



NOVEMBRE 2024

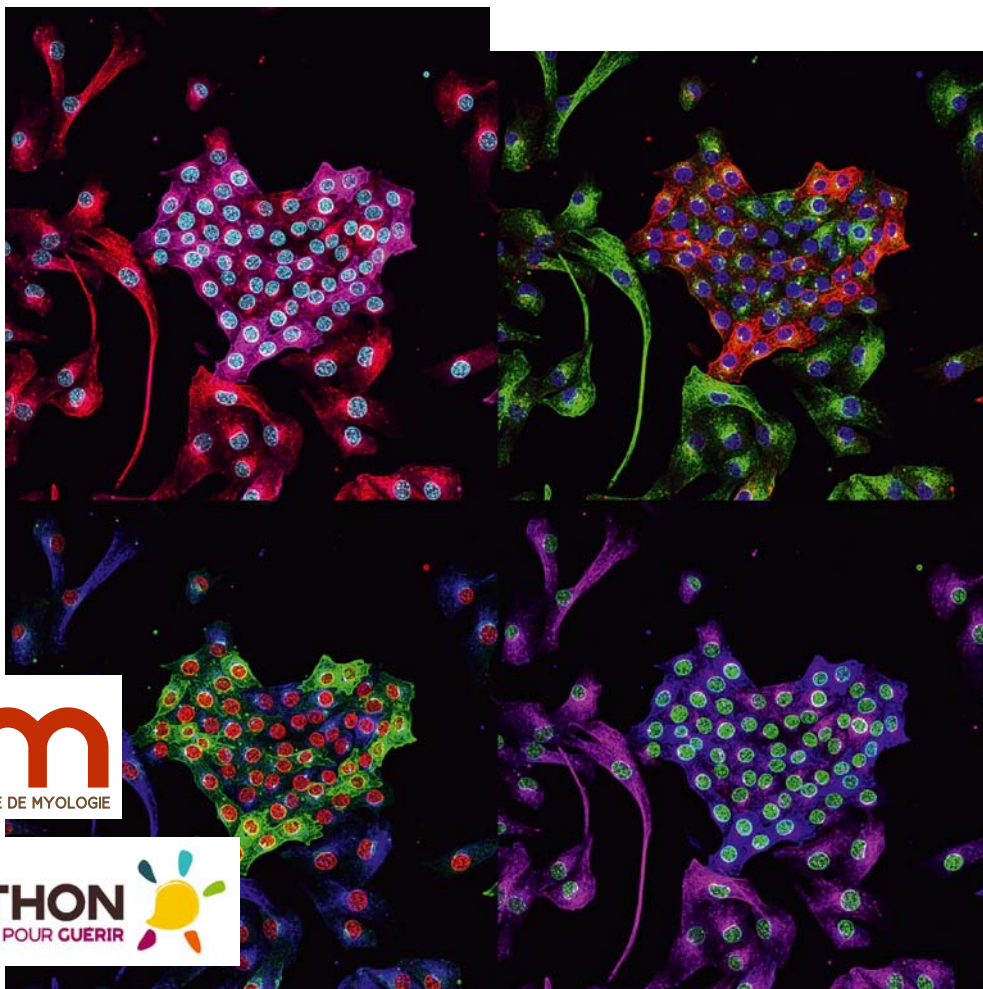
Hors série n° 1

p 1 > 76

volume 40

> www.medecinesciences.org

Les cahiers de **myologie**



sfm
SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MYOLOGIE

AFMTÉLÉTHON
INNOVER POUR GUERIR

 **Inserm**

edp sciences

AFM **TÉLÉTHON**

BÂTIR LES TRAITEMENTS
COMBATTRE LA MALADIE



**LA RECHERCHE
A SAUVÉ MES FILLES
MAIS IL RESTE TANT
DE MALADIES À BATTRE.**

france **tv**



Faites un don

telethon.fr

3637 service gratuit
+ prix appel

**29-30 NOV.
2024**

 **radiofrance**

 **LA POSTE**
GROUPE

 **Lions International**

 **FONDATION
GROUPE EDF**



DIRECTEUR DE LA PUBLICATION

Didier Samuel
Président-Directeur général
de l'Inserm

RÉDACTION

RÉDACTRICE EN CHEF

Anna Salvetti (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)

CONSEILLERS SCIENTIFIQUES

Hervé Chneiweiss (Paris)
Anne-Marie Moulin (Paris)
Jean-Luc Teillaud (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 La SFM et la myologie... en forme olympique !

Bénédicte Chazaud, Cyril Gitiaux

MISE AU POINT

- 6 L'actionnabilité clinique des gènes : un concept d'actualité dans le cadre des maladies rares et une première évaluation objective pour les myopathies
Emmanuelle Pion, Gisèle Bonne, Antonio Atalaia, Emmanuelle Salort-Campana, Svetlana Gorokhova, Shahram Attarian, Mireille Cossée, Martin Krahn

ACTUALITÉ

- 9 Place de l'infirmier(ère) en pratique avancée (IPA) dans le suivi de l'insuffisance respiratoire du patient neuromusculaire
Raja Kraiem

PRISE EN CHARGE

- 12 Parasport et maladies neuromusculaires
Orianne Lopez

PRIX SFM

- 17 Effets de l'exercice physique sur les maladies musculaires
Alexis Boulinguez, Dounia Bouragba, Barbara Crisol, Anne Bigot, Gillian Butler-Browne, Capucine Trollet
- 22 Intérêt du traitement par rituximab dans la myasthénie auto-immune de l'enfant
Agathe Molimard, Cyril Gitiaux, Christine Barnerias, Frédérique Audic, Arnaud Isapof, Ulrike Walther-Louvier, Claude Cances, Caroline Espil-Taris, Jean-Baptiste Davion, Susana Quijano-Roy, Coraline Grisel, Brigitte Chabrol, Isabelle Desguerre
- 26 Arthrogryposes Multiples Congénitales à l'âge pédiatrique : corrélation entre IRM musculaire et l'évaluation fonctionnelle
Alicia Milot, Mariya Raikova, Claire Huzar, Véronique Thellier, Nicolas Hergibo, Marjolaine Gauthier, Gipsy Billy-Lopez, Chantal Durand, Frédérique Nugues, Véronique Bourg, Klaus Dieterich
- 30 Du gène à la cellule : validation fonctionnelle des variants RYR1
Robin Reynaud Dulaurier, Julie Brocard, John Rendu, Nagi Debbah, Julien Fauré, Isabelle Marty
- 34 Le tamoxifène, une molécule à fort potentiel thérapeutique pour toutes les myopathies centronucléaires
Charlotte Gineste, Jocelyn Laporte
- 40 Altérations métaboliques dans la dystrophie myotonique de type I : une piste thérapeutique potentielle
Lola Lessard, Laure Gallay, Rémi Mounier



COMITÉ ÉDITORIAL

Alaedine Benani (Paris)
Claire Crignon (Paris)
Claire Deligne (Paris)
Hélène Dutartre (Lyon)
Alexis Elbaz (Paris)
Carine Franc (Villejuif)
Hélène Gilgenkrantz (Paris)
Bruno Goud (Paris)
Jacques Haiech (Strasbourg)
Bertrand Jordan (Marseille)
Laetitia Loviconi (Paris)
Jean-Christophe Pagès (Toulouse)
Philippe Sansonetti (Paris)
Sophie Sibétil (Paris)
Alain Tedgui (Paris)
Julien Vibert (Paris)

RESPONSABLE

« JEUNES POUSSES »

Claire Deligne

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Joël Bockaert (Montpellier)
Denis Duboule (Genève)
Gérard Friedlander (Paris)
Thierry Galli (Paris)
Simone Gilgenkrantz (Nancy)
Michel Goldman (Bruxelles)
Jean-Pierre Grünfeld (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)
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

Revue internationale de biologie et de médecine

- 45 Invasion de méduses sur la côte bauloise (MyoImage)
Guillaume Diop
- 46 La microdystrophie pour le traitement de la dystrophie musculaire
de Duchenne : avancées, défis et voies d'amélioration
Abbass Jaber, Laura Palmieri, Evelyne Gicquel, Isabelle Richard, David Israeli
- 52 Perspectives thérapeutiques pour les maladies lysosomales dues au déficit
en céramidase acide
**Marion Derome, Jérôme Denard, Martina Marinello, Thierry Levade,
Odile Boespflug-Tanguy, Ana Buj-Bello**
- 56 Rôle du facteur de transcription PAX3 au cours de la myogenèse : de l'embryon
à l'adulte
Virginia Zoglio, Joana Esteves de Lima, Frédéric Relaix
- 60 Cellules souches musculaires et métabolisme dans la dystrophie musculaire
de Duchenne, focus sur la kinase AMPK
Audrey Saugues, Anita Kneppers, Rémi Mounier
- 64 Contrôles des paramètres des domaines nucléaires par les microtubules
et la protéine MACF1
Alireza Ghasemizadeh, Vincent Gache
- 69 Modèle Force-Vitesse-Endurance (FoVE) : une nouvelle méthode d'évaluation
fonctionnelle in situ des muscles striés squelettiques pour les modèles murins
**Maximilien Bowen, Christophe Hourdé, Anne-Cécile Durieux, Damien Freyssenet,
Pierre Samozino, Baptiste Morel**

PARTENARIAT FILNEMUS SFNP

- 74 L'annuaire des laboratoires : une cartographie de la recherche
neuromusculaire française
**Gaëlle Kpalma, Gisèle Bonne, Tanya Stojkovic, Guilhem Solé,
Jean-Philippe Camdessanché**

LU POUR VOUS

- 75 L'intégration de la grande diversité génétique de la population humaine grâce
au pangénome
Louise Benarroch
- 76 Atlas du muscle squelettique vieillissant
Dounia Bouragba

77 AGENDA

PHOTO DE COUVERTURE : Pop (He)art

Immunofluorescence de cellules C2C12 transfectées avec un plasmide exprimant une GFP cytoplasmique (cellules au centre de l'image). Les noyaux sont marqués au DAPI. Un marquage avec un anticorps anti-alpha-tubuline acétylée marque le réseau microtubulaire (cytosquelette) des cellules. Le marquage du contour des cellules a été augmenté via l'outil « Find edge » sur Image. L'image a été acquise sur un microscope confocal Nikon ECLIPSE Ti-E inversé (x20). Avec cette photo, Anna Rausch De Traubenberg a reçu le premier prix MyoImage lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023. (© Lezgo Lab)



*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*

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 The SFM and the myology... in Olympic form!
Bénédicte Chazaud, Cyril Gitiaux

FOCUS

- 6 The clinical actionability of genes: A concept for rare diseases and the first objective assessment for myopathies
Emmanuelle Pion, Gisèle Bonne, Antonio Atalaia, Emmanuelle Salort-Campana, Svetlana Gorokhova, Shahram Attarian, Mireille Cossée, Martin Krahn

NEWS

- 9 Role of the Advanced practice nurse (APN) in the follow-up of respiratory failure in neuromuscular patient
Raja Kraiem

MANAGEMENT

- 12 Parasport and neuromuscular diseases
Orianne Lopez

SFM AWARDS

- 17 Effects of physical exercise in muscular dystrophies
Alexis Boulinguez, Dounia Bouragba, Barbara Crisol, Anne Bigot, Gillian Butler-Browne, Capucine Trollet
- 22 Benefit of treatment with rituximab in autoimmune myasthenia gravis in children
Agathe Molimard, Cyril Gitiaux, Christine Barnerias, Frédérique Audic, Arnaud Isapof, Ulrike Walther-Louvier, Claude Cancès, Caroline Espil-Taris, Jean-Baptiste Davion, Susana Quijano-Roy, Coraline Grisel, Brigitte Chabrol, Isabelle Desguerre
- 26 Arthrogryposis Multiplex Congenita in pediatric age: Correlation between Muscle MRI and functional assessment
Alicia Milot, Mariya Raikova, Claire Huzar, Véronique Thellier, Nicolas Hergibo, Marjolaine Gauthier, Gipsy Billy-Lopez, Chantal Durand, Frédérique Nugues, Véronique Bourg, Klaus Dieterich
- 30 From gene to cell: Functional validation of *RYR1* variants
Robin Reynaud Dulaurier, Julie Brocard, John Rendu, Nagi Debbah, Julien Fauré, Isabelle Marty
- 34 Tamoxifen, a high-potential molecule to treat all centronuclear myopathies
Charlotte Gineste, Jocelyn Laporte
- 40 Metabolic dysfunctions in type I myotonic dystrophy: A potential therapeutic target
Lola Lessard, Laure Gallay, Rémi Mounier
- 45 Jellyfish invasion on the coast of La Baule (Myolmage)
Guillaume Diop
- 46 Advances and Challenges in Microdystrophin gene therapy for Duchenne Muscular Dystrophy: progress and future directions
Abbass Jaber, Laura Palmieri, Evelyn Gicquel, Isabelle Richard, David Israeli



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 reprographie à des fins de vente, de location, de publicité ou de promotion réservés à l'éditeur.
Commission paritaire n° 1127T81597
Dépôt légal :
à parution
ISSN n° 07670974
ISSN électronique n° 1958-5381

International journal of biology and medicine

- 52 Therapeutic perspectives for lysosomal storage disorders caused by acid ceramidase deficiency
Marion Derome, Jérôme Denard, Martina Marinello, Thierry Levade, Odile Boespflug-Tanguy, Ana Buj-Bello
- 56 Role of the transcription factor PAX3 during myogenesis: from the embryo to the adult stage
Virginia Zoglio, Joana Esteves de Lima, Frédéric Relaix
- 60 Muscle stem cells and metabolism in Duchenne muscular dystrophy, focus on AMPK
Audrey Saugues, Anita Kneppers, Rémi Mounier
- 64 Myonuclear domain settings by microtubules and MACF1
Alireza Ghasemizadeh, Vincent Gache
- 69 Force-Velocity-Endurance (FoVE) Model: a new method for functional striated skeletal muscle in situ evaluation in murine models
Maximilien Bowen, Christophe Hourdé, Anne-Cécile Durieux, Damien Freyssenet, Pierre Samozino, Baptiste Morel

FILNEMUS SFNP PARTNERSHIP

- 74 Laboratories directory: Mapping of the French neuromuscular research
Gaëlle Kpalma, Gisèle Bonne, Tanya Stojkovic, Guilhem Solé, Jean-Philippe Camdessanché

LITERATURE REVIEWS

- 75 The pangenome integrates the vast genetic diversity of the human population
Louise Benarroch
- 76 Human skeletal muscle ageing atlas
Dounia Bouragba

77 FORTHCOMING MEETINGS

Comité de pilotage de ce numéro

Valérie Allamand
Gisèle Bonne
Bénédicte Chazaud
Pascal Cintas
Caroline Espil-Taris
Vincent Gache
Emmanuelle Salort-Campana
Coralie Sengenès
Guilhem Solé
Françoise Dupuy-Maury (SR)

Ont participé à ce numéro

Antonio Atalaia
Shahram Attarian
Frédérique Audic
Christine Barnerias
Louise Benarroch
Anne Bigot
Gipsy Billy-Lopez
Odile Boespflug-Tanguy
Gisèle Bonne
Alexis Boulanguiez
Dounia Bouragba
Véronique Bourg
Maximilien Bowen
Julie Brocard
Ana Buj-Bello
Gillian Butler-Browne
Jean-Philippe Camdessanché
Claude Cances
Brigitte Chabrol

Bénédicte Chazaud
Mireille Cossée
Barbara Crisol
Jean-Baptiste Davion
Nagi Debbah
Jérôme Denard
Marion Derome
Isabelle Desguerre
Klaus Dieterich
Guillaume Diop
Chantal Durand
Anne-Cécile Durieux
Caroline Espil-Taris
Joana Esteves de Lima
Julien Fauré
Damien Freyssenet
Vincent Gache
Laure Gallay
Marjolaine Gauthier
Alireza Ghasemizadeh
Evelyn Gicquel
Charlotte Gineste
Cyril Gitiaux
Svetlana Gorokhova
Coraline Grisel
Nicolas Hergibo
Christophe Hourdé
Claire Huzar
Arnaud Isapof
David Israeli
Abbas Jaber
Anita Kneppers

Gaëlle Kpalma
Martin Krahn
Raja Kraiem
Jocelyn Laporte
Lola Lessard
Thierry Levade
Orianne Lopez
Martina Marinello
Isabelle Marty
Alicia Milot
Agathe Molimard
Baptiste Morel
Rémi Mounier
Frédérique Nugues
Laura Palmieri
Emmanuelle Pion
Susana Quijano-Roy
Mariya Raikova
Anna Rausch De Trautenberg
Frédéric Relaix
John Rendu
Robin Reynaud Dulaurier
Isabelle Richard
Emmanuelle Salort-Campana
Pierre Samozino
Audrey Saugues
Guilhem Solé
Tanya Stojkovic
Véronique Thellier
Capucine Trollet
Ulrike Walther-Louvier
Virginia Zoglio

COVER PHOTO : Pop (He)art

Immunofluorescence of C2C12 cells transfected with a plasmid expressing cytoplasmic GFP (cells in the centre of the image). Nuclei are labelled with DAPI. Labelling with an acetylated anti- α -tubulin antibody marks the cells microtubular network (cytoskeleton). Labelling of the cell outline was enhanced using the 'Find edge' tool in Image. The image was acquired on a Nikon ECLIPSE Ti-E inverted confocal microscope (x20). With this photo, Anna Rausch De Trautenberg received the MyoImage first prize at the Société française de myologie (SFM) 2023 conference. (© Lezgo Lab)

Éditorial

La SFM et la myologie... en forme olympique !

Bénédicte Chazaud, Cyril Gitiaux

► Les Jeux Olympiques et Paralympiques de Paris 2024, ambassadeurs du sport, de l'exercice et de l'activité physique, ont offert un coup de projecteur planétaire à notre domaine, la myologie ! Ces événements ont mis au centre de l'actualité quotidienne de tous ces thématiques qui, en toute logique, ont trouvé leur place dans ces Cahiers de myologie.

Ce numéro reflète également une des missions essentielles de la Société française de myologie (SFM), le soutien aux chercheurs, chercheuses, cliniciens et cliniciennes en myologie, au cours des premières étapes de leur carrière. Aussi, nous sommes heureux de présenter les contributions de nombreux récents lauréats des prix SFM, que nous remercions vivement. La diversité des thématiques est à l'image de la richesse de notre communauté scientifique, des aspects les plus fondamentaux de la biologie du muscle aux nouvelles approches thérapeutiques pour les pathologies neuromusculaires, en passant par les innovations diagnostiques et la physiologie musculaire en conditions normales et pathologiques.

Par ailleurs, dans le cadre de la promotion de la recherche fondamentale, clinique et translationnelle en myologie, la SFM poursuit ses collaborations. La première édition d'un appel d'offre conjoint entre la filière de santé des maladies neuromusculaires, Filnemus¹, et la SFM a permis de financer le démarrage de collaborations fructueuses entre chercheurs « fondamentaux » et cliniciens. Il est essentiel, en particulier, que nos jeunes collègues cliniciens intéressés par la myologie trouvent le soutien nécessaire pour s'engager dans des projets de recherche. La SFM sera présente pour les aider dans cette démarche !

De même, les Cahiers de Myologie, initialement portés par l'AFM-Téléthon, sont devenus un partenariat étroit entre l'association et la SFM avec notamment la co-crédation d'un poste de secrétaire de rédaction². Nous en profitons pour remercier très chaleureusement Andoni Urtizberea pour son immense travail aux Cahiers pendant tant d'années... et nous attendons bien sûr ses contributions du bout du monde !

Enfin, l'invitation de nos trois derniers lauréats du prix Impulsion à l'institut inter-universitaire de myologie en Italie, ou

encore l'organisation d'une session commune aux JSFM de Clermont-Ferrand avec la Société française de biologie du développement confirment le dynamisme de nos collaborations, aussi bien à l'échelle nationale qu'internationale.

Attirer de nouveaux chercheurs vers la myologie étant aussi une des missions de la SFM, nous sommes ravis que se soit concrétisée la *Graduate School MuSkLE (Musculo-Skeletal system, Locomotion & Exercise)* portée par l'université Claude Bernard Lyon 1³. Elle s'appuie sur un réseau de scientifiques et cliniciens de 18 équipes de 8 instituts, spécialisés dans l'étude du système musculosquelettique, de la locomotion et de l'exercice, dans des contextes physiologiques et pathophysiologiques. *MuSkLE* vise à former les étudiants à des travaux de recherche interdisciplinaires sur ces thèmes. À cette fin, sont mis en place un master international, des allocations doctorales, l'accueil de professeurs étrangers, ainsi qu'une école d'été internationale (*Summer School*) dont la troisième édition a réuni 21 étudiants en licence de 7 nationalités. Sa complémentarité avec l'historique DIU de Myologie, porté par Sorbonne Université, Aix-Marseille Université et l'AFM-Téléthon, permet une offre complète de formation en myologie à l'échelle nationale et internationale, qui s'inscrit durablement dans l'évolution des universités françaises.

Ce bilan non exhaustif illustre que cette dynamique insufflée par la SFM depuis 22 ans devrait encore s'amplifier, valorisant ainsi toutes les formes de recherche sur le muscle et la motricité. Pas de doute, dans les années à venir, la myologie et la SFM devraient encore afficher une forme olympique ! ♦

The SFM and the myology... in Olympic form!

LIENS D'INTÉRÊT

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

Bénédicte Chazaud

Institut NeuroMyoGène, Inserm, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1,
Lyon

benedicte.chazaud@inserm.fr

Cyril Gitiaux

Hôpital Necker Enfants Malades ; Université Paris Cité, Paris

cyril.gitiaux@aphp.fr

Présidente et vice-président de la SFM depuis 2024

TIRÉS À PART

B. Chazaud & C. Gitiaux

¹ <https://www.filnemus.fr/>

² N'hésitez pas à lui envoyer vos contributions pour le prochain numéro à cahiersdemyologie@sfmyologie.org

³ <https://graduate-plus.fr/musculo-skeletal-system-locomotion-exercise/>

► Le séquençage à haut débit a introduit le concept de « gènes actionnables ». Ces gènes sont liés à des pathologies pour lesquelles des traitements ou des prises en charge spécifiques existent. Un diagnostic génétique précis est donc crucial pour initier des interventions précoces qui peuvent prévenir ou retarder l'évolution de maladies rares. Le séquençage à haut débit a considérablement augmenté les capacités d'analyse génétique, mais il a également entraîné une augmentation des demandes d'analyses, allongeant les délais de rendu des résultats. Une priorisation des analyses devient nécessaire, surtout lorsque des « gènes actionnables » sont suspectés. Pour les myopathies, un travail national a identifié 63 gènes actionnables, impliqués dans des pathologies pour lesquelles peuvent être initiés un traitement ciblé et/ou une prise en charge précoce, améliorant ainsi le pronostic des patients. Malgré des avancées, de nombreuses maladies rares restent sans traitements spécifiques, soulignant l'importance continue de la recherche et de l'innovation en génétique médicale. ◀

Avec l'utilisation du séquençage à haut débit, le concept de « gènes actionnables » a émergé. Il s'agit de gènes impliqués dans des pathologies pour lesquelles il existe un traitement et/ou une prise en charge spécifiques qui pourront être initiés en cas de diagnostic génétique précis. Cette notion s'est beaucoup développée avec la généralisation des analyses génétiques par séquençage à haut débit. Celui-ci a constitué, ces dernières années, une révolution majeure dans le domaine du diagnostic génétique, par une augmentation sans précédent des capacités d'analyse de notre patrimoine génétique.

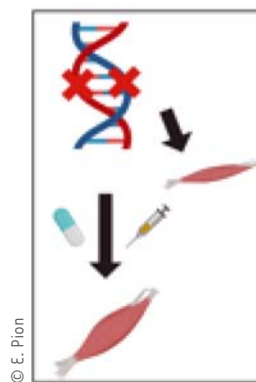
Il y a quelques années, les analyses génétiques étaient limitées à un ou quelques gènes par patient, en fonc-

Vignette : Le diagnostic génétique précis des pathologies dues à des mutations des gènes actionnables permet des interventions pouvant prévenir ou retarder l'évolution de maladies musculaires rares. (Schéma généré avec BioRender.com)

L'actionnabilité clinique des gènes

Un concept d'actualité dans le cadre des maladies rares et une première évaluation objective pour les myopathies

Emmanuelle Pion¹, Gisèle Bonne²,
Antonio Atalaia², Emmanuelle Salort-Campana³,
Svetlana Gorokhova⁴, Shahram Attarian⁵,
Mireille Cossée⁶, Martin Krahn⁴



¹Filnemus, laboratoire de génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France

²Sorbonne Université, Inserm, Institut de Myologie, Centre de recherche en myologie, Paris, France

³Service de pathologies neuromusculaires, Hôpital de la Timone, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

⁴Aix-Marseille Université, Inserm, Marseille Medical Genetics, U1251 ; Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, APHM, Marseille, France

⁵Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, CHU La Timone Filnemus, Euro-NMD, Aix-Marseille Université

⁶Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, PhyMedExp, Université de Montpellier, Inserm, CNRS, Montpellier

martin.krahn@univ-amu.fr

mireille.cossee@inserm.fr

tion de l'orientation diagnostique (parmi les environ 5 000 gènes connus pour être impliqués en pathologie humaine, notre génome en comportant un total d'environ 20 000).

Grâce aux nouvelles technologies de séquençage à haut débit, il est maintenant devenu possible d'analyser rapidement et de manière simultanée des dizaines ou centaines de gènes pour un patient, ce qui a permis une augmentation du rendement diagnostique. Un diagnostic génétique de précision ainsi établi est essentiel pour la prise en charge du patient, le conseil génétique sur le plan familial (notamment le risque de récurrence) et d'éventuelles démarches de diagnostic prénatal voire préimplantatoire. Il est à souligner cependant que, malgré des progrès constants, de nombreuses maladies rares d'origine génétique restent sans ressources thérapeutiques spécifiques.

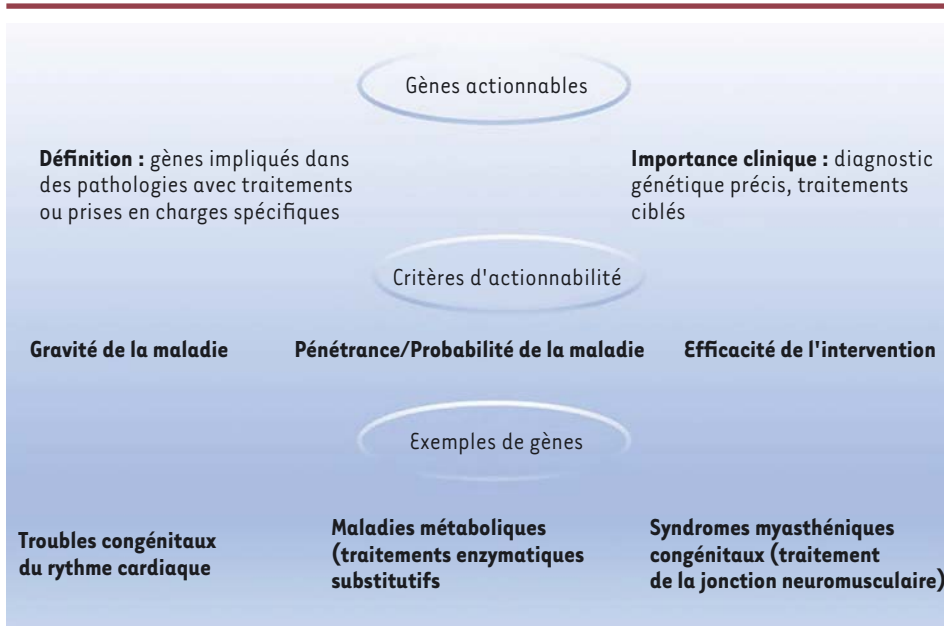


Figure 1. Description des gènes actionnables. Définitions, implications, critères d'actionnabilité et exemples de gènes actionnables.

Aussi, l'importante augmentation des capacités de séquençage implique aujourd'hui une augmentation majeure du nombre de demandes d'analyses réalisées quasi-exclusivement dans le secteur hospitalier public. Il en résulte sur le plan national un allongement des délais de rendu de résultats individuels dans les principaux centres hospitaliers proposant ces approches diagnostiques, avec une réflexion et une réorganisation actuellement engagées.

Dans cette situation, une priorisation des analyses peut s'avérer nécessaire lorsque la suspicion diagnostique chez un patient peut impliquer un « gène actionnable » : en cas d'identification de variant(s) pathogène(s) dans un tel gène, un traitement spécifique peut alors être initié, permettant de prévenir l'apparition ou de retarder, voire de stabiliser, l'évolution d'une maladie. Il apparaît ainsi évident que tout retard de diagnostic génétique dans une telle situation peut avoir des conséquences sur l'évolution de la pathologie du patient, par retard d'initiation du traitement spécifique.

Des études menées depuis 2013, initiées notamment par l'*American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), ont permis de caractériser des « gènes actionnables » dans différents domaines de maladies génétiques, comme par exemple les troubles congénitaux du rythme cardiaque, certaines formes héréditaires de cancers ou de maladies métaboliques, ou encore certaines formes d'épilepsies [1].

Dans le même objectif, et pour la première fois sur le plan international, un travail national a été mené pour caractériser des « gènes actionnables » dans le domaine des myopathies, coordonné par le Pr Martin Krahn (service de Génétique médicale/APHM/AMU) et le Dr Mireille Cossée (laboratoire de Génétique moléculaire du CHU Montpellier), en lien avec la Filière de santé maladies rares neuromusculaires Filnemus (coordonnée par le Pr Shahram Attarian, APHM/AMU ; coordination de projet Emmanuelle Pion). Ce travail a impliqué les Centres de référence/compétence maladies rares des différents CHU en France,

ainsi que les neuf laboratoires effectuant le diagnostic génétique des myopathies [2].

Une classification semi-quantitative établie par l'organisme *Clinical Genome Resource* (ClinGen ; 2018) [3] permet d'évaluer « l'actionnabilité » clinique des gènes au travers de quatre indicateurs (gravité de la maladie ; pénétrance/probabilité de la maladie ; efficacité de l'intervention ; nature de l'intervention dont effets secondaires) combinés à l'indication du niveau de preuve (Figure 1). Sur cette base, 63 gènes actionnables ont été identifiés, comme par exemple des gènes responsables de myopathies métaboliques pouvant bénéficier de traitements enzymatiques substitutifs ou ceux de syndromes myasthéniques congénitaux accessibles à des traitements spécifiques ciblant la jonction neuromusculaire [4, 5].

Ces gènes actionnables devront dorénavant être analysés avec une notion de priorisation, dans le cadre des analyses réalisées dans les laboratoires de biologie médicale de référence agréés pour le diagnostic des myopathies, et également sur les deux plateformes nationales de séquençage à très haut débit du plan France médecine génomique 2025 (<https://pfmg2025.aviesan.fr/>).

Dans cette optique, une coordination de cette initiative au sein de Filnemus a été mise en place, en interaction avec le projet *TREATABOLOME* (<https://treatabolome.org>) développé dans le cadre du projet européen *Solve-RD* (coordonné par le Dr Gisèle Bonne, Centre de recherche en myologie, Paris). Le *Treatabolome* est une base de données et un portail web permettant d'interroger, au

Syndrome myasthénique congénital et/ou myopathies avec dysrégulation électrolyte et/ou susceptibilité à l'hyperthermie maligne	Myopathies métaboliques	Myopathies avec complications cardiaques	Autres myopathies
AGRN, CACNA1, CHAT, CHRNA1, CHRN1, CHRND, CHRNE, COL13A1, COLQ, DOK7, DPAGT1, GFPT1, HSPG2, KCNJ2, KCNQ2, LAMB2, MUSK, PREPL, RAPSN, RYR1, SCN4A, SLC25A1, SLC5A7, SNAP25, SYT2	ACADVL, ETFA, ETFB, GAA, GMPPB	BAG3, DES, FLNC, LMNA	COL3A1, PLEC

Tableau 1. Liste de 36 gènes actionnables dans le domaine des myopathies ayant un score d'actionnabilité ≥ 9 avec en rouge ceux présents dans le Treatabolome.

moment du diagnostic moléculaire, les traitements disponibles au niveau des gènes/variants, et ce afin de limiter les délais d'accès aux traitements pour les patients atteints de maladies rares [6]. Cette base de données est alimentée via des revues systématiques de la littérature (SLR pour *systematic literature review*) des traitements existants ; des revues établies pour des groupes spécifiques de maladies rares. Un guide pour la rédaction de ces SLR est disponible afin de générer des ensembles de données FAIR (pour *Findable, Accessible, Interoperable, Reusable*, c'est-à-dire accessibles, comprises, échangeables et réutilisables) conformes [7]. Actuellement, le *Treatabolome* comporte les données issues de sept SLR [5, 8-12] dans le domaine neuromusculaire, dont 33 des 63 gènes actionnables de myopathies (Tableau 1).

Nos objectifs sont maintenant de connecter le *Treatabolome* aux outils de tri des variants au sein des laboratoires de diagnostic génétique de Filnemus, et de compléter les SLR pour les gènes actionnables de myopathies non encore disponibles dans le *Treatabolome*.

Par ailleurs, certains gènes actionnables de myopathies retenus dans le cadre de ce projet de Filnemus seront inclus dans le projet de recherche *PERIGENOMED* (coordonné par le Pr Laurence Faivre du CHU de Dijon) qui est le projet pilote national d'évaluation du dépistage génétique néonatal par séquençage de génomes complets. ♦

SUMMARY

The clinical actionability of genes: A concept for rare diseases and the first objective assessment for myopathies

High-throughput sequencing has introduced the concept of "actionable genes". These genes are linked to diseases for which specific treatments or care exist. Accurate genetic diagnosis is therefore crucial for initiating interventions that can prevent or delay the progression of rare diseases. High-throughput sequencing has considerably increased the capacities of genetic analyses, but it has also led to an increase in requests for analyses, lengthening the time taken to obtain results. It is becoming necessary to prioritize analyses, especially when "actionable genes" are suspected to be implicated. In the case of myopathies, a French national study has identified 63 actionable genes, implicated in diseases for which a targeted treatment and/or priority care can be initiated, thereby improving the patient's prognosis. Despite advances, many rare diseases remain without specific treatments, underlining the continuing importance of research and innovation in medical genetics. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Axeen EJT, Olson HE. Neonatal epilepsy genetics. *Semin Fetal Neonatal Med* 2018 ; 23 : 197.
2. Krahn M, Biancalana V, Cerino M, et al. A national French consensus on gene lists for the diagnosis of myopathies using next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* 2019 ; 27 : 349.
3. Berg JS, Foreman AKM, O'Daniel JM, et al. A semiquantitative metric for evaluating clinical actionability of incidental or secondary findings from genome-scale sequencing. *Genet Med* 2016 ; 18 : 467.
4. Vecten M, Pion E, Bartoli M, et al. Objective evaluation of clinical actionability for genes involved in myopathies: 63 genes with a medical value for patient care. *Int J Mol Sci* 2022 ; 23 : 8506.
5. Thompson R, Bonne G, Missier P, et al. Targeted therapies for congenital myasthenic syndromes: systematic review and steps towards a *Treatabolome*. *Emerg Top Life Sci* 2019 ; 3 : 19.
6. Bonne G. The *Treatabolome*, an emerging concept. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (3) : 337-339.
7. Atalaia A, Thompson R, Corvo A, et al. A guide to writing systematic reviews of rare disease treatments to generate FAIR-compliant datasets: building a *Treatabolome*. *Orphanet J Rare Dis* 2020 ; 15 (1) : 206.
8. Atalaia A, Ben Yaou R, Wahbi K, et al. Laminopathies' treatments systematic review: a contribution towards a 'Treatabolome'. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (3) : 419-439.
9. Desaphy JF, Altamura C, Vicart S, Fontaine B. Targeted therapies for skeletal muscle ion channelopathies: systematic review and steps towards precision medicine. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (3) : 357-381.
10. Manta A, Spendiff S, Lochmüller H, Thompson R. Targeted therapies for metabolic myopathies related to glycogen storage and lipid metabolism: a systematic review and steps towards a 'Treatabolome'. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (3) : 401-417.
11. Tiet MY, Lin Z, Gao F, et al. Targeted therapies for Leigh syndrome: systematic review and steps towards a 'Treatabolome'. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (6) : 885-897.
12. Jennings MJ, Lochmüller A, Atalaia A, Horvath R. Targeted therapies for hereditary peripheral neuropathies: systematic review and steps towards a 'Treatabolome'. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 (3) : 383-400.

TIRÉS À PART

E. Pion

► Cette étude centrée sur le suivi de l'insuffisance respiratoire (IR) des patients atteints de maladies neuromusculaires (MNM) met l'accent sur la nécessité d'améliorer l'offre de soins et de pallier les ruptures de parcours. L'infirmier(ère) en pratique avancée (IPA), dans une dynamique pluridisciplinaire, pourrait ainsi être le maillon manquant.

L'amélioration de la prise en charge des MNM est au cœur des préoccupations de la filière de santé maladies rares neuromusculaires Filnemus, des centres de référence et de l'AFM-Téléthon. C'est aussi, chez eux, que se discutent les besoins d'IPA spécialisée dans les affections neuromusculaires et qui pourrait répondre à des besoins non couverts ou insuffisamment couverts dans le parcours de santé. ◀

L'enquête suivante a été réalisée dans le cadre d'un mémoire de recherche pour la validation du diplôme d'État d'Infirmière en pratique avancée (IPA). L'objectif était d'évaluer la prise en charge de l'insuffisance respiratoire du patient atteint d'une maladie neuromusculaire (MNM) en milieu ordinaire, c'est-à-dire vivant à son domicile, et d'étudier la plus-value de l'IPA, nouvel acteur de santé en France.

Introduction

Les maladies neuromusculaires sont des pathologies souvent incurables, progressives pouvant aller jusqu'à la perte partielle ou totale de l'autonomie. Elles demandent un suivi tout au long de la vie, notamment des fonctions cardio-respiratoires. L'altération de ces fonctions a un impact significatif sur la morbi-mortalité des patients. La décompensation respiratoire est l'une des principales causes de décès du patient atteint de maladie neuromusculaire [1]. Le parcours de santé est complexe et demande une prise en charge pluriprofessionnelle et coordonnée, surtout en milieu ordinaire. Le maintien à domicile de ces patients fait écho à la stratégie nationale

Place de l'infirmier(ère) en pratique avancée (IPA) dans le suivi de l'insuffisance respiratoire du patient neuromusculaire

Raja Kraiem



© Freepik

IPA, pôle Yolaine de Kepper de l'AFM-Téléthon, Angers, France
rkraiem@afm-telethon.fr

de santé de 2018-2022 qui, dans une dynamique d'inclusion, a œuvré au maintien à domicile des personnes handicapées et au développement des soins de proximité [2]. Face à l'importance du suivi respiratoire dans les MNM, il était intéressant d'étudier l'état de ce suivi partagé entre la médecine de ville et les consultations pluridisciplinaires neuromusculaires (CPNM). Et ce, d'autant plus que le dernier rapport de la Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (Drees) de 2021 montre une diminution de la démographie médicale qui met en tension le système d'offre et de demande et impacte l'accès aux soins et le suivi des patients [3].

L'insuffisance respiratoire dans les MNM

Dans les MNM, l'insuffisance respiratoire (IR) s'installe généralement de manière progressive et insidieuse, surtout quand la maladie évolue lentement, comme dans le cas de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) ou de l'amyotrophie spinale (SMA). Elle est due à un dysfonctionnement des muscles respiratoires aboutissant progressivement à une insuffisance respiratoire chronique restrictive et/ou à une altération de la capacité de toux.

Un bilan respiratoire doit donc être fait régulièrement. Les modalités de suivi sont développées dans les Protocoles nationaux de diagnostic

et de soins (PNDS) validés par la Haute autorité de santé (HAS) et catégorisés pour chaque MNM.

Du fait de l'hétérogénéité de ces pathologies et selon le stade d'évolution de l'IR, le suivi respiratoire peut comporter une évaluation clinique (dyspnée, hypercapnie, perte de poids, etc.), une évaluation de la toux (débit expiratoire de pointe à la toux, etc.), des épreuves fonctionnelles respiratoires (pressions inspiratoire et expiratoire maximales, etc.), une gazométrie et des examens du sommeil (PaO₂, PaCO₂, oxymétrie nocturne, capnographie transcutanée, etc.) [4, 5].

Une aide mécanique peut être proposée afin de pallier le déficit des muscles respiratoires. On y retrouve les outils d'aide à la toux (l'insufflateur-exsufflateur mécanique, etc.), le relaxateur de pression utilisant les techniques d'hyper-insufflation, la ventilation non invasive qui est proposée classiquement lorsque la PaCO₂ est supérieure à 45 mmHg ou lorsqu'une hypercapnie nocturne est détectée et associée, ou non, à des signes d'hypoventilation [6] et, enfin, la ventilation invasive par trachéotomie en dernier recours.

Le volet de la prévention et du dépistage a également toute son importance, quand on sait que 50 % des hospitalisations des patients NM sont causées par une complication respiratoire [7]. Pour limiter les infections, les préconisations standards se basent sur le respect de la vaccination (contre la grippe, le pneumocoque, la Covid-19) et des règles d'hygiène. Se rajoute la surveillance des signes d'hypoventilation et d'hypercapnie à travers l'éducation du patient, des aidants et des professionnels de santé. Le suivi de l'état nutritionnel est aussi important puisque l'obésité peut aggraver le trouble ventilatoire restrictif, les troubles respiratoires nocturnes et l'IR hypercapnique. *A contrario*, la dénutrition aggrave la perte musculaire, ce qui peut se répercuter sur la ventilation. Il faut aussi savoir identifier les troubles de la déglutition pouvant se compliquer de pneumopathies d'inhalation. En outre, est également nécessaire la prévention des risques de « iatrogénie médicamenteuse » due à l'automédication, par exemple, ou à l'utilisation de certains traitements tels que les sédatifs, les benzodiazépines ou les fluidifiants bronchiques [8]. Enfin, il faut s'assurer de la bonne observance des traitements.

Une enquête mettant en lumière le suivi de l'IR en milieu ordinaire

En février 2023, huit patients atteints de MNM (4 patients atteints de DMD et 4 de SMA), vivant en milieu ordinaire, ont participé à une enquête qualitative exploratoire et monocentrique *via* des entretiens semi-directifs. Le questionnaire portait sur le suivi global de la maladie neuromusculaire, l'évaluation de la prise en charge par le médecin généraliste et l'état du suivi de l'IR.

Les résultats montrent que l'intégralité des patients sont suivis par des spécialistes du CHU de proximité en lien, ou non, avec la CPNM. Ils jugent ce suivi régulier et satisfaisant.

Concernant le suivi en médecine de ville, le constat est plus mitigé. Un quart des patients est insatisfait et trois-quarts le jugent comme irrégulier. Ceci est essentiellement expliqué par une indisponibilité du généraliste, l'impossibilité pour celui-ci de se déplacer à domicile,

ou à son manque de connaissances vis-à-vis de la MNM. Les conséquences sur la prise en charge de l'IR se traduisent par une banalisation de la prescription de traitements médicamenteux. Dans les cas d'infections respiratoires, pour un quart des patients, le médecin traitant prescrit des traitements, généralement des antibiotiques, sans consultation préalable. L'échange se fait par téléphone et l'ordonnance est envoyée par e-mail au patient. Et en cas d'infection, la moitié des patients s'oriente directement vers l'automédication. L'enquête met aussi en lumière le non-respect de l'intégralité des recommandations vaccinales de la part de la moitié des patients et l'inaccessibilité aux programmes d'éducation thérapeutique pour la totalité, ce qui montre un faible accès à l'éducation à la santé et à la prévention.

L'IPA, un nouveau professionnel de santé au service des patients neuromusculaires

En 2018, l'IPA — qui n'est pas un(e) infirmier(ère) de coordination — a fait son apparition dans le champ du suivi des pathologies chroniques, de la maladie mentale, de l'oncologie et de la néphrologie. S'appuyant sur une expertise et des compétences plus élargies, ce nouveau professionnel de santé a pour but d'améliorer le parcours de santé et l'accès aux soins des patients. Actuellement non inclus dans le suivi du patient français atteint de MNM, il a cependant déjà fait ses preuves outre-Atlantique, comme au Canada par exemple [9]. Il serait ainsi intéressant, pour le bénéfice du patient français, de l'inclure dans son parcours de santé.

Notre étude permet d'envisager les actions que l'IPA pourrait mettre en place en collaboration avec le médecin généraliste et l'ensemble des professionnels prenant en charge le patient. La plus-value pourra se faire en assurant un suivi clinique de proximité (consultation à domicile et/ou téléconsultation), en renforçant le lien ville-hôpital, en informant et formant les « pairs » sur la spécificité de la MNM, en aidant à la coordination du parcours de santé, en proposant une offre de soins centrée sur l'éducation à la santé (dépistage, prévention, éducation thérapeutique) et en accompagnant l'innovation thérapeutique. ♦

SUMMARY

Role of the Advanced practice nurse (APN) in the follow-up of respiratory failure in neuromuscular patient

This study, which focuses on the follow-up of respiratory failure in neuromuscular patients, highlights the need to improve the supply of care and to compensate for gaps

in care. Advanced practice nurses (APNs) as part of a multidisciplinary approach, could be the missing link.

Improving the management of neuromuscular disorders is a key concern for the Filnemus neuromuscular rare disease network, the reference centers and the AFM-Téléthon. This is also where the need for an APN specialized in neuromuscular disorders is being discussed, and which could meet needs that are not covered, or are insufficiently covered, in the healthcare pathway. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Urtizberea JA, Boucharef W, Frischmann M. Maladies neuromusculaires : évolution des concepts médicoscientifiques et des pratiques de soins. *Neuropsychiatrie de l'Enfance et de l'Adolescence* 2008 ; 56 (2) : 5157.
2. Dal'Secco E. 2018-2022 : quelle nouvelle stratégie nationale de santé ? Handicap.fr. <https://informations.handicap.fr/a-strategie-nationale-sante-10438.php> (consulté le 28 novembre 2022).

3. Anguis M, Bergeat M, Pisarik J, et al. Quelle démographie récente et à venir pour les professions médicales et pharmaceutiques ? *Les Dossiers de la DREES* 2021.
4. Boussaid G. Impact de la prise en charge respiratoire chez les patients atteints d'une maladie neuromusculaire. Université Paris Saclay (COMUE) 2016. Consulté le 27 décembre 2022. [En ligne]
5. Priou P, Trzepizur W, Meslier N, et al. Mise au point dans la prise en charge respiratoire des maladies neuromusculaires chroniques. *Rev Pneumol Clin* 2017 ; 73 (6) : 316-322.
6. Modalités pratiques de la ventilation non invasive en pression positive, au long cours, à domicile, dans les maladies neuromusculaires. Haute Autorité de Santé 2006. [En ligne]
7. Lechtzin N, Wiener CM, Clawson L, et al. Hospitalization in amyotrophic lateral sclerosis: causes, costs, and outcomes. *Neurology* 2001 ; 56 (6) : 753757.
8. Prévention et maladies neuromusculaires. *Savoirs et comprendre*, AFM-Téléthon 2016. [En ligne]
9. Chouinard MC, Leclerc N. Gestionnaire de cas : un modèle en clinique de maladies neuromusculaires. *Perspective infirmière* 2015 ; 12 (5) : 51-56.

TIRÉS À PART

R. Kraiem



Parasport et maladies neuromusculaires

Orianne Lopez

► Les bienfaits de l'activité physique, sur le plan organique et psychologique, sont démontrés. Chez les patients atteints d'une maladie neuromusculaire, l'activité physique adaptée et le parasport sont aussi des moyens de lutter contre la sédentarité qui s'ajoute à celle imposée par la maladie.

Quelles que soient les capacités motrices du sujet, qu'il soit marchant ou non, qu'il ait une bonne force des membres supérieurs ou seulement une minime fonction distale préservée, un parasport peut être pratiqué. En effet, certaines disciplines sont possibles pour des patients aux fonctions motrices très faibles.

Une des missions des intervenants dans le parcours de vie de la personne atteinte d'une maladie neuromusculaire est d'aborder ce sujet. Il est capital de faire prendre conscience de ce champ des possibles et de son importance au patient, dès son plus jeune âge, et à ses aidants, tout en respectant d'éventuelles contre-indications ou inaptitudes partielles. Accompagner vers une pratique parasportive, c'est devoir « sortir de l'hôpital » et interagir avec des collaborateurs de proximité pour faciliter l'orientation, organiser l'initiation et la mise en place de l'activité dans le quotidien du patient.

