

AVANCÉES dans les myopathies des ceintures

- > dystrophies musculaires des ceintures
 - > LGMD (limb girdle muscular dystrophy)
 - > calpainopathie
 - > dysferlinopathie
 - > sarcoglycanopathie

SAVOIR &
COMPRENDRE

AVANCÉES
DE LA
RECHERCHE



Les myopathies ou dystrophies musculaires des ceintures (LGMD pour *Limb Girdle Muscular Dystrophy*) constituent un groupe hétérogène de maladies musculaires rares d'origine génétique. Elles se manifestent par un déficit et une atrophie des muscles du bassin (ceinture pelvienne) et des épaules (ceinture scapulaire). Les manifestations de la maladie sont très variables, allant de formes caractérisées par une simple fatigabilité jusqu'à des formes entraînant la perte de la marche, avec ou sans complications cardiaque et/ou respiratoire...

Ce document, publié à l'occasion de l'Assemblée Générale de l'AFM-Téléthon 2020 présente les actualités de l'année écoulée concernant la recherche dans les myopathies des ceintures : colloques internationaux, études ou essais cliniques en cours, publications scientifiques et médicales...

Il est téléchargeable sur le site internet de l'AFM-Téléthon où se trouvent aussi d'autres informations concernant les domaines scientifiques, médicaux, psychologiques, sociaux ou techniques dans les myopathies des ceintures :

WEB www.afm-telethon.fr > Concerné par la maladie > Myopathies des ceintures



Sommaire

Rédaction

▪ Myoinfo,
Département d'information sur
les maladies neuromusculaires
de l'AFM-Téléthon, Évry

Validation

▪ Dr. J. Andoni Urtizbera
Institut de Myologie, Paris
▪ Stéphanie Lorain, chef de
projet à la Direction
Scientifique de l'AFM-Téléthon

Remerciements

▪ Nous remercions toutes les
personnes concernées par
cette maladie qui ont pris le
temps de relire et d'amender
tout ou partie de ce document.

Que sont les dystrophies musculaires des ceintures ?.....	5
Vingt-six formes de LGMD récessives.....	6
Une 25 ^{ème} forme de LGMD confirmée en 2019.....	6
La 26 ^{ème} forme de LGMD est aussi liée à une protéine Popeye.....	6
Cinq formes de LGMD dominantes.....	8
Des nouvelles formes de myopathie des ceintures ?.....	8
Deux nouvelles observations d'alpha-dystroglycanopathie liée au gène <i>DPM3</i>	8
La myoferline en cause dans une myopathie des ceintures avec cardiomyopathie.....	8
Les protéines impliquées dans les LGMD.....	9
Protéines de la membrane.....	9
Protéines liées à la matrice extra-cellulaire.....	9
Protéines du sarcomère.....	9
Les protéines « Popeye ».....	11
Des évènements médico-scientifiques.....	12
Une mobilisation efficace face à la crise sanitaire.....	12
Colloques et congrès.....	12
Myology 2019.....	12
Congrès international de la <i>World Muscle Society (WMS)</i>	12
Journées de la Société Française de Myologie.....	13
6 ^{ème} Journée annuelle de FILNEMUS.....	13
Conférence scientifique de la <i>Jain Foundation</i>	13
Ateliers de travail de l' <i>ENMC</i>	13
Une conférence américaine entièrement dédiée aux LGMD.....	14
De nombreuses publications scientifiques.....	14
La thérapie génique.....	15
De l'utilisation des AAV comme vecteur de thérapie génique.....	15
Injection d'ADN nu dans les LGMD R1, R2 et R3.....	16
Lever la cardiotoxicité du produit de thérapie génique dans la LGMD R1 liée à la calpaïne.....	16
Dans la LGMD R2 liée à la dysferline.....	17
Dans la LGMD R4 liée au β -sarcoglycane : le SRP-9003.....	17
Des résultats encourageants pour la LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane.....	18
Des essais cliniques de pharmacologie.....	20
Essai WSiMD.....	20
Dans la LGMD R9.....	20
Le PF-06252616, un inhibiteur de la myostatine.....	20
Le déflazacort (Emflaza®).....	21
Le BBP-418.....	21
Des avancées en génétique grâce au NGS.....	22
De la fréquence des différentes formes de LGMD.....	25
Une étude brésilienne.....	25
Dans la région la plus peuplée de Norvège.....	25
Estimation de la prévalence de 9 formes de LGMD.....	26
L'IRM, un outil de diagnostic et de suivi performant.....	26
L'IRM quantitative : un biomarqueur à développer.....	27
L'IRM précise l'atteinte musculaire de la LGMD R1.....	28



Une analyse quantitative de l'IRM corps entier bien corrélée à la clinique dans la LGMD R9.....	28
Des études cliniques.....	29
Des bases de données internationales pour les LGMD	29
A la recherche d'un biomarqueur des lésions musculaires d'effort dans les LGMD récessives	29
Une histoire naturelle des LGMD R1 et R4	30
Dans la LGMD R2 liée à la dysferline.....	30
Étude COS 2	30
Une étude observationnelle de la LGMD R4 liée au bêta-sarcoglycane	31
Dans les dystroglycanopathies.....	31
Dans la LGMD R9 liée à FKRP.....	32
A la recherche de paramètres de suivi pertinents	32
Une base de données internationale	33
Le <i>Global FKRP Registry</i>	33
Une histoire naturelle norvégienne en cours.....	34
Une histoire naturelle promue par Généthon	34
L'exercice physique	35
Adapter les modalités de l'exercice selon les mécanismes de la maladie	35
L'entraînement en résistance dans les dystrophies musculaires.....	35
La sédentarité dans les LGMD	36
D'autres avancées dans la LGMD R1 liée à la calpaïne	37
Une meilleure connaissance de la protéine.....	37
La calpaïne ³ forme un homotrimère !.....	37
Les calpaïnes 1 et 2 jouent un rôle dans la réparation de la membrane..	37
Une nouvelle approche de thérapie cellulaire.....	38
D'autres avancées dans la LGMD R2 liée à la dysferline	39
Une goutte de sang pour dépister une dysferlinopathie.....	39
Analyse du profil génétique d'une grande cohorte japonaise.....	39
Mieux comprendre les mécanismes de la maladie.....	39
Le point sur les ferlines chez les vertébrés	39
Restaurer la réparation membranaire n'est pas suffisant	40
Agir sur la transformation graisseuse du muscle.....	40
A la recherche de pistes thérapeutiques chez la souris.....	41
Le losartan aggrave les lésions.....	41
La metformine favorise la réparation membranaire	42
Un agent thérapeutique japonais à améliorer	42
L'edasonexent : un anti-inflammatoire non stéroïdien	42
Combiner un travail d'entraînement musculaire concentrique et excentrique.....	43
D'autres avancées dans les sarcoglycanopathies.....	44
Sur la piste des correcteurs CFTR.....	44
Des nouveaux outils de recherche pour la LGMD R5.....	44
Un outil pour étudier la structure du γ -sarcoglycane	44
Un nouveau modèle de souris pour tester le saut d'exon	45
Mieux connaître les mécanismes dans LGMD R8 liée à TRIM 32 ..	46
D'autres avancées dans les dystroglycanopathies	47
Des corps embryoïdes pour mieux étudier la lame basale	47
Un double anticorps rétablit la liaison avec la matrice extracellulaire....	47
Des anomalies de la jonction neuromusculaire dans la LGMD R19	48
Dans la LGMD R9 liée à FKRP.....	49



Une thérapie cellulaire qui améliore la force des souris	49
Validation d'une molécule augmentant la glycosylation de l' α -dystroglycane dans des cellules malades	49
Un nouveau modèle expérimental	49
Une organisation en dimère indispensable	49
Mieux connaître la LGMD R11 liée à POMT1	50
LGMD R20 : augmenter le CDP-ribitol par thérapie génique	50
LGMD R12 : comprendre le rôle de l'anoctamine 5.....	51
Des noyaux mal positionnés et moins de calcium fonctionnel.....	51
Mieux décrire la LGMD R21 liée à POGlut1.....	52
D'autres avancées dans la LGMD R22 liée au collagène VI.....	53
Une hétérogénéité génétique complexe	53
Une étude descriptive brésilienne des myopathies par déficit en collagène VI.....	53
Une structure tendineuse altérée	54
Deux anomalies dans le gène COL6A3 chez le chien	54
D'autres avancées dans la LGMD R23 liée à la laminine α2.....	55
Des souris et des hommes	55
Un processus lésionnel qui varie au cours du temps dans la souris dy^{3K}/dy^{3K}	55
L'absence d'activation de certains gènes pourrait expliquer la sévérité de l'atteinte d'un modèle de souris de DMC1A	56
Un rôle mécanique... mais pas seulement.....	56
La laminine 111 : une laminine remplaçante.....	56
La piste du système CRISPR/Cas9.....	57
Vers une reconnexion par thérapie génique.....	58
La fibrose : un phénomène central dans le déficit en LAMA2	58
L'aspect neuropathique des déficits en LAMA2	59
Améliorer la conduction des nerfs moteur : l'acétate de glatiramère.....	60
Des avancées dans les LGMD dominantes.....	61
Mieux connaître le rôle et la fonction de DNAJB6.....	61
Deux nouvelles familles concernées par une LGMD D2 liée à la transportine.....	62
LGMD D3 liée à hnRNPD1 : encore le codon 378	62
Trois nouvelles familles et toujours une anomalie du codon 378	62
Une perte de fonction de hnRNPD1	63
LGMD D4 liée à la calpaïne 3 : un nouveau variant.....	63

*
* * *

55 articles scientifiques

publiés entre juin 2019 et juin 2020

5 essais cliniques dont 2 de thérapie génique

4 registres ou histoires naturelles

en cours ou en préparation dans le monde au 15 juin 2020



Que sont les dystrophies musculaires des ceintures ?

Les myopathies ou dystrophies musculaires des ceintures (LGMD pour *Limb Girdle Muscular Dystrophy*) constituent un groupe hétérogène de maladies musculaires rares qui concernent environ 5 à 6 personnes sur 1 million.

- Ce sont des maladies génétiques qui se transmettent le plus souvent sur un mode autosomique récessif et, beaucoup plus rarement, sur un mode autosomique dominant.

Un nouveau nom pour les myopathies des ceintures

Le nom des dystrophies musculaires des ceintures prend le format suivant : « LGMD, D (dominant) ou R (récessif) pour le mode de transmission, ordre de découverte (chiffre), nom de la protéine en cause ».

- Depuis la publication en 2018 des travaux d'un groupe d'experts internationaux et de représentants de patients réunis dans le cadre d'un atelier de travail organisé par l'*European Neuromuscular Centre (ENMC)* du 17 au 19 mars 2017 à Naarden (Pays-Bas) :

- les dystrophies musculaires des ceintures sont définies comme :
« des maladies génétiques héréditaires qui touchent primitivement le muscle squelettique et qui se manifestent par une faiblesse musculaire progressive, à prédominance proximale en rapport avec une perte de fibres musculaires.

Pour être considérée comme une authentique dystrophie musculaire des ceintures, une LGMD doit avoir été rapportée dans au moins deux familles non apparentées dont les membres malades ont acquis une marche autonome. Les patients doivent présenter un taux de CPK élevé, des images de dégénérescence musculaire au cours de l'évolution de la maladie et des altérations dystrophiques à l'histologie musculaire, le tout pouvant aboutir à terme à une dégénérescence complète des muscles les plus touchés. » ;

- cette nouvelle classification est plus explicite, précise et évolutive qu'auparavant permettant ainsi l'intégration des futures formes de LGMD à découvrir ; elle conserve l'information sur le **mode de transmission** et une numérotation correspondant à l'**ordre de découverte**/description, auxquelles a été rajoutée une information sur la **protéine en cause**

229th ENMC international workshop: Limb girdle muscular dystrophies - Nomenclature and reformed classification Naarden, the Netherlands, 17-19 March 2017.

Straub V, Murphy A, Udd B; LGMD workshop study group.

Neuromuscul Disord. 2018 Aug;28(8):702-7

WEB www.enmc.org/download/limb-girdle-muscular-dystrophies-nomenclature-and-reformed-classification

Une **maladie** est dite **rare** quand elle touche moins d'une personne sur 2 000. Les maladies rares font l'objet d'une politique de santé publique commune dans les domaines de la recherche, de l'information et de la prise en charge.

Atteinte musculaire proximale

Les muscles proximaux sont les muscles qui sont proches de l'axe du corps. Ils sont situés aux racines des membres : muscles des épaules et des bras pour les membres supérieurs, muscles des hanches et des cuisses pour les membres inférieurs.

➤➤ Le système musculaire squelettique, Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.





Vingt-six formes de LGMD récessives

Parmi les formes autosomiques récessives, les calpaïnopathies (LGMD R1, ex-LGMD2A) sont les plus fréquentes. Viennent ensuite les anoctaminopathies (LGMD R12, ex-LGMD2L), les dysferlinopathies (LGMD R2, ex-LGMD2B) puis les sarcoglycanopathies (LGMD R3, R4, R5, R6, ex-LGMD2D, 2E, 2C et 2D). Cette répartition peut varier d'une zone géographique à l'autre.

