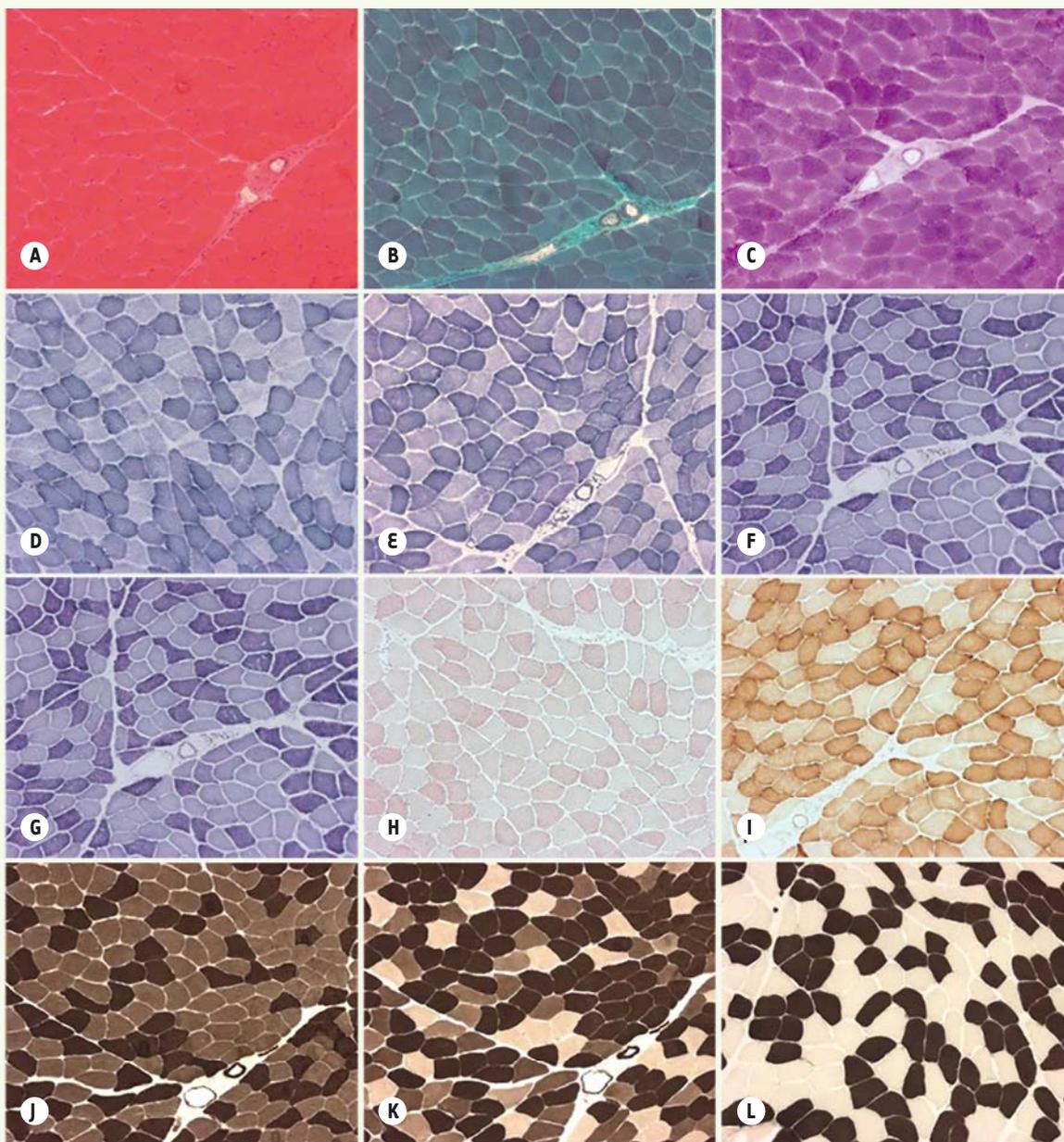


Figure 1. Panel de techniques cytochimiques et histo-enzymologiques effectué à partir d'un prélèvement de muscle chez un patient contrôlé âgé de 1 mois. **A** : La coloration Haematoxyline - éosine (HE) permet d'observer la structure générale de la biopsie : taille et bord des fibres, position des noyaux. Il peut être observé de la fibrose, de l'inflammation, du nerf et des vaisseaux sanguins. **B** : Le Trichrome de Gomori (TG) permet de visualiser le contingent mitochondrial dans les fibres. Il peut être observé des fibres de type Ragged Red Fiber, des vacuoles bordées, des inclusions telles que des bâtonnets, corps cytoplasmiques, corps réducteurs et des agrégats tubulaires. **C** : Le PAS montre la distribution du glycogène dans les fibres musculaires. **D** : La SDH montre l'activité du complexe 2 de la chaîne respiratoire mitochondriale. **E** : La NADH-TR (enzyme présente dans les mitochondries, le réticulum sarcoplasmique et les tubules T) permet d'apprécier l'aspect du réseau intermyofibrillaire. **F** : La MENAD montre l'aspect du réseau intermyofibrillaire. Il peut être observé des inclusions granulaires et des corps réducteurs. **G** : La phosphorylase avec ou sans AMP permet de voir la présence ou l'absence d'activité liée aux maladies glycogéniques. **H** : L'ORO met en évidence la distribution des lipides à l'intérieur des fibres musculaires. **I** : La COX montre l'activité du complexe 4 de la chaîne respiratoire mitochondriale, partiellement codée par l'ADN mitochondrial. **J** : L'ATPase à pH 9,4 permet d'observer les fibres musculaires de type 1 (fibres de type lent et résistant, de couleur claire) et de type 2 (fibres de type rapide, de couleur foncée). **K** : L'ATPase à pH 4,63 permet de voir les fibres musculaires de type 1 (de couleur foncée), de type 2a (fibres de type rapide et résistant, de couleur intermédiaire) et de type 2b (fibres de type rapide et peu résistant, de couleur claire). **L** : L'ATPase à pH 4,35 permet de distinguer les fibres de type 1 (de couleur foncée), de type 2 (de couleur claire) et parfois de type 2c (fibres en régénération, de couleur intermédiaire).

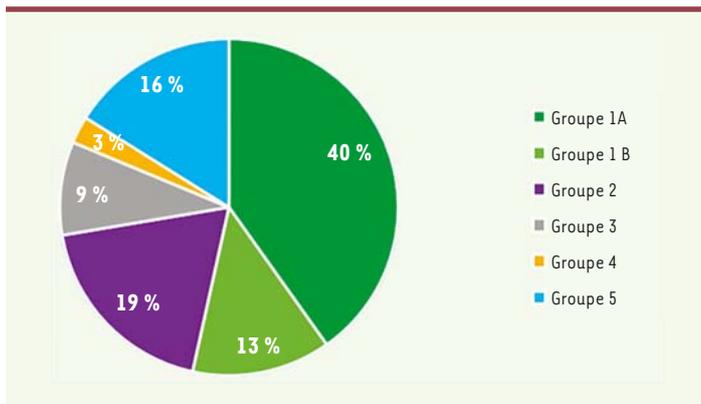


Figure 2. Distribution (en %) des présentations cliniques des 535 cas selon les cinq groupes définis.

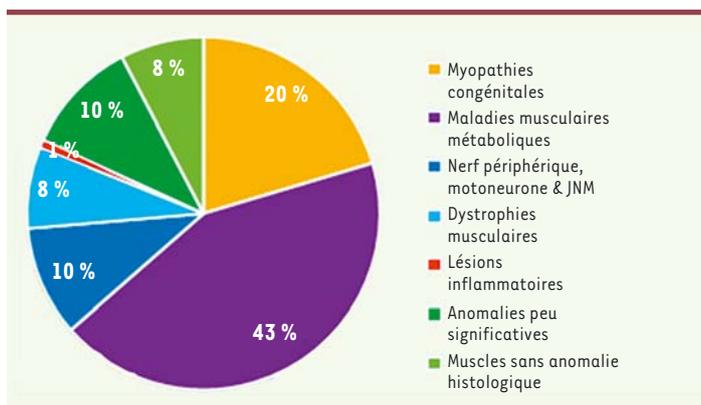


Figure 3. Distribution (en %) des 535 cas étudiés selon les groupes de pathologies ou d'anomalies retrouvées.

qui correspondrait à des muscles considérés comme « normaux » et pouvant être utilisés comme contrôle.

La répartition des aspects histologiques de cette grande cohorte en fonction des deux périodes étudiées (248 cas pour la période 1970-1999 et 287 cas pour la période 2000-2021) est représentée dans les Figures 4 et 5.

Pour la première période, il existe un pourcentage de 32 % correspondant aux anomalies liées aux maladies musculaires métaboliques, contre environ 18 % de lésions avec une myopathie congénitale et 17 % des lésions compatibles à une atteinte du nerf périphérique, du motoneurone ou de la JNM.

Dans la seconde période, la prépondérance des maladies musculaires métaboliques pourrait être en partie expliquée par l'étroite collaboration que le laboratoire avait établie à l'époque avec les équipes parisiennes dédiées à l'étude des erreurs innées du métabolisme, en l'occurrence celle de l'hôpital Necker Enfants malades et celle de l'hôpital Robert Debré. Ces différents hôpitaux nous ont confié systématiquement les échantillons musculaires de l'ensemble des patients qu'ils avaient étudiés, dans un premier temps pour les analyses enzymatiques du muscle et dans un second temps pour les analyses moléculaires complémentaires. Cette étude morphologique systéma-

tique de la biopsie musculaire de patients avec atteinte métabolique s'est interrompue en 2017. Actuellement, de telles demandes restent sporadiques, les investigations moléculaires ayant pris le pas sur la biopsie musculaire, celle-ci étant prescrite plutôt en seconde intention et si nécessaire.

Les biopsies en faveur d'une atteinte du nerf périphérique ou du motoneurone ont été beaucoup plus fréquentes dans la première période, environ 17 % contre 4 % dans la seconde. Ceci est en rapport direct avec la mise en place de l'étude moléculaire du gène *SMN1* qui a bouleversé l'ordre de priorité des examens complémentaires pour le diagnostic positif de l'amyotrophie spinale infantile. Le diagnostic moléculaire de cette pathologie génétique est facilement réalisable dans la plupart des différents établissements hospitaliers et la biopsie musculaire n'est plus demandée en première intention dans cette indication. On observe le même phénomène pour les dystrophies musculaires : le nombre de cas de patients présentant une dystrophie musculaire et pour lesquels une biopsie musculaire a été demandée était moindre durant la seconde période de l'étude.

On constate également une importante différence du nombre de cas dans les deux périodes, dans le groupe « sans anomalie histologique » dont l'étude morphologique n'a pas apporté d'élément évocateur d'un diagnostic. En effet, au cours de la première période environ trois fois plus de biopsies étaient normales par rapport à la seconde période (12 % versus 4 %).

Les informations des différents groupes cliniques avec celles de patterns morphologiques ont été croisées a posteriori (Figure 6).

Les tableaux cliniques classés 1A et 1B se sont révélés majoritaires dans plusieurs groupes morphologiques. En effet, l'hypotonie majeure et l'amyotrophie avec ou sans atteinte respiratoire, associées ou non à une arthrogrypose, sont des symptômes observés plus particulièrement dans les myopathies congénitales, les atteintes du motoneurone, les dystrophies musculaires et les biopsies sans anomalie histologique.

Par ailleurs, nous avons observé que dans le cadre des maladies musculaires métaboliques, la présentation clinique avec des atteintes multisystémiques était la plus fréquente. Néanmoins, les tableaux cliniques sont assez variés dans ce groupe : par exemple, une atteinte du système nerveux central et éventuellement une atteinte hypotonique seule.

Concernant le groupe des dystrophies musculaires, il était attendu que le tableau clinique 4, dont les symptômes sont l'hypotonie générale et l'amyotrophie avec élévation des CPK, soit majoritaire. Malheureusement, nous n'avons pas obtenu dans nos archives l'information

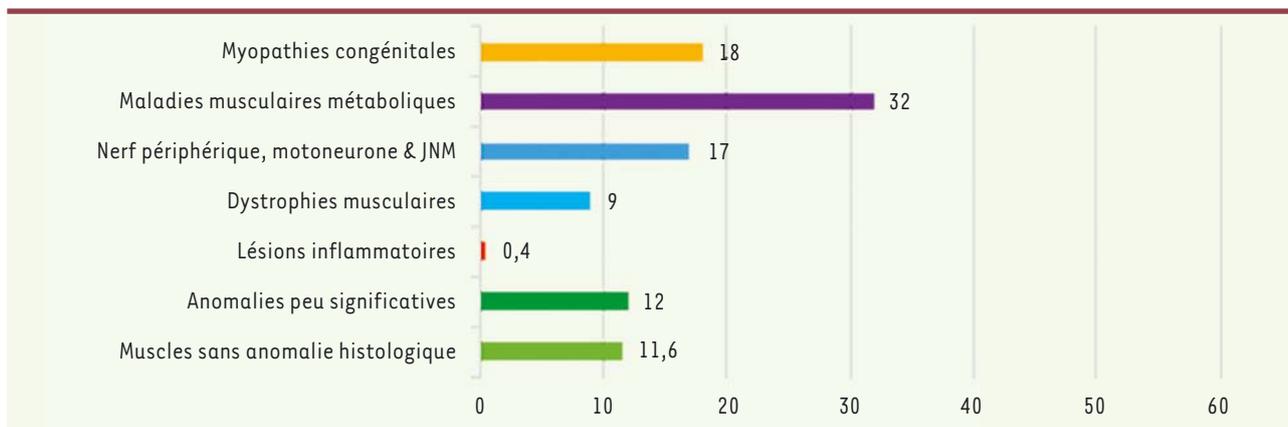


Figure 4. Distribution (en %) des maladies ou lésions histologiques correspondant à la période 1970-1999 (248 cas).

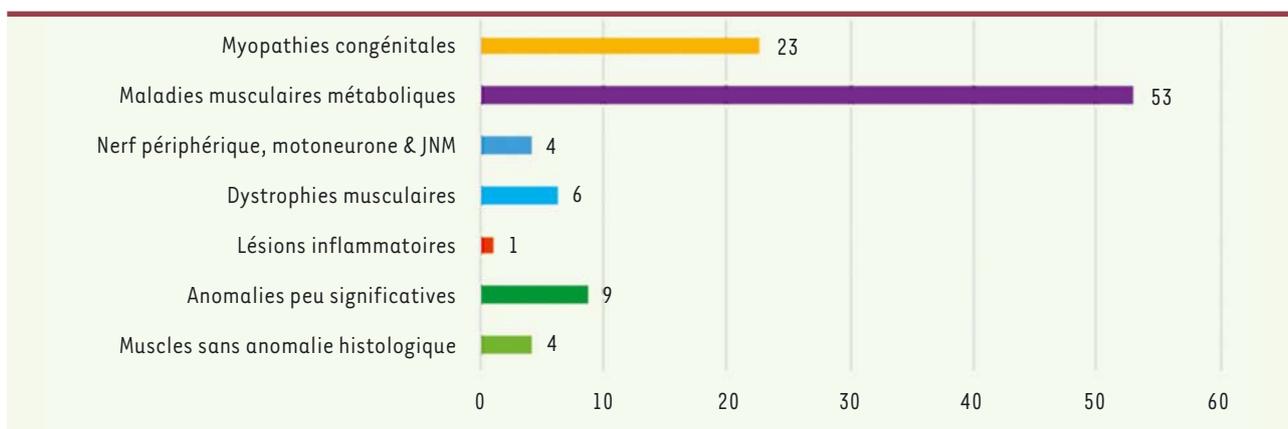


Figure 5. Distribution (en %) des maladies ou lésions histologiques correspondant à la période 2000-2021 (287 cas).

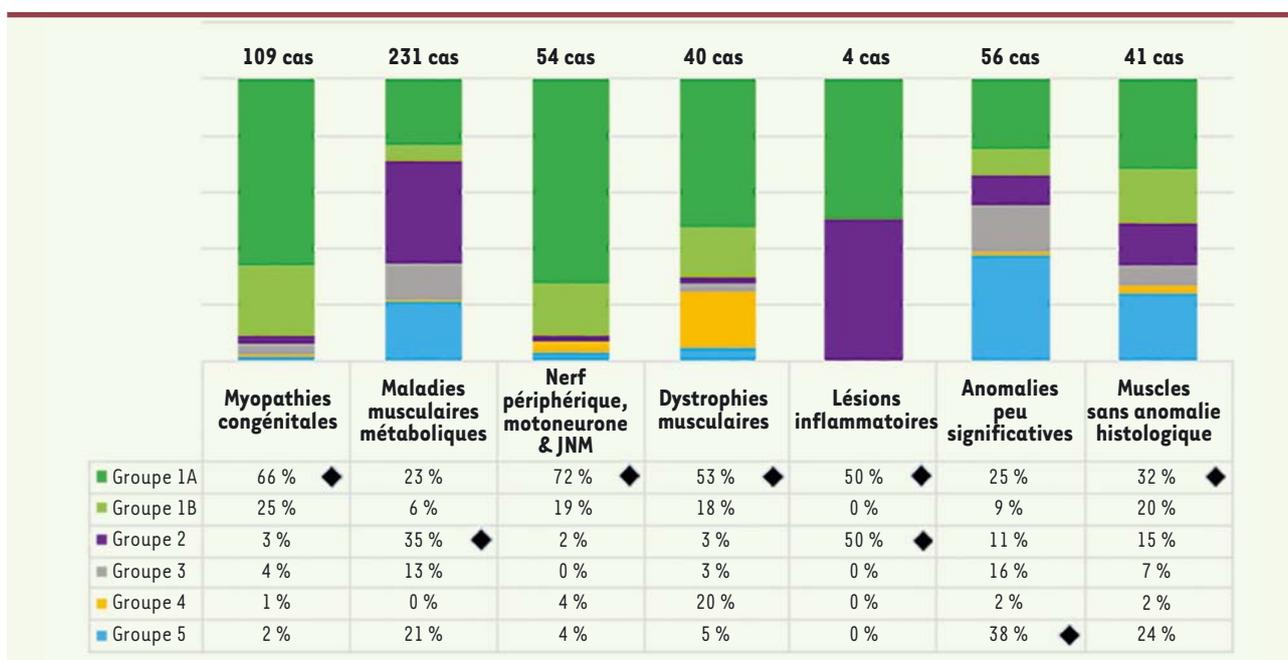


Figure 6. Répartition (en %) des tableaux cliniques en fonction des groupes morphologiques (sur la totalité des 535 cas étudiés).

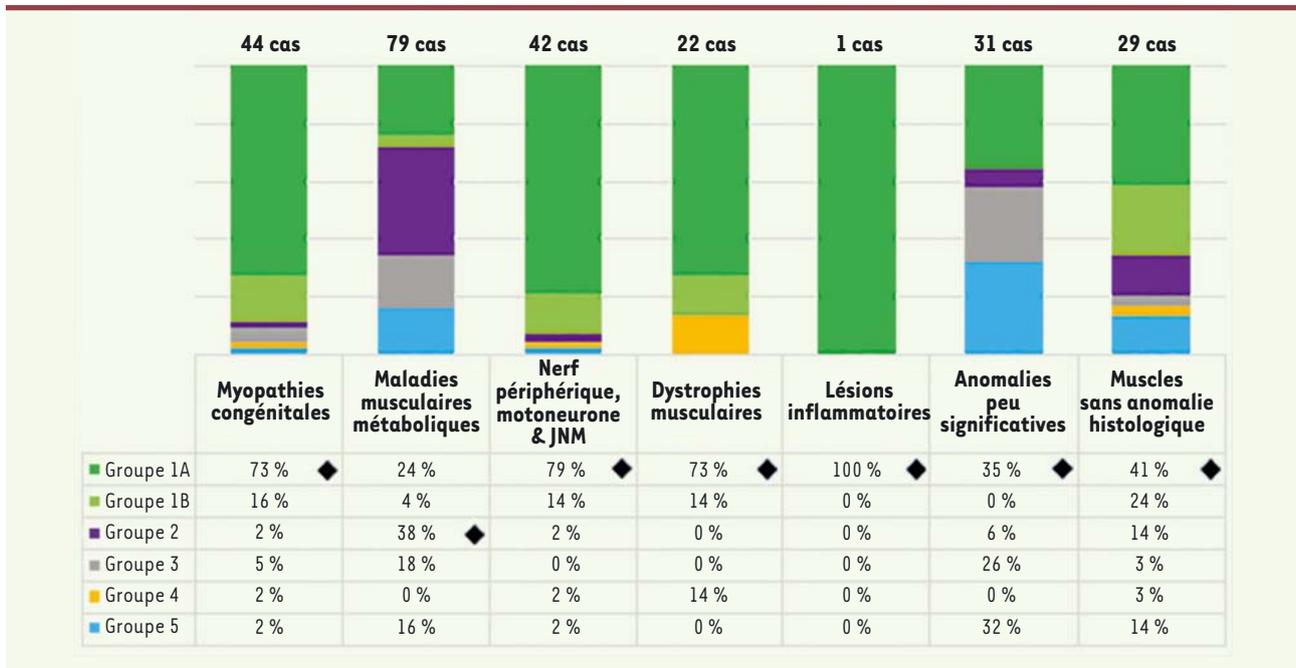


Figure 7. Répartition (en %) des tableaux cliniques en fonction des groupes morphologiques sur la période 1970-1999 (248 cas).

du taux des CPK pour tous les patients. Toutefois, on remarque que pour les cas avec augmentation du taux des CPK, la présentation clinique se complète en général des tableaux cliniques 1A et 1B.

Les analyses obtenues montrent que les patients avec une hypotonie et une atteinte prédominante du système nerveux central (tableau clinique 5) sont classés soit dans le groupe où les anomalies morphologiques sont peu significatives sur la biopsie musculaire, soit dans celui où aucune anomalie morphologique n'est observée. Quant aux myopathies avec présence de lésions inflammatoires, elles sont très peu fréquentes.

Nous avons effectué le même type d'analyse pour les deux périodes de l'étude. Les croisements entre données cliniques et données morphologiques sont représentés dans les Figures 7 et 8.

Les patients des tableaux cliniques 1A et 1B, présentant une hypotonie majeure et généralisée avec arthrogrypose avec ou sans assistance ventilatoire, correspondent réellement à un nombre très important. Ce tableau clinique est représenté surtout dans le contexte des myopathies congénitales, des myopathies avec atteintes neuropathiques du motoneurone ou éventuellement dans les rares cas présentant des lésions inflammatoires ou éventuellement des dystrophies. Cependant, l'atteinte multisystémique est toujours majoritaire dans le cadre des maladies musculaires métaboliques. Nous avons observé des anomalies peu significatives soit avec une atteinte centrale très importante soit éventuellement avec des hypotonies presque isolées.

Les analyses obtenues pour les patients évalués après l'année 2000 mettent en évidence encore une fois, une présentation clinique majoritaire des groupes 1A et 1B. Ces tableaux sont majoritaires dans les myopathies congénitales comme pour les atteintes du nerf périphérique ou du motoneurone et dans plusieurs formes de dystrophie musculaire. En outre, on observe toujours l'atteinte multisystémique en particulier dans

le cadre des maladies musculaires métaboliques. Pour cette période, cette atteinte multisystémique est notée également pour deux cas présentant une atteinte inflammatoire. En général, les atteintes du système nerveux central sont plus observées dans le groupe d'anomalies peu significatives ou celui des biopsies sans anomalie histologique.