Le temps accordé au patient et à ses aidants pour aborder ce sujet et les guider permet d'illustrer la prise en charge globale auprès de ce patient et le souci porté à son inclusion et à sa santé physique et mentale. ◀



© O. Lopez

Service de Neurologie
Pédiatrique, CHU Montpellier
— Institut Saint-Pierre, Palavas-
les-Flots — Comité Paralympique
et Sportif Français, Paris, France
o-lopez@chu-montpellier.fr

nant une dépense d'énergie supérieure à celle qui est dépensée au repos », selon l'Assurance maladie. Elle inclut donc les activités sportives et les activités ou exercices quotidiens (déplacements actifs, activités domestiques ou professionnelles) [1].

L'**activité physique adaptée** est définie comme « la pratique, dans un contexte d'activité du quotidien, de loisir, de sport ou d'exercices programmés, des mouvements corporels produits par les muscles squelettiques, basée sur les aptitudes et les motivations des personnes ayant des besoins spécifiques qui les empêchent de pratiquer dans des conditions ordinaires », selon l'article D1172-1 du Code de la santé publique [2].

Le **sport** comprend toutes formes d'activités physiques qui, à travers une participation organisée ou non, ont pour objectif l'expression ou l'amélioration de la condition physique et psychique, le développement des relations sociales ou l'obtention de résultats en compétition de tous niveaux [3].

Le terme **parasport** désigne l'ensemble des sports pratiqués par les personnes en situation de handicap, en loisir comme en compétition, inscrits au programme des Jeux Paralympiques ou non [4]. Il est important d'avoir à l'esprit que le parasport ne signifie pas automatiquement une pratique en compétition. Le parasport est le terme équivalent de « sport » pour les personnes en situation de handicap. Il se pratique donc dans différents cadres — scolaire, amical, en famille, en club — et avec différents objectifs.

Généralités sur l'activité physique

Les bienfaits de l'activité physique sont connus dans la population générale [5, 6] ainsi que dans la plupart des maladies chroniques et dans les maladies neuromusculaires (MNM) [7]. Elle est recommandée pour lutter contre la sédentarité, et notamment au-delà de celle

Introduction

Activité physique, activité physique adaptée, sport, parasport : définitions

Pour commencer, il convient de rappeler quelques définitions de termes couramment utilisés aux nuances parfois peu connues.

L'**activité physique** est définie comme « l'ensemble des mouvements du corps produits par les muscles, entraî-



imposée par la maladie, pour entretenir certaines fonctions, voire pour les améliorer.

Parmi les organes cibles de ces bienfaits, nous pouvons citer le muscle (sa composition, sa souplesse, sa fatigabilité), le cœur, le poumon, l'os. Au-delà des bénéfices organiques, les bénéfices psychologiques, sur la socialisation et l'estime de soi, sont également avérés [7-9].

L'activité physique adaptée et les maladies neuromusculaires

Pour tous, l'activité physique adaptée se module selon plusieurs éléments, qui sont à adapter en fonction du niveau d'entraînement et de la condition globale. Ces éléments sont notamment le mouvement, le type d'exercice (aérobie ou anaérobie), la fréquence des séances, la durée de l'effort et son intensité. Il est aussi important d'être attentif à la récupération, que ce soit pendant une séance d'activité physique qu'entre deux séances. Par ailleurs, la notion de progressivité au cours d'une séance, mais aussi dans la mise en place de l'activité, est un point important pour optimiser les chances de bien tolérer l'activité physique et donc de la maintenir dans le temps, et ce, d'autant plus chez les personnes présentant une MNM.

Des exercices d'activité physique ont été validés chez les patients atteints d'une MNM. On peut citer par exemple la marche à allure confortable sur tapis roulant pendant 20 à 40 minutes comme exercice d'endurance, ou bien des exercices contre résistance de flexion/extension de genoux et de hanches, en faisant plus de répétitions si l'intensité est moindre ou inversement, sur une durée de séance de 30 à 60 minutes. Ces exercices peuvent guider le médecin pour accompagner le patient à la mise en place et/ou au maintien d'une activité physique régulière [10, 11].

Les activités physiques, plus ou moins adaptées, peuvent être pratiquées avec pas ou peu de matériel. Par exemple, le renforcement musculaire peut être fait avec des poids légers comme des haltères, mais aussi avec des bouteilles d'eau. Le travail avec des élastiques de résistances variables est aussi intéressant. Certains sujets ont à domicile des dispositifs de type vélo elliptique, vélo d'appartement, pédalier, tapis de marche pour réaliser leurs séances.

Ces activités physiques peuvent se pratiquer en autonomie ou avec un accompagnement par un éducateur en activités physiques adaptées (APA) ou par un kinésithérapeute, au domicile, en cabinet ou en structure.

L'orientation vers une discipline parasportive en pratique

Éléments d'orientation des patients avec une MNM vers une discipline

Comme énoncé précédemment, la notion de sport et donc de parasport comprend la notion d'objectif, quel qu'il soit : pour améliorer sa condition physique, sa santé psychologique, développer un lien social, etc. Par ailleurs, une pratique plus organisée implique souvent le choix d'une ou de plusieurs disciplines parasportives.

L'orientation vers une discipline repose donc sur plusieurs éléments : le souhait du patient, ses appétences, l'accessibilité et l'existence d'éventuelles contre-indications médicales. Pour les patients atteints de MNM, la considération des fonctions motrices existantes (tronc et

membres), de la maladie, des problématiques organiques et de la perspective d'évolution est importante. Concernant les fonctions motrices, par exemple, si un jeune garçon ambulant atteint d'une dystrophie musculaire de Duchenne veut pratiquer un sport de raquette, on préférera lui conseiller et l'orienter vers le tennis de table plutôt que vers le badminton où des mouvements sont fréquemment nécessaires au-dessus du plan des épaules, ou plutôt que vers le tennis qui nécessite de grands déplacements avec une majoration du risque de chutes. L'essentiel est de bien expliquer au patient les différentes disciplines, les difficultés potentielles présentes et à venir, et les adaptations à disposition. L'objectif est de déterminer, ensemble, une discipline qui plaise au patient et, si possible, dont la pratique n'est pas compromise, à court terme, par l'évolutivité de la maladie [7]. Le patient fera ainsi son choix en étant éclairé.

Par ailleurs, pour un patient mal marchant, il conviendra de le questionner sur sa volonté de pratiquer debout ou en fauteuil roulant. En effet, la pratique debout est intéressante, mais il est préférable, selon les difficultés – par exemple lors d'un déficit musculaire proximal de membres inférieurs ou équin de chevilles avec risque de chute, fatigabilité, etc. –, d'envisager une discipline debout à faible déplacement comme le para tennis de table, le para tir à l'arc, le para tir sportif. La pratique parasportive en fauteuil peut être un moyen de se familiariser avec cette aide technique et favoriser son acceptation dans le quotidien, par exemple pour les patients atteints de neuropathies.

Enfin, certains parasports peuvent se pratiquer facilement, y compris en famille, en dehors de tout cadre organisé. On peut citer les sorties en vélo au cours desquelles un jeune enfant en situation de handicap utilisera un tricycle, ou encore le tennis de table, le jeu de fléchettes ou de sarbacane dans le jardin. Certains parasports peuvent être pratiqués aussi dans le cadre scolaire, sur le temps péri-scolaire ou en clubs ; ceux-ci proposent des pratiques en loisir ou en compétition, selon l'envie.

De fait, de nombreuses disciplines sportives peuvent être adaptées aux besoins du patient pour permettre une pratique épanouissante et bénéfique.

Zoom sur certaines disciplines parasportives dans le contexte des MNM

Le **para tennis de table** est un sport d'intensité modérée, avec des temps de pause. Il peut être pratiqué debout ou en fauteuil par des patients ayant une atteinte neuromusculaire variable, y compris une neuropathie (possibilité d'utiliser un dispositif pour la tenue de



Le para tir sportif. ©CPSF/KMSP



Le rugby fauteuil. ©CPSF/KMSP

raquette) ou certaines dystrophies musculaires. Pour le pratiquer de manière conventionnelle, il est cependant nécessaire d'avoir une force proximale suffisante. Cette discipline peut être pratiquée dans de nombreux contextes, plus ou moins encadrés, en milieu scolaire ou en clubs, qu'ils soient répertoriés comme être para accueillants ou pas.

Le **para tir sportif** est une discipline praticable debout ou en fauteuil, avec possibilité de compensation de la déficience motrice axiale (par le dossier du fauteuil) et des membres supérieurs (potence pour le port de l'arme). Il nécessite d'avoir une bonne dissociation des mouvements digitaux. La sensibilité de la gâchette peut être adaptée à la force.

Le **para tir à l'arc** est également une discipline de précision qui peut être adaptée selon les capacités motrices du pratiquant avec un arc à poulies ou un décocheur à la bouche, par exemple, en cas d'atteinte des membres supérieurs.

La **para natation** est une discipline facilement praticable, notamment si la mise à l'eau est faite de manière autonome ou avec une aide humaine seule. En effet, la nécessité d'une aide technique de mise à l'eau peut rendre plus difficile l'accès à une piscine. Parfois, il existe un créneau de pratique dédié aux parasportifs avec besoin d'aide humaine importante ou technique. Le milieu aquatique est très intéressant dans les maladies neuromusculaires, y compris pour la mobilisation des membres en enlevant l'effet de la pesanteur. La natation, activité plus organisée que la balnéothérapie, notamment en termes de mouvements, implique d'avoir une force suffisante sur le plan axial et des membres pour maintenir une posture et déclencher un déplacement, si on souhaite qu'elle soit pratiquée non aidée.

Dans le cadre des MNM, le **rugby fauteuil** concerne plutôt les patients atteints de neuropathies ou, dans une moindre mesure, de certaines dystrophies musculaires. Selon ses capacités motrices, le sportif pourra jouer à un poste de défenseur ou d'attaquant, et ainsi trouver sa place dans son équipe, en loisir ou en compétition. Cette discipline a été initialement développée pour les sportifs tétraplégiques, avec peu ou pas de capacité de préhension. Il en découle certains éléments de la pratique, dont l'utilisation d'un ballon rond de volley (et non ovale) et de gants pour « rigidifier » et protéger les doigts.

La **boccia** est une discipline de précision et de stratégie, assimilable à de la pétanque avec de nombreuses variations. Les balles en cuir peuvent être jouées à la main, au pied ou à l'aide d'une rampe de lancement pour les sportifs dont les déficiences motrices (ou les mouvements anormaux/troubles du tonus pour d'autres étiologies) ne permettent pas de jouer différemment. Le déclenchement du lancer de balle via la rampe se fait alors à la main ou à l'aide d'une tige maintenue à la bouche ou en dispositif licorne, c'est-à-dire fixée sur un casque.

Le **foot fauteuil** est le seul sport collectif organisé qui est pratiqué en fauteuil roulant électrique. Il permet un positionnement au fauteuil adapté aux besoins du sportif pour une pratique confortable. Cette discipline, quand elle est pratiquée régulièrement, nécessite pour être plus attrayante l'utilisation d'un fauteuil roulant électrique spécifique.



La boccia. ©CPSF/KMSP



Discipline	Pratique debout	Pratique fauteuil	Intensité effort	Composante physique	Composante autre	Accessibilité globale	Conditions nécessaires
Tennis de table	Oui	Oui	Modérée	Moyenne	Technique	Très bonne	Force proximale membres sup. suffisante
Tir sportif	Oui	Oui	Faible à modérée	Minime à moyenne	Précision	Bonne	
Tir à l'arc	Oui	Oui	Faible à modérée	Minime à moyenne	Précision	Bonne	
Natation	-		Faible à élevée	Moyenne à importante	Technique	Bonne	Force axiale et des membres suffisante
Rugby fauteuil	Non	Oui (FR manuel)	Faible à élevée	Moyenne à importante	Technique et stratégique	Limitée	Capacité à déplacer un FR manuel
Boccia	Oui (que loisir + niv. national)	Oui	Faible à modérée	Minime	Précision et stratégique	Moyenne	
Foot fauteuil	Non	Oui (FR électrique)	Faible	Minime	Technique et stratégique	Limitée	

Tableau 1. Tableau de synthèse des activités sportives possibles chez les patients avec MNM (liste non exhaustive). L'intensité de l'effort maximale indiquée correspond à une activité pratiquée régulièrement dont les compétences techniques sont relativement assimilées par le pratiquant. L'intensité de l'effort est aussi fluctuante selon les capacités motrices des sujets. La notion d'accessibilité globale comprend à la fois l'accessibilité matérielle (aides techniques) et l'accessibilité territoriale (nombre de clubs ou de structures de pratique).

Des explications sur ces disciplines sont disponibles sur le site Internet du Comité Paralympique et Sportif Français [12] qui, pour chacune, met à disposition un descriptif écrit et un lien vers une vidéo.

La plateforme « Trouve ton parasport » peut aussi être un outil pour l'orientation vers une discipline parasportive structurée et un lieu de pratique [13].

Quel accompagnement pour vos patients ?

Déterminer les contre-indications, inaptitudes et aptitudes

En fonction de la pathologie pour laquelle le patient est connu, le suivi organique, notamment cardio-pulmonaire, et sa fréquence sont déterminés. Ce suivi et les éventuelles problématiques identifiées vous permettront d'émettre d'éventuelles contre-indications (efforts au-delà d'une intensité ou d'une durée déterminées, par exemple). Vous pourrez aussi, selon le profil du patient, émettre des inaptitudes, temporaires ou permanentes (ex. : inaptitude au saut en hauteur chez un patient non marchant). Ces inaptitudes, quand elles existent, sont souvent partielles et ne concernent donc pas toutes les disciplines. À noter également que la plupart des patients suivis pour des MNM avec cardiopathie ont des fonctions motrices altérées qui, souvent, ne permettent pas de pratiquer une discipline où l'effort va être

d'une intensité élevée ou de longue durée. Au-delà du suivi cardiologique éventuellement recommandé pour la MNM, il conviendra de réfléchir à l'indication d'une épreuve d'effort sur plateau technique dédié (cyclo-ergomètre à bras, fauteuil sur *home trainer*, etc.).

Une fois ces éventuelles contre-indications et inaptitudes identifiées, il convient alors d'aborder avec le patient toutes ses aptitudes et les possibilités de pratique !

Accompagnement à la mise en place de l'activité

Quand le choix des activités physiques ou du parasport est fait, vient l'étape de la mise en place de cette pratique dans le quotidien du patient.

Comme évoqué, certaines activités peuvent être pratiquées dans différents contextes (scolaire, associatif, familial, kinésithérapique, etc.). D'autres activités sont préférentiellement pratiquées en structures, notamment associatives. Il est donc intéressant, en tant que soignant, de connaître quelques acteurs locaux intervenant dans les domaines des activités physiques adaptées, du sport et du parasport, et d'avoir quelques ressources pour permettre cet accompagnement.

Dans le paysage sportif français, les disciplines sportives et parasportives sont attribuées à des fédérations (délégations). Parfois, la même fédération gère le sport et le parasport. Parfois, la discipline sportive est gérée par une fédération et la discipline parasportive par une autre, spécifique au public en situation de handicap.

Le résumé des délégations qui recense les fédérations et les structures locales auxquelles on peut s'adresser est à consulter sur la page dédiée du site Internet du Comité Paralympique et Sportif Français [14]. En pratique, les comités départementaux et les ligues régionales peuvent facilement orienter le futur pratiquant vers les clubs qui sont les lieux privilégiés pour la pratique parasportive structurée.

En fonction des besoins du sujet et de la discipline, il sera aussi possible de s'adresser aux structures associatives de proximité, qu'elles soient connues ou pas pour être para accueillantes.

Le handiGuide des sports peut également être une aide pour trouver des structures, mais il n'est pas exhaustif et il faut oser pousser les portes des clubs de proximité ! [15]

Enfin, si un patient a un intérêt pour la compétition et souhaite être accompagné dans le choix de sa discipline et l'élaboration de son projet, il peut s'inscrire au dispositif La Relève, un programme de détection mis en place en 2019 par le Comité Paralympique et Sportif Français [16].

Conclusion

Les patients atteints d'une MNM ont tous la possibilité de pratiquer une activité physique adaptée ou un parasport qui tient compte de leurs capacités motrices. Le rôle du soignant est d'aborder ce sujet lors du suivi afin de faire prendre conscience de ce champ des possibles au patient, dès son plus jeune âge, et à ses aidants.

En cas de contre-indication ou d'inaptitude partielle, il est important aussi de mettre en avant les possibilités de pratique. Enfin, orienter vers les activités physiques adaptées ou vers un parasport implique de « sortir de l'hôpital ». Certains patients et aidants sont très moteurs sur cette question, mais d'autres le sont moins. Il est donc intéressant pour le soignant d'avoir quelques contacts localement pour assurer le relais, finaliser l'orientation, organiser l'initiation et la mise en place de l'activité dans le quotidien du patient.

Au-delà des bénéfices organiques, la pratique parasportive est un potentiel terrain d'épanouissement pour tous, y compris pour les patients atteints de MNM. Il convient donc de les encourager à découvrir les activités qui existent en fonction de leur profil. ♦

SUMMARY

Parasport and neuromuscular diseases

The benefits of physical activity, on an organic and psychological level, have been demonstrated. In patients suffering from a neuromuscular disease, adapted physical activity and parasport are also means of combating a sedentary lifestyle which adds to that imposed by the disease. Whatever the motor skills of the subject, whether he walks or not, whether he has good upper limb strength or only minimal preserved distal

function, a parasport can be practiced. Indeed certain disciplines are possible for patients with very weak motor functions.

One of the missions of those involved in the life course of the person suffering from a neuromuscular disease is to talk about this subject. It is essential to make the patient, from a very young age, and their caregivers aware of this field of possibilities and its importance – all respecting possible contraindications or partial incapacities.

Supporting a parasport practice means having to “get out of the hospital” and interact with local collaborators, to facilitate orientation, organize the initiation and introduction of the activity in the daily life of the patient.

The time given to the patient and his caregivers to address this subject and guide them illustrates the overall care for this patient and the concern for his inclusion and his physical and mental health. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. L'exercice physique recommandé au quotidien et la lutte contre la sédentarité. ameli.fr, août 2024
2. Article D1172-1 du code de la santé publique, https://legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000033826292
3. Conseil de l'Europe. Recommandation n°r (92) 13 rev. du comité des ministres aux États-membres sur la Charte européenne du sport révisée (adoptée par le Comité des ministres le 24 septembre 1992 et révisée le 16 mai 2001). En ligne : <https://rm.coe.int/16804ca89a>
4. <https://france-paralympique.fr/>
5. Aquatias S, Arnal JF, Rivière D, et al. Activité physique, contextes et effets sur la santé. Synthèse et recommandations. *Inserm*
6. Bazex J, Pène P, Rivière D. Les activités physiques et sportives – la santé – la société. *Bull Acad Natle Méd* 2012 ; 196 (7) : 1429-42.
7. Activité physique dans les maladies neuromusculaires. *Savoir et comprendre, Repères, AFM-Téléthon*
8. Dunn AL, Trivedi MH, O'Neal HA. Physical activity dose-response effects on outcomes of depression and anxiety. *Med Sci Sports Exerc* 2001 ; 33 (6 Suppl) : S587-97.
9. Hassmen P, Koivula N, Uutela A. Physical exercise and psychological wellbeing: a population study in Finland. *Prev Med* 2000 ; 30 (1) : 17-25.
10. Féasson L. Activité Physique Adaptée dans les maladies neuromusculaires. *Webinaire Filnexus* 25 août 2022
11. Merlet A, Zagorda B, Féasson L. Activité physique adaptée et maladies neuromusculaires. *Actu en MPR Edimark* 2022 ; 22-27
12. <https://france-paralympique.fr/parasports/>
13. <https://trouvetonparasport.france-paralympique.fr/#/>
14. <https://france-paralympique.fr/delegation-des-parasports/>
15. <https://www.handiGuide.sports.gouv.fr/>
16. <https://france-paralympique.fr/la-releve/>

TIRÉS À PART

O. Lopez

> Les myopathies constituent un groupe hétérogène de maladies caractérisées par une faiblesse et une dégénérescence progressive des muscles. Alors que ces maladies impactent fortement la qualité de vie des patients, de plus en plus d'études précliniques et cliniques suggèrent que des exercices physiques adaptés sont bénéfiques pour atténuer certains symptômes et améliorer plusieurs paramètres fonctionnels. Cette brève revue de la littérature évoque l'avancée actuelle des recherches sur les effets de l'exercice physique chez l'Homme dans diverses maladies musculaires, en explorant son impact sur les mécanismes moléculaires, la force, l'endurance, la fonction musculaire et la qualité de vie. ◀

Effets de l'exercice physique sur les maladies musculaires

Alexis Boulinguez, Dounia Bouragba,
Barbara Crisol, Anne Bigot, Gillian Butler-Browne,
Capucine Trollet

© A. Boulinguez (avec Biorender)



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

SFM



PRIX

Diversité des maladies musculaires

Les myopathies constituent un groupe hétérogène de maladies musculaires caractérisées par une faiblesse et une dégénérescence progressive des muscles. Ces affections ont des origines diverses. Certaines résultent de mutations génétiques comme dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), la dystrophie myotonique de type 1 (DM1) ou encore la dystrophie musculaire oculopharyngée (DMOP), tandis que d'autres ont des composantes inflammatoires idiopathiques comme dans les myopathies auto-immunes inflammatoires (myosites). L'âge d'apparition des symptômes varie considérablement d'une maladie musculaire à l'autre, pour certaines dès l'enfance ou l'adolescence (par exemple la DMD ou la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale ou FSHD) et pour d'autres plus tard, à l'âge adulte (par exemple la myosite à inclusions (IBM) ou la DMOP). En outre, les maladies musculaires peuvent affecter des groupes de muscles spécifiques, comme dans le cas de la FSHD (visage, épaules, bras) et de la DMOP (pharynx, paupières, atteinte proximale des membres), ou avoir une atteinte plus large affectant tous les muscles, comme dans le cas de la DMD.

Les effets bénéfiques de l'exercice physique au niveau moléculaire

Or, de manière intéressante, l'exercice physique peut moduler — améliorer, inverser ou atténuer — certaines altérations — défauts calciques, inflammation, stress oxydant, protéostase, dégénération, etc. — caractéristiques des pathologies musculaires (Figure 1).

Les altérations des voies de l'homéostasie calcique perturbent la signalisation intracellulaire du calcium, contribuant à la dégénérescence et à la faiblesse musculaires [1]. Des exercices de neuf semaines obtenus par stimulation électrique du quadriceps ou via une presse à cuisses, à respectivement 40 et 90 % de la force maximale, chez des sujets âgés de 70 ans, ont réduit la surcharge calcique et favorisé des niveaux de calcium intracellulaire plus équilibrés, minimisant ainsi les dommages et les dysfonctionnements musculaires du quadriceps [2].

L'inflammation chronique et l'infiltration de cellules immunitaires contribuent à la détérioration des fibres musculaires, à la fibrose et à l'altération de la régénération dans de nombreuses dystrophies musculaires. Un protocole de développé-couché de six semaines à raison de trois exercices par semaine a favorisé la production de cytokines anti-inflammatoires [3]. Par opposition, les niveaux de cytokines pro-inflammatoires sont réduits chez les participants d'une cohorte ayant une activité physique comparativement aux participants sédentaires [4].

L'augmentation du stress oxydant et le dysfonctionnement mitochondrial contribuent à la fatigue, à la faiblesse et à la dégénérescence des

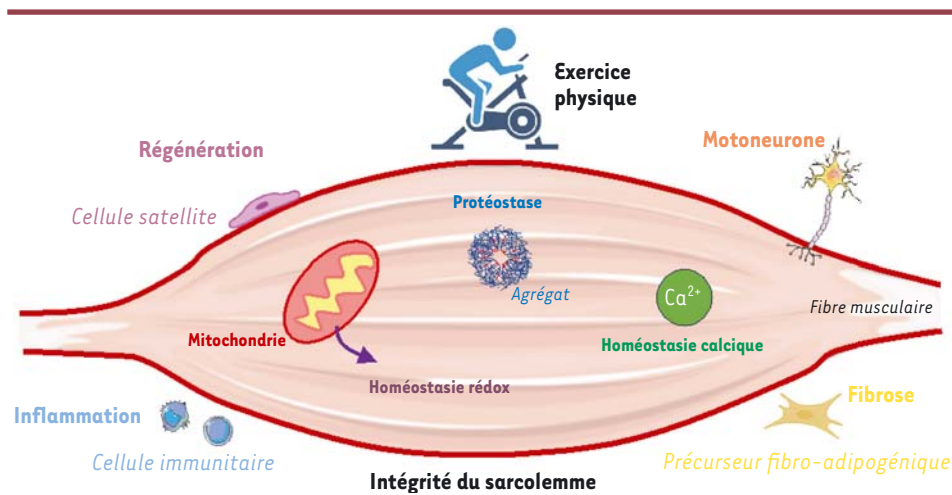


Figure 1. Représentation schématisée des acteurs dérégulés dans les maladies du muscle et pouvant être modulés par l'exercice physique (réalisée avec l'aide du logiciel BioRender).

muscles dans les maladies musculaires [5]. Des exercices d'endurance répétés stimulent la biogenèse mitochondriale [6] et une session de cyclisme d'intensité croissante jusqu'à épuisement renforce les défenses antioxydantes [7]. De plus, un exercice d'endurance à haute intensité chez des athlètes améliore la fonction mitochondriale [8].

L'altération de certains acteurs de l'homéostasie protéique (par exemple le protéasome, l'autophagie ou les chaperonnes) dans plusieurs maladies musculaires (IBM, DMOP [9]) conduit à l'agrégation protéique [10, 11]. De plus, la dérégulation de la balance synthèse/dégradation protéique dans plusieurs pathologies musculaires (DMD, FSHD) participe à l'atrophie et au dysfonctionnement des muscles [12]. Un protocole de répétitions d'extension de la jambe à 30 et 90 % de la force maximale et jusqu'à l'arrêt volontaire des participants a activé les voies de synthèse des protéines [13], et un exercice de la jambe progressif jusqu'à épuisement a favorisé l'autophagie [14], un processus de contrôle de l'homéostasie protéique.

Les défauts dans les mécanismes de régénération musculaire exacerbent la dégénérescence du muscle. Le stress mécanique et la contraction musculaire induits par divers protocoles d'exercice aigus et chroniques activent les cellules satellites [15]. Une augmentation du nombre de cellules satellites et de l'expression de la myogénine a été observée suite à un exercice de course en descente de haute intensité de 4 semaines chez des coureurs d'endurance [16].

Par ailleurs, les effets positifs de l'exercice sur un certain nombre d'autres voies moléculaires n'ont pour l'instant été démontrés que dans des modèles animaux.

Ainsi, les mutations dans les gènes codant les protéines du complexe dystroglycane (DGC pour *dystrophin-glycoprotein complex*), telles que la dystrophine, les sarcoglycanes et les dystroglycanes, compromettent **l'intégrité du sarcolemme**, ce qui augmente la susceptibilité aux lésions musculaires. Une course sur tapis roulant de 30 minutes, à huit mètres par minute, à raison de trois jours par semaine, pendant 12 semaines, chez des souris âgées de 24 semaines, favorise la régulation des composants du DGC, renforce le sarcolemme et améliore la

stabilité de la membrane, réduisant ainsi le risque de lésions des fibres musculaires du muscle gastrocnémien pendant la contraction [17].

La fibrose excessive et le remodelage des tissus contribuent à la rigidité musculaire, aux contractions et à l'altération de la fonction dans les stades avancés de nombreuses dystrophies musculaires [18]. Un exercice quotidien de 30 minutes, à 17 mètres par minute, sur un tapis roulant incliné à -20° , durant deux semaines, module les voies fibrogéniques, réduit le dépôt de collagène et favorise le remodelage de la matrice extracellulaire, atténuant ainsi la fibrose dans un modèle murin de la myopathie inflammatoire chronique [19].

La déficience en protéine de survie des motoneurones (SMN pour *survival motor neuron*) cause la destruction du motoneurone à l'origine de l'amyotrophie spinale. Une session de course sur tapis roulant, à trois mètres par minute, jusqu'à épuisement, améliore la transcription de la SMN et en corrige son épissage dans le muscle tibial antérieur d'une souris modèle de l'amyotrophie spinale [20].

Exemples de bénéfices de l'exercice physique chez des patients atteints de maladies neuromusculaires

À ce jour, 70 essais cliniques explorant les effets de l'exercice physique sur les maladies musculaires ont été menés ou sont en cours de réalisation. Une majorité d'entre eux cible des patients atteints de DMD. Néanmoins, il existe un large panel de protocoles d'exercices physiques envisageables et adaptables en fonction de la pathologie et du patient. Sans être exhaustifs, nous détaillerons pour diverses maladies neuromusculaires des protocoles ayant montré des effets bénéfiques.

Les dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker (DMB) sont des maladies génétiques dues à des mutations dans le gène qui code la dystrophine, ce qui entraîne son absence (DMD) ou son dysfonctionnement (DMB) et donc une dégénérescence et une faiblesse progressives de l'ensemble des muscles de l'organisme. Divers protocoles d'exercices ont montré des bénéfices chez des patients atteints de DMD (13 essais cliniques [21]) et de DMB (9 essais cliniques [22]). Toutefois, alors que l'exercice long, de faible intensité, qui favorise l'amélioration de l'endurance (exercice dit en aérobie), semble globalement bénéfique, ceux de haute intensité et de résistance (dits en anaérobie, c'est-à-dire court, de haute intensité et favorisant le développement de la force musculaire) sont délétères du fait de la sollicitation excessive de la membrane du sarcolemme, fragilisée en l'absence de dystrophine [21].

Par exemple, un exercice de 40 minutes de vélo à bras, trois jours par semaine, pendant huit semaines, a augmenté la force de certains muscles de l'épaule et le score ambulateur (NSAA pour *North star ambulatory assessment*), et réduit le temps nécessaire pour passer de la position couchée à la position debout [23]. Par ailleurs, un exercice de résistance isométrique modérée des jambes via un appareil de flexion durant 12 semaines a amélioré la force musculaire développée et la fonction ambulateur de jeunes malades atteints de DMD, sans signe de dommage musculaire [24]. Chez des patients atteints de BMD, un protocole de 12 mois de cyclisme ergométrique a amélioré la force des muscles des jambes, l'endurance ainsi que la puissance et la VO_{2max} [25].

L'amyotrophie spinale (SMA) est une maladie neuromusculaire due à des mutations dans le gène *SMN1*. Elle est caractérisée par une faiblesse musculaire progressive due à la dégénérescence des motoneurons et se manifeste majoritairement dès l'enfance. Un programme d'exercices de résistance d'intensité progressive pendant 12 semaines, comprenant trois sessions par semaine et ciblant plusieurs groupes musculaires, a été testé chez neuf enfants atteints de SMA de type II et III. Il a montré une bonne tolérance, une absence de douleur et une tendance à l'amélioration de la force et de la fonction motrice [26].

La DM1 est une maladie génétique due à des expansions de triplets dans le gène *DMPK*. C'est une maladie complexe, caractérisée entre autres par une faiblesse musculaire, une myotonie et des manifestations systémiques. Un programme de 12 semaines, combinant plusieurs exercices des jambes, a montré une amélioration de la force musculaire développée et de la vitesse de la marche chez des patients atteints de DM1 [27]. De même, un entraînement aérobie (vélo) de 12 semaines améliore la VO_{2max} et la fonction musculaire via l'augmentation de la biogenèse mitochondriale, sans toutefois de modification de la force générée [28]. Des exercices ciblant les muscles de la main de patients DM1 ont augmenté la force et la performance après 12 semaines [29].

La FSHD est liée à l'expression aberrante de la protéine toxique DUX4 et se caractérise par une atrophie et une faiblesse progressive des muscles du visage, des épaules et des bras. Un programme combiné d'entraînements en aérobie et de résistance [30], ainsi qu'un programme d'entraînement par intervalles de haute intensité de huit

semaines (3×10 minutes/semaine) sur un vélo ergomètre [31], ont tous deux montré des effets positifs sur la fonction musculaire de patients atteints de FSHD.

Les dystrophies musculaires des ceintures (LGMD pour *Limb girdle muscular dystrophy*) sont un groupe de maladies musculaires génétiques liées à des mutations dans de nombreux gènes (α , β ou γ -sarcoglycanes, dysferline, etc.) et caractérisées par la faiblesse et l'atrophie des muscles entourant les épaules et les hanches, connus sous le nom de muscles des ceintures. Des programmes d'exercices ciblés, axés sur le renforcement musculaire et l'endurance, contribuent à maintenir ou à améliorer la fonction musculaire, la mobilité et la qualité de vie globale des personnes atteintes de LGMD R1 (ex-LGMD 2A), R9 (ex-LGMD 2I) et R12 (ex-LGMD 2L) [32]. En outre, une activité physique régulière contribue également à préserver la mobilité et la souplesse des articulations, ce qui peut être particulièrement important pour les personnes atteintes de LGMD qui peuvent souffrir de raideurs et de contractures articulaires.

Enfin, les effets bénéfiques de différents protocoles d'exercices ont également été rapportés dans la myasthénie auto-immune [33], la myopathie de Bethlem [34], la myotonie congénitale [35], les myopathies métaboliques (maladie de McArdle, maladie de Pompe) [36-38], les myopathies idiopathiques inflammatoires telles que la dermatomyosite juvénile, l'IBM et la polymyosite [39], ce qui souligne le caractère potentiellement universel du bénéfice de l'exercice physique sur les maladies musculaires.

Limites de l'exercice physique

Si l'exercice physique est généralement bénéfique pour de nombreuses personnes atteintes de dystrophies musculaires, il existe certaines situations et conditions dans lesquelles l'exercice, en particulier lorsqu'il est de haute intensité, peut être délétère. Par exemple, dans la dystrophie musculaire des ceintures liée à la dysferline (LGMD R2), la pratique sportive à haut niveau conduit à des symptômes précoces et à un phénotype plus sévère [40]. Certaines myopathies métaboliques telles que la maladie de McArdle ou le déficit en myophosphorylase impliquent des déficiences du métabolisme énergétique susceptibles d'être aggravées, en particulier lors d'exercices de haute intensité. Ainsi, une activité physique intense ou prolongée peut déclencher des crampes musculaires, une myogloburie (présence de myoglobine dans les urines) et une rhabdomyolyse (dégradation rapide du tissu musculaire), entraînant des lésions musculaires et

des complications rénales potentielles [41]. Des troubles tels que la paralysie périodique, qui impliquent un dysfonctionnement des canaux ioniques dans les cellules musculaires, peuvent entraîner des épisodes de faiblesse musculaire ou de paralysie déclenchés notamment par des exercices intenses [42]. Dans les stades avancés des dystrophies musculaires progressives telles que la DMD ou la BMD, pour lesquelles la faiblesse musculaire et la dégénérescence sont sévères, l'exercice excessif ou trop intense pourrait exacerber les lésions musculaires, la fatigue et le déclin fonctionnel. Enfin, certaines personnes atteintes de dystrophies musculaires associées à une cardiomyopathie [43] ou à une atteinte cardiaque peuvent être limitées dans leur pratique de l'exercice à haute intensité. Il peut en effet imposer des contraintes supplémentaires au cœur et potentiellement exacerber les symptômes ou les complications cardiaques.

Conclusions et directions futures

Il existe un faisceau d'arguments scientifiques soulignant les effets bénéfiques de l'exercice physique dans plusieurs maladies musculaires. Ceci suggère la pertinence de l'exploration des effets de l'exercice physique dans d'autres maladies musculaires (par exemple dans la DMOP pour laquelle nous avons récemment montré les bénéfices de l'exercice en anaérobie chez un modèle murin [44], la myopathie à némaline, etc.). L'exercice physique pourrait ainsi être une stratégie thérapeutique universelle pour les maladies musculaires et être combiné avec les traitements (pharmacologiques, thérapies géniques et cellulaires) disponibles ou en cours de développement, pour obtenir des effets additifs et/ou synergiques. De plus, l'exercice physique peut exercer des effets pléiotropes sur les dystrophies musculaires en favorisant la santé musculaire, l'amélioration fonctionnelle et le bien-être général des personnes malades. Cependant, les effets spécifiques de l'exercice peuvent varier en fonction du type et du stade d'évolution de la dystrophie, ainsi que des caractéristiques individuelles du patient. Par conséquent, une prescription d'exercices personnalisée et un suivi attentif sont essentiels pour optimiser les bénéfices de l'exercice tout en minimisant les risques potentiels chez les patients.

Les effets bénéfiques de l'exercice physique sont aussi manifestes au niveau global (métabolisme, sommeil, psychisme, réponse immunitaire, etc.), ce qui permet une amélioration générale de la santé des patients. Si la plupart des stratégies thérapeutiques développées aujourd'hui sont spécifiques à chaque myopathie et aux besoins individuels du patient (thérapie génique, thérapie cellulaire, approche pharmacologique), la recherche sur les effets de différents protocoles d'exercices physiques tels que l'entraînement à la résistance, en endurance, et l'étude de différentes intensités et volumes sont encore nécessaires afin de garantir l'efficacité de l'exercice physique pour traiter les malades et soulager les symptômes. L'exercice physique pourrait alors être considéré comme une approche thérapeutique complémentaire aux stratégies de traitements classiques. ♦

SUMMARY

Effects of physical exercise in muscular dystrophies

Myopathies are a heterogeneous group of diseases characterized by progressive muscle weakness and degeneration. While muscle diseases have a major impact on patients' quality of life, a growing number of pre-clinical and clinical studies suggest that adapted physical exercise is beneficial in alleviating some symptoms and improving some functional parameters. This brief review of the literature discusses the current state of research about the effects of exercise in humans with various muscle diseases, exploring its impact on molecular mechanisms, muscle strength, endurance, function and the quality of life. ♦

REMERCIEMENTS

Alexis Boulinguez remercie chaleureusement la Société française de myologie (SFM) pour l'attribution du prix Impulsion 2022.

Les auteurs remercient l'AFM-Téléthon, l'Inserm, Sorbonne Université et l'Institut de Myologie qui soutiennent leurs recherches.

PRIX SFM

Alexis Boulinguez a reçu le prix Impulsion lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

LIENS D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Avila G. Disturbed Ca²⁺ Homeostasis in Muscle-Wasting Disorders. *Adv Exp Med Biol* 2018 ; 1088 : 307-326.
2. Zampieri S, Mammucari C, Romanello V, et al. Physical exercise in aging human skeletal muscle increases mitochondrial calcium uniporter expression levels and affects mitochondria dynamics. *Physiological Reports* 2016 ; 4 : e13005.
3. Prokopchuk O, Liu Y, Wang L, et al. Skeletal muscle IL-4, IL-4Ralpha, IL-13 and IL-13Ralpha1 expression and response to strength training. *Exerc Immunol Rev* 2007 ; 13 : 67-75.
4. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohou C, et al. The associations between leisure-time physical activity and inflammatory and coagulation markers related to cardiovascular disease: the ATTICA Study. *Preventive Medicine* 2005 ; 40 : 432-437.
5. De Mario A, Gherardi G, Rizzuto R, et al. Skeletal muscle mitochondria in health and disease. *Cell Calcium* 2021 ; 94 : 102357.
6. Freyssenet D, Berthon P, Denis C. Mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to endurance exercises. *Arch Physiol Biochem* 1996 ; 104 : 129-141.
7. Bouzid MA, Filaire E, Matran R, et al. Lifelong Voluntary Exercise Modulates Age-Related Changes in Oxidative Stress. *Int J Sports Med* 2018 ; 39 : 21-28.
8. Daussin FN, Zoll J, Ponsot E, et al. Training at high exercise intensity promotes qualitative adaptations of mitochondrial function in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* 2008 ; 104 : 1436-1441.
9. Abu-Baker A, Messaoud 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.
10. Afroze D, Kumar A. ER stress in skeletal muscle remodeling and myopathies. *FEBS J* 2019 ; 286 : 379-398.
11. Boulinguez A, Roth F, Mouigni HR, et al. [Nuclear aggregates in oculopharyngeal muscular dystrophy]. *Med Sci (Paris)* 2022 ; 38 Hors série n° 1 : 13-16.
12. Evans WJ, Shankaran M, Smith EC, et al. Profoundly lower muscle mass and rate of contractile protein synthesis in boys with Duchenne muscular dystrophy. *J Physiol* 2021 ; 599 : 5215-5227.

RÉFÉRENCES

13. Burd NA, West DWD, Staples AW, et al. Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. *PLoS One* 2010 ; 5 : e12033.
14. Martinez-Canton M, Galvan-Alvarez V, Gallego-Selles A, et al. Activation of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in human skeletal muscle by high-intensity exercise in normoxia and hypoxia and after recovery with or without post-exercise ischemia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2024 ; 222 : 607-624.
15. Martin N, Lewis M. Satellite cell activation and number following acute and chronic exercise: A mini review. *Cellular and Molecular Exercise Physiology* 2012 ; 1 : e1.
16. Eksteen GJ. Satellite cell proliferation in response to a chronic laboratory-controlled uphill vs. downhill interval training intervention. *University of Stellenbosch* 2006.
17. Cisterna B, Lofaro FD, Lacavalla MA, et al. Aged gastrocnemius muscle of mice positively responds to a late onset adapted physical training. *Front. Cell Dev. Biol.* 2023 ; 11.
18. Bensalah M, Muraine L, Boulinguez A, et al. A negative feedback loop between fibroadipogenic progenitors and muscle fibres involving endothelin promotes human muscle fibrosis. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2022 ; 13 : 1771-1784.
19. Saito Y, Chikenji TS, Matsumura T, et al. Exercise enhances skeletal muscle regeneration by promoting senescence in fibro-adipogenic progenitors. *Nat Commun* 2020 ; 11 : 889.
20. Ng SY, Mikhail A, Ljubicic V. Mechanisms of exercise-induced survival motor neuron expression in the skeletal muscle of spinal muscular atrophy-like mice. *J Physiol* 2019 ; 597 : 4757-4778.
21. Hammer S, Toussaint M, Vollsæter M, et al. Exercise Training in Duchenne Muscular Dystrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Rehabil Med* 2022 ; 54 : jrm00250.
22. Lanza G, Pino M, Fiscaro F, et al. Motor activity and Becker's muscular dystrophy: lights and shadows. *Phys Sportsmed* 2020 ; 48 : 151-160.
23. Alemdaroglu I, Karaduman A, Yilmaz OT, et al. Different types of upper extremity exercise training in Duchenne muscular dystrophy: effects on functional performance, strength, endurance, and ambulation. *Muscle Nerve* 2015 ; 51 : 697-705.
24. Lott DJ, Taivassalo T, Cooke KD, et al. Safety, Feasibility, and Efficacy of Strengthening Exercise in Duchenne Muscular Dystrophy. *Muscle Nerve* 2021 ; 63 : 320-326.
25. Sveen ML, Jeppesen TD, Hauerslev S, et al. Endurance training improves fitness and strength in patients with Becker muscular dystrophy. *Brain* 2008 ; 131 : 2824-2831.
26. Lewelt A, Krosschell KJ, Stoddard GJ, et al. Resistance strength training exercise in children with spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve* 2015 ; 52 : 559-567.
27. Roussel M-P, Hébert LJ, Duchesne E. Strength-training effectively alleviates skeletal muscle impairments in myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscular Disorders* 2020 ; 30 : 283-293.
28. Mikhail AI, Nagy PL, Manta K, et al. Aerobic exercise elicits clinical adaptations in myotonic dystrophy type 1 patients independently of pathophysiological changes. *J Clin Invest* 2022 ; 132 : e156125.
29. Aldehag A, Jonsson H, Lindblad J, et al. Effects of hand-training in persons with myotonic dystrophy type 1 – a randomised controlled cross-over pilot study. *Disabil Rehabil* 2013 ; 35 : 1798-1807.
30. Voet NBM, Kooi EL van der, Riphagen II, et al. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2013 ; CD003907.
31. Andersen G, Heje K, Buch AE, et al. High-intensity interval training in facioscapulohumeral muscular dystrophy type 1: a randomized clinical trial. *J Neurol* 2017 ; 264 : 1099-1106.
32. SICILIANO G, SIMONCINI C, GIANNOTTI S, et al. Muscle exercise in limb girdle muscular dystrophies: pitfall and advantages. *Acta Myol* 2015 ; 34 : 3-8.
33. O'Connor L, Westerberg E, Punga AR. Myasthenia Gravis and Physical Exercise: A Novel Paradigm. *Front Neurol* 2020 ; 11 : 675.
34. Vissing CR, Hedermann G, Vissing J. Moderate-intensity aerobic exercise improves physical fitness in bethlem myopathy. *Muscle Nerve* 2019 ; 60 : 183-188.
35. Adaikina A, Hofman PL, O'Grady GL, et al. Exercise Training as Part of Musculoskeletal Management for Congenital Myopathy: Where Are We Now? *Pediatr Neurol* 2020 ; 104 : 13-18.
36. Vissing J. Exercise training in metabolic myopathies. *Rev Neurol (Paris)* 2016 ; 172 : 559-565.
37. Nogales-Gadea G, Santalla A, Ballester-Lopez A, et al. Exercise and Preexercise Nutrition as Treatment for McArdle Disease. *Med Sci Sports Exerc* 2016 ; 48 : 673-679.
38. Ismailova G, Wagenmakers MAEM, Brusse E, et al. Long-term benefits of physical activity in adult patients with late onset Pompe disease: a retrospective cohort study with 10 years of follow-up. *Orphanet J Rare Dis* 2023 ; 18 : 319.
39. Zhang H, Liu Y, Ma J, et al. Systematic review of physical exercise for patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Nurs Health Sci* 2021 ; 23 : 312-324.
40. Moore UR, Jacobs M, Fernandez-Torron R, et al. Teenage exercise is associated with earlier symptom onset in dysferlinopathy: a retrospective cohort study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018 ; 89 : 1224-1226.
41. Noury J-B, Zagnoli F, Petit F, et al. Exercise efficiency impairment in metabolic myopathies. *Sci Rep* 2020 ; 10 : 8765.
42. Ribeiro A, Suetterlin KJ, Skorupinska I, et al. The long exercise test as a functional marker of periodic paralysis. *Muscle & Nerve* 2022 ; 65 : 581-585.
43. Chaix M-A, Marcotte F, Dore A, et al. Risks and Benefits of Exercise Training in Adults With Congenital Heart Disease. *Canadian Journal of Cardiology* 2016 ; 32 : 459-466.
44. Boulinguez A, Dhiab J, Crisol B, et al. Different outcomes of endurance and resistance exercise in skeletal muscles of Oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2024 ; Publication en ligne

TIRÉS À PART

A. Boulinguez

Annuaire

Laboratoires de recherche



Filnemus

Filière Neuromusculaire

Qu'est-ce que c'est ?

Outil référençant les laboratoires et équipes de recherche travaillant sur le muscle, le nerf périphérique, les maladies mitochondriales et/ou neuromusculaires en France



Objectifs

- Permettre aux acteurs d'identifier des collaborateurs
- Faciliter les interactions entre les acteurs de la recherche, de la clinique et du diagnostic
- Etre le reflet de la recherche dans le domaine neuromusculaire

Recherche

- Laboratoires
- Equipes
- Thématiques
- Expertises
- Modèles utilisés
- Contacts

Flasher-moi



Etes-vous référencé ?