Une 25^{ème} forme de LGMD confirmée en 2019

- L'existence de la LGMD R25 liée à POPDC1, décrite pour la première fois en 2016 chez 3 membres d'une famille albanaise, a été confirmée en avril 2019 par la publication de l'observation de 4 autres personnes issues de 3 familles différentes.
- L'analyse de l'exome entier de 1929 personnes à risque de myopathie héréditaire et présentant une faiblesse des muscles des ceintures et/ou une élévation des CPK inexplicée, a permis de détecter chez ces 4 personnes une anomalie dans le gène *BVES* qui code la **protéine POPDC1**. La LGMD R25 se manifeste, avec une grande variabilité intrafamiliale, par des signes musculaires et des troubles de conduction cardiaque plus ou moins marqués, mais toujours associés. La biopsie musculaire peut montrer une diminution importante de la présence de POPDC1 et POPDC2 au niveau de la membrane de la fibre musculaire, le sarcolemme.
- Les anomalies du gène *POPDC2* n'affecte que le cœur et sont responsables d'une cardiomyopathie isolée. L'existence d'une atteinte cardiaque dans la LGMD R25 liée à POPDC1 pourrait s'expliquer par une diminution de la protéine POPDC2 secondaire à celle de POPDC1.

[POPDC1-S201F causes muscular dystrophy and arrhythmia by affecting protein trafficking.](#)

Schindler, R. F. R., Scotton, C., Zhang *et al.*
J. Clin. Invest. 2016, 126: 239-253.

[Muscular dystrophy with arrhythmia caused by loss-of-function mutations in BVES.](#)

De Ridder W, Nelson I, Asselbergh B, De Paepe B, Beuvin M, Ben Yaou R, Masson C, Boland A, Deleuze JF, Maisonobe T, Eymard B, Symoens S, Schindler R, Brand T, Johnson K, Töpf A, Straub V, De Jonghe P, De Bleecker JL, Bonne G, Baets J.
Neurol Genet. 2019 Apr 1;5(2):e321.

La 26^{ème} forme de LGMD est aussi liée à une protéine Popeye

- Grâce à l'analyse de l'exome entier de 1 500 personnes présentant une faiblesse musculaire des ceintures ou une hyperCKémie non expliquée, un consortium international de chercheurs rapporte en décembre 2019, la découverte d'une anomalie génétique du **gène POPDC3** chez 5 personnes issues de 3 familles non apparentées. Celles-ci présentaient des signes classiques de myopathie des ceintures sans atteinte cardiaque. L'inhibition du gène *popdc3* dans des modèles animaux (poisson zèbre et xénope) entraîne la survenue d'une dystrophie musculaire.

[POPDC3 gene variants associate with a new form of limb girdle muscular dystrophy.](#)

Vissing J, Johnson K, Töpf A, Nafissi S, Díaz-Manera J, French VM, Schindler RF, Sarathchandra P, Løkken N, Rinné S, Freund M, Decher N, Müller T, Duno M, Krag T, Brand T, Straub V.
Ann Neurol. 2019 Dec; 86(6):832-843. (epub: 2019 Oct 14).



Nomenclature actuelle	Ancienne nomenclature	Gène	Protéine	Rôle de la protéine
LGMD R1 liée à la calpaïne 3	LGMD2A	<i>CAPN3</i>	Calpaïne 3	Enzyme spécifique du muscle squelettique, qui scinde les protéines en petits morceaux (protéase). Rôle dans l'organisation du sarcomère, la régulation du cytosquelette et l'apoptose.
LGMD R2 liée à la dysferline	LGMD2B	<i>DYSF</i>	Dysferline	Protéine localisée dans la membrane de la fibre musculaire, impliquée dans la réparation de la membrane de la cellule musculaire et dans les mécanismes de transport à l'intérieur de la cellule.
LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane	LGMD2D	<i>SGCA</i>	α -sarcoglycane	Les sarcoglycanes forment un complexe situé dans la membrane des cellules musculaires qui concourt à la stabilité et à la résistance mécanique de la membrane de la cellule lors des contractions du muscle.
LGMD R4 liée au β -sarcoglycane	LGMD2E	<i>SGCB</i>	β -sarcoglycane	
LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane	LGMD2C	<i>SGCG</i>	γ -sarcoglycane	
LGMD R6 liée au δ -sarcoglycane	LGMD2F	<i>SGCD</i>	δ -sarcoglycane	
LGMD R7 liée à la téléthonine	LGMD2G	<i>TCAP</i>	Téléthonine	Rôle dans le développement et la structure du sarcomère.
LGMD R8 liée à TRIM 32	LGMD2H	<i>TRIM32</i>	TRIM32	Enzyme qui se fixe aux protéines abimées pour qu'elles soient dégradées.
LGMD R9 liée à FKRП	LGMD2I	<i>FKRP</i>	FKRP	Protéine impliquée dans le bon fonctionnement de l' α -dystroglycane.
LGMD R10 liée à la titine	LGMD2J	<i>TTN</i>	Titine	Protéine impliquée dans le développement et la structure du sarcomère.
LGMD R11 liée à POMT1	LGMD2K	<i>POMT1</i>	POMT1	Protéine impliquée dans le bon fonctionnement de l' α -dystroglycane.
LGMD R12 liée à l'anoctamine 5	LGMD2L	<i>ANO5</i>	Anoctamine 5	Protéine impliquée dans les mécanismes de réparation membranaire.
LGMD R13 liée à la fukutine	LGMD2M	<i>FKTN</i>	Fukutine	Protéines impliquées dans le bon fonctionnement de l' α -dystroglycane.
LGMD R14 liée à POMT2	LGMD2N	<i>POMT2</i>	POMT2	
LGMD R15 liée à POMGnT1	LGMD2O	<i>POMGnT1</i>	POMGnT1	
LGMD R16 liée à l' α -dystroglycane	LGMD2P	<i>DAG1</i>	α et β dystroglycanes	Rôle dans la stabilité et la résistance mécanique de la membrane de la cellule lors des contractions musculaire.
LGMD R17 liée à la plectine	LGMD2Q	<i>PLEC</i>	Plectine	Protéine qui fait le lien entre la membrane des cellules et l'armature interne de ces cellules (cytosquelette).
LGMD R18 liée à TRAPPC11	LGMD2S	<i>TRAPPC11</i>	TRAPPC11	Protéine du complexe TRAPP impliqué dans le trafic membranaire.
LGMD R19 liée à GMPPB	LGMD2T	<i>GMPPB</i>	GMPPB	Rôle dans la glycosylation de l' α -dystroglycane
LGMD R20 liée à ISPD	LGMD2U	<i>ISPD</i>	ISPD	
LGMD R21 liée à POGLUT1	LGMD2Z	<i>POGLUT1</i>	Protéine O-transférase 1	Enzyme qui intervient dans un mécanisme de régénération musculaire
LGMD R22 liée au collagène 6	Myopathie de Bethlem récessive	<i>COL6A1, COL6A2, COL6A3</i>	Collagène 6	Constituant du tissu conjonctif qui entoure les fibres musculaires, qui les soutient et les relie entre elles.
LGMD R23 liée à la laminine- α 2 (mérosine)	Dystrophie musculaire liée à la laminine α 2	<i>LAMA2</i>	Laminine α 2 (mérosine)	Protéine de la membrane basale, laquelle entoure chaque fibre musculaire.
LGMD R24 liée à POMGNT2	Dystrophie musculaire liée à POMGNT2	<i>POMGNT2</i>	POMGNT2	Rôle dans la glycosylation de l' α -dystroglycane, lui permettant de se lier à la laminine α 2.
LGMD R25 liée à POPDC1	LGMD2X	<i>BVES</i>	POPDC1	Protéine transmembranaire qui se lie à l'AMPc
LGMD R26 liée à POPDC3	-	<i>POPDC3</i>	POPDC3	Protéine transmembranaire qui se lie à l'AMPc



Cinq formes de LGMD dominantes

- Les formes autosomiques dominantes (LGMD D) sont beaucoup plus rares que les formes autosomiques récessives (LGMD R), avec parfois seulement quelques familles rapportées pour un sous-type de LGMD D donné.

Nouvelle nomenclature	Ancienne nomenclature	Gène	Protéine	Rôle de la protéine
LGMD D1 liée à DNAJB6	LGMD1D	<i>DNAJB6</i>	DNAJB6	Protéine chaperonne, qui permet aux protéines en cours de synthèse de prendre leur forme dans l'espace (repliement tridimensionnel adéquat).
LGMD D2 liée à transportine 3	LGMD1F	<i>TNPO3</i>	Transportine 3	Protéine de la membrane nucléaire qui permet le transport dans le noyau de protéines nécessaires à la bonne maturation des ARN messagers.
LGMD D3 liée à HNRNPDL	LGMD1G	<i>HNRNPDL</i>	hnRNPDL	Protéine impliquée dans le métabolisme des ARN.
LGMD D4 liée à la calpaïne 3	LGMD 1I	<i>CAPN3</i>	Calpaïne 3	Enzyme spécifique du muscle squelettique, qui scinde les protéines en petits morceaux (protéase), et qui joue un rôle dans l'organisation du sarcomère, la régulation du cytosquelette et l'apoptose.
LGMD D5 liée au collagène 6	Myopathie de Bethlem dominante	<i>COL6A1, COL6A2, COL6A3</i>		Constituant du tissu conjonctif qui entoure les fibres musculaires, les soutient et les relie entre elles.

Des nouvelles formes de myopathie des ceintures ?

Deux nouvelles observations d'alpha-dystroglycanopathie liée au gène *DPM3*

Dans un article publié en mai 2019, des chercheurs de Lyon, de Garches et de l'Institut de Myologie (Paris) rapportent deux observations originales d'alpha-dystroglycanopathie liée au gène *DPM3*. Ce gène, récemment mis en cause chez un tout petit nombre de patients, code la sous-unité 3 de la synthétase du dolichol phospho-mannose.

- Dans les deux cas, il s'agit de sujets masculins ayant présenté une cardiomyopathie et une faiblesse musculaire des ceintures à des âges différents. La biopsie musculaire a mis en évidence une diminution du signal de l'alpha-dystroglycane tandis que deux mutations distinctes du gène *DPM3* ont été identifiées par NGS (*next generation sequencing*). Les auteurs insistent également sur l'intérêt de l'électrophorèse de la transferrine comme élément d'orientation vers un trouble de la N-glycosylation.

Dilated cardiomyopathy and limb-girdle muscular dystrophy-dystroglycanopathy due to novel pathogenic variants in the DPM3 gene.

Svahn J, Laforêt P, Vial C, Streichenberger N, Romero N, Bouchet-Séraphin C, Bruneel A, Dupré T, Seta N, Menassa R, Michel-Calemard L, Stojkovic T.
Neuromuscul Disord. 2019 Jul;29(7):497-502.

La myoferline en cause dans une myopathie des ceintures avec cardiomyopathie

Connue depuis 20 ans, la myoferline est une ferline qui joue un rôle dans le trafic membranaire, la fusion et la réparation des membranes cellulaires.

- La première observation d'une maladie humaine en lien avec une anomalie génétique du gène *MYOF* a été publiée par des chercheurs russes et suédois en juin 2019 : il s'agit d'une femme qui a présenté à l'âge de 44 ans un premier épisode de palpitations et qui a noté cinq ans plus tard une faiblesse de ses muscles des ceintures et une difficulté à se lever d'une



chaise sans appui. A l'âge de 53 ans, on lui a diagnostiqué des troubles du rythme cardiaque complexes associés à des signes de cardiomyopathie.

- Un séquençage de l'exome entier a permis de mettre en évidence une anomalie génétique du gène *MYOF* aboutissant à une myoferline tronquée. L'absence de myoferline dans un modèle de poisson zèbre aboutit aussi à des désordres cardiaques et musculaires.

Truncating Variant in Myof Gene Is Associated With Limb-Girdle Type Muscular Dystrophy and Cardiomyopathy.

Kiselev A, Vaz R, Knyazeva A, Sergushichev A, Dmitrieva R, Khudiakov A, Jorholt J, Smolina N, Sukhareva K, Fomicheva Y, Mikhaylov E, Mitrofanova L, Predeus A, Sjoberg G, Rudenko D, Sejersen T, Lindstrand A, Kostareva A.
Front Genet. 2019 Jun 26;10:608.

Les protéines impliquées dans les LGMD

Les **protéines impliquées** dans les myopathies des ceintures ont des fonctions très variées. Elles jouent un rôle notamment au niveau de la membrane de la cellule musculaire ou au niveau d'éléments constitutifs des myofibrilles, comme les sarcomères.