Analyse des données des biopsies musculaires étudiées en microscopie électronique

Parmi les 535 biopsies musculaires étudiées, 120 (22 %) ont été analysées en microscopie électronique (ME). Dans les cas restants, soit nous n'avons pas reçu d'échantillon spécifique destiné à cet effet (19 %), soit il a été décidé de ne pas procéder, de principe, à cet examen (58 %).

Dans la cohorte exclusive des « myopathies congénitales structurales » (MC) représentant 94 patients au total, 74 cas (79 %) ont bénéficié d'une investigation ultrastructurale [2]. En revanche, pour 14 cas (15 %), le laboratoire n'a pas reçu de prélèvement pour les études en ME et pour 6 cas (6 %), cette étude n'a pas été complétée. Pour ces derniers, il s'agit en général des enfants d'une même fratrie pour lesquels un seul cas a été caractérisé en ME, ou, pour certains, une absence complète de fibres musculaires sur l'échantillon concerné.

Nous avons classé les apports de l'étude en ME selon la pertinence de ces investigations pour le diagnostic définitif du patient et/ou pour l'orientation des études

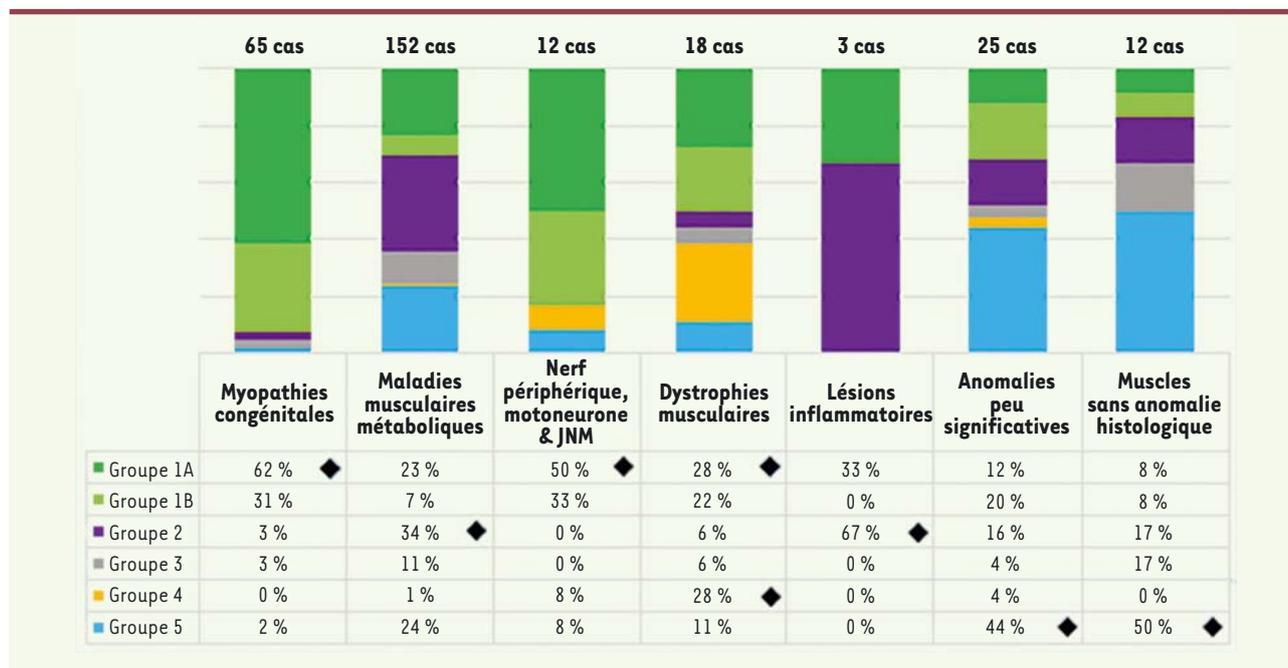


Figure 8. Répartition (en %) des tableaux cliniques en fonction des groupes morphologiques sur la période 2000-2021 (287 cas).

Myopathies congénitales structurales en ME	Nombre de cas classés décisifs	Nombre de cas classés contributifs	Nombre de cas classés confirmatifs	Ininterprétable
Total de Myopathies Congénitales (74 cas)	28	37	8	1
MC entre 1970-1999 (21 cas)	9	6	6	0
MC entre 2000-2021 (53 cas)	19	31	2	1

Tableau 1. Pertinence de l'étude ultrastructurale en fonction des deux périodes étudiées et pour le seul groupe des myopathies congénitales (MC).

moléculaires et des prises en charge cliniques. Nous avons ainsi évalué que certaines analyses ultrastructurales ont pu être soit « décisives » pour l'orientation définitive du diagnostic, soit « contributives », soit « confirmatives ». Les données sont regroupées dans le *Tableau 1*.

L'apport de l'étude en ME a été considéré « décisif » lorsque l'investigation a apporté des éléments majeurs qui n'avaient pas pu être observés lors de l'étude histo-enzymologique simple. Des éléments primordiaux ont ainsi été fournis pour orienter l'étude moléculaire qui s'en est suivie. Ceci correspond par exemple, à la découverte de lésions de type *cap*, corps cytoplasmique ou bâtonnets, des anomalies de la jonction neuromusculaire et des anomalies des noyaux, ou d'autres lésions plus rares (autophagie, inclusions autres, etc.).

L'apport de l'étude en ME a été jugé « contributif » lorsque l'exploration a pu apporter des éléments d'analyses complémentaires et confirmer les anomalies observées avec les techniques d'histo-enzymologie.

L'apport de l'étude en microscopie électronique a été considéré « confirmatif » lorsque l'analyse ultrastructurale (ME) a mis en évidence ou a confirmé les mêmes types d'anomalies déjà observées en optique. L'étude en microscopie électronique a pu valider les analyses observées au préalable mais n'a pas apporté d'éléments supplémentaires pour l'orientation ou pour la définition du diagnostic ou pour d'autres apports.

Les *Figures 9 à 14* montrent des exemples de myopathies néonatales sévères liées respectivement aux gènes *RYR1*, *NEB*, *STAC3*, *DNM2*, *CNTNAP1*, pour lesquelles les investigations en ME ont été décisives pour orienter le diagnostic [3-7].

Parmi les 94 cas classés myopathies congénitales structurales, pour 56 d'entre eux (60 %) l'étude moléculaire

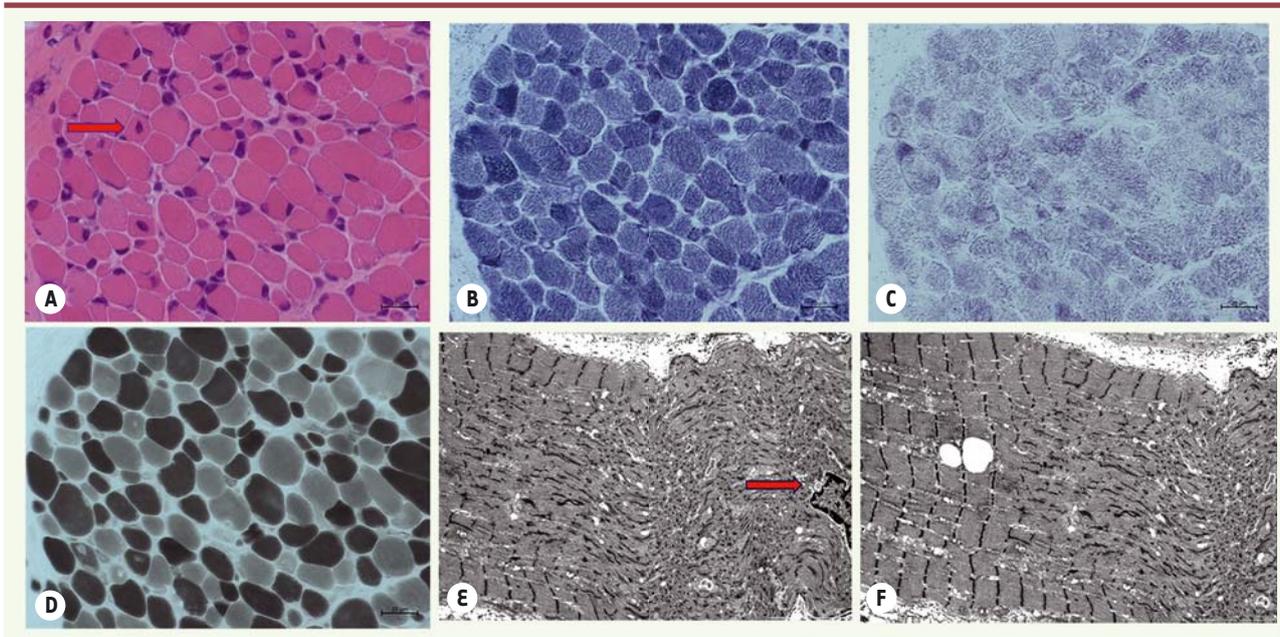


Figure 9. Coupes sériées de la biopsie musculaire d'un patient de 20 jours, atteint d'une myopathie congénitale liée au gène *RYR1* : HE (A), NADH (B), SDH (C), ATP 9,40 (D) montrent une importante inégalité de la taille de fibres musculaires avec de nombreux noyaux centralisés/internalisés (flèche) et des désorganisations de la structure interne des fibres musculaires. Les coupes observées en microscopie électronique (E, F) révèlent de larges zones de désorganisation, le plus souvent uniques dans une fibre, d'étendues variables évoquant des « cores » non structurés. Présence également de noyaux internalisés (E) (flèche) [3].

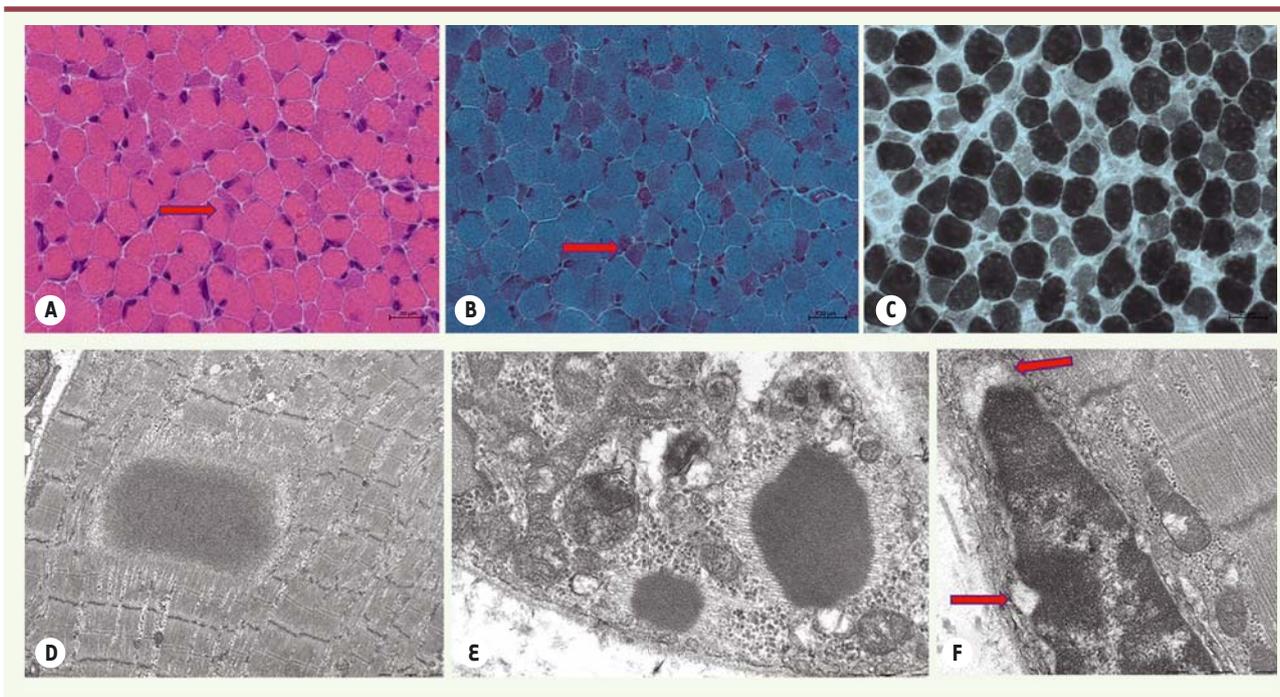


Figure 10. Coupes sériées de la biopsie musculaire d'un patient de 1 mois atteint d'une myopathie congénitale liée au gène *NEB* : HE (A), TG (B), ATP 9,40 (C) montrent une importante inégalité de la taille de fibres musculaires avec petitesse des fibres de type 1, associée à la présence de mini-inclusions notamment en périphérie de petites fibres (flèches). Les coupes observées en microscopie électronique décèlent des inclusions de type « cytoplasmic bodies » (D), « rods » (E) et des noyaux avec élargissement de l'espace entre les deux membranes de l'enveloppe nucléaire (F) (flèches).

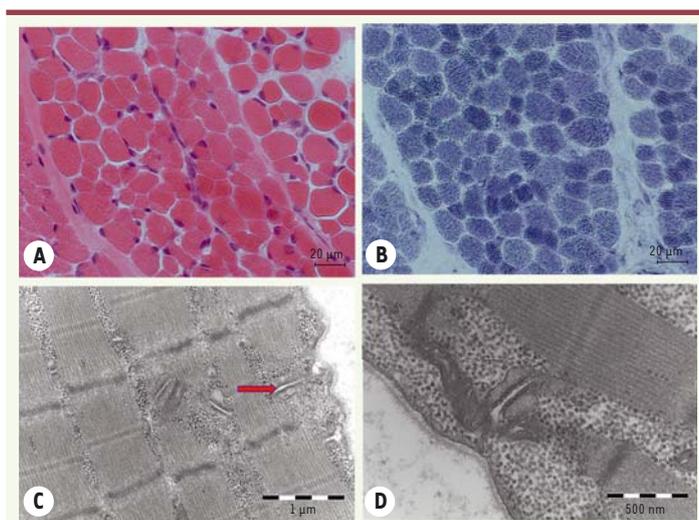


Figure 11. Coupes sériées de la biopsie musculaire d'un patient de 11 jours atteint d'une myopathie congénitale liée au gène *STAC3* : HE (A), NADH-TR (B) montrent une importante inégalité de la taille de fibres musculaires avec atrophie de fibres de type 1, évoquant une CFTD, sans anomalies de la maille du réseau intermyofibrillaire ni la présence d'inclusions. Cependant, les coupes observées en microscopie électronique remarquent de nombreuses citernes dilatées correspondant à des triades (C, D) (flèche).

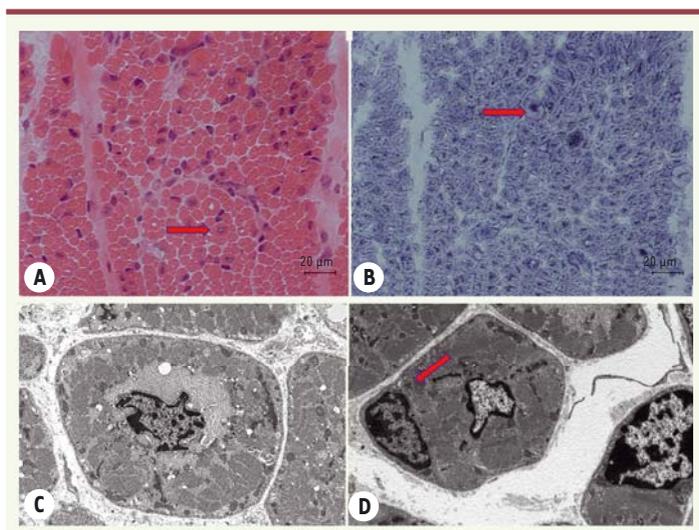


Figure 12. Coupes en HE (A) et NADH (B) de la biopsie musculaire d'un patient de 1 mois (âge gestationnel 29 semaines) atteint d'une myopathie congénitale liée au gène *DNM2* qui montrent un nombre important de fibres musculaires avec des noyaux centralisés ressemblant à des myotubes, avec un remaniement de la structure laissant un halo clair autour de la fibre (flèches). Les coupes observées en microscopie électronique (C et D) montrent de nombreux myotubes avec la particularité de présenter un nombre préservé de cellules satellites pour l'âge de l'enfant [4]. Cette caractéristique la différencie des myopathies congénitales myotubulaires liées au gène *MTM1* car celles-ci ont comme spécificité un nombre réduit de cellules satellites (flèche) [7].

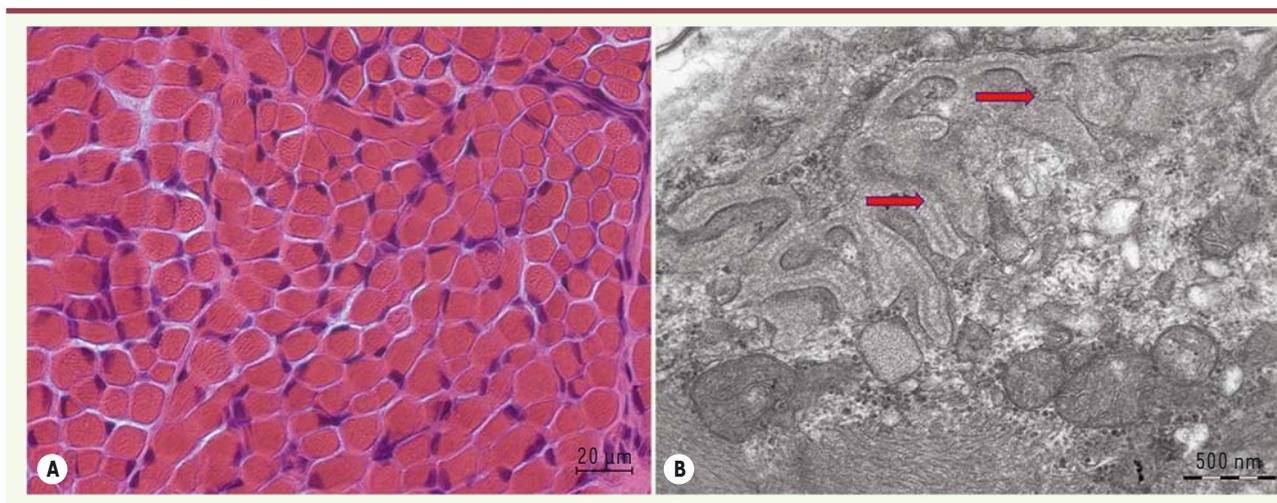


Figure 13. Coupe en HE (A) de la biopsie musculaire d'un patient de 14 jours (âge gestationnel 34 SA), atteint d'une myopathie liée au gène *CNTNAP1* qui montre une variabilité de la taille des fibres musculaires, mais dans l'ensemble aucune anomalie spécifique d'une myopathie particulière. En revanche, les coupes observées en microscopie électronique discernent de nombreuses jonctions neuromusculaires anormales avec un appauvrissement de crêtes (B) (flèches).

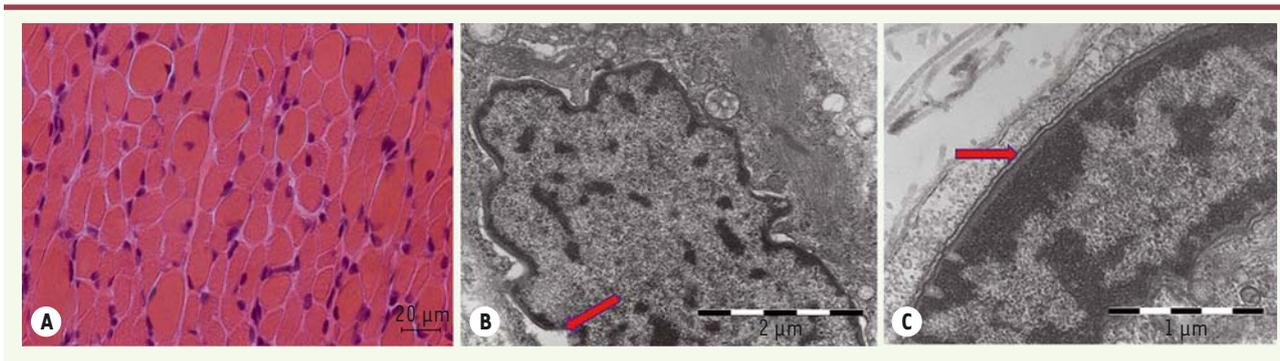


Figure 14. Coupe en HE (A) de la biopsie musculaire d'un patient de 1 mois, atteint d'une myopathie congénitale avec des anomalies des noyaux sans caractérisation moléculaire (*LMNA*, *EMD*, *SYNE1*, *SYNE2*, *FHL1*, *SUN1*, *SUN2*, and *TTN* ont été exclus et une étude complémentaire en exome est en cours), qui montre une variabilité de la taille des fibres musculaires, mais dans l'ensemble aucune anomalie spécifique d'une myopathie particulière. Toutefois, les coupes observées en microscopie électronique discernent d'importantes anomalies des noyaux en particulier un élargissement de l'espace de l'enveloppe périnucléaire (B) et un épaissement anormal de la lamina (C) (flèches).

Myopathies congénitales identifiées	Nombre total de cas	Nombre de cas < 2 mois	Nombre de cas entre 2 et 6 mois
Myopathie congénitale (<i>MTM1</i>)	17	13	4
Myopathie congénitale (<i>ACTA1</i>)	10	6	4
Myopathie congénitale (<i>RYR1</i>)	10	8	2
Myopathie congénitale (<i>NEB</i>)	7	4	3
Myopathie congénitale (<i>ASCC1</i>)	2	2	0
Myopathie congénitale (<i>EXOSC3</i>)	2	1	1
Myopathie congénitale (<i>STAC3</i>)	2	1	1
Myopathie congénitale (<i>TTN</i>)	2	2	0
Myopathie congénitale (<i>DNM2</i>)	1	1	0
Myopathie congénitale (<i>KLHL40</i>)	1	1	0
Myopathie congénitale (<i>LMOD3</i>)	1	1	0
Myopathie congénitale (<i>MYO18B</i>)	1	1	0
Total des MC identifiées	56	41	15

Tableau II. Répartition des gènes incriminés dans l'ensemble des cas de myopathies congénitales et en fonction de l'âge de l'enfant (< 2 mois, ou 2-6 mois).

a permis d'identifier un gène causal (*MTM1*, *ACTA1*, *RYR1*, *NEB*, *ASCC1*, *EXOSC3*, *STAC3*, *TTN*, *DNM2*, *KLHL40*, *LMOD3*, *MYO18B*). Pour les autres, soit les analyses moléculaires effectuées jusqu'à ce jour n'ont pas permis d'identifier le gène en cause, soit ce sont des cas très anciens qui n'ont pas pu être étudiés génétiquement, par manque d'échantillon d'ADN.