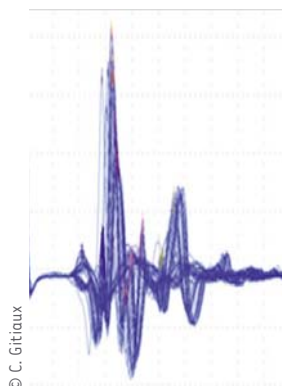
En partenariat avec :




► La myasthénie auto-immune de l'enfant a des particularités qui motivent une optimisation de la prise en charge thérapeutique. D'une part, le traitement immunosuppresseur recommandé en première intention est la corticothérapie, malgré ses importants effets indésirables sur la croissance staturo-pondérale, le comportement, le développement osseux, etc. D'autre part, faute d'essais cliniques chez l'enfant, la place des nouvelles thérapeutiques immunosuppressives reste mal définie. Le rituximab est l'immunosuppresseur non stéroïdien le plus utilisé en France dans la myasthénie auto-immune juvénile. Son utilisation, sans uniformisation des pratiques ni suivi de l'efficacité et de sa sécurité, reste non consensuelle. L'objet de ce travail est de proposer une nouvelle place du traitement par rituximab dans la prise en charge de la myasthénie auto-immune de l'enfant. ◀

Intérêt du traitement par rituximab dans la myasthénie auto-immune de l'enfant

Agathe Molimard MD¹, Cyril Gitiaux MD, PhD¹, Christine Barnerias MD¹, Frédérique Audic MD², Arnaud Isapof MD³, Ulrike Walther-Louvier MD⁴, Claude Cances MD⁵, Caroline Espil-Taris MD⁶, Jean-Baptiste Davion MD⁷, Susana Quijano-Roy MD PhD⁸, Coraline Grisel MD⁹, Brigitte Chabrol MD PhD², Isabelle Desguerre MD, PhD¹.



© C. Gitiaux

¹Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Île-de-France/Est, Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France.

²Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires de l'enfant PACARARE, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France

³Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Île-de-France/Est, Service de Neurologie pédiatrique, hôpital Trousseau, APHP, Paris, France.

⁴Centre de référence des maladies neuromusculaires AOC, service de neuropédiatrie CHU Montpellier, France.

⁵Centre de référence des maladies neuromusculaires AOC, unité de neurologie pédiatrique, hôpital des Enfants CHU Toulouse, France

⁶Centre de référence des maladies neuromusculaires AOC, unité de neurologie pédiatrique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France.

⁷Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Île-de-France/Est, CHU de Lille, France.

⁸Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Île-de-France/Est, Service de Neurologie pédiatrique, hôpital Raymond Poincaré, APHP, Garches, France.

⁹Service de pédiatrie, Centre hospitalier intercommunal de Créteil, France.
agathe.molimard@aphp.fr

La myasthénie auto-immune de l'enfant est définie par l'apparition de la maladie avant l'âge de 18 ans. Si la physiopathologie et les formes cliniques sont similaires à celles de l'adulte, il existe un certain nombre de particularités propres à l'enfant qui influencent l'évolution et la prise en charge thérapeutique.

La myasthénie auto-immune est une maladie médiée par des anticorps dirigés contre des composants de la jonction neuromusculaire. Ces anticorps affectent la transmission synaptique et sont ainsi responsables d'une fatigabilité musculaire. Dans la majorité des cas (50 à 70 % chez l'enfant), les anticorps sont dirigés contre les récepteurs à l'acétylcholine (RACH). Plus rarement, des anticorps dirigés contre la tyrosine kinase musculaire (MuSK pour *muscle specific tyrosine kinase*) sont retrouvés. Enfin, dans 30 à 40 % des myas-

thénies auto-immunes de l'enfant, aucun anticorps n'est retrouvé, ce sont les formes dites séronégatives [1].

Il existe deux formes cliniques principales : oculaire et généralisée. La myasthénie oculaire affecte les muscles extra-oculaires, provoquant une diplopie et un ptosis. La forme généralisée peut toucher tous les

Vignette: Examen en fibre unique stimulée anormale (muscle orbicularis oris) dans le cadre d'une myasthénie auto-immune.

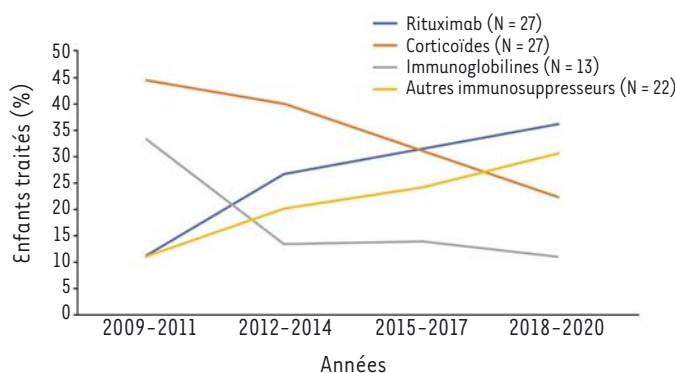


Figure 1. Évolution de l'utilisation des immunosuppresseurs dans la myasthénie auto-immune de l'enfant en France, entre 2009 et 2020.

muscles squelettiques. Selon l'atteinte, les symptômes sont variés : asthénie, fatigabilité à l'effort, hypomimie, troubles de la déglutition, de la phonation, de la mastication, dyspnée, toux inefficace, encombrement, etc. L'évolution est marquée par des périodes d'exacerbation et de rémission. Les crises myasthéniques (aggravation rapide de la symptomatologie durant quelques heures à quelques jours) marquent la gravité de la maladie, notamment en cas d'atteintes respiratoires et/ou bulbaires [2] qui constituent une urgence absolue devant la mise en jeu du pronostic vital.

Le développement de médicaments immunomodulateurs au cours des dernières décennies a amélioré le pronostic de la myasthénie auto-immune, mais ces thérapies sont peu étudiées en pédiatrie et leur utilisation est basée sur l'expérience acquise auprès des patients adultes [3]. Les corticostéroïdes, malgré leurs effets indésirables fréquents (retard de croissance, prise de poids, modification physique, etc.), restent le traitement de première ligne en pédiatrie. Le rituximab est un traitement de plus en plus utilisé en France dans la myasthénie auto-immune de l'enfant. Cependant, il n'est recommandé qu'en troisième intention (après les corticostéroïdes et l'azathioprine) si des anticorps anti-MuSK sont retrouvés, et en quatrième ligne d'immunosuppression dans les formes à anticorps anti-RACH [4]. En outre, il n'existe pas à ce jour d'essais thérapeutiques contrôlés randomisés dans la myasthénie auto-immune de l'enfant.

L'objectif de cette étude est de proposer une nouvelle place pour le rituximab dans la stratégie thérapeutique de la myasthénie juvénile.

Étude rétrospective française des cas de myasthénies auto-immunes de l'enfant

Nous avons réalisé une étude rétrospective dans huit centres de référence neuromusculaires pédiatriques de la filière de santé Filnemus (Bordeaux, Lille, Marseille, Montpellier, Toulouse, Paris-Necker, Paris-Trousseau, Garches). Nous avons inclus tous les enfants suivis pour une myasthénie auto-immune dont le diagnostic avait été posé entre le 1^{er} janvier 2009 et le 31 avril 2020.

Au total, 74 patients avec une myasthénie auto-immune ont été inclus, dont 56 (76 %) étaient suivis pour une forme généralisée. Le sex-ratio était de 1 garçon pour 2,2 filles et l'âge moyen de début de la maladie était de 8,7 ans (IQR 4,2-12,9). La durée médiane de suivi était de 5 ans (IQR 2,4-7,2). Parmi les 56 patients suivis pour une forme généralisée, 61 % avaient des anticorps anti-RACH, 9 % avaient des anticorps anti-MuSK et 30 % étaient séronégatifs.

Nous nous sommes intéressés aux 37 patients (66 % des formes généralisées) ayant nécessité un traitement immunosuppresseur, et particulièrement aux 34 pour lesquels nous avons un recul de plus de 12 mois après l'initiation du traitement immunosuppresseur.

Évolution de l'utilisation des immunosuppresseurs dans la myasthénie auto-immune de l'enfant

Nous avons observé une modification de nos pratiques au cours des dix dernières années avec une réduction de l'utilisation des corticoïdes (44 % des immunosuppresseurs utilisés en 2009 vs 22 % en 2020) et une augmentation de l'utilisation du rituximab (0 % des immunosuppresseurs utilisés en 2009 vs 42 % en 2020) (Figure 1). Les corticoïdes restaient le traitement immunosuppresseur le plus utilisé en première intention dans notre cohorte (23 patients, soit 62 %), mais le rituximab avait été utilisé en première ligne d'immunosuppression chez plus d'un tiers des patients (13/37).

Efficacité du rituximab dans la myasthénie auto-immune de l'enfant

Parmi les 34 patients de la cohorte traités par immunosuppresseurs avec une durée de suivi supérieure à 12 mois, 24 (71 %) avaient été traités par rituximab (groupe RTX+) (Tableau 1).

Ces patients avaient une maladie initiale significativement plus grave. 63 % des patients traités par rituximab (groupe RTX+) avaient été hospitalisés en réanimation au moins une fois avant l'introduction du traitement, contre 10 % parmi les patients non traités (groupe RTX-) ($p < 0,008$). Malgré cette gravité initiale importante, nous avons observé une meilleure évolution clinique des patients traités par rituximab. En effet, lors de la dernière visite, alors que 40 % des patients traités par immunosuppresseurs conventionnels (groupe RTX-) restaient cliniquement instables (persistance ou aggravation des symptômes malgré l'immunosuppresseur), tous les patients traités par rituximab étaient stables (pauci ou asymptomati-

	Groupe RTX- N = 10	Groupe RTX+ N = 24
Âge au diagnostic à, moyenne (IQR)	6,3 (2,7-10,1)	12,3 (10,5-14,5)
Sexe féminin/masculin, No. (%)	7 (70)/3 (30)	19 (79)/5 (21)
Anticorps		
Anti-RACH, No. (%)	5 (50)	20 (83)
Anti-MuSK, No. (%)	2 (20)	3 (13)
Séronégatifs, No. (%)	3 (30)	1 (4)
Hospitalisations en soins intensifs, No. (%)	1 (10)	15 (63)
Corticothérapie, No. (%)	9 (90)	16 (67)
Corticothérapie en cours à la dernière visite, No. (%)	4 (40)	4 (17)
Durée du suivi après la première ligne d'immunosuppression à, moyenne (IQR)	4,9 (2,5-6,7)	4,6 (1,9-6,2)

Tableau 1. Caractéristiques des 34 patients traités par immunosuppresseurs.

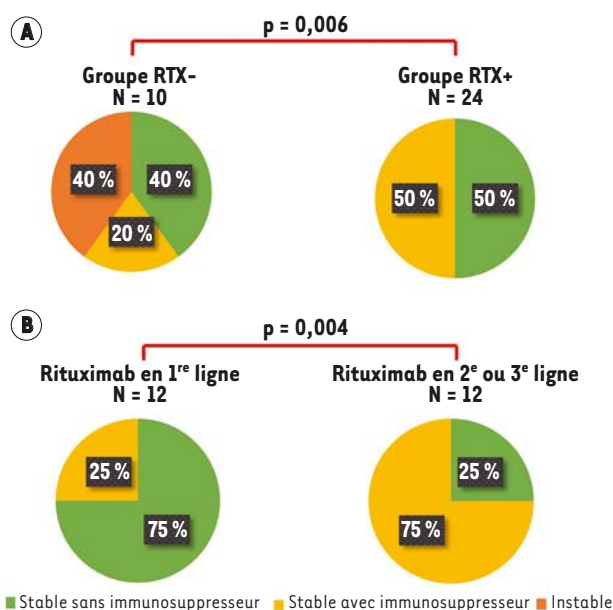


Figure 2. Évolution clinique des patients en fonction du traitement immunosuppresseur reçu.

tiques) et la moitié d'entre eux était sevrée d'immunosuppresseurs (Figure 2A).

Intérêt d'une utilisation précoce du rituximab

Pour la première fois, nous avons rapporté dans la littérature 12 enfants traités par rituximab en première ligne. L'utilisation du rituximab en première ligne d'immunosuppression, par rapport à son utilisation en deuxième ou troisième ligne, montre un meilleur sevrage des traitements immunosuppresseurs à la fin du suivi (respectivement 75 % vs 25 %) et une épargne cortisonique (respectivement 42 % vs 92 % des patients traités par corticoïde) (Figure 2B).

Patients traités par immunosuppresseurs conventionnels (groupe RTX-) versus patients traités par rituximab (groupe RTX+)

Patients traités par rituximab en première ligne de traitements immunosuppresseurs versus patients traités par rituximab en deuxième ou troisième ligne de traitements immunosuppresseurs.

Le bénéfice de cette introduction précoce semble donc double. D'une part, les patients traités par rituximab en première intention ont une meilleure évolution que ceux initialement traités par immunothérapie conventionnelle. D'autre part, les corticoïdes sont significativement moins utilisés dans ce groupe.

Ces résultats sont concordants avec ceux d'une étude menée chez des adultes suivis pour une myasthénie auto-immune à anticorps anti-RACH, qui suggèrent que l'instauration précoce du rituximab après le diagnostic est associée à de meilleurs résultats et à une bonne tolérance, par rapport aux traitements par immunothérapie conventionnelle [5].

Mécanisme d'action et sécurité du rituximab

Ces résultats sont liés au mécanisme d'action du rituximab. Le rituximab est un anticorps monoclonal dirigé contre la protéine CD20 présente à la surface des cellules lymphocytaires pré-B et B matures. Cette protéine disparaît au cours de la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes (cellules à longue durée de vie produisant des anticorps). Le rituximab entraîne ainsi la déplétion des cellules B immatures, matures, des cellules B mémoires et de certains plasmablastes, sans affecter les plasmocytes [6].

Dans le cas de la myasthénie auto-immune à anticorps anti-MuSK, le rituximab semble être particulièrement efficace, car il déplète les plasmablastes, les cellules responsables de la production des anticorps anti-MuSK [7]. Dans la myasthénie auto-immune à anticorps

anti-RACH, l'anticorps pathologique est produit par les plasmocytes à longue durée de vie [8]. L'hypothèse est donc qu'une utilisation précoce du rituximab dans cette forme permettrait de limiter le développement du pool de plasmocytes produisant les anticorps anti-RACH [9].

Sur le plan de la sécurité d'utilisation, l'absence de déplétion des plasmocytes par le rituximab permet de limiter le risque infectieux par le maintien de la production d'immunoglobulines. Notre étude a montré une bonne sécurité du rituximab sans effet indésirable. Dans la littérature, le rituximab est bien toléré chez l'enfant et le jeune adulte. Il y est associé à peu d'effets indésirables graves, mais des réactions allergiques à l'injection et des infections sont rapportées. À l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus sur la prévention du risque infectieux sous rituximab [10, 11]. Dans notre étude, les stratégies de prévention des infections différaient selon les centres. Certaines équipes avaient mis en place, de manière systématique, des cures d'immunoglobulines substitutives mensuelles (38 %) et/ou un traitement préventif par cotrimoxazole (58 %) pendant toute la durée de la déplétion des lymphocytes B.

Conclusion

Nous avons pu observer l'utilisation croissante du rituximab dans la myasthénie auto-immune de l'enfant en France, au cours des dix dernières années. Compte tenu de son efficacité, des bénéfices d'épargne cortisonique et de sa bonne tolérance, il semble légitime de proposer l'utilisation du rituximab en première ligne d'immunosuppression dans la myasthénie auto-immune généralisée de l'enfant positif aux anticorps anti-RACH ou anti-MuSK. ♦

SUMMARY

Benefit of treatment with rituximab in autoimmune myasthenia gravis in children

The therapeutic management of autoimmune myasthenia gravis in children presents several particularities, which motivate the optimization of therapeutic management. On the one hand, corticosteroids are recommended as first-line immunosuppressive therapy, despite their significant adverse effects on growth, behavior, bone development, etc. On the other hand, in the absence of clinical trials in children, the place of promising new immunosuppressive therapies remains ill-defined. Rituximab is the non-steroidal immunosuppressant most widely used

in France for autoimmune myasthenia gravis in children. Its use, without standardization of practices or monitoring of efficacy and safety, remains non-consensual. The aim of this study is to propose a new role for rituximab in the management of autoimmune myasthenia in children. ♦

PRIX SFM

Agathe Molimard a reçu le prix Interne en médecine lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Barraud C, Desguerre I, Barnerias C, et al. Clinical features and evolution of juvenile myasthenia gravis in a French cohort. *Muscle Nerve* 2018 ; 57 (4) : 603-609.
2. Anlar B. Juvenile Myasthenia. *Paediatr Drugs* 2000 ; 2 (3) : 161-9.
3. Zingariello CD, Elder ME, Kang PB. Rituximab as Adjunct Maintenance Therapy for Refractory Juvenile Myasthenia Gravis. *Pediatr Neurol* 2020 ; 111 : 40-43.
4. Narayanaswami P, Sanders DB, Wolfe G, et al. International consensus guidance for management of myasthenia gravis: 2020 update. *Neurology* 2020 ; 96 (3) : 114-122.
5. Brauner S, Eriksson-Dufva A, Hietala MA, et al. Comparison Between Rituximab Treatment for New-Onset Generalized Myasthenia Gravis and Refractory Generalized Myasthenia Gravis. *JAMA Neurol* 2020 ; 77 (8) : 974-981.
6. Pescovitz MD. Rituximab, an anti-cd20 monoclonal antibody: history and mechanism of action. *Am J Transplant* 2006 ; 6 (5 Pt 1) : 859-866.
7. Hehir MK, Hobson-Webb LD, Benatar M, et al. Rituximab as treatment for anti-MuSK myasthenia gravis: Multicenter blinded prospective review. *Neurology* 2017 ; 89 (10) : 1069-1077.
8. Fichtner ML, Jiang R, Bourke A, et al. Autoimmune Pathology in Myasthenia Gravis Disease Subtypes Is Governed by Divergent Mechanisms of Immunopathology. *Front Immunol* 2020 ; 11 : 776.
9. Hachiya Y, Uruha A, Kasai-Yoshida E, et al. Rituximab ameliorates anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis by removal of short-lived plasmablasts. *J Neuroimmunol* 2013 ; 265 (1-2) : 128-130.
10. McAtee CL, Lubega J, Underbrink K, et al. Association of Rituximab Use With Adverse Events in Children, Adolescents, and Young Adults. *JAMA Netw Open* 2021 ; 4 (2) : e2036321.
11. Piehl F, Eriksson-Dufva A, Budzianowska A, et al. Efficacy and Safety of Rituximab for New-Onset Generalized Myasthenia Gravis: The RINOMAX Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol* 2022 ; 79 (11) : 1105-1112.

TIRÉS À PART

A. Molimard



Tarifs d'abonnement m/s - 2024

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



► Les arthrogryposes multiples congénitales (AMC) regroupent l'ensemble des pathologies avec des limitations articulaires à au moins deux niveaux articulaires distincts, à la naissance. Les limitations articulaires ne sont pas évolutives, mais les conséquences fonctionnelles ont un impact tout au long de la vie des patients. Dans cet article, nous montrerons les résultats de notre étude qui vise à évaluer la corrélation entre l'infiltration graisseuse musculaire en IRM et les déficiences et limitations d'activité chez des enfants présentant une AMC. Notre étude est une des premières à établir le lien entre l'imagerie musculaire et les aspects fonctionnels de l'AMC, en population pédiatrique. ◀

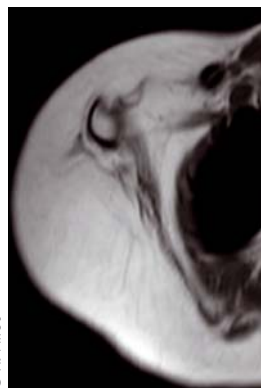
Définitions et hypothèses

Les arthrogryposes multiples congénitales (AMC) regroupent l'ensemble des pathologies avec des limitations articulaires à au moins deux niveaux articulaires distincts, à la naissance [1]. Leur prévalence est estimée à 1/3 000 à 1/12 000 [2-4] dans le monde. C'est donc une pathologie rare parmi les plus courantes. Les AMC sont communément classées en trois groupes selon les habitudes cliniques [3, 5] : le groupe 1 pour l'amyoplasie, le groupe 2 pour les arthrogryposes distales (AD) et le groupe 3 appelé « autre », qui est un groupe plus hétérogène, regroupant les patients qui ne peuvent pas être classés dans un des groupes précédents. La précocité et l'importance de la baisse des mouvements fœtaux pendant la grossesse sont les deux principaux facteurs de sévérité des manifestations musculo-squelettiques chez ces enfants à la naissance [6, 8]. Ces facteurs de sévérité influencent la fonction motrice, la marche, l'autonomie dans la vie quotidienne et la participation à la vie sociale [8, 9]. La prise en

Arthrogryposes multiples congénitales à l'âge pédiatrique

Corrélation entre IRM musculaire et évaluation fonctionnelle

Alicia Milot^{1,3,4}, Mariya Raikova², Claire Huzar^{3,4},
Véronique Thellier^{3,4}, Nicolas Hergibo²,
Marjolaine Gauthier^{1,4}, Gipsy Billy-Lopez^{1,4},
Chantal Durand², Frédérique Nugues²,
Véronique Bourg^{3,4}, Klaus Dieterich^{1,4}



© A. Milot

¹Université Grenoble Alpes, Inserm U1209, IAB, CHU Grenoble Alpes, Génétique Médicale, France

²Département d'Imagerie pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, France

³Médecine physique et réadaptation pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, France

⁴Centre de référence national des anomalies développementales, clinique multidisciplinaire AMC, CHU Grenoble Alpes, France
AMMilot1@chu-grenoble.fr

charge de ces maladies est donc exigeante, nécessairement multidisciplinaire et s'inscrit au long cours. En plus de l'aspect articulaire, les compétences motrices dépendent également de la quantité et de la qualité du muscle squelettique et de son contrôle. La force musculaire est en effet un facteur prédictif important des capacités fonctionnelles. Ainsi, dans les AMC, et plus spécifiquement dans l'amyoplasie, Kroksmark *et al.* ont étudié l'impact de la force musculaire et des contractures sur la fonction motrice [9]. Ils ont trouvé des corrélations significatives entre la force musculaire et la fonction motrice, ainsi qu'avec l'amplitude articulaire passive (AA). Par ailleurs, dans de nombreuses myopathies telles que la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) ou la dystrophie fascio-scapulo-humérale (FSHD), il apparaît une involution graisseuse (plus ou moins sévère selon le degré de gravité de la maladie). Cette infiltration graisseuse est corrélée au stade clinique et donc à la sévérité de la maladie, et elle entraîne des conséquences fonctionnelles [10, 11]. Plus l'infiltration graisseuse augmente, plus la force musculaire diminue [4] ; une diminution corrélée à la perte de la fonction motrice [12].

Au cours de la dernière décennie, l'IRM musculaire corps entier est devenue la méthode de choix pour évaluer la qualité et la quantité des fibres musculaires de manière non-invasive. Plusieurs études ont ainsi

Vignette : IRM membre supérieur d'un enfant atteint du syndrome de déficience intellectuelle-retard de développement-contractures (syndrome de Wieacker-Wolff).

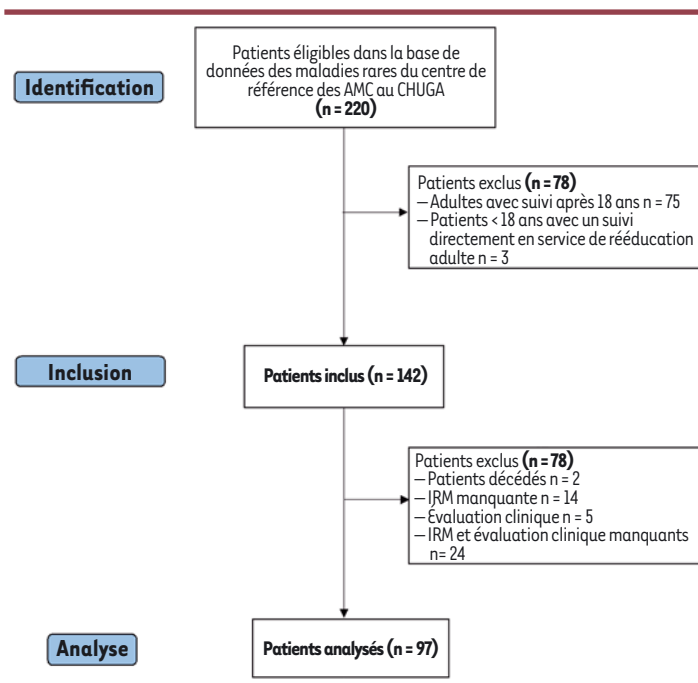


Figure 1. Diagramme de flux de l'étude. AMC : arthrogryposes multiples congénitales. CHUGA : CHU Grenoble Alpes

montré que l'IRM est un outil efficace à la fois pour le diagnostic, pour l'évaluation de la progression de la maladie [14, 15] et pour la quantification et la surveillance des effets des traitements [16, 17].

De plus, pour étudier l'infiltration graisseuse et aider à définir les *patterns* musculaires, Mercuri *et al.* ont développé un score semi-quantitatif qui mesure l'infiltration fibro-adipeuse des muscles sur IRM [7].

Des corrélations entre l'infiltration fibro-adipeuse et les déficits musculaires ont déjà été étudiées dans des maladies neuromusculaires telles que la maladie de Pompe [19,20] ou la DMD [20]. Ces études ont révélé une bonne corrélation entre l'apparition de la maladie, la force musculaire et le degré d'infiltration fibro-adipeuse musculaire évalué par le score de Mercuri. L'IRM musculaire a pu être utilisée pour suivre la progression de la maladie grâce à cette corrélation avec la fonction musculaire.

La principale différence entre les AMC et les pathologies neuromusculaires étudiées précédemment réside dans le caractère congénital non progressif des premières. Par ailleurs, jusque-là, l'impact des limitations articulaires et de la force musculaire sur la fonction motrice était basé uniquement sur des évaluations cliniques. L'objectif principal de ce projet était donc d'évaluer la corrélation entre l'infiltration fibro-adipeuse musculaire quantifiée sur l'IRM, évaluée par le score Mercuri, et les capacités fonctionnelles des patients pédiatriques atteints d'AMC.

Matériel et méthodes

Nous avons mené une étude observationnelle rétrospective sur une cohorte monocentrique avec un recrutement national, dans un but descriptif et comparatif. Les patients atteints d'AMC admis au centre de référence (CR) français pour les AMC, dans les services de génétique et de rééducation

pédiatrique de l'Hôpital Couple Enfants (HCE) à Grenoble, avaient systématiquement bénéficié d'une IRM musculaire corps entier lorsque les conditions et l'âge le permettaient. Notre protocole d'étude a également été enregistré sur le site ClinicalTrial.gov (NCT05393375).

Les données cliniques et paracliniques ont été obtenues à partir des bilans multidisciplinaires qui avaient eu lieu lors des hospitalisations de jour en médecine physique et de réadaptation (MPR) pédiatrique à l'HCE.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- né vivant,
- âge < 18 ans lors de la première évaluation clinique et/ou bénéficiant d'un suivi en rééducation pédiatrique au CHU Grenoble-Alpes,
- diagnostic clinique, et si possible moléculaire, d'AMC établi,
- au moins une évaluation fonctionnelle lors de consultations et de suivi en rééducation pédiatrique au CHU Grenoble-Alpes,
- IRM musculaire des membres supérieurs et inférieurs et du tronc.

Le diagramme de flux de notre étude est résumé dans la figure 1.

Pour l'évaluation clinique, nous avons extrait les caractéristiques intrinsèques des patients, ainsi que les antécédents médicaux et chirurgicaux, le statut ambulatoire (marche ou non, âge de la marche) et le statut scolaire (scolarisation ordinaire ou non).

Tous les patients inclus avaient bénéficié d'une évaluation multidisciplinaire systématique par des médecins (génétiiciens, MPR), des kinésithérapeutes, des ergothérapeutes, et des orthophonistes et des psychologues en fonction des besoins.

Pour l'évaluation du handicap, les déficiences, les limitations d'activité et les restrictions de participation avaient été évaluées selon la classification internationale du fonctionnement, du handicap et de la santé (CIF). Les déficits cliniques avaient été évalués par des kinésithérapeutes formés. Nous nous sommes concentrés sur deux aspects : la faiblesse musculaire et les AA. La faiblesse musculaire avait été évaluée au travers de la fonction musculaire (par exemple, la flexion, l'extension, etc.). En utilisant l'échelle MRC (pour *Medical research council*), les AA avaient été évaluées pour toutes les articulations principales via l'examen clinique et goniométrique. Les limitations d'activité avaient été évaluées lors du suivi par des ergothérapeutes et des kinésithérapeutes. Les statuts ambulatoires avaient été recueillis par les équipes lors des bilans, ainsi que l'âge d'acquisition de la marche s'il était disponible et l'utilisation ou non d'aides techniques.

La mobilité de la main dans l'espace avait été évaluée par un test ad hoc (*reaching score*). Les patients devaient

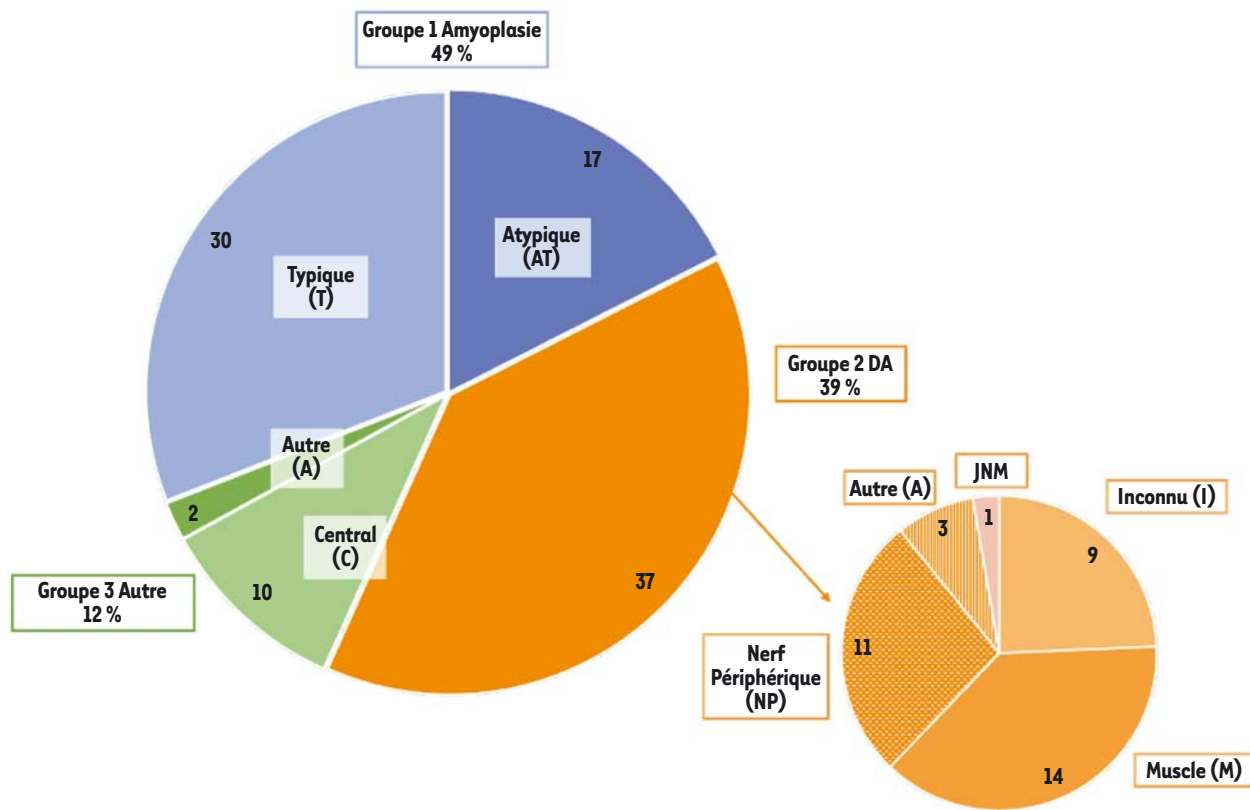


Figure 2. Classification des patients atteints d'AMC de la cohorte. Les patients sont classés en trois groupes et les diagnostics sont détaillés pour le groupe 2 (disque orange). La classification a été réalisée en suivant le travail de Le Tanno *et al.* [3]. JNM : jonction neuromusculaire, AMC : arthrogryposes multiples congénitales, AD : arthrogrypose distale.

toucher successivement certaines cibles corporelles avec les membres supérieurs.

Pour l'IRM, nous avons utilisé des séquences IRM en turbo écho spin pondérées en T1 (T1W-TSE). Nous avons étudié 106 muscles – 53 de chaque côté – du tronc aux membres inférieurs. La mesure de l'infiltration graisseuse a été évaluée lorsqu'au moins deux coupes par muscle étaient visibles. Nous avons utilisé l'échelle visuelle semi-quantitative proposée par Mercuri *et al.* en 2002. Cette échelle classe les muscles en quatre catégories croissantes, basées sur les séquences IRM en T1. Un score de 1 signifie qu'il n'y a aucune infiltration graisseuse, 2 indique une infiltration légère (<30 %), à 3, elle est modérée (30 à 60 %) et à 4, l'infiltration graisseuse est > 60 %. Lorsque le muscle n'était pas identifiable, nous l'avons classé « non analysable » (NA).

Pour l'analyse finale, nous avons décidé de ne conserver que les muscles avec moins de 20 % du score Mercuri non interprétable. Ces analyses ont été réalisées sur tous les scores Mercuri disponibles pour chacun des muscles des hémicorps gauche et droit. Puis, nous avons analysé des scores moyens pour le membre supérieur, le tronc et le membre inférieur.

Résultats

Nous avons inclus 97 patients ayant été évalués entre 2007 et 2021, parmi lesquels 56 % étaient de sexe féminin.

47 patients étaient classés dans le groupe 1 « amyoplasie » (49 %), 38 dans le groupe 2 « DA » (39 %) et 12 dans le groupe 3 « autre » (12 %). La classification détaillée est présentée dans la *figure 2*.

L'âge médian lors de la première évaluation était de 36 mois (allant d'un mois à 19 ans). Le statut ambulatoire était connu pour 90 patients parmi lesquels 78 % (n = 76) étaient marchants (de manière indépendante et stable) et 15 % (n = 14) ne l'étaient pas.

La majorité des patients inclus (n = 78) étaient scolarisés, dont 72 en milieu ordinaire, 4 en institut médico-éducatif (IME) et 2 en ULIS (unité localisée pour l'inclusion scolaire). La quasi-totalité des patients avaient au moins une aide technique et presque un tiers avait un fauteuil roulant.

Étude des corrélations

Tous groupes confondus, nous avons trouvé une corrélation de Pearson modérée entre les scores Mercuri et les AA pour les membres supérieurs et inférieurs (respectivement $r = -0,59$, $p < 0,0001$, et $r = -0,64$, $p < 0,0001$). Pour

l'amyoplasie et l'AD, nous avons trouvé une corrélation modérée également pour les membres supérieurs et inférieurs (respectivement $r = -0,67$, $p < 0,0001$, $r = -0,59$, $p < 0,0001$, et $r = -0,38$, $p = 0,003$ et $r = -0,65$, $p < 0,0001$). Pour le groupe 3, nous avons trouvé une corrélation forte pour les membres inférieurs uniquement ($r = -0,89$, $p = 0,0003$).

Pour la faiblesse musculaire, tous groupes confondus, nous avons trouvé une corrélation modérée avec les scores Mercuri uniquement pour les membres inférieurs ($r = -0,45$, $p = 0,001$), une corrélation retrouvée également dans l'amyoplasie ($r = -0,49$, $p = 0,002$).

Concernant les limitations d'activité, 42 enfants avaient eu une évaluation de la mobilité de la main dans l'espace. Tous groupes confondus, nous avons trouvé une corrélation modérée entre le *reaching score* et le score Mercuri pour les membres supérieurs ($r = -0,63$, $p < 0,0001$) et le tronc ($r = -0,63$, $p = 0,03$). Pour l'amyoplasie, nous avons trouvé une corrélation forte entre les deux scores pour les membres supérieurs ($r = -0,73$, $p = 0,003$) et une corrélation modérée pour le tronc ($r = -0,63$, $p = 0,03$). Pour l'AD, nous avons trouvé une corrélation modérée uniquement pour les membres supérieurs ($r = -0,50$, $p = 0,04$).

L'IRM, un outil prédictif de la fonction ?

Dans cette étude observationnelle monocentrique rétrospective, nous avons recueilli les données de 97 patients pédiatriques atteints d'AMC et nous nous sommes concentrés sur leur imagerie musculaire et leurs résultats fonctionnels. À notre connaissance, il s'agit donc de la première étude évaluant la fonction et l'infiltration graisseuse dans l'AMC, dans un cadre pédiatrique.

Il existe des limitations techniques à l'IRM comme des artefacts de mouvement, les coupes hors plan, les écarts de coupe inadéquats. Afin de surmonter ces limitations, nous recommandons des protocoles IRM qui comprennent une analyse systématique du corps entier.

Notre étude a montré que l'IRM musculaire du corps entier, qui est un outil diagnostique et de suivi puissant, pourrait également être une approche efficace et non invasive pour l'évaluation du handicap, le suivi des enfants atteints d'AMC et pour évaluer la réponse à diverses interventions thérapeutiques.

Même si des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse, nos premiers résultats constituent un premier pas vers un modèle prédictif du pronostic fonctionnel des patients afin de mieux adapter leur prise en charge et d'améliorer leurs capacités fonctionnelles. ♦

SUMMARY

Arthrogryposis Multiplex Congenita in pediatric age: Correlation between Muscle MRI and functional assessment

Arthrogryposis multiplex congenita (AMC) is a group of diseases with joint limitations at two or more distinct joint levels at birth. Joint limitations are not progressive, but the functional consequences have a lifelong impact on patients. In this article we will present the results of our study aimed at evaluating the correlation between muscle fat infiltration on MRI and activity deficiencies and limitations in children with AMC. Our study is one of the first in a pediatric population to establish the link between muscle imaging and functional aspects of AMC. ♦

PRIX SFM

Alicia Milot a reçu le prix Interne en médecine lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Dahan-Oliel N, Cachecho S, Barnes D, et al. International multidisciplinary collaboration toward an annotated definition of arthrogryposis multiplex congenita. *Am J Med Genet* 2019 ; 181 (3) : 288-99.
2. Hoff JM, Loane M, Gilhus NE, et al. Arthrogryposis multiplex congenita: an epidemiologic study of nearly 9 million births in 24 EUROCAT registers. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011 ; 159 (2) : 347-50.
3. Le Tanno P, Latypova X, Rendu J, et al. Diagnostic workup in children with arthrogryposis: description of practices from a single reference center, comparison with literature and suggestion of recommendations. *J Med Genet* 2021 ; jmedgenet-2021-107823.
4. Lowry RB, Sibbald B, Bedard T, et al. Prevalence of multiple congenital contractures including arthrogryposis multiplex congenita in Alberta, Canada, and a strategy for classification and coding. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010 ; 88 (12) : 1057-61.
5. Sells JM, Jaffe KM, Hall JG. Amyoplasia, the Most Common Type of Arthrogryposis: The Potential for Good Outcome. *Pediatrics* 1996 ; 97 (2) : 225-31.
6. Felsenthal N, Zelzer E. Mechanical regulation of musculoskeletal system development. *Development* 2017 ; 144 (23) : 4271-83.
7. Mercuri E, Talim B, Moghadaszadeh B, et al. Clinical and imaging findings in six cases of congenital muscular dystrophy with rigid spine syndrome linked to chromosome 1p (RSM1). *Neuromuscul Disord* 2002 ; 12 (7-8) : 631-8.
8. Donohoe M, Pruszcynski B, Rogers K, et al. Predicting Ambulatory Function Based on Infantile Lower Extremity Posture Types in Amyoplasia Arthrogryposis. *J Pediatr Orthop* 2019 ; 39 (7) : e531 5.
9. Kroksmark AK, Kimber E, Jerre R, et al. Muscle involvement and motor function in amyoplasia. *Am J Med Genet* 2006 ; 140A (16) : 1757-67.
10. Gaeta M, Messina S, Mileto A, et al. Muscle fat-fraction and mapping in Duchenne muscular dystrophy: evaluation of disease distribution and correlation with clinical assessments: Preliminary experience. *Skeletal Radiol* 2012 ; 41 (8) : 955-61.
11. Kan HE, Scheenen TWJ, Wohlgemuth M, et al. Quantitative MR imaging of individual muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2009 ; 19 (5) : 357-62.
12. Schlaefer S, Sollmann N, Zoffl A, et al. Quantitative Muscle MRI in Patients with Neuromuscular Diseases—Association of Muscle Proton Density Fat Fraction with Semi-Quantitative Grading of Fatty Infiltration and Muscle Strength at the Thigh Region. *Diagnostics* 2021 ; 11 (6) : 1056.
13. Pollard AS, McGonnell IM, Pitsillides AA. Mechanoadaptation of developing limbs: shaking a leg. *J Anat* 2014 ; 224 (6) : 615-23.
14. Fatehi F, Salort-Campana E, Le Troter A, et al. Long-term follow-up of MRI changes in thigh muscles of patients with Facioscapulohumeral dystrophy: A quantitative study. *PLoS ONE* 2017 ; 12 (8) : e0183825.
15. Janssen BH, Voet NBM, Nabuurs CI, et al. Distinct Disease Phases in Muscles of Facioscapulohumeral Dystrophy Patients Identified by MR Detected Fat Infiltration. *PLoS ONE* 2014 ; 9 (1) : e85416.
16. Fatehi F, Salort-Campana E, Le Troter A, et al. Muscle MRI of facioscapulohumeral dystrophy (FSHD): A growing demand and a promising approach. *Rev Neurol (Paris)* 2016 ; 172 (10) : 566-71.
17. Janssen B, Voet N, Geurts A, et al. Quantitative MRI reveals decelerated fatty infiltration in muscles of active FSHD patients. *Neurology* 2016 ; 86 (18) : 1700-7.
18. Figueroa-Bonaparte S, Segovia S, Llauger J, et al. Muscle MRI Findings in Childhood/Adult Onset Pompe Disease Correlate with Muscle Function. *PLoS ONE* 2016 ; 11 (10) : e0163493.
19. Khan AA, Boggs T, Bowling M, et al. Whole-body magnetic resonance imaging in late-onset Pompe disease: Clinical utility and correlation with functional measures. *J Inher Metab Dis* 2020 ; 43 (3) : 549-57.
20. Brogna C, Cristiano L, Tartaglione T, et al. Functional levels and MRI patterns of muscle involvement in upper limbs in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS ONE* 2018 ; 13 (6) : e0199222.

TIRÉS À PART

A. Milot

> Le dépistage génétique des maladies rares permet d'identifier le(s) gène(s) responsable(s) chez environ 50 % des patients. Les cas restants se trouvent dans une impasse diagnostique, car les connaissances actuelles ne permettent pas d'identifier le bon gène ou de déterminer si le(s) variant(s) détecté(s) sur le gène est(sont) pathogène(s) ou bénin(s). On parle alors de « variants de signification inconnue » (VSI). Dans le cas des maladies neuromusculaires, le gène *RYR1* est souvent mis en cause, mais la majorité de ses variants identifiés sont classés comme VSI, ce qui met à mal le diagnostic précis des patients. Notre projet vise à créer un pipeline d'analyses en combinant différentes approches (l'intelligence artificielle, les données de biologies structurales et les analyses fonctionnelles), afin d'obtenir une classification des variants de *RYR1* plus efficace et d'améliorer le diagnostic génétique des maladies liées à ce gène. <

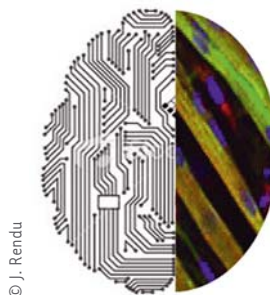
Contexte scientifique de l'étude

Le gène *RYR1*, situé sur le chromosome 19 du génome humain, est un gène d'environ 150 kb, comprenant 106 exons, codant une protéine de 5 038 acides aminés (~565 kDa) appelée le récepteur de la ryanodine de type 1 (RyR1). Cette protéine forme un homotétramère de plus de 2 MDa dont la fonction principale est la libération du calcium (Ca^{2+}) du réticulum sarcoplasmique (RS) vers le cytoplasme, suite à la propagation d'un potentiel d'action généré au niveau de la terminaison axonale d'un motoneurone. Cette imposante protéine est structurée en une large partie cytosolique en N-terminal et un domaine C-terminal organisé en six hélices transmembranaires formant le pore du canal et ancrant la protéine dans la membrane du RS. Les parties N-terminale et C-terminale contiennent des sites de liaison pour de nombreuses protéines/

Du gène à la cellule

Validation fonctionnelle des variants *RYR1*

Robin Reynaud Dulaud¹, Julie Brocard¹, John Rendu^{1,2}, Nagi Debbah^{3,4}, Julien Fauré^{1,2}, Isabelle Marty¹



molécules régulatrices telles que la triadine [1] (Figure 1).

Sur les 150 kb que compte le gène *RYR1*, plus de 8 000 mutations ont été identifiées (base de données ClinVar [2], avril 2024). Elles peuvent prendre plusieurs formes : duplication, modification, délétion ou insertion d'un ou plusieurs nucléotides. Ces modifications peuvent avoir des conséquences moléculaires telles qu'un décalage du cadre de lecture de l'ADN, des mutations faux-sens qui modifient des acides aminés, des mutations non-sens qui créent des codons « stop » ou des défauts d'épissage de l'ARN. Ces mutations peuvent perturber la régulation du canal, entraînant des anomalies de l'homéostasie calcique. On regroupe les conséquences fonctionnelles d'une mutation du gène *RYR1* dans trois principales catégories : hyperactivité du canal, diminution de la fonction du canal et réduction de la quantité de protéine RyR1.

Ces anomalies sont associées à des présentations histologiques et cliniques variées, avec un degré de sévérité variable. Le terme de « myopathies liées au gène *RYR1* » inclut plusieurs entités parmi lesquelles les myopathies à cores centraux, les myopathies centronucléaires, les myopathies à multi-minicores ou à « dusty core ». Au-delà des myopathies, des mutations du gène *RYR1* ont également été identifiées chez des patients ayant présenté une hyperthermie maligne peranesthésique ou une hyperthermie d'effort [3].

L'identification des mutations est l'une des étapes majeures du diagnostic. Cela permet d'établir une relation entre le génotype et le phénotype et d'adapter la prise en charge des malades. Le développement croissant des techniques de séquençage de nouvelle génération a ainsi

¹Université Grenoble Alpes, Inserm U1216, Grenoble Institut Neurosciences, Grenoble, France

²CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

³Université Grenoble-Alpes, Département de Pharmacochimie Moléculaire (DPM), CNRS UMR 5063, Grenoble, France

⁴Laboratoire des Techniques de l'Ingénierie Médicale et de la Complexité – Informatique, Mathématiques et Applications, UMR 5525, Grenoble, France

isabelle.marty@univ-grenoble-alpes.fr

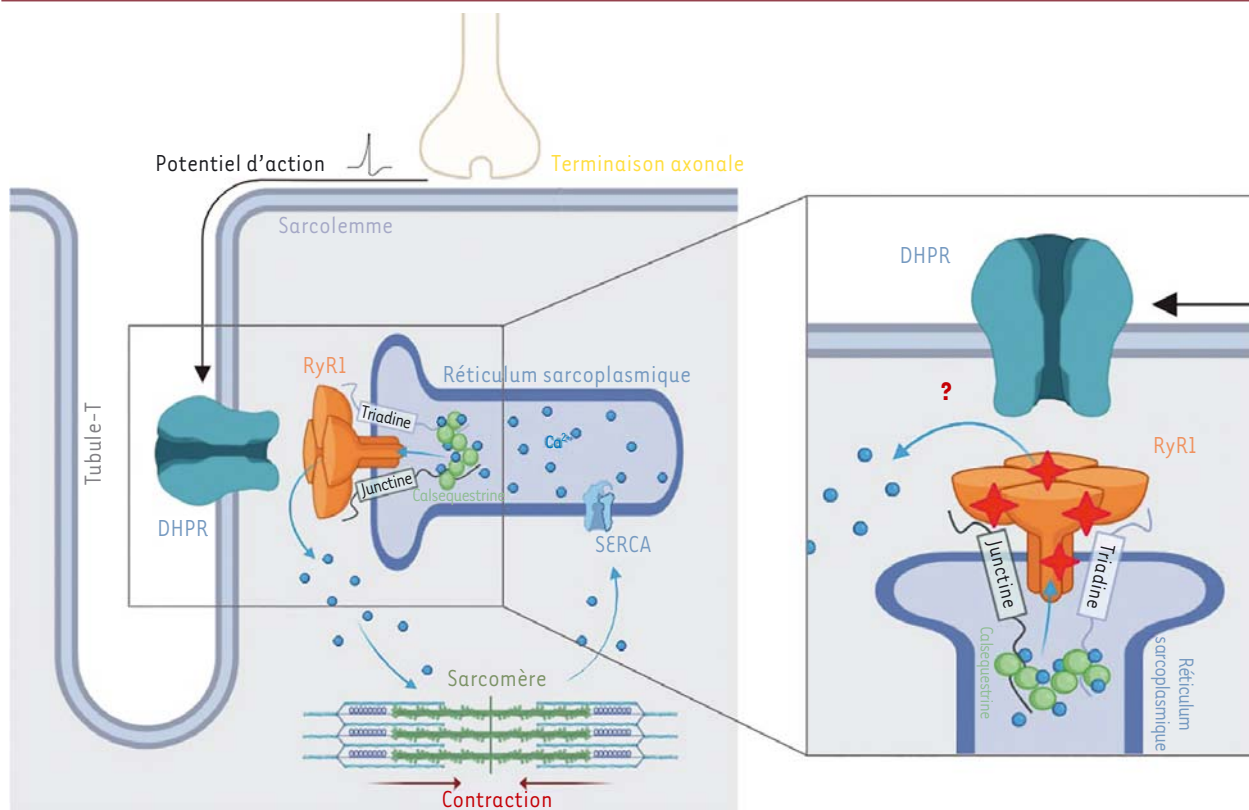


Figure 1. Le complexe de relargage calcique (CRC) des cellules musculaires. Représentation schématique du complexe de relargage calcique (CRC) à la triade. La protéine RyR1 est ancrée dans la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS) et libère le calcium (Ca^{2+}) dans le cytoplasme, en réponse à un potentiel d'action produit à la terminaison axonale. L'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire induit le glissement de la myosine sur les filaments d'actine et la contraction musculaire. Des variations sur le gène *RYR1* peuvent conduire à un défaut de libération du Ca^{2+} et à une perturbation du couplage excitation/contraction.

permis d'identifier plus de 8 000 variants du gène *RYR1*. Depuis quelques années, l'obstacle majeur au diagnostic n'est donc plus le séquençage de l'ADN des patients, mais l'identification de l'impact des variants identifiés : sont-ils pathogènes, probablement pathogènes, bénins ou probablement bénins ? De fait, parmi ces 8 000 variants de *RYR1* identifiés à ce jour, pour plus de 3 000 d'entre eux, on ne sait pas s'ils sont, sûrement ou probablement, pathogènes ou bénins. Ils sont donc classés comme « variants de signification inconnue » (VSI) (Figure 2) et 90 % des variants faux-sens sont de signification inconnue.