Protéines de la membrane

- Les **sarcoglycanes α , β , γ et δ (LGMD R3, R4, R5 et R6, ex-LGMD2D, 2E, C et 2F)** forment un complexe protéique situé dans la membrane des cellules musculaires, qui participe à la stabilité et à la résistance mécanique de la membrane de la cellule lors des contractions du muscle.
- L'absence de certains sucres à la surface de l'**alpha-dystroglycane (LGMD R9, R11, R13, R14, R15 et R24, ex-LGMD2I, 2K, 2M, 2N, 2O et liée à POMGNT2)** rompt son lien aux protéines de la matrice extracellulaire fragilisant la membrane de la fibre musculaire.
- La **dysferline (LGMD2B)** et l'**anoctamine 5 (LGMD2L)** sont impliquées dans la réparation de la membrane de la fibre musculaire.
- La **cavéoline 3 (LGMD1C)** jouerait un rôle clé dans la fusion des myoblastes en myotubes lors du processus de maturation des fibres musculaires.

Protéines liées à la matrice extra-cellulaire

- La **laminine $\alpha 2$** (appelée aussi **laminine 211 ou mérosine**) appartient à un réseau de protéines situées à l'interface entre la membrane de la fibre musculaire et le tissu de soutien du muscle (tissu conjonctif). Ce réseau, appelé lame basale, entoure chaque fibre musculaire.
- Le **collagène VI** (et ses trois sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$) est un des constituants du tissu conjonctif qui entoure les fibres musculaires (la matrice extracellulaire), qui les soutient et qui assure l'association des fibres entre elles.

Protéines du sarcomère.

Les myofibrilles constituent l'appareil contractile des cellules musculaires. Elles s'étendent sur toute la longueur de la fibre musculaire. Elles sont divisées en petites unités contractiles, les sarcomères.

- Un sarcomère est délimité par deux disques Z. A l'intérieur d'un sarcomère, les filaments épais de myosine et les filaments fins d'actine sont répartis de manière alternée.

*La **matrice extracellulaire** est un réseau complexe de protéines dans lequel baignent les cellules. Elle assure la cohésion des cellules au sein d'un tissu et joue un rôle essentiel dans la constitution, le maintien, l'adhérence, le mouvement et la régulation des cellules. La matrice extracellulaire du muscle est spécialisée pour répondre aux contraintes mécaniques inhérentes à l'activité contractile des fibres musculaires.*

*La **lame basale** (ou membrane basale) est une forme particulière de matrice extracellulaire spécifique à quelques tissus. Elle est constituée de protéines qui s'enchevêtrent les unes aux autres pour former un réseau qui entoure une ou plusieurs cellules.*



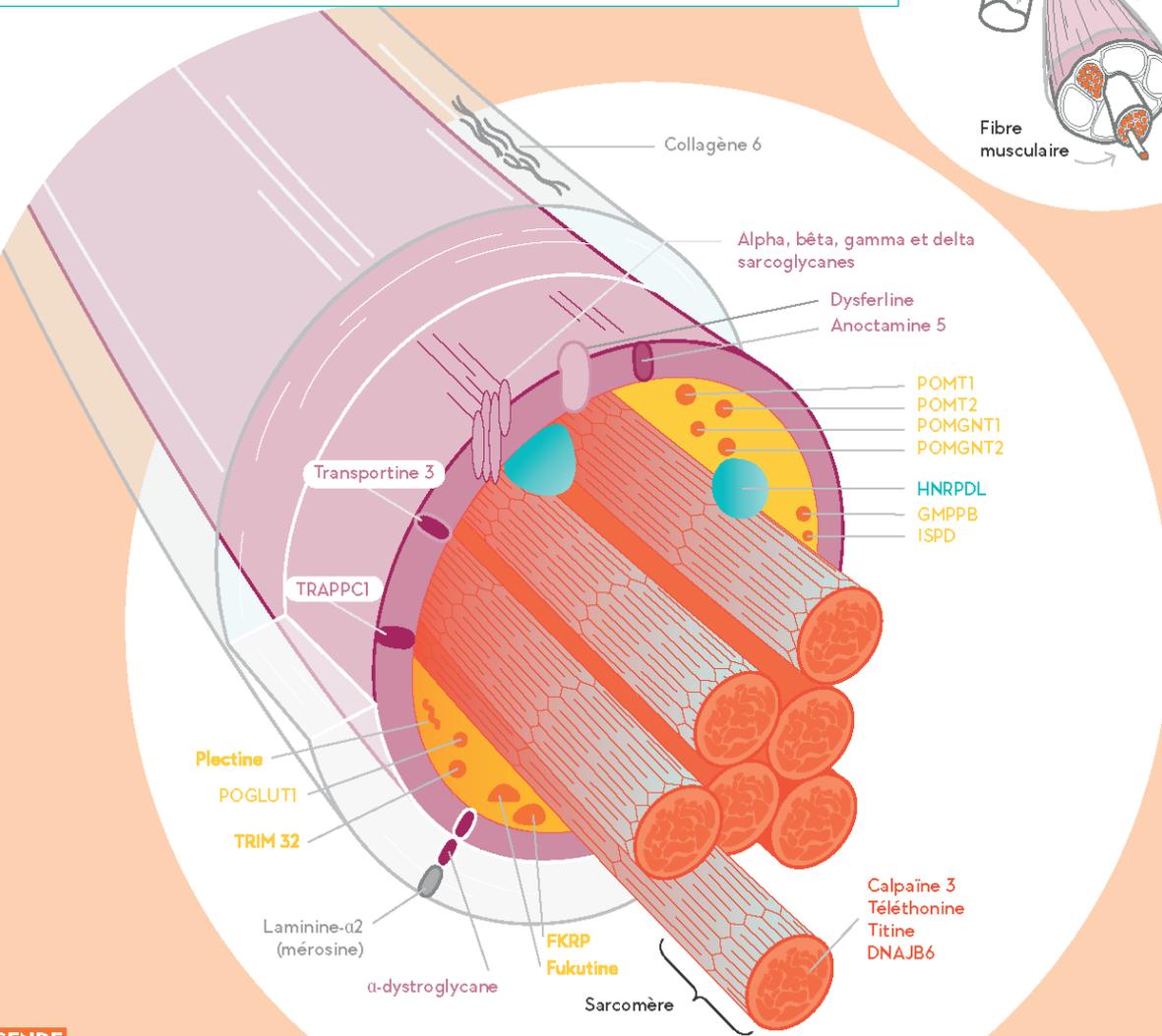
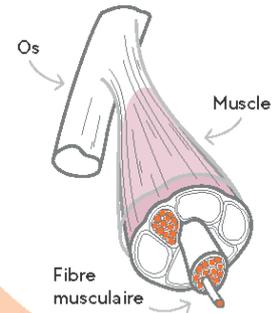
▪ Quand le muscle se contracte, ces filaments coulissent les uns avec les autres, la distance entre deux disques Z diminue. Le raccourcissement de tous les sarcomères fait que les cellules musculaires se contractent, entraînant la contraction de tout le muscle.

Plusieurs protéines du sarcomère sont impliquées dans les myopathies des ceintures.

- La **calpaïne 3 (LGMD R1)** est une protéase intracellulaire spécifique du muscle.
- La **téléthonine (LGMD R7)** et la **titine (LGMD R10)** sont impliquées dans le développement et la structure du sarcomère.
- La **myosine** relie la **titine (LGMD R10)** à la **calpaïne 3 (LGMD R1)**.

Principales protéines impliquées dans les dystrophies musculaires des ceintures

Les protéines impliquées dans les myopathies des ceintures ont des fonctions très variées. Elles jouent un rôle notamment au niveau de la membrane de la cellule musculaire ou au niveau d'éléments constitutifs des myofibrilles, comme les sarcomères.



LÉGENDE

- Matrice extracellulaire
- Sarcolemme
- Noyau
- Myofibrilles
- Cytoplasme



Les protéines « Popeye »

▪ Les **protéines POPDC (LGMD R25 et LGMD R26)** contiennent un domaine « Popeye », nommé ainsi du fait de leur expression préférentielle dans le muscle strié squelettique et cardiaque. **POPDC1** et **POPDC3** sont localisées dans la membrane cellulaire et les tubules T mais sont aussi retrouvées dans la membrane nucléaire des cellules musculaires striées. Elles joueraient un rôle dans le trafic membranaire de certaines protéines.

The Popeye domain containing gene family encoding a family of cAMP-effector proteins with important functions in striated muscle and beyond.

Swan AH, Gruscheski L, Boland LA, Brand T.

J Muscle Res Cell Motil. 2019 Jun;40(2):169-183.



La Filière de santé maladies rares neuromusculaires FILNEMUS anime, coordonne et favorise les échanges entre les acteurs participant au diagnostic, à la prise en charge et à la recherche dans les maladies neuromusculaires (centres de références et centres de compétences, laboratoires de diagnostic, équipes de recherche, associations de personnes concernées...). Elle a été créée en février 2014, dans le cadre du deuxième Plan National Maladies Rares 2011-2014.

WEB www.filnemus.fr

» » [Organisation des soins et maladies neuromusculaires](#), Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon

Des événements médico-scientifiques

La pandémie de Covid-19 a impacté la recherche dans les myopathies des ceintures : de nombreuses équipes ont mis en pause leurs travaux que ce soit dans les laboratoires ou dans les unités de soins où certains essais cliniques ont été temporairement interrompus. De nombreux congrès ont été annulés ou reportés à défaut de pouvoir avoir lieu en ligne.

Une mobilisation efficace face à la crise sanitaire

La filière des maladies rares neuromusculaires Filnemus, qui coordonne et anime les centres experts français, a impulsé de nombreuses actions dès les prémices de la pandémie et les a adaptées au fil de e-réunions bihebdomadaires auxquelles participaient aussi des médecins de l'AFM-Téléthon.

- La filière a ainsi émis des **recommandations** pour les médecins et les malades, a publié sur son site Internet une foire aux questions et des supports d'auto-rééducation pour pallier la fermeture des cabinets de kinésithérapie, ou encore, a alerté sur les risques de l'hydroxychloroquine dans la myasthénie. Elle a élaboré une **stratégie nationale** de fonctionnement des centres de référence et de compétences afin de garantir aux malades neuromusculaires une prise en charge optimale et homogène sur tout le territoire.

- Filnemus a recensé plus de 90 malades neuromusculaires touchés par la Covid-19 en France. Le déploiement d'une enquête de Filnemus, avec l'AFM-Téléthon, permettra d'évaluer l'impact psychologique et sur la prise en charge à domicile de la pandémie.

WEB <http://www.filnemus.fr/>

WEB <https://www.afm-telethon.fr/coronavirus>

Colloques et congrès

Les congrès sont aussi l'occasion pour les chercheurs et cliniciens spécialistes des myopathies des ceintures d'échanger sur l'avancement de leurs projets de recherche et de mettre en place de nouvelles collaborations. La thématique des myopathies des ceintures est régulièrement abordée dans les congrès consacrés aux maladies neuromusculaires.

Myology 2019

Organisé par l'AFM-Téléthon, le 6^{ème} Congrès international de myologie – Myology 2019 – s'est tenu du 25 au 28 mars à Bordeaux. Cet événement a réuni près de 1000 experts de la myologie (chercheurs, médecins-cliniciens) pour faire le point sur la recherche fondamentale et sur les thérapies innovantes développées ces dernières années (thérapie génique, thérapie cellulaire, saut d'exon, pharmacogénétique...) dans les maladies neuromusculaires.

Cela a été l'occasion pour I. Richard (Généthon) de présenter l'avancement de ses travaux de thérapie génique dans les calpaïnopathies (LGMD R1), cette approche thérapeutique s'avérant faisable et efficace chez la souris et le rat.

Congrès international de la *World Muscle Society (WMS)*

Le Congrès international de la *World Muscle Society (WMS)* est un congrès annuel de référence sur les maladies neuromusculaires, réunissant chaque année plusieurs centaines de chercheurs, médecins et industriels venus du monde entier.



- Lors de sa 24^{ème} édition (*WMS 2019*), qui s'est déroulée du 1^{er} au 5 octobre 2019 à Copenhague (Danemark). Les experts ont pu échanger sur les dernières avancées dans le domaine des maladies neuromusculaires dans leur ensemble avec un focus sur les troubles métaboliques, les manifestations extra-musculaires et les nouveaux traitements. Sur les 550 posters couvrant le large champ des maladies neuromusculaires présentés au cours de ce congrès, près d'une trentaine concernaient les LGMD.
- La prochaine édition virtuelle se déroulera du 25 septembre au 2 octobre 2020.

WEB www.wms2020.com/

Journées de la Société Française de Myologie

Les 17^{èmes} Journées de la Société Française de Myologie (SFM) se sont déroulées à Marseille du 20 au 22 novembre 2019, rassemblant près de 350 spécialistes des maladies neuromusculaires.