Parmi les gènes identifiés pour les différents cas de MC, les plus fréquemment rencontrés sont les gènes *MTM1*, *ACTA1*, *RYR1* et *NEB* (Tableau II) [3, 5-7]. On remarque également que dans la période néonatale stricte (< 2 mois de vie), l'étude moléculaire s'est montrée plus pertinente.

En dehors des myopathies congénitales structurales, les études moléculaires ont pu être réalisées dans d'autres groupes de maladies ; ainsi

un certain nombre de gènes ont pu être identifiés tels que *LAMA2*, *SMN1*, *DM1*, *DMD*, *CNTNAP1*, etc.

Dans le contexte des erreurs innées du métabolisme, les dosages enzymatiques étaient réalisés régulièrement par les services respectifs, en particulier les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Plus tard, les études moléculaires étaient effectuées en systématique aussi bien en utilisant de l'ADN génomique ou de l'ADN mitochondrial. Malheureusement, nous n'avons pas forcément toutes les informations génétiques pour ces cohortes de maladies musculaires métaboliques mais plusieurs anomalies moléculaires ont été constatées, par exemple, dans les gènes *NARP*, *GFM1*, *MTO1*.



Conclusion

Cette étude rétrospective a permis d'une part de constituer une casuistique d'un important nombre de biopsies musculaires analysées durant la période néonatale et périnatale, et d'autre part, de faire une revue précise des entités pathologiques observées dans cette période ainsi que leur fréquence respective.

Sur les 535 cas révisés :

- 82 % des cas ont montré des anomalies spécifiques ou hautement suggestives d'un diagnostic particulier dans la biopsie musculaire ;
- 18 % des cas n'ont pas montré d'anomalie histologique ou ont présenté des anomalies peu significatives.

Nous avons également démontré avec précision la pertinence de l'apport de l'étude en microscopie électronique (décisif, contributif, confirmatif) pour valider un diagnostic définitif, conduire les études moléculaires et orienter la prise en charge des patients.

Nous avons réalisé une corrélation directe avec les résultats des études moléculaires effectuées pour chaque cohorte de patients. De plus, cela a permis également d'affirmer ou de confirmer le diagnostic. Dans le cadre de myopathies congénitales structurales, la fréquence de gènes en cause s'établit comme suit : *MTM1*, *ACTA1*, *RYR1*, *NEB*, *ASCC1*, *EXOSC3*, *STAC3*, *TTN*, *DNM2*, *KLHL40*, *LMOD*, *MYO18B*, même s'il reste encore de nombreux cas en cours de caractérisation. ♦

SUMMARY

Muscle biopsy in the neonatal and perinatal period: a retrospective study of 535 cases

Neuromuscular diseases with neonatal or perinatal onset are usually very severe. Their diagnosis requires rigorous studies in order to determine the cause of the disease and thus help to establish the vital prognosis. Neonatal muscle biopsy studies are driven by the extreme severity of the clinical picture. The aim of this analysis is to search for or validate a precise diagnosis and etiology. Numerous genes are at the origin of these severe neonatal myopathies, for some of them anomalies of a specific gene could be identified.

We re-evaluated 535 biopsies performed in the neonatal period and analyzed at the GHU Pitié-Salpêtrière in Paris from 1970 to 2021 inclusive (i.e. over a period of fifty-two years). The cohort is composed of 54% boys and 46% girls. This retrospective study allowed us to build up a casuistry of muscle biopsies analyzed during this period of life, and to make a precise review of the pathological entities and their frequency.

Of the 535 cases reviewed: 82% of the cases showed specific or highly suggestive muscle abnormalities of a particular diagnosis ; and 18% of the cases showed no or insignificant histological abnormalities

We have also demonstrated with precision the relevance of the contribution of the electron microscopy study (as decisive, contributory, confirmatory) to validate a definitive diagnosis, to conduct molecular studies and to guide the management of patients.

In the strict context of structural congenital myopathies, the frequency of genes involved is as follows: *MTM1*, *ACTA1*, *RYR1*, *NEB*, *ASCC1*, *EXOSC3*, *STAC3*, *TTN*, *DNM2*, *KLHL40*, *LMOD*, *MYO18B*, although many cases are still under investigation. ♦

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont en priorité à toute l'équipe de l'Unité de Morphologie Neuromusculaire de l'Institut de Myologie située au Pavillon Risler du CHU de la Salpêtrière : Teresinha Evangelista, Emmanuelle Lacène, Clémence Labasse, Anaïs Chanut, Angéline Madelaine, Maud Beuvin, Guy Brochier, et Favienne Borsato-Levy. Cette étude portant sur la révision des biopsies musculaires effectuées en période néonatale sur une durée de cinquante-deux ans a été possible grâce à l'implication de nombreux autres professionnels. Tout au long de ces années, les travaux des médecins, des chercheurs, des techniciens, des ingénieurs, des étudiants, qui se sont succédés au laboratoire ont contribué aussi bien au diagnostic qu'à la recherche sur les maladies neuromusculaires.

Nous remercions singulièrement le Professeur Michel Fardeau qui a initié en France l'étude des biopsies musculaires chez le tout-petit dans les années 1970 et qui a toujours été « porteur » de nombreuses recherches dans ce domaine. La rigueur de son travail et son enthousiasme communicatif ont été d'une grande impulsion pour nous permettre de poursuivre et de développer ces investigations à ce jour. Nous remercions aussi chaleureusement le Docteur Fernando Tomé qui nous a toujours soutenu dans cette tâche.

Nous sommes particulièrement reconnaissants aux innombrables collègues médecins et chercheurs, qui nous ont confié les biopsies musculaires pour analyse, durant toutes ces années. Merci pour leur confiance, nous nous sommes toujours acharnés afin d'apporter une contribution importante à l'étude de leurs patients.

Les études complémentaires qui ont été faites sur ces patients néonataux, en particulier les analyses moléculaires, ont été réalisées grâce à la collaboration des différentes équipes de génétique moléculaire en France et à l'étranger, particulièrement : les équipes de Jocelyn Laporte, Johann Böhm et Valérie Biancalana à Strasbourg, de Pascale Richard, Corinne Métaï et Anne Lombès au GHU-Pitié-Salpêtrière à Paris, de France Leturcq et Jean Claude Kaplan à l'Hôpital Cochin à Paris, de Pascale De Lonlay et Arnold Munnich à l'hôpital Necker-Enfants Malades à Paris, et de Joël Lunardi, Nicole Monnier et John Rendu à Grenoble ; Nigel Laing (Perth, Australie), Carina Wallgren-Pettersson (Finlande).

Nous remercions également l'AFM-Téléthon et l'Association Institut de Myologie pour leur soutien financier.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Romero NB, Mezmezian M, Fidziańska A. Main steps of skeletal muscle development in the human: Morphological analysis and ultrastructural characteristics of developing human muscle. *Handb Clin Neurol* 2013 ; 113 : 1299-310.

RÉFÉRENCES

2. Romero NB, Clarke NF. Congenital myopathies. *Handb Clin Neurol* 2013 ; 113 : 1321-1336.
3. Böhm J, Vasli N, Malfatti E, et al. An Integrated Diagnosis Strategy for Congenital Myopathies. *PLoS One* 2013 ; 8 : e67527.
4. Biancalana V, Romero NB, Thuestad IJ, et al. Some *DNM2* mutations cause extremely severe congenital myopathy and phenocopy myotubular myopathy. *Acta Neuropathol Commun* 2018 ; 6 : 93.
5. Hernandez-Lain A., Husson I., Monnier N, et al. De novo *RYR1* heterozygous mutation (I4898T) causing lethal core-rod myopathy in twins. *Eur J Med Genet* 2011 ; 54 : 29-33
6. Labasse C, Brochier G, Taratuto AL, et al. Severe *ACTA1*-related nemaline myopathy: intranuclear rods, cytoplasmic bodies, and enlarged perinuclear space as characteristic pathological features on muscle biopsies. *Acta Neuropathol Commun* 2022 ; 10 : 101.0
7. Shichiji M, Biancalana V, Fardeau M, et al. Extensive morphological and immunohistochemical characterization in myotubular myopathy. *Brain and Behavior* 2013 ; 3 : 476-486

TIRÉS À PART
N.B. Romero



Global Registry for COL6-related dystrophies

Registre global des dystrophies liées au collagène de type VI

S'inscrire sur : www.collagen6.org

Ou contactez-nous par e-mail à l'adresse : collagen6registry@ncl.ac.uk

La traduction française sera bientôt disponible sur le site web.












Tarifs d'abonnement m/s - 2022

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org



Introduction

Notre pratique de psychologues cliniciennes auprès de patients suivis dans le service de Neuromyologie de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière démontre que l'annonce diagnostique d'une myopathie à l'âge adulte est un moment fondateur du parcours de soins tout autant que du parcours de vie des patients. Ces derniers témoignent d'un rapport paradoxal à cette annonce, partagés qu'ils sont entre soulagement et inquiétude. L'annonce reste durablement gravée dans leur mémoire, même des années après. Elle impacte la relation au médecin et induit des effets psychologiques au long cours. À partir d'échanges avec l'équipe de myologues cliniciens du service de Neuromyologie, nous constatons également que, loin d'être un sujet d'intérêt réservé aux patients, l'annonce préoccupe aussi beaucoup les médecins qui la délivrent.

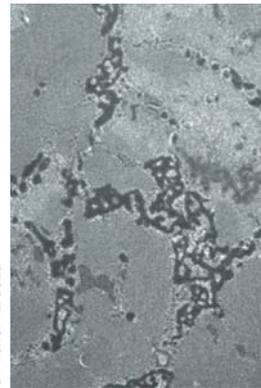
Dans le domaine de la santé publique, l'annonce en neuromyologie se réfère à l'annonce d'une « mauvaise nouvelle » au sens où la Haute Autorité de la Santé l'entend. L'annonce se définit ainsi comme un moment « qui change radicalement et négativement l'idée que se fait le patient de son être et de son avenir » [1]. Plusieurs articles, notamment dans le champ de l'oncologie et de la neurologie, ont mis en évidence que l'annonce conditionne aussi bien l'engagement du patient dans le parcours de soins que la possibilité, pour lui, de s'approprier subjectivement sa maladie [2,3]. En ce sens, recevoir un diagnostic peut induire chez le patient de la confusion, de la détresse à long terme, du ressentiment [4], et/ou un état anxieux et dépressif [5]. Du point de vue du médecin, délivrer une « mauvaise nouvelle » est aussi un acte émotionnellement pesant et difficile à formuler [6,7]. Les données de la littérature confirment que cette pratique est une importante source de stress et qu'elle peut conduire à des sentiments de culpabilité et de colère. Elle renverrait également à la peur de la mort, à la désapprobation, et à la crainte de ses propres réactions émotionnelles tout autant qu'à celles du patient [6,8,9].

Une revue semi-systématique de la littérature récente [10] a permis de dresser plusieurs constats :

- 1) seuls 29 articles portent sur l'annonce en neurologie ;
- 2) parmi ces 29 articles, huit concernent l'annonce diagnostique des maladies neuromusculaires se déclarant à l'âge adulte, et trois seulement ont été publiés dans des revues scientifiques à comité de lecture [11-13] ;

L'annonce diagnostique d'une maladie neuromusculaire à l'âge adulte

Bettina Beaujard¹, Anthony Béhin²,
Marie-Carmen Castillo¹, Marcela Gargiulo^{2,3}



© Michel Fardeau

¹Laboratoire Psychopathologie et Processus de changement (EA2027), Université Paris 8 Vincennes-Saint-Denis, Université Paris Lumière, 93526 Saint-Denis, France.

²Service de Neuromyologie, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 75013 Paris, France.

³Laboratoire de psychologie clinique, psychopathologie, psychanalyse (EA 4056), Université Paris Cité, 92100 Boulogne-Billancourt, France.

bettina.beaujard@aphp.fr

3) des 29 articles retenus sur l'annonce en neurologie, dont 8 en neuromyologie, 4 invariants sont apparus, à savoir : (a) un effet *pharmakon* de l'annonce, entre choc et soulagement du côté des patients, et entre satisfaction et impuissance du côté des médecins ; (b) l'importance du cadre (lieu, accompagnement) ; (c) l'influence de la temporalité de l'annonce (la durée de la consultation, la possibilité de différentes consultations d'annonce et l'écart entre le moment de l'annonce et l'expression des premiers symptômes) ; enfin (d) le risque de malentendus liés non seulement aux effets d'un potentiel « scotome auditif », c'est-à-dire le fait que le patient n'entend que des fragments d'information, mais aussi à une « sélection mnésique » qui implique, quant à elle, que le patient n'entende pas n'importe quels fragments d'information, mais principalement les plus négatifs et les plus angoissants. Ces effets peuvent être la conséquence des mouvements défensifs de chaque protagoniste.

4) Enfin, cette même revue semi-systématique [10] montre que sur un plan méthodologique, les études ont été exclusivement menées de manière rétrospective, c'est-à-dire à partir du souvenir de l'annonce. Pour autant, l'exploration du vécu de cette annonce en neuromyologie, y compris dans l'après-coup, reste restreinte puisque les trois études publiées dans des revues scientifiques ne portent que sur deux pathologies : les dystrophies musculaires des ceintures [11] et la dystrophie musculaire de type FSH [12,13]. De surcroît, une seule de ces trois études porte précisément sur l'annonce diagnostique [13], laquelle date de plus de 25 ans.



Il est également à noter, toujours sur le plan méthodologique, que les articles sur l'annonce diagnostique explorent rarement le point de vue des médecins (seulement 4/29) : ils se focalisent principalement sur l'expérience unique des patients. Ainsi, la recherche n'explore finalement pas la dimension relationnelle de la consultation d'annonce de manière écologique, autrement dit dans le réel du phénomène étudié. L'annonce en neuromyologie se révèle donc une thématique peu étudiée alors qu'elle recouvre des enjeux cruciaux. Tout d'abord, ces deux dernières décennies ont été marquées par les progrès considérables des connaissances scientifiques concernant les maladies neuromusculaires. Des techniques de plus en plus performantes permettent aux patients d'obtenir, plus ou moins rapidement, un diagnostic de précision, l'objectif étant à chaque fois de réduire le temps de l'errance diagnostique. Pour d'autres patients, l'incertitude diagnostique demeure, provoquant un sentiment de « double peine » : celle de la maladie elle-même, et celle de ne pas pouvoir bénéficier d'un traitement spécifique ou de ne pas pouvoir intégrer un protocole d'essai thérapeutique. L'essor assez récent des thérapies innovantes dans le domaine des maladies neuromusculaires est également venu modifier substantiellement les modalités de communication entre le médecin et le patient [7] mais aussi l'expérience des patients. Nous assistons ainsi à un changement progressif de paradigme dans les maladies neuromusculaires passant d'une maladie incurable – donc sans espoir – à la possibilité d'une perspective d'un traitement, même si celui-ci n'existe pas toujours au moment de l'annonce.

Il faut prendre ensuite en compte que dans la plupart des maladies neuromusculaires, il existe une dimension génétique spécifique et donc un risque potentiel de transmission familiale. En ce sens, ces pathologies impactent de manière importante la qualité de vie des patients et celle de leur famille [12, 14, 15].

Annouer et recevoir un diagnostic de maladie neuromusculaire caractérisée par la chronicité de son évolution, l'absence de traitement curatif, le risque de transmission familiale et l'existence ou non d'essais thérapeutiques, représentent une véritable épreuve et un enjeu de communication : *comment annoncer la maladie et accompagner les patients dans la subjectivation de cette mauvaise nouvelle ?*

Méthodologie

Notre projet de recherche comportait deux études : l'une rétrospective, et l'autre prospective (Figure 1).

Une étude rétrospective

Au regard des constats exposés ci-dessus, le premier objectif de notre recherche était de proposer un état des lieux concernant le souvenir de l'annonce d'une maladie neuromusculaire en explorant, de manière rétrospective et globale, et à distance de l'annonce, les représentations des patients. Dans ce but, nous avons mis en place une première étude menée auprès de trente patients ayant reçu l'annonce de leur diagnostic depuis au moins un an. Nous avons demandé à cette première série de patients de faire le récit du souvenir de leur annonce au cours d'un entretien semi-directif.

Une étude prospective

Un second objectif de notre recherche a été d'analyser cette annonce en neuromyologie par le prisme d'une méthodologie innovante, mettant en lumière le processus relationnel tel qu'il se construit au cours de l'entretien d'annonce. Pour cela, nous avons élaboré une étude prospective s'intéressant, d'une part, à la dynamique relationnelle qui se crée entre les protagonistes durant la consultation d'annonce et aux problèmes de compréhension entre ce qui est énoncé par les médecins et entendu par les patients et, d'autre part, aux représentations des deux protagonistes à la suite de ces consultations d'annonce. Pour ce faire, nous avons audio-enregistré les consultations d'annonce, que nous avons complétées par des entretiens semi-directifs avec les médecins-annonceurs (le jour même de l'annonce) puis avec les patients ayant reçu l'annonce (dans les trois mois suivant la consultation d'annonce). Ces deux études ont été réalisées à l'Institut de Myologie, dans le service de Neuromyologie de l'hôpital de la Pitié Salpêtrière à Paris, en collaboration avec les services régionaux de l'AFM-Téléthon. Cette recherche a été approuvée par le comité d'éthique CERAPHP.5 sous le numéro d'avis 2019-10-02, #00011928, et a fait l'objet d'un dépôt à la CNIL sous la référence 2218654v0.

Résultats

Nous présentons ici les résultats préliminaires de ces deux études tels que rapportés sous forme de communication affichée lors du congrès Myology 2022 à Nice (12-15 septembre 2022).

Résultats préliminaires de l'étude rétrospective

Trente patients ont été inclus. 19 d'entre eux ont été recrutés par le service de Neuromyologie et 11 par les services régionaux de l'AFM-Téléthon. L'échantillon se compose de 19 femmes et de 11 hommes avec un âge médian de 53 ans (29-83, $\sigma = 15,80$). Au moment de l'annonce, les patients avaient en moyenne 42 ans (20-71, Me40,5, $\sigma = 15,54$). Le temps moyen écoulé entre l'annonce et l'entretien de recherche était de 11 ans (1-37, Me10, $\sigma = 9,86$). Seize patients étaient atteints de myopathies (dystrophie myotonique de type 1 ou DM1 (5), FSH (2), dysferlinopathie (2), autres (6), non étiquetée (1) ; 8 patients étaient atteints de formes variées de myasthénie, et 6 patients avaient une pathologie du nerf périphérique (amyotrophie spinale (2), Charcot-Marie-Tooth ou CMT (3), polynévrite (1)). L'ensemble de ces récits audio-enregistrés et retranscrits ont été soumis à une analyse des données lexicales grâce au logiciel Nvivo (Version Release 1.7). Cet outil

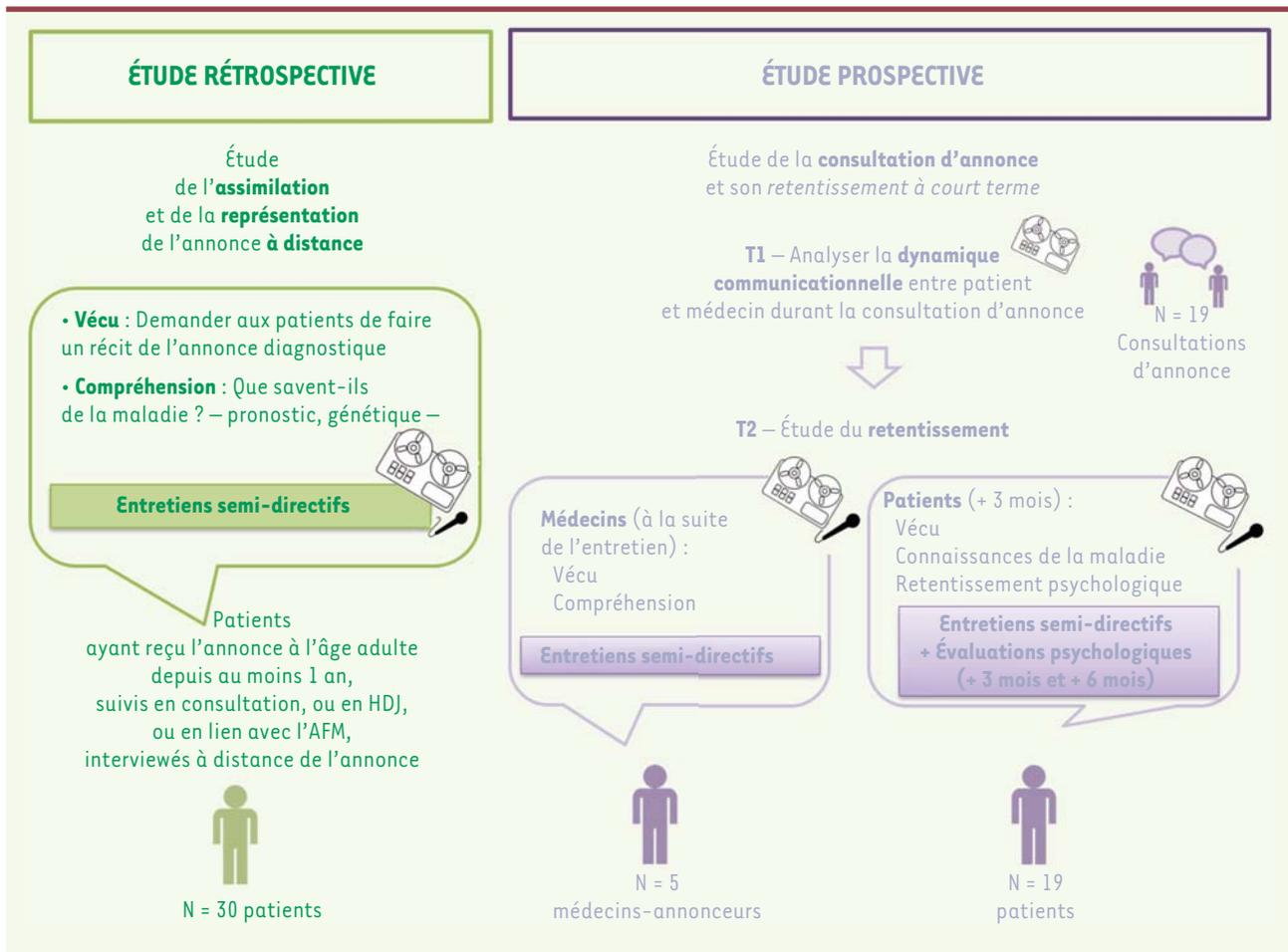


Figure 1. Design de la recherche.

d'aide à la gestion et à l'analyse des données permet notamment de recourir à l'analyse lexicométrique, c'est-à-dire à l'étude statistique du langage. Grâce à cela, le calcul de la fréquence et de l'occurrence des mots dans les verbatims permet d'organiser et de mettre en évidence les structures signifiantes les plus fortes afin de dégager l'information contenue dans les données textuelles.

Nous avons ainsi exécuté une requête des 1 000 mots les plus utilisés par les patients sur l'ensemble des 30 verbatims recueillis. Le choix de la longueur des mots était de cinq lettres au minimum, afin d'éviter que les résultats ne soient perturbés par des mots-outils comme les déterminants. Nous avons restreint cette requête au calcul des mots dont la forme était exactement identique, ce qui exclut les recherches à partir des formes radicales et des synonymes, ceci afin d'éviter les erreurs d'automatisation de recherche lexicale. Pour illustrer ces résultats, nous avons fait le choix d'une représentation par nuage de mots, laquelle propose une mise en valeur des mots dont la taille de police est corrélée à leur fréquence d'apparition dans les récits de patients (Figure 2).