Le challenge dans la classification des variants génétiques – c'est-à-dire la capacité à déterminer s'ils sont pathogènes ou non – repose sur plusieurs critères : la complexité des mécanismes pathologiques impliquant parfois plusieurs variants et plusieurs gènes, la variabilité phénotypique entre des patients qui, atteints de la même maladie génétique, peuvent présenter des symptômes différents, et la limitation des outils d'analyse informatique dans leur capacité à prédire avec précision les conséquences des variations [4]. En raison de ces défis, il est souvent nécessaire de mener des études fonctionnelles approfondies pour classer avec précision les VSI et améliorer ainsi le diagnostic des patients.

Objectif du projet

Notre projet de recherche a consisté à élaborer une méthode pour prédire de manière rapide et robuste si tel ou tel variant est potentiellement pathogène ou, au contraire, bénin. Nous avons pour cela réuni les compétences scientifiques de différents domaines : l'intelligence artificielle, la biologie structurale, la physiologie cellulaire et les connaissances cliniques des maladies neuromusculaires. L'objectif : « reclassifier » les VSI du gène *RYR1* et classer les variants qui pourraient être nouvellement identifiés.

Méthodologie et résultats préliminaires

Nous avons tout d'abord établi une base de données d'entraînement contenant des variants dont la conséquence a déjà été déterminée précédemment. Cette base compile uniquement des variations « bénignes » et « pathogènes » identifiées par le laboratoire de

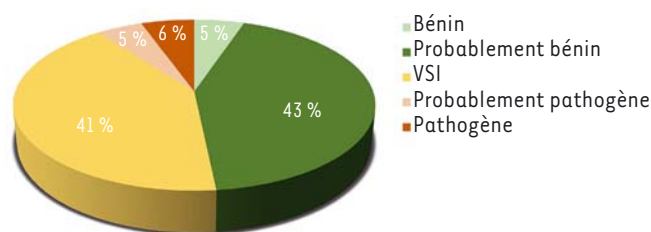


Figure 2. Classification actuelle des variants du gène RYR1. VSI : variants de signification inconnue. Graphique réalisé sur la base des variants actuels, recensés dans la base de données ClinVar.

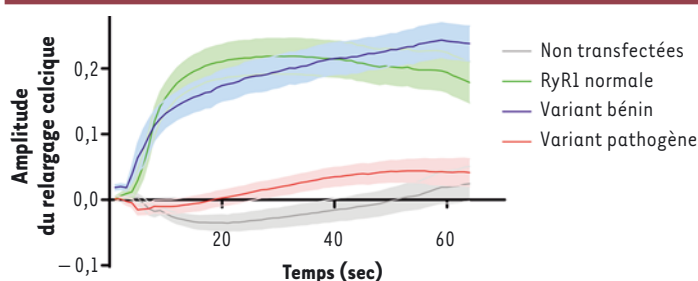


Figure 3. Graphique représentant les résultats obtenus suite à une expérience d'imagerie calcique. L'amplitude des courbes permet d'apprécier la quantité de Ca^{2+} libérée dans le cytoplasme en réponse à une stimulation du canal RyR1 avec un agoniste spécifique, le 4-chloro-m-cresol (4CmC). Ici, sont représentées les courbes de réponse de cellules non transfectées (gris), transfectées avec un plasmide codant pour la forme humaine normale de RyR1 (vert), transfectées avec un plasmide codant pour un variant bénin (bleu) ou pathogène (rouge).

génétique du Centre hospitalier universitaire de Grenoble, au cours des vingt dernières années. Ces données ont été obtenues lors de séquençages génétiques de patients atteints de myopathies liées à *RYR1*, d'hyperthermie maligne et d'hyperthermie d'effort, et validées par des études familiales et cliniques. La base de données a été complétée grâce à des recherches bibliographiques décrivant des variations déjà classées à ce jour [5-7] et par des variants issus d'autres bases de données (*Leiden open variation database*, *Human gene mutation database*, *GnomadV4*).

Nous avons ensuite modélisé l'impact des variations sur la structure et la fonction de la protéine. La structure macromoléculaire est divisée en trois régions : le pore du canal, la région d'activation où les ligands se lient, et une région cytoplasmique impliquée dans la fixation de protéines régulatrices. En raison de sa grande taille, peu d'études ont été menées pour étudier la relation structure-dynamique-pathogénicité de RyR1. Plus de 90 structures de cette protéine ont été identifiées par des techniques de cryo-microscopie électronique ou de diffraction par rayons X, les plus complètes ayant été décrites pour la protéine RyR1 du lapin [8, 9]. En revanche, en raison de la taille importante de la protéine et de sa flexibilité interne, la structure de nombreuses boucles cytosoliques n'a pas pu

être déterminée pour la forme humaine de RyR1. En se basant sur les dernières données expérimentales disponibles dans la littérature, nous avons donc utilisé plusieurs algorithmes pour modéliser la structure de la protéine humaine.

Pour créer les catégories utilisées dans la classification, nous avons ensuite eu besoin de définir différents paramètres appelés « descripteurs ». Un descripteur est un paramètre quantifiable, utilisé pour décrire ou représenter un phénomène de façon simplifiée. Cela facilite son étude par des modèles mathématiques ou informatiques. Dans le contexte de notre étude, les descripteurs sont, par exemple, la conservation, la position de la variation dans la séquence (distance aux différents ligands et domaines fonctionnels), l'impact biochimique du changement d'acide aminé, la modification de la stabilité énergétique de la protéine, la déstabilisation de la protéine, la modification de l'accessibilité du résidu. Le tout, soit pour la forme fermée du canal, soit pour sa forme ouverte.

Grâce à ces descripteurs, chacun des variants de notre base de données se trouve ainsi caractérisé. Après entraînement, ce jeu de données a permis une première validation du modèle informatique. Ce modèle a ensuite été utilisé sur une base de données plus large contenant des VSI. Chaque VSI a ainsi obtenu un score de prédiction de classification qui a établi s'il est potentiellement pathogène ou bénin. Enfin, le processus de classification par intelligence artificielle a été validé par des expériences de biologie sur cellules, une étape essentielle pour confirmer que les prédictions informatiques sont fidèles à l'effet physiopathologique de la variation du gène *RYR1*. Pour cela, nous avons étudié l'effet physiologique de plusieurs variants qui avaient obtenu une classification – bénin ou pathogène – avec un haut niveau de confiance, renforçant l'apprentissage de notre modèle informatique et améliorant la classification (processus de *machine learning*) en utilisant à la fois la prédiction informatique et les données expérimentales.

Ces validations fonctionnelles ont débuté avec la réalisation des clonages moléculaires dans un plasmide codant pour la protéine RyR1, afin d'introduire les différents variants dans la séquence du plasmide. Une fois ce travail effectué, nous avons réalisé des expériences d'imagerie calcique sur des lignées cellulaires qui n'expriment pas la protéine RyR1 de façon endogène. Puis, les cellules ont été transfectées avec les plasmides codant pour les différents variants (Figure 3). L'imagerie calcique permet en effet de mettre en évidence des éventuels défauts du relargage du Ca^{2+} par RyR1, suite à une stimulation du canal par un agoniste

spécifique [10, 11]. Nos résultats montrent que cette méthode permet de confirmer la pathogénicité ou l'innocuité d'une mutation de *RYR1* sur la libération du Ca^{2+} . Et bien qu'il ne soit pas possible de vérifier fonctionnellement les effets de chaque variant, nos expériences d'imagerie calcique permettent de renforcer les résultats obtenus par les prédictions informatiques.

Conclusion et perspectives

Face à la complexité et au nombre croissant de VSI découverts lors de séquençages génétiques, il est nécessaire de développer des outils de classification innovants pour fournir un diagnostic plus précis et rapide aux patients atteints de pathologies associées au gène *RYR1*. Ainsi, en combinant l'intelligence artificielle, la biologie structurale et les expertises cliniques, moléculaires et fondamentales en maladies neuromusculaires, nous avons développé un modèle de classification robuste pour prédire la pathogénicité ou non des VSI. Enfin, notre projet contribue à faire le lien entre la génétique et la clinique et notre approche méthodologique pourrait être étendue à d'autres gènes et maladies génétiques, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour le diagnostic des maladies rares. ♦

SUMMARY

From gene to cell: Functional validation of *RYR1* variants

Genetic screening of rare diseases allows identification of the responsible gene(s) in about 50% of patients. The remaining cases are in a diagnostic deadlock as current knowledge fails to identify the correct gene or determine if the detected variant on the gene is pathogenic. These are named "variants of unknown significance" (VUS). In the case of neuromuscular diseases, the *RYR1* gene is often implicated, with the majority of variants classified as VUS, requiring reliable classification to help patient diagnosis. Our project aims to create an efficient classification pipeline, integrating artificial intelligence, structural biology data, and functional analyses to enhance genetic diagnosis of *RYR1*-related diseases. ♦

PRIX SFM

Robin Reynaud Dulaurier a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

REMERCIEMENTS

Cette étude a reçu le soutien du Programme prioritaire de recherche maladies rares du Programme français d'investissements d'avenir et de l'AFM-Téléthon.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteur(e)(s) déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Beaufils M, Travard L, Rendu J, et al. Therapies for *RYR1*-Related Myopathies: Where We Stand and the Perspectives. *Curr Pharm Des* 2022 ; 28 (1) : 1525.
2. « ClinVar ». Consulté le 29 avril 2024. En ligne]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
3. Lawal TA, Todd JJ, Meilleur KG. Ryanodine Receptor 1-Related Myopathies: Diagnostic and Therapeutic Approaches. *Neurotherapeutics* 2018 ; 15 (4) : 885-899.
4. 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 (5) : 405-24.
5. Kushnir A, Todd JJ, Witherspoon JW, et al. Intracellular calcium leak as a therapeutic target for *RYR1*-related myopathies. *Acta Neuropathol* 2020 ; 139 (6) : 1089-1104.
6. Garibaldi M, Rendu J, Brocard J, et al. 'Dusty core disease' (DuCD): expanding morphological spectrum of *RYR1* recessive myopathies. *Acta Neuropathol Commun* 2019 ; 7 (1) : 3.
7. Abath Neto O, de Araújo Martins Moreno C, Malfatti E, et al. Common and variable clinical, histological, and imaging findings of recessive *RYR1*-related centronuclear myopathy patients. *Neuromuscul Disord* 2017 ; 27 (11) : 975-985.
8. Meissner G. The structural basis of ryanodine receptor ion channel function. *J Gen Physiol* 2017 ; 149 (12) : 1065-1089.
9. Lanner JT, Georgiou DK, Joshi AD, et al. Ryanodine Receptors: Structure, Expression, Molecular Details, and Function in Calcium Release. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010 ; 2 (11) : a003996.
10. Rendu J, Brocard J, Denarier E, et al. Exon Skipping as a Therapeutic Strategy Applied to an *RYR1* Mutation with Pseudo-Exon Inclusion Causing a Severe Core Myopathy. *Hum Gene Ther* 2013 ; 24 (7) : 702-713.
11. Noda Y, Miyoshi H, Benucci S, et al. Functional characterization of *RYR1* variants identified in malignant hyperthermia susceptible individuals. *Neuromuscul Disord* 2023 ; 33 (12) : 951-963.

TIRÉS À PART

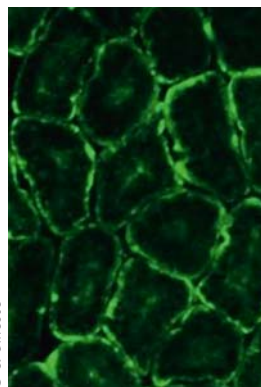
R. Reynaud Dulaurier



► Les myopathies centronucléaires sont des maladies congénitales rares, caractérisées par une faiblesse musculaire et un positionnement anormal des organites. Les principaux gènes associés à ces pathologies sont *MTM1* (codant la myotubularine 1), *DNM2* (codant la dynamine 2), *BIN1* (codant le bridging integrator 1) et *RYR1* (codant le récepteur à la ryanodine 1). À ce jour, aucun traitement n'est approuvé. Cependant, le tamoxifène, une molécule déjà utilisée en clinique dans le cancer du sein, a montré des effets positifs sur le phénotype musculaire de modèles murins qui reproduisent trois des formes principales de myopathies centronucléaires. Dans cet article, les effets du tamoxifène sont comparés pour les différentes formes de ces pathologies. ◀

Le tamoxifène, une molécule à fort potentiel thérapeutique pour toutes les myopathies centronucléaires

Charlotte Gineste, Jocelyn Laporte



© C. Gineste

IGBMC – CNRS UMR 7104 – Inserm
U 1258, Illkirch, France
ginestec@igbmc.fr
jocelyn@igbmc.fr

Introduction

Les myopathies centronucléaires, dont fait partie la myopathie myotubulaire, sont des maladies héréditaires rares du muscle, qui se manifestent cliniquement par une faiblesse musculaire et une hypotonie. La caractéristique histopathologique principale est la mauvaise localisation des organites dans la fibre musculaire telle qu'une internalisation des noyaux en l'absence de régénérescence musculaire ou une agrégation des mitochondries [1, 2]. Les différentes formes de myopathies centronucléaires sont définies en fonction du gène muté et de la sévérité de la maladie. La myopathie myotubulaire est la forme liée au chromosome X. Elle est causée par des mutations dans le gène *MTM1* (codant la myotubularine 1) et elle est responsable de la forme la plus sévère [3]. Les formes autosomiques sont dues à des mutations dans six gènes identifiés à ce jour – *DNM2* codant la dynamine 2, *RYR1* codant

le récepteur à la ryanodine 1, *BIN1* codant le *bridging integrator 1*, *TTN* codant la titine, *SPEG* codant la *striated muscle enriched protein kinase*, *ZAK* codant la *mitogen-activated protein kinase kinase 20* – *DNM2*, *RYR1* et *BIN1* étant les plus fréquemment mutés [4]. La myopathie centronucléaire liée à *DNM2* est une forme dominante à l'origine d'un spectre de sévérité variable selon la mutation [5-7]. La forme liée à *BIN1* est associée à des mutations dominantes ou récessives, la forme récessive étant associée à un début précoce de la maladie (à la naissance ou au cours de l'enfance), et la forme dominante débutant plus tardivement (âge adulte) [8, 9]. La forme liée à *RYR1* est une forme récessive à l'origine d'une sévérité modérée de la maladie [10, 11].

Aujourd'hui, aucune thérapie n'est approuvée pour ces maladies rares du muscle, quelle qu'en soit la forme. Néanmoins, le tamoxifène, un agent pharmacologique déjà utilisé en clinique depuis de nombreuses années, notamment dans le traitement du cancer du sein [12], a montré des effets bénéfiques chez des modèles précliniques de myopathies centronucléaires. Ces modèles murins reproduisent les défauts retrouvés chez les patients atteints des formes *MTM1*, *DNM2* et *BIN1*. Les souris déficientes pour *Mtm1* démontrent une forme très sévère de la maladie et ont une durée de vie écourtée [13]. Celles dont le gène *Dnm2* porte la mutation S619L développent une forme sévère, mais sans impact sur l'espérance de vie [14]. Les souris déficientes pour *Bin1* reproduisent une forme modérée de la maladie [15]. Ces trois modèles murins présentent les mêmes symptômes cliniques, cellulaires

Vignette : Marquage par immunofluorescence de la desmine (vert) sur une coupe transversale de muscle strié squelettique (tibial antérieur) de souris malade (MCN-Bin1).

et moléculaires que ceux retrouvés chez les patients, à savoir une faiblesse musculaire, une atrophie des fibres, une localisation anormale des mitochondries et une augmentation du niveau de la dynamine 2. Le tamoxifène agit différemment sur chacun de ces paramètres selon le modèle murin.

Le tamoxifène améliore la force musculaire dans différents modèles murins de myopathies centronucléaires

Un suivi longitudinal des animaux malades, traités et non traités par supplémentation en tamoxifène dans la nourriture, a permis d'évaluer le phénotype *in vivo* des modèles animaux *Mtm1*, *Bin1* et *Dnm2*. Ce suivi a mis en évidence des effets positifs du tamoxifène sur le phénotype myopathique dès la première semaine de traitement. Ces effets du tamoxifène sont rapides et stables, comme l'atteste l'amélioration des mesures de performances motrices des souris *Mtm1*, *Bin1* et *Dnm2* traitées [16, 17].

À l'échelle du muscle de base, les trois modèles présentent une faiblesse musculaire (*i.e.* perte de force maximale). Le traitement au tamoxifène augmente la force maximale chez les modèles *Bin1* et *Mtm1* [16, 17], mais pas chez le modèle *Dnm2* [17]. L'effet du tamoxifène sur la faiblesse musculaire est donc indépendant de la sévérité de la maladie et semble être associé au gène muté. En revanche, la production de force à des contractions sous-maximales est fortement augmentée chez tous les modèles en réponse à l'administration de tamoxifène. Cet effet est similaire à celui rapporté chez un modèle murin de la myopathie de Duchenne [18]. Néanmoins, chez les trois modèles de myopathies centronucléaires, l'atrophie musculaire persiste après le traitement au tamoxifène [16, 17]. Ainsi, l'augmentation de la production de force serait associée à une meilleure capacité des fibres musculaires à se contracter.

La cause majeure de la faiblesse musculaire dans les myopathies centronucléaires est un défaut du couplage excitation-contraction, caractérisé par une réduction de la libération de calcium au cours de la contraction [15, 19]. Cette réduction ne serait pas causée par une diminution des stocks de calcium dans le réticulum sarcoplasmique, et pourrait s'expliquer par la diminution du niveau protéique du récepteur à la ryanodine (RYR1) [17, 20]. La normalisation du niveau de RYR1 en réponse à l'administration de tamoxifène, notamment chez le modèle *Bin1* suggère que le tamoxifène pourrait avoir un rôle majeur sur la régulation calcique impliquée dans l'amélioration de la contractilité du muscle. Cette hypothèse est étayée par l'augmentation du niveau de calcium cytosolique rapportée chez les souris *Mtm1* traitées au tamoxifène [16].

La dynamine 2 : un pivot pathologique et thérapeutique

La quantité de DNM2 est largement augmentée dans les muscles de patients MTM1, ainsi que dans les muscles du modèle murin *Mtm1* [21]. Elle est également anormalement élevée dans les muscles des modèles *Bin1* et *Dnm2* [17]. La diminution d'expression de la protéine DNM2 chez ces différents modèles, *via* des modula-

tions génétiques ou de l'ARN interférence, améliore considérablement le phénotype musculaire, tant d'un point de vue fonctionnel qu'histologique [14, 15, 21]. La quantité de DNM2 joue donc un rôle majeur dans le développement de la maladie. Cette hypothèse est confirmée par le phénotype myopathique induit par la surexpression de *Dnm2* chez des animaux contrôles [22]. La quantité de DNM2 est diminuée chez les modèles *Mtm1*, *Bin1* et *Dnm2* suite à une administration de tamoxifène [16, 17]. Ainsi, l'amélioration du phénotype contractile en réponse au tamoxifène pourrait être liée, au moins en partie, à la réduction du niveau de la DNM2. Cette quantité protéique varie sans qu'il n'y ait de modification au niveau de l'expression du gène *Dnm2*, quelle que soit la condition [17, 23]. Ainsi, la modulation de la quantité de la DNM2 serait principalement associée à des modifications de la stabilité ou de la dégradation de la protéine. Les marqueurs des systèmes protéolytiques sont augmentés chez les modèles *Bin1* et *Dnm2* (*i.e.* p62 et LC3 pour le système autophagique et culline 3 – CUL3 – pour le système ubiquitine-protéasome) [15, 17]. Le protéasome répond au tamoxifène, comme démontré par la normalisation du niveau de CUL3 chez les animaux traités, contrairement à l'autophagie pour laquelle les marqueurs restent anormalement élevés post-traitement. La culline 3 est une ubiquitine ligase qui joue un rôle dans la dégradation des protéines dans le muscle strié squelettique et qui est impliquée dans le mécanisme physiopathologique à l'origine de diverses formes de myopathie à némaline [24, 25]. L'évolution en parallèle des quantités de CUL3 et de DNM2 dans le muscle des modèles *Bin1* et *Dnm2* suggère que celle de la CUL3 pourrait être associée à celle de la DNM2. Le tamoxifène pourrait donc améliorer la dégradation de la DNM2 par le protéasome en impliquant la CUL3.

Une amélioration du phénotype histologique dépendante du gène muté

Le défaut histologique commun retrouvé dans le muscle des souris *Mtm1*, *Bin1* et *Dnm2* est un mauvais positionnement des mitochondries. Chez le modèle *Mtm1*, ces organites forment un cercle en périphérie des fibres musculaires [16]. Chez les modèles *Dnm2* et *Bin1*, les mitochondries s'accumulent au centre des myofibres [17]. Ces anomalies sont totalement absentes après administration de tamoxifène, mais uniquement chez le modèle *Bin1* (Figure 1). En revanche, elles persistent dans le muscle chez les modèles *Mtm1* et *Dnm2* traités, quelle que soit la dose de tamoxifène administrée [17].

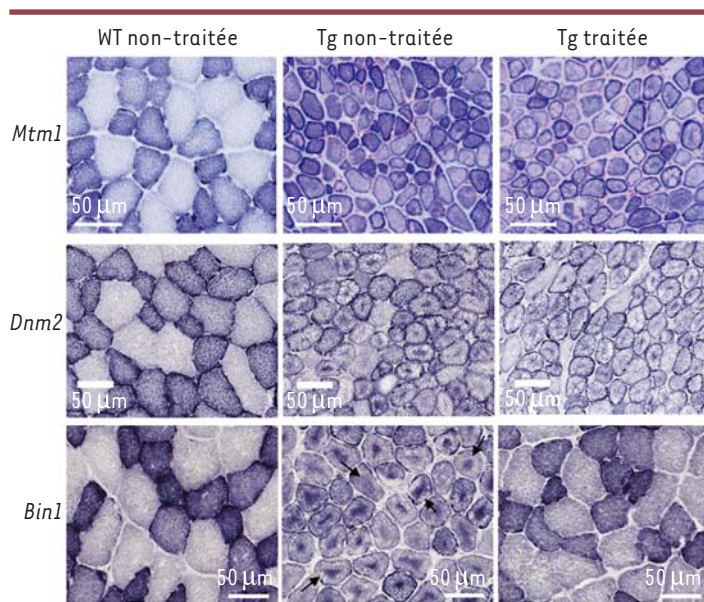


Figure 1. Le tamoxifène prévient la mauvaise distribution des mitochondries au sein des fibres musculaires uniquement pour la forme *Bin1*. Images représentatives de l'activité oxydative de la SDH (succinate déshydrogénase) sur des coupes de muscle tibial antérieur de souris contrôles (WT) non-traitées et de souris malades (Tg) non-traitées et traitées au tamoxifène, pour les lignées *Mtm1*, *Dnm2* et *Bin1*.

La desmine joue un rôle dans le positionnement des noyaux et des mitochondries [26, 27]. Chez les modèles murins de myopathies centronucléaires, la desmine est anormalement positionnée dans la fibre musculaire [17, 28]. La localisation de la desmine est concordante avec celle des mitochondries, au moins chez les souris *Dnm2* et *Bin1*, avec et sans tamoxifène [17]. Ceci indique que l'effet bénéfique du tamoxifène sur le phénotype histologique est vraisemblablement lié à une normalisation de la distribution de la desmine dans la cellule musculaire. L'ensemble de ces données atteste du rôle de la desmine dans le positionnement des organites dans les myopathies centronucléaires.

Une internalisation des noyaux est aussi une caractéristique histopathologique des myopathies centronucléaires. Le tamoxifène montre un effet bénéfique, bien que partiel, sur le nombre de fibres présentant des noyaux anormalement localisés chez le modèle *Mtm1*, alors qu'il n'a aucun effet sur ce phénotype chez les souris *Dnm2*. Ces résultats indiquent que l'effet du tamoxifène sur le phénotype histologique ne dépend pas de la sévérité de la maladie, mais semble plutôt être associé au gène muté.

Dans l'ensemble, après traitement au tamoxifène, la production de force est améliorée chez les modèles *Mtm1* et *Dnm2*, alors que la force est normalisée chez le modèle *Bin1*. Ces résultats suggèrent que l'élimination des défauts histologiques n'est pas indispensable à l'amélioration de la contractilité du muscle. De manière intéressante, le nombre de fibres avec une accumulation anormale de SDH (succinate déshydrogénase) est négativement corrélé à la force sous-maximale chez le modèle *Bin1* (Figure 2). Ainsi, l'amélioration des défauts histologiques potentialise la normalisation de la fonction musculaire.

Le tamoxifène n'agit pas par la voie génomique

Le tamoxifène est un modulateur des récepteurs aux œstrogènes, qui peut avoir des effets dits « génomiques » par modulation de la transcription, ou des effets dits « non-génomiques » par activation de cascades de signalisation indépendantes de la modulation de la transcription [29]. Afin de déterminer si le tamoxifène agit par modulation de la transcription, le transcriptome de muscle entier de souris malades traitées au tamoxifène a été comparé à celui de souris malades non-traitées, pour les modèles *Dnm2* et *Mtm1*. Le transcriptome des différents modèles murins de myopathies centronucléaires est très largement altéré [30]. Chez le modèle *Dnm2*, les gènes dérégulés sont associés à l'inflammation, à la contraction musculaire, au développement du muscle et à l'organisation de la matrice extracellulaire [17]. Seulement 10 % des gènes associés à la signature de la maladie sont au moins partiellement compensés après traitement par le tamoxifène. Ces résultats indiquent que le tamoxifène a un effet minime sur le transcriptome (Figure 3). Cependant, les gènes différenciellement exprimés après administration de tamoxifène ne sont pas majoritairement associés aux voies moléculaires altérées par la mutation. Chez le modèle *Mtm1*, les gènes les plus dérégulés sont associés à la contraction musculaire et à l'inflammation [30]. Seulement sept gènes sont différenciellement exprimés après traitement au tamoxifène, dont uniquement trois sont associés à la maladie [16]. Ainsi, l'amélioration du phénotype observée chez les modèles murins de myopathies centronucléaires après traitement par le tamoxifène ne semble pas liée à

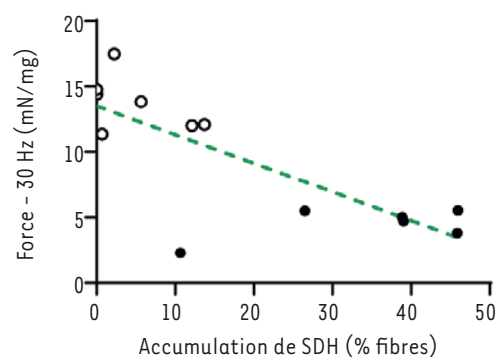


Figure 2. Relation linéaire entre le nombre de fibres présentant une accumulation anormale de SDH et la production de force sous-maximale chez les souris *Bin1* traitées (○) et non-traitées (●) par le tamoxifène. Plus le nombre de fibres avec une accumulation anormale de SDH est grand, plus la production de force est faible. $r^2 = 0,61$; différence significative, $P < 0,01$. SDH = succinate déshydrogénase.

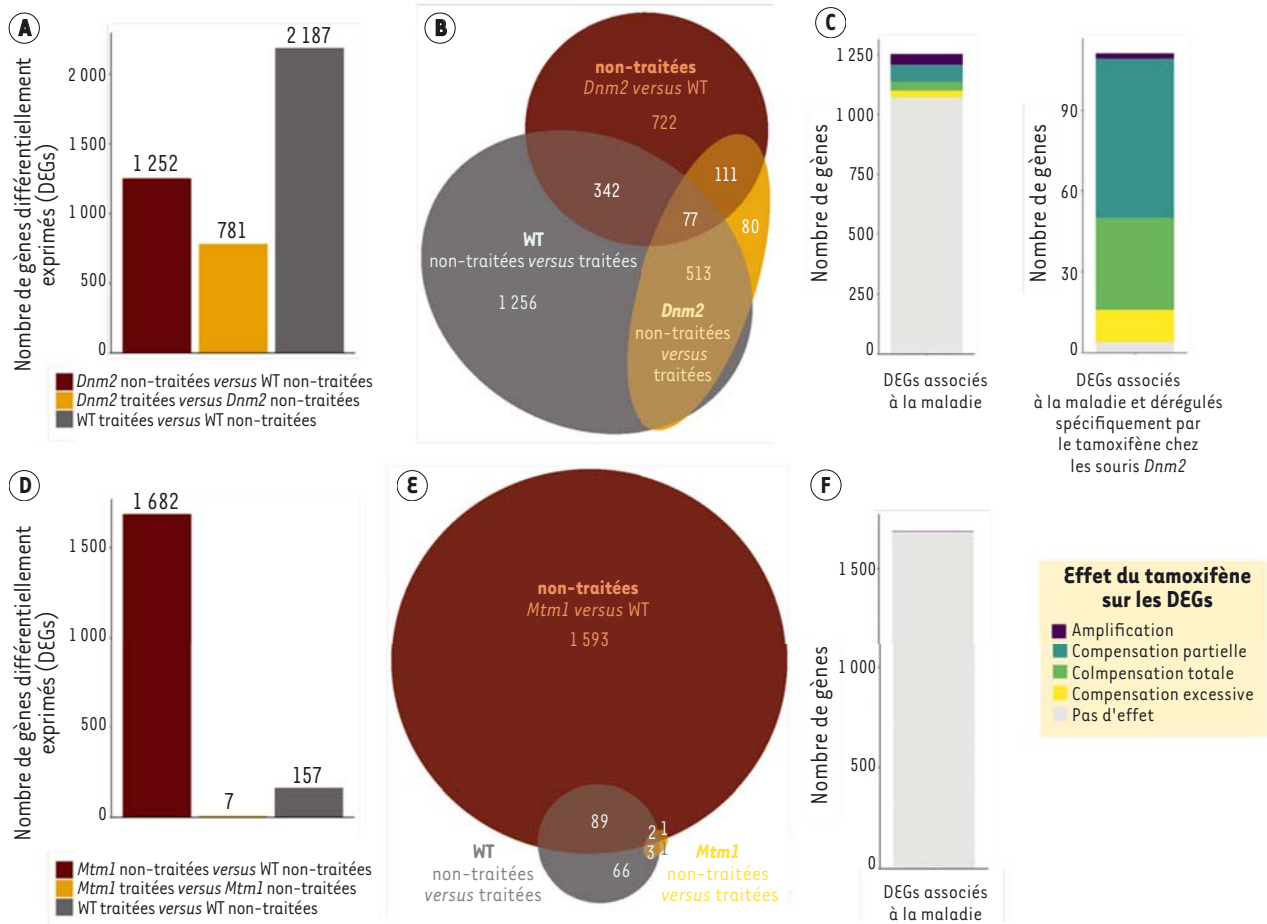


Figure 3. Le tamoxifène n'a pas, ou peu, d'effet sur les gènes déréglés chez les souris modèles des formes *Dnm2* et *Mtm1*. Analyse de l'expression différentielle des gènes chez les souris *Dnm2* (A-C) et *Mtm1* (D-F). (A et D) Nombre de gènes différentiellement exprimés (DEGs) chez les souris malades traitées et non-traitées, contrôles (WT) traitées et non-traitées, malades traitées et contrôles non-traitées (DEGs associés à la maladie). (B et E) Diagramme de Venn des gènes déréglés. (C et F) Effet du tamoxifène sur les DEGs associés à la maladie et affectés par le tamoxifène, spécifiquement chez les souris malades traitées.

des modifications transcriptionnelles. Ceci suggère que l'effet thérapeutique du tamoxifène passe par des effets non-génomiques.

Une alternative thérapeutique pour toutes les formes de myopathie centronucléaire ?

Remarquablement, le tamoxifène a prouvé être bénéfique pour traiter les formes *MTM1*, *BIN1* et *DNM2*. Le gène *MTM1* code la myotubularine 1 qui est une phosphatase des phosphoinositides et qui joue un rôle dans le trafic membranaire dans le muscle. Le gène *DNM2* code la dynamine 2 qui est impliquée dans la tubulation et la fission membranaire dans le muscle. Le gène *BIN1* code l'amphiphysine 2 dont le rôle est associé à la courbure de la membrane et à la biogénèse des tubules transverses dans le muscle. Le gène *RYR1* code le canal calcique *RYR1* qui est localisé sur la membrane du réticulum sarcoplasmique et permet la libération du calcium vers le cytosol et la contraction musculaire.

Les principaux gènes mutés dans les myopathies centronucléaires codent donc pour les protéines jouant un rôle structural ou fonctionnel, au niveau de la triade, pour le couplage excitation-contraction. Ces données suggèrent un mécanisme physiopathologique commun à toutes ces formes et donc la possibilité de guérir les différentes formes de myopathies centronucléaires avec une approche thérapeutique commune. Le tamoxifène pourrait donc être bénéfique pour toutes les formes de myopathies centronucléaires, quel que soit le gène muté, y compris la forme *RYR1*, une des plus fréquentes de ces pathologies.

Conclusion

Le tamoxifène apporte des bénéfices fonctionnels notables pour plusieurs formes de myopathies centronucléaires, au moins partiellement par la diminution du

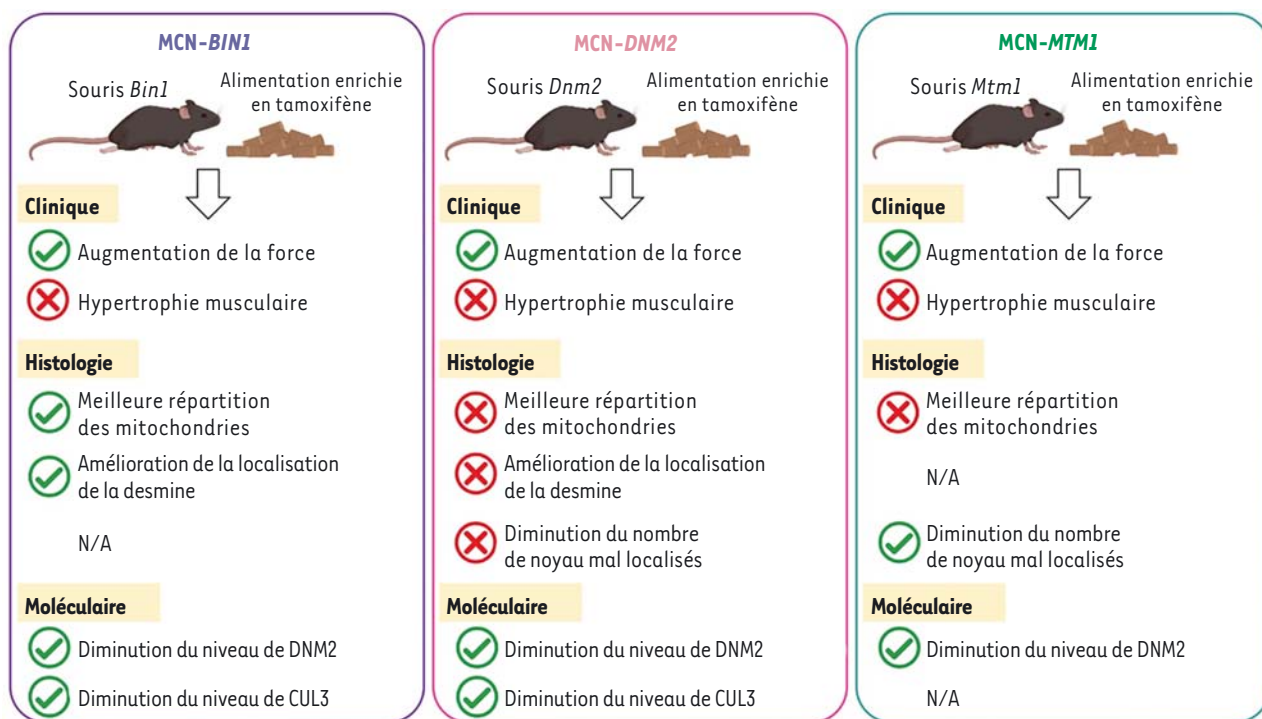


Figure 4. Le tamoxifène a des effets bénéfiques au niveau fonctionnel, histologique et/ou moléculaire chez les souris modèles des formes *Bin1*, *Dnm2* et *Mtm1*. N/A = non disponible. DNM2 = dynamine 2. CUL3 = culline 3.

niveau anormalement élevé de la DNM2 (Figure 4). Les effets positifs rapportés chez les modèles précliniques montrant différentes sévérités suggèrent que le tamoxifène pourrait être efficace chez des patients avec des formes adultes ou infantiles. Par ailleurs, même si le mécanisme d'action du tamoxifène dans le muscle n'est pas totalement compris à ce jour, notre étude a permis d'éclaircir son action dans le contexte des myopathies centronucléaires. De plus, l'effet principal du tamoxifène ne serait pas génomique, ce qui ouvre de nouvelles perspectives d'investigations quant aux voies moléculaires sous-jacentes à l'amélioration de la fonction musculaire. Enfin, le tamoxifène pourrait servir d'approche thérapeutique commune aux myopathies centronucléaires, quel que soit le gène muté, afin de contrecarrer la faiblesse musculaire. ♦

SUMMARY

Tamoxifen, a high-potential molecule to treat all centronuclear myopathies

Centronuclear myopathies are rare congenital disorders characterized by muscle weakness and mislocalization of organelles. The main genes associated to these muscle diseases are *MTM1*, *DNM2*, *BIN1* and *RYR1*. To date, no therapy is available. Nevertheless, tamoxifen, a pharmacological compound already used in clinics for breast cancer, showed beneficial effects on the muscle phenotypes in mouse models for centronuclear myopathies. Here, the effects of tamoxifen on muscle phenotypes will be compared in the various forms of this muscle disease. ♦

PRIX SFM

Charlotte Gineste a reçu le prix Impulsion lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Jungbluth H, Wallgren-Pettersson C, Laporte J. Centronuclear (myotubular) myopathy. *Orphanet J Rare Dis* 2008 ; 3 : 26.
- Romero NB. Centronuclear myopathies: a widening concept. *Neuromuscul Dis* 2010 ; 20 : 223-228.
- Laporte J, Hu LJ, Kretz C, et al. A gene mutated in X-linked myotubular myopathy defines a new putative tyrosine phosphatase family conserved in yeast. *Nat Genet* 1996 ; 13 : 175-182.
- Jungbluth H, Treves S, Zorzato F, et al. Congenital myopathies: disorders of excitation-contraction coupling and muscle contraction. *Nat Rev Neurol* 2018 ; 14 : 151-167.
- Bitoun M, Bevilacqua JA, Prudhon B, et al. Dynamin 2 mutations cause sporadic centronuclear myopathy with neonatal onset. *Ann Neurol* 2007 ; 62 : 666-670.
- Bitoun M, Maugey S, Jeannet PY, et al. Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 1207-1209.
- Bohm J, Biancalana V, Dechene ET, et al. Mutation spectrum in the large GTPase dynamin 2, and genotype-phenotype correlation in autosomal dominant centronuclear myopathy. *Hum Mut* 2012 ; 33 : 949-959.
- Bohm J, Biancalana V, Malfatti E, et al. Adult-onset autosomal dominant centronuclear myopathy due to BIN1 mutations. *Brain* 2014 ; 137 : 3160-3170.
- Nicot AS, Toussaint A, Tosch V, et al. Mutations in amphiphysin 2 (BIN1) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 1134-1139.
- Bevilacqua JA, Monnier N, Bitoun M, et al. Recessive RYR1 mutations cause unusual congenital myopathy with prominent nuclear internalization and large areas of myofibrillar disorganization. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011 ; 37 : 271-284.

RÉFÉRENCES

11. Wilmshurst JM, Lillis S, Zhou H, et al. RYR1 mutations are a common cause of congenital myopathies with central nuclei. *Ann Neurol* 2010 ; 68 : 717-726.
12. Jordan VC. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. *Nat Rev Drug Discov* 2003 ; 2 : 205-213.
13. Buj-Bello A, Laugel V, Messaddeq N, et al. The lipid phosphatase myotubularin is essential for skeletal muscle maintenance but not for myogenesis in mice. *PNAS* 2002 ; 99 : 15060-15065.
14. Massana Munoz X, Kretz C, Silva-Rojas R, et al. Physiological impact and disease reversion for the severe form of centronuclear myopathy linked to dynamin. *JCI Insight* 2020 ; 5 : e137899.
15. Silva-Rojas R, Nattarayan V, Jaque-Fernandez F, et al. Mice with muscle-specific deletion of Bin1 recapitulate centronuclear myopathy and acute downregulation of dynamin 2 improves their phenotypes. *Mol Ther* 2022 ; 30 : 868-880.
16. Gayi E, Neff LA, Massana Muñoz X, et al. Tamoxifen prolongs survival and alleviates symptoms in mice with fatal X-linked myotubular myopathy. *Nat Com* 2018 ; 9 : 4848.
17. Gineste C, Simon A, Braun M, et al. Tamoxifen improves muscle structure and function of Bin1- and Dnm2-related centronuclear myopathies. *Brain* 2023 ; 146 : 3029-3048.
18. Dorchies OM, Reutenauer-Patte J, Dahmane E, et al. The anticancer drug tamoxifen counteracts the pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy. *Am J Pathol* 2013 ; 182 : 485-504.
19. Kutchukian C, Lo Scudato M, Tourneur Y, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibition restores Ca²⁺ release defects and prolongs survival in myotubularin-deficient mice. *PNAS* 2016 ; 113 : 14432-14437.
20. Al-Qusairi L, Weiss N, Toussaint A, et al. T-tubule disorganization and defective excitation-contraction coupling in muscle fibers lacking myotubularin lipid phosphatase. *PNAS* 2009 ; 106 : 18763-18768.
21. Cowling BS, Chevremont T, Prokic I, et al. Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy. *JCI* 2014 ; 124 : 1350-1363.
22. Cowling BS, Toussaint A, Amoasii L, et al. Increased expression of wild-type or a centronuclear myopathy mutant of dynamin 2 in skeletal muscle of adult mice leads to structural defects and muscle weakness. *Am J Pathol* 2011 ; 178 : 2224-2235.
23. Maani N, Sabha N, Rezai K, et al. Tamoxifen therapy in a murine model of myotubular myopathy. *Nat Com* 2018 ; 9 : 4849.
24. Blondelle J, Tallapaka K, Seto JT, et al. Cullin-3 dependent deregulation of ACTN1 represents a new pathogenic mechanism in nemaline myopathy. *JCI Insight* 2019 ; 5 : e125665.
25. Mansur A, Joseph R, Kim ES, et al. Dynamic regulation of inter-organelle communication by ubiquitylation controls skeletal muscle development and disease onset. *Elife* 2023 ; 12 : e81966.
26. Milner DJ, Mavroidis M, Weisleder N, et al. Desmin cytoskeleton linked to muscle mitochondrial distribution and respiratory function. *J Cell Biol* 2000 ; 150 : 1283-1296.
27. Ralston E, Lu Z, Biscocho N, et al. Blood vessels and desmin control the positioning of nuclei in skeletal muscle fibers. *J Cell Physiol* 2006 ; 209 : 874-882.
28. Hnia K, Tronchere H, Tomczak KK, et al. Myotubularin controls desmin intermediate filament architecture and mitochondrial dynamics in human and mouse skeletal muscle. *JCI* 2011 ; 121 : 70-85.
29. Fuentes N, Silveira P. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2019 ; 116 : 135-170.
30. Djeddi S, Reiss D, Menuet A, et al. Multi-omics comparisons of different forms of centronuclear myopathies and the effects of several therapeutic strategies. *Mol Ther* 2021 ; 29 : 2514-2534.

TIRÉS À PART

C. Gineste



SAVE THE DATE

MuSkLE Summer School 2025

Musculo-Skeletal system, Locomotion, Exercise

1-6 June | Lyon, France



We welcome Bachelor (in priority) and Master students in molecular biology, cell biology, medicine, physiotherapy, physiology and exercise science interested in research on the musculo-skeletal system

Info

<https://muskle.univ-lyon1.fr> | muskle@univ-lyon1.fr
 @muskle_school | MuSkLE Graduate School

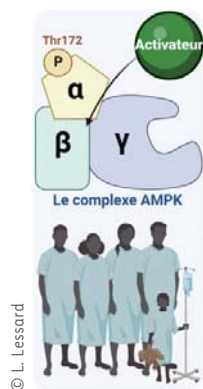


► La dystrophie myotonique de type I (DM1) est une maladie génétique responsable d'une altération multi-systémique de l'épissage alternatif. En conséquence, de nombreuses voies de signalisation cellulaires sont dérégulées. Une répression de l'AMPK (*adenosine monophosphate activated kinase*), le principal régulateur du métabolisme cellulaire, est notamment observée. Restaurer la voie de signalisation de l'AMPK pourrait permettre d'améliorer la biogenèse et la dynamique mitochondriales, les processus mitophagiques et de régulation du stress oxydatif mitochondrial, la production énergétique et, *in fine*, l'homéostasie du tissu musculaire strié squelettique dans la DM1. ◀

Altérations métaboliques dans la dystrophie myotonique de type I

Une piste thérapeutique potentielle

Lola Lessard^{1,2}, Laure Gallay^{1,3}, Rémi Mounier¹



© L. Lessard

¹Institut NeuroMyoGène, Laboratoire Physiopathologie et Génétique du Neuron et du Muscle, CNRS UMR 5261 - Inserm U1315, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

²Département des pathologies neuromusculaires, Hôpital Neurologique Pierre Wertheimer, Hospices Civils de Lyon, France

³Département de Médecine interne, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France
remi.mounier@univ-lyon1.fr

La dystrophie myotonique de type I (DM1) est la dystrophie musculaire la plus fréquente en population adulte [1]. Il s'agit d'une maladie autosomique dominante dont le spectre clinique est extrêmement varié. La forme débutant à l'âge adulte se présente classiquement par une myotonie et un déficit moteur des muscles distaux, s'associant de manière variable à des atteintes respiratoires, cardiaques, endocriniennes, ophtalmologiques et neurologiques centrales [2, 3]. Il n'existe pas de traitement curatif.