- Cette édition a été l'occasion d'inviter deux sociétés de myologie italiennes : l'*Italian Association of Myology (AIM)*, qui rassemble plutôt des cliniciens, et l'*Interuniversity Institute of Myology (IIM)* davantage consacrée à la recherche fondamentale. De nombreux experts venus d'Iran, de Suisse et d'Afrique francophone sont également intervenus durant ce congrès.
- L'évolution des concepts dans les calpaïnopathies et les dysferlinopathies a fait l'objet d'une communication en séance plénière et une session complète a été dédiée aux titinopathies ; un symposium sponsorisé par le laboratoire Sarepta a été consacré aux sarcoglycanopathies ; dix posters sur les 109 affichés concernaient les LGMD.

WEB www.afm-telathon.fr/actualites/journees-sfm-17e-edition-creatrice-liens-136827

- Les prochaines Journées de la SFM devraient avoir lieu du 25 au 27 novembre 2020 à Saint-Étienne.

6^{ème} Journée annuelle de FILNEMUS

Cette année, la journée annuelle de la Filière de santé maladies rares neuromusculaires Filnemus s'est tenue le 4 décembre 2019 à la Cité Universitaire de Paris. Elle était précédée d'une journée consacrée aux thérapies innovantes dans les maladies neuromusculaires.

- La journée annuelle a permis de présenter les travaux en cours dans la filière, l'avancement des PNDS, des bases de données, des projets autour du diagnostic, des actions pour accompagner les familles...

WEB <http://www.filnemus.fr/menu-filiere/evenements/les-journees-annuelles-de-filnemus/6journee-annuelle-de-filnemus/?L=0>

Conférence scientifique de la Jain Foundation

- La **8^e conférence scientifique de la Jain Foundation** qui devait se dérouler à Orlando (États-Unis) du 11 au 14 mars 2020, a été reportée à une date ultérieure du fait de la crise sanitaire. Cette conférence, spécifiquement consacrée aux dysferlinopathies (myopathie des ceintures R2, myopathie de Miyoshi), réunit chercheurs et cliniciens tous les deux ans dans le but de favoriser le partage des connaissances et les collaborations et de faire le point sur les avancées de la recherche dans ces maladies.

Ateliers de travail de l'ENMC

L'*European Neuromuscular Centre (ENMC)* est une organisation internationale visant à soutenir la recherche dans le domaine des maladies neuromusculaires. Il organise régulièrement des rencontres internationales

La Jain Foundation est une association américaine à but non lucratif dont la mission principale est d'accélérer le développement d'un traitement dans les dysferlinopathies (LGMD2B et dystrophie musculaire de Miyoshi ou R2). Elle finance et dirige des programmes de recherche scientifique, finance des études ou des essais cliniques, informe et soutient les familles...

WEB www.jain-foundation.org/



(workshop ou atelier de travail en français) rassemblant experts scientifiques et cliniciens sur une thématique donnée.

- Un troisième atelier ENMC consacré au « *Dystroglycane et aux dystroglycanopathies* » est annoncé du 4 au 6 septembre 2020 sur le site de l'ENMC.

WEB www.enmc.org/workshops/upcoming-workshops/

Une conférence américaine entièrement dédiée aux LGMD

- La première conférence nationale sur les dystrophies musculaires des ceintures a eu lieu du 30 août au 2 septembre 2019 à Chicago aux États-Unis. Cette conférence médico-scientifique exclusivement consacrée aux myopathies des ceintures a été organisée par des patients atteints de différents types de LGMD sous l'impulsion de la *Speak Foundation*, créée par Kathryn Bryant.

- Plus de 400 personnes venues de 20 pays différents ont participé à cet événement. Elles ont pu partager avec des spécialistes des LGMD des informations sur les traitements efficaces et sans danger pour les personnes atteintes de toutes formes de LGMD et s'informer sur les approches de thérapie génique dont certaines sont déjà à l'essai.

- La prochaine édition aura lieu en septembre 2021.

WEB [Blog GILGMD>Conférence nationale LGMD 2019](#)

WEB nationallimb-girdle-muscular-dystrophy-conference.com

La **Speak Foundation** a été créée en 2008 par Kathryn Bryant à la suite de son diagnostic de LGMD R9 porté 2 ans plus tôt. La mission de cette fondation est d'améliorer la qualité de vie de ceux qui ont une dystrophie musculaire et d'être la voix de ceux qui vivent avec des maladies rares.

WEB www.thespeakfoundation.co

De nombreuses publications scientifiques

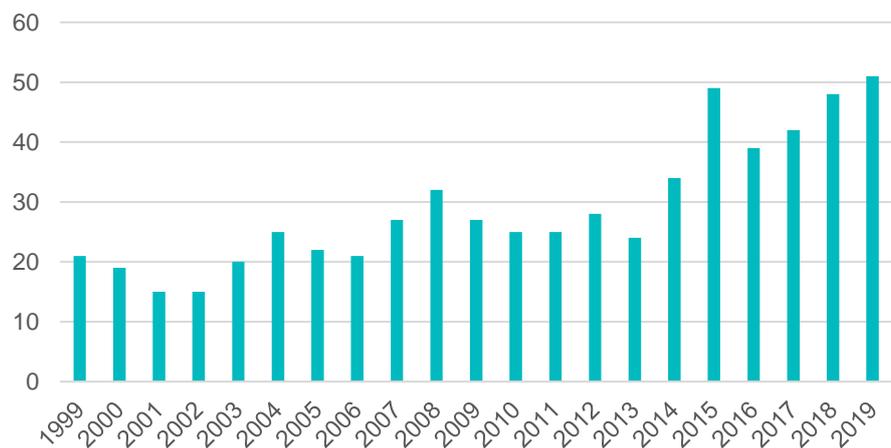
C'est à travers des articles publiés dans des revues spécialisées que les chercheurs travaillant sur les myopathies des ceintures diffusent à la communauté scientifique et médicale leurs travaux, ainsi que les conclusions ou hypothèses qu'ils peuvent en tirer.

Des thématiques de recherche variées et complémentaires

- fréquence des différentes formes de LGMD,
- outils de diagnostic génétique de nouvelle génération,
- outils de diagnostic et de suivi comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM),
- manifestations des dystrophies musculaires des ceintures et leur évolution
- thérapie génique,
- nouveaux traitements en essais cliniques
- recherche de nouvelles pistes thérapeutiques
- compréhension des mécanismes impliqués dans l'apparition de la maladie.

Évolution du nombre de publications annuelles

(Source : PubMed)



Nombre d'articles médico-scientifiques sur les myopathies des ceintures publiés chaque année depuis 20 ans.

Le nombre de publications sur les myopathies des ceintures enregistrées chaque année dans la base bibliographique de référence dans le domaine de la médecine et de la biologie qu'est PubMed, témoigne d'un effort de recherche soutenu et continu dans ces maladies.



La thérapie génique

Les essais cliniques de thérapie génique dans les myopathies des ceintures commencent à se développer tandis que des premiers résultats arrivent dans les maladies neuromusculaires et que les approches se diversifient.

À ses débuts, la thérapie génique consistait uniquement à remplacer un gène défectueux en apportant à l'organisme le gène normal.

Avec le développement de nouvelles techniques, le terme de thérapie génique désigne plus largement toutes les techniques qui introduisent dans l'organisme du matériel génétique sous forme d'ADN ou d'ARN (gène médicament, oligonucléotides antisens...) à des fins thérapeutiques.

Les **essais cliniques** consistent à évaluer les effets d'un traitement potentiel dans une maladie (un candidat-médicament, un dispositif médical...) afin de s'assurer qu'il est bien toléré et efficace dans cette maladie.

» » [Essais cliniques et maladies neuromusculaires](#), Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.

De l'utilisation des AAV comme vecteur de thérapie génique

Dans les maladies neuromusculaires, le vecteur viral principalement utilisé en thérapie génique comme « moyen de transport » pour apporter du matériel génétique dans les cellules cibles est dérivé du virus adéno-associé (AAV). Rendu inoffensif, il présente les avantages d'être peu immunogène, facile à produire, de permettre une expression durable du matériel génétique transporté...

- Il existe une dizaine de souches d'AAV différentes, qui ciblent préférentiellement différents organes (muscle, œil, foie...) selon la voie d'administration utilisée. Les AAV8, AAV9 et AAVrh74 administrés par voie systémique ou par voie intramusculaire sont actuellement les plus efficaces pour cibler le muscle.

Une immunité à contourner

Une difficulté de l'utilisation des vecteurs AAV est qu'ils sont dérivés de virus, organismes contre lesquels l'être humain va développer une immunité s'il y est confronté pour la première fois

- En dehors de toute thérapie génique, la population humaine est régulièrement exposée aux AAV. Certaines personnes peuvent ainsi développer une **immunité pré-existante** à la thérapie génique qui neutraliserait les effets d'une injection de thérapie génique.

De même, l'injection d'un produit de thérapie génique dans l'organisme entraîne une réponse immunitaire qui limitera l'efficacité d'une ré-administration du produit.

- Les chercheurs explorent dans des modèles animaux différentes façons de limiter la réaction immunitaire en l'inhibant avec des antioxydants, avec des immuno-suppresseurs, en nettoyant le sang des anticorps qui détruisent l'AAV (plasmaphérese ciblée).

- Une publication d'une équipe de Généthon en 2020 rapporte l'utilisation d'une enzyme, déjà utilisée contre le rejet de greffe d'organe, pour détruire les anticorps anti-AAV circulants afin d'en limiter l'impact sur l'efficacité de la thérapie génique.

[Capsid-specific removal of circulating antibodies to adeno-associated virus vectors.](#)

Bertin B, Veron P, Leborgne C, Deschamps JY, Moullec S, Fromes Y, Collaud F, Boutin S, Latournerie V, van Wittenbergh L, Delache B, Le Grand R, Dereuddre-Bosquet N, Benveniste O, Moullier P, Masurier C, Merten O, Mingozzi F.
Sci Rep. 2020 Jan 21; 10(1):864.

[AAV Vector Immunogenicity in Humans: A Long Journey to Successful Gene Transfer.](#)

Verdera HC, Kuranda K, Mingozzi F.



Mol Ther. 2020 Jan 10. pii: S1525-0016(20)30003-4.

Transduction efficiency of AAV serotypes after local injection in mouse and human skeletal muscle.

Muraine L, Bensalah M, Dhiab J, Cordova G, Arandel L, Marhic A, Chapart M, Vasseur S, Benkhelifa-Ziyyat S, Bigot A, Butler-Browne G, Mouly V, Negroni E, Trollet C.
Hum Gene Ther. 2020 Feb; 31(3-4):233-240.

Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy.

Li C, Samulski RJ.
Nat Rev Genet. 2020 Feb 10.

IgG-cleaving Endopeptidase Enables in Vivo Gene Therapy in the Presence of anti-AAV Neutralizing Antibodies

Leborgne C, Barbon E, Alexander JM et al.
Nat Med. 2020 Jun 1.

Injection d'ADN nu dans les LGMD R1, R2 et R3

Compte tenu de la complexité, du coût, de la réaction immunitaire de la thérapie génique utilisant un vecteur viral, d'autres chercheurs continuent d'explorer l'administration directe du gène thérapeutique seul, sans vecteur.

- C'est ce qu'a fait une équipe américaine dans des souris modèles de LGMD R1 liée à la calpaïne, de LGMD R2 liée à la dysferline, et de LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane en administrant par voie intramusculaire le gène thérapeutique associé ou non au gène de la follistatine, et en y appliquant une technique dite d'électroporation qui permet une meilleure pénétration de l'ADN dans les cellules.
- Cela a permis d'obtenir une expression robuste de calpaïne 3 ou de dysferline dans le quadriceps des souris modèles de LGMD R1 ou de LGMD R2 pendant au moins 3 mois. La diminution de la pénétration d'un colorant témoignait d'une réparation des défauts membranaires dans les souris modèles de LGMD R2.
- L'injection du gène α -sarcoglycane associé à celui de la follistatine dans une souris modèles LGMD R3 a aussi entraîné une diminution de la pénétration du colorant dans les cellules musculaires, reflet d'une amélioration de l'état de leur membrane.

Plasmid-Mediated Gene Therapy in Mouse Models of Limb Girdle Muscular Dystrophy.

Guha TK1, Pichavant C1, Calos MP1.
Mol Ther Methods Clin Dev. 2019 Oct 14; 15:294-304.

Lever la cardiotoxicité du produit de thérapie génique dans la LGMD R1 liée à la calpaïne

Lors de précédents travaux, des chercheurs de Généthon ont mis au point des vecteurs de thérapie génique efficaces pour restaurer l'expression de la calpaïne 3 dans les muscles. Cependant, lorsque cette protéine, normalement présente uniquement dans les muscles squelettiques, s'exprimait également dans le cœur des souris modèles de la maladie, elle y devenait toxique.

Parallèlement au développement de nouveaux vecteurs qui limiteraient l'expression de la calpaïne 3 dans les muscles squelettiques et épargneraient le cœur, cette équipe s'est attachée à comprendre les mécanismes responsables de cette toxicité cardiaque.