Ces résultats préliminaires mettent tout d'abord en évidence l'occurrence de la notion de temporalité avec les mots « après » (384 occurrences), « temps » (227), « moment » (224), « toujours » (222),

« enfin » (183), « encore » (175), « maintenant » (143), et « suite » (132).

Ensuite, nous observons l'importance de la référence à l'agir, avec la présence du verbe « faire » (471 occurrences). Enfin, le nuage met en lumière la centralité de la figure du médecin, évoqué par les différents termes : « médecin » (175), « docteur » (151) ou bien « neurologue » (137), dont l'addition représente 463 occurrences. Cette occurrence correspond à la notion la plus saillante. Afin de compléter l'étude, nous avons également proposé aux patients, durant ces entretiens, de choisir un mot qui représente au mieux, selon eux, leur vécu de l'annonce diagnostique. Cette liste comprenait les mots suivants : « pédagogique » ; « technique » ; « humaine » ; « brutale » ; « rassurante » ; « sans espoir » ; et « incertaine ». 11/30 sujets ont fait le choix du mot « brutale », 6/30 d'« incertaine », 4/30 de « rassurante », 3/30 de « sans espoirs », 3/30 d'« humaine », 2/30 de « pédagogique » et enfin 1/30 sujet a choisi le mot « technique ». Ainsi, parmi 30 sujets, 9 ont choisi un mot à valence positive contre 21 à valence négative.



Figure 2. Nuage de mots concernant les verbatim de l'étude rétrospective.



Figure 3. Nuage de mots concernant les verbatim des échanges entre médecins et patients lors des consultations d'annonce de l'étude prospective.

Résultats préliminaires de l'étude prospective

L'étude prospective s'appuie sur l'enregistrement de 19 consultations d'annonce. Au total, ces consultations impliquent cinq médecins (trois femmes et deux hommes). 11/19 des patients étaient des hommes et 8/19 des femmes. La moyenne d'âge des patients au moment de cette consultation était de 47 ans (19-76, Me = 47, σ = 17,65). La répartition par pathologie s'est faite comme suit : 13 annonces de myopathies (FSH (5), DM1 (1), canalopathie (1), myopathie des ceintures (1), myopathie myofibrillaire (2), myopathie de Bethlem (1), dysferlinopathie (1), myopathie liée au collagène VI(1)) ; cinq annonces de neuropathie (neuropathies motrices pures (2), CMT (1), HNPP (1), syndrome de CANVAS (1)); ainsi qu'une annonce d'ataxie de Friedreich.

Pour cette étude prospective, nous avons de nouveau procédé à une analyse textuelle représentée par un nuage de mots. La Figure 3 renvoie à l'ensemble des échanges entre médecins et patients lors de la consultation d'annonce, et ce, sans différencier les interventions des patients de celles des médecins.

En premier lieu, et comme dans l'étude rétrospective, le nuage fait ressortir l'importance de l'agir durant les échanges que constitue la consultation d'annonce. On trouve de nouveau la présence centrale du verbe « faire » dans le nuage (523 occurrences). Cette dimension de l'agir est renforcée par l'occurrence du verbe conjugué « allez » (148) qui renvoie, quant à lui, à un verbe d'action. Deuxièmement, la notion de temporalité est elle aussi de nouveau centrale et apparaît avec les mots « temps » (157 occurrences) et « moment » (83), accompagnés des marqueurs de temps tels que « jamais » (132), « encore » (99), et « toujours » (99). Troisièmement, la notion d'enquête avec l'occurrence du mot « problème » (123 occurrences) apparaît prépondérante. Enfin, émerge également la dimension familiale, avec le mot « génétique » (116 occurrences) couplé à la présence du mot « enfants » (97 occurrences).

Afin de compléter l'étude, nous avons également proposé aux patients de nommer, en choix libre, un mot représentant leur vécu de cette annonce, au cours des entretiens menés environ trois mois après l'annonce. Parmi les mots choisis, nous dénombrons 8/19 mots à valence positive contre 5/19 mots à valence négative. Les six sujets restants ne se sont pas exprimés.

Discussion

Les résultats préliminaires de notre recherche font apparaître deux éléments communs à l'étude rétrospective et à l'étude prospective.

Tout d'abord, l'importance du verbe « faire » dans les deux cohortes ; celui-ci renvoie à la fonction performative de l'annonce, au sujet de laquelle Corbet écrit en 1994 : « Le terme de fonction performative désigne ce qui, dans l'échange langagier, possède une force et conduit l'autre à agir. Cette fonction doit faire naître ou renforcer un sentiment de capacité chez le malade et sa famille » [16]. Le recours à l'agir, le « faire », permet donc aux médecins d'inciter le patient à adopter une position proactive vis-à-vis de la maladie, afin d'apprendre à vivre avec et non contre celle-ci. Il s'agit alors de « faire de la kiné », « faire de l'exercice », « faire des analyses ». En l'absence de traitements curatifs, le parcours de soins est assimilé à un remède qui compense l'impuissance liée à l'incurabilité de la très grande majorité des maladies neuromusculaires. La rééducation et les aides techniques sont notamment privilégiées comme des réponses permettant de retarder les évolutions symptomatiques de la maladie. Ces approches permettent de compenser une impuissance ressentie par le patient comme par le médecin dans des maladies dont la prise en charge reste par essence palliative.



Le second résultat de l'analyse textuelle commun aux deux groupes étudiés fait ressortir la prévalence de la notion de temporalité, aussi bien dans le souvenir que les patients ont de l'annonce que durant les consultations d'annonce. Les occurrences du mot « temps », « moment » et des marqueurs de temps tels que « après », « toujours », « jamais », « enfin », « encore », « maintenant », et « suite », renvoient ainsi à la dimension évolutive et progressive de la grande majorité des maladies neuromusculaires. La temporalité psychique des patients est ainsi affectée par l'annonce, qui revêt un aspect véritablement traumatique : celle-ci « tombe », comme un couperet, et marque l'histoire subjective des patients d'un avant et d'un après. Elle les plonge dans un « futur hypothétique où l'incertitude règne, et où le présent prend un poids considérable. Car la perte de la force musculaire contraint parallèlement à une limitation progressive des mouvements et à une gestion constante de la dépendance à autrui dans l'ici et maintenant » [17].

Concernant les résultats spécifiques (non communs) de l'étude rétrospective, ces derniers mettent en exergue la place privilégiée de la figure du médecin dans l'après-coup de l'annonce, évoquée sous différents termes : « médecin », « docteur », « neurologue ». Cette occurrence peut renvoyer à :

- d'une part, la multiplicité des intervenants médicaux côtoyés aussi bien durant la quête du diagnostic que dans le parcours de soins consécutif, ce qui explique la fréquence de leur référence dans les récits des patients. Ce premier constat nous permet de poser l'hypothèse d'une invasion du parcours de soins dans le parcours de vie, et nous invite ainsi à penser à la manière dont la subjectivité des patients peut se trouver aussi bien étouffée par la maladie que par la prise en charge qui en découle ;
 - d'autre part, les résultats font ressortir la place centrale de l'annonceur de la « mauvaise nouvelle » qui reste à jamais gravée en mémoire, malgré le temps qui passe. Rappelons qu'au temps de la Grèce antique, l'annonceur de « mauvaise nouvelle » était considéré comme responsable, et de ce fait, tué [18]. Bien que les us et coutumes aient fort heureusement changé depuis, on retrouve encore aujourd'hui des traces de cette pratique dans le langage. Il existe ainsi une expression anglaise (« *shooting the messenger* ») désignant la tentation de se débarrasser de celui qui annonce la terrible nouvelle ; expression qui trouve peu d'équivalents dans la langue française [17] ;
 - ce constat de la figure centrale du médecin peut aussi renvoyer à la place toute particulière qu'il incarne auprès des patients, avec cette fois une valence positive. Cette hypothèse renvoie aux travaux de Balint (1970) pour qui le médecin peut être investi comme un médicament pour les patients : « le médicament de beaucoup le plus fréquemment utilisé en médecine [est] le médecin lui-même. » [19].
- Concernant les résultats spécifiques de l'étude prospective lors des consultations d'annonce, l'analyse textuelle fait ressortir l'utilisation spécifique du mot « problème ». Ce dernier renvoie à la notion d'enquête diagnostique menée par le médecin afin de résoudre l'énigme posée comme un problème pour chacun des protagonistes. En effet, le patient est en quête d'une solution à ses symptômes, et le médecin doit pour cela réaliser une enquête se rapportant au patient, à ses

ascendants et collatéraux, pour ainsi résoudre le problème du diagnostic de précision.

En lien avec ce premier résultat, les mots « génétique » et « enfant » apparaissent également de manière prépondérante dans cette partie de l'étude. Ils marquent la place et le poids des explications relatives à la transmission génétique lors de l'annonce du diagnostic au patient. Gargiulo (2009) écrit à ce sujet : « Révéler la dimension génétique d'une maladie neuromusculaire n'est pas une information médicale comme les autres car elle touche au « patrimoine » génétique, concerne et implique toute la constellation familiale. Informer ses enfants et les autres membres de sa famille est une tâche d'autant plus difficile qu'il n'existe ni prévention ni traitement curatif, et que la maladie se déclare à un âge adulte plus ou moins tardif. Au cas singulier de maladie se superpose une signification à résonance groupale et collective [...] De ce fait, les maladies neuromusculaires créent une tension forte, conflictuelle, entre bien individuel et bien commun » [20].

Enfin, l'analyse du choix de mot des patients permet de comparer le vécu de l'annonce à court terme et celui à long terme. Cette analyse fait ressortir des mots de valence plus négative dans l'étude rétrospective que dans l'étude prospective. Ces résultats peuvent s'expliquer par le changement opéré depuis vingt ans dans les conditions d'annonce, et ce pour deux raisons :

- la sensibilisation à l'annonce des médecins durant leur formation implique une attention plus particulière de leur part et a conduit à un changement des pratiques. Par exemple, ce qui auparavant pouvait être annoncé par un simple courrier ne l'est plus aujourd'hui ;
- de manière plus subjective, l'absence de perspectives thérapeutiques faisait vivre l'annonce comme une condamnation sans aucun espoir de guérison ou de stabilisation. Ainsi, ce qui est nommé comme « brutal » peut se rapporter au vécu subjectif des patients, du fait de l'absence de perspectives thérapeutiques et du risque de transmission à la descendance. L'annonce reste alors gravée en mémoire comme un événement qui ne passe pas et qui se réactualise à chaque période d'aggravation symptomatique, impliquant à chaque fois de nouvelles pertes fonctionnelles.

Enfin, en référence à la dimension traumatique, nous faisons l'hypothèse que les émotions négatives sont plus manifestes dans le temps et donc davantage exprimées dans l'étude rétrospective que prospective.

Conclusion

Nous présentons ici les résultats préliminaires d'une vaste étude sur l'annonce du diagnostic de maladies

neuromusculaires variées apparaissant à l'âge adulte. Ces résultats seront mis en perspective avec d'autres données et feront l'objet d'une publication future. 

Disclosing a diagnosis of a neuromuscular disease in adulthood

REMERCIEMENTS

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des patients et médecins ayant accepté de collaborer à cette recherche et nous ayant dédié une partie de leur précieux temps. Nous remercions également les sponsors qui nous ont permis de mener à bien cette thèse de doctorat. Cette recherche est financée par l'Association Française contre les Myopathies (AFM-Téléthon) grant N° 22853 et a reçu le parrainage de la filiale française du laboratoire pharmaceutique Roche.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Buckman R. S'asseoir pour parler: l'art de communiquer de mauvaises nouvelles aux malades : guide du professionnel de santé. Elsevier Masson ; 2001.
2. Mihura J, Erbaut M, Chabot JM, et al. Annoncer une mauvaise nouvelle. 2008 : http://www.Has-Sante.fr/Portail/Jcms/C_698028/Fr/Annoncer-Une-Mauvaise-Nouvelle.
3. Sexton D. 'As Good as it's Going to Get'. Bad News Conversations in Neurology: Challenges for Occupational Therapists. *Br J Occup Ther* 2013 ; 76 : 270-9.
4. Fallowfield L, Jenkins V. Communicating sad, bad, and difficult news in medicine. *The Lancet* 2004 ; 363 : 312-9.
5. Schofield PE. Psychological responses of patients receiving a diagnosis of cancer. *Ann Oncol* 2003 ; 14 : 48-56.
6. Gargiulo M. L'annonce d'un diagnostic grave. *Abstract Neurol* 2005:19-21.
7. Gargiulo M, Angeard N, Bassez G, et al. L'annonce d'une maladie neuromusculaire à un patient adulte : et après ? : Quand le handicap s'invite au cours de la vie. 2020 Ères Edit... 145-65.
8. Aubert-Godard A, Scelles R, Gargiulo M, et al. Des médecins parlent de leur expérience de l'annonce. *Neuropsychol* 2008 ; 56 : 524-9.
9. Studer RK, Danuser B, Gomez P. Physicians' psychophysiological stress reaction in medical communication of bad news: A critical literature review. *Int J Psychophysiol* 2017 ; 120 : 14-22.
10. Beaujard B, Behin A, Gargiulo M, et al. Revue semi-systématique de la littérature sur l'annonce d'une maladie neuromusculaire à l'âge adulte. (soumis, octobre 2022).
11. Aho AC, Hultsjö S, Hjelm K. Perceptions of the transition from receiving the diagnosis recessive limb-girdle muscular dystrophy to becoming in need of human support and using a wheelchair: an interview study. *Disability and Rehabilitation* 2019 ; 41 : 2289-98.
12. Bakker M, Schipper K, Geurts AC, et al. It's not just physical: a qualitative study regarding the illness experiences of people with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Disability and Rehabilitation* 2017 ; 39 : 978-86.
13. Delaporte C. Ways of announcing a late-onset, heritable, disabling disease and their psychological consequences. *Genetic Counseling* 1996 : 8.
14. Hervier B, Tchegnia L, Champiaux N, et al. Étude qualitative par entretiens individuels des conséquences des myopathies inflammatoires sur la qualité de vie. *Rev Med Int* 2016 ; 37 : A70.
15. Minier L, Lignier B, Bouvet C, et al. A Review of Psychopathology Features, Personality, and Coping in Myotonic Dystrophy Type 1. *J Neuromuscul Dis* 2018 ; 5 : 279-94.
16. Corbet E, GRECO J, GRECO JM. Représentations et réalités de l'annonce du handicap. *Handicaps et inadaptations* 1994 :17-28.
17. Gargiulo M, Korff-Sausse S, Scelles R. Dispositifs psychothérapeutiques : maladies graves et handicaps: une nécessaire créativité. Toulouse: Éditions Ères ; 2021.
18. Ruszniewski M, Rabier G. L'annonce: dire la maladie grave. Dunod ; 2015.
19. Balint M. Le médecin, son malade et sa maladie. Payot ; 1970.
20. Gargiulo M, Salvador M. Vivre avec une maladie génétique. Albin Michel ; 2009.

TIRÉS À PART

B. Beaujard



Avec m/s, vivez en direct les progrès et débats de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur
www.medecinesciences.org

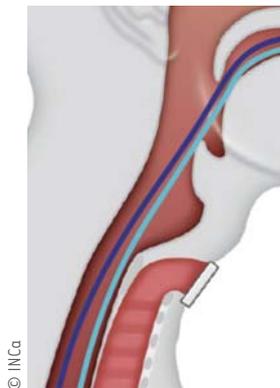
La perte progressive de la fonction musculaire chez les patients atteints d'une maladie neuromusculaire lentement évolutive peut altérer la déglutition, la toux et la ventilation. Ceci peut ainsi entraîner des complications respiratoires graves responsables d'une augmentation de la morbidité et de la mortalité. Une assistance respiratoire adaptée peut restituer une expectoration et une ventilation efficaces et donc prévenir ces complications. Elle est maintenant envisagée dès les stades précoces de la maladie. Par exemple, dans des recommandations récentes, une ventilation non invasive nocturne au masque (VNI) est proposée dès qu'une hypoventilation nocturne est détectée, avant même que les gaz du sang diurnes soient altérés [1].

Malgré une gestion optimale de la ventilation assistée, la progression de la maladie peut entraîner une augmentation du recours à la ventilation mécanique durant la journée et lorsque la durée de VNI diurne devient conséquente (c'est-à-dire plus longue qu'une sieste). L'utilisation d'une pipette (aussi appelée pièce buccale) à la place du masque est, du fait de son caractère non invasif, de plus en plus proposée alors qu'auparavant une trachéotomie se discutait [2,3]. La VNI par masque la nuit avec un relais pris le jour par une pièce buccale permet de maintenir les patients devenus de plus en plus dépendants de la ventilation mécanique, dans quasiment les mêmes conditions et lieux de vie. Elle permet d'éviter les complications liées à la trachéotomie que sont les lésions trachéales et laryngées, l'infection des voies respiratoires, les barotraumatismes, sans compter la lourdeur et le coût des soins liés à cette technique invasive.

Les contraintes imposées par la trachéotomie font que la ventilation invasive n'est proposée que lorsque l'insuffisance respiratoire ne peut plus être gérée par les seules approches non-invasives ou lorsque les techniques d'assistance à la toux ne sont pas suffisamment efficaces [2, 3]. À ce stade évolutif de la maladie, le patient peut choisir d'accepter une trachéotomie ou de ne pas en bénéficier. Dans certains pays ou centres médicaux, de nombreux patients refusent la trachéotomie considérant qu'il s'agit là d'une intervention agressive n'améliorant pas nécessairement le pronostic du fait des complications associées à celle-ci, sans compter les éventuels problèmes de ressources finan-

Les nouvelles recommandations HAS dans la gestion de la trachéotomie chez les patients neuromusculaires

Sandrine Ségovia-Kueny¹, Christian Devaux¹, Emmanuel Maxime¹, Frédéric Lofaso²



© INCa

¹AFM-Téléthon, Département des Actions Médicales, Evry, France.

²Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines et CHU hôpital Raymond Poincaré Garches, France. cdevaux@afm-telethon.fr

cières qu'elle engendre et/ou les conséquences négatives qu'elle peut entraîner sur la qualité de vie. Les médecins contribuent parfois à cette perception négative de la ventilation mécanique invasive. La fréquence des complications de la trachéotomie est un argument souvent cité en défaveur de ce mode de ventilation assistée.

Ces complications ont été décrites il y a plus de vingt ans et reposent essentiellement sur des études dans lesquelles la trachéotomie était effectuée en situation d'urgence ou aiguë plutôt qu'à froid [4]. Parmi les effets secondaires à long terme de la trachéotomie, on peut citer l'augmentation des sécrétions et infections respiratoires, les troubles de la déglutition (dysphagie), les difficultés d'élocution et de communication (perte de la parole), la formation dans la trachée de granulomes voire de véritables fistules trachéo-artérielles à l'origine d'un risque accru d'hémorragie létale, et enfin une détérioration de la qualité de vie. Ces complications sont bien sûr possibles, mais elles peuvent être en grande partie prévenues par une prise en charge optimisée. Comme pour la VNI, la gestion de la ventilation invasive par trachéotomie en période péri-opératoire d'une part, et par les établissements de soins de longue durée d'autre part, s'est améliorée au cours des trente dernières années. Les complications précoces et intermédiaires peuvent être réduites par la réalisation d'une imagerie préopératoire systématique fournissant des informations utiles au choix de la voie d'abord chirurgicale et de la canule de trachéoto-



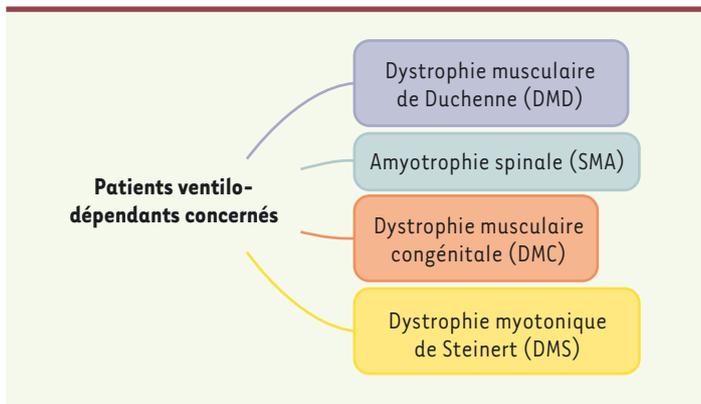


Figure 1. Les principales étiologies des patients neuromusculaires ventilodépendants.

mie. La trachéotomie, lorsqu'elle est programmée, doit être effectuée par un chirurgien expert et doit bénéficier de soins postopératoires prolongés effectués par des équipes expérimentées. Les lésions trachéales observées lors du suivi des patients sont le plus souvent provoquées par des aspirations trachéales traumatiques, un gonflement excessif du ballonnet de la canule ou par un contact entre la trachée et l'extrémité distale de la canule. Toutes ces complications peuvent être évitées par des bonnes pratiques de soins. La trachéomalacie, par exemple, peut être évitée en utilisant dès que possible des canules sans ballonnet (ce qui facilite également la phonation). Pour prévenir l'irritation des muqueuses et la formation de granulomes, un protocole qui définit les techniques d'aspiration doit tenir compte du fait que l'aspiration ne doit jamais dépasser 0,5 cm au-delà de l'extrémité du tube endotrachéal. De plus, il faut encourager les soignants et les aidants à utiliser une technique d'aspiration stérile et à ne pas aspirer les voies respiratoires de manière systématique mais uniquement lorsque cela devient nécessaire. On minimise ainsi l'introduction d'agents pathogènes. Plus généralement, les suites d'une trachéotomie doivent être prises en charge par une équipe multidisciplinaire comprenant des médecins de différentes spécialités (spécialiste en soins intensifs, otorhinolaryngologiste), des infirmières spécialisées, des kinésithérapeutes respiratoires, des orthophonistes et des diététiciens. Cette équipe doit initier les soins et éduquer le patient, la famille, les aidants et les soignants intervenant à domicile.

Finalement, une meilleure prise en charge à long terme de la ventilation invasive couplée aux avancées technologiques du domaine ont considérablement amélioré la situation de handicap vécue par les patients ventilodépendants et trachéotomisés. Lorsque l'indication est bien posée, la trachéotomie ne complique pas outre mesure la phonation [5], la déglutition [6] et la gêne respiratoire [7] chez ces patients. Elle aurait même tendance à les améliorer. Un travail récent fait en collaboration avec l'Association Française contre les Myopathies (AFM-Téléthon) montre que la qualité de vie des patients neuromusculaires trachéotomisés est bonne, voire meilleure sur certains points, chez les patients atteints de pathologies neuromusculaires ventilodépendants trachéotomisés comparés à ceux en ventilation non-invasive [7].

Pour toutes ces raisons, l'AFM-Téléthon, en accord avec la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS regroupant les centres de référence

et de compétences éponymes, a demandé à la Haute Autorité de Santé (HAS) d'établir des lignes directrices sur la « place et la gestion de la trachéotomie dans la prise en charge de la dépendance ventilatoire des patients atteints de maladies neuromusculaires lentement évolutives » [8].