La DM1 est causée par une expansion de triplets CTG, située dans la partie non codante 3' du gène *DMPK* (*dystrophia myotonica protein kinase*). Les individus sains possèdent de 5 à 37 répétitions, lorsque les patients atteints de DM1 en ont de 50 à plus de 3 000. Cette expansion de CTG est instable sur le plan somatique et sur le plan germlinal. L'augmentation du nombre de répétitions au cours de la gamétogenèse chez le parent affecté est, dans une certaine mesure, corrélée avec l'augmentation de la sévérité clinique et la précocité de la maladie chez l'enfant atteint (phénomène d'anticipation) [3]. Les transcrits *DMPK* porteurs de l'expansion

CUG (CUG^{exp}) forment des structures anormales en « épingles à cheveux » qui s'agrègent en foci nucléaires. Ces foci altèrent la localisation et la fonction de plusieurs protéines de liaison à l'ARN, ce qui altère les mécanismes de l'épissage de centaines de transcrits [4]. De très nombreuses fonctions cellulaires et tissulaires sont perturbées par ces altérations de l'épissage : des processus de régulation du cycle cellulaire et de la sénescence, ainsi que des mécanismes autophagiques, apoptotiques, inflammatoires, du système ubiquitine-protéasome, de l'équilibre synthèse/dégradation protéique, de régulation des micro-ARN, de sensibilité à l'insuline, d'homéostasie calcique, etc. Plusieurs gènes dont l'épissage est altéré peuvent être reliés aux principales caractéristiques phénotypiques de la DM1 : *SCN5A* (canal sodique Nav1.5) et la cardiopathie, *INSR* (récepteur à l'insuline) et l'insulinorésistance/diabète, *SYN1* (synapsine 1, vésicules synaptiques) et *GLT1* (transporteur du glutamate) et l'atteinte cognitive, *CLCN1* (canal chlore) et la myotonie. Enfin, sont aussi impactés des gènes clés de la structure et de la fonction du muscle squelettique strié tels que *DMD* (dystrophine), *BIN1* (*bridging integrator 1*), *TNNT3* (troponine T3), *TTN* (titine), *RYR1* (récepteur à la ryanodine 1), etc. [4]

Altérations métaboliques cliniques et leurs conséquences sur le muscle strié squelettique

Parmi les nombreux organes et systèmes affectés dans la DM1, l'altération du métabolisme du glucose, qui peut se manifester par une intolérance au

Vignette : Le complexe AMPK, une cible thérapeutique dans la DM1. (Créée avec BioRender.com)

glucose, voire un diabète, représente une cause de morbidité non négligeable. Par ailleurs, d'autres dysfonctions endocriniennes peuvent être observées (fonctions thyroïdienne et parathyroïdienne, hypogonadisme avec insuffisance androgénique et atteinte de l'axe corticotrope) [5] et sont susceptibles d'affecter l'homéostasie du muscle strié squelettique. Or, les dysfonctions endocriniennes et les altérations musculaires sont interdépendantes. En effet, si les signaux métaboliques systémiques (hormones, facteurs de croissance, cytokines, etc.) représentent un niveau de régulation important de l'homéostasie du muscle strié squelettique, ce dernier possède également ses propres fonctions endocrines. Chez un adulte sain, le tissu musculaire squelettique représente environ 45 % du poids du corps total, et c'est un déterminant majeur du métabolisme corporel [6]. Autrement dit, les relations bidirectionnelles entre le muscle strié squelettique et les différents organes impactent le métabolisme à l'échelle du corps entier. Elles sont encore peu décrites dans le contexte de la DM1, mais représentent donc un aspect important pour la compréhension de ses mécanismes physiopathologiques.

À l'échelle cellulaire, le métabolisme est défini comme l'ensemble des réactions biochimiques qui se déroulent dans la cellule pour en assurer l'homéostasie. Cinq grandes fonctions métaboliques sont classiquement définies : la production d'énergie, la biosynthèse de macromolécules, l'élimination de ces macromolécules et d'organites, la production et l'extraction de substrats, le renouvellement des composés cellulaires. Dans la DM1, les altérations de l'épissage dérèglent de nombreuses voies de signalisation impliquées dans le métabolisme cellulaire : les voies de la « *protein kinase C* » (PKC), du « *nuclear factor-kappa B* » (NF- κ B), de la « *glycogen synthase-kinase-3 β* » (GSK3 β), du « *calcineurin-nuclear factor of activated T-cells* » (CnA-NFAT), de la « *mammalian target of rapamycin* » (mTOR), et celle de l'« *adenosine monophosphate activated kinase* » (AMPK) [7]. Plus précisément, la voie GSK3 β exerce des effets pléiotropiques tels que le contrôle des mécanismes inflammatoires, oncogéniques, neurogéniques, myogéniques et métaboliques. Son hyperactivation dans la DM1 participe notamment aux défauts myogéniques des cellules souches musculaires (CSM) [8]. La voie CnA-NFAT est une voie clé de la plasticité musculaire, régulée par le signal calcique. L'hyperactivation de cette voie dans la DM1 se traduit par une transition vers une typologie plus oxydative du muscle. Ce changement de la typologie des fibres musculaires pourrait refléter un mécanisme compensatoire. La voie mTOR régule les niveaux d'anabolisme cellulaire, la synthèse protéique et les mécanismes autophagiques. Sa dérégulation favorise l'hyperactivation autophagique délétère pour le muscle DM1 [9]. Enfin, la voie de l'AMPK, principal senseur et régulateur du métabolisme cellulaire, est réprimée dans la DM1 [4, 9, 10]. Les conséquences potentielles de cette répression de l'AMPK sur le métabolisme cellulaire dans la DM1 sont discutées dans le paragraphe suivant.

Répression du régulateur du métabolisme cellulaire AMPK dans la DM1

L'AMPK est un senseur et un régulateur métaboliques, impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que le cycle cellulaire, le

catabolisme protéique et l'autophagie, le métabolisme du glucose, la biogénèse mitochondriale, la mitophagie et la dynamique mitochondriale. L'AMPK est une sérine/thréonine kinase composée d'une sous-unité catalytique α et de deux sous-unités régulatrices β et γ , possédant de 2 à 3 isoformes chacune.

L'activation de l'AMPK dépend des niveaux énergétiques cellulaires, i.e. du ratio AMP/ATP, mais également de la phosphorylation d'AMPK α par la kinase LKB1 (*liver kinase B1*) ou par la kinase dépendante du calcium/calmoduline kinase β (CaMKK β). Lors d'un stress métabolique, la signalisation AMPK favorise les processus cataboliques pour régénérer l'ATP et inhibe les processus anaboliques consommateurs d'ATP [11]. Ainsi, l'AMPK fait le lien entre les régulations métaboliques et la myogénèse, et joue donc un rôle important dans la régénération musculaire : l'AMPK α 1 dans la régulation métabolique du renouvellement des CSM [12] et l'AMPK α 2 dans la régulation intrinsèque de l'accrétion myonucléaire (fusion myoblaste-fibre musculaire) [13].

Il s'avère que plusieurs études ont montré une répression marquée de la signalisation AMPK dans le muscle strié squelettique de souris DM1, dans un modèle de fibroblastes humains convertis en myoblastes [10], ainsi que dans des biopsies de muscle squelettique de patients [9]. Or, les mécanismes qui sous-tendent cette répression de l'AMPK dans la DM1 sont encore inconnus. Néanmoins, les activateurs pharmacologiques de l'AMPK ainsi que l'exercice physique ont induit un bénéfice non seulement sur l'histologie du muscle strié squelettique, mais également sur les anomalies d'épissage, dans plusieurs modèles de DM1 [4, 14]. La réactivation de la voie AMPK pourrait donc être bénéfique via ses multiples actions sur le métabolisme cellulaire et la production énergétique, par une amélioration des capacités myogéniques des CSM et donc de la régénération musculaire, mais aussi au travers d'un effet direct de l'AMPK sur le métabolisme des ARN. En effet, l'AMPK peut interagir et phosphoryler une protéine régulatrice de l'épissage alternatif, appelée ribonucléoprotéine nucléaire hétérogène H (hnRNP H). Cette protéine a la capacité de se lier aux CUG^{exp} et participe donc à leur rétention nucléaire toxique [4]. L'activation de l'AMPK pourrait donc diminuer les foyers de CUG^{exp} et moduler directement ce mécanisme physiopathologique à l'origine de la DM1.

Il reste encore de nombreuses zones d'ombre en ce qui concerne les mécanismes physiopathologiques de la DM1. Les conséquences des altérations de l'épissage sur le métabolisme cellulaire ne sont pas non plus caractérisées. Pourtant, plusieurs défauts métaboliques ont récemment été caractérisés dans la DM1, et toutes ces fonctions sont régulées par l'AMPK. Nous pouvons donc

émettre l'hypothèse que la répression de l'AMPK joue un rôle dans ces dérégulations métaboliques et, plus encore, espérer une restauration de ces fonctions par les activateurs de l'AMPK.

Dysfonctions mitochondriales dans la DM1

La présence de mitochondries élargies et structurellement anormales avait déjà été décrite historiquement en microscopie électronique sur des biopsies musculaires de patients atteints de DM1, mais ces anomalies structurales mitochondriales n'ont été explorées que récemment. Parmi les centaines de transcrits anormalement épissés dans la DM1, une des signatures les plus altérées est celle du renouvellement et de la dynamique mitochondriale [15, 16]. Un défaut d'expression des protéines mitochondriales ainsi qu'une altération de la balance fission/fusion ont également été décrits [16]. De plus, une diminution de la production d'ATP et de la phosphorylation oxydative, sans modification de la masse mitochondriale, a été décrite dans des fibroblastes de patients [17]. Enfin, un défaut d'épissage de l'*OPA1* (*optic atrophy type 1*) qui code une protéine de fusion mitochondriale a été rapporté dans le muscle de souris DM1, et pourrait expliquer en partie ces altérations mitochondriales. L'AMPK régulant de multiples fonctions mitochondriales, sa répression dans la DM1 représente donc un mécanisme potentiel pouvant sous-tendre ces défauts métaboliques.

À titre d'exemple, la metformine, un activateur indirect de l'AMPK et qui est un traitement approuvé du diabète de type II, a permis l'amélioration de la production d'ATP et de la respiration mitochondriale dans les fibroblastes de patients DM1 [17]. Autre exemple, l'exercice physique, qui est également un activateur de l'AMPK, a démontré un effet bénéfique sur la biogenèse, la dynamique et la respiration mitochondriales, dans des biopsies musculaires de patients [16]. Il existe donc aujourd'hui un faisceau d'arguments suggérant des altérations structurales et fonctionnelles mitochondriales dans la DM1.

Un autre volet à explorer est l'entrée du calcium dans les mitochondries, qui est un processus important pour l'homéostasie cellulaire et pour la production mitochondriale d'ATP. Il est avéré que la signalisation calcique cytoplasmique est altérée dans la DM1, mais la signalisation calcique mitochondriale n'a jamais été étudiée. Pourtant, l'expression du canal calcique mitochondrial VDAC1 (*voltage dependent anion channel 1*) est diminuée dans la DM1, et améliorée par l'exercice [18], donc potentiellement via la réactivation de l'AMPK. L'entrée de calcium à la mitochondrie est non seulement régulée par VDAC1, mais également par son partenaire, le *mitochondrial channel uniporter* (MCU), dont la fonction est régulée par l'épissage alternatif et par l'AMPK [19]. L'altération simultanée de RYR et de VDAC, voire du MCU, dans la DM1 pourrait donc expliquer le déficit énergétique mitochondrial ; un déficit qui pourrait être modulé par les activateurs de l'AMPK. En outre, la signalisation calcique mitochondriale impacte également les processus autophagiques et mitophagiques, la dynamique mitochondriale ainsi que l'insulino-résistance. Il serait donc intéressant d'étudier le rôle de l'AMPK sur cette signalisation calcique mitochondriale et ses conséquences sur le métabolisme mitochondrial en général dans la DM1.

Dysfonctions du métabolisme du glucose dans la DM1

L'altération du métabolisme du glucose dans la DM1 est multifactorielle. Il existe tout d'abord un défaut d'absorption du glucose par la cellule musculaire du fait de l'altération de l'épissage du récepteur à l'insuline et du défaut de translocation à la membrane du transporteur du glucose GLUT4 [20]. Par ailleurs, il existe des anomalies d'épissage de la pyruvate kinase musculaire (PKM), une enzyme qui convertit le produit final de la glycolyse en pyruvate et en ATP, qui pourraient participer à l'altération du métabolisme du glucose et de la production d'ATP dans la DM1. Restaurer la voie AMPK dans la DM1 pourrait donc impacter l'insulino-résistance, l'absorption du glucose, la production d'ATP directement obtenue par la glycolyse, mais également la synthèse des macromolécules nécessaires aux régulations épigénétiques du métabolisme.

Altérations auto- et mitophagiques dans la DM1

Dans la DM1, il existe également une forte activité autophagique qui participe à l'atrophie musculaire et aux défauts myogéniques [16]. Plusieurs acteurs clés des mécanismes autophagiques sont en effet dérégulés. La voie mTOR est anormalement activée. L'expression du gène FOXO-dépendant *MYTHO* (*macroautophagy and youth optimizer*) et de la sérine/thréonine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline DAPK1 est diminuée. Enfin, cette altération de l'autophagie pourrait également être favorisée par les dysrégulations des signaux calciques. Or, l'exercice physique a permis de diminuer cette hyperactivation des mécanismes autophagiques chez des modèles murins. Cet effet bénéfique de l'exercice sur l'autophagie pourrait, une fois encore, être médié par la réactivation de l'AMPK.

Les processus mitophagiques sont, quant à eux, encore peu caractérisés dans la DM1. En revanche, plusieurs études ont montré une altération de la dynamique mitochondriale en faveur d'une augmentation de la fission [16]. L'altération de l'épissage d'*OPA1*, une protéine clé de la fusion mitochondriale, mais également de MFF, le facteur de fission mitochondriale, cible de l'AMPK, pourrait être impliquée dans l'altération du métabolisme mitochondrial et avoir de nombreuses conséquences sur la fonction musculaire et les capacités de régénération musculaire dans la DM1.

Une dérégulation de la mitophagie et de la dynamique mitochondriale peut favoriser la synthèse de niveaux

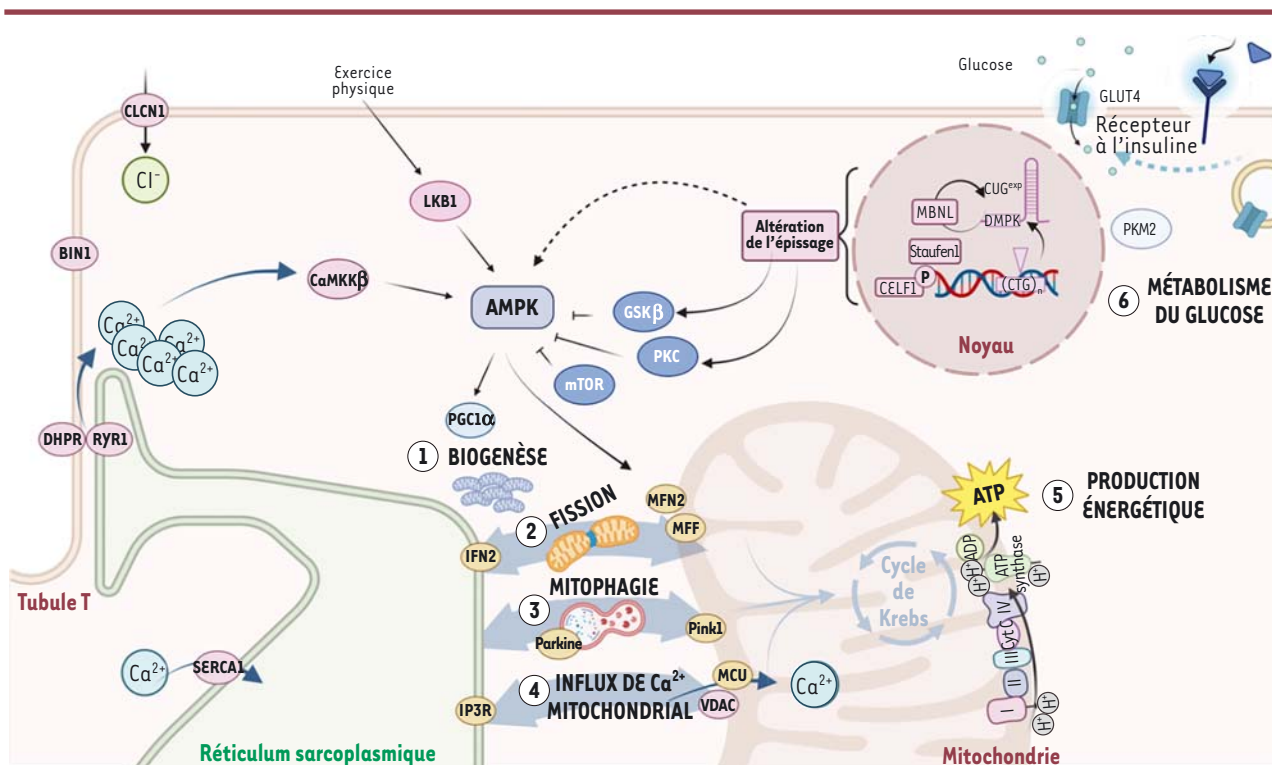


Figure 1. Pistes thérapeutiques liées aux altérations métaboliques dans la dystrophie myotonique de type I (DM1). Restaurer la voie de signalisation de l'AMPK dans les cellules musculaires DM1 pourrait permettre d'améliorer ① la biogenèse mitochondriale, ② la dynamique mitochondriale, ③ les processus mitophagiques et de régulation du stress oxydatif mitochondrial, ④ la signalisation calcique mitochondriale, ⑤ la production énergétique, ⑥ la sensibilité à l'insuline et le métabolisme du glucose.

toxiques d'espèces dérivées de l'oxygène (ROS) à l'origine du stress oxydatif et, en conséquence, altérer de nombreuses voies de signalisation. Un déséquilibre entre l'expression des gènes responsables d'un stress oxydatif et celle des gènes antioxydants a par ailleurs été mis en évidence à l'échelle transcriptomique dans la DM1. Restaurer les flux mitophagiques en activant l'AMPK pourrait donc permettre de lutter contre cet excès de stress oxydatif et prévenir ses mécanismes cytotoxiques.

« Booster » le métabolisme cellulaire dans la DM1, une approche innovante et prometteuse

Il est novateur de s'intéresser aux défauts métaboliques dans la DM1. Cette approche permet non seulement la caractérisation de la physiopathologie complexe de cette maladie, mais aussi l'identification de nouvelles stratégies thérapeutiques applicables à un large éventail de patients (Figure 1). Un arsenal thérapeutique pour activer la voie AMPK (activité physique, activateurs pharmacologiques, thérapies combinées) est déjà disponible en pratique clinique et de nouvelles molécules sont en cours de développement. Ces alternatives offrent de nouveaux espoirs à court terme pour les patients, avec des bénéfices attendus en termes d'épissage, de régénération

musculaire, de production énergétique, et donc de fonction et de plasticité musculaire. ♦

SUMMARY

Metabolic dysfunctions in type I myotonic dystrophy: A potential therapeutic target

Myotonic dystrophy type I (DM1) is a genetic disease characterized by a multisystemic RNA metabolism dysregulation and splicing toxicity. Numerous signaling pathways are deregulated, and especially AMPK, a key sensor and regulator of cellular metabolism. To restore AMPK signaling activity in DM1 muscle tissue and cells could improve mitochondrial biogenesis and dynamics, mitophagy and oxidative stress, energy production and, *in fine*, skeletal muscle tissue homeostasis. ♦

PRIX SFM

Lola Lessard a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Johnson NE, Butterfield RJ, Mayne K, et al. Population-Based Prevalence of Myotonic Dystrophy Type 1 Using Genetic Analysis of Statewide Blood Screening Program. *Neurology* 2021 ; 96 : e1045–e1053.
- Overend G, Légaré C, Mathieu J, et al. Allele length of the DMPK CTG repeat is a predictor of progressive myotonic dystrophy type 1 phenotypes. *Hum Mol Genet* 2019 ; 28 : 2245–2254.
- De Antonio M, Dogan C, Hamroun D, et al. Unravelling the myotonic dystrophy type 1 clinical spectrum: a systematic registry-based study with implications for disease classification. *Rev Neurol (Paris)* 2016 ; 172 : 572–580.
- Ravel-Chapuis A, Duchesne E, Jasmin BJ. Pharmacological and exercise-induced activation of AMPK as emerging therapies for myotonic dystrophy type 1 patients. *J Physiol* 2022 ; 600 : 3249–3264.
- Dahlqvist JR, Ørngreen MC, Witting N, Vissing J. Endocrine function over time in patients with myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 2015 ; 22 : 116–122.
- Severinsen MCK, Pedersen BK. Muscle–Organ Crosstalk: The Emerging Roles of Myokines. *Endocr Rev* 2020 ; 41 : 594–609.
- Ozinski LL, Sabater-Arcis M, Bargiela A, Artero R. The hallmarks of myotonic dystrophy type 1 muscle dysfunction. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2021 ; 96 : 716–730.
- Grande V, Hathazi D, O'Connor E, et al. Dysregulation of GSK3 β -target proteins in skin fibroblasts of Myotonic Dystrophy Type 1 (DM1) patients. *J Neuromuscul Dis* 2021 ; 8 : 603–619.
- Brockhoff M, Rion N, Chojnowska K, et al. Targeting deregulated AMPK/mTORC1 pathways improves muscle function in myotonic dystrophy type 1. *J Clin Invest* 2017 ; 127 : 549–563.
- Ravel-Chapuis A, Al-Rewashdy A, Bélanger G, et al. Pharmacological and physiological activation of AMPK improves the spliceopathy in DM1 mouse muscles. *Hum Mol Genet* 2018 ; 27 : 3361–3376.
- Steinberg GR, Hardie DG. New insights into activation and function of the AMPK. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2023 ; 24 : 255–272.
- Theret M, Gsaier L, Schaffer B, et al. AMPK α 1-LDH pathway regulates muscle stem cell self-renewal by controlling metabolic homeostasis. *EMBO J* 2017 ; 36 : 1946–1962.
- Kneppers A, Ben Larbi S, Theret M, et al. AMPK α 2 is a skeletal muscle stem cell intrinsic regulator of myonuclear accretion. *iScience* 2023 ; 26 : 108343.
- Misquitta NS, Ravel-Chapuis A, Jasmin BJ. Combinatorial treatment with exercise and AICAR potentiates the rescue of myotonic dystrophy type 1 mouse muscles in a sex-specific manner. *Hum Mol Genet* 2023 ; 32 : 551–566.
- Todorow V, Hintze S, Kerr ARW, et al. Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation model for myotonic dystrophy type 1. *Int J Mol Sci* 2021 ; 22 : 8607.
- Mikhail AI, Manta A, Ng SY, et al. A single dose of exercise stimulates skeletal muscle mitochondrial plasticity in myotonic dystrophy type 1. *Acta Physiol (Oxf)* 2023 ; 237 (4) : e13943.
- García-Puga M, Saenz-Antoñanzas A, Fernández-Torrón R, et al. Myotonic Dystrophy type 1 cells display impaired metabolism and mitochondrial dysfunction that are reversed by metformin. *Aging (Albany NY)* 2020 ; 12 : 6260–6275.
- Di Leo V, Lawless C, Roussel MP, et al. Resistance exercise training rescues mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of patients with myotonic dystrophy type 1. *J Neuromuscul Dis* 2023 ; 10 : 1111–1126.
- Zhao H, Li T, Wang K, et al. AMPK-mediated activation of MCU stimulates mitochondrial Ca²⁺ entry to promote mitotic progression. *Nat Cell Biol* 2019 ; 21 : 476–486.
- Renna LV, Bosè F, Brignonzi E, et al. Aberrant insulin receptor expression is associated with insulin resistance and skeletal muscle atrophy in myotonic dystrophies. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0214254.

TIRÉS À PART
L. Lessard

SAVE THE DATE

WINTER SCHOOL

Mitochondria in health, disease and aging (2024)

This Winter School combines research and education with experts in mitochondrial diseases, fostering discussions on mitochondrial functions and dysfunctions.

16–20 DECEMBER

09:30 AM – 11:30 AM

Grand Château, av Valrose, Nice, France

FOR REGISTRATION & FURTHER INFORMATION:

forms.office.com/e/LDgyW5PZjx

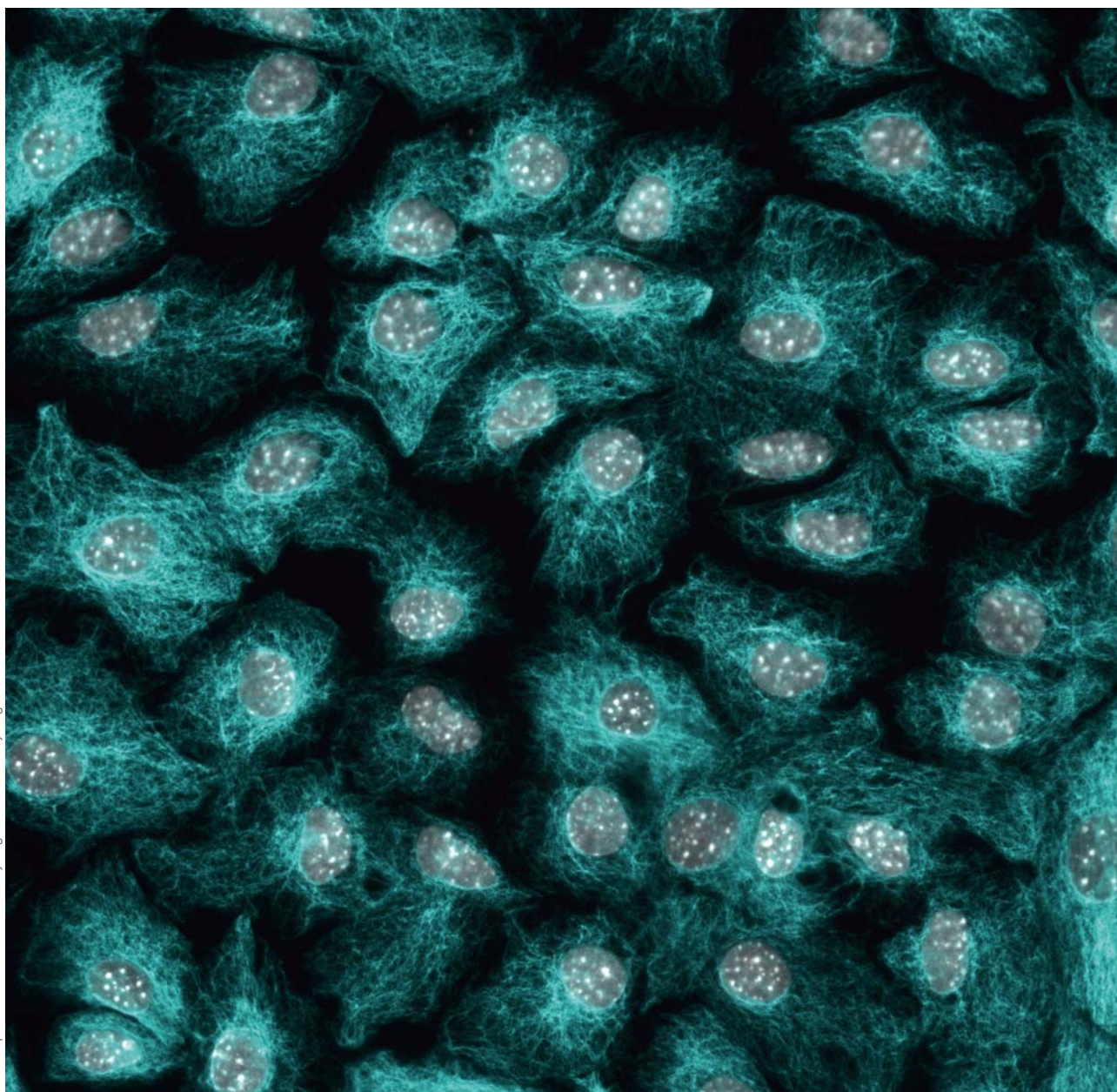
life.univ-cotedazur.fr

Invasion de méduses sur la côte bauloise (Myolmage)

SFM



PRIX



© G. Diop/Centre de recherche en myologie/Institut de Myologie

Marquage de la vimentine (cyan) et des noyaux cellulaires (gris) dans un modèle cellulaire de dystrophie myotonique de type 1 (DM1). Avec cette photo, Guillaume Diop a reçu le deuxième prix Myolmage lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

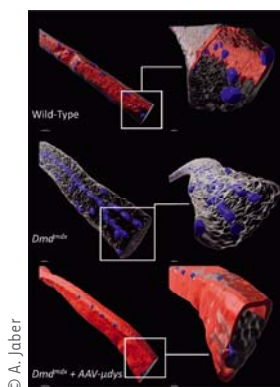
Jellyfish invasion on the coast of La Baule (Myolmage)

> La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie musculaire génétique dégénérative sévère affectant principalement les jeunes garçons, caractérisée par une altération significative ou une absence d'expression de la dystrophine. Des avancées significatives ont été réalisées dans la compréhension et le traitement de la DMD, notamment avec l'autorisation récente de la première thérapie génique utilisant un vecteur adéno-associé recombinant (AAVr) pour délivrer une forme raccourcie de la dystrophine (microdystrophine). Malgré ces progrès, des défis majeurs persistent pour améliorer les résultats thérapeutiques. L'utilisation des vecteurs AAVr est entravée par des limitations majeures, notamment les risques d'immunotoxicité et d'hépatotoxicité associés aux hautes doses injectées. De plus, la microdystrophine présente des limites fonctionnelles intrinsèques ainsi que des risques immunologiques. Cet article examine ces défis et explore les perspectives d'amélioration de la thérapie génique pour la DMD. <

La microdystrophine pour le traitement de la dystrophie musculaire de Duchenne

Avancées, défis et voies d'amélioration

Abbass Jaber^{1,2}, Laura Palmieri^{1,2},
Evelyne Gicquel^{1,2}, Isabelle Richard^{1,2},
David Israeli^{1,2}



¹Genethon, 91000 Evry, France

²Université Paris-Saclay, Université Évre, Inserm, Génethon, Integrare research unit UMR_S951, 91000 Évre-Courcouronnes, France

ajaber@genethon.fr

perturbation déclenche une série de mécanismes pathologiques, notamment une perte de l'homéostasie calcique, un stress oxydatif, un dysfonctionnement mitochondrial, une inflammation chronique, une transformation fibro-adipocytaire et, enfin, une perte de la fonction mécanique musculaire [2].

Traitements de la DMD, où est-on ?

La prise en charge de la DMD nécessite une approche multidisciplinaire précoce, prenant en compte les manifestations musculaires (muscles squelettique et cardiaque) ainsi que les aspects extra-musculaires de la maladie, dans le but de ralentir sa progression et d'améliorer la qualité de vie des patients. Actuellement, le traitement par glucocorticoïdes (deflazacort, prednisone et vamorolone) est recommandé précocement [3], ayant montré une amélioration significative de la fonction motrice et un retard de la perte de l'ambulation [4]. En parallèle, différentes stratégies thérapeutiques sont explorées pour restaurer une forme fonctionnelle de la dystrophine. Bien que des oligonucléotides antisens qui permettent de restaurer le cadre de lecture des transcrits de la dystrophine [5] aient été approuvés pour certaines mutations, leur efficacité reste limitée avec un taux de restauration

Introduction

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie musculaire liée au chromosome X et due à l'absence ou au dysfonctionnement de la dystrophine, une protéine encodée par le gène *DMD*. Elle affecte environ 1/5 000 garçons [1] et elle est considérée comme la dystrophie musculaire la plus fréquente chez l'enfant. La perte de la dystrophine dans le muscle entraîne une déstabilisation du complexe glycoprotéique associé à la dystrophine (DAGC pour *Dystrophin-associated glycoprotein complex*), qui relie le cytosquelette à la matrice extracellulaire. Cette

Vignette : Images 3D reconstruites de myofibres isolées provenant de muscles de souris de type sauvage (*Wild-Type*) et de souris dystrophiques (*Dmdmdx*). La couleur rouge indique l'immunomarquage de la dystrophine chez la souris sauvage ou de la microdystrophine chez la souris traitée avec la thérapie génique.

de la dystrophine relativement bas (~ 1,74 % pour le *casimersen* par exemple) et des améliorations fonctionnelles modestes [6].

L'approche la plus prometteuse à ce jour, visant théoriquement tous les patients atteints de DMD, consiste à apporter une version raccourcie de la dystrophine – aussi appelée microdystrophine – à l'aide d'un vecteur adéno-associé recombinant (AAVr pour *adeno-associated virus recombinant*). En effet, le cadre de lecture ouvert de l'ARNm du gène *DMD* est long d'environ 11,5 kb, ce qui dépasse largement la capacité d'encapsulation des AAVr. Pour contourner cette limitation, différentes microdystrophines ont été conçues en conservant des domaines essentiels de la dystrophine [7,8]. Cette stratégie s'appuie notamment sur des observations faites chez des patients atteints de la dystrophie musculaire de Becker (BMD), une forme allélique de la DMD, chez lesquels l'expression de formes courtes de dystrophine semble atténuer la sévérité du phénotype [9].

Plusieurs essais cliniques sont en cours, sponsorisés par différentes entreprises pharmaceutiques, notamment Sarepta Therapeutics, Pfizer, Solid Biosciences et Regeneron aux États-Unis, ainsi que Génethon en Europe. Chaque essai utilise une construction de microdystrophine légèrement différente (Figure 1C). Bien que le médicament développé par Sarepta Therapeutics (*Elevidys*) ait obtenu une autorisation accélérée de commercialisation de la FDA (*Food and drug administration*) en juin 2023, pour les patients âgés de 4 à 5 ans, des débats persistent quant à son efficacité, notamment concernant les améliorations fonctionnelles chez les patients pour lesquels les objectifs fixés n'ont pas été atteints [10, 11].

Ci-après, nous explorons les défis majeurs de la thérapie génique par transfert de la microdystrophine, ainsi que les voies potentielles d'amélioration.

Obstacles et défis pour une thérapie réussie

Le traitement des maladies musculaires par thérapie génique utilisant des vecteurs AAVr se fait principalement par voie systémique, avec pour objectif de cibler le muscle squelettique qui représente environ 40 % de la masse corporelle. Cependant, cette approche requiert l'administration de doses très élevées de vecteurs (souvent $\geq 10^{14}$ vg/kg pour la DMD), afin d'atteindre une efficacité thérapeutique significative [12]. Elle soulève plusieurs problèmes, celui du risque potentiel d'hépatotoxicité dû au tropisme naturel des AAVr pour le foie, mais également le défi industriel du coût et de la production à grande échelle de ces vecteurs. Par ailleurs, l'efficacité de la microdystrophine est limitée, car il lui manque certains domaines fonctionnels de la dystrophine. Enfin, des réponses immunitaires dirigées contre les vecteurs AAVr ainsi que contre certains épitopes de la microdystrophine représentent un obstacle supplémentaire à surmonter.

Dystrophine versus microdystrophine

L'isoforme musculaire de la dystrophine (Dp427m) se compose de multiples domaines de liaison qui lui confèrent la capacité d'établir une connexion mécanique cruciale entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette, ainsi que des interactions avec les protéines du

DAGC (Figure 1A-B). Cette fonction est essentielle pour protéger le muscle contre le stress mécanique lors de la contraction.

Outre son rôle mécanique, la dystrophine interagit avec diverses protéines impliquées dans des voies de signalisation critiques. Par exemple, les spectrines R16 et R17 contiennent le site de liaison à nNOS (pour *neuronal Nitric oxide synthase*), nécessaire à la localisation précise de nNOS au niveau du sarcolemme [13]. Une localisation correcte permet à nNOS d'exercer une fonction de signalisation paracrine en diffusant l'oxyde nitrique vers les vaisseaux sanguins, favorisant ainsi la vasodilatation dans les muscles contractiles.

Le domaine riche en cystéine (CR pour *Cysteine-rich*) interagit avec la calmoduline, jouant un rôle crucial dans les voies de signalisation du calcium. Le domaine C-terminal (CT) possède un site de liaison direct au sarcolemme et interagit avec la dystrobrevine et la syntrophine. L' α -syntrophine, en particulier, joue un rôle majeur dans la signalisation, en se liant à plusieurs canaux ioniques (tels que les canaux de sodium Na1.4 et Na1.5, de potassium Kiv2, Kiv4.1 et de calcium *transient receptor potential* C1 et C4), et sert également d'ancrage pour la nNOS en association avec la dystrophine [14].

Depuis la génération des premières constructions réduites de dystrophine en 1995 [15,16], plus de 30 configurations de microdystrophines ont été publiées. Plusieurs optimisations ont été faites au fur et à mesure de la caractérisation des domaines de liaisons de la dystrophine et des fonctions assurées par chaque domaine. Cependant, la capacité d'encapsulation limitée des vecteurs AAVr oblige à ne conserver que les parties les plus essentielles de la dystrophine. La plupart des conceptions de microdystrophines incluent le domaine de liaison à l'actine, responsable de l'ancrage au cytosquelette, ainsi que le domaine riche en cystéine, essentiel pour l'interaction avec la β -dystroglycane et, par conséquent, le DAGC (Figure 1C-D).

Cependant, les résultats prometteurs observés dans les études précliniques avec les microdystrophines n'ont pas été reproduits dans les essais cliniques. Une telle disparité soulève des interrogations sur l'importance des domaines absents dans les microdystrophines. En effet, ces constructions peuvent manquer de domaines d'interaction cruciaux, tels que le domaine central *rod* et le domaine C-terminal. Cela suggère que l'expression d'une dystrophine de taille plus importante pourrait être nécessaire pour obtenir une correction plus complète du phénotype.

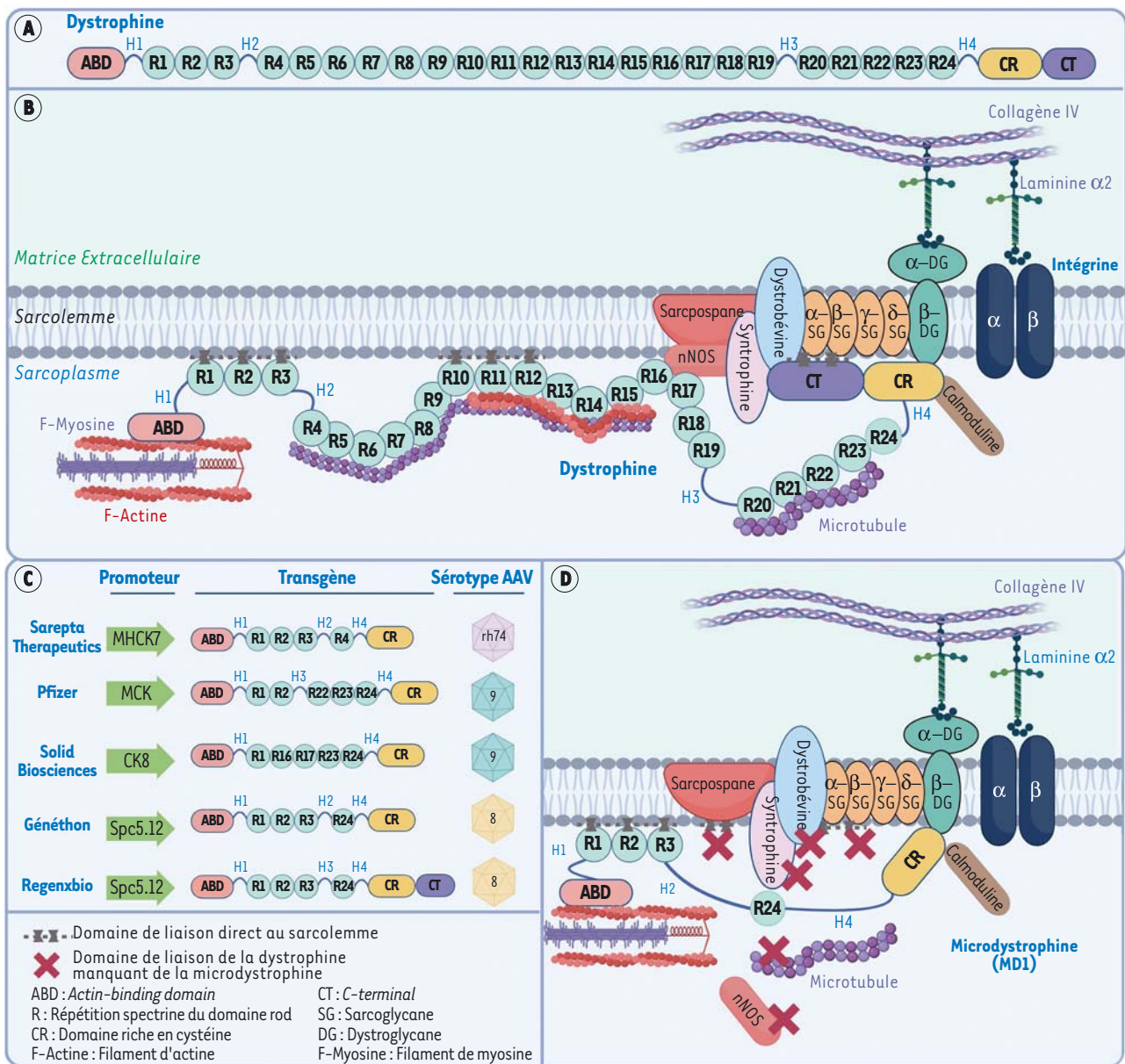


Figure 1. La dystrophine et les constructions de microdystrophine en expérimentation clinique. **A.** Séquence protéique complète de la dystrophine. Elle peut être divisée en 4 domaines principaux : le domaine en N-terminal qui se lie aux filaments d'actine (ABD pour Actin-binding domain), encodé par les exons 1 à 8 ; le domaine rod (R) encodé par les exons 8 à 64, ce domaine est lui-même divisé en 24 répétitions de type spectrine et 4 charnières (hinge) entrecoupées ; le domaine riche en cystéine (CR) encodé par les exons 64 à 70 ; le domaine C-terminal encodé par les exons 71 à 79. **B.** Localisation de la dystrophine et de ses domaines de liaison. **C.** Produits de thérapie génique par transfert de microdystrophine. Cinq produits avec des constructions différentes sont actuellement en essais cliniques. Les promoteurs utilisés dans ces constructions (en vert) sont spécifiques du muscle et du cœur. Le choix du sérotype d'AAV repose également sur le tropisme tissulaire, les sérotypes sélectionnés ciblant particulièrement le muscle et le cœur. Le transgène de toute construction contient les séquences codantes pour les domaines considérés biologiquement pertinents et fonctionnels. La microdystrophine de Regenxbio inclut en plus les éléments fonctionnels du domaine C-terminal (CT). **D.** Localisation de la microdystrophine MD1 et ses domaines de liaison. La microdystrophine MD1, utilisée par Sarepta et Généthon, lie les filaments d'actine au complexe glycoprotéique associé à la dystrophine. Plusieurs domaines de liaison au sarcolemme et aux microtubules manquent, ainsi que le domaine de liaison à la neuronal nitric oxide synthase (nNOS), à la syntrophine et à la dystrobrevine. (Figures créées avec Biorender.com.)

AAVr et réponse immunitaire contre la capsid

L'une des limites majeures à la thérapie génique utilisant des vecteurs AAVr réside dans la réponse immunitaire dirigée contre la capsid virale. En effet, l'immunogénicité des AAVr pourrait venir d'une réponse immunitaire préexistante contre la capsid. Il est estimé que près de 80 % de la population humaine est séropositive aux AAV [17]. Une réponse humorale médiée par des anticorps anti-capsides peut donc survenir chez les patients, tout comme une réponse cytotoxique médiée par les lymphocytes T CD8+. Généralement, tous les patients participant aux essais cliniques sont soumis à un examen préalable pour détecter une éventuelle réponse humorale et sont traités par de fortes doses de glucocorticoïdes afin de contrer la réaction immunitaire contre les capsides virales. Les patients présentant des anticorps neutralisants dirigés contre les AAVr sont exclus de ces études, ce qui restreint le nombre de patients éligibles aux traitements.

De plus, des réponses immunitaires peuvent également survenir après injection, avec notamment des réactions sévères se manifestant par une microangiopathie thrombotique ou une insuffisance rénale aiguë liées à l'activation de la voie du complément. Une réaction immunitaire innée peut s'installer directement après l'injection, par reconnaissance de motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (qui peuvent être des composants protéiques de la capsid, du contenu en ADN des rAAV ou encore des contaminants de protéines ou d'ADN dans le lot d'AAVr). Une réponse immunitaire adaptative peut également se mettre en place, avec une activation des lymphocytes B et T, limitant l'efficacité de la transduction. La génération de lymphocytes B et T mémoires empêchera en outre la possibilité de réinjection dans le futur avec le même vecteur.

Transgènes et immunogénicité

En plus de la réponse immunitaire dirigée contre les capsides des AAVr, il est désormais reconnu que des réactions immunitaires peuvent également se produire contre le transgène chez certains patients. Récemment, une collaboration entre les quatre entreprises menant les essais cliniques a permis de mieux comprendre les effets graves observés chez certains malades traités avec une microdystrophine.

En effet, il a été constaté que certains épitopes présents dans les constructions de la microdystrophine (notamment ceux encodés par les exons 8 à 11) pourraient déclencher une réponse immunitaire cytotoxique dirigée contre le non-soi, chez les patients présentant des délétions dans les exons codant pour ces épitopes (les effets graves sont observés chez les patients ayant des délétions de l'exon 8 à l'exon 21) [18].

Cette meilleure compréhension de la réponse immunitaire contre le transgène ouvre la voie à des mesures plus ciblées pour éviter les effets indésirables et à l'exclusion de patients présentant des mutations spécifiques. À titre d'exemple, dans le cas de l'autorisation délivrée par la FDA à Sarepta Therapeutics, les malades ayant des délétions des exons 8 et/ou 9 ont été exclus. Cependant, il reste nécessaire de mener des études immunologiques plus approfondies sur les épitopes des microdystrophines et de mieux prédire le risque immunologique chez les patients présentant des délétions génomiques dans ces régions.

Perspectives d'amélioration

De nombreux efforts ont été récemment consacrés pour optimiser les vecteurs AAVr pour la thérapie génique dans le muscle. Dans le but de mieux cibler les muscles et d'éviter le transfert vers d'autres tissus tels que le foie, notre laboratoire et d'autres équipes ont développé plusieurs capsides hybrides myotropiques [19,20]. Ces capsides hybrides sont conçues pour réduire la quantité de vecteurs nécessaire pour une transduction musculaire efficace, minimisant ainsi les risques d'immunotoxicité et d'hépatotoxicité. Bien que ces nouveaux vecteurs soient encore en phase de développement et d'études précliniques, leur progression vers les essais cliniques offrira l'opportunité non seulement d'améliorer l'efficacité de la thérapie génique pour les maladies musculaires, mais également d'en renforcer la sécurité.

Actuellement, le traitement par microdystrophine intervient à un stade où la dystrophie est déjà installée, avec une fibrose musculaire significative. Cette approche est confrontée à la complexité d'inverser tous les mécanismes pathologiques, d'autant plus que la microdystrophine ne pourra pas remplacer entièrement la fonction de la dystrophine et ne sera pas exprimée dans toutes les fibres musculaires, comme l'ont démontré les résultats cliniques à ce jour. En outre, de récentes recherches menées dans notre laboratoire ont révélé que même en parvenant à exprimer la microdystrophine dans près de 100 % des fibres musculaires chez des souris dystrophiques, le profil transcriptomique n'est pas complètement restauré [20], suggérant que la microdystrophine en elle-même ne serait pas suffisante pour rétablir tous les mécanismes moléculaires perturbés dans le muscle dystrophique.