- Elle a identifié un mécanisme expliquant comment l'activité de la calpaïne 3 est régulée dans le muscle squelettique : une région particulière de la titine, une protéine impliquée dans l'élasticité du muscle, sur laquelle

L'électroporation consiste à appliquer des chocs électriques contrôlés sur des cellules vivantes afin d'augmenter la perméabilité de leur membrane (électroperméabilisation) et permettre ainsi l'entrée de molécules tel que l'ADN thérapeutique.



s'accroche la calpaïne 3, joue un rôle inhibiteur de l'activité enzymatique de la calpaïne.

- Les chercheurs ont également montré que des singes traités avec le même vecteur de thérapie génique ne développaient pas de toxicité cardiaque. Ils ont alors mis en évidence des différences spécifiques de régulation de l'activité enzymatique de la calpaïne dans le cœur entre l'homme et le singe d'un côté et la souris de l'autre.
- Ces résultats suggèrent donc que l'apport du gène de la calpaïne 3 n'engendrerait pas d'effet toxique pour le cœur des malades, mais d'autres mécanismes pourraient être mis en jeu. C'est pourquoi, par prudence, l'équipe continue à développer des vecteurs thérapeutiques qui empêcheront toute expression de calpaïne 3 au niveau cardiaque.

Titin splicing regulates cardiotoxicity associated with calpain 3 gene therapy for limb-girdle muscular dystrophy type 2A.

Lostal W, Roudaut C, Faivre M, Charton K, Suel L, Bourg N, Best H, Smith JE, Gohlke J, Corre G, Li X, Elbeck Z, Knöll R, Deschamps JY, Granzier H, Richard I. *Sci Transl Med.* 2019 Nov 27;11(520).

Dans la LGMD R2 liée à la dysferline

- Les résultats de l'essai de phase I qui vise à introduire, à l'aide d'un virus adéno-associé (AAV), le gène de la dysferline dans les cellules musculaires n'ont pas encore été publiés.

Essai de phase I				
Évaluer la sécurité d'utilisation et la tolérance d'un produit de thérapie génique (rAAVrh74.MHCK7.DYSF.DV) délivré par voie intramusculaire [NCT02710500]				
(Promoteur : Nationwide Children's Hospital)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début-Fin
Recrutement terminé	2 (plus de 18 ans)	États-Unis	2 ans	Mars 2016 – Juillet 2019

Au cours d'un essai clinique de phase I un médicament dont l'intérêt thérapeutique a été montré sur des modèles animaux et/ou cellulaires (essais précliniques) est administré pour la première fois à un petit groupe de volontaires sains, plus rarement à des malades, afin d'évaluer leur tolérance à la substance en fonction de la dose (Comment le futur traitement est-il absorbé et éliminé ? Comment se fait sa répartition dans les organes ? Est-il toxique et à quelles doses ? Existe-t-il des effets secondaires ?).

➤➤ [Essais cliniques et maladies neuromusculaires](#), Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.

Dans la LGMD R4 liée au β-sarcoglycane : le SRP-9003

Après une première partie dans laquelle les 3 participants de la première cohorte, âgés de 4 à 13 ans, ont reçu une dose basse de SRP-9003 (ex-MYO-101), l'essai se poursuit avec une deuxième cohorte constituée de 6 participants, âgés de 4 à 13 ans, 3 recevant une dose plus forte de produit de thérapie génique et 3 restant sous placebo.

Le SRP-9003 (ex-MYO-101)

Développé par Myonex et apportant le gène *SGCB*, ce produit permet la fabrication de la bêta-sarcoglycane, une protéine ancrée dans la membrane de la cellule musculaire à laquelle est associée la dystrophine. Ce complexe moléculaire assure une protection mécanique de la membrane de la cellule lors de la contraction de la cellule musculaire.

- Dans un communiqué de presse du mois de juin 2020, *Sarepta Pharmaceuticals* annonce de bons résultats à un an pour la dose basse et à 2 mois pour la haute dose. Le produit est bien toléré aux deux doses.
- Les améliorations fonctionnelles à l'échelle fonctionnelle *North Star* (NSAA) et aux tests chronométrés (se relever du sol, montée de 4 marches,



marcher 10 mètres, marcher 100 mètres...) se poursuivent un an après l'injection de la faible dose pour la première cohorte.

- En ce qui concerne la seconde cohorte, la biopsie musculaire prélevée 2 mois après l'administration de la forte dose montre une expression du β -sarcoglycane dans 72% des fibres musculaires en moyenne (au-delà de l'objectif fixé de 50%), avec une intensité du signal atteignant 73% de celle du signal dans les muscle sains contrôles. Le taux de créatine kinase s'est avéré réduit de 89% en moyenne, témoignant d'une très probable diminution des lésions des fibres musculaires. Des effets secondaires qualifiés de modérés ont été observés. Une déshydratation 3 jours après la perfusion suite à des vomissements s'est résolue en 48h sous traitement.

Sarepta Therapeutics Announces Positive Expression and Functional Data From the SRP-9003 Gene Therapy Trial to Treat Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2E

Sarepta Therapeutics, Communiqué de presse du 8 juin 2020.

<p>Essai de phase I/II randomisé contre placebo de thérapie génique dans la LGMD R4 liée au β-sarcoglycane (ex-LGMD2E) Évaluer les effets de différentes doses de scAAVrh74.MHCK7.hSGCB en injection intraveineuse unique [NCT03652259] (Promoteur : Nationwide Children's Hospital)</p>				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement terminé	6 (4 à 15 ans)	États-Unis	3 ans	Octobre 2018 - Décembre 2020

Thérapie génique dans les LGMD.

Les cinq programmes en développement chez Sarepta Therapeutics.

(Source : <https://www.sarepta.com/products-pipeline/pipeline>)

FORME DE LGMD	RECHERCHE PRÉCLINIQUE	DÉVELOPPEMENT CLINIQUE		
		PHASE I	PHASE II	PHASE III
LGMD R1 liée à la calpaïne	Nationwide Children's			
LGMD R2 liée à la dysferline	SRP-6004			
LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane	SRP-9004			
LGMD R4 liée au β -sarcoglycane	SRP-9003			
LGMD R3 liée au γ -sarcoglycane	SRP-9005			
LGMD R12 liée à l'anoctamine 5	SRP-9006			

Des résultats encourageants pour la LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane

- Entre 2006 et 2009, un premier essai de thérapie génique de phase I, mené par Généthon à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière (Paris) sous la responsabilité du Pr. Serge Herson, investigateur principal, en collaboration avec l'Institut de Myologie de Paris, avait testé la tolérance et l'efficacité d'une injection unique de différentes doses d'un vecteur AAV1 injecté en intramusculaire



chez neuf personnes atteintes de gamma-sarcoglycanopathie (LGMD R3). Un mois après l'injection, les chercheurs avaient constaté une bonne tolérance du produit et la présence du gène thérapeutique chez les malades traités à la plus forte dose mais en quantité limitée, apportant la preuve de concept que grâce à ce protocole de thérapie génique, des fibres musculaires peuvent re-synthétiser, chez l'homme, la protéine gamma-sarcoglycane manquante.

[A phase I trial of adeno-associated virus serotype 1-γ-sarcoglycan gene therapy for limb girdle muscular dystrophy type 2C.](#)

Herson S, Hentati F, Rigolet A, Behin A, Romero NB, Leturcq F, Laforêt P, Maissonobe T, Amouri R, Haddad H, Audit M, Montus M, Masurier C, Gjata B, Georger C, Cherai M, Carlier P, Hogrel JY, Herson A, Allenbach Y, Lemoine FM, Klatzmann D, Sweeney HL, Mulligan RC, Eymard B, Caizergues D, Voit T, Benveniste O.
Brain. 2012 Feb;135(Pt 2):483-92.

- En juin 2019, l'équipe d'Isabelle Richard, directrice de recherche CNRS au sein d'une unité Inserm à Généthon, le laboratoire de l'AFM-Téléthon, a publié la démonstration de l'efficacité d'une thérapie génique dans un modèle de souris de gamma-sarcoglycanopathie.

Administré en injection intramusculaire, un vecteur médicament AAV8 transportant le gène *SGCG*, a permis la **réexpression de la γ-sarcoglycane** dans le muscle traité.

Une fois l'efficacité de ce produit de thérapie génique démontrée, les chercheurs ont **déterminé la dose efficace** de traitement en testant trois doses différentes par voie intraveineuse.

- La dose la plus forte a entraîné une restauration presque complète de l'expression du gène *SGCG* déficient. La proportion des fibres musculaires corrigées est inférieure à 5% avec la dose la plus faible, entre 25% et 75% avec la dose intermédiaire et entre 75% et 100% avec la dose la plus élevée.

- Par ailleurs, les chercheurs ont également observé les conséquences de l'exercice physique sur les fibres musculaires et ont constaté qu'à la dose la plus élevée le traitement permet aux fibres musculaires traitées de résister à l'effort.

Ces travaux qui ont permis de déterminer le vecteur et la dose qui seraient efficaces chez les malades, constituent un préalable à un futur essai clinique chez l'homme.

[An AAV-SGCG dose response study in γ-sarcoglycanopathy mouse model in the context of mechanical stress.](#)

Israeli D, Cosette J, Corre G., Amor F, Poupiot J, Stockholm D, Montus M, Gjata B, Richard I
Molecular Therapy - Methods & Clinical Development, 2019 (13): 494-502



Des essais cliniques de pharmacologie

Les essais cliniques de pharmacologie consistent à évaluer les effets d'un candidat-médicament sur une maladie afin de s'assurer qu'il est bien toléré et efficace dans cette maladie.

Essai WSiMD

La **prednisone** est un anti-inflammatoire stéroïdien. Sa formule chimique est proche de celle du cortisol, une hormone naturelle qui a de nombreux effets sur l'organisme (augmentation du taux de sucre dans le sang, régulation du métabolisme des lipides, des protéines et des glucides, régulation rythme veille/sommeil...) et qui a aussi une action anti-inflammatoire et immunosuppressive.

- Une étude en ouvert a pour but de tester la tolérance et l'efficacité d'une dose hebdomadaire de prednisone sur la capacité vitale, le volume musculaire à l'IRM, les performance musculaire et la qualité de vie de personnes atteintes de LGMD R1 liée à la calpaïne, de LGMD R2 liée à la dysferline, de LGMD R4 liée au β -sarcoglycane, de LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane, de LGMD R6 liée au δ -sarcoglycane, de LGMD R9 liée à la FKRP, de LGMD R12 liée à l'anoctamine 5 ou de dystrophie musculaire de Becker. Des premiers résultats pourraient être disponible dès juin 2020.

Essai WSiMD de phase II en ouvert				
Évaluer la tolérance et l'efficacité d'une dose hebdomadaire de prednisone dans les dystrophies musculaires des ceintures et la dystrophie musculaire de Becker [NCT04054375] (Promoteur : PTC Therapeutics)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement terminé	20 (18 ans à 65 ans)	États-Unis	6 mois	Juillet 2019- Décembre 2021

Dans la LGMD R9

Le PF-06252616, un inhibiteur de la myostatine

Dans la LGMD R9 liée à la FKRP, une piste thérapeutique à l'étude a pour but d'augmenter la taille des fibres musculaires en bloquant la myostatine, un inhibiteur de la croissance musculaire.

- Le laboratoire *Pfizer* mène un essai du PF-06252616, un inhibiteur de la myostatine, chez des personnes atteintes de LGMD R9 ambulantes.

Essai de phase I/II du PF-06252616				
Évaluer les effets du PF-06252616 chez des personnes atteintes de LGMD2I ambulantes [NCT02841267] (Promoteur : Pfizer)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Essai terminé, données en cours d'analyse	19 (18 ans et plus)	États-Unis,	2 ans	Juillet 2016 – Août 2018



Le déflazacort (Emflaza®)

Le déflazacort (Emflaza®) est aussi un anti-inflammatoire stéroïdien. Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont utilisés dans la dystrophie musculaire de Duchenne. Ils pourraient avoir une action sur l'inflammation dans la LGMD R9.

Essai de phase III en double aveugle Évaluer la tolérance et l'efficacité du deflazacort (Emflaza®) dans la LGMD R9 [NCT03783923] (Promoteur : PTC Therapeutics)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	30 (18 ans et plus)	(France, Allemagne, Canada, Danemark, États-Unis, Norvège, Royaume-Uni, Russie, Suède)	6 mois	Mai 2019- Novembre 2020

La phase initiale de six mois en double aveugle sera suivie d'une phase de six mois en ouvert où tous les participants prendront du déflazacort.

Le BBP-418

Développé par la société *ML Bio Solutions*, affiliée à *BridgeBio Pharma*, le BBP-418 est aussi connu sous le nom de ribitol. Administré par voie orale, il est transformé dans l'organisme en un composant glucidique de l' α -dystroglycane manquant dans la LGMD R9.