Ces lignes directrices ne concernent pas seulement les indications de trachéotomie et ne sont pas non plus en contradiction avec d'autres recommandations internationales précédemment publiées [2, 3]. Elles visent également à améliorer la prise en charge des patients, la qualité et la sécurité de leurs soins, ainsi que leur qualité de vie ; tout en gardant à l'esprit que la trachéotomie augmente le coût des soins et limite le nombre d'établissements en aval capables d'accueillir ces patients. De plus, il s'agit d'un enjeu éthique important dans la mesure où le choix du traitement influe sur la qualité de vie et sur le pronostic de survie de ces patients.

Ces nouvelles recommandations de bonnes pratiques concernent toute personne atteinte d'une insuffisance respiratoire consécutive à une maladie neuromusculaire lentement évolutive.

Les raisons majeures de cette révision sont donc :

1. Les progrès réalisés dans l'assistance ou la suppléance respiratoire par la ventilation non invasive, notamment de nouveaux modes de ventilations et le recours à la ventilation par pipette (pièce buccale) ; les progrès dans le traitement des données issues des études de sommeil, dans les techniques de toux assistée, avec ou sans aide instrumentale et les avancées obtenues par les études cliniques consacrées aux problèmes de phonation et de déglutition et proposant de nouvelles stratégies de prise en charge [9].
2. Les progrès liés aux thérapies innovantes qui sont en train de bouleverser l'histoire naturelle des pathologies neuromusculaires et qui amènent à de nouvelles réflexions diagnostiques et éthiques.
3. La réévaluation de l'équilibre bénéfices-risques avec les risques importants rapportés, suite à une enquête nationale diligentée par l'AFM-Téléthon, à des hémorragies trachéales survenues en période post chirurgicale et qui ont pu entraîner le décès du patient.

Qui est concerné ? (Figure 1)

- Les patients atteints de pathologies neuromusculaires ventilodépendants.
- Toutes les catégories d'âge sont concernées à l'exception du nouveau-né (< 28 jours).
- Les blessés médullaires et les patients atteints de maladies neurodégénératives à évolution rapide, telles que la sclérose latérale amyotrophique, sont exclus de ces recommandations de bonne pratique.

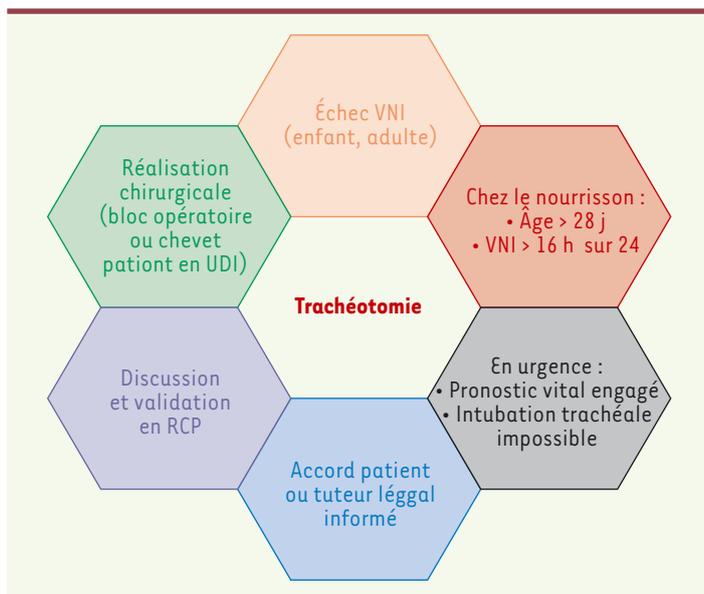


Figure 2. Trachéotomie.

– Les professionnels concernés sont ceux intervenant auprès des personnes atteintes de maladies neuromusculaires : pédiatres, pneumologues, physiologistes de la respiration et de la déglutition, spécialistes du sommeil, anesthésistes-réanimateurs, médecins intensivistes et réanimateurs, chirurgiens, oto-rhino-laryngologistes (ORL), radiologues, médecins de médecine physique et de réadaptation, neurologues, médecins généralistes, infirmier(e)s, orthophonistes, masseurs-kinésithérapeutes, et techniciens de ventilation assistée.

Quand ?

La trachéotomie doit être proposée après information et discussion éclairées avec le patient et ses aidants familiaux, après échec de la VNI et des techniques de toux assistée avec aides instrumentales ou en urgence.

Comment ? (Figure 2)

La décision est prise en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP).

Recommandations prioritaires pour améliorer la qualité des soins délivrés aux patients

- La trachéotomie doit être précédée par des examens complémentaires (échographie cervicale et/ou fibroscopie souple trachéale ou endoscopie selon les pathologies),
- Il est recommandé envisager la trachéotomie qu'après échec de la VNI et des techniques d'assistance à la toux. Elle nécessite un consentement écrit du patient, de sa personne de confiance ou de son tuteur légal, après information éclairée, et à la suite d'une réunion de concertation pluridisciplinaire sur cette question.

– Excepté en situation d'urgence, il est recommandé que la trachéotomie soit exclusivement chirurgicale et réalisée par un opérateur qui en a l'habitude, ce dernier pouvant être chirurgien ou réanimateur.

– Le suivi post-chirurgical de la trachéotomie doit être réalisé en réanimation jusqu'au premier changement de canule.

– Tout saignement post-chirurgical précoce nécessite une évaluation immédiate par un professionnel compétent et au plus vite par l'opérateur.

– Après le premier changement de canule, un passage en unité de surveillance continue ou structure équivalente peut être envisagé et une rééducation de la déglutition et de la phonation est nécessaire.

– En cas d'encombrement, des techniques de drainage bronchique, d'aide à la toux, avec ou sans aide instrumentale (in-exsufflateur, relaxateur de pression) sont recommandées en complément de l'aspiration trachéale. Elles sont préalablement systématiquement testées et optimisées à l'hôpital [10].

– L'éducation du patient et la formation des aidants aux gestes quotidiens et aux conduites à tenir face à certaines situations d'urgence doivent être effectuées avant la sortie de l'hôpital.

– Les canules doivent être changées au minimum tous les 28 jours.

Identification et gestion des complications tardives (Figure 3)

La prévention des complications passe par l'utilisation d'une canule souple et si besoin réajustable. Il est recommandé de privilégier l'utilisation de canules sans ballonnet ou de poursuivre le monitoring de la pression du ballonnet (selon les experts).

– En cas de trachéomalacie, il faut adapter la longueur de la canule (grade B).

– Une fistule entre trachée et tronc artério-brachio-céphalique doit toujours être suspectée devant la découverte d'une hémoptysie et doit faire discuter d'un geste chirurgical en urgence (grade B).

– La trachéotomie doit être accompagnée d'une rééducation de la phonation et d'une prise en charge de la dysphagie [11].

Contre-indications

Elles concernent la personne ou son entourage (refus du patient s'il est majeur et considéré comme capable, que cela ait été exprimé ou non par des directives anticipées ; refus du représentant légal) mais aussi du fait de potentiels obstacles anatomiques à la réalisation de la trachéotomie.



PRÉVENIR LES COMPLICATIONS

- Suivi post-chirurgical réalisé en réanimation jusqu'au premier changement de canule.
- Changement de canules au minimum tous les **28 jours**.
- **Fistule trachéo/TABC** : suspectée par hémoptysie → traitement chirurgical urgent (gr. B).
- Accompagnement : **rééducation de phonation** et **prise en charge de la dysphagie**.
- **Bilan ORL** recommandé → évaluation de déglutition.
- Aspirations endo-trachéales par sonde souple. **Instillations déconseillées**.

ACCOMPAGNEMENT DU PATIENT ET DE LA FAMILLE

- Éducation du patient et/ou formation des aidants **avant sortie d'hôpital**.

Figure 3. Complications tardives.

Perspectives

Il faut œuvrer au développement de programmes de recherche, d'éducation thérapeutique, de maîtrise des aides instrumentales par les soignants et les aidants, augmenter les centres d'accueil de répit des familles et des patients, élargir les compétences en permettant la pratique de l'in-exsufflation par les infirmières et des aspirations trachéales par les aides-soignantes, etc.

Enfin, le développement des thérapies innovantes (qu'il s'agisse ou non de biothérapies) peut conduire à redéfinir et à adapter de manière continue les présentes recommandations [12]. ♦

New HAS recommendations for managing tracheotomy in neuromuscular patients

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Wolfe LF, Benditt JO, Aboussouan L, et al. Optimal NIV Medicare Access Promotion: Patients With Thoracic Restrictive Disorders: A Technical Expert Panel Report From the American College of Chest Physicians, the American Association for Respiratory Care, the American Academy of Sleep Medicine, and the American Thoracic Society. *Chest* 2021 ; 160 : e399-e408.
2. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management. *The Lancet Neurology* 2018 ; 17 : 347-361.

3. Windisch W, Waltersbacher S, Siemon K, et al. Guidelines for non-invasive and invasive mechanical ventilation for treatment of chronic respiratory failure. *Pneumologie* 2010 ; 64 : 640-652.
4. Dhand R, Johnson JC. Care of the chronic tracheostomy. *Respir care* 2006 ; 51 : 984-1001 ; discussion 1002-1004.
5. Prigent H, Gargiulo M, Pascal S, et al. Speech effects of a speaking valve versus external PEEP in tracheostomized ventilator-dependent neuromuscular patients. *Intensive Care Med* 2010 ; 36 : 1681-1687.
6. Terzi N, Prigent H, Lejaille M, et al. Impact of tracheostomy on swallowing performance in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Dis* 2010 ; 20 : 493-498.
7. Delorme M, Réveillère, Devaux C et al. Quality-of-Life in patients with slowly progressive neuromuscular disorders dependent on mechanical ventilation. *Thorax*. Published on line September 2022.
8. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-12/reco291_recommandations_rbp_tracheotomie_11_2020_mel.pdf
9. Boussaid G, Lofaso F, Santos DB, et al. Place de la trachéotomie dans la prise en charge de la dépendance ventilatoire des maladies neuromusculaires évolutives. *Respir Med* 2016 ; 115 : 26-32.
10. Prigent H, Lejaille M, Terzi N, et al. Effect of a tracheostomy speaking valve on breathing-swallowing interaction. *Intensive Care Med* 2012 ; 38 : 85-90.
11. Chatwin M, Toussaint M, Gonçalves MR, et al. Airway clearance techniques in neuromuscular disorders: A state of the art review. *Respir Med* 2018 ; 136 : 98-110.
12. Pechmann A, Langer T, Schorling D, et al. Evaluation of children with SMA Type 1 under Treatment with nusinersen within the expanded access program in Germany. *J Neuromuscul Dis* 2018 ; 5 : 135-143.

TIRÉS À PART

C. Devaux



Tarifs d'abonnement m/s - 2022

Abonnez-vous
à *médecine/sciences*

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur
www.medecinesciences.org



Lu pour Vous Génétique

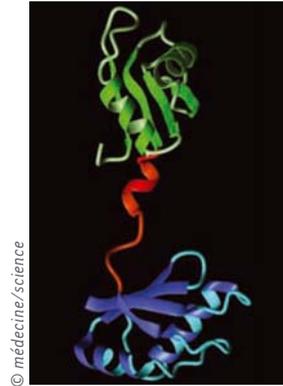
Valérie Allamand



Vers une meilleure détection des variants introniques et autres anomalies d'épissage complexes dans les dystrophinopathies

Résumé

Les dystrophinopathies sont causées par des altérations du gène *DMD*. Environ 1 % des patients restent toutefois sans diagnostic génétique de certitude, car les méthodes standard ne détectent pas les variants introniques. Dans l'étude citée en référence [1], les auteurs ont combiné des analyses expérimentales et *in silico* afin d'identifier ces variants pathogéniques rares chez des patients atteints de dystrophinopathie sans diagnostic moléculaire. Ils ont aussi déterminé les mécanismes de régulation entraînant la production de transcrits anormaux du gène *DMD*. Grâce au séquençage du transcriptome (RNA-seq), les chercheurs ont analysé les transcrits *DMD* de 20 patients présentant tous un déficit en dystrophine sur la biopsie musculaire mais chez qui aucun variant exonique n'avait été détecté. Le séquençage du génome entier a par ailleurs révélé des variants introniques dont les conséquences fonctionnelles ont été interprétées grâce à des outils bio-informatiques. Un séquençage ciblé de longs fragments d'ADN a été réalisé dans les cas avec suspicion d'anomalies génomiques structurelles. Des transcrits *DMD* anormaux ont ainsi pu être identifiés dans 19 des 20 cas, répartis ainsi : quinze cas avec un pseudo-exon par rétention de séquences introniques, un cas avec saut d'exon, deux cas dus à un épissage et polyadénylation aberrants, et un cas avec terminaison prématurée de la traduction. Des variations nucléotidiques uniques (ou SNV pour *single nucleotide variation*) dans des introns, des réarrangements chromosomiques et une expansion répétée de nucléotides ont aussi été détectés comme cause de transcrit altéré. Ces approches combinées ont donc permis de détecter



© médecine/science

Sorbonne Université-Inserm,
Centre de Recherche en Myologie,
Institut de Myologie,
Paris, France.
valerie.allamand@inserm.fr

des événements pathologiques causant la maladie, ce qui constitue un pré-requis pour envisager des interventions thérapeutiques ciblées.

Commentaire

L'errance diagnostique est une problématique réelle, malgré les énormes avancées technologiques de ces dernières années, notamment concernant les techniques de séquençage à haut débit (ou NGS pour *next-generation sequencing*). L'étude présentée ici est un exemple élégant de stratégie combinatoire permettant d'identifier des variants difficilement accessibles par les techniques classiques. Par ailleurs, l'approche reposait aussi sur l'étude immunohistochimique des biopsies musculaires de patients, afin de n'inclure que des patients avec un déficit avéré en dystrophine. C'est la complémentarité des expertises (clinique, histopathologique, chercheurs) qui a fait le succès de cette étude. À n'en pas douter, la combinaison des études de transcrits (RNA-seq), du génome (WGS pour *whole genome sequencing*) et l'utilisation des outils de prédiction informatiques sera aussi très utile pour d'autres cas de patients en errance diagnostique.

Cette étude a permis non seulement d'apporter un diagnostic génétique de certitude aux 20 patients inclus, mais elle a aussi mis en évidence des mécanismes pathologiques complexes, dont certains, comme les rétentions d'introns qui deviennent exoniques, peuvent être ciblés par des thérapies d'*exon skipping*. À noter que la pertinence de l'étude présentée a été saluée par la *World Muscle Society* qui l'a mise en valeur en tant que *Publication Highlights* sur son site web [2]. ♦

Towards a better detection of intronic variants and other complex splicing abnormalities in dystrophinopathies

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Okubo M, Noguchi S, Awaya T, et al. RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet* 2022 Sep 1. Epub ahead of print.
2. <https://www.worldmusclesociety.org/news/publication-highlights>

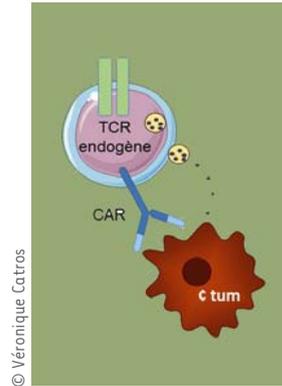
Les cellules CAR-T

Des nouvelles armes dans la lutte contre la fibrose musculaire ?

Résumé

La reprogrammation de cellules T en CAR-T *cells* peut être réalisée *in vivo* et permet la destruction sélective des cellules responsables de la fibrose dans un modèle d'insuffisance cardiaque chez la souris. Les CAR-T *cells* sont des lymphocytes T génétiquement programmés pour exprimer un récepteur antigénique chimérique et sont activés au contact de la cellule exprimant l'antigène correspondant. Ce concept a été initialement développé pour cibler différents types de cancers mais pourrait être étendu à la destruction, par des cellules T activées, de tout type cellulaire, pourvu qu'il exprime l'antigène d'intérêt. La modification génétique nécessaire peut être réalisée par des outils classiques (vecteurs viraux) et aussi par l'introduction d'ARN messagers (ARNm) codant ces séquences chimériques, d'une manière plus transitoire du fait du caractère fugace de la stabilité des ARNm. Une plus grande efficacité peut également être obtenue en incorporant ces ARNm dans des nanoparticules lipidiques. Les phénomènes de fibrose que l'on observe dans de nombreux tissus résultent de l'activation de cellules spécialisées appelées fibroblastes, cellules stromales, ou progéniteurs fibro-adipogéniques. Si le remodelage matriciel est nécessaire dans de nombreux processus physiologiques, un excès persistant de matrice extracellulaire sous forme de fibrose peut s'avérer pathologique et entraîner des dysfonctionnements tels qu'une insuffisance cardiaque. La fibrose musculaire est également l'une des causes des défauts de régénération des muscles, dans certains processus myopathiques, et de leur perte de fonction. L'activation de ces cellules s'accompagne de l'expression de plusieurs protéines de surface dont la FAP (Fibroblast Activation Protein) qui peut être ciblée par des récepteurs chimériques portés par des CAR-T *cells*.

Dans l'étude citée en référence [1], des nanoparticules lipidiques (LNP) sont décorées d'anticorps anti-CD5, ce



Sorbonne Université - Inserm,
Centre de Recherche en
Myologie, Institut de Myologie,
Paris, France.
alexandrabayerw@gmail.com
jt.vilquin@institut-myologie.org

qui leur permet d'être captées sélectivement par les cellules T, cette efficacité d'incorporation étant ainsi validée *in vitro*. Les ARNm codant un récepteur antigénique chimérique reconnaissant ensuite la protéine FAP ou des protéines permettant le suivi des cellules (GFP) sont incorporés dans ces LNP ; l'efficacité de transduction est d'abord établie *in vitro*, puis *in vivo* par injection intraveineuse chez la souris. L'expression du récepteur chimérique de FAP est observée à haut niveau dans les cellules T des animaux, en particulier dans la rate. Cette expression est transitoire, comme anticipé. En étant capables d'extraire les molécules de surface FAP exprimées par les cellules en contact, ces cellules T modifiées réalisent le phénomène dit de trogocytose *in vitro* et *in vivo*, ce qui valide leur fonctionnalité. Elles sont également capables de tuer les cellules exprimant la protéine FAP *in vitro*. Enfin, l'efficacité fonctionnelle est testée dans un modèle murin d'insuffisance et de fibrose cardiaques induites par l'administration continue d'angiotensine II et de phényléphrine. Après apparition de la fibrose, l'injection intraveineuse de 10 µg de LNP entraîne une amélioration des paramètres fonctionnels (amélioration de la fraction d'éjection, stabilisation des volumes cardiaques) et une régression en deux semaines de la fibrose cardiaque interstitielle, tandis que les CAR-T *cells* sont observées aux sites initiaux de la fibrose.

Commentaire

Cette preuve de concept d'une utilisation alternative des CAR-T *cells*, qui ont déjà fait leurs preuves dans le traitement de certains cancers, tire aussi parti des récents progrès accomplis dans la conception, la réalisation et l'administration chez l'homme, et ce à très grande échelle, de vaccins dits « à ARN » utilisés pour lutter contre la récente pandémie de SARS-Cov2. La stabilisation des ARNm obtenue par l'incorporation de motifs nucléosidiques, l'addition de queues de poly-A et l'optimisation de codons a permis d'améliorer leur stabilité et leur efficacité, tout comme leur incorporation à des LNP décorées d'anticorps de ciblage



spécifiques. Le concept de la production de CAR-T *cells in situ* permet ici de s'affranchir des étapes complexes de séparation des populations cellulaires, de modification génique, d'expansion éventuelle *in vitro*, de qualification, et d'administration au patient, toutes choses inhérentes à ces thérapies par transfert adoptif, ce dernier procédé consistant à utiliser les cellules T des patients (autologues) après les avoir potentialisées *in vitro*. La faisabilité d'une transduction directe *in vivo* avec ces nouveaux outils paraît meilleure que celle obtenue par l'administration de vecteurs classiques. Enfin, le caractère transitoire de l'expression des récepteurs chimériques, conféré par l'utilisation des ARNm qui sont labiles par nature, permet d'envisager un effet ponctuel, cet effet pouvant être renouvelé si besoin, gage de flexibilité et de sécurité de l'approche. Dans certaines pathologies, en effet, cibler un mécanisme physiologique tel que la fibrose, un phénomène essentiel à la cicatrisation naturelle des tissus, peut s'avérer délétère sur le long terme. La présence permanente de CAR-T *cells* n'est pas nécessairement souhaitée, au contraire des effets recherchés dans le traitement des cancers.

De la fibrose cardiaque à la fibrose qui touche et caractérise de nombreuses formes de myopathies, il n'y a qu'un pas conceptuel que l'on aimerait s'autoriser à franchir... Il serait tentant en effet d'expérimenter cette approche innovante et ces constructions dans des modèles animaux de dystrophie musculaire caractérisés par un ou plusieurs types de fibrose, tels que les souris DBA2-MDX, les rats DMD-MDX, ou même les chiens GRMD par ordre de volume tissulaire croissant. Ce traitement

permettrait-il de rétablir l'équilibre entre dégénérescence et régénération? Chez ces animaux, il serait en outre intéressant d'évaluer l'impact simultané sur les fibroses musculaires cardiaque et squelettique, d'autant qu'une régression de la fibrose est même observée ici. Cependant, il sera nécessaire d'identifier la cible cellulaire exacte parmi les différentes sous-populations de cellules fibrogéniques, d'évaluer l'impact à long terme sur les différentes sous-populations de lymphocytes T, et de mieux comprendre le délicat équilibre entre les différents acteurs cellulaires de la régénération musculaire (cellules myogéniques, stromales, angiogéniques, pro- et anti-inflammatoires...). ♦

CAR-T cells: therapeutic weapons to fight muscle fibrosis?

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCE

1. Rurik JG, Tombácz I, Yadegari A, et al. CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury. *Science* 2022 ; 375 : 91-96.

LE BILLET DU LUNDI



Un nouveau service de la Filière de Santé FILNEMUS est disponible depuis début 2020

Une info-lettre hebdomadaire gratuite vous tient informés :

- de l'actualité de la filière
- des publications du domaine
- des webinars programmés
- des appels à collaboration en cours
- et d'un agenda événementiel régulièrement mis à jour

Pour l'obtenir, et si ce n'est pas déjà fait, inscrivez-vous sur le site Filnemus
<http://www.filnemus.fr/>

Thermosensibilité et déficits en protéine trifonctionnelle mitochondriale

Résumé

La β -oxydation mitochondriale des acides gras (β -OAG) permet la production d'ATP issue des acides gras dans les tissus très consommateurs d'énergie tels que le muscle squelettique, le muscle cardiaque et le foie. Cette voie métabolique est d'autant plus importante que l'individu est en situation de jeûne. La β -OAG repose sur quatre réactions séquentielles (une déshydrogénation, une hydratation, de nouveau une déshydrogénation et enfin une thiolisation), l'ensemble aboutissant à la production d'acyl-CoA et d'acétyl-CoA. Ce dernier métabolite est ensuite incorporé dans le cycle de Krebs pour finaliser l'oxydation, permettant ainsi la génération de NADH et FADH₂ et la fourniture d'électrons à la chaîne respiratoire mitochondriale qui peut ainsi fabriquer de l'ATP.