Amélioration des constructions de microdystrophine/dystrophine

La thérapie génique utilisant la microdystrophine ne peut qu'atténuer la maladie qui évoluera théoriquement vers une dystrophie musculaire de Becker, de forme moins sévère, mais toujours invalidante. Un des défis majeurs est donc de pouvoir délivrer une version plus longue que la microdystrophine. Pour cela, une approche avec plusieurs vecteurs AAVr contenant chacun un fragment du gène *DMD* peut être utilisée. Une reconstitution du gène thérapeutique complet est possible lorsque les vecteurs infectent simultanément la même myofibre (Figure 2A). Différents mécanismes de reconstitution peuvent être utilisés en fonction de la séquence du gène, notamment le trans-épissage de l'ADN, la recombinaison homologue (RH) et le trans-épissage des protéines. Des études ont établi la preuve du principe du transfert de formes plus longues de

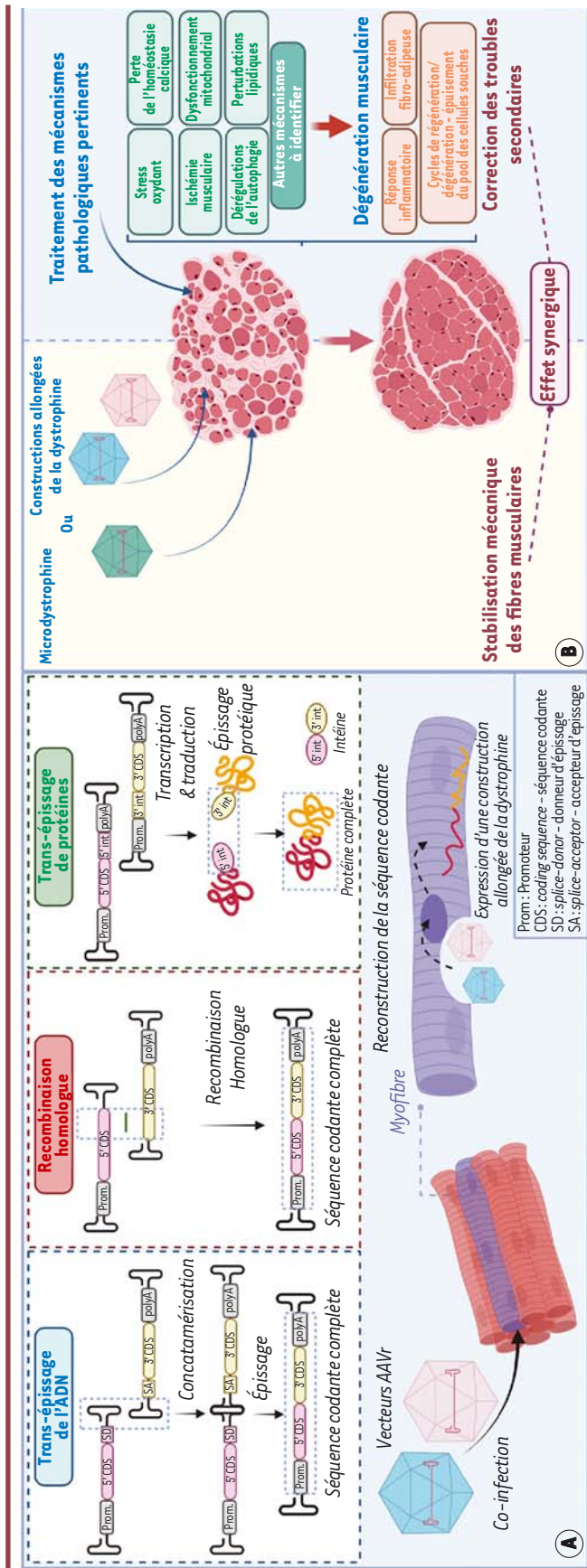


Figure 2. Perspectives d'amélioration de la thérapie génique pour la DMD. **A.** Stratégies d'expression de constructions plus longues que la microdystrophine, utilisant plusieurs vecteurs AAVr. **B.** Principe de la thérapie combinée pour le traitement de la DMD. La thérapie génique serait combinée à une correction complémentaire des mécanismes physiopathologiques dans le muscle dystrophique. (Figures créées avec Biorender.com)

dystrophine par trans-épissage de l'ADN [21] et par RH [22] chez des souris modèles de la DMD. Cependant, ces approches ont montré une efficacité limitée de reconstitution du transgène et nécessitent donc des doses plus élevées d'AAVr. L'approche par trans-épissage de protéines en utilisant le système des intéines scindées (*split-inteins*) représente une piste intéressante pour la DMD : ce sont deux polypeptides dont le processus post-traductionnel permet de fusionner deux protéines en une seule protéine fonctionnelle. Cette approche fait l'objet de premiers travaux [23] montrant une efficacité chez des souris modèles de DMD jeunes et âgées. Le principal facteur limitant de ces approches est la nécessité de doses encore plus élevées pour obtenir une efficacité thérapeutique. C'est pourquoi il est essentiel d'atteindre la plus grande efficacité de reconstitution possible et de tester ces approches avec des vecteurs myotropiques plus efficaces.

Vers des thérapies combinées

La DMD est une maladie complexe, caractérisée non seulement par une déstabilisation mécanique des fibres musculaires, mais aussi par une dérégulation de plusieurs voies physiologiques et métaboliques du muscle. Beaucoup d'efforts ont été consacrés, ces 25 dernières années, au développement d'une thérapie génique pour la DMD, et un moindre intérêt a été donné à l'étude des mécanismes pathologiques secondaires de la maladie. Or, certains d'entre eux ne seront pas corrigés par le transfert de la microdystrophine, il est donc intéressant de les étudier plus profondément et de les cibler dans le cadre de thérapies combinées (Figure 2B). Cela permettra de réduire les doses nécessaires en AAVr pour obtenir un effet thérapeutique significatif, tout en améliorant la correction moléculaire de la dystrophie. Certaines approches thérapeutiques ont déjà été envisagées, notamment celles visant à réduire la dégénérescence musculaire et à stimuler la régénération (par activation du facteur *Insuline-like growth factor 1* – IGF-1 par exemple) [24], ou encore à atténuer la fibrose [25]. Toutefois, il faut encore approfondir notre compréhension des mécanismes pathologiques secondaires de la DMD, déterminer quel mécanisme présente le plus d'intérêt à cibler dans le contexte de la DMD, et évaluer à quel point un tel traitement complémentaire pourrait agir de manière synergique avec la microdystrophine.

Conclusion

Malgré les progrès significatifs réalisés dans le traitement de la DMD depuis l'identification du gène en cause jusqu'à l'autorisation de la première thérapie génique basée sur le transfert de la microdystrophine, un vaste champ d'améliorations reste à explorer. Les premières évaluations issues des essais cliniques soulignent le besoin de résultats thérapeutiques plus efficaces pour les patients. Bien que la théorie prédominante mettant en avant le rôle central de la déstabilisation mécanique des myofibres squelettiques dans la pathologie de la DMD soit convaincante, une exploration plus approfondie d'autres mécanismes physiopathologiques au sein du muscle est justifiée. Une meilleure compréhension de la cascade pathologique entre la déstabilisation du DAGC et la dégénérescence musculaire pourrait ouvrir la voie au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, venant en complément des approches de thérapie génique existantes. Des efforts substantiels sont actuellement déployés pour relever les défis technologiques et immunologiques associés aux thérapies géniques utilisant des vecteurs AAVr. Parallèlement, les progrès réalisés dans le développement de la microdystrophine et des constructions allongées de la dystrophine incomplète offrent des perspectives prometteuses pour améliorer les résultats thérapeutiques chez les patients atteints de DMD. ♦

SUMMARY

Advances and Challenges in Microdystrophin gene therapy for Duchenne Muscular Dystrophy: progress and future directions

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a severe degenerative genetic muscle disease affecting mainly young boys, characterized by a significant alteration or absence of dystrophin expression. Significant strides have been made in comprehending and treating DMD, particularly with the recent approval of the first gene therapy using a recombinant adeno-associated vector (rAAV) to deliver a shortened form of dystrophin (microdystrophin). Nevertheless, major challenges remain in improving therapeutic outcomes. The use of rAAV vectors is hindered by major limitations, notably the risks of immunotoxicity and hepatotoxicity, linked to high-dose administration. Additionally, microdystrophin exhibits inherent functional limitations and immunological risks. This article examines these challenges and explores the avenues for enhancing gene therapy for DMD. ♦

PRIX SFM

Abbass Jaber a reçu le prix de la Meilleure communication orale lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

LIENS D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Duan D, Goemans N, Takeda S, et al. Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers* 2021 ; 7 (1) : 13.
2. Allen DG, Whitehead NP, Froehner SC. Absence of Dystrophin Disrupts Skeletal Muscle Signaling: Roles of Ca²⁺, Reactive Oxygen Species, and Nitric Oxide in the Development of Muscular Dystrophy. *Physiol Rev* 2016 ; 96 : 253-305.
3. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. *Lancet Neurol* 2018 ; 17 (3) : 251-267.
4. Schreiber A, Brochard S, Rippert P, et al. Corticosteroids in Duchenne muscular dystrophy: impact on the motor function measure sensitivity to change and implications for clinical trials. *Dev Med Child Neurol* 2018 ; 60 (2) : 185-191.
5. Wilton-Clark H, Yokota T. Recent Trends in Antisense Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy. *Pharmaceutics* 2023 ; 15 : 778.
6. Iannaccone S, Phan H, Straub V, et al. P132 Casimersen in patients with Duchenne muscular dystrophy amenable to exon 45 skipping: Interim results from the Phase 3 ESSENCE trial. *Neuromuscul Disord* 2022 ; 32 Suppl 1 : S102.
7. Scott JM, Li S, Harper SQ, et al. Viral vectors for gene transfer of micro-, mini-, or full-length dystrophin. *Neuromuscular Disorders* 2002 ; 12 Suppl 1 : S23-S29.
8. Le Guiner C, Servais L, Montus M, et al. Long-term microdystrophin gene therapy is effective in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 16105.
9. Davies KE, Vogt J. Long-term clinical follow-up of a family with Becker muscular dystrophy associated with a large deletion in the DMD gene. *Neuromuscul Disord* 2024 ; 39 : 5-9.
10. Mullard A. FDA approves first gene therapy for Duchenne muscular dystrophy, despite internal objections. *Nat Rev Drug Discov* 2023 ; 22 (8) : 610-610.
11. Rind DM. The FDA and Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *JAMA* 2024 ; 331 (20) : 1705-1706.
12. Birch SM, Lawlor MW, Conlon TJ, et al. Assessment of systemic AAV-microdystrophin gene therapy in the GRMD model of Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med* 2023 ; 15 (677) : eab01815.
13. Lai Y, Thomas GD, Yue Y, et al. Dystrophins carrying spectrin-like repeats 16 and 17 anchor nNOS to the sarcolemma and enhance exercise performance in a mouse model of muscular dystrophy. *J Clin Invest* 2009 ; 119 (3) : 624-635.
14. Constantin B. Dystrophin complex functions as a scaffold for signalling proteins. *Biochim Biophys Acta* 2014 ; 1838 (2) : 635-642.
15. Phelps SF, Hauser MA, Cole NM, et al. Expression of full-length and truncated dystrophin mini-genes in transgenic mdx mice. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 (8) : 1251-1258.
16. Wells DJ, Wells KE, Asante EA, et al. Expression of human full-length and minidystrophin in transgenic mdx mice: implications for gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 (8) : 1245-1250.
17. Calcedo R, Vandenberghe LH, Gao G, et al. Worldwide Epidemiology of Neutralizing Antibodies to Adeno-Associated Viruses. *J Infect Dis* 2009 ; 199 (3) : 381-390.
18. Bönemann CG, Belluscio BA, Braun S, et al. Dystrophin Immunity after Gene Therapy for Duchenne's Muscular Dystrophy. *N Engl J Med* 2023 ; 388 (24) : 2294-2296.
19. Tabebordbar M, Lagerborg KA, Stanton A, et al. Directed evolution of a family of AAV capsid variants enabling potent muscle-directed gene delivery across species. *Cell* 2021 ; 184 (19) : 4919-4938.e22.
20. Hong AV, Suel L, Poupiot J, et al. An integrin-targeting AAV developed using a novel computational rational design methodology presents improved targeting of the skeletal muscle and reduced liver tropism. *Preprint Hal-04310212* 2023.
21. Lai Y, Yue Y, Liu M, et al. Efficient in vivo gene expression by trans-splicing adeno-associated viral vectors. *Nat Biotechnol* 2005 ; 23 (11) : 1435-1439.
22. Albini S, Palmieri L, Dubois A, et al. Assessment of Therapeutic Potential of a Dual AAV Approach for Duchenne Muscular Dystrophy. *Int J Mol Sci* 2023 ; 24 (14) : 11421.
23. Tasfaout H, Halbert CL, McMillen TS, et al. Split intein-mediated protein trans-splicing to express large dystrophins. *Nature* 2024 ; 632 (8023) : 192-200.
24. Abmayr S, Gregorevic P, Allen JM, et al. Phenotypic Improvement of Dystrophic Muscles by rAAV/Microdystrophin Vectors Is Augmented by Igfl Codelivery. *Mol Ther* 2005 ; 12 (3) : 441-450.
25. Heller KN, Mendell JT, Mendell JR, et al. MicroRNA-29 overexpression by adeno-associated virus suppresses fibrosis and restores muscle function in combination with micro-dystrophin. *JCI Insight* 2017 ; 2 (9)

TIRÉS À PART
A. Jaber

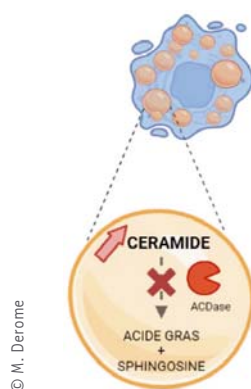
► La maladie de Farber et l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive sont deux maladies de surcharge lysosomale ultra-rares, liées à des mutations du gène *ASAH1* codant la céramidase acide (ACDase). Le déficit en ACDase conduit à une accumulation intracellulaire de céramides associée à une réponse inflammatoire tissulaire. Ces deux maladies se manifestent de manière différente, mais font partie d'un continuum clinique de sévérité variable touchant le système nerveux et/ou les tissus périphériques, y compris le système neuromusculaire. À ce jour, il n'y a pas de traitement spécifique ou curatif disponible pour les patients atteints du déficit en ACDase. Ici, nous résumons les caractéristiques cliniques, la fonction de l'enzyme, les modèles murins et les perspectives thérapeutiques pour ces maladies. ◀

Introduction

La maladie de Farber (FD pour *Farber disease*), appelée aussi lipogranulomatose de Farber [1], et l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive (SMA-PME pour *Spinal muscular atrophy with progressive myoclonic epilepsy*) [2, 3] sont des maladies génétiques de transmission autosomique récessive, liées à des mutations dans le gène *ASAH1* localisé sur le chromosome 8 (8p21.3-22), avec une prévalence de moins de 1/1 000 000 d'individus [4]. Plus de 70 variations pathogènes ont été identifiées à ce jour dans le gène *ASAH1* codant pour une enzyme lysosomale, la N-acylsphingosine amidohydrolase 1 ou céramidase acide (ACDase) [5]. Cette enzyme clive les céramides, des lipides bioactifs de la famille des sphingolipides, libérant une sphingosine et un acide gras par molécule. La protéine est un hétérodimère de 53 kDa avec une sous-unité α (13 kDa) et une sous-unité β (40 kDa). La sous-unité β présente six sites de glycosylation tandis que la sous-unité α n'en possède aucun. L'enzyme est active

Perspectives thérapeutiques pour les maladies lysosomales dues au déficit en céramidase acide

Marion Derome^{1,2}, Jérôme Denard^{1,2},
Martina Marinello^{1,2}, Thierry Levade^{3,4},
Odile Boespflug-Tanguy⁵, Ana Buj-Bello^{1,2}



© M. Derome

¹Généthon, Évry, France

²Université Paris-Saclay, Univ Évry, Inserm, Généthon, Integrare research unit UMR_S951, Évry, France

³Unité mixte de recherche Inserm 1037, CNRS 5071, Université Toulouse III-Paul Sabatier, Centre de recherches en cancérologie de Toulouse (CRCT), Toulouse, France

⁴Laboratoire de biochimie, Institut fédératif de biologie, CHU Purpan, Toulouse, France

⁵Université Paris Cité, Inserm, UMR 1141 NeuroDiderot, Paris, France ; AP-HP, Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré et Hôpital Trousseau, Paris, France
mderome@genethon.fr

sous forme d'un hétérodimère [6, 7]. Chez les patients, les mutations sont bi-alléliques et peuvent être localisées dans la région du gène codant pour les sous-unités α et/ou β , sans qu'il y ait une corrélation génotype-phénotype, même si une légère tendance à l'association de variants de la sous-unité α -SMA-PME et de variants β -FD ait été décrite [4]. Les variations sont généralement des faux-sens et entraînent une forte diminution ou une perte de la fonction enzymatique, conduisant à une accumulation de céramides dans les lysosomes. L'augmentation des taux de céramides s'accompagne d'une inflammation tissulaire.

Un large spectre de manifestations cliniques liées à des mutations dans un seul gène

Ces 70 dernières années, un peu plus de 200 patients ont été décrits comme étant atteints d'un déficit en ACDase, la majorité d'entre eux présentant le phénotype « classique » de la maladie de Farber [4]. Les trois signes pathognomoniques de cette dernière sont la présence de nodules sous-cutanés, d'une arthrite (articulation douloureuse) et d'une voix rauque (nodules sur le larynx), très inflammatoires du fait de l'accumulation des céramides. Cinq types ou formes cliniques de

FD liés à un déficit en ACDase ont été décrits avec des manifestations et pronostiques variables selon l'atteinte des tissus. Le type 1 est la forme classique et la plus fréquente de la maladie. Outre la triade citée précédemment, l'existence d'une surcharge multiviscérale avec atteintes pulmonaire et neurologique inflammatoires en fait toute la gravité conduisant au décès des patients vers l'âge de 2-3 ans. Les patients atteints des types 2 et 3 ont une atteinte neurologique plus légère, avec une survie jusqu'à l'adolescence [8]. Le type 4 est une forme néonatale sévère de la maladie. Ces patients présentent une hépatosplénomégalie entraînant le décès dans les premiers mois de vie. Le type 5 se traduit par un déclin neurologique progressif avec un déficit intellectuel, une perte du langage et des crises convulsives.

L'amyotrophie spinale avec épilepsie progressive (SMA-PME), décrite pour la première fois en 1979 [2], n'a été associée au gène *ASAH1* que 30 ans plus tard [3] du fait de l'absence de la triade caractéristique de la FD et des signes de surcharge viscérale [4]. La maladie peut se manifester entre 3 et 5 ans par des difficultés à monter des escaliers et une marche avec des chutes, associées à une faiblesse musculaire et parfois à des fasciculations musculaires. L'électromyogramme montrant une dénervation évoque une atteinte du motoneurone périphérique avec au premier plan une amyotrophie spinale proximale (SMA) de type 3 liée à des mutations du gène *SMN1*. Une surdité, un tremblement et des difficultés d'apprentissage qui y sont souvent associés permettent d'évoquer le diagnostic de SMA non lié à *SMN1*. L'épilepsie apparaît à un âge moyen de 9-10 ans, mais avec une grande variabilité entre individus (3-15 ans). Elle peut être inaugurale de la maladie du fait du caractère parfois modéré des troubles de la marche et de l'apprentissage. Dans la grande majorité des cas, les premières crises sont myocloniques, parfois atoniques, ou sous forme d'absences. Au cours de l'évolution de la maladie, les crises deviennent plus polymorphes et résistantes aux antiépileptiques. L'aggravation des myoclonies corticales et sous-corticales en termes de fréquence et d'intensité, souvent déclenchées par l'émotion et la fatigue, contribue à la perte de la marche vers 13 ans. La répétition d'états de mal myoclonique ou tonico-clonique autour de 15 ans entraîne un état grabataire avec des troubles respiratoires et de déglutition. Le décès survient en moyenne vers 17 ans (15-26 ans).

Un spectre ou continuum clinique existe entre la SMA-PME et la FD avec des formes SMA qui vont évoluer vers des FD tardives, ou inversement, des formes tardives de FD qui peuvent développer un tableau de pseudo-sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou SMA [9, 10]. Une variabilité dans l'âge de début et la sévérité peut exister entre les patients porteurs d'un même variant [4], voire au sein d'une même fratrie [11]. Il n'existe donc pas de corrélation génotype-phénotype.

Modèles murins : outils pour la compréhension de la maladie et le développement thérapeutique

Afin de mieux comprendre la physiopathologie du déficit en ACDase, des modèles animaux de la maladie ont été développés. Parmi eux, trois modèles murins se distinguent. Généré en 2013, le *Asah1*^{P361R/P361R} (P361R-Farber) est le premier modèle murin viable du déficit en ACDase. Basé sur une mutation identifiée chez un patient atteint de FD, ce modèle a été

obtenu en introduisant un variant faux-sens (c.1082C>G) dans l'exon 13 du gène *Asah1*, conduisant au remplacement d'un résidu proline par une arginine en position 361 [12]. Comme pour les formes sévères de la maladie humaine, les souris mutantes présentent une hépatosplénomégalie, une hématopoïèse altérée, une détresse respiratoire, des troubles neurologiques dus à une neuroinflammation, y compris une atteinte au niveau de la rétine et du nerf optique [4, 12-14]. Le phénotype des souris P361R-Farber est progressif et conduit à leur décès à un âge moyen de 70 jours. Des analyses biochimiques chez ces animaux ont montré une activité ACDase réduite et une accumulation de céramides dans divers organes et tissus, y compris le système nerveux central (SNC).

Un autre modèle murin de la maladie de Farber, la lignée *Asah1*^{tmEx1}, a été généré en 2018 par délétion de l'exon 1 du gène *Asah1* codant le signal peptidique de la céramidase acide [15]. Cette mutation empêche l'adressage de l'ACDase au lysosome, réduit son activité enzymatique et entraîne une accumulation de céramides dans le cerveau et les organes périphériques comme le foie, la rate, les poumons et les reins. Les souris mutantes présentent un profil sérique de cytokines inflammatoires similaire à celui des patients atteints de la FD ainsi que des signes sévères de la pathologie avec une médiane de survie des animaux autour de 50 jours.

Plus récemment, en 2023, un modèle murin nommé P361R-SMA a été obtenu à partir de la lignée P361R-Farber par délétion d'une cassette de résistance à la néomycine localisée dans l'intron 12 du gène et qui interférerait avec son expression. Ces souris mutantes développent un phénotype moins sévère, plus proche de celui des patients atteints de la SMA-PME, avec une médiane de survie des animaux de 145 jours [16]. Ces souris P361R-SMA présentent des signes neurologiques progressifs avec faiblesse musculaire et diminution de la sensibilité, mais pas d'épilepsie myoclonique spontanée. Les analyses histopathologiques ont montré la présence d'infiltrats inflammatoires dans plusieurs organes périphériques comme la rate, le foie et la vessie, mais surtout au niveau de la moelle épinière avec une démyélinisation et une dégénérescence axonale dans la substance blanche. Les niveaux de céramides sont élevés dans le SNC, de manière plus importante dans la moelle épinière que dans le cerveau.

Perspectives thérapeutiques pour le traitement du déficit en céramidase acide

Plusieurs stratégies thérapeutiques sont à l'étude pour le déficit en ACDase lié à des mutations du gène *ASAH1* (Figure 1). Une première approche a été testée chez des

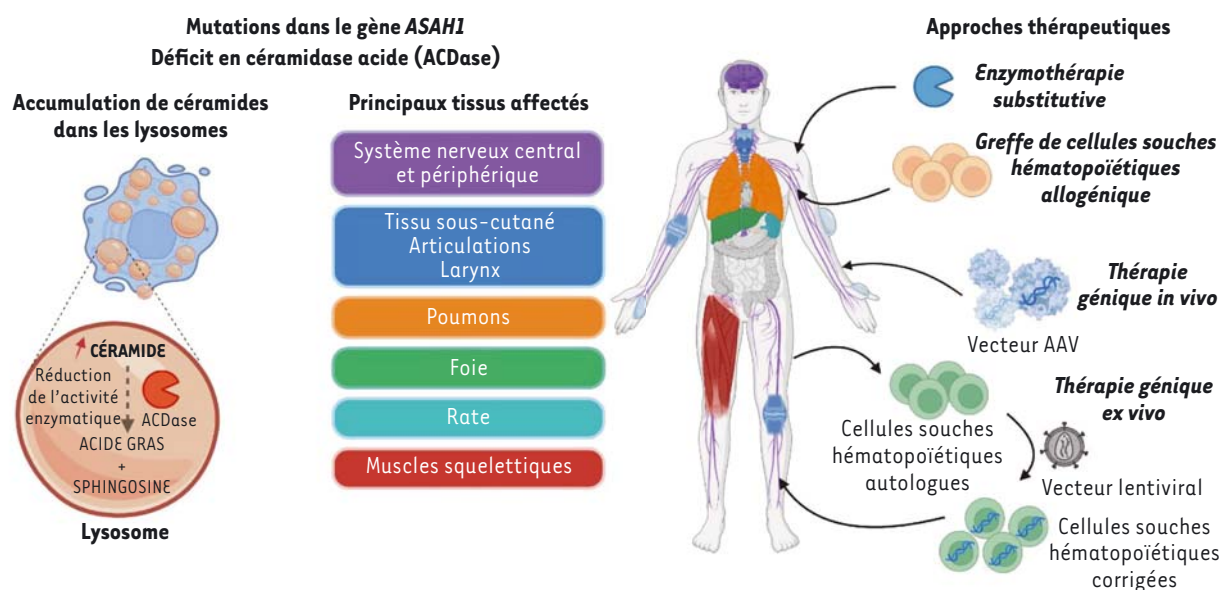


Figure 1. Déficit en céramidase acide dû à des mutations dans le gène *ASAH1* et perspectives thérapeutiques. AAV : vecteur dérivé de virus adéno-associé (Créé avec BioRender)

patients atteints de la FD. Elle a consisté à effectuer une transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques. Les résultats ont montré que ce traitement conduit à une correction complète et persistante des signes inflammatoires dans les tissus périphériques, mais n'empêche pas la progression de la maladie neurologique [17], comme cela a été observé dans d'autres maladies lysosomales affectant le SNC et traitées à un stade symptomatique, comme la mucopolysaccharidose de type II [18]. Afin d'améliorer l'efficacité de ce type de traitement, notamment au niveau du SNC, une transplantation autologue de cellules souches hématopoïétiques transduites par un vecteur lentiviral *ex vivo* porteur de la séquence codante d'*ASAH1* a été envisagée et testée chez des primates non humains sains avec des résultats prometteurs [19]. Une augmentation de l'activité spécifique de l'ACDase à des niveaux supra-physiologiques dans les cellules sanguines périphériques et la moelle osseuse a été détectée chez les animaux traités. Cette augmentation s'est accompagnée d'une réduction des taux de céramides dans certains tissus, sans conduire à des effets secondaires sur une durée d'au moins un an. Ces résultats pourraient donc ouvrir des perspectives de développement clinique, comme pour la leucodystrophie métachromatique [20].

Une autre approche, la thérapie enzymatique substitutive (TES), a été utilisée dans plusieurs maladies de surcharge lysosomale comme les maladies de Fabry, de Gaucher de type 1 ou de Pompe [21]. Elle consiste à administrer régulièrement une enzyme recombinante fonctionnelle par voie intraveineuse. Cette stratégie thérapeutique a été testée chez le modèle murin P361R-Farber. L'administration d'ACDase se traduit par un allongement d'une dizaine de jours de la survie des souris et une réduction de l'accumulation des céramides dans les tissus périphériques, mais pas dans le cerveau [22]. Ainsi, la TES pourrait être utile chez certains patients, même s'il existe des limites et si son

efficacité pourrait varier en fonction de la sévérité des manifestations cliniques [23].

Une approche alternative de thérapie génique consiste à utiliser des vecteurs dérivés de virus adéno-associés (AAV) pour transférer un transgène *ASAH1* dans les cellules. Les vecteurs AAV recombinants présentent l'avantage de transduire de nombreux types cellulaires suite à une administration intraveineuse ou locale. De plus, ils restent sous forme épisomale dans les noyaux, ne s'intégrant pas ou très peu dans le génome, et permettent une expression du transgène thérapeutique à long terme. Ce type de thérapie a été testé chez les souris P361R-Farber par administration intravitréenne d'un vecteur AAV porteur du transgène humain *ASAH1* et a conduit à l'amélioration des signes de la maladie dans la rétine [24]. Une étude par injection intraveineuse d'un vecteur AAV codant pour *ASAH1* a aussi été réalisée dans notre laboratoire avec des résultats encourageants chez les souris mutantes P361R-Farber (manuscrit en cours de rédaction). Une approche de thérapie génique *in vivo* par administration de vecteurs AAV pourrait donc permettre de traiter les manifestations cliniques chez les patients atteints de la SMA-PME et de la FD.

Comme pour d'autres pathologies à surcharge lysosomale [21], la FD et la SMA-PME pourraient bénéficier du phénomène de correction croisée par la thérapie génique. Selon ce mécanisme, les cellules transduites par le vecteur viral secrèteraient l'enzyme fonctionnelle, laquelle serait par la suite recaptée par les



cellules voisines via les récepteurs au mannose-6-phosphate situés à la membrane plasmique, corrigeant ainsi ces cellules non-transduites par le vecteur. En effet, une étude a montré que l'ACDase recombinante peut être sécrétée, puis recaptée par des fibroblastes de patients atteints de la FD, conduisant à une réduction significative des taux de céramides [22]. Ce processus pourrait donc permettre d'étendre les effets bénéfiques de la thérapie au-delà des cellules directement traitées, amplifiant son impact thérapeutique.

Conclusion

Une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de la maladie de Farber et de l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive reste nécessaire, y compris dans le système neuromusculaire, afin d'adapter au mieux les différentes thérapies expérimentales en cours de développement ou d'en trouver d'autres, y compris pharmacologiques. Enfin, compte-tenu de l'atteinte du système nerveux chez de nombreux patients, les approches thérapeutiques visant à améliorer les manifestations cliniques périphériques et neurologiques sont indispensables afin d'améliorer la qualité de vie des patients ainsi que leur pronostic vital. ♦

SUMMARY

Therapeutic perspectives for lysosomal storage disorders caused by acid ceramidase deficiency

Farber disease and spinal muscular atrophy with progressive myoclonic epilepsy are two ultra-rare lysosomal storage disorders resulting from loss-of-function mutations in the *ASAH1* gene encoding for acid ceramidase (ACDase). ACDase deficiency leads to the intracellular accumulation of ceramides with an inflammatory response in tissues. These two diseases manifest differently but are part of a clinical continuum with variable severity affecting the nervous system and/or peripheral tissues, including the neuromuscular system. To date, no specific or curative treatments are available for patients affected by acid ceramidase deficiency. Here, we summarize the clinical features, enzyme function, mouse models and therapeutic perspectives for these allelic diseases. ♦

PRIX SFM

Marion Derome a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

LIENS D'INTÉRÊT

ABB, JD et MM sont inventeurs dans une demande de brevet intitulée « Vectors for the treatment of acid ceramidase deficiency ».

RÉFÉRENCES

1. Koch J, Gärtner S, Li CM, et al. Molecular Cloning and Characterization of a Full-length Complementary DNA Encoding Human Acid Ceramidase: Identification of the First Molecular Lesion Causing Farber Disease. *J Biol Chem* 1996 ; 271 (51) : 33110-5.
2. Jankovic J, Rivera VM. Hereditary myoclonus and progressive distal muscular atrophy. *Ann Neurol* 1979 ; 6 (3) : 227-31.
3. Zhou J, Tawk M, Tiziano FD, et al. Spinal Muscular Atrophy Associated with Progressive Myoclonic Epilepsy Is Caused by Mutations in *ASAH1*. *Am J Hum Genet* 2012 ; 91 (1) : 5-14.
4. Yu FPS, Amintas S, Levade T, et al. Acid ceramidase deficiency: Farber disease and SMA-PME. *Orphanet J Rare Dis* 2018 ; 13.
5. Kleynerman A, Rybova J, Faber ML, et al. Acid Ceramidase Deficiency: Bridging Gaps between Clinical Presentation, Mouse Models, and Future Therapeutic Interventions. *Biomolecules* 2023 ; 13 (2) : 274.
6. Gebai A, Gorelik A, Li Z, et al. Structural basis for the activation of acid ceramidase. *Nat Commun* 2018 ; 9 (1) : 1621.
7. Ferlinz K, Kopál G, Bernardo K, et al. Human Acid Ceramidase: Processing, Glycosylation, and Lysosomal Targeting. *J Biol Chem* 2001 ; 276 (38) : 35352-60.
8. Ehrlert K, Frosch M, Fehse N, et al. Farber disease: clinical presentation, pathogenesis and a new approach to treatment. *Pediatr Rheumatol Online J* 2007 ; 5 : 15.
9. Lee BH, Mongioli P, Levade T, et al. Spinal muscular atrophy and Farber disease due to *ASAH1* variants: A case report. *Am J Med Genet A* 2020 ; 182 (10) : 2369-71.
10. Puma A, Ezaru A, Cavalli M, et al. A case of *ASAH1*-related pure SMA evolving into adult-onset Farber disease. *Clin Genet* 2021 ; 100 (2) : 234-5.
11. Antonarakis SE, Valle D, Moser HW, et al. Phenotypic variability in siblings with Farber disease. *J Pediatr* 1984 ; 104 (3) : 406-9.
12. Alayoubi AM, Wang JCM, Au BCY, et al. Systemic ceramide accumulation leads to severe and varied pathological consequences. *EMBO Mol Med* 2013 ; 5 (6) : 827-42.
13. Sikora J, Dworski S, Jones EE, et al. Acid Ceramidase Deficiency in Mice Results in a Broad Range of Central Nervous System Abnormalities. *Am J Pathol* 2017 ; 187 (4) : 864-83.
14. Yu FPS, Sajdak BS, Sikora J, et al. Acid Ceramidase Deficiency in Mice Leads to Severe Ocular Pathology and Visual Impairment. *Am J Pathol* 2019 ; 189 (2) : 320-38.
15. Beckmann N, Kadow S, Schumacher F, et al. Pathological manifestations of Farber disease in a new mouse model. *Biol Chem* 2018 ; 399 (10) : 1183-202.
16. Nagree MS, Rybova J, Kleynerman A, et al. Spinal muscular atrophy-like phenotype in a mouse model of acid ceramidase deficiency. *Commun Biol* 2023 ; 6 : 560.
17. Ehrlert K, Levade T, Di Rocco M, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in Farber disease. *J Inherit Metab Dis* 2019 ; 42 (2), 286-294.
18. Guffon N, Bertrand Y, Forest I, et al. Bone Marrow Transplantation in Children with Hunter Syndrome: Outcome after 7 to 17 Years. *J Pediatr* 2009 ; 154 (5) : 733-7.
19. Walia JS, Neschadim A, Lopez-Perez O, et al. Autologous Transplantation of Lentivector/Acid Ceramidase-Transduced Hematopoietic Cells in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther* 2011 ; 22 (6) : 679-87.
20. Boesflug-Tanguy O, Sevin C, Piguat F. Gene therapy for neurodegenerative disorders in children: dreams and realities. *Archives de Pédiatrie* 2023 ; 30 (8, Supplement 1) : 8532-40.
21. Ellison S, Parker H, Bigger B. Advances in therapies for neurological lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis* 2023 ; 46 (5) : 874-905.
22. He X, Dworski S, Zhu C, et al. Enzyme replacement therapy for Farber disease: Proof-of-concept studies in cells and mice. *BBA Clin* 2017 ; 7 : 85-96.
23. Parini R, Deodato F. Intravenous Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidoses: Clinical Effectiveness and Limitations. *Int J Mol Sci* 2020 ; 21 (8) : 2975.
24. Zhang H, Nagree MS, Liu H, et al. rAAV-mediated over-expression of acid ceramidase prevents retinopathy in a mouse model of Farber lipogranulomatosis. *Gene Ther* 2023 ; 30 (3) : 297-308.

TIRÉS À PART
M. Derome

► Le facteur de transcription PAX3 est un acteur clé de la myogenèse embryonnaire, contrôlant la spécification, la migration, la prolifération et la différenciation des cellules musculaires pour assurer le développement des muscles striés squelettiques chez l'embryon. Les cellules souches du muscle adulte, nommées cellules satellites (CS), présentent une hétérogénéité en termes d'expression du gène *Pax3* entre les différents muscles, et affichent une réponse bimodale à l'exposition au stress environnemental. Cependant, son rôle potentiel dans un contexte de régénération musculaire reste peu étudié. Pour explorer le rôle de PAX3 dans les cellules satellites lors de la régénération musculaire, nous avons réalisé des études de régénération, révélant ainsi une hétérogénéité fonctionnelle de ces cellules en fonction de l'expression de *Pax3*. Ensuite, pour identifier les réseaux régulateurs géniques en aval de PAX3, l'étude cherche à comprendre les mécanismes moléculaires responsables de cette hétérogénéité et à identifier les gènes cibles de PAX3 et leur rôle dans le développement musculaire et la régénération, afin de les utiliser comme nouvelles cibles pour de futures thérapies préventives. ◀

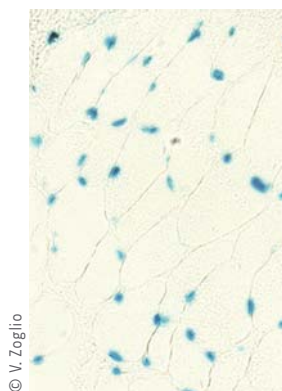
PAX3, un régulateur génétique clé de la myogenèse embryonnaire

La formation du muscle squelettique est contrôlée par des réseaux de régulation génétique complexes. Le facteur de transcription PAX3 est caractérisé par

Vignette : Cellules exprimant un gène rapporteur *Pax3* (bleu), observées par immunomarquage avec X-Gal, dans une coupe longitudinale d'un muscle biceps brachial murin.

Rôle du facteur de transcription PAX3 au cours de la myogenèse De l'embryon à l'adulte

Virginia Zoglio, Joana Esteves de Lima, Frédéric Relaix



© V. Zoglio

Université Paris Est Créteil,
Inserm, EnvA, EFS, AP-HP, IMRB,
Créteil, France
joana.esteves-de-lima@inserm.fr
frederic.relaix@inserm.fr

des domaines de liaison à l'ADN – le domaine paired (PD) et l'homéodomain (HD) – à son extrémité N-terminale, et un domaine de transactivation à son extrémité C-terminale. C'est un régulateur majeur de la myogenèse embryonnaire [1]. L'expression de *Pax3* est observée au jour embryonnaire 8,5 dans le mésoderme pré-somitique [2] (Figure 1A). Lorsque les somites se forment, PAX3 est initialement exprimé dans l'ensemble des somites, puis il est confiné dans la portion épithéliale dorsale, le dermomyotome. L'expression de *Pax3* se concentre ensuite dans les régions épaxiales et hypaxiales du dermomyotome [1, 3]. Lorsque les cellules progénitrices musculaires se détachent du dermomyotome pour former le muscle différencié sous-jacent du myotome, l'expression de *Pax3* est réprimée et des facteurs de transcription myogéniques sont activés (MYF5, MRF4 pour *myogenic factor 5* et 4, et MYOD1 pour *myogenic differentiation 1*) [3]. Du côté hypaxial, une sous-population de cellules exprimant *Pax3* se détache également du dermomyotome et migre vers des sites myogéniques éloignés tels que les membres, la langue et le diaphragme [2-7] (Figure 1A). Au fur et à mesure que le développement progresse, le domaine central du dermomyotome où *Pax7*, le paralogue de *Pax3*, est induit, perd sa structure épithéliale, et les cellules exprimant à la fois PAX3 et PAX7 pénètrent dans le myotome sous-jacent où elles constituent la population de cellules progénitrices pour la croissance musculaire ultérieure (Figure 1A). Ces cellules contribuent à la croissance musculaire pendant la période postnatale et à la régénération musculaire par la suite [8].

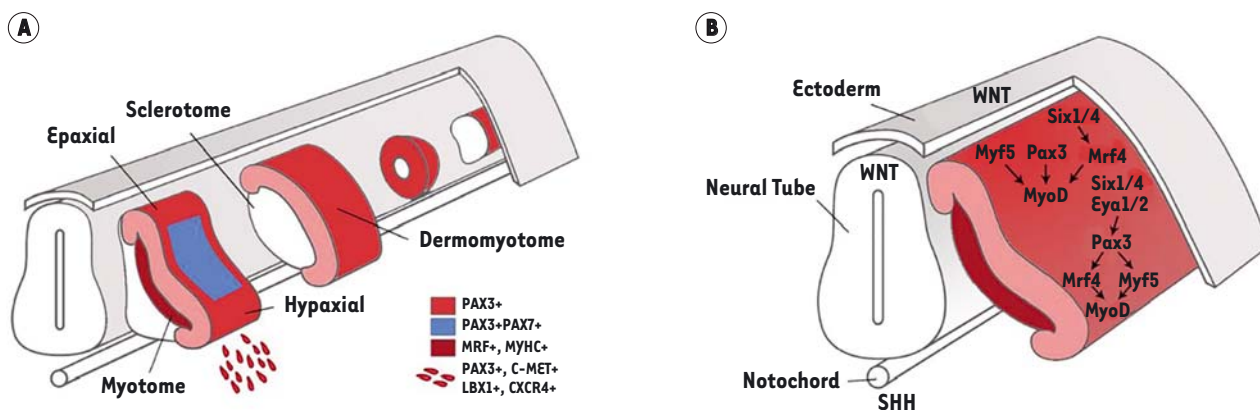


Figure 1. Développement du dermomyotome et détermination du muscle squelettique. **A.** Schéma représentant les différents degrés de maturation des somites, avec les domaines dermomyotomaux en évidence. **B.** Cascades de signalisation opérant au niveau des domaines dermomyotomaux épaxiaux et hypaxiaux, qui activent l'expression des facteurs de régulation myogénique (MRF). (Adapté de Esteves de Lima et Relaix, *Cell Regen* 2021).

Voies de signalisation en aval de PAX3

PAX3 orchestre de nombreuses voies de signalisation impliquées dans l'activation de la myogenèse, en régulant les gènes effecteurs de ces voies. Afin de comprendre la fonction de PAX3 chez les cellules progénitrices myogéniques, il est essentiel d'identifier et de caractériser ses cibles. Notamment, le gène *c-Met* (*mesenchymal epithelial transition*) a été identifié comme une cible directe de PAX3 [9]. Ce gène code pour un récepteur à activité tyrosine kinase, qui interagit avec son ligand, l'*hepatocyte growth factor/scatter factor* (HGF/SF), une signalisation nécessaire à la délamination, ainsi qu'à la migration et à la prolifération des progéniteurs myogéniques (Figure 1A). Dans la voie de signalisation FGF (*fibroblast growth factor*) associée à la prolifération cellulaire, *Sprouty1* et *Fgfr4* (*fibroblast growth factor receptor 4*) ont été montrés comme étant des cibles directes de PAX3, ce qui démontre que l'auto-renouvellement des progéniteurs myogéniques est en partie orchestré par la modulation de la signalisation FGF par PAX3 [10]. *Dmrt2* (*doublesex and mab-3 related transcription factor 2*) a également été identifié comme une cible directe de PAX3. Ce gène code pour un facteur de transcription qui est présent dans les cellules exprimant *Pax3* au niveau épaxial du dermomyotome, et qui régule un élément activateur épaxial précoce du gène *Myf5*, nécessaire au début de la myogenèse dans le somite [11, 12]. PAX3 régule le destin cellulaire en contrôlant négativement *FoxC2* (*forkhead box C2*) dans le somite épithélial, puis dans le dermomyotome où ces gènes sont coexprimés. La modulation de cette répression réciproque aboutit à des cellules progénitrices myogéniques positives pour PAX3 ou à des cellules progénitrices vasculaires positives pour *FOXC2* [13]. L'entrée des cellules progénitrices dans le programme myogénique dépend des facteurs de détermination myogénique MYF5 et MYOD. Un rôle crucial dans la voie génétique *Pax3/MyoD* qui régule le début de la myogenèse est assuré par les protéines SIX1/4. Il a été montré que les régions régulatrices

de MYOD1 sont directement contrôlées par les protéines SIX, et qu'en l'absence de SIX1 et SIX4, SIX2 peut partiellement compenser leur activité [14, 15] (Figure 1B).

Adaptations physiologiques au stress environnemental

Le muscle squelettique possède de grandes capacités régénératrices, ce qui en fait un organe très plastique. À l'origine de cette plasticité musculaire se trouve un réservoir de cellules souches, les cellules satellites (CS), qui se localisent en périphérie des fibres musculaires [16] et dérivent des cellules progénitrices *Pax3/Pax7* du dermomyotome. À la suite d'un stimulus tel qu'une blessure musculaire, les cellules satellites s'activent et s'engagent dans le programme de différenciation myogénique pour assurer la régénération du tissu [17, 18]. Bien que toutes les cellules satellites expriment le facteur de transcription PAX7, notre laboratoire a montré que seulement une minorité coexpriment PAX3 [19]. La proportion de cellules satellites exprimant PAX3 varie selon les différents muscles, représentant par exemple la moitié des cellules des muscles du tronc, des membres antérieurs et du diaphragme, et seulement dix pour cent des cellules des muscles des membres postérieurs [19]. Il a été démontré que le renouvellement homéostatique des cellules satellites dans un état quiescent est contrôlé par PAX3 [20], dont l'expression détermine l'activation des cellules satellites dans les muscles au repos. Un autre rôle particulier est joué par *Pax3* dans le contexte du stress environnemental ainsi que de l'irradiation [21, 22]. Des études de

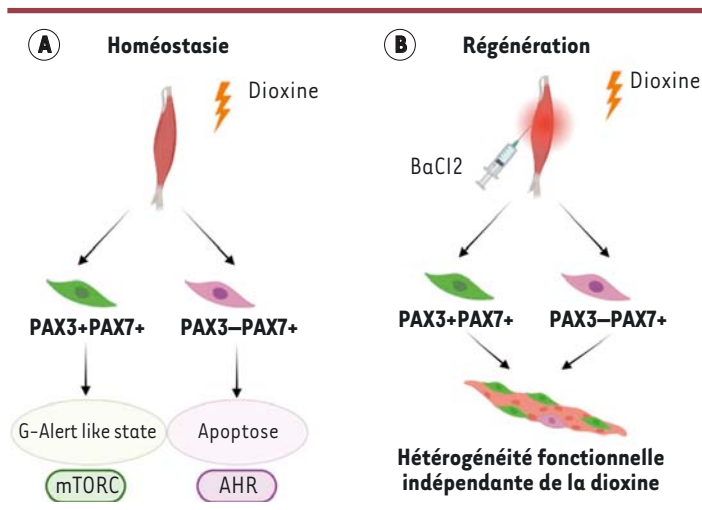


Figure 2. Hétérogénéité fonctionnelle des cellules satellites lors de l'homéostasie (A) et de la régénération musculaire (B).

notre équipe de recherche ont montré qu'il existe une hétérogénéité des cellules souches musculaires en réponse à la pollution, et que cela dépend de l'expression de *Pax3*. En particulier, il a été démontré que tandis que les cellules souches musculaires n'exprimant pas PAX3 présentent une survie altérée, une activation aberrante et une fusion sporadique avec les myofibres lors de l'exposition aux polluants, les cellules souches musculaires qui l'expriment en sont protégées grâce à une réponse G(alert) dépendante de mTORC1 (*mechanistic target of rapamycin complex 1*) [21] (Figure 2A). Toujours dans le contexte du stress, il a été montré que les cellules satellites exprimant PAX3 présentent un comportement radio-tolérant en réponse à l'irradiation et constituent une population de réserve de cellules souches musculaires capables d'expansion clonale, contribuant ainsi à la réparation musculaire et au maintien des cellules souches [22].

Un nouveau rôle de PAX3 lors de la régénération musculaire

En tenant compte des études précédentes mettant en évidence le rôle protecteur exercé par PAX3 dans un contexte de stress environnemental, notre travail actuel se concentre sur les mécanismes moléculaires régissant le comportement des cellules satellites (CS) et la réparation tissulaire dans le contexte d'un stress environnemental (Figure 2A-B). Pour explorer le rôle de PAX3 dans le contexte de la régénération et de la pollution, nous avons réalisé des études de régénération et des analyses *in vivo* sur des cellules satellites (CS), en administrant de la dioxine aux animaux pendant un mois, puis en provoquant une blessure musculaire.