- Le BBP-418 restaure des niveaux fonctionnels d' α -dystroglycane dans les muscles squelettiques, cardiaque et le diaphragme d'une souris modèle d'une forme sévère de LGMD R9 qui s'accompagnent d'une amélioration des fonctions motrices et respiratoires des souris.
- Le BBP-418 a obtenu la désignation de médicament orphelin par la FDA (l'agence du médicament américaine) en mars 2020.
- Un **essai de phase I** chez des volontaires sains a été lancé en juin 2020 pour étudier la tolérance, la sécurité d'utilisation et la pharmacocinétique de doses unique ou multiple de BBP-418 chez l'homme. Il permettra notamment de mieux cerner la ou les doses appropriées lors d'un futur essai chez des personnes atteintes de LGMD R9.

Un consortium international pour les LGMD

Le **consortium GRASP-LGMD** (pour *Genetic Resolution and Assessments Solving Phenotypes in LGMD*) ou consortium pour la résolution génétique des myopathies des ceintures, rassemble une équipe internationale de spécialistes des maladies neuromusculaires, de scientifiques, de rééducateurs, de généticiens, d'informaticiens et de représentants de patients pour accélérer le transfert de la recherche vers des applications thérapeutiques.

WEB www.grasp-lgmd.org

- En collaboration avec le Consortium *GRASP*, *ML Bio Solutions* a lancé fin 2019 une étude d'**histoire naturelle préalable** à ce futur essai dans la LGMD R9. Celle-ci se déroule actuellement dans 11 centres aux États-Unis

*Un **médicament orphelin** est un médicament développé pour le traitement d'une maladie dite orpheline, c'est-à-dire une maladie rare. Cette désignation s'applique à des candidats-médicaments (qui n'ont pas encore fait leur preuve d'efficacité) dans le but d'inciter les entreprises pharmaceutiques à développer et à commercialiser des médicaments à destination des patients atteints de maladies rares et laissées pour compte grâce à des mesures économiques et méthodologiques facilitant les différentes étapes du développement d'un médicament.*

WEB www.eurordis.org/fr > Médicaments orphelins

*La **pharmacocinétique** étudie le devenir d'un médicament dans l'organisme : comment est-il absorbé (quantité, vitesse...) ? Comment diffuse-t-il dans l'organisme (quantité, vitesse...) ? Comment est-il transformé, puis éliminé (par le foie, par le rein...) ?*



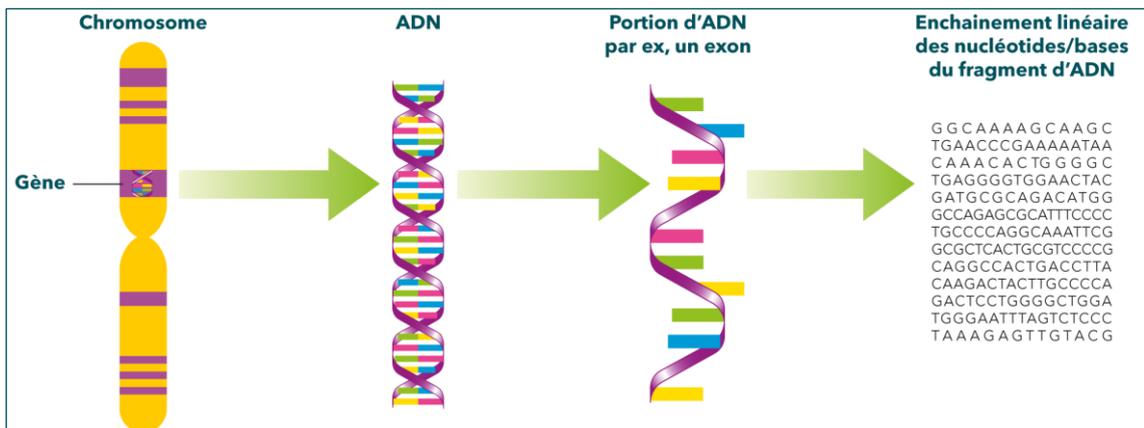
et un centre au Danemark. Le recrutement des 80 personnes atteintes de LGMD R9 âgées de 10 à 65 ans prévu au protocole est en cours. L'objectif est de rassembler des informations sur l'évolution naturelle de la LGMD R9, d'identifier les meilleurs critères d'évaluation possibles et valider de potentiels biomarqueurs pour les futurs essais cliniques. Des premiers résultats sont attendus pour juillet 2021.

Étude MLB-01-001 : développer des biomarqueurs dans la LGMD R9 liée à FKR1 Décrire l'évolution de la LGMD R9 liée à FKR1 en utilisant des paramètres de suivi de l'évolution standardisés et trouver un biomarqueur musculaire pour les futurs essais [NCT04202627] (Promoteur : Virginia Commonwealth University)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	80 (10 à 65 ans)	Danemark, États-Unis	12 mois	Déc. 2019- Janvier 2022

Des avancées en génétique grâce au NGS

Ces dix dernières années, de nouvelles techniques de diagnostic génétique ont été mises au point. Ces **techniques de séquençage dit de nouvelle génération** (couramment appelé NGS pour *Next Generation Sequencing*) permettent de séquencer simultanément des milliers de gènes, voire tous les gènes d'un coup.

Le **séquençage de l'ADN** est une technique utilisée lorsque l'on recherche l'anomalie génétique en cause dans une maladie génétique. Il permet d'identifier les variations dans certains gènes, lesquelles peuvent ensuite être reliées (ou non) à l'apparition de la maladie, notamment par comparaison avec des variations génétiques connues.



Du chromosome à la séquence.

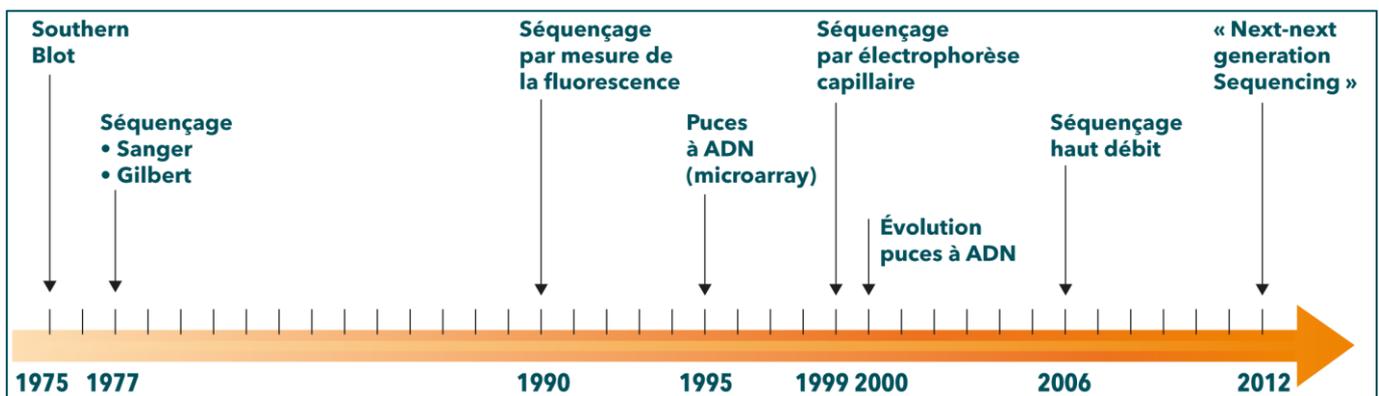
Le séquençage de l'ADN permet de lire l'enchaînement des nucléotides (ou bases), autrement dit de déterminer l'ordre des nucléotides constituant la séquence d'un fragment, voire de la totalité de l'ADN. En comparant les séquences d'une personne atteinte d'une maladie génétique et d'une personne indemne, on peut mettre en évidence une anomalie génétique.



Des techniques d'analyse génétique à plus grande échelle dont les résultats sont à interpréter avec discernement par des experts

- La grande difficulté de l'utilisation de ces techniques de séquençage à haut débit est qu'elles augmentent le risque de trouver des variations au niveau de la séquence de l'ADN, appelées variants génétiques, qui ne sont pas pour autant pathogènes. Certaines variations sont sans conséquence pour l'organisme, alors que d'autres suffisent à entraîner l'apparition d'une maladie génétique (on parle alors plutôt d'anomalies génétiques).
- Pour faire la différence entre les deux, les généticiens doivent regarder si, parmi les membres d'une famille, toutes les personnes qui sont atteintes de la maladie présentent le même variant. Ils se réfèrent aussi à la littérature médicale et aux bases de données génétiques (de nombreuses anomalies génétiques y sont répertoriées) et étudient le gène suspecté en laboratoire (sur des modèles cellulaires ou animaux) pour confirmer si le variant est pathologique ou non.
- L'étude nécessaire de telles corrélations implique une collaboration étroite entre généticiens et cliniciens, qui lors de fréquentes réunions, discutent chaque cas pour établir avec certitude un lien direct entre l'anomalie génétique mise en évidence par *NGS* et les manifestations cliniques.

Le développement de ces technologies de séquençage est à l'origine d'une révolution médicale : la **médecine de précision**, dite aussi médecine génomique, dont l'objectif est d'optimiser le diagnostic, la prévention et le traitement des maladies humaines en fonction des variations génétiques individuelles.



Plusieurs études ont rapporté l'intérêt de l'utilisation de ces nouvelles techniques de séquençage les maladies neuromusculaires et les dystrophies musculaires des ceintures.

- L'équipe d'un Centre de référence Maladies neuromusculaires londonien a réalisé un séquençage d'exome pour explorer 100 personnes présentant des cas de myopathies complexes non élucidés. Grâce à cette technique *NGS*, une anomalie pathologique a été retrouvée **dans 32 cas sur 100**, dont trois avec des présentations cliniques atypiques, comme une myopathie liée à *COL6A* avec des signes mitochondriaux. Ce travail démontre l'efficacité de ces techniques récentes couplées à une analyse clinique et histologique détaillée.

Genetic and phenotypic characterisation of inherited myopathies in a tertiary neuromuscular centre.

Bugiardini E, Khan AM, Phadke R, Lynch DS, Cortese A, Feng L, Gang Q, Pittman AM, Morrow JM, Turner C, Carr AS, Quinlivan R, Rossor AM, Holton JL, Parton M, Blake JC, Reilly MM, Houlden H, Matthews E, Hanna MG. *Neuromuscul Disord.* 2019 Oct;29(10):747-757.



- La société américaine Invitae, qui commercialise la réalisation de tests génétiques, a utilisé le NGS et la détection du nombre de copies des variants génétiques pour étudier 266 gènes impliqués dans les maladies neuromusculaires chez 25 356 individus non apparentés suspectés d'être atteints d'une maladie neuromusculaire (soit plus de 32 590 analyses génétiques).

Elle a obtenu un diagnostic moléculaire définitif **dans 20% des cas**, avec un rendement de 4% pour les syndromes myasthéniques congénitaux jusqu'à 33% dans les dystrophies musculaires. L'analyse de plusieurs gènes a permis de faire un diagnostic différentiel dans 6% des cas, y compris dans la maladie de Duchenne où le diagnostic n'a été obtenu par analyse du seul gène *DYS* que dans 51% des cas.

Clinical utility of multigene analysis in over 25,000 patients with neuromuscular disorders.

Winder TL, Tan CA, Klemm S, White H, Westbrook JM, Wang JZ, Entezam A, Truty R, Nussbaum RL, McNally EM, Aradhya S.
Neurol Genet. 2020 Mar 9;6(2):e412.

- Une équipe espagnole a passé en NGS l'ADN de 207 personnes atteintes cliniquement de maladies neuromusculaires : 29 de myopathie congénitale, 16 de dystrophie musculaire congénitale, 19 de dystrophie musculaire des ceintures, dont 1 de plectinopathie, et 19 de syndrome myasthénique congénital. Les 124 autres ont été adressés avec un simple diagnostic de suspicion de myopathie.

La cause génétique des ces maladies neuromusculaires a été retrouvée chez 102 personnes (**49,3% des cas**). Aucune anomalie génétique entraînant une maladie n'a été retrouvée chez 73 personnes (35,3% des cas). Les cas restant n'ont été que partiellement résolus.

Les gènes les plus fréquemment concernés ont été : le gène *RYR1* (16/102 soit 15,7%), le gène *TTN* (14/102 soit 13,7%), le gène *COL6A1* (5/102 soit 4,9%), les gènes *MYOT*, *DES* et *ANO5* (4/102 soit 3,9% chacun) et les gènes *LAMA2*, *DNM2*, *CHRNE* et *ACTA1* (3/102 soit 2,9% chacun).

Soixante-dix-neuf pour cent des personnes suspectées de myopathie des ceintures ont obtenu un diagnostic génétique, pas toujours en lien avec une LGMD (gènes *CAPN3*, *RYR1*, *CHRND*, *FKRP*, *TTN*, *DES*, *DYS*, *MYOT*, *TNPO3*, *PLEC* and *ANO5*).

Targeted Next-Generation Sequencing in a Large Cohort of Genetically Undiagnosed Patients with Neuromuscular Disorders in Spain.