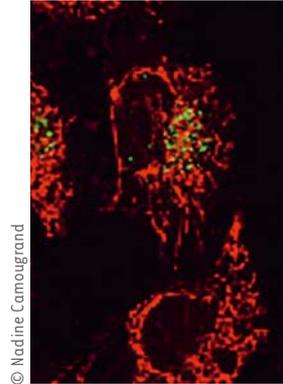
Chez l'homme, la β -OAG utilise principalement les acides gras à 16 et 18 carbones, dits acides gras à très longue chaîne (AGLC), lesquels abondent dans l'alimentation chez l'adulte. La protéine trifonctionnelle mitochondriale (MTP pour *mitochondrial trifunctional protein*) est un complexe multienzymatique qui catalyse les trois dernières étapes de la β -OAG des acides gras à longue chaîne grâce à trois enzymes : l'énoyl-CoA hydratase à longue chaîne (LCEH), l'hydroxyacyl-CoA déshydrogénase à longue chaîne (LCHAD) et la cétoacyl-CoA thiolase à longue chaîne (LCKAT). Si les LCEH et LCHAD sont situées sur la sous-unité α et codées par le même gène (*HADHA*), la LCKAT est située sur la sous-unité β et est codée par le gène *HADHB*.

Les déficits en MTP comprennent le déficit généralisé en MTP, le déficit isolé en LCHAD et le déficit isolé en LCKAT. Les déficits en MTP sont à l'origine de phénotypes cliniques très variables, allant de défaillances cardio-hépatiques avec hypoglycémie hypocétosique chez le nourrisson,

jusqu'à, chez l'adulte, des tableaux de myopathie, de rhabdomyolyses à répétition et de neuropathie périphérique, avec ou sans rétinopathie pigmentaire. Les situations entraînant une augmentation de la demande énergétique, ou une restriction de l'utilisation du glucose, telles qu'un exercice, une fièvre ou un jeûne, peuvent aboutir à une décompensation métabolique chez les patients atteints d'un déficit en MTP.

Dans le cas spécifique de la fièvre, une activité enzymatique réduite lors de températures corporelles plus élevées peut avoir un impact supplémentaire sur l'intensité de la décompensation métabolique. Cela a déjà été démontré chez des patients atteints d'autres troubles de la β -OAG, à savoir les déficits en acyl-CoA déshydrogénase à chaîne moyenne (MCAD), en acyl-CoA déshydrogénase à très longue chaîne (VLCAD) et en carnitine palmitoyl transférase 2 (CPT2). Cette thermosensibilité est particulièrement significative chez des patients portant des variants faux-sens aboutissant à des activités enzymatiques résiduelles relativement élevées et des phénotypes moins sévères.

Les auteurs de l'article cité en référence [1] ont rapporté cinq patients atteints d'un déficit en MTP lié à des variants faux-sens du gène *HADHB*. Les patients présentaient depuis l'enfance (début du premier épisode entre 2 et 10 ans d'âge) des symptômes musculaires (myalgies, rhabdomyolyse ou faiblesse musculaire) apparaissant lors d'épisodes fébriles, lors de prises d'alcool, en situation de jeûne ou d'activité physique intense. La sévérité du tableau a parfois nécessité une hospitalisation, parfois en soins intensifs. Le taux, intercritique des CPK était dans la norme. Le profil des acylcarnitines a montré des élévations modérées d'acyl et de hydroxyl-acylcarnitines C14-, C16- et C18 chez deux patients. Trois patients avaient des profils normaux entre les épisodes de décompensation. L'électroneuromyogramme réalisé chez trois patients a montré des tracés neurogènes chez deux d'entre eux et des tracés de faible amplitude chez le troisième. La biopsie musculaire réalisée chez quatre patients s'est avérée normale



© Nadine Camougrand

Centre de Référence des
Maladies Neuromusculaires
Nord-Est/Île-de-France et
Centre de Référence des
Maladies Lysosomales, GHU
Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris,
France.
gorka.fernandez@aphp.fr



chez trois d'entre eux, et compatible avec une myopathie métabolique chez un seul. Un seul patient présentait une rétinopathie modérée mais avec des électrorétinogrammes (ERG) normaux.

Chez quatre patients, les activités enzymatiques de LCHAD, LCKAT et SCHAD ont été analysées sur fibroblastes. Les activités LCHAD et LCKAT étaient modérément réduites par rapport à la référence chez tous les patients. Cependant, les activités enzymatiques résiduelles étaient relativement élevées par rapport à celles des patients avec déficit en MTP déjà rapportés dans la littérature. La culture des fibroblastes à 40 °C *versus* 37 °C a nettement diminué l'activité des LCHAD et LCKAT chez trois patients et de la LCKAT de façon isolée chez un patient, tandis que l'activité de la SCHAD restait stable (contrôle). Une réduction des niveaux des sous-unités α et β à 40 °C *versus* 37 °C a été également observée en immunoblot chez trois patients.

L'impact fonctionnel de cette réduction de l'activité enzymatique en lien avec l'augmentation de la température a été démontré par l'étude des flux de AGLC et du test de charge au palmitate. Les flux des AGLC étaient normaux à 37 °C pour tous les patients par rapport aux fibroblastes des patients contrôles, mais diminués après culture des cellules à 40 °C. Le test de charge au palmitate à 37 °C sur les fibroblastes n'a montré aucune accumulation des carnitines ; par contre, à 40 °C il a été observé une accumulation des carnitines C12-, C14-, C16- et OH-C16 chez le patient 1 (le seul à avoir été testé).

Commentaire

Avec cette série de cas, les auteurs veulent attirer l'attention sur la thermosensibilité observée dans certaines erreurs innées du métabolisme, y compris dans le déficit en MTP [2]. Les cinq patients rapportés dans l'article présentaient peu de symptômes ou de signes de la maladie en période intercritique hormis une abolition inconstante des réflexes ostéo-tendineux. Le caractère paucisymptomatique de la maladie concorde avec l'impact moindre sur la conformation et la fonction du complexe MTP des variants faux-sens du gène *HADHB* découverts chez les cinq patients. Néanmoins, la relative bénignité du tableau clinique contraste avec le risque de décompensation grave et/ou de rhabdomyolyse qui peuvent amener à admettre, le cas échéant, le patient en soins intensifs.

Du fait de la normalité, à l'état basal, des CPK, de la biopsie musculaire et du profil des acylcarnitines, et en raison de la réduction modérée de l'activité enzymatique à 37 °C, le diagnostic peut être difficile avec un retard conséquent. Pour éviter cette errance, plusieurs conseils peuvent être donnés : la réalisation du profil des acylcarnitines lors des décompensations aiguës augmente les chances de mettre en évidence un profil altéré, car la fièvre ou l'exercice sont de nature à augmenter les concentrations d'acylcarnitine chez les patients atteints d'un déficit en MTP thermosensible. Les auteurs

insistent aussi sur l'importance du dépistage génétique chez des patients présentant des épisodes de décompensation compatibles avec une EIM. Le recours à des panels de gènes de maladies métaboliques doit être large et encouragé. Tout ceci devrait permettre de réduire le délai diagnostique de ces maladies potentiellement graves et de déboucher sur des mesures prophylactiques appropriées. Les mesures préventives comprennent une restriction des apports en AGLC et une supplémentation en triglycérides de moyenne chaîne et/ou en glucides. Celles-ci ont montré des effets bénéfiques chez les patients se pliant à ce régime. Outre ces conseils diététiques, un traitement antipyrétique énergétique est recommandé lors des épisodes fébriles.

Bien que le mécanisme sous-jacent conduisant à la thermosensibilité du complexe MTP n'ait pas encore été élucidé avec précision, les auteurs font l'hypothèse que le stress thermique pourrait avoir un effet sur la stabilité conformationnelle du complexe protéique. Pour étayer cette théorie, ils s'appuient sur la diminution marquée des niveaux des sous-unités α et β observée sur l'immunoblot à 40 °C par rapport à 37 °C chez les patients étudiés. Ainsi, les variants faux-sens pourraient entraîner des modifications des acides aminés avec un effet délétère modéré sur le repliement des protéines, sans modification ou presque des activités enzymatiques. Néanmoins, l'altération sur la stabilité conformationnelle globale du complexe protéique peut conduire au dépliement et/ou à l'agrégation des protéines sous l'effet de températures élevées. Dans ce contexte, l'utilisation de protéines chaperones pourrait avoir un intérêt thérapeutique. \diamond

Thermosensibility and mitochondrial trifunctional protein deficiencies

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Schwantje M, Ebberink MS, Doolaard M, et al. Thermo-sensitive mitochondrial trifunctional protein deficiency presenting with episodic myopathy. *J Inherit Metab Dis* 2022 ; 45 : 819-831.
2. Bastin J, Djouadi F. Anomalies de la β -oxydation mitochondriale des acides gras - Maladies rares et maladies communes [Dysfunctions of mitochondrial fatty acid β -oxidation in rare and common diseases]. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 779-786.

Retrouvez toutes les Actualités de la Myologie sur les sites de :

la Société Française de Myologie
www.sfmyologie.org



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS
www.filmemus.fr



Myopathies inflammatoires et anoctaminopathies

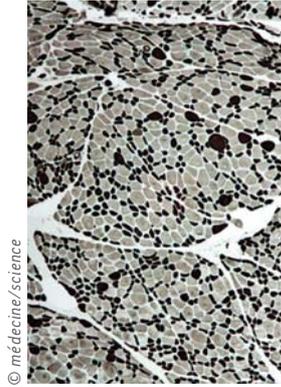
Les points-clés pour éviter les erreurs diagnostiques

Résumé

Les myopathies inflammatoires constituent un sous-groupe de maladies musculaires très hétérogènes par leur présentation clinique, leur profil histologique et sérologique, leur association ou non à des manifestations extra-musculaires, et par leur réponse au traitement. À ce jour, la stratégie thérapeutique dans ces myopathies repose davantage sur des recommandations d'experts plutôt que sur des conclusions d'essais de phase 3. Un certain nombre de ces affections sont, de plus, résistantes à une ou plusieurs lignes thérapeutiques. Cependant, l'absence de réponse aux traitements immunosuppresseurs classiques constitue un drapeau rouge devant amener le clinicien à remettre en question le diagnostic initial de myopathie inflammatoire.

La dystrophie musculaire des ceintures de type R12 liée à l'anoctamine-5 (ex-LGMD 2L ou anoctaminopathie) est une affection autosomique récessive causée par des variants pathologiques du gène *ANO5*. Les présentations cliniques associées à cette dystrophie musculaires sont variées, allant d'une hyperCKémie chronique asymptomatique jusqu'à des myalgies d'effort combinées ou non à une faiblesse musculaire proximale et/ou distale. Le début est habituellement tardif, avec un pic autour de 35 ans chez l'adulte.

Dans l'article cité en référence [1], Marago *et al.* présentent quatre observations de patients ayant une LGMDR12 prouvée chez qui un diagnostic erroné de myopathie inflammatoire avait été initialement porté. Il s'agissait de trois hommes et d'une femme, sans antécédents familiaux de maladie musculaire, âgés en moyenne de 51 ans (37-72) ; un patient présentait une intolérance à l'effort, deux patients avaient des



© médecine/science

Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, CHU La Timone, France.

emmanuelle-salort-campana@ap-hm.fr

myalgies permanentes, et un patient présentait une faiblesse à nette prédominance distale. Les taux de CPK variaient de 1 345 jusqu'à 6 375 UI/L. La prise de corticoïdes a permis de diminuer le taux de CPK chez certains. Les auto-anticorps spécifiques des myosites étaient absents à l'exception d'un patient chez qui la présence d'anti-Mi2 s'est avérée être un faux positif. L'IRM musculaire mettait en évidence des signes variables d'infiltration fibro-adipeuse, d'atrophie et d'œdème musculaire, prédominant sur la face postérieure des cuisses et des jambes. Les biopsies musculaires mettaient en évidence des signes aspécifiques d'atteinte myopathique, sans infiltrat inflammatoire. Cependant, chez deux patients, on retrouvait une surexpression focale de l'HLA de classe I faisant évoquer une myopathie nécrosante auto-immune. Tous les patients ont reçu plusieurs lignes de traitements immunosuppresseurs sans efficacité aboutissant à un retard diagnostique important, allant jusqu'à 15 ans pour l'un d'entre eux.

Commentaire

Certaines maladies musculaires génétiquement déterminées constituent des diagnostics différentiels importants des myopathies inflammatoires. Parmi celles-ci, on peut citer plus particulièrement certaines dystrophies musculaires comme les dysferlinopathies, les calpainopathies, ou les dystrophies musculaires facio-scapulo-humérales (FSHD1 et FSHD2), et des myopathies métaboliques comme la maladie de McArdle ou la maladie de Pompe [2]. Les observations de Marago *et al.* rappellent que l'anoctaminopathie (LGMDR12) peut également mimer une myopathie inflammatoire. Ces travaux ont aussi le mérite de relever quelques pièges diagnostiques ayant contribué à un diagnostic erroné.

— Les taux de CPK peuvent baisser après la corticothérapie dans les dystrophies musculaires donnant l'impression faussement rassurante d'une réponse positive au traitement.



– La présence d'auto-anticorps, spécifiques ou non, de myosite, doit toujours être interprétée dans le contexte clinique, sous peine de conclure à tort à une myopathie inflammatoire.

– La présence d'un œdème musculaire à l'IRM en séquence T2/STIR peut être observée également dans les myopathies héréditaires et ne doit pas être interprétée à l'excès comme une inflammation témoignant d'une myosite active.

Les anoctaminopathies sont des affections lentement progressives, volontiers asymétriques, touchant de manière prédominante les membres inférieurs. Tout comme les dysferlinopathies dont le phénotype est assez proche, avec toutefois un âge de début plus précoce, cette forme de dystrophie musculaire autosomique récessive s'accompagne fréquemment d'une atteinte distale parfois au premier plan. Dans les cas d'anoctaminopathie inclus dans l'étude, le caractère distal et/ou sélectif et/ou asymétrique de l'atteinte musculaire clinique et à l'IRM musculaire aurait pu/dû orienter d'emblée vers ce diagnostic.

Dans le même ordre d'idée, un article de Hauw *et al.* signalait en 2021 que 3,2 % de patients atteints de neuropathie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) avaient été diagnostiqués et traités initialement comme une polyradiculoneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique (CIDP) au sein d'une cohorte de 1104 patients français diagnostiqués [3]. Le surcoût de ces patients traités à tort avait été évalué à 4,6 millions d'euros alors que le coût de l'analyse génétique, si celle-ci

avait été réalisée plus systématiquement, était estimé à 2,7 millions. Sans faire d'analogie directe entre ces deux cadres diagnostiques, il serait probablement intéressant de proposer plus précocement l'avis d'un centre de référence expert en pathologie neuromusculaire et d'analyser un panel de gènes de dystrophies musculaires devant toute myopathie inflammatoire résistant au traitement. ♦

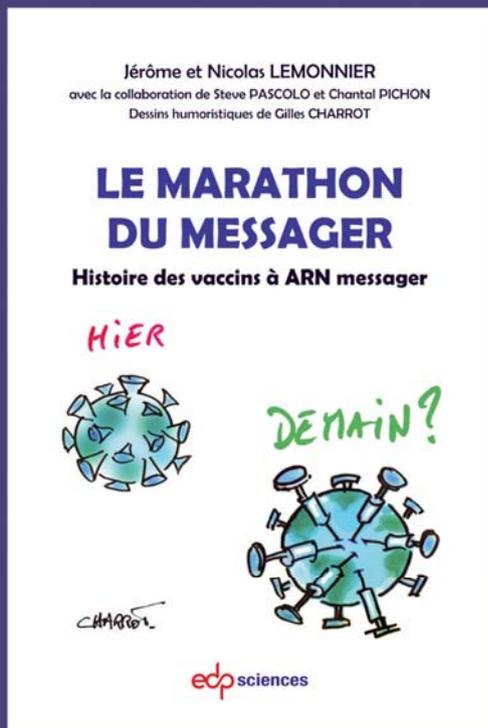
Inflammatory myopathies and anoctaminopathies: key points to avoid misdiagnosis

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Marago I, Roberts M, Roncaroli F, *et al.* Limb girdle muscular dystrophy R12 (LGMD 2L, anoctaminopathy) mimicking idiopathic inflammatory myopathy: key points to prevent misdiagnosis. *Rheumatology* 2022 ; 61 : 1645-1650.
2. Mammen AL. Which nonautoimmune myopathies are most frequently misdiagnosed as myositis? *Curr Opin Rheumatol* 2017 ; 29 : 618-622.
3. Hauw F, Fargeot G, Adams D, *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease misdiagnosed as chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: An international multicentric retrospective study. *Eur J Neurol* 2021 ; 28 : 2846-2854.



Le livre qui remet le point sur le i de vaccin

La véritable histoire des vaccins à ARNm

Ce livre offre de passionnantes perspectives sur les origines avant tout européennes de l'histoire de ces vaccins.

Des chercheurs allemands et français ont en effet imposé un nouveau concept thérapeutique, en définissant les clés biotechnologiques qui allaient ouvrir la voie à la préparation de l'ARN messager thérapeutique dans la lutte contre les cancers et les infections virales.

Toutefois, revues scientifiques et leaders d'opinion américains taisent cet aspect de l'histoire. Il est grand temps que les Européens rétablissent la vérité, en rappelant le rôle essentiel qui a été le leur dans la mise au point des vaccins à ARN messager.

ISBN : 978-2-7598-2663-6 248 pages - 22 € TTC

En vente sur la boutique edpsciences.org

> Le gène *RYR1* (Ryanodine-Receptor-1) code pour une protéine-clé dans le processus de couplage excitation-contraction de la fibre musculaire. Ce récepteur est le principal canal de libération du calcium à partir du réticulum endoplasmique [1]. Un certain nombre de phénotypes cliniques sont imputables aux mutations de ce gène de grande taille comme rappelé dans la liste établie par ORPHANET (voir *Encadré*). Nous décrivons, dans ce travail, deux phénotypes distincts, et trompeurs à certains égards, en rapport avec des mutations de ce gène. <

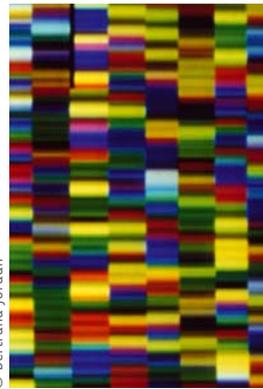
Observation n° 1

Dans la première famille (famille 1, *Figure 1*), le propositus présentait un phénotype ayant fait évoquer une forme pseudomyopathique de syndrome myasthénique congénital (SMC). Le patient était le seul atteint au sein d'une fratrie de huit enfants issus d'un couple algérien consanguin. Comme indiqué sur l'arbre généalogique, d'autres membres de la parentèle pourraient être atteints mais ils n'ont pas été examinés. L'histoire clinique du patient index était marquée par une hypotonie néonatale suivie d'une ptose palpébrale fluctuante sur plusieurs semaines, ainsi qu'une fatigabilité musculaire très lentement progressive. Cette fatigabilité apparue vers de l'âge de 7 ans pouvait s'aggraver de manière nettement fluctuante dans la journée, et parfois même sur plusieurs semaines.

Sur le plan fonctionnel, le périmètre de marche était réduit à 300 mètres et le patient présentait des difficultés à se relever du sol (signe de Gowers positif). L'examen clinique révélait une ophtalmoplégie complète avec ptosis bilatéral, un déficit des muscles du visage y compris au niveau des orbiculaires des yeux, une dysphagie aux liquides, et enfin un déficit moteur aux quatre membres prédominant en proximal et à l'origine d'une démarche dandinante. Le score myasthénique était à 55/100. Les données paracliniques sont résumées dans le tableau comparatif (*Tableau 1*). L'ENMG était myopathique avec présence d'un décré-

La grande variabilité phénotypique des mutations du gène *RYR1*

Mohamed Islam Kediha¹, Sonia Nouioua²,
Meriem Tazir¹, Damien Sternberg³, Joël Lunardi⁴,
Lamia Ali Pacha¹



¹Service neurologie, CHU Mustapha Pacha Alger, Algérie.

²Service neurologie, EHS Cherrhell Tipaza, Algérie.

³Unité de myogénétique, Hôpital Pitié Salpêtrière Paris, France.

⁴Département biochimie et génétique moléculaire, CHU Grenoble, France.

jlunardi@chu-grenoble.fr

ment franc. Une atrophie des fibres de type II a été retrouvée sur la biopsie musculaire, comme c'est souvent le cas dans les SMC [2]. Sur les bases de la clinique et des données de laboratoire, le diagnostic de SMC a été retenu et a conduit à la mise en route d'un traitement symptomatique à base de pyridostigmine. Certains signes cliniques se sont améliorés : le périmètre de marche est passé à 500 mètres et le score myasthénique a atteint 65/100. L'étude génétique a permis d'identifier un variant pathologique à l'état homozygote situé dans l'exon 79 du gène *RYR1*. Cette mutation p.R3772W a déjà été rapportée dans la littérature [3] en lien avec un phénotype de myopathie congénitale (MC) et une susceptibilité à l'hyperthermie maligne (HM).

Observation n° 2

Les patientes de la famille 2 sont deux sœurs d'origine palestinienne issues d'une union consanguine (famille 2, *Figure 2*). Leur phénotype était en faveur d'une myopathie congénitale avec un déficit moteur proximal, précoce et non fluctuant, présent aux quatre membres. Une scoliose sévère avec retentissement respiratoire était également notée. Leurs données paracliniques sont résumées dans le tableau comparatif. On retiendra le caractère myopathique de l'EMG, la présence de cores sur la biopsie musculaire et une augmentation significative des enzymes musculaires (à six fois la normale). Une mutation homozygote de l'exon 40 du gène *RYR1* a été retrouvée dans cette famille. Ce variant référencé p.T2206M est associé à une susceptibilité

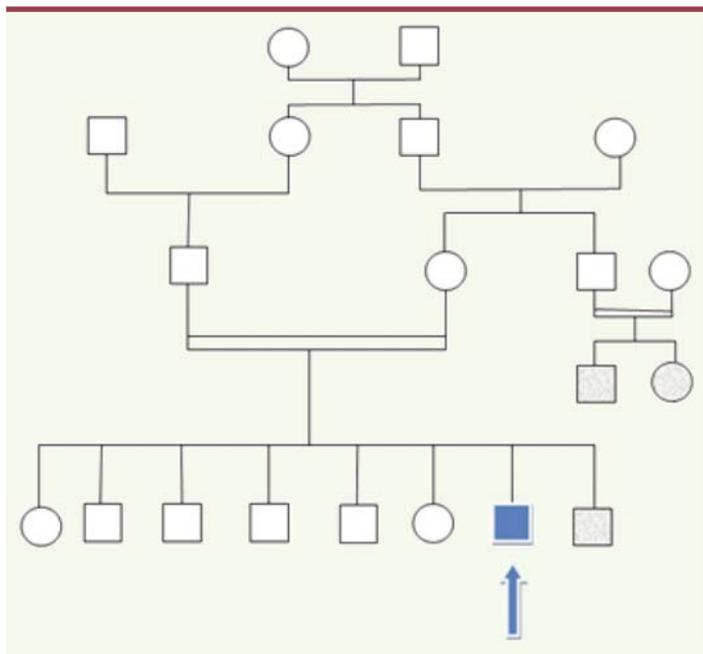


Figure 1. Famille 1 (phénotype SMC). Les sujets représentés en grisé auraient un phénotype superposable mais n'ont pas été examinés.