Tout d'abord, nous avons démontré que la dioxine affecte la régénération musculaire en favorisant la formation de nouvelles fibres de taille réduite, observées à 7 et 28 jours après la blessure. Bien que ce résultat puisse suggérer que la régénération est altérée et que le muscle développe un phénotype atrophique après l'exposition à la dioxine, aucun changement significatif n'est observé dans le réservoir de cel-

lules satellites PAX7+ entre les échantillons traités à la dioxine et les témoins. Les résultats obtenus ont révélé que la dioxine n'a pas d'impact sur le comportement des cellules satellites 7 jours après la blessure. De manière frappante, la proportion de la population positive pour PAX3 est modifiée lors de la blessure dans les muscles analysés, indépendamment de la dioxine, révélant une hétérogénéité fonctionnelle des cellules satellites en fonction de l'expression de PAX3. Par conséquent, nous avons observé que pendant la régénération musculaire, la présence de PAX3 dans les cellules souches est associée à une prolifération et une différenciation plus importantes. Ces découvertes suggèrent un plus grand engagement envers la lignée myogénique, ce qui pourrait indiquer qu'elles peuvent fournir une réponse plus efficace à la blessure.

Actuellement, notre équipe s'attache à décrypter les différences transcriptionnelles au niveau de l'ARN et du séquençage de cellules uniques, pour étudier les mécanismes cellulaires qui peuvent expliquer cette disparité entre les cellules satellites. Cela soulève désormais des questions sur le rôle respectif de ces deux sous-populations dans la réparation du muscle squelettique. Enfin, nous avons développé un modèle murin conditionnel permettant d'invalider spécifiquement l'expression du gène *Pax3* au sein des cellules souches musculaires. Grâce à cet outil, nous pouvons caractériser *in vivo* les conséquences de la perte de PAX3 dans les cellules souches musculaires au cours de la myogenèse régénérative, sur les plans histologique et moléculaire. Dans l'ensemble, ces résultats mettent en lumière, pour la première fois, un processus d'hétérogénéité fonctionnelle finement contrôlé et régulé par PAX3 dans les cellules souches, et contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires associés à la régénération des muscles squelettiques, dans des conditions normales et pathologiques. ♦

SUMMARY

Role of the transcription factor PAX3 during myogenesis: from the embryo to the adult stage

PAX3 plays a crucial role in embryonic myogenesis, controlling the specification, migration, proliferation, and differentiation of muscle progenitor cells to ensure normal skeletal muscle development in the embryo. However, PAX3 potential role in a context of muscle homeostasis and regeneration remains poorly investigated. The adult muscle stem cells, known as satellite cells (SCs) exhibit heterogeneity in *Pax3* expression in various muscles throughout the body and display a bimodal response to environmental stress exposure. To explore the role of PAX3 in the context of tissue damage, we

performed regeneration studies, which unveiled a functional heterogeneity of the SCs populations depending on *Pax3* expression. Together, this project aims to decipher cell-type specific dysregulations linked to tissue damage and identify PAX3 downstream gene regulatory networks that can lead to specific SC behavior, thus potentially providing novel strategies for muscle disease preventive therapies. ♦

PRIX SFM

Virginia Zoglio a reçu le prix de la Meilleure communication orale lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Buckingham M, Relaix F. The Role of Pax Genes in the Development of Tissues and Organs: Pax3 and Pax7 Regulate Muscle Progenitor Cell Functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007 ; 23 (1) : 645-673.
2. Abmayr SM, Keller CA. Drosophila Myogenesis and insights into the Role of nautilus. *Curr Top Dev Biol* 1998 ; 38 : 35-80.
3. Tajbakhsh S, Buckingham M. The Birth of Muscle Progenitor Cells in the Mouse: Spatiotemporal Considerations. *Curr Top Dev Biol* 2000 ; 48 : 225-268.
4. Tremblay P, Dietrich S, Mericskay M, et al. A Crucial Role for Pax3 in the Development of the Hypaxial Musculature and the Long-Range Migration of Muscle Precursors. *Dev Biol* 1998 ; 203 (1) : 49-61.
5. Bober E, Brand-Saberi B, Ebensperger C, et al. Initial steps of myogenesis in somites are independent of influence from axial structures. *Development* 1994 ; 120 (11) : 3073-3082.
6. Goulding M, Lumsden A, Paquette AJ. Regulation of Pax-3 expression in the dermomyotome and its role in muscle development. *Development* 1994 ; 120 (4) : 957-971.
7. Tajbakhsh S, Rocancourt D, Cossu G, et al. Redefining the Genetic Hierarchies Controlling Skeletal Myogenesis: Pax-3 and Myf-5 Act Upstream of MyoD. *Cell* 1997 ; 89 (1) : 127-138.
8. Esteves de Lima J, Relaix F. Master regulators of skeletal muscle lineage development and pluripotent stem cells differentiation. *Cell Regen* 2021 ; 10 (1) : 31.
9. Epstein JA, Shapiro DN, Cheng J, et al. Pax3 modulates expression of the c-Met receptor during limb muscle development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 (9) : 4213-4218.
10. Lagha M, Kormish JD, Rocancourt D, et al. Pax3 regulation of FGF signaling affects the progression of embryonic progenitor cells into the myogenic program. *Genes Dev* 2008 ; 22 (13) : 1828-1837.
11. Sato T, Rocancourt D, Marques L, et al. A Pax3/Dmrt2/Myf5 Regulatory Cascade Functions at the Onset of Myogenesis. *PLoS Genet* 2010 ; 6 (4) : e1000897.
12. Seo KW. Dmrt2 and Pax3 double-knockout mice show severe defects in embryonic myogenesis. *Comp Med* 2007 ; 57 (5) : 460-468.
13. Lagha M, Brunelli S, Messina G, et al. Pax3:Foxc2. Reciprocal Repression in the Somite Modulates Muscular versus Vascular Cell Fate Choice in Multipotent Progenitors. *Dev Cell* 2009 ; 17 (6) : 892-899.
15. Fougerousse F, et al. Six and Eya expression during human somitogenesis and MyoD gene family activation. *J Muscle Res Cell Motil* 2002 ; 23 (3) : 255-264.
16. Relaix F, Demignon J, Laclef C, et al. Six Homeoproteins Directly Activate MyoD Expression in the Gene Regulatory Networks That Control Early Myogenesis. *PLoS Genet* 2013 ; 9 (2) : 493-5.
17. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961 ; 9 (2) : 493-495.
18. Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, et al. Pax7 Is Required for the Specification of Myogenic Satellite Cells. *Cell* 2000 ; 102 (6) : 777-786.
19. Kuang S, Chargé SB, Seale P, et al. Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis. *J Cell Biol* 2006 ; 172 (1) : 103-113.
20. Relaix F, Montarras D, Zaffran S, et al. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J Cell Biol* 2006 ; 172 (1) : 91-102.
21. de Morree A, Klein JDD, Gan Q, et al. Alternative polyadenylation of Pax3 controls muscle stem cell fate and muscle function. *Science* 1979 ; 366 (6466) : 734-738.
22. Der Vartanian A, Quélin M, Michineau S, et al. PAX3 Confers Functional Heterogeneity in Skeletal Muscle Stem Cell Responses to Environmental Stress. *Cell Stem Cell* 2019 ; 24 (6) : 958-973.e9.
23. Scaramozza A, Park D, Kollu S, et al. Lineage Tracing Reveals a Subset of Reserve Muscle Stem Cells Capable of Clonal Expansion under Stress. *Cell Stem Cell* 2019 ; 24 (6) : 944-957.e5.

TIRÉS À PART

V. Zoglio

29^e édition

JOURNÉES
DE LA SOCIÉTÉ
FRANCOPHONE
DU NERF
PÉRIPHÉRIQUE





Newcap
Event Center,
Paris

En collaboration avec la
Société Francophone
d'ElectroNeuroMyoGraphie

31 janvier &
1^{er} février
2025

INFORMATIONS

Contactez : info-sfnp@europa-organisation.com

INSCRIVEZ-VOUS SUR : www.journees-sfnp.fr

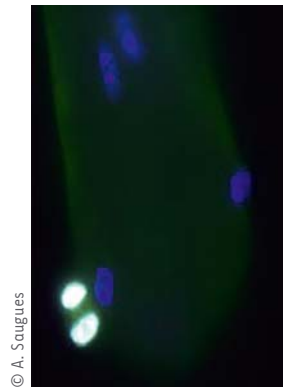
► Par leur activité myogénique, les cellules souches musculaires (CSM) adultes sont cruciales pour la régénération du muscle strié squelettique. Après activation, elles prolifèrent, se différencient puis fusionnent pour réparer ou former de nouvelles myofibres. Leur progression au cours de la myogenèse nécessite une régulation complexe faisant intervenir plusieurs acteurs tels que le métabolisme, notamment via la kinase AMPK. Cette protéine régule l'auto-renouvellement et l'accrétion myonucléaire des CSM après une lésion aiguë du muscle strié squelettique ou en réponse à la contraction musculaire. Cependant, dans un contexte de dystrophie telle que la myopathie de Duchenne (DMD), la capacité de régénération des CSM est réduite, probablement à cause d'une prolifération accrue au détriment de leur différenciation. Nous nous intéressons ici au potentiel du métabolisme à réguler l'activité myogénique des CSM dans la DMD, par l'intermédiaire de la kinase AMPK. ◀

Représentant 40 % de la masse corporelle, le muscle strié squelettique permet nos mouvements et maintient notre posture grâce à l'activité contractile de ses fibres musculaires (myofibres) [1]. Ces longues cellules sont composées d'une multitude de noyaux post-mitotiques. Leur « maintenance » requiert l'activité de cellules souches musculaires (CSM), en conditions d'homéostasie, de croissance, après un exercice ou une lésion musculaire [1]. Localisées entre le sarcolemme des myofibres et la lame basale, les CSM sont généralement quiescentes. Il s'agit d'un état d'arrêt prolifératif transitoire dont elles peuvent sortir rapidement après détection de changements au sein de leur microenvironnement (ou niche), déclenchés par des stimuli tels que la croissance ou un dommage musculaire. Au cours

Vignette : Myofibre isolée avec deux cellules souches musculaires en division : cellules Pax7+ (vert) et EdU+ (blanc).

Cellules souches musculaires et métabolisme dans la dystrophie musculaire de Duchenne, focus sur la kinase AMPK

Audrey Saugues, Anita Kneppers, Rémi Mounier



© A. Saugues

Institut NeuroMyoGène, PGNM,
CNRS UMR5261/Inserm U1315/
Université Claude Bernard Lyon
1, France.
audrey.saugues@univ-lyon1.fr

de la myogenèse, les CSM s'activent, prolifèrent et se différencient en précurseurs musculaires (myocytes), fusionnant soit entre eux pour former une nouvelle fibre musculaire, soit avec une myofibre préexistante, un processus appelé accrétion myonucléaire [2]. En parallèle, une petite portion de CSM activées s'auto-renouvelle, retourne en quiescence pour reconstituer la réserve de CSM [2]. La myogenèse est essentielle à la régénération ainsi qu'à l'homéostasie du muscle strié squelettique.

Ce processus est complexe et dynamique, finement régulé par de multiples facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques aux CSM, dont le métabolisme. Effectivement, les CSM sont dotées d'une plasticité métabolique leur permettant d'assurer leurs différents besoins énergétiques au cours de la myogenèse. Les CSM quiescentes utilisent principalement la β -oxydation des acides gras comme source d'énergie, tandis que leur activation requiert une rapide production d'ATP, assurée par la glycolyse. Une reprogrammation métabolique s'effectue lors de leur différenciation, avec un métabolisme plus oxydatif accompagné d'un remodelage du réseau mitochondrial cellulaire [3]. Cette plasticité métabolique est contrôlée par une balance coordonnant les voies cataboliques et anaboliques [4] qui implique le senseur énergétique AMPK (5'-AMP-activated protein kinase), une sérine/thréonine kinase hétérotrimère composée de deux sous-unités régulatrices, β et γ , et d'une sous-unité catalytique α existant sous la forme de deux isoformes [5]. Ce régulateur métabolique s'active en détectant une augmentation des ratios AMP/ATP et ADP/ATP cellulaires, signalant une

diminution des niveaux d'énergie. L'AMPK phosphoryle alors ses cibles (protéines et/ou facteurs de transcription) pour réguler plusieurs processus tels que l'absorption du glucose, l'oxydation des acides gras, le métabolisme du glycogène, la synthèse protéique ou encore la biogenèse mitochondriale, pour induire une réponse catabolique et restaurer ainsi les niveaux d'énergie au sein de la cellule [5].

Une étude au sein de notre laboratoire a révélé que les CSM déficientes pour l'AMPK α 1 ont un métabolisme principalement glycolytique, augmentant leur taux d'auto-renouvellement et perturbant la régénération musculaire. L'augmentation de la glycolyse est notamment médiée par l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) dont l'activité est accrue en absence de l'AMPK α 1 [6]. De plus, nous avons récemment montré que l'isoforme AMPK α 2 est essentielle à l'accrétion myonucléaire. Par des approches *in vitro* et *in vivo* de traçage cellulaire du devenir des CSM déficientes pour l'AMPK α 2, nous avons observé une altération de l'accrétion myonucléaire en réponse à la contraction musculaire, soulignant le rôle de cette isoforme au sein des CSM dans la régulation de ce processus. Dans ce contexte, l'AMPK α 2 phosphoryle la protéine BAIAP2 (*BAR/IMD domain containing adaptor protein 2*), inhibant son rôle négatif dans le remodelage de l'actine, une étape nécessaire pour la fusion entre deux cellules [7].

Ces études ont montré l'importance de l'AMPK dans la régulation des CSM, lorsque leur progression à travers les différentes étapes de la myogenèse est globalement synchrone, après une lésion aiguë du muscle strié squelettique. Cependant, dans le cas de myopathies telles que la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), la régénération musculaire est asynchrone [8], impactant l'activité des CSM.

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie musculaire héréditaire affectant approximativement un garçon sur 3500 par an. Elle induit une faiblesse musculaire progressive entraînant la perte de la marche, puis l'arrêt respiratoire et/ou cardiaque des patients vers l'âge de 30 ans [9]. Cette pathologie est causée par des mutations au sein du gène *DMD*, situé sur le chromosome X et codant la dystrophine. Dans le muscle strié squelettique, cette protéine participe à la liaison entre le cytosquelette d'actine et la matrice extracellulaire, permettant la transduction de signaux et la mécanoprotection du sarcolemme. En son absence, ce dernier devient susceptible aux dommages causés par la contraction musculaire. Cela entraîne des cycles asynchrones de dégénérescence/régénération musculaires, engendrant une inflammation chronique [8, 9]. Le muscle dystrophique requiert l'activité des CSM en continu, qui se trouvent alors à coexister à différents stades de la myogenèse, pour tenter de répondre aux différents besoins causés par l'hétérogénéité spatiotemporelle de dégénérescence et de régénération musculaires [8]. Cependant, la régénération musculaire échoue avec le temps. En effet, l'activité myogénique des CSM est perturbée et le tissu musculaire devient graduellement remplacé par de la fibrose et du tissu adipeux [8, 9]. Plusieurs hypothèses pour expliquer cet échec progressif de régénération musculaire chez les patients DMD [8, 9] ont été émises : 1) « l'épuisement » de la réserve des CSM induit par la régénération constante ; 2) la persistance d'un environnement inflammatoire chronique perturbant la niche des CSM ; 3) des défauts intrinsèques aux CSM liés à la déficience en

dystrophine ; 4) les signaux contradictoires provenant de microenvironnements de régénération asynchrones. Cette revue fait le point sur les différentes études réalisées pour mieux comprendre l'état des régulations des CSM dans la DMD, avec un focus sur le rôle du métabolisme des CSM dans cette pathologie.

La régulation du devenir des cellules souches musculaires dans la DMD

Il a longtemps été suggéré que le défaut de régénération était dû à l'épuisement du potentiel de régénération des CSM à cause de leur activation répétée et continue dans la DMD [9]. Plusieurs études *in vivo* ont cependant démontré que le réservoir de CSM était préservé, même à des stades avancés de la pathologie. Que ce soit dans des biopsies de patients DMD ou dans des sections musculaires du modèle murin *mdx* de la DMD (dont le phénotype est plus léger), le nombre de CSM (exprimant le facteur de transcription PAX7) est similaire, voire plus élevé que dans des muscles sains [10, 11]. Ces études montrent même une activation accrue des CSM, à l'aide de différents marqueurs de prolifération (KI67) et d'activation (MYF5 pour *myogenic factor 5*). La réserve de CSM persiste donc au fil du temps pour assurer la maintenance du muscle dystrophique. Cependant, ce taux élevé d'activation et de prolifération est suivi d'un défaut de différenciation, avec une réduction du nombre de cellules exprimant le facteur de transcription myogénine dans les muscles de patients DMD [11]. La régénération est donc faible, n'empêchant pas la dégénération et la perte musculaire [11]. Cette capacité de différenciation altérée chez les CSM dystrophiques ne résulterait-elle pas de leur suractivation ? Activées de façon disproportionnée, les CSM pourraient se retrouver bloquées à ce stade, incapables de poursuivre leur progression. Cependant, une étude a montré que l'activation accrue des CSM était une réponse physiologique aux signaux des myofibres. En effet, Anderson *et al.* montrent que la fragilité sarcolemmale des myofibres chez la souris *mdx* impacte la signalisation de l'oxyde nitrique connue pour réguler l'activation des CSM [12]. De plus, il semblerait que le défaut de différenciation soit intrinsèque à la cellule, directement causé par la déficience en dystrophine dans les CSM [13]. Dumont *et al.* ont montré que la dystrophine est exprimée transitoirement au sein des CSM activées et joue un rôle crucial dans la polarité cellulaire, régulant la division asymétrique de ces cellules. En effet, les CSM sont capables de se diviser asymétriquement, pour donner une cellule fille continuant la progression myogénique et une autre cellule fille qui retournera à l'état de quiescence. Lors



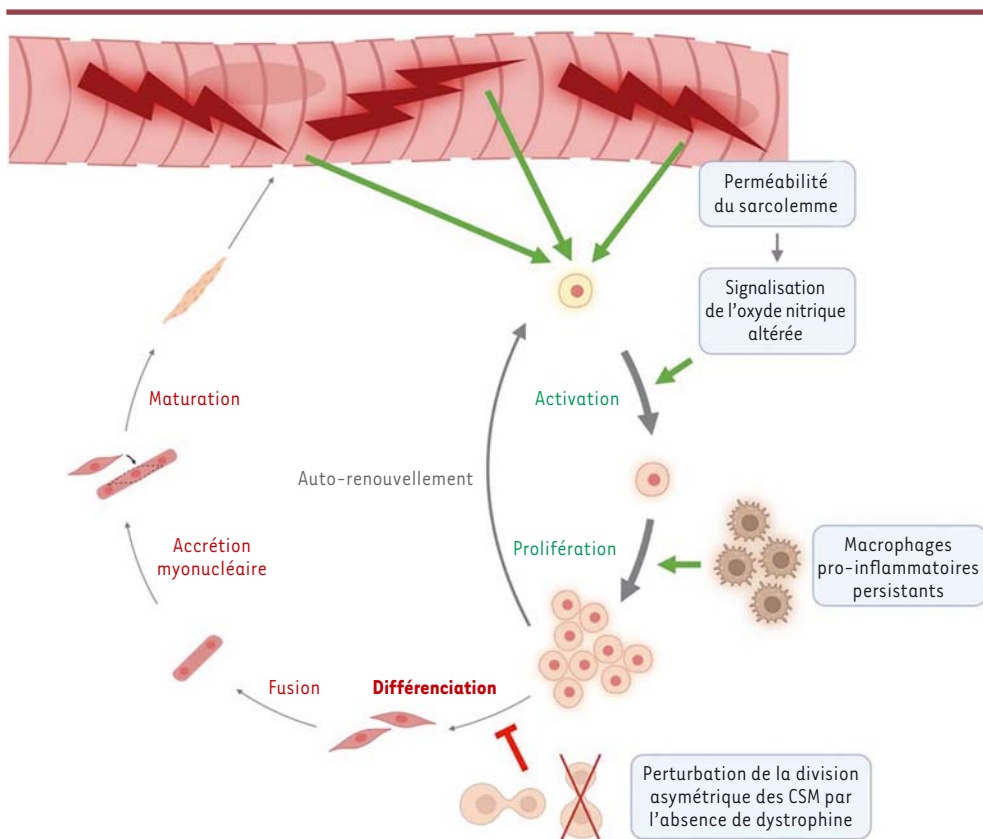


Figure 1. Progression altérée des CSM dans la myogenèse dans la DMD. Les lésions musculaires et asynchrones suractivent les CSM, entraînant une accumulation de cellules prolifératives, notamment par l'altération de la signalisation de l'oxyde nitrique et par la présence persistante de macrophages pro-inflammatoires. La déficience en dystrophine impacte la division asymétrique des CSM, réduisant le nombre de progéniteurs myogéniques. La fusion et la maturation des nouvelles fibres formées se retrouvent alors perturbées, résultant en une myogenèse insuffisante.

de cette division, la dystrophine est polarisée avec la protéine MARK2 (*microtubule affinity regulating kinase 2*) à un pôle de la cellule qui donnera naissance à la cellule fille s'auto-renouvelant. La protéine PARD3 (*par-3 family cell polarity regulator*) est localisée à l'autre pôle de la cellule qui donnera naissance à la cellule fille progénitrice. Mais en absence de dystrophine, l'alignement apico-basal de l'axe mitotique est altéré. La cellule devient alors incapable de se diviser et entrera en sénescence, réduisant ainsi le nombre de progéniteurs myogéniques participant à la régénération musculaire [13]. Étant donné que les études observent toujours la présence de progéniteurs exprimant la myogénine lors de la progression de la pathologie, bien que réduite selon certaines études [11], d'autres mécanismes semblent donc être impliqués dans la régulation de la différenciation des CSM dans la DMD.

En outre, d'autres études démontrent une différenciation accrue et accélérée des CSM dystrophiques [10, 14]. En effet, deux marqueurs de différenciation (la myogénine et MEF2A pour *myocyte enhancer factor 2A*) sont exprimés plus rapidement et de façon plus importante chez des CSM mdx *in vivo*, *in vitro* et *ex vivo*, soulignant le caractère autonome à la cellule de cette altération [10, 14]. De plus, un nombre important de myofibres expriment la chaîne lourde de myosine embryonnaire, signe d'une différenciation incomplète dans le muscle dystrophique. Cette expression s'accompagne d'une petite taille des myofibres [10]. La présence de longues chaînes de noyaux centraux marque également l'immaturité persistante de ces cellules [14], signe d'une capacité régénérative des CSM insuffisante et incomplète (Figure 1).

Ainsi, la régulation des CSM dans le contexte de la DMD est complexe puisque les résultats sont différents selon le modèle et l'approche utilisés. La dimension spatiotemporelle de la pathologie [8], une variable difficile à mesurer et à prendre en compte, ajoute un niveau de complexité à la compréhension de la physiopathologie de la DMD.

Un rôle de l'AMPK dans la régulation des cellules souches musculaires dystrophiques ?

Comme mentionné plus tôt, l'activation de l'AMPK a des effets pléiotropes, notamment sur la régulation des CSM, au cours de la régénération aiguë et l'homéostasie du muscle squelettique. Dans le cas de la DMD, des études ont montré d'autres rôles de l'AMPK, l'identifiant comme une cible thérapeutique potentielle.

Les fibres rapides qui ont un métabolisme principalement glycolytique sont plus sensibles aux dommages liés aux contractions musculaires dans la DMD que les fibres lentes (ayant un métabolisme plus oxydatif) [15]. La conversion de myofibres via l'activation pharmacologique de l'AMPK dans un modèle dystrophique a permis de rendre le muscle squelettique plus résistant aux dommages grâce à une conversion métabolique oxydative entraînant une augmentation de la

proportion de fibres lentes [15]. En plus de son rôle dans la conversion de myofibres dans la DMD, l'activation de l'AMPK a également modulé l'expression de l'utrophine au sein des fibres lentes. Cette protéine homologue à la dystrophine permet ainsi de compenser en partie la perte de la dystrophine liée aux mutations du gène *DMD* [15]. Cette conversion vers des fibres plus oxydatives pourrait avoir un impact sur les CSM. Un métabolisme plus oxydatif permettrait en effet aux CSM d'entrer en différenciation et de poursuivre la myogenèse [3], plutôt que de rester à un stade d'activation et de prolifération.

Par ailleurs, dans un modèle mdx fibrotique, des macrophages pro-inflammatoires envahissent en permanence le muscle strié squelettique et sécrètent du TGF- β (*transforming growth factor beta*), un facteur stimulant la production et la sécrétion du collagène par les fibroblastes, favorisant ainsi la fibrose musculaire [16]. Étant donné que l'AMPK permet la transition des macrophages pro-inflammatoires vers un phénotype réparateur, son activation chez des souris mdx fibrotiques promeut la résolution de l'inflammation en induisant la diminution de facteurs pro-inflammatoires en faveur de facteurs anti-inflammatoires. Juban *et al.* ont démontré que l'AMPK réduisait l'expression de TGF- β , diminuant ainsi la fibrose, améliorant la régénération musculaire et réduisant le nombre anormalement élevé de CSM dans le muscle [16]. Cette régulation des CSM pourrait s'expliquer par la réduction de facteurs pro-inflammatoires sécrétés par les macrophages, connus pour promouvoir la prolifération des CSM au détriment de leur différenciation [17]. Cette étude démontre ainsi un nouveau rôle de l'AMPK dans la DMD concernant la régulation des macrophages, acteurs communiquant activement avec les CSM et leur microenvironnement.

En conclusion, l'activation de l'AMPK a de multiples effets pléiotropes au sein du muscle squelettique dans le contexte de la DMD. Malgré son implication dans la régulation des CSM, peu d'études ont à ce jour documenté ce rôle dans cette pathologie. De futurs travaux sont donc nécessaires pour valider l'hypothèse de l'implication de l'AMPK dans la régulation des CSM dystrophiques. Bien que l'étude des CSM dans la DMD soit complexe, l'investigation du métabolisme de ces cellules, via notamment l'étude de l'AMPK, permettrait d'apporter des connaissances supplémentaires sur la DMD et, ainsi, de développer de futures pistes thérapeutiques ciblant l'activité des CSM tout en améliorant durablement le phénotype dystrophique. ♦

SUMMARY

Muscle stem cells and metabolism in Duchenne muscular dystrophy, focus on AMPK

Through their myogenic activity, adult muscle stem cells (MuSCs) are crucial for the regeneration of striated skeletal muscle. Once activated, they proliferate, differentiate and then fuse to repair or form new muscle fibers (myofibers). Their progression through myogenesis requires a complex regulation involving multiple players such as metabolism, in particular via AMPK. This protein kinase regulates the self-renewal and myonuclear accretion of MuSCs after acute skeletal muscle injury or skeletal muscle contraction. However, in a context of dystrophy such as Duchenne muscular dystrophy (DMD), the regenera-

tive capacity of MuSCs is reduced, presumably due to an increase of the proliferation that is detrimental to differentiation. We are interested here in the potential of metabolism to regulate the myogenic activity of MuSCs in DMD via AMPK. ♦

PRIX SFM

Audrey Saugues a reçu le prix Master lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Frontera WR, Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int* 2015 ; 96 (3) : 183-195.
2. Murach KA, Fry CS, Dupont-Versteegden EE, *et al.* Fusion and beyond: Satellite cell contributions to loading-induced skeletal muscle adaptation. *FASEB J* 2021 ; 35 (10) : e21893.
3. Relaix F, Bencze M, Borok MJ, *et al.* Perspectives on skeletal muscle stem cells. *Nat Commun* 2021 ; 12 (1) : 692.
4. Folmes CDL, Dzeja PP, Nelson TJ, *et al.* Metabolic Plasticity in Stem Cell Homeostasis and Differentiation. *Cell Stem Cell* 2012 ; 11 (5) : 596-606.
5. Mounier R, Théret M, Lantier L, *et al.* Expanding roles for AMPK in skeletal muscle plasticity. *Trends Endocrinol Metab* 2015 ; 26 (6) : 275-286.
6. Theret M, Gsaiar L, Schaffer B, *et al.* AMPK α 1-LDH pathway regulates muscle stem cell self-renewal by controlling metabolic homeostasis. *EMBO J* 2017 ; 36 (13) : 1946-1962.
7. Kneppers A, Ben Larbi S, Theret M, *et al.* AMPK α 2 is a skeletal muscle stem cell intrinsic regulator of myonuclear accretion. *iScience* 2023 ; 26 (12) : 108343.
8. Dadgar S, Wang Z, Johnston H, *et al.* Asynchronous remodeling is a driver of failed regeneration in Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Biol* 2014 ; 207 (1) : 139-158.
9. Duan D, Goemans N, Takeda S, *et al.* Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers* 2021 ; 7 (1) : 13.
10. Ribeiro AF, Souza LS, Almeida CF, *et al.* Muscle satellite cells and impaired late stage regeneration in different murine models for muscular dystrophies. *Sci Rep* 2019 ; 9 (1) : 11842.
11. Kottlors M, Kirschner J. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Tissue Res* 2010 ; 340 (3) : 541-548.
12. Anderson JE. A Role for Nitric Oxide in Muscle Repair: Nitric Oxide-mediated Activation of Muscle Satellite Cells. *Mol Biol Cell* 2000 ; 11 (5) : 1859-1874.
13. Dumont NA, Wang YX, von Maltzahn J, *et al.* Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division. *Nat Med* 2015 ; 21 (12) : 1455-1463.
14. Yablonka-Reuveni Z, Anderson JE. Satellite cells from dystrophic (mdx) mice display accelerated differentiation in primary cultures and in isolated myofibers. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat* 2006 ; 235 (1) : 203-212.
15. Ljubicic V, Khogali S, Renaud JM, *et al.* Chronic AMPK stimulation attenuates adaptive signaling in dystrophic skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012 ; 302 (1) : C110-121.
16. Juban G, Saclier M, Yacoub-Youssef H, *et al.* AMPK Activation Regulates LTBP4-Dependent TGF- β 1 Secretion by Pro-inflammatory Macrophages and Controls Fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy. *Cell Rep* 2018 ; 25 (8) : 2163-2176.e6.
17. Arnold L, Henry A, Poron F, *et al.* Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med* 2007 ; 204 (5) : 1057-1069.

TIRÉS À PART

A. Saugues

► Les fibres du muscle squelettique sont des syncytia formés par la fusion de dizaines ou centaines de cellules progénitrices mononucléées. Au cours de la myogenèse, les noyaux arrivant des cellules progénitrices parcourent un long chemin avant d'être positionnés à la périphérie d'une myofibre mature. Une fois à la périphérie, ces noyaux sont régulièrement espacés et chacun est transcriptionnellement responsable de sa proportion de cytoplasme environnant, connue comme « domaine nucléaire ». La perturbation de ces domaines peut être observée dans différentes myopathies, suggérant leur importance pour la fonctionnalité du muscle squelettique. Cependant, les mécanismes régulant la stabilité des domaines nucléaires sont mal connus. Nous prenons ici l'exemple de MACF1, une protéine associée aux microtubules, comme une actrice essentielle dans l'organisation des domaines nucléaires, afin de mettre en lumière le rôle potentiel des microtubules et de leur réseau protéique associé pour la stabilité de ces domaines et donc pour la fonctionnalité des myofibres. ◀

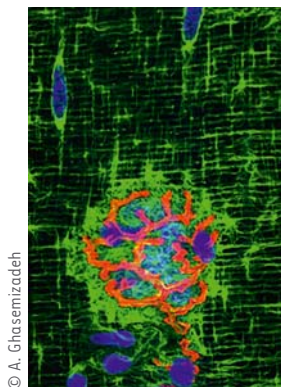
Répartition et façonnage des domaines nucléaires : les garants de la fonctionnalité des fibres musculaires

Le muscle strié squelettique est le tissu le plus abondant de notre corps, essentiel pour permettre tous les mouvements volontaires, assurer le maintien de la posture, la régulation thermique du corps, mais également le stockage d'énergie sous forme de glycogène [1]. Chaque muscle squelettique est composé de centaines ou milliers de cellules individuelles géantes, les fibres musculaires, qui sont agencées en faisceaux.

Vignette : Photo représentative (63X) du réseau de microtubules (en vert) organisé en grille le long de la myofibre ou concentré autour des noyaux (en bleu) et aux jonctions neuromusculaires (en rouge).

Contrôles des paramètres des domaines nucléaires par les microtubules et la protéine MACF1

Alireza Ghasemizadeh^{1,2}, Vincent Gache¹



© A. Ghasemizadeh

¹Pathophysiology and Genetics of Neuron and Muscle (PGNM), Institut NeuroMyoGène (INMG, CNRS UMR5261, Inserm U1315), Université Claude Bernard Lyon 1, France.

²Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB, Inserm U955), Université Paris-Est Créteil, France.

alireza.ghasemizadeh@inserm.fr
vincent.gache@inserm.fr

Chaque fibre est issue de la fusion de dizaines ou centaines de cellules progénitrices, les myoblastes. Elle contient donc des dizaines ou centaines de noyaux qui sont régulièrement ordonnés le long de l'axe longitudinal, à la périphérie des fibres, à l'exception de certaines zones comme celle de la jonction neuromusculaire (JNM) où plusieurs noyaux s'agrègent au niveau postsynaptique [2]. Cette distribution des noyaux le long des fibres a donné naissance à la notion de « domaine nucléaire » (Figure 1) qui représente schématiquement une portion de cytoplasme de la fibre soutenue transcriptionnellement par un noyau [3].

Au fil des années, diverses études ont contribué à comprendre les enjeux de ces domaines nucléaires. Des études ont montré la relation directe entre la taille des fibres et la quantité de noyaux qui les composent, et comment chaque noyau contribue à une activité transcriptionnelle homogène le long de la fibre en répondant localement aux besoins transcriptionnels de celle-ci [4, 5].

Y a-t-il donc une importance fonctionnelle pour la fibre musculaire à maintenir les domaines nucléaires intègres et/ou à garder les noyaux en périphérie des fibres ? Une première réponse à cette question provient de la physiopathologie de différentes myopathies telles que les myopathies centronucléaires. Dans celles-ci, de nombreux noyaux sont mal positionnés, centralisés à l'intérieur des fibres, et ce phénotype nucléaire est souvent relié à une atrophie et/ou à une faiblesse musculaire [6]. Cette observation soulève une question fondamentale : les noyaux des fibres mal positionnés ont-ils un impact sur la fonctionna-

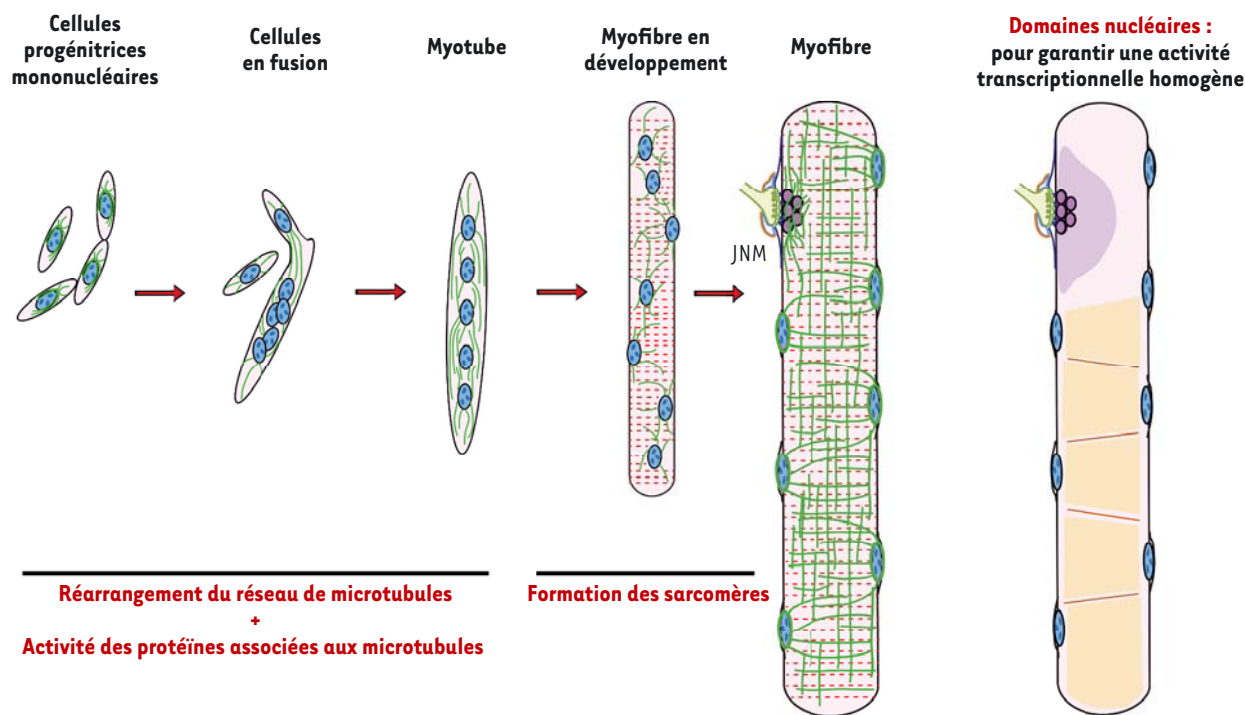


Figure 1. Illustration des mouvements nucléaires, étape par étape, pendant la myogenèse. Aperçu global du positionnement des noyaux, orchestré par les changements majeurs dans l'organisation des microtubules (en vert) et médié par les protéines associées aux microtubules durant les premières étapes de la myogenèse. Dans la phase latente, c'est la formation des sarcomères (en rouge) qui pousse les noyaux vers la périphérie des myofibres en développement.

lité musculaire et donc un rôle dans le développement/la progression des myopathies présentant un défaut de localisation nucléaire ? Il est très difficile de répondre à cette question chez les patients, car les analyses histologiques sont essentiellement réalisées après le développement de phénotypes cliniques remarquables. Cependant, en 2012, une étude menée chez la drosophile a montré que l'interaction de deux protéines associées aux microtubules, les protéines MAP7 et Kif5B, est responsable de l'alignement des noyaux lors de la formation initiale des fibres musculaires. Or, l'étude a également montré que l'absence de ces deux protéines entraînait la formation d'agrégats nucléaires dans les fibres musculaires et que cette désorganisation nucléaire était corrélée avec une réduction de la fonctionnalité musculaire. Cette dernière était reflétée par une réduction de la vitesse de déplacement des larves de drosophiles ayant des noyaux agrégés [7]. De plus, ces phénotypes étaient « sauvables » en réexprimant l'une ou l'autre des protéines. Cela montre que le phénomène de positionnement nucléaire dans les fibres musculaires est un mécanisme dynamique et que les noyaux dans les fibres sont « mobilisables ». Les mécanismes régulant la formation et/ou l'organisation des domaines nucléaires sont donc potentiellement des leviers permettant de contrôler la physiologie des fibres musculaires et sont donc potentiellement altérés dans les myopathies présentant des noyaux « mal positionnés ».

Le réseau microtubulaire dans la formation des domaines nucléaires

Les microtubules sont des structures dynamiques composées d'enchaînement d' α - et de β -tubulines. Ils ont la capacité de se former et/ou de se désassembler dans le cytoplasme de la cellule. L'organisation du réseau microtubulaire varie en fonction du type cellulaire et/ou de l'état cellulaire. Il sert de squelette pour le maintien de la forme cellulaire, mais aussi de support dynamique pour le transport subcellulaire du noyau, des mitochondries ou même des ARNs [8]. Dans le muscle squelettique, l'organisation des microtubules est fortement modifiée pendant la myogenèse, passant d'une projection astrale dans les cellules progénitrices mononucléées (les myoblastes), à une organisation parallèle dans les myotubes nouvellement formés (issus de la fusion des myoblastes), et enfin à un réseau dense en forme de grille dans les myofibres contractiles (Figure 1). Des études *in vitro* ont montré que différentes protéines associées aux microtubules (MAPs pour *Microtubule associated proteins*) tirent parti des changements de l'organisation des microtubules pour réguler le positionnement des noyaux durant les premiers

stades de la myogenèse [9]. Plus tard, lors de la maturation des fibres, la formation des sarcomères composés d'actine et de myosine pousse les noyaux vers la périphérie des fibres en formation [10]. Cependant, on observe la présence d'une « cage dense » autour des noyaux de la fibre musculaire mature, composée essentiellement de microtubules (Figure 2), suggérant que ceux-ci peuvent participer au maintien des noyaux à la périphérie de la fibre et donc à la stabilité des domaines nucléaires. Mais quelles sont les MAPs présentes dans les fibres musculaires et lesquelles contrôlent cette stabilité/ancrage des noyaux ?

Identification des MAPs spécifiques des fibres musculaires

Pour répondre à cette question, une identification à grande échelle du protéome lié aux microtubules a été réalisée dans l'équipe, à partir de myotubes immatures *in vitro* (avec des noyaux alignés au centre) et de myotubes contractiles « matures » (avec des noyaux majoritairement positionnés en périphérie). Une analyse par spectrométrie de masse a permis d'identifier les MAPs [11]. La plus abondante des protéines présentes dans le protéome partagé était la protéine MACF1 (pour *Microtubule actin cross-linking factor 1*) et pour laquelle une mutation génétique qui avait déjà été identifiée, conduisait au développement d'une maladie neuromusculaire [12]. Son orthologue chez la drosophile avait été décrit comme maintenant les microtubules périnucléaires dans les fibres musculaires [13], suggérant que les phénotypes observés chez les patients présentant cette mutation dans le gène *MACF1* pourraient être liés au rôle de cette protéine dans l'organisation des microtubules et des noyaux dans les fibres.

MACF1, une protéine clef dans la stabilité des domaines nucléaires

L'immunomarquage de la protéine MACF1 montre une forte accumulation autour des noyaux dans les fibres et une colocalisation avec le réseau microtubulaire. Nos données ont mis en évidence que MACF1 participe à l'organisation des domaines nucléaires, car la diminution de son expression entraîne une augmentation de la dynamique des noyaux dans les fibres matures, une augmentation de la dynamique microtubulaire et une réduction de la distance entre les noyaux adjacents dans les fibres musculaires formées *in vitro*. Si la protéine MACF1 pouvait contrôler le positionnement nucléaire *in vitro*, dans quelle mesure son absence pourrait-elle affecter ce dernier dans un modèle murin ? Et surtout, quelles conséquences seraient observables sur la fonctionnalité de ces fibres musculaires ?

Pour répondre à ces questions, nous avons analysé les noyaux des fibres musculaires dans un modèle de souris invalidées pour le gène *Macf1* exclusivement dans les myofibres (Figure 3). Nous avons observé que l'absence de MACF1 entraîne une désorganisation du réseau de microtubules, des noyaux plus ronds, moins dispersés et internalisés dans les fibres, une réduction du regroupement des noyaux post-synaptiques et une fragmentation des jonctions neuro-musculaires entraînant une atrophie musculaire. Alors que ces phénotypes pouvaient être observés dans des souris jeunes

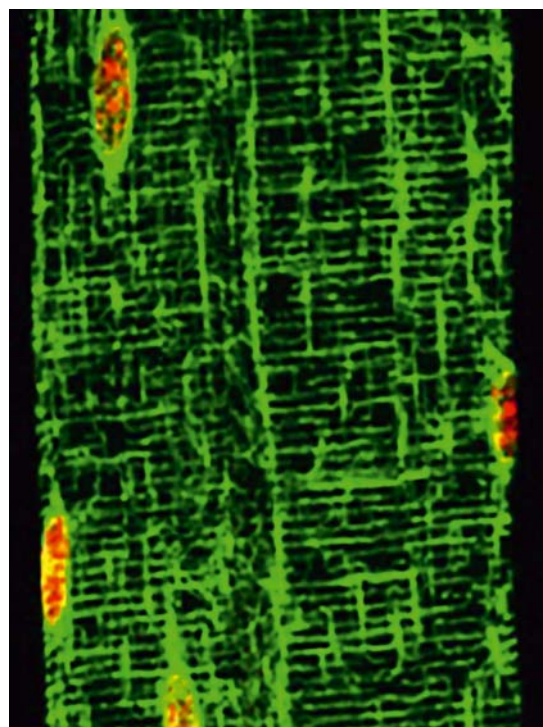


Figure 2. Organisation des microtubules et des noyaux dans les myofibres. Photo représentative (63X) du réseau de microtubules (en vert) organisé soit en grille le long de la myofibre, soit en cages denses autour des noyaux (en rouge), à la périphérie d'une myofibre saine.

(âgées de 2 mois) et s'aggraver avec l'âge, l'observation de noyaux internalisés et/ou mal positionnés n'apparaissait que chez des souris plus âgées (autour de 12 mois). En combinant nos résultats d'immunomarquage et une approche par microscopie électronique, nous avons montré que les souris invalidées pour le gène *Macf1* souffraient d'une accumulation progressive des mitochondries à l'intérieur des fibres, entraînant une mauvaise cohésion des myofibrilles entre elles et conduisant à l'internalisation de noyaux dans la fibre musculaire. L'augmentation du contenu mitochondrial est liée à l'expression aberrante de marqueurs de la biogenèse mitochondriale, probablement due à une réinitialisation de la mécano-transduction dans les fibres : changement de forme des noyaux, d'organisation de la chromatine et donc de l'expression de gènes dans les souris déficientes. En conséquence, nous avons pu montrer que les souris déficientes pour *Macf1* ont une capacité réduite de production de force, soulignant l'importance de l'organisation des microtubules et du positionnement nucléaire pour le maintien d'une fonctionnalité optimum des myofibres (Figure 3) [14].

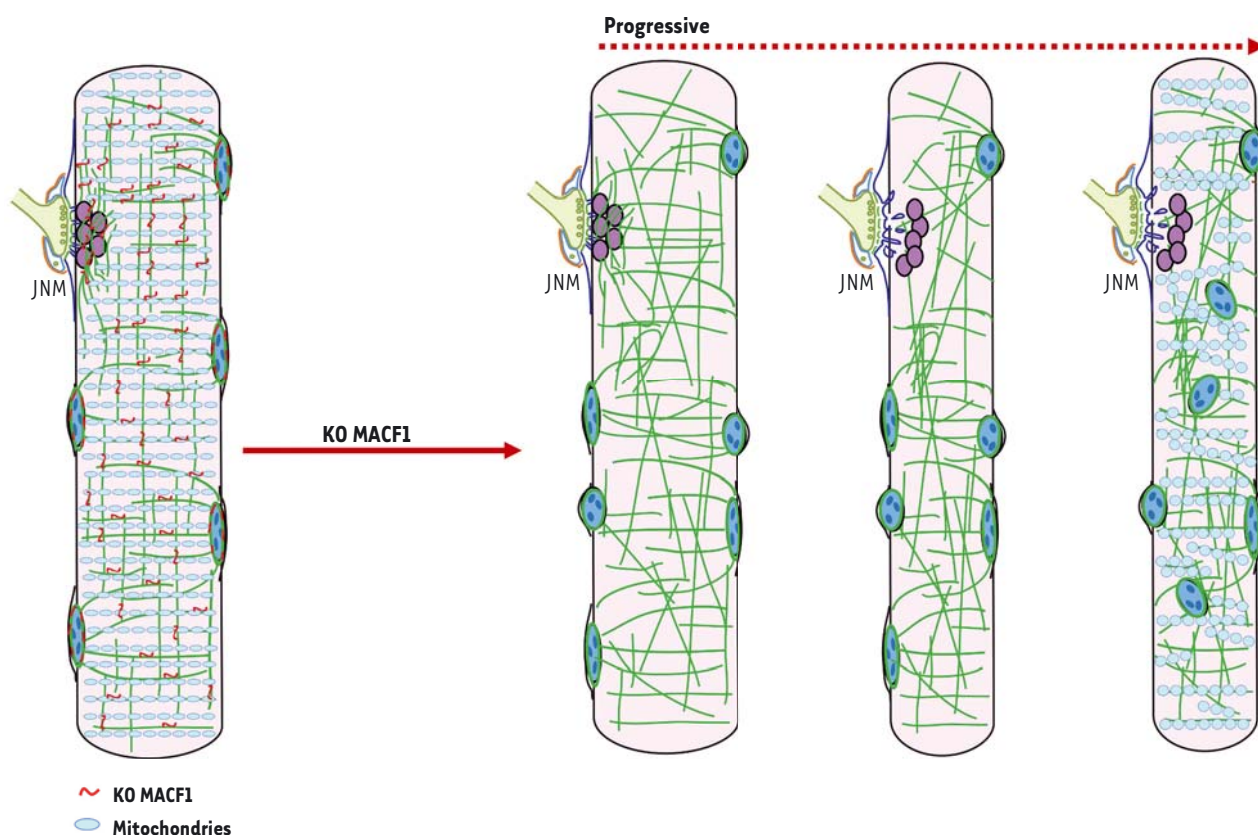


Figure 3. Modèle proposé du rôle de MACF1 dans le muscle squelettique. Dans les myofibres saines (à gauche), MACF1 contribue à l'organisation du réseau des microtubules, au maintien de la forme et du positionnement des noyaux, mais également à la stabilité des jonctions neuromusculaires. Suite à la suppression spécifique de *Macf1* dans les muscles squelettiques, ce sont les microtubules qui sont d'abord désorganisés, ce qui entraîne une altération du positionnement et de la forme des noyaux à la périphérie des myofibres. Avec l'âge, tandis que l'atrophie est observée suite à l'instabilité des jonctions neuromusculaires et des noyaux post-synaptiques, une augmentation globale des mitochondries est observée dans les myofibres, probablement en raison de l'altération de la forme des noyaux et de l'expression génique. En conséquence, l'organisation subcellulaire des myofibres est perturbée, ce qui entraîne une internalisation des noyaux dans les myofibres âgées.