Gonzalez-Quereda L, Rodriguez MJ, Diaz-Manera J, Alonso-Perez J, Gallardo E, Nascimento A, Ortez C, Benito DN, Olive M, Gonzalez-Mera L, Munain AL, Zulaica M, Poza JJ, Jerico I, Torne L, Riera P, Milisenda J, Sanchez A, Garrabou G, Llano I, Madruga-Garrido M, Gallano P.
Genes (Basel). 2020 May 11;11(5).

- Une équipe américaine a utilisé le séquençage du génome entier chez une personne présentant des signes cliniques de LGMDR1 et une absence de calpaïne 3 dans son muscle, mais pas d'anomalie détectable par les techniques d'analyse génétique habituelles.

Elle a ainsi pu mettre en évidence une **anomalie génétique dans une partie non codante située dans la profondeur du gène**, qui entraînait l'apparition d'un codon stop prématuré empêchant la synthèse d'une calpaïne complète et fonctionnelle.

- L'utilisation d'un oligopeptide spécifique de l'anomalie profonde a rétabli la synthèse d'une calpaïne normale dans les fibroblastes du patient, ce qui



non seulement prouvait le caractère pathologique de l'anomalie, mais apportait la preuve de concept d'une stratégie thérapeutique spécifique.

Identification of a Novel Deep Intronic Mutation in CAPN3 Presenting a Promising Target for Therapeutic Splice Modulation.

Hu Y, Mohassel P, Donkervoort S, Yun P, Bolduc V, Ezzo D, Dastgir J, Marshall JL, Lek M, MacArthur DG, Reghan Foley A, Bönnemann CG.
J Neuromuscul Dis. 2019;6(4):475-483. [2019 Aug 31 Epub ahead of print]

De la fréquence des différentes formes de LGMD

Une étude brésilienne

Une étude rétrospective décrit les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et génétiques des 370 personnes (correspondant à 305 familles) atteintes de LGMD R suivies par 13 centres neuromusculaires brésiliens.

- Trois cent quarante-sept personnes avaient un diagnostic génétiquement certain ou probable de LGMD R : la LGMD R1 liée à la calpaïne et la LGMD R2 liée à la dysferline représentaient chacune un tiers des cas environ ; les sarcoglycanopathies étaient les plus fréquentes à débiter dans l'enfance ; les moins fréquentes étaient la LGMD R9 liée à FKRP (6,7 % des cas), la LGMD R7 liée à la téléthonine (5,3%) et la LGMD R12 liée à l'anoctamine 5 (4,2%).

- Les sarcoglycanopathies avaient un âge de début (avant l'âge de 9 ans) et une atteinte fonctionnelle plus précoces

Les premiers signes de la LGMD R1 liée à la calpaïne apparaissaient vers un âge moyen de 13,5 ans. La LGMD R9 liée à FKRP et la LGMD R2 liée à la dysferline avaient un début aux alentours de 22 ans en moyenne, alors que celui de la LGMD R12 liée à l'anoctamine 5 survenait près de 15 ans plus tard (36,6 ans).

- Si la LGMD R1 liée à la calpaïne débute en moyenne 10 ans plus tôt que la LGMD R2 liée à la dysferline, dans les deux formes le besoin d'une aide à la marche apparaît au bout de 20 à 21 ans d'évolution de la maladie, la dépendance au fauteuil survenant en moyenne 6 ans plus tard.

- L'évolution des sarcoglycanopathies ou de la LGMD R1 liée à la calpaïne est comparable chez les hommes et les femmes. En revanche, dans la LGMD R2 liée à la dysferline, les difficultés fonctionnelles à la marche apparaissent 10 ans plus tôt chez les hommes que chez les femmes.

- Dans la LGMD R1 liée à la calpaïne, la sévérité de l'évolution est corrélée à la présence ou à l'absence d'anomalies génétiques entraînant une lecture tronquée du gène de la calpaïne. Ce type de corrélation génotype-phénotype n'a pas été retrouvé pour la LGMD R2 liée à la dysferline.

Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy.

Winckler PB, da Silva AMS, Coimbra-Neto AR, Carvalho E, Cavalcanti EBU, Sobreira CFR, Marrone CD, Machado-Costa MC, Carvalho AAS, Feio RHF, Rodrigues CL, Gonçalves MVM, Tenório RB, Mendonça RH, Cotta A, Paim JFO, Costa E Silva C, de Aquino Cruz C, Bená MI, Betancur DFA, El Husny AS, de Souza ICN, Duarte RCB, Reed UC, Chaves MLF, Zanoteli E, França MC Jr, Saute JA.
Clin Genet. 2019 Oct;96(4):341-353.

Dans la région la plus peuplée de Norvège

Une équipe norvégienne a recensé les personnes atteintes d'une maladie neuromusculaire de la région la plus peuplée de Norvège dans le but de mettre en place les mesures sanitaires les plus appropriées pour une bonne prise en charge de cette population.



La **prévalence** est une estimation statistique du nombre de personnes atteintes par une maladie dans une population donnée, correspondant au nombre total d'enfants ou adultes concernés à un moment et sur un territoire donné

Si la dystrophie myotonique de type 1 (maladie de Steinert) et la myopathie facio-scapulo-humérale sont, de façon attendue, les plus fréquentes avec une prévalence respective de 11,84 et 6,42 pour 100 000 personnes, les dystrophies musculaires des ceintures ont une prévalence de **4,2 pour 100 000 personnes**. Les anomalies du gène *CAPN3* venant en premier suivi de celles des gènes *ANO5* et *FKRP*.

A hospital based epidemiological study of genetically determined muscle disease in south western Norway.

Husebye SA, Rebne CB, Stokland AE, Sanaker PS, Bindoff LA. *Neuromuscul Disord.* 2020 Mar;30(3):181-185

Estimation de la prévalence de 9 formes de LGMD

Une équipe de chercheurs américains, australiens et estoniens ont mis au point une méthode de calcul robuste et généralisable d'estimation de la prévalence des maladies génétiques récessives qui s'appuie sur les données de séquençage du génome et d'exome de la population générale (notamment la fréquence de tel ou tel type d'anomalie).

▪ Ils l'ont appliquée à neuf formes de LGMD, des maladies rares pour lesquelles les données épidémiologiques sont éparses. Leurs résultats s'avèrent grandement comparables aux estimations faites à partir d'étude épidémiologique, avec une **prévalence estimée** à :

LGMD R1 liée à la calpaïne 3	8,4 pour 100 000
LGMD R2 liée à la dysferline	7,5 pour 100 000
LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane	0,1 pour 100 000
LGMD R4 liée au β -sarcoglycane	3,4 pour 100 000
LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane	0,8 pour 100 000
LGMD R6 liée au δ -sarcoglycane	0,07 pour 100 000
LGMD R7 liée à la téléthonine	0,04 pour 100 000
LGMD R9 liée à FKRP	4,5 pour 100 000
LGMD R12 liée à l'anoctamine 5	17,6 pour 100 000

Ces estimations mettraient en lumière un possible sous-diagnostic des LGMD R2 liée à la dysferline et R9 liée à FKRP.

Estimating prevalence for limb-girdle muscular dystrophy based on public sequencing databases.

Liu W, Pajusalu S, Lake NJ, Zhou G, Ioannidis N, Mittal P, Johnson NE, Wehl CC, Williams BA, Albrecht DE, Rufibach LE, Lek M. *Genet Med.* 2019 Nov;21(11):2512-2520.

L'IRM, un outil de diagnostic et de suivi performant

Dans l'arsenal des outils permettant d'arriver à un diagnostic de certitude, **l'imagerie musculaire par résonance magnétique (IRM)** a connu un essor sans précédent ces dernières années dans les maladies neuromusculaires.

▪ Son caractère non invasif et les progrès techniques continus y sont sans doute pour beaucoup. On commence à l'envisager comme outil de mesure dans certains essais cliniques à visée thérapeutique.

IRM et maladies neuromusculaires

▪ L'imagerie par résonance magnétique (IRM) a commencé à être utilisée dans les myopathies il y a une vingtaine d'années. Ces études ont démontré la supériorité de l'IRM par rapport au scanner pour détecter des modifications intramusculaires débutantes.

L'**IRM** ou **imagerie par résonance magnétique** est une technique d'imagerie médicale qui permet d'obtenir des images en coupe ou en volume d'un organe ou d'une région du corps humain. Pendant l'examen, la personne est allongée, immobile, sur un lit mobile qui coulisse dans un appareil cylindrique constitué d'un aimant très puissant. Cet examen n'est pas douloureux. L'impression d'être enfermé, isolé, le bruit de la machine, la durée de l'examen peuvent cependant être un peu impressionnants.

»» **Diagnostic des maladies neuromusculaires.** Repères Savoir & Comprendre, AFMT-Téléthon.



- L'IRM permet, notamment, de visualiser et de quantifier le remplacement progressif du tissu musculaire par du tissu graisseux qui survient au cours de l'évolution de ces maladies.
- Réaliser une IRM musculaire permet ainsi de repérer la topographie de l'atteinte musculaire (quels muscles sont atteints en premier, lesquels sont les plus atteints, lesquels sont épargnés...) au cours de différentes maladies neuromusculaires.

▪ Dans un article publié en septembre 2019, le consortium international MYO-MRI fait le point sur la place de l'IRM corps entier dans la démarche diagnostique de différentes pathologies et en particulier des dystrophies musculaires. Les auteurs soulignent la part de plus en plus importante prise par les techniques d'IRM balayant le corps de la tête aux pieds (« IRM corps entier »), qui, bien que plus consommatrices en temps-machine, apportent indéniablement plus de renseignements.

MYO-MRI diagnostic protocols in genetic myopathies.

Chardon JW, Díaz-Manera J, Tasca G, Bönnemann CG, Gómez-Andrés D, Heerschap A, Mercuri E, Muntoni F, Pichiecchio A, Ricci E, Walter MC, Hanna M, Jungbluth H, Morrow JM, Torrón RF, Udd B, Vissing J, Yousry T, Quijano-Roy S, Straub V, Carlier RY; MYO-MRI Working Group.

Neuromuscul Disord. 2019 Nov;29(11):827-841.

▪ Le 247^{ème} atelier organisé par l'European Neuromuscular Centre (ENMC) et qui s'est déroulé à Hoofddorp aux Pays-Bas du 20 au 22 septembre 2019, a été consacré à « La mise en œuvre de l'IRM musculaire comme outil diagnostic pour les cohortes de myopathies génétiques rares ». Il a rassemblé des spécialistes européens (dont 3 français), deux venant des États-Unis et du Canada, tous membres du consortium international MYO-MRI, ainsi qu'un représentant de patients.

Ces experts ont

- élaboré des recommandations («meilleures pratiques») pour des protocoles standardisés d'acquisition d'IRM musculaires ;
- défini un cadre pour la collecte de cohortes dans un référentiel commun d'imagerie, MYO-SHARE ;
- mieux identifié la spécificité des topographies de remplacement graisseux dans les différentes maladies musculaires génétiques ;
- proposé d'élaborer un atlas d'imagerie musculaire en ligne accessible gratuitement visant à sensibiliser et à accroître les connaissances en IRM musculaire de la communauté radiologique et neurologique ;

247th ENMC International Workshop on Muscle Magnetic Imaging: Implementing muscle MRI as a diagnostic tool for rare genetic myopathy cohorts

Site de l'ENMC consulté le 15 juin 2020.

L'IRM quantitative : un biomarqueur à développer

Un article de synthèse publié par une équipe danoise plaide en faveur de l'utilisation de l'IRM quantitative pour le diagnostic et le suivi de l'atteinte musculaire dans les maladies neuromusculaires. Outre son aspect non invasif, l'IRM quantitative permet de quantifier la fraction grasseuse et la fraction maigre du muscle.

▪ Dans les maladies neuromusculaires, le remplacement du tissu musculaire par du tissu graisseux est un signe précoce, qui, même s'il est corrélé à la force musculaire, apparaît avant que le retentissement fonctionnel de l'atteinte musculaire ne se manifeste. C'est pourquoi les auteurs proposent

L'European Neuromuscular Centre (ENMC) est une organisation internationale visant à soutenir la recherche dans le domaine des maladies neuromusculaires. Il organise régulièrement des rencontres internationales (workshop ou atelier de travail en français) rassemblant scientifiques et cliniciens sur une thématique donnée.

WEB www.enmc.org/

Un **biomarqueur** ou marqueur biologique est une caractéristique mesurable qui indique un processus biologique normal ou pathologique. L'identification de marqueurs biologiques d'une maladie est très importante pour surveiller l'évolution d'une maladie et l'efficacité de nouveaux traitements, que ces marqueurs soient physiologiques (modification de la pression sanguine, du rythme cardiaque...), moléculaires (modification de l'expression d'une protéine...) ou d'imagerie.



l'IRM quantitative comme un critère de diagnostic et de suivi (biomarqueur) y compris dans le cadre d'essais cliniques.