	Famille 1	Famille 2
Âge de début	Naissance	3 ans
Signe de début	Hypotonie néonatale	Faiblesse musculaire
Consanguinité	+	+
Retard à la marche	-	+
Ptosis	+	-
Atteinte bulbaire	+	-
Atteinte faciale	+	-
Déficit moteur proximal	+	+
Scoliose	-	+
Fluctuation	++	-
Décrément à l'EMG	++	NA
Tracé myopathique à l'EMG	+	+
Enzymes musculaires	2 fois la normale	6 fois la normale
Biopsie musculaire	Atrophie fibres type II	Cores sous sarcolemmaux
Mutation <i>RYR1</i>	p.R3772W	p.T2206M

Tableau 1. Comparatif des deux phénotypes (NA: non analysé).

à l'HM [4]. Une liste des différents anesthésiques contre-indiqués a été remise aux deux patientes afin de prévenir ce risque majeur potentiellement léthal.

Commentaire

Ces deux familles porteuses de variants pathologiques du gène *RYR1* présentent des phénotypes sensiblement différents. La famille 1 a un phénotype très évocateur de SMC associé à des signes myopathiques tandis que la famille 2 se présente avec un tableau myopathique net et franc, sans fluctuation. Le tableau comparatif illustre bien ces différences phénotypiques.

La même mutation *RYR1* que celle identifiée dans la famille 1 a déjà été rapportée chez trois patients issus de deux familles américaines non-apparentées [3]. Leur phénotype est parfaitement superposable à celui de notre observation. La biopsie avait également mis en évidence une atrophie des fibres de type II, sans présence de cores. Seule différence notable : l'absence de fluctuation des symptômes et la normalité de l'ENG. Dans cette famille, aucun traitement par pyridostigmine n'a été tenté. L'éventail phénotypique des mutations *RYR1* pourrait donc, avec ces observations, s'élargir en direction des SMC. On note également que cette même mutation peut se transmettre selon un mode autosomique dominant et n'entraîne qu'une HM isolée [5]. Des phénotypes sans atteinte myopathique majeure ont par ailleurs été décrits en lien avec d'autres mutations de ce gène [6, 7]. Dans la série d'AlBakry [6], deux patients avaient la même mutation que celle de la famille 2 sans atteinte myopathique nette mais avec une ophtalmoplégie. Ce dernier signe n'avait pas été retrouvé dans notre famille (famille 2), ce qui illustre la variabilité phénotypique de cette mutation capable de donner aussi bien un phénotype SMC qu'un phénotype de myopathie congénitale. Ces éléments étendent le spectre phénotypique des mutations du gène aussi grand que le gène *RYR1* est très étendu ; la susceptibilité accrue à l'HM reste toutefois leur point commun [8]. La notion de « ryano-dinopathies » tend à s'imposer et permet d'englober les myopathies congénitales de type *central core disease*, la myopathie à minicore et certaines affections congénitales neuromusculaires [9]. La réponse positive de notre patient à la pyridostigmine est également retrouvée chez des patients présentant des phénotypes SMC mais avec une histologie de MC [10]. Deux autres patients présentant un phénotype SMC typique et similaire au nôtre ont été rapportés [11]. Leur réponse thérapeutique à la pyridostigmine était là aussi frappante et une mutation non-sens du gène *RYR1* a été incriminée (p.Arg2241*). Il s'agissait d'un phénotype *myasthenic-like* dont la génétique a permis de poser un diagnostic de certitude de MC. Des anomalies de la jonction neuromusculaire (JNM) peuvent être présentes dans les myopathies congénitales. Chez certains patients atteints de MC, des régions

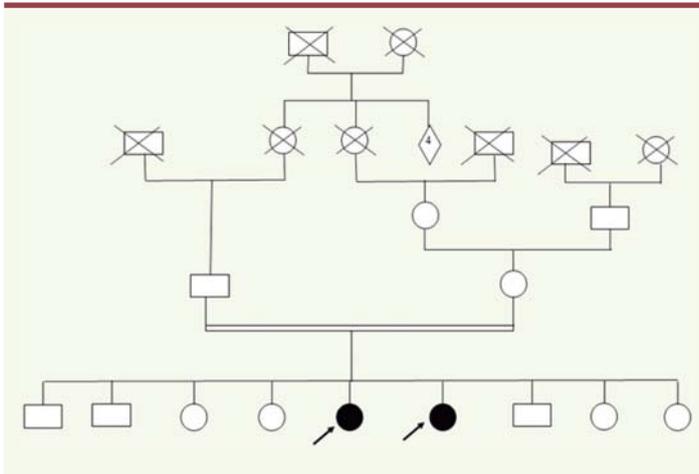


Figure 2. Famille 2 (phénotype de myopathie congénitale).

post-synaptiques rudimentaires et un déficit en récepteurs à l'acétylcholine ont été retrouvés. La neurotransmission peut s'en trouver compromise et la réponse post-synaptique amoindrie [12]. De plus, d'autres gènes responsables de MC peuvent aussi entraîner des anomalies fonctionnelles de la JNM et des récepteurs qui s'y trouvent. Elles sont plutôt incriminées dans des formes plutôt létales d'arthrogrypose congénitale et d'akinésie fœtale [13]. Par ailleurs, un séquençage complet du gène *RYR1* entrepris chez 39 familles avec épisodes de rhabdomyolyse (avec ou sans myalgies), a démontré que 14 d'entre elles portaient des mutations de ce gène. La plupart des personnes concernées ne présentaient pas de faiblesse musculaire et n'avaient pas d'antécédents d'HM [14]. Ceci illustre parfaitement l'expansion des phénotypes associés à ce gène de très grande taille.

Les variants du gène *RYR1* (même si la protéine codée ne fait pas partie *stricto sensu* des protéines de la JNM) doivent être recherchés devant tout phénotype *myasthenic-like* avec ou sans réponse positive au traitement par la pyridostigmine [15], et ce d'autant plus que les gènes des SMC auront été préalablement éliminés. ♦

SUMMARY

The high phenotypic variability of *RYR1* gene mutations

The *RYR1* gene encodes the ryanodine-receptor 1, a key protein in the excitation-contraction coupling that takes place in muscle fibers. This receptor is the main channel responsible for calcium release from the endoplasmic reticulum [1]. A number of clinical phenotypes are linked to various mutations in this large gene as shown in a compilation established by ORPHANET (see table). In this work we describe two distinct, somewhat misleading, phenotypes in relation to pathogenic variants in this gene. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Laver DR. Regulation of the RYR channel gating by Ca²⁺ and Mg²⁺. *Biophys Rev* 2018 ; 10 : 1087-1095.
2. Maggi L, Bernasconi P, D'Amico A, et al. Italian recommendations for diagnosis and management of congenital myasthenic syndromes. *Neuro Sci* 2019 ; 40 : 457-468.

Phénotypes associés au gène *RYR1* – Source Orphanet 2020

- Mutation germinale causale dans **Forme létale du syndrome des ptérygius multiples** ORPHA:33108
- Mutation germinale causale dans **Hyperthermie maligne de l'anesthésie** ORPHA:423
- Mutation germinale causale dans **Myopathie à multi-minicores avec ophtalmoplégie externe** ORPHA:98905
- Mutation germinale causale dans **Myopathie à multi-minicores modérée avec atteinte des mains** ORPHA:178145
- Mutation germinale causale dans **Myopathie centronucléaire autosomique récessive** ORPHA:169186
- Mutation germinale causale dans **Myopathie congénitale à « central cores »** ORPHA:597
- Mutation germinale causale dans **Myopathie congénitale à début pseudo-myasthénique** ORPHA:424107
- Mutation germinale causale dans **Myopathie congénitale bénigne des Samaritains** ORPHA:324581
- Mutation germinale causale dans **Syndrome de King-Denborough** ORPHA:99741
- Facteur de susceptibilité majeur dans **Hyperthermie maligne induite par l'exercice** ORPHA:466650
- Gène candidat testé dans **Myopathie centronucléaire autosomique dominante** ORPHA:169189

3. OShaaban S, Ramos-Platt L, Gilles FH, et al. *RYR1* mutations as a cause of ophthalmoplegia, facial weakness, and malignant hyperthermia. *JAMA Ophthalmol* 2013 ; 131(12):1532-1540.
4. Monnier N, Krivosic-Horber R, Payen JF, et al. Presence of two different genetic traits in malignant hyperthermia families: implication for genetic analysis, diagnosis, and incidence of malignant hyperthermia susceptibility. *Anesthesiology* 2002 ; 97 : 1067-1074.
5. Levano S, Vukcevic M, Singer M, et al. Increasing the number of diagnostic mutations in malignant hyperthermia. *Hum Mutat* 2009 ; 30 : 590-598.
6. AlBakri A, Karaoui M, Alkuraya FS, et al. Congenital ptosis, scoliosis, and malignant hyperthermia susceptibility in siblings with recessive *RYR1* mutations. *J AAPOS* 2015 ; 19 : 577-579.
7. Dilaver N, Mazaheri N, Maroofian R, et al. Novel homozygous missense mutation in *RYR1* leads to severe congenital ptosis, ophthalmoplegia, and scoliosis in the absence of myopathy. *Mol Syndromol* 2017 ; 9 : 25-29.
8. Rosenberg H, Pollock N, Schiemann A, et al. Malignant hyperthermia: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2015 ; 10 : 93.
9. Alkhunaizi E, Shuster S, Shannon P, et al. Homozygous/compound heterozygote *RYR1* gene variants: Expanding the clinical spectrum. *Am J Med Genet A* 2019 ; 179 : 386-396.
10. Robb SA, Sewry CA, Dowling JJ, et al. Impaired neuromuscular transmission and response to acetylcholinesterase inhibitors in centronuclear myopathies. *Neuromuscul Disord* 2011 ; 21 : 379-386.
11. Illingworth MA, Main M, Pitt M, et al. *RYR1*-related congenital myopathy with fatigable weakness, responding to pyridostigmine. *Neuromuscul Disord* 2014 ; 24 : 707-712.
12. OLiwick T, Shen XM, Milone M, et al. Endplate structure and parameters of neuromuscular transmission in sporadic centronuclear myopathy associated with myasthenia. *Neuromuscul Disord* 2011 ; 21 : 387-395.
13. Beecroft SJ, Lombard M, Mowat D, et al. Genetics of neuromuscular fetal akinesia in the genomics era. *J Med Genet* 2018 ; 55 : 505-514.
14. Colombo I, Scoto M, Manzur AY, et al. Congenital myopathies: Natural history of a large pediatric cohort. *Neurology* 2015 ; 84 : 28-35.
15. Lawal TA, Todd JJ, Meilleur KG. Ryanodine Receptor 1-related myopathies: diagnostic and therapeutic approaches. *Neurotherapeutics* 2018 ; 15 : 885-899.

TIRÉS À PART

J. Lunardi

► La deuxième édition de l'École Balte de Neuromyologie s'est tenue du 26 au 27 août 2022 à Riga (Lettonie) dans une ambiance un peu particulière étant donné la situation internationale. Ce fut l'occasion pour les auteurs de mesurer le chemin parcouru par leurs homologues baltes tant dans le domaine du diagnostic que celui de la prise en charge des maladies neuromusculaires. Cette entreprise difficile mais couronnée de succès a conduit à l'intégration de trois centres de référence neuromusculaire baltes au sein de l'ERN (réseau européen des maladies rares) Euro-NMD. Au-delà de cette forme de consécration, et même si beaucoup reste à faire, au niveau de l'histopathologie musculaire notamment, les différentes équipes baltes ont présenté des travaux de recherche clinique tout à fait remarquables et utiles à l'ensemble de la communauté myologique. ◀

Riga, la capitale de la Lettonie, n'est pas seulement une ville à taille humaine, bon marché, dotée d'une architecture art déco sans pareille, et où il fait généralement bon vivre. Elle est aussi un haut lieu du tourisme dit mémoriel. Tous les guides touristiques, amateurs ou professionnels, tiennent, à juste titre, à rappeler au visiteur de passage comment ce petit territoire de la Baltique, à l'instar de ses deux voisins baltes, la Lituanie et l'Estonie, s'est défait, quasiment à mains nues, de l'occupant soviétique au début des années 1990. L'ancien siège de la radio et de la télévision d'État en garde d'ailleurs les stigmates comme le prouvent les impacts de balles russes toujours visibles sur la façade de l'édifice. La ville s'est enrichie d'un musée consacré à toutes les occupations étrangères de ce petit pays peuplé d'à peine 1,8 million d'habitants, ravagé à maintes reprises par les invasions des uns et des autres : un bloc parallélépipédique d'allure sinistre jurant avec la magnifique architecture hanséatique du centre-ville avoisinant.

Vignette : Les drapeaux respectifs de la Lettonie, de la Lituanie et de l'Estonie.

La deuxième École Balte de Neuromyologie

J. Andoni Urtizbera¹, Edoardo Malfatti²,
Pierre G. Carlier³



© DR

¹Institut de Myologie, Paris, France.

²Centre de référence neuromusculaire, CHU Henri Mondor, Créteil, France.

³Université Paris-Saclay, CEA, DRF, SHFJ Orsay, France.
andoni.urtizbera@gmail.com

En cet été 2022, au moment où le conflit russo-ukrainien continue de faire rage, les rues de la ville sont constellées de drapeaux bleus et jaunes et l'on continue symboliquement à déboulonner les quelques statues ou monuments datant de l'ère soviétique. Comme nous l'ont dit, gentiment mais fermement, nos interlocuteurs lettons, le souvenir des chars russes et des manières détestables de l'occupant est encore vivace dans les mémoires. Les habitants de Riga ne sont qu'à 200 kilomètres de la frontière avec la Russie au nord et à 300 km de l'enclave russe de Kaliningrad en se dirigeant vers le sud-ouest. Les Lettons redoutent à tout moment, à tort ou à raison, une invasion de la part de la part du pays voisin. De ce point de vue, le parapluie que leur offre l'OTAN, organisation à laquelle ils se sont empressés d'adhérer en 2004, est un atout majeur par rapport aux Ukrainiens.

Faut-il ostraciser pour autant la Russie toute entière et/ou les russophones qui comptent pour un bon tiers dans la population actuelle de la Lettonie ? Ce n'est certainement pas souhaitable, surtout dans le domaine scientifique et culturel, comme l'un d'entre nous l'a fait remarquer en préambule de son intervention.

C'est dans cette ambiance très particulière faite d'inquiétude mais aussi de grande convivialité, que s'est déroulée la deuxième École Balte de Neuromyologie dans une des salles de conférence de l'hôtel Radisson-Daugava de Riga les 26 et 27 août 2022 (Figure 1). Cet enseignement étalé sur deux jours est, pour une grande part, le produit de la *Summer School of Myology*, cette école internationale de myologie que nous organisons à Paris depuis 1997 et qui a depuis largement essaimé à travers le monde. Plusieurs élèves venant de Lettonie ont en effet assisté à la formation théorico-



pratique dispensée à l'Institut de Myologie dont Baiba Lace (promotion 2010), Viktorija Kenina (Figure 2) et Janis Stavusis (promotion 2015), Signe Setlere et Ieva Glazere (promotion 2017), cette dernière ayant même complété sa formation par un stage pratique de plusieurs mois dans l'unité de myologie du CHU Raymond Poincaré de Garches dirigée par Pascal Laforêt. Alternant cours théoriques et cas cliniques, dont certains en présence des patients eux-mêmes, l'École Balte de Neuromyologie a attiré cette année environ 100 personnes, très majoritairement issues des trois pays baltes (Lettonie, Lituanie, Estonie). Les jours précédant et ayant suivi l'École, ont eu lieu des formations complémentaires en imagerie musculaire réalisées sur site à Kaunas (Lituanie) et à Riga (Lettonie), et ce dans le cadre du programme d'échanges soutenu par l'ERN Euro-NMD. Le corps enseignant de l'École était, comme lors de la précédente édition, composé de locaux (à parts à peu près égales entre les trois pays baltes) mais aussi d'une forte délégation française (Pierre Carlier, Edoardo Malfatti et J. Andoni Urtizberea) pour les raisons évoquées plus haut. À celle-ci se sont agrégés des régionaux de l'étape comme Anna Rostedt-Punga, en provenance de la célèbre école suédoise d'électromyographie fondée par Erik Stalberg à Uppsala, et Bjarne Udd, le myologue finlandais bien connu et basé à Tampere. Antonio Toscano, neurologue de Messine et représentant la société européenne de neurologie, avait fait le voyage tout comme Giorgio Tasca, neurologue romain, qui a rejoint le groupe secondairement pour la formation en imagerie. Le thème central retenu pour la deuxième édition de l'École était celui des dystrophies musculaires des ceintures (LGMD pour *limb girdle muscular dystrophy*), un domaine de la pathologie neuromusculaire dans lequel les Lettons excellent. Après une série de présentations destinées à exposer les aspects historiques et les récentes avancées technologiques dans le diagnostic de ce groupe d'affections neuromusculaires génétiquement déterminées, nos collègues lettons nous ont fait part de leurs travaux sur les formes autosomiques dominantes, ou supposées telles, de calpainopathie (LGMD de type D4). Comme d'autres équipes dans le monde, ils ont été confrontés à quelques familles dans lesquelles, à un phénotype plutôt peu sévère et peu évolutif de LGMD correspondait un seul variant pathologique du gène *CAPN3*, la maladie semblant se transmettre de génération en génération. Ce variant était très souvent le p.del150A, celui-là même rapporté, à de très nombreuses reprises, en Europe de l'Est. La recherche d'une possible deuxième mutation les a amenés à identifier un second variant, qualifié d'hypomorphe, dans une région intronique du gène *CAPN3* généralement peu ou pas explorée par le NGS (*next-generation-sequencing*). Ces travaux ont d'ailleurs fait l'objet d'un article de très bon niveau [1]. Cette découverte originale permettrait, d'après les auteurs, de résoudre, pour partie, les cas de LGMD-R1 avec un seul variant pathogène retrouvé en NGS de routine mais, aussi curieux que cela puisse paraître, pour certains cas mimant une dystrophie musculaire de type facio-scapulo-humérale (FSHD).

Autre temps fort de la première journée de l'école consacrée aux LGMD, la confirmation d'une forte prévalence de cas de titinopathie en Estonie. Dans le cadre du consortium européen IDOLS-G (financement ERJP) coordonné par Bjarne Udd et auquel elle participe activement, Katrin Ounap, généticienne estonienne de l'Université de Tartu, a fait état d'une cohorte de plusieurs cas familiaux de titinopathie confirmés en biologie moléculaire et présentant soit un phénotype LGMD (LGMD-R10)

soit un phénotype de myopathie distale autosomique dominante. Comme attendu au vu de la proximité génétique ancestrale entre Estoniens et Finnois, la mutation FINMaj précédemment identifiée par Bjarne Udd en Finlande a été retrouvée chez seize patients étudiés à Tallinn, soit seule à l'état hétérozygote, soit en association avec le variant c.64672+2dup.

Les autres communications, plus généralistes, ont permis de mesurer le chemin parcouru par les équipes baltes tant dans le domaine du diagnostic des maladies neuromusculaires que celui de la prise en charge multidisciplinaire et des thérapies innovantes. Les trois pays disposent chacun d'un centre de référence neuromusculaire et ceux-ci ont été récemment intégrés au réseau d'excellence européen dédié aux maladies neuromusculaires (l'ERN Euro-NMD). Dans ce domaine, et comme dans d'autres secteurs économiques, industriels et financiers de la région, les progrès ont été très rapides et substantiels si l'on se réfère à la première École Balte de Neuromyologie qui s'était tenue, en notre présence, les 26 et 27 avril 2019. Les trois pays ont, à des degrés divers, accès au NGS mais aussi à un nombre croissant de molécules innovantes notamment pour l'amyotrophie spinale, même si la thérapie génique à base d'onesamnogène abeparvovec n'est pas encore disponible en routine. La grande diversité des pratiques alliée au fait que certaines familles baltes n'hésitent pas à migrer dans d'autres pays de l'Union Européenne pour avoir accès à ces traitements, nous a fait toucher du doigt la fragile et imparfaite unité entre les trois pays considérés. Entre une Estonie ethniquement et linguistiquement plus proche de la Finlande, une Lettonie qui doit gérer une importante minorité russophone (un tiers environ de sa population), et une Lituanie géographiquement et culturellement proche de la Pologne et la Biélorussie, les trois États Baltes doivent composer avec une équation politique, socio-économique, linguistique et culturelle propre à chacun d'entre eux. Reste le ferment d'unité que constitue leur attachement viscéral, et sans doute vital, aux valeurs défendues par l'Union Européenne et ses institutions.

Conclusion

Au vu du grand succès rencontré lors de cette deuxième édition, l'École Balte de Neuromyologie a de beaux jours devant elle. Elle gagnerait certainement à être plus connue des différents professionnels de la région, surtout ceux exerçant en Scandinavie, en Pologne ou encore en Biélorussie, et à être officiellement agréée par le réseau européen Euro-NMD et pourquoi pas par le réseau TREAT-NMD, deux objectifs facilement atteignables selon nous. ♦



Figure 1. Les participants et enseignants de la deuxième École Balte de Neuromyologie (Riga, août 2022) (droits réservés Viktorija Kenina).



Figure 2. Viktorija Kenina (au centre) lors de la remise de son diplôme de la Summer School of Myology 2015 (entourée, de gauche à droite, de Michel Fardeau, J. Andoni Urtizberea et Norma B. Romero).

SUMMARY

The Second Baltic School of Neuromyology

The second edition of the Baltic School of Neuromyology took place on August 26–27, 2022 in Riga (Latvia), in a somewhat peculiar atmosphere given the international situation. An opportunity for the authors to measure the accomplishments made by their Baltic counterparts in the diagnosis and management of neuromuscular disorders, a success-

ful although challenging venture, which led to the integration of three Baltic neuromuscular reference centers to the European Reference Network Euro-NMD. Beyond this form of consecration, and even though a lot remains to be achieved, notably in the field of muscle histopathology, various Baltic teams showed truly remarkable pieces of clinical research that will be useful to the whole myology community worldwide. ♦

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont en particulier à Viktorija Kenina, la cheville ouvrière de cette école, Baiba Lace, talentueuse généticienne clinicienne passée par le Canada et parlant français avec un accent québécois inimitable, ainsi qu'à toute l'équipe organisatrice de ces deux journées d'enseignement en myologie.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCE

1. Mroczek M, Inashkina A, Stavusis J, Zayakin P, Khrunin A, Micule I, et al. CAPN3 c.1746-20C>G variant is hypomorphic for LGMD R1. calpain 3-related. *Hum Mat* 2022 ; 43 : 1347-53.