Conclusions et perspectives pour le domaine

Les recherches menées sur le modèle murin invalidé pour le gène *Macf1* spécifiquement dans les fibres musculaires confirment l'importance du réseau microtubulaire et des MAPs dans la régulation des domaines nucléaires, mais également soulèvent plusieurs questions. En effet, d'une part, parmi toutes les autres MAPs qui ont été identifiées dans les myotubes matures, on peut s'interroger sur le potentiel de dérèglement de l'expression ou du fonctionnement de certaines d'entre elles dans d'autres myopathies présentant des noyaux mal positionnés. D'autre part, dans quelle mesure le déplacement et le changement de forme des noyaux dans certaines myopathies contribuent-ils à l'aggravation et/ou au développement de phénotypes observés chez ces patients ? Et enfin, peut-on imaginer que certains régulateurs du mouvement et du positionnement nucléaires soient un jour ciblés afin d'améliorer partiellement la fonctionnalité des fibres musculaires chez certains des patients ? ♦

SUMMARY

Myonuclear domain settings by microtubules and MACF1

Skeletal myofibers are syncytia made from the fusion of dozens or hundreds of mononuclear progenitor cells. Along myogenesis, the arriving nuclei from the progenitor cells have a long journey before being positioned at the periphery of a mature myofiber. Once at the periphery, nuclei are regularly spaced and each nucleus is transcriptionally responsible for its surrounding proportion of cytoplasm, known as the myonuclear domain. Disruption of these domains can be observed in various myopathies, suggesting their importance for skeletal muscle functionality. However, little is known about mechanisms regulating the myonuclear domain stability and organization. Here we take the example of MACF1, a microtubule-associated protein, as an essential actor in myonuclear domain organization, to highlight the

potential role of microtubules and their associated proteome network for the stability of these domains and hence for proper myofiber functionality. ♦

PRIX SFM

Alireza Ghasemizadeh a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2021.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Frontera WR, Ochala J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcif Tissue Int* 2015 ; 96 (3) : 183-95.
2. Cadot B, Gache V, Gomes ER. Moving and positioning the nucleus in skeletal muscle – one step at a time. *Nucleus* 2015 ; 6 (5) : 373-81.
3. Hall ZW, Ralston E. Nuclear domains in muscle cells. *Cell* 1989 ; 59 (5) : 771-2.
4. Hansson KA, Eftestøl E, Bruusgaard JC, et al. Myonuclear content regulates cell size with similar scaling properties in mice and humans. *Nat Commun* 2020 ; 11 (1) : 6288.
5. Denes LT, Kelley CP, Wang ET. Microtubule-based transport is essential to distribute RNA and nascent protein in skeletal muscle. *Nat Commun* 2021 ; 12 (1) : 6079.
6. Jungbluth H, Wallgren-Pettersson C, Laporte J. Centronuclear (myotubular) myopathy. *Orphanet J Rare Dis* 2008 ; 3 : 26.
7. Metzger T, Gache V, Xu M, et al. MAP and kinesin-dependent nuclear positioning is required for skeletal muscle function. *Nature* 2012 ; 484 (7392) : 120-4.
8. Goodson HV, Jonasson EM. Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018 ; 10 (6) : a022608.
9. Gache V, Gomes ER, Cadot B. Microtubule motors involved in nuclear movement during skeletal muscle differentiation. *Mol Biol Cell* 2017 ; 28 (7) : 865-874.
10. Roman W, Martins JP, Carvalho FA, et al. Myofibril contraction and crosslinking drive nuclear movement to the periphery of skeletal muscle. *Nat Cell Biol* 2017 ; 19 (10) : 1189-1201.
11. Couturier N, Gache V. Prix Master 2016 de la SFM : Domaine nucléaire et protéome microtubulaire au cours de la maturation des fibres musculaires. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 Hors série n° 1 : 63-66.
12. Jørgensen LH, Mosbech MB, Færgeman NJ, et al. Duplication in the Microtubule-Actin Cross-linking Factor 1 gene causes a novel neuromuscular condition. *Sci Rep* 2015 ; 4 : 5180.
13. Wang S, Reuveny A, Volk T. Nesprin provides elastic properties to muscle nuclei by cooperating with spectraplakins and EB1. *J Cell Biol* 2015 ; 209 (4) : 529-38.
14. Ghasemizadeh A, Christin E, Guiraud A, et al. MACF1 controls skeletal muscle function through the microtubule-dependent localization of extra-synaptic myonuclei and mitochondria biogenesis. *eLife* 2021 ; 10 : e70490.

TIRÉS À PART

A. Ghasemizadeh

FSSCR
French Society for Stem Cell Research

7th Annual Meeting - LYON
17-19 November 2025

SAVE THE DATE!

Keynote speakers
• Denis Duboule (Collège de France)
• Maria-Elena Torres-Padilla (Helmholtz Munich)

www.fsscr-meeting.org

► Le modèle Force-Vitesse-Endurance (FoVE) est un nouveau cadre théorique couplé à une modélisation innovante pour évaluer les muscles striés squelettiques. Il se base sur les relations fondamentales « force-vitesse » et « force-temps » qui décrivent les capacités de production de force du muscle en fonction respectivement de la vitesse de contraction et de la durée d'exercice. En les combinant, le modèle FoVE offre une vue complète des capacités fonctionnelles du muscle à différentes vitesses, avec et sans fatigue.

Un protocole expérimental unique et rapide a été développé sur un système de mesure de force isocinétique afin d'obtenir les paramètres FoVE du modèle. Il permet de mesurer la force musculaire à différentes vitesses de contraction pendant une durée totale de 3 minutes. Appliqués au modèle murin, les résultats obtenus montrent ainsi des différences significatives de la fonction du muscle *tibialis anterior*. Les femelles présentent une force maximale normalisée plus élevée. À l'inverse, les mâles présentent une capacité de vitesse maximale initiale en condition de fatigue plus importante. Cette approche fournit une cartographie complète de la fonction musculaire, dépassant les évaluations traditionnelles de la force isométrique. Elle peut ainsi être appliquée à la recherche fondamentale dans les modèles précliniques et à la recherche translationnelle chez l'Homme. ◀

Fortius, citius, diutius

Les capacités contractiles du muscle strié squelettique sont essentielles aux mouvements et aux locomotions humaines et animales. Elles sont donc centrales pour la performance sportive, mais également pour la qualité de vie des personnes souffrant de déficiences ou d'altérations de la fonction musculaire. Lorsque l'on parle de « capacité fonctionnelle mus-

Modèle Force-Vitesse-Endurance (FoVE)

Une nouvelle méthode d'évaluation fonctionnelle *in situ* des muscles striés squelettiques pour les modèles murins

Maximilien Bowen¹, Christophe Hourdé^{1,2},
Anne-Cécile Durieux², Damien Freyssen²,
Pierre Samozino¹, Baptiste Morel¹



© M. Bowen

Laboratoire Interuniversitaire
de Biologie de la Motricité LIBM

¹Université Savoie Mont Blanc,
73000 Chambéry, France

²Université Jean Monnet,
42100 Saint-Étienne, France

maximilien.bowen@univ-smb.fr
baptiste.morel-prieur@univ-smb.fr

culaire », la première chose qui vient en tête est la force. Cependant, cette production de force dépend grandement de la vitesse de contraction et de l'état de fatigue de la fonction neuromusculaire. Dans le contexte de l'exploration fonctionnelle des capacités musculaires humaines, un nouveau cadre théorique Force-Vitesse-Endurance (FoVE) a été développé [1]. Il permet de caractériser de manière plus exhaustive les capacités mécaniques de cet organe. En revanche, sur le modèle murin, la plupart du temps, la qualité de la fonction musculaire est évaluée par des tests de force isométrique sans fatigue [2]. La caractérisation des capacités de force n'est jamais effectuée dans différentes modalités de vitesse et de fatigue. Le modèle FoVE transposé à l'expérimentation animale a pour objectif de permettre une cartographie complète des capacités fonctionnelles du muscle applicable aux études pré-cliniques.

Modèle théorique

En raison de leur structure moléculaire, les fibres musculaires striées squelettiques produisent une force maximale plus faible lorsque la vitesse de raccourcissement est plus élevée [3, 4]. Cette relation est formulée mathématiquement par une fonction homographique force-vitesse $F(V)$, définie par trois paramètres F_0 , V_0 et C (Équation 1 ; Figure 1A). Chacun de ces paramètres représente une caractéristique différente du muscle.

- F_0 représente le plus grand niveau de force que le muscle peut produire.
- V_0 représente la plus grande vitesse de raccourcissement du muscle.
- C caractérise la courbure de la relation force-vitesse. Elle influence grandement la capacité de production de puissance maximale. Plus la valeur de cette courbure est importante, moins le muscle est apte à produire de la puissance, et vice versa.

$$F(V) = F_0 \left(\frac{V_0 - V}{V_0 + C \cdot V} \right) \quad (\text{Équation 1})$$

Par ailleurs, la force maximale que peut produire le muscle diminue avec la répétition de contractions ou avec la durée d'exercice, c'est le phénomène de fatigue musculaire.

Lors d'un effort au cours duquel chaque contraction est maximale (*all-out*), cette relation peut être décrite par une fonction force-temps $F(t)$ (Équation 2 ; Figure 1B) définie par trois paramètres : F_i , F_c et τ [5].

- F_i , représente la force que le muscle produit à la première contraction sans fatigue (initiale).

- F_c représente le niveau de force qui peut être maintenu en condition de fatigue musculaire extrême (critique). Cette valeur de force critique est non-nulle.

- τ représente la vitesse à laquelle la fatigue (baisse de force) se développe. Plus ce temps caractéristique est grand, plus le muscle est endurant. À l'inverse, plus τ est petit, plus le muscle perd rapidement en force jusqu'à atteindre la force critique.

$$F(t, V) = F_c(V) + (F_i(V) - F_c(V))e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (\text{Équation 2})$$

Ces deux relations fondamentales, $F(V)$ et $F(t)$, expliquent la diminution de la force, respectivement avec l'augmentation de la vitesse de contraction et/ou avec la durée ou le nombre de contractions répétées dans le temps. Ces deux relations définissent ainsi les capacités de production de force chez un grand nombre d'espèces animales [6]. Chez l'Homme, elles ont été explorées de différentes manières : de la fibre musculaire *in vitro* [7], en passant par le muscle isolé (e.g. *adductor pollicis* [8]), aux tâches complexes pluri-articulaires (saut, pédalage, course à pied [9, 10]). La constance de ces observations indique que les relations force-vitesse ($F(V)$) et intensité-temps ($F(t)$), ainsi que les mécanismes biomécaniques et physiologiques sous-jacents, sont des caractéristiques clés du muscle strié squelettique (Figure 1).

Ainsi, en combinant les relations $F(V)$ et $F(t)$ (Équations 1 et 2), une relation unique force-vitesse-temps ($F(t, V)$) peut être développée (Figure 2). En un seul modèle, il est donc possible d'obtenir une cartographie complète des capacités fonctionnelles du muscle. Le niveau de production de force peut être mesuré en considérant les effets combinés de la vitesse et de la fatigue (temps) ainsi que leurs interactions. Cette cartographie permet de déterminer les indices de force maximale (F_{0_i} et F_{0_c}), de vitesse maximale (V_{0_i} et V_{0_c}) et de puissance maximale (P_{max_i} et P_{max_c}), sans et avec fatigue (respectivement indice « i » : initial et « c » : critique).

Protocole expérimental

Afin d'obtenir les paramètres FoVE de la cartographie force-vitesse-endurance, un court protocole expérimental unique de 3 minutes a

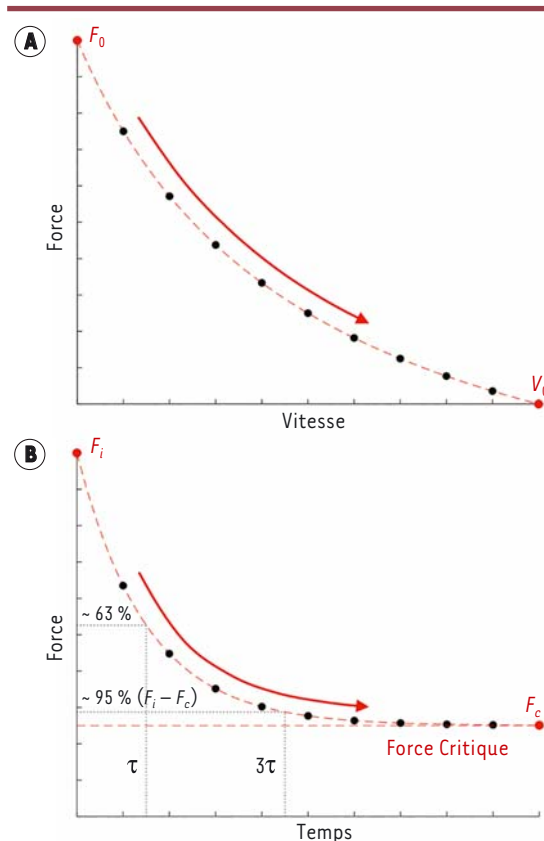


Figure 1. Modélisation des capacités musculaires. **A)** Relation force-vitesse $F(V)$ (Équation 1) : La force diminue avec la vitesse de contraction du muscle, entre F_0 et V_0 . **B)** Relation force-temps $F(t)$ (Équation 3) : La force diminue au cours du temps lors de contractions répétées et converge vers une intensité non-nulle appelée force critique F_c .

été développé sur un ergomètre isocinétique dédié au petit animal (souris) (modèle 1305A, Aurora Scientific®, Dublin, Irlande) (Figure 3A). Ce système permet de mesurer la force générée par le muscle en fonction de différentes vitesses de déplacement imposées (raccourcissement musculaire).

L'expérimentation FoVE est réalisée chez la souris sous anesthésie générale gazeuse. Le muscle *tibialis anterior* (TA) est relié par son tendon distal au module isocinétique de mesure de force (Figure 3C). Les contractions sont induites par des stimulations électriques, transmises par des électrodes crochant directement le nerf sciatique mis à nu en amont (signal carré monophasique, intensité 2 mA, fréquence 100 Hz). Le module isocinétique est réglé pour un raccourcissement musculaire de 1,5 mm (soit ~ 25 % de la longueur du muscle au repos L_0).

Le protocole FoVE consiste à mesurer la force produite par un muscle électro-stimulé en balayant différentes

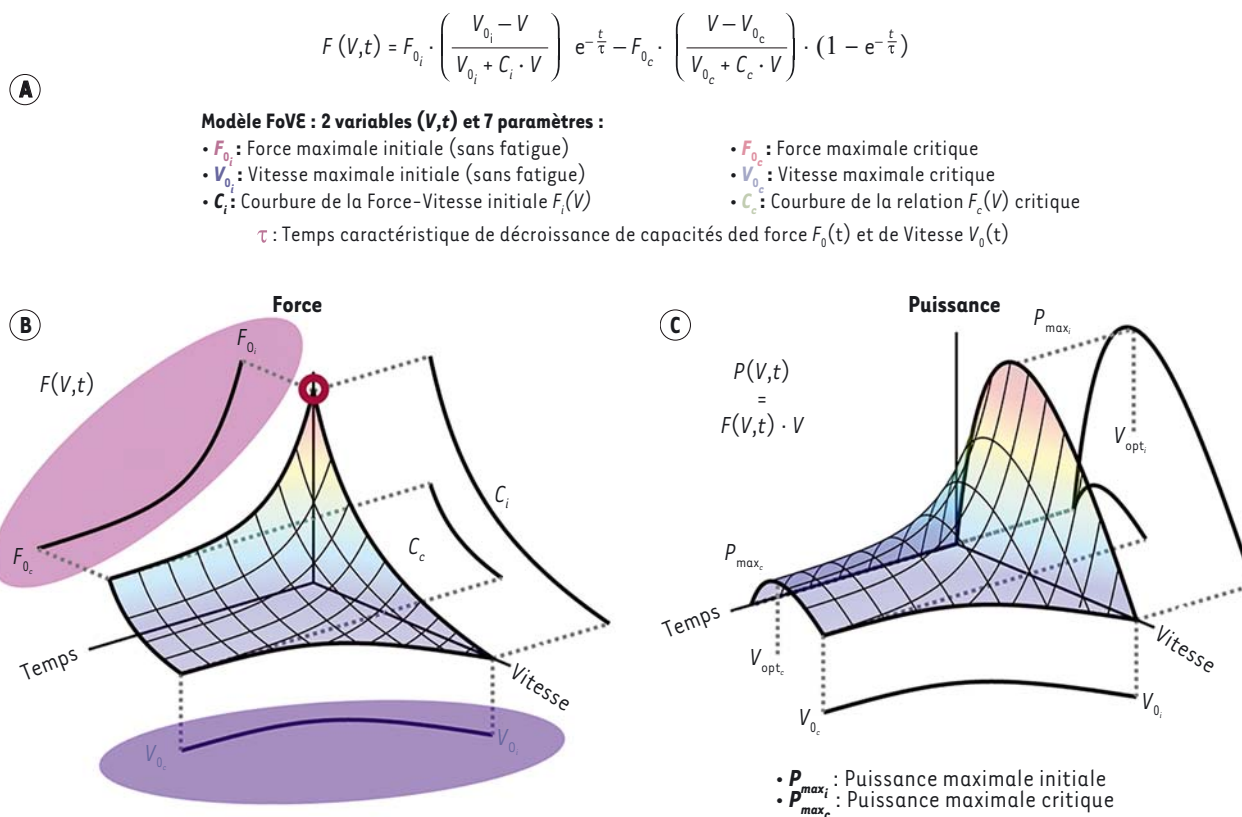


Figure 2. Modèle FoVE. A) Modèle unique à 7 paramètres et 2 variables : équation de la force maximale produite (F) par le muscle en fonction de la vitesse (V) de contraction et du temps (t). Les paramètres se réfèrent directement aux capacités initiales de force-vitesse sans fatigue et aux capacités critiques du muscle fatigué. **B)** Relation force-vitesse-temps, $F(V, t)$, représentant les capacités maximales de production de force du muscle en fonction de la vitesse et du temps. Cercle rouge : capacité de force initiale à vitesse nulle sans fatigue, conceptuellement proche de la force maximale isométrique initiale traditionnellement évaluée. **C)** Relation puissance-vitesse-temps, $P(V, t)$, représentant l'évolution de la puissance maximale au cours du temps lors de contractions maximales répétées.

vitesse imposées de contraction (de 2 à 40 mm/s, par pas de 3 mm/s, puis de 40 mm/s à 2 mm/s), sur des cycles de 20 s. La durée totale du protocole est de 180 s (soit 9 cycles de balayage force-vitesse) (Figure 3B). Après chaque contraction, un retour passif sans électrostimulation est effectué à -3 mm/s afin de revenir à la position de référence. La force maximale de chaque contraction du protocole FOVE est ainsi mesurée. Le modèle FoVE (fonction $F(V, t)$) est ensuite ajusté aux données de force sur les 180 s pour déterminer les 7 paramètres du modèle (F_{0_i} ; F_{0_c} ; V_{0_i} ; V_{0_c} ; C_i ; C_c ; τ) (Figure 3D).

Résultats

Les données présentées ici sont exprimées en force normalisée à la masse du muscle étudié ($\text{N} \cdot \text{g}^{-1}$). À titre d'exemple, cette approche a été appliquée à l'étude du dimorphisme sexuel (souris sauvages C57Bl6 âgées de 4 mois : mâles contre femelles, $n = 6$ par groupe, Figure 4). Le modèle FoVE complet en 3 dimensions (Figure 4E) permet d'obtenir par projection les graphiques en 2 dimensions :

force-temps (Figure 4A), vitesse-temps (Figure 4D), et force-vitesse, sans fatigue (Figure 4B) et avec (Figure 4C). Ainsi, il est possible de mettre en évidence une force maximale isométrique normalisée (F_{0_i}) plus importante chez les femelles. À l'inverse, la vitesse maximale de contraction était plus grande chez les mâles à la fois au début du protocole (V_{0_i}) et en condition de fatigue (F_{0_c}).

Conclusion

La force isométrique maximale traditionnellement évaluée ne reflète qu'une des nombreuses capacités de contraction musculaire. L'évaluation FoVE fournit, quant à elle, une cartographie plus complète. Les indices qui en découlent décrivent des caractéristiques de force, de vitesse et d'endurance qui sont gouvernées par des mécanismes biologiques et

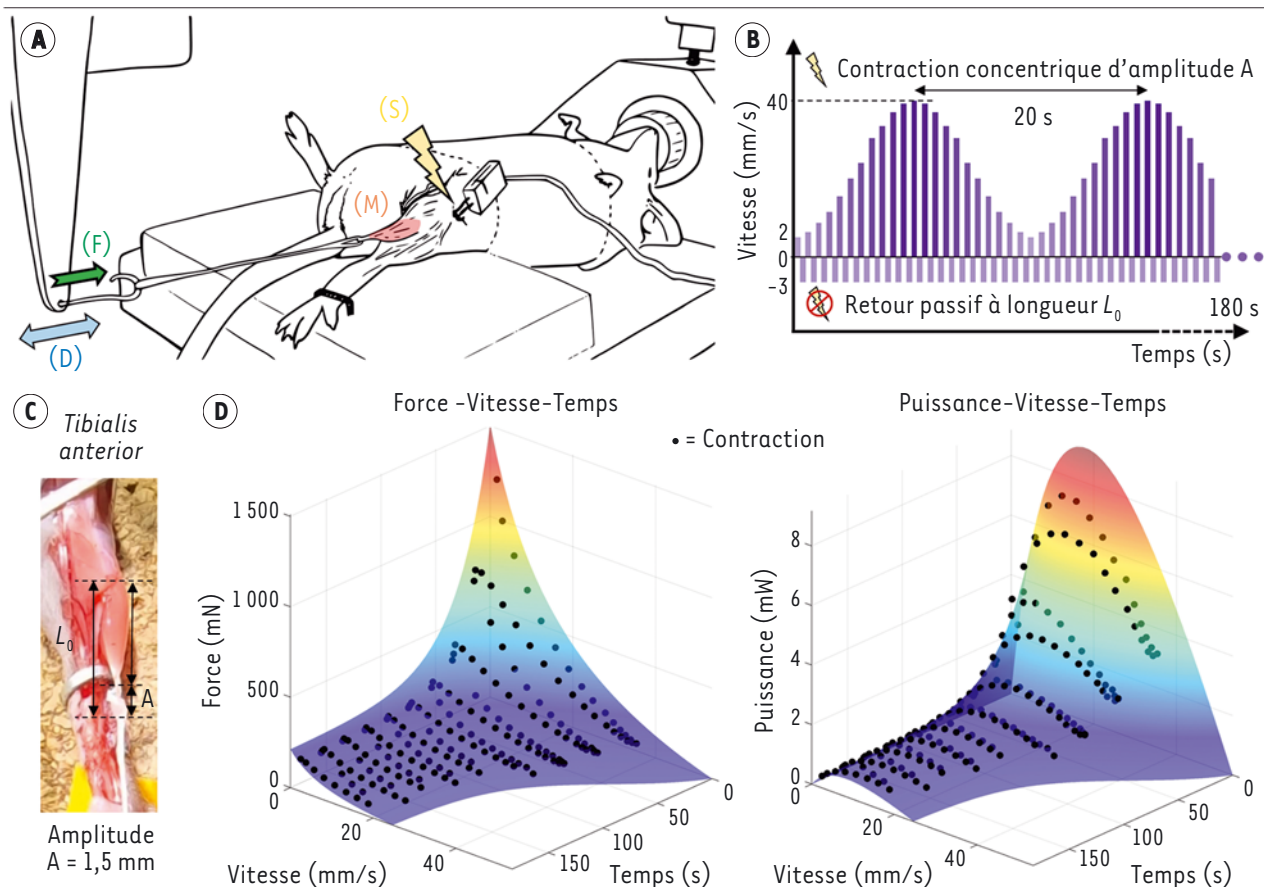


Figure 3. Protocole FoVE. **A)** Système Aurora Scientific 1305A avec module isocinétique : déplacement (D) isocinétique d'amplitude $A = 1,5$ mm et mesure de force (F) pendant la contraction concentrique induite par stimulation électrique (S) (tétanos 100 Hz 2 mA) du nerf sciatique innervant le muscle (M) *tibialis anterior*. **B)** Protocole « all-out sinus » de 180 s avec balayage continu en vitesse imposée (de 2 à 40 mm/s, puis de 40 à 2 mm/s toutes les 20 s). Retour passif à la longueur initiale L_0 , sans stimulation électrique imposée, en 500 ms, à vitesse isocinétique de -3 mm/s. **C)** Liaison du *tibialis anterior* par son tendon distal au bras de levier du système Aurora, par un fil rigide. Raccourcissement d'amplitude A du muscle lors de contraction concentrique imposée par stimulation électrique. **D)** Résultats types : modélisation du protocole FoVE à partir de chaque point noir représentant la force ou la puissance produite lors d'une contraction, en fonction de la vitesse de la contraction concentrique imposée et du temps du protocole.

mécaniques distincts. Ainsi, lorsque l'on cherche à comparer deux groupes (e.g. sexe, phénotype, thérapeutique), il est possible de voir des différences ou non, dans un sens ou dans un autre, en fonction des indices considérés. Par exemple, nous avons vu que les femelles présentaient une force maximale (en $N \cdot g^{-1}$) plus élevée, alors que ce sont les mâles qui possédaient les capacités de vitesse les plus grandes. Il y a fort à parier que l'approche historique de mesure de force maximale isométrique ait pu passer au travers d'effets importants de telle ou telle thérapeutique en ne regardant pas « au bon endroit ». Un intérêt supplémentaire de l'approche FoVE réside dans son applicabilité chez l'Homme. Ainsi, il est possible, dans le cadre de la recherche translationnelle, d'évaluer les capacités FoVE avec des protocoles sur de petits groupes musculaires (*adductor pollicis*), des groupes musculaires plus importants (extenseurs de genou) ou sur des tâches locomotrices (pédalage, course). ♦

SUMMARY

Force-Velocity-Endurance (FoVE) Model: a new method for functional striated skeletal muscle in situ evaluation in murine models

The FoVE model is a new theoretical framework coupled with innovative modeling to evaluate the striated skeletal muscle function. The theoretical model is based on two fundamental relationships: the force-velocity relationship and the force-time relationship. These relationships describe the muscle force production capacity as a function of contraction velocity and exercise duration, respectively. By combining them, the FoVE model offers a comprehensive view of the muscle functional capacities at various velocities, with and without fatigue.

A unique experimental protocol has been developed using an isokinetic force measurement system to obtain the FoVE

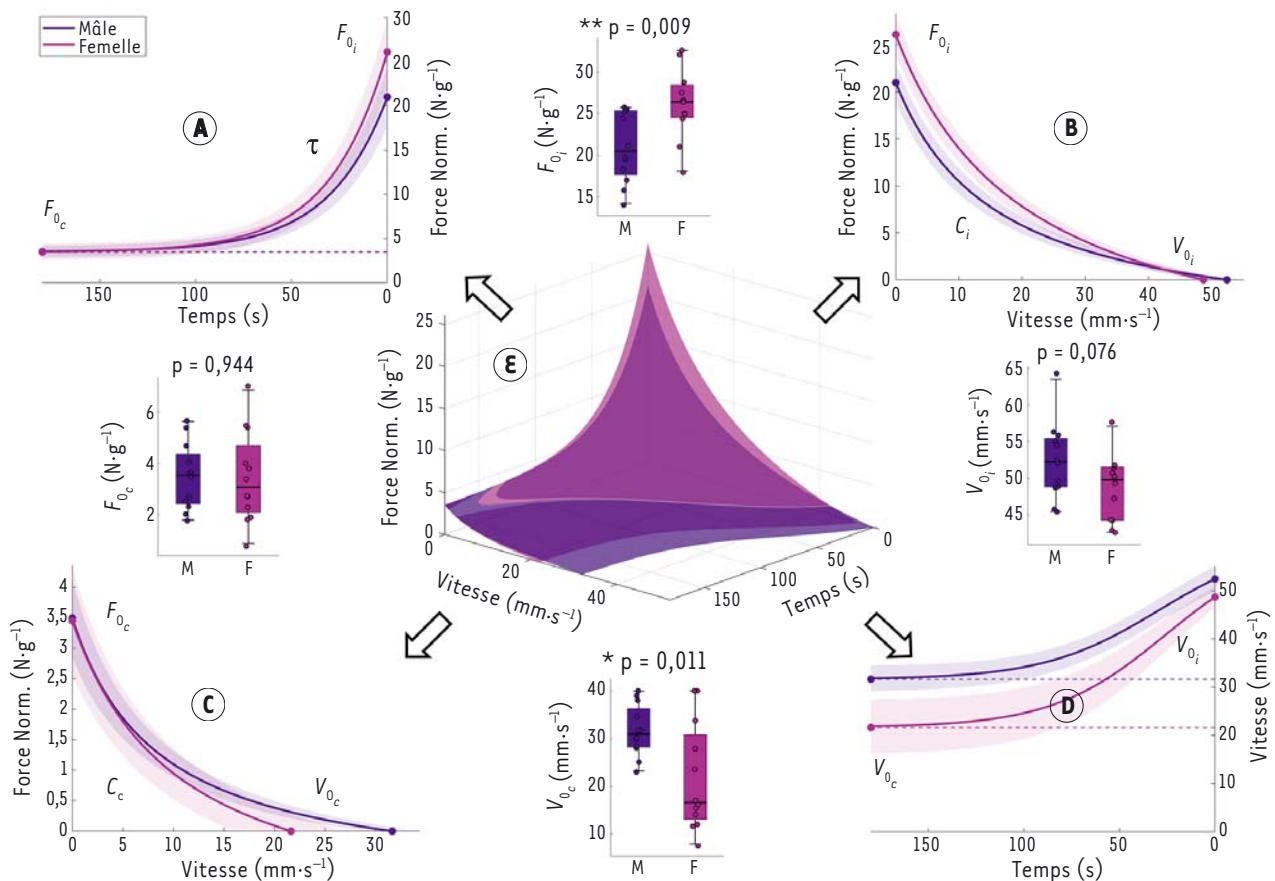


Figure 4. Résultat tridimensionnel FoVE et projections bidimensionnelles. A) Relation force (isométrique)–temps. **B)** Relation force–vitesse initiale. **C)** Relation force–vitesse critique. **D)** Relation vitesse (maximale)–temps. **E)** Relation FoVE force–vitesse–temps.

parameters of the model. This protocol enables muscle force to be measured at various contraction velocities for a total duration of 3 minutes. Applied to mouse model, the results obtained with the FoVE model show significant differences in the functional capacity of the *tibialis anterior* muscle. Females have a higher normalized initial maximal force. Conversely, males have a higher initial maximum velocity capacity under fatigue conditions.

This approach provides a comprehensive mapping of muscle function, surpassing traditional assessments of isometric strength. It can be applied to basic research in pre-clinical models and translational research in humans. ♦

FINANCEMENT

Cette étude a été financée par l'Agence nationale de la recherche (ANR) dans le cadre du projet FOVEAL (anr.fr/Projet-ANR-22-CE14-0073).

PRIX SFM

Maximilien Bowen a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2023.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Bowen M, Samozino P, Vonderscher M, et al. Mathematical modeling of exercise fatigability in the severe domain: A unifying integrative framework in isokinetic condition. *J Theor Biol* 2024 ; 578 : 111696.
2. Hakim CH, Wasala NB, Duan D. Evaluation of muscle function of the extensor digitorum longus muscle ex vivo and tibialis anterior muscle in situ in mice. *J Vis Exp* 2013 ; (72) : 50183.
3. Hill AV. The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences* 1938 ; 126 (843) : 136-195.
4. Seow CY. Hill's equation of muscle performance and its hidden insight on molecular mechanisms. *J Gen Physiol* 2013 ; 142 (6) : 561-73.
5. Morton RH. A new modelling approach demonstrating the inability to make up for lost time in endurance running events. *IMA J Manag Mathematics* 2009 ; 20 (2) : 109-120.
6. Wilson AM, Hubel TY, Wilshin SD, et al. Biomechanics of predator–prey arms race in lion, zebra, cheetah and impala. *Nature* 2018 ; 554 (7691) : 183-188.
7. Sundberg CW, Hunter SK, Trappe SW, et al. Effects of elevated H⁺ and Pi on the contractile mechanics of skeletal muscle fibres from young and old men: implications for muscle fatigue in humans. *J Physiol* 2018 ; 596 (17) : 3993-4015.
8. De Ruyter CJ, Didden WJM, Jones DA, et al. The force-velocity relationship of human adductor pollicis muscle during stretch and the effects of fatigue. *J Physiol* 2000 ; 526 (3) : 671-681.
9. Cross MR, Brughelli M, Samozino P, et al. Methods of Power–Force–Velocity Profiling During Sprint Running: A Narrative Review. *Sports Med* 2017 ; 47 (7) : 1255-1269.
10. Hughson R, Orok C, Staudt L. A High Velocity Treadmill Running Test to Assess Endurance Running Potential. *Int J Sports Med* 1984 ; 5 (1) : 23-5.

TIRÉS À PART

M. Bowen

L'annuaire des laboratoires

Une cartographie de la recherche neuromusculaire française

Gaëlle Kpalma^{1,2,3}, Gisèle Bonne^{2,3,4},
Tanya Stojkovic^{1,2,3,5}, Guilhem Solé^{2,4,6},
Jean-Philippe Camdessanché^{5,7}

Le recensement des laboratoires de recherche consacrés aux maladies neuromusculaires est une initiative portée depuis plusieurs années par la Société française de myologie (SFM - <https://sfmyologie.org/>) et la filière de santé maladies rares neuromusculaires Filnemus. En 2019, ce recensement a été formalisé par l'annuaire des laboratoires de recherche, accessible à l'ensemble de la communauté sur le site Internet de Filnemus (<https://www.filnemus.fr/carte-interactive/les-laboratoires-de-recherche>). En 2022, la Société francophone du nerf périphérique (SFNP) a rejoint cette initiative.

Cet annuaire a pour objectif d'améliorer la visibilité des acteurs de la recherche neuromusculaire française et de faciliter les interactions entre équipes afin de mettre en œuvre des projets collaboratifs. Le moteur de recherche, fonctionnant par un système de mots-clés et d'une carte interactive, permet d'identifier facilement les laboratoires et équipes, mais également leurs thématiques de recherche, modèles et expertises.

Actuellement, 44 laboratoires et 69 équipes de recherche y sont enregistrés. Afin de faciliter le référencement et la mise à jour des informations renseignées dans l'annuaire, un module de saisie en ligne est maintenant disponible. Il permet aux membres des laboratoires et équipes de s'y connecter avec un accès personnel afin de créer, compléter et mettre à jour directement les données de leur structure.

Deux types de profil ont ainsi été mis en place. Le profil « Gestionnaire de laboratoire » permet de créer/mettre à jour la fiche laboratoire et de créer les équipes de recherche qui y sont rattachées. Le profil « Responsable d'équipe », qui est lié à une équipe de recherche, permet de compléter/mettre à jour les données sur la fiche équipe.

Des tutoriels sont à disposition afin d'accompagner les utilisateurs dans la saisie et de faciliter la prise en main de l'outil.



© G. Kpalma

Enfin, une interface avec l'annuaire des formations Filnemus et un recensement des offres de stages à destination des étudiants font partie des évolutions à venir de l'annuaire.

Si votre laboratoire/équipe n'est pas référencé(e), n'hésitez pas à créer un profil et à mettre à jour votre fiche.

¹APHP, Sorbonne Université, Centre de référence neuromusculaire Nord/Est/Île-de-France, Institut de Myologie, Paris, France

²Filière de santé maladies rares neuromusculaires, Filnemus

³Sorbonne Université, Inserm, Institut de Myologie, Centre de recherche en myologie, Paris, France

⁴Société française de myologie (SFM)

⁵Société francophone du nerf périphérique (SFNP)

⁶Centre de référence des maladies neuromusculaires AOC, Service de neurologie et maladies neuromusculaires, Euro-NMD, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, France

⁷Service de neurologie, Hôpital Nord, CHU Saint-Étienne, France
gaelle.kpalma@aphp.fr



Lien vers l'annuaire des laboratoires de recherche



Créer un compte pour l'annuaire des laboratoires

Laboratories directory: Mapping of the French neuromuscular research

LIENS D'INTÉRÊT

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

TIRÉS À PART
G. Kpalma



L'intégration de la grande diversité génétique de la population humaine grâce au pangénome

Résumé

Le consortium du pangénome humain de référence (*Human Pangenome Reference Consortium*) présente ici sa première version [1]. Ce pangénome contient 47 assemblages diploïdes phasés provenant d'une cohorte d'individus d'origines génétiques diverses. Ces assemblages couvrent plus de 99 % de la séquence attendue dans chaque génome et sont précis à plus de 99 % au niveau de la structure et des paires de bases. Sur la base des alignements des assemblages, le pangénome capture les variants et haplotypes déjà connus, mais révèle aussi de nouveaux allèles à des loci structurellement complexes. Par rapport au génome de référence GRCh38, 119 millions de paires de bases de séquences polymorphes euchromatiques et 1115 duplications de gènes ont été ajoutées. Environ 90 millions de paires de bases supplémentaires proviennent de variations structurelles. L'utilisation du projet de pangénome pour analyser les données à lecture courte a permis de réduire les erreurs de découverte de petits variants de 34 % et d'augmenter le nombre de variants structurels détectés par haplotype de 104 % par rapport au génome de référence GRCh38, ce qui a conduit à la caractérisation de la grande majorité des allèles de variants structurels par échantillon.

Commentaire

Le *Human Pangenome Reference Consortium* (HPRC) est un projet fondé par le *National Human Genome Research Institute* (NHGRI). Il a pour but de générer un « pangénome » regroupant 350 génomes de populations différentes afin de prendre en compte la diversité génétique de toutes les populations.



© L. Benarroch

Sorbonne Université, Inserm,
Centre de recherche en Myologie,
Institut de Myologie, Paris,
France
louise.benarroch@inserm.fr

Le premier génome complet a été publié en 2013. Il avait été généré à partir du séquençage d'un seul individu, puis il a été mis à jour continuellement au cours des vingt dernières années. Cet assemblage contient de nombreuses erreurs et reste incomplet malgré les nombreuses mises à jour, générant des biais dans les analyses génétiques sous-jacentes. Plus récemment, l'assemblage T2T (*Telomere-to-telomere*, T2T-CHM13v2.0) a permis d'améliorer les analyses génétiques, en apportant la séquence complète de tous les autosomes et du chromosome X. Mais cet assemblage ne représente toujours pas la diversité génétique de la population humaine.

En 2023, Liao *et al.* [1] ont publié la première version du pangénome humain, générée à partir de l'assemblage de 47 génomes de 13 populations différentes. Basé sur le séquençage à « longues lectures » (*long read*), cet assemblage permet une cartographie plus précise du génome humain, en donnant accès à des régions complexes comme celles hautement répétées ou encore les variants structuraux polymorphes. Cette première version est une avancée majeure dans le monde de la génomique. L'aboutissement de ce projet promet de grandes découvertes pour la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies génétiques. ♦

The pangenome integrates the vast genetic diversity of the human population

RÉFÉRENCE

1. Liao WW, Asri M, Ebler J, *et al.* A draft human pangenome reference. *Nature*. 2023 ; 617 (7960) : 312-324.

LIENS D'INTÉRÊTS

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

TIRÉS À PART

L. Benarroch

Lu pour Vous

Dounia Bouragba

Atlas du muscle squelettique vieillissant

Résumé

Le tissu musculaire squelettique est constitué de myofibrilles (MF) multinucléées lentes (type I) et rapides (type IIA, type IIX et fibres hybrides intermédiaires) dont la vitesse de contraction, la composition protéique structurale et les caractéristiques métaboliques (oxydatives ou glycolytiques) diffèrent. Sa réparation est assurée par des cellules souches musculaires (MuSC) mononucléées qui prolifèrent et se différencient, tout en s'auto-renouvelant pour repeupler le pool de réserve. Les MF sont aussi entourées de fibroblastes de soutien, de cellules de vascularisation, immunitaires et de Schwann, et d'axones neuronaux qui leur transmettent des potentiels d'action. Lors du vieillissement, on observe une perte de masse et de force musculaires, et une diminution du nombre et de la taille des MF rapides, ainsi que du nombre, de l'activation et de la prolifération des MuSC. Cependant, on ne sait pas si cette atrophie accrue est due à des modifications intrinsèques de l'expression génique des muscles, à l'impact du microenvironnement cellulaire ou à une combinaison des deux. D'autres facteurs supposés de ce vieillissement, tels que la sénescence des cellules souches, la dénervation, le dérèglement métabolique et l'inflammation chronique, ont été étudiés. Or, les études d'un mécanisme ou type cellulaire en particulier, ont créé un manque dans la compréhension du vieillissement musculaire dans son ensemble que l'article présenté tente de combler en procédant à un séquençage conjoint de *single cell RNA-seq* (cellule unique) et *single nuclei RNA-seq* (noyau unique) du muscle intercostal vieillissant chez l'Homme [1]. Les auteurs ont ainsi établi le profil de 90 902 cellules et de 92 259 noyaux uniques, provenant de 17 donneurs adultes. « L'atlas » du vieillissement obtenu (en accès libre : <https://www.muscleageingcellatlas.org>) met en évidence les changements transcriptionnels des MuSC, des MF et des cellules du microenvironnement, et des interactions cellule-cellule pouvant contribuer au phénotype du vieillissement. Ont aussi été constaté des sous-ensembles distincts de cellules souches musculaires qui présentent une

diminution des gènes de la biogenèse des ribosomes et une augmentation de l'expression de *CCL2* (*C-C Motif Chemokine Ligand 2*), ce qui entraîne des phénotypes de vieillissement différents. L'atlas révèle également une expansion des noyaux associés à la jonction neuromusculaire qui pourrait refléter une réinnervation, et il décrit comment la perte de MF à contraction rapide est atténuée par la régénération et la régulation à la hausse des marqueurs de type rapide dans les MF lentes avec l'âge.

Commentaire

Cette étude permet d'appréhender le vieillissement musculaire de manière globale. Elle a aussi permis de dépasser les limites des scRNA-seq et snRNA-seq. En effet, appliqués individuellement au muscle, le scRNA-seq ne peut pas capturer les MF en raison de leur grande taille, tandis que le snRNA-seq conduit à une perte de résolution pour les MuSC car elles sont moins abondantes que d'autres types de cellules mononucléaires dans le microenvironnement musculaire. Cependant, l'atlas présente des limites dues notamment à la relative petite taille de l'échantillon qui empêche la prise en compte d'autres covariables biologiques – le sexe, l'indice de masse corporelle (IMC) ou l'exercice physique – pouvant avoir un effet important sur le phénotype. De plus, en raison de la disponibilité limitée des échantillons, certains viennent de donneurs d'âge moyen (environ 50–60 ans), non considérés comme gériatriques, mais qui présentent déjà des caractéristiques du vieillissement. Enfin, cette étude assez pionnière repose sur un seul muscle, privilégiant ainsi une homogénéité des données. Mais il serait intéressant dans le futur d'avoir un aperçu plus global de la biologie du vieillissement musculaire car les groupes musculaires ont une origine développementale et une régulation génétique distinctes.

Human skeletal muscle ageing atlas

RÉFÉRENCE

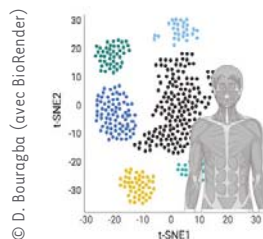
1. Kedlian VR, Wang Y, Liu T, et al. Human skeletal muscle aging atlas. *Nat Aging* 2024 ; 4 (5) : 727–744

LIENS D'INTÉRÊT

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

TIRÉS À PART

D. Bouragba



© D. Bouragba (avec BioRender)

Sorbonne Université,
Inserm, Institut de Myologie,
Centre de Recherche en Myologie,
Paris, France
dounia.bouragba@inserm.fr

A g e n d a

2 0 2 4

Journées annuelles de la filière Filnemus

12-13 décembre 2024
(Paris, France)

<https://www.filnemus.fr>

2 0 2 5

Congrès annuel de la Société Française de Neuropédiatrie (SFNP)

15-17 janvier 2025
(Lyon, France)

<https://www.sfnp-congres.com>

Première journée SMA France

24 janvier 2025
(Paris, France)

Contact : constant.lastel@kpl-paris.com - Inscriptions : <https://my.weezevent.com/journee-sma>

8^e Conférence internationale TREAT-NMD

6-8 février 2025
(Dubai, Émirats arabes unis)

<https://www.treat-nmd.org/>

Réunion annuelle du réseau français des syndromes myasthéniques congénitaux

7 février 2025
(Paris, France)

Contact : secretariat.csneuro@aphp.fr

Congrès CMT-France

22 mars 2025
(Strasbourg, France)

<https://cmt-france.org>

Congrès des Journées de neurologie de langue française (JNLF)

15-18 avril 2025
(Clermont, France)

<https://www.jnlf.fr>

Congrès annuel de la Peripheral Nerve Society (PNS)

17-20 mai 2025
(Édimbourg, Écosse)

<https://pnsociety.com/2025-pns-annual-meeting/>

Gordon Research Conference sur le muscle : couplage excitation-contraction

31 mai - 6 juin 2025
(Castelldefels, Espagne)

<https://www.grc.org/muscle-excitation-contraction-coupling-grs-conference/2025/>

Gordon Research Conference sur la myogénèse

7-13 juin 2025
(Lucca, Italie)

<https://www.grc.org/myogenesis-conference/2025/>

Atelier Euro-Méditerranée des pathologies neuromusculaires

19-20 juin 2025
(Marseille, France)

<https://www.filnemus.fr/>

11^e congrès de l'Académie européenne de neurologie (EAN)

21-24 juin 2025
(Séville, Espagne)

<https://www.ean.org/congress2025>

Conférence annuelle sur la SMA (Cure SMA)

25-27 juin 2025
(Anaheim, États-Unis)

<https://www.curesma.org/sma-professional-meeting/>

16^e Congrès de la Société européenne de neurologie pédiatrique (EPNS)

8-12 juillet 2025
(Munich, Allemagne)

<https://epns-congress.com>

Conférence internationale Dystrophies musculaires des ceintures (LGMD)

18-21 juillet 2025
(Orlando, États-Unis)

<https://nationallimb-girdle-muscular-dystrophy-conference.com>

30^e Congrès de la World Muscle Society (WMS)

7-11 octobre 2025
(Vienne, Autriche)

<https://www.wms2025.com>

AFMTÉLÉTHON

BÂTIR LES TRAITEMENTS
COMBATTRE LA MALADIE



LA MALADIE DÉTRUIT
MES MUSCLES.
LA RECHERCHE
EST EN TRAIN
DE LA BATTRE.

france•tv



Faites un don

telethon.fr

3637 service gratuit
+ prix appel

29-30 NOV.
2024

radiofrance

LA POSTE
GROUPE

Lions International

FONDATION
GROUPE edf