MRI in Neuromuscular Diseases: An Emerging Diagnostic Tool and Biomarker for Prognosis and Efficacy

Dahlqvist JR, Widholm P, Dahlqvist Leinhard O, Vissing J
Ann Neurol. 2020 Jun 4 [Online ahead of print].

L'IRM précise l'atteinte musculaire de la LGMD R1

- Une étude européenne de l'IRM musculaire de 57 personnes atteintes de LGMD R1 liée à la calpaïne, âgées de 7 à 78 ans, a confirmé le schéma topographique de l'atteinte musculaire dans cette maladie : le remplacement du tissu musculaire par du tissu graisseux prédomine sur les muscles adducteurs de hanches et les ischio-jambiers. Les muscles extenseurs de la colonne vertébrale sont plus touchés que les muscles rotateurs expliquant la plus grande fréquence de lordose que de scoliose.
- La sévérité du remplacement graisseux était corrélé au type d'anomalie génétique, celles qui aboutissaient à l'absence de synthèse de calpaïne 3 étant associées à une atteinte plus marquée. De même, il y a une bonne corrélation entre les scores d'infiltration graisseuse et les mesures fonctionnelles motrices.
- L'importance de l'infiltration graisseuse des muscles des membres inférieurs a permis de distinguer trois groupes de gravité : sévère, intermédiaire et modérée. Une atteinte des muscles antérieurs de la cuisse a été retrouvée associée aux atteintes sévères et aux stades évolués de la maladie.

European muscle MRI study in limb girdle muscular dystrophy type R1/2A (LGMDR1/LGMD2A).

Barp A, Laforet P, Bello L, Tasca G, Vissing J, Monforte M, Ricci E, Choumert A, Stojkovic T, Malfatti E, Pegoraro E, Semplicini C, Stramare R, Scheidegger O, Haberlova J, Straub V, Marini-Bettolo C, Løkken N, Diaz-Manera J, Urtizbera JA, Mercuri E, Kynčl M, Walter MC, Carlier RY.

J Neurol. 2020 Jan;267(1):45-56. [2019 Sep 25 Epub ahead of print]

Une analyse quantitative de l'IRM corps entier bien corrélée à la clinique dans la LGMD R9

En préalable à un essai de phase I/II évaluant les effets du PF-06252616 chez des personnes atteintes de LGMD R9 liée à FKRP ambulantes [NCT02841267], une équipe américaine de Batimore a recueilli pendant 4 mois des mesures fonctionnelles et d'imagerie chez les 19 futurs participants à l'essai.

- Ils ont notamment utilisé une technique automatisée d'analyse de l'IRM musculaire corps entier mesurant la masse musculaire, la masse graisseuse et l'infiltration graisseuse du muscle. Ces mesures reproductibles et standardisées correspondaient à celles de la composition corporelle (par la méthode DEXA plus habituelle), et étaient corrélées au test de marche de 2 minutes, à la mesure de la capacité vitale et à celle de la performance du membre supérieur (score PUL).
- Sur les 4 mois de l'étude aucun des paramètres étudiés n'a changé, en dehors du temps mis pour monter 4 marches.

Longitudinal functional and imaging outcome measures in FKRP limb-girdle muscular dystrophy.

Leung DG, Bocchieri AE, Ahlawat S, Jacobs MA, Parekh VS, Braverman V, Summerton K, Mansour J, Bibat G, Morris C, Marraffino S, Wagner KR.

BMC Neurol. 2020 May 19;20(1):196.



Des études cliniques

Les études cliniques observationnelles et les bases de données qui décrivent les maladies sont essentielles pour préciser la démarche diagnostique, améliorer la prise en charge et envisager des futurs essais cliniques.

Ces outils de recherche clinique colligent des données sur :

- la topographie des muscles atteints, notamment grâce aux données de l'imagerie musculaire,
- le type de lésions observées sur la biopsie musculaire.
- les manifestations de la maladie et leur variabilité dans une même famille et entre familles non apparentées,
- les paramètres de surveillance de l'évolutivité de l'atteinte musculaire, indispensables pour les essais cliniques.
- les résultats du diagnostic génétique (génotype) et les corrélations génotype-phénotype...

Deux types d'**études cliniques observationnelles** :

- les **études transversales**, qui décrivent comment la maladie se manifeste dans un groupe/une population de malades à un moment donné,
- des **études longitudinales**, qui décrivent l'évolution de la maladie au cours du temps (protocole d'histoire naturelle par exemple).

Les **bases de données** capitalisent les données médicales et génétiques de personnes atteintes d'une même maladie, souvent sans limite de temps. L'analyse des données colligées permet de préciser l'histoire naturelle de la maladie, d'établir des corrélations génotype/phénotype et de faciliter le recrutement de participants dans les essais cliniques.

Les études de **corrélations génotype/phénotype**

recherchent l'existence de liens entre les caractéristiques génétiques, le génotype, et les caractéristiques s'exprimant de façon apparente, le phénotype (taille, couleur et forme des yeux, couleur des cheveux, manifestation d'une maladie...). On peut ainsi identifier une relation plus ou moins étroite entre la présence d'une anomalie génétique et les manifestations d'une maladie génétique.

Des bases de données internationales pour les LGMD

Il existe en particulier une douzaine de « registres » (*registry* en anglais) internationaux qui concernent les myopathies des ceintures et qui sont des bases de données de patients nécessairement à l'échelle internationale compte tenu de la rareté de ces maladies.

- Ils concernent la LGMD D1 liée DNAJB6, la LGMD R1 liée à la calpaine, la LGMD R2 liée à la dysferline, la LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane, la LGMD R5 liée au γ -sarcoglycane, la LGMD R7 liée à la téléthonine, la LGMD R9 liée à FKRP, la LGMD R10 liée à la titine, la LGMD R11 liée à POMT1, la LGMD R13 liée à la fukutine, la LGMD R14 liée à POMT2, la LGMD R15 liée à POMGnT1.

WEB lgmd.afm-telethon.fr/registres-internationaux-lgmd/

A la recherche d'un biomarqueur des lésions musculaires d'effort dans les LGMD récessives

Cette étude consiste à doser le taux de troponines rapide et lente à la suite d'un exercice sur bicyclette ergométrique dans les dystrophies musculaires des ceintures récessives, la dystrophie musculaire de Becker et la maladie de McArdle.

Des premiers résultats sont attendus pour décembre 2020.



Un **biomarqueur** ou marqueur biologique est une caractéristique mesurable qui indique un processus biologique normal ou pathologique. L'identification de marqueurs biologiques d'une maladie est très importante pour surveiller l'évolution d'une maladie et l'efficacité de nouveaux traitements, que ces marqueurs soient physiologiques (modification de la pression sanguine, du rythme cardiaque...), moléculaires (modification de l'expression d'une protéine...) ou d'imagerie.

Étude de la troponine rapide comme biomarqueur de lésions musculaires liées à l'exercice Explorer la réponse à l'exercice de la troponine dans les LGMD R, la dystrophie musculaire de Becker et la maladie de McArdle [NCT04349566] (Promoteur : Mads Peter Godtfeldt Stemmerik)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	50 (18 à 50 ans)	Danemark		Juin 2020 – Déc. 2021

Une histoire naturelle des LGMD R1 et R4

Étude prospective de l'histoire naturelle des LGMD R1 liée à la calpaïne 3 et LGMD R4 liée au β-sarcoglycane Décrire l'évolution des LGMD R1 et LGMD R4 et leur impact fonctionnel. [NCT03488784] (Promoteur : Nationwide Children's Hospital)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	100 (tous âges)	États-Unis	3 ans	Janvier 2018 – Juin 2020

Dans la LGMD R2 liée à la dysferline

Banque de données UMD-DYSF Fournir des informations actualisées sur les mutations du gène <i>DYSF</i> et recueillir les données moléculaires et cliniques des personnes présentant une anomalie dans le gène <i>DYSF</i> (soutenue par la Jain Foundation)		
Statut	Pays	Date de création
Recrutement en cours	Revue de la littérature	2002

Base de données internationale pour les dysferlinopathies Mieux comprendre les anomalies génétiques, connaître la fréquence et identifier les patients pour la recherche clinique (soutenue par la Jain Foundation)		
Statut	Pays	Date de création
Recrutement en cours	International	2013

WEB <https://dysferlinregistry.jain-foundation.org/>

Étude COS 2

L'étude internationale COS 2 (*Clinical Outcome Study for Dysferlinopathy*) a pour objectif d'identifier des **critères d'évaluation** (biomarqueurs, outils de mesure, tests...) les plus pertinents dans la perspective d'essais cliniques dans les dysferlinopathies (myopathie distale de Miyoshi et myopathie des ceintures de type R2).

Il est important de disposer d'outils simples à utiliser, qui permettent de mettre en évidence un effet bénéfique d'un candidat médicament sur un



nombre restreint de malades (les dysferlinopathies sont des maladies rares) et sur une période limitée, en général autour d'un an (mais la maladie évolue lentement).

- Le recrutement des participants n'a pas encore commencé. Il est prévu d'inclure 200 participants qui seront suivis pendant 2 ans. Tous les 6 mois, une série d'examen médicaux sera réalisée pour suivre l'évolution de la maladie. L'essai devrait se dérouler dans 8 pays différents, en Amérique, en Asie et en Europe.

WEB <https://www.jain-foundation.org/dysferlinoutcomestudy>

- Cette étude fait suite à l'étude Jain COS [NCT01676077] qui s'est déroulée de septembre 2012 à mars 2018. Cent quatre-vingt-treize participants ont été inclus. En France, le CHU de la Timone et l'Institut de Myologie à Paris ont participé à cette étude internationale.

Publié en janvier 2019, les résultats de cette évaluation de la progression de la maladie dans les dysferlinopathies (LGMD2B, myopathies de Miyoshi) sur un an ont permis

- de déterminer certains scores fonctionnels aptes à détecter une variation de performance significative sur cette période et
- de calculer le nombre de participants nécessaire à la réalisation d'un essai sur un an dans les dysferlinopathies.

Assessment of Disease Progression in Dysferlinopathy: A 1-year Cohort Study

U. Moore, M. Jacobs, MK James, Jain COS Consortium *et al.*
Neurology. 2019 Jan 9;92(5):e461-e474.

Une étude observationnelle de la LGMD R4 liée au bêta-sarcoglycane

Une étude observationnelle de la LGMD R4 liée au bêta-sarcoglycane sur deux ans aux États-Unis a pour but de décrire l'évolution de la maladie chez des personnes potentiellement éligibles à un essai de thérapie génique.

Étude observationnelle de la LGMD R4 liée au β-sarcoglycane Évaluer l'évolution de la LGMD R4 sur 2 ans [NCT03492346]. (Promoteur : Nationwide Children's Hospital)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	25 (3 à 15 ans)	États-Unis	2 ans	Mars 2018 – Mars 2020

Dans les dystroglycanopathies

Base de données internationale CMDIR pour les LGMD R9, R11, R13, R14, R15, R19, R20 Faciliter l'identification des personnes atteintes de LGMD R9, R11, R13, R14 ou R15 pour des essais cliniques, améliorer le diagnostic et la prise en charge et collecter des données globales sur les LGMD [NCT01403402] (Promoteur : Cure CMD)		
Statut	Pays	Date de création
Recrutement en cours	International	2009
En mai 2020, 2 600 enregistrements de 80 pays, toutes pathologies confondues (www.cmdir.org)		



Étude observationnelle préparatoire à de futurs essais cliniques Décrire les signes précoces et les symptômes des dystroglycanopathies [LGMD R9, R11, R13, R14, R15, R19, R20] pour rassembler des informations nécessaires à de futurs essais cliniques [NCT00313677] (Promoteur : National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS))				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	160 (tous âges)	États-Unis	Non précisé	Avril 2006- Juillet 2020

Cette étude clinique a déjà donné lieu à deux publications :

- l'une en 2015, sur la mise en évidence d'une plus grande fréquence de troubles urinaires et de difficultés pour s'alimenter (dysphagie) chez 30 personnes atteintes de dystroglycanopathie que chez les membres de leur famille ;
- l'autre, en décembre 2017, sur une aggravation transitoire de la faiblesse musculaire des personnes atteintes de dystroglycanopathies lors d'une maladie intercurrente fébrile (près de 25% des 52 cas étudiés).

[Urologic and gastrointestinal symptoms in the dystroglycanopathies.](#)

Crockett CD, Bertrand LA, Cooper CS, Rahhal RM, Liu K, Zimmerman MB, Moore SA, Mathews KD.

Neurology. 2015 Feb 3;84(5):532-9.

[Illness-associated muscle weakness in dystroglycanopathies.](#)

Carlson CR, McGaughey SD, Eskuri JM, Stephan CM, Zimmerman MB, Mathews KD.

Neurology. 2017 Dec 5;89(23):2374-2380.

Dans la LGMD R9 liée à FKRP

A la recherche de paramètres de suivi pertinents

Un consortium international de chercheurs comprenant des membres de l'Institut de Myologie de Paris, a publié en mai 2019 les résultats d'une histoire naturelle sur