TIRÉS À PART

J.A. Urtizberea

Retrouvez toutes les Actualités de la Myologie sur les sites de :

la Société Française de Myologie
www.sfmyologie.org



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS
www.filmemus.fr



La dystrophie musculaire Facio-Scapulo-Humérale (FSHD) décrite par Landouzy et Déjerine en 1884 [1] est, en fréquence, la troisième myopathie en France après la dystrophie musculaire de Duchenne et la dystrophie myotonique de Steinert. Sa présentation clinique typique inclut une faiblesse progressive et asymétrique de certains muscles de la face, des ceintures scapulaire et pelvienne et des jambiers antérieurs. Son diagnostic est tardif, avec des symptômes apparaissant en moyenne entre 20 et 30 ans [2]. Dans environ 4 % des cas, elle peut se déclarer dans l'enfance, avec généralement des formes plus sévères [3,4].

Sa prévalence varie entre 1/ 8 000 et 1/ 12 000, et son incidence entre 0,38 et 0,7/ 100 000 habitants en fonction des populations de référence [5]. 3 000 personnes seraient ainsi concernées en France. La FSHD est une maladie à transmission autosomique dominante mais qui apparaît *de novo* dans 30 % des cas.

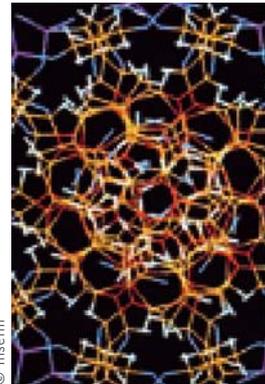
Dès le début des années 1990, des études de liaison ont associé la FSHD au locus 4q35 et plus précisément aux macrosatellites D4Z4. Chaque macrosatellite D4Z4 répété en tandem a une taille de 3,3 kilobases [6,9] (Figure 1). Dans la population générale, le nombre de D4Z4 au locus 4q35 varie entre 11 et 100 copies. La grande majorité des patients atteints de FSHD (95 %) portent entre 1 et 10 répétitions (dans la forme de FSHD de type 1 référencée FSHD1). Le locus 4q35 présente une forte homologie avec la région subtélomérique 10q26 qui comporte entre 1 et 100 répétitions D4Z4 mais dont le nombre n'est pas associé à la FSHD. D4Z4 contient environ 70 % de dinucléotides GC. Dans la population générale, 65 à environ 80 % de ces dinucléotides sont méthylés et le niveau de méthylation est diminué dans la FSHD1 [10,11] (Figure 1).

Environ 5 % des patients (correspondant à la forme FSHD2 de la maladie) présentent un phénotype largement superposable à celui de FSHD1 mais sans réduction du nombre de répétitions D4Z4. En revanche, on y observe une hypométhylation marquée des loci 4q35 et 10q26. Les tableaux cliniques de FSHD1 et de FSHD2 ne diffèrent qu'en deux points : un âge de survenue plus tardif et une fréquence plus élevée de cas sporadiques (environ 60 %) pour la FSHD2 [12]. Des études d'exome entier (WES pour *Whole Exome Sequencing*) ont permis d'identifier, dans 85-90 % des cas de FSHD2 [13], des mutations du gène *SMCHD1* (*Structural Maintenance*

Dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale

Vers un diagnostic moléculaire étendu à la FSHD2

Frédérique Magdinier¹⁻³, Benjamin Ganne¹,
Mégane Delourme¹, Karine Nguyen^{1,2},
Rafaëlle Bernard^{1,2}



¹Aix Marseille Univ, INSERM Marseille Medical Genetics, Marseille, France.

²Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France.

³Laboratoire Marseille Medical Genetics, U1251, INSERM ; Aix Marseille University. Faculté des Sciences Médicales et Paramédicales de la Timone. 27, Bd Jean Moulin 13005 Marseille, France.

frederique.magdinier@univ-amu.fr

of Chromosomes flexible Hinge Domain-containing 1), codant une protéine de la famille des cohésines, et situé sur le bras court du chromosome 18.

Dans la FSHD1, le nombre résiduel de copies de D4Z4 est en grande partie inversement corrélé à la sévérité de la pathologie et à l'âge de survenue des symptômes. On note une apparition plus précoce et des signes plus marqués chez les patients porteurs de 1 à 3 unités. À l'inverse, on observe davantage de cas asymptomatiques, une survenue plus tardive ou des signes moins sévères pour les patients porteurs de 8 à 10 unités D4Z4. Le nombre de répétitions D4Z4 chez les patients FSHD2 serait réduit par rapport à la population générale et compris entre 11 et 20 unités [14]. Certains cas échappent toutefois à cette définition qui ne peut donc pas être appliquée de façon stricte. Celle-ci doit être réévaluée au cas par cas au regard du tableau clinique. La coexistence d'un nombre de répétitions D4Z4 aux alentours de 8-10 unités, intervalle qualifié de « zone grise », et d'une mutation de *SMCHD1* a également été rapportée ce qui permettrait d'expliquer une plus grande sévérité ainsi qu'une variabilité clinique intrafamiliale plus importante [15].

La FSHD est également associée *in cis* à un haplotype noté 4qA, comportant un signal de polyadénylation (PAS) au niveau d'une région de 260 paires de bases (pLAM). Cet allèle, dit permissif, est présent dans 45 % de la population générale et diffère de son homologue 4qB, dit non permissif car ne contenant pas la séquence pLAM (Figure 1).

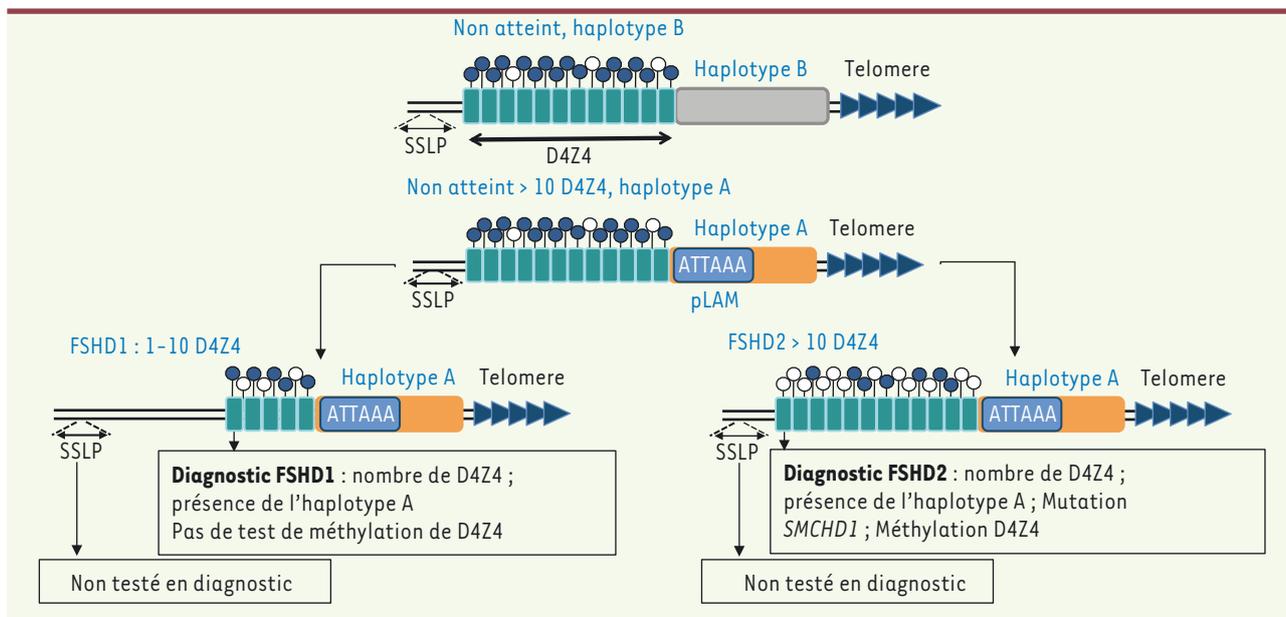


Figure 1. Schéma de la région 4q35 et processus associé au diagnostic moléculaire de la FSHD2. Représentation schématique du locus 4q35 : deux haplotypes existent dans la population. L'haplotype qB n'est pas associé à la FSHD. L'haplotype qA est caractérisé par la présence d'une région pLAM contenant un site de polyadénylation pour le transcrit DUX4 produit par la dernière répétition D4Z4. Dans la FSHD1, le nombre de répétitions est inférieur à 10. Les répétitions D4Z4 sont hypométhylées. Dans la FSHD2, le nombre de répétitions D4Z4 est supérieur à 10 unités mais celles-ci présentent une hypométhylation marquée.

Le pLAM serait nécessaire à la transcription de la dernière répétition de D4Z4 et la production d'un ARN messager (DUX4) polyadénylé. Le modèle physiopathologique actuel de la FSHD associe une réduction du nombre de répétitions D4Z4, ou des mutations de *SMCHD1*, à une hypométhylation de D4Z4, le tout entraînant l'activation d'une expression ectopique de *DUX4* codé par la dernière répétition D4Z4 et la région pLAM, dont le produit, la protéine DUX4, serait toxique pour la cellule musculaire [16].

Une région polymorphe dans la partie proximale des loci 4q et 10q a également été décrite et certains polymorphismes (SSLP 159, 161, 168) associés à la FSHD [17]. Toutefois, sauf dans certains laboratoires, ceux-ci ne sont pas testés dans un but diagnostique et leur fonction exacte dans la maladie reste indéterminée.

Le Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire (DGMBC) de la Timone est l'un des deux centres en France en charge du diagnostic moléculaire de la FSHD. Dans la majorité des cas, le diagnostic est réalisé par la technique dite du peignage moléculaire [18]. Celle-ci permet d'évaluer le nombre de répétitions D4Z4 sur chacun des deux allèles 4q et 10q ainsi que la présence des haplotypes distaux (qA ou qB). Cette approche permet de déterminer la réduction du nombre de répétitions D4Z4 sur le chromosome 4 et l'association à un haplotype de type A, définissant ainsi une FSHD1.

Jusqu'en 2020-2021, le diagnostic de la FSHD2 reposait sur l'association d'un phénotype clinique typique et l'absence d'allèle 4q raccourci. En 2021, le DGMBC a mis en place le diagnostic moléculaire de la FSHD2.

Grâce aux échanges du groupe de travail sur la FSHD coordonné au sein de la commission « recherche » de la filière de santé Maladies Rares neuromusculaires (FILNEMUS), nous avons élaboré un questionnaire accompagnant ces demandes de diagnostic. Ce questionnaire reprend quelques éléments de la description clinique des patients afin de préciser s'il s'agit ou non d'un diagnostic de certitude. Il recueille également des informations relatives à la ségrégation familiale et à un diagnostic moléculaire préalable de FSHD1. Dans le cas où celui-ci n'a pas été réalisé ou nécessite une meilleure résolution, il est réalisé par peignage moléculaire afin de déterminer la taille de la région des répétitions D4Z4 des chromosomes 4q et 10q, et d'identifier l'haplotype (qA/qB) correspondant. Le diagnostic moléculaire de la FSHD2 implique ensuite un séquençage de l'exome et une analyse des panels des gènes associés aux dystrophies des ceintures afin d'exclure une pathologie autre que la FSHD. Enfin, l'analyse comportera éventuellement la recherche de variants du gène *SMCHD1*, classifiés selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics (ACMG) [19]. Cette recherche de variants dans *SMCHD1* est précédée ou complétée par une analyse de la méthylation de l'ADN au sein du laboratoire de recherche Marseille Medical Genetics par séquençage de l'ADN modifié au

bisulfite de sodium [20]. Cette étape, qui peut conditionner l'analyse mutationnelle, permet aussi de valider l'impact de chaque variant sur le niveau de méthylation de D4Z4. Il est à noter que le diagnostic de la FSHD2 n'est proposé ni en diagnostic prénatal ni en présymptomatique. L'expérience acquise depuis plusieurs années, dans un cadre de projets de recherche puis dans un objectif de diagnostic moléculaire, nous a permis de déterminer que le niveau de méthylation de D4Z4 est inférieur à 40 % chez les patients porteurs d'un variant *SMCHD1* [11]. Nous n'observons pas de corrélation entre le type de mutation, le nombre d'éléments répétés D4Z4 sur l'allèle 4q le plus court ou le niveau de méthylation, ni de seuil strict à 20 unités répétées pour l'allèle 4q le plus court. ♦

Facio-scapulo-humeral muscular dystrophy: towards a molecular diagnosis extended to FSHD2

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Tawil R, Van Der Maarel SM. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2006 ; 34 : 1-15.
2. Goselink RJM, Schreuder THA, van Alfen N, et al. Facioscapulohumeral Dystrophy in Childhood: A Nationwide Natural History Study. *Ann Neurol* 2018 ; 84 : 627-637.
3. Dorobek M, van der Maarel SM, Lemmers RJ, et al. Early-onset facioscapulohumeral muscular dystrophy type 1 with some atypical features. *J Child Neurol* 2015 ; 30 : 580-587.
4. Klinge L, Eagle M, Haggerty ID, et al. Severe phenotype in infantile facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2006 ; 16 : 553-558.
5. Deenen JC, Arnts H, van der Maarel SM, et al. Population-based incidence and prevalence of facioscapulohumeral dystrophy. *Neurology* 2014 ; 83 : 1056-1059.
6. van Deutekom JC, Wijmenga C, van Tienhoven EA, et al. FSHD associated DNA rearrangements are due to deletions of integral copies of a 3.2 kb tandemly repeated unit. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 2037-2042.
7. Wijmenga C, Sandkuijl LA, Moerer P, et al. Genetic linkage map of facioscapulohumeral muscular dystrophy and five polymorphic loci on chromosome 4q35-qter. *Am J Hum Genet* 1992 ; 51 : 411-415.
8. Wijmenga C, Hewitt JE, Sandkuijl LA, et al. Chromosome 4q DNA rearrangements associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Nat Genet* 1992 ; 2 : 26-30.
9. Sarfarazi M, Wijmenga C, Upadhyaya M, et al. Regional mapping of facioscapulohumeral muscular dystrophy gene on 4q35: combined analysis of an international consortium. *Am J Hum Genet* 1992 ; 51 : 396-403.
10. van Overveld PG, Lemmers RJ, Sandkuijl LA, et al. Hypomethylation of D4Z4 in 4q-linked and non-4q-linked facioscapulohumeral muscular dystrophy. 2003 ; 35 : 315-317.
11. Roche S, Dion C, Brouqsault N, et al. Methylation hotspots evidenced by deep sequencing in patients with facioscapulohumeral dystrophy and mosaicism. *Neurol Genet* 2019 ; 5 : e372.
12. de Greef JC, Lemmers RJ, Camano P, et al. Clinical features of facioscapulohumeral muscular dystrophy 2. *Neurology* 2010 ; 75 : 1548-1554.
13. Lemmers RJ, Tawil R, Petek LM, et al. Digenic inheritance of an *SMCHD1* mutation and an FSHD-permissive D4Z4 allele causes facioscapulohumeral muscular dystrophy type 2. *Nat Genet* 2012 ; 44 : 1370-1374.
14. Lemmers RJ, Goeman JJ, van der Vliet PJ, et al. Inter-individual differences in CpG methylation at D4Z4 correlate with clinical variability in FSHD1 and FSHD2. *Hum Mol Genet* 2015 ; 24 : 659-669.
15. Sacconi S, Lemmers RJ, Balog J, et al. The FSHD2 Gene *SMCHD1* Is a modifier of disease severity in families affected by FSHD1. *Am J Hum Genet* 2013 ; 93 : 744-751.
16. Lemmers RJ, van der Vliet PJ, Klooster R, et al. A unifying genetic model for facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Science*. 2010 ; 329 : 1650-1653.
17. Lemmers RJ, Wohlgemuth M, van der Gaag KJ, et al. Specific sequence variations within the 4q35 region are associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 2007 ; 81 : 884-894.
18. Nguyen K, Walrafen P, Bernard R, et al. Molecular combing reveals allelic combinations in facioscapulohumeral dystrophy. 2011 ; 70(4):627-633.
19. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015 ; 17 : 405-424.
20. Roche S, Dion C, Brouqsault N, et al. Methylation hotspots evidenced by deep sequencing in patients with facioscapulohumeral dystrophy and mosaicism. *Neurol Genet* 2019 ; 5 : e372.

TIRÉS À PART

F. Magdinier



Avec *m/s*, vivez en direct les progrès et débats de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE *M/S*
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur www.medecinesciences.org

**MON FILS PERD
SES MUSCLES
MAIS ON
NE LÂCHE RIEN**

LE TÉLÉTHON PEUT TOUT CHANGER

france•tv

telethon.fr
service gratuit
+ prix appel **3637**

2-3 DÉC. 2022



Agenda

2023

32^e Congrès de la Société Française de Neuropédiatrie

18-20 janvier 2023
(Marseille, France)

www.sfneuroped.fr

Rencontre annuelle du Réseau européen Euro-NMD

1-3 février 2023
(Porto, Portugal)

ern-euro-nmd.eu

3^e École de Myologie d'Afrique de l'Ouest

23-25 février 2023
(Dakar, Sénégal)

Contact : pedro.rodriguez@cnag.crg.eu

11th Translational Research Meeting on Peripheral Neuropathies

9 mars 2023
(Paris, France)

Contact : crm.n@chu-limoges.fr

Journées de Neurologie de Langue Française

4-7 avril 2023
(Lyon, France)

www.jnlf.fr

American Academy of Neurology annual meeting

22-27 avril 2023
(Boston, USA)

www.aan.com

Summer School of Myology

12-16 juin 2023
(Paris, France)

www.institut-myologie.org

Congrès de la Peripheral Nerve Society

17-20 juin 2023
(Copenhague, Danemark)

<https://www.pnsociety.com/2023-annual-meeting/>

European Academy of Neurology

1-4 juillet 2023
(Budapest, Hongrie)

www.ean.org/congress2023

27^e Congrès de la World Muscle Society

3-7 octobre 2023
(Charleston, USA)

www.wms2023.com

MYO-MRI Conference

5-7 novembre 2023
(Berlin, Allemagne)

<https://conference.myo-mri.eu/>

13th International Meeting on Improving the Use of EMG in Paediatrics

13-15 novembre 2023
(La Baule, France)

Contact : yann.pereon@univ-nantes.fr

20^{es} Journées de la Société Française de Myologie

16-17 novembre 2023
(La Baule, France)

www.jsfmyologie2023.com

Journées annuelles de la filière Filnemus

Quatrième trimestre 2023 (date à définir)
(Paris, France)

www.filnemus.fr

2024

European Academy of Neurology

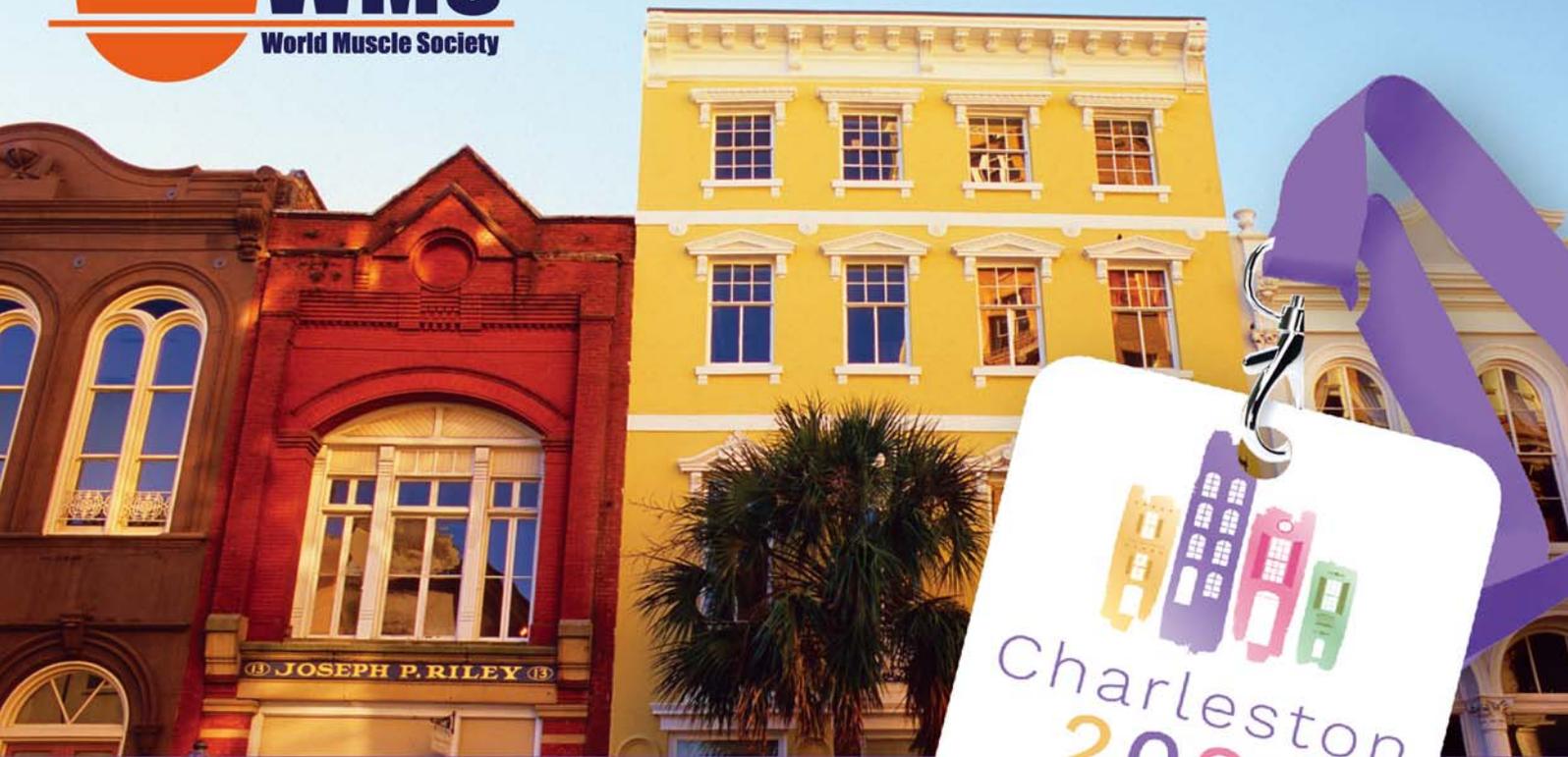
29 juin - 2 juillet 2024
(Helsinki, Finlande)

www.ean.org/congress2024

28^e Congrès de la World Muscle Society

8-12 octobre 2024
(Prague, République Tchèque)

www.wms2024.com



WMS 28

Charleston, USA
3-7 October 2023

Get the date in your diary for the 28th World Muscle Society Congress in Charleston, South Carolina, USA.

Watch this space for more details:

WMS2023.COM
#WMS2023

Annual Congress of
The World Muscle Society

Charleston 2023

USA 3-7 October



**FACE À LA
MALADIE DE LUCIE,
NOUS N'AVONS
RIEN LÂCHÉ**

LE TÉLÉTHON A TOUT CHANGÉ

france.tv

telethon.fr

service gratuit
+ prix appel **3637**

2-3 DÉC. 2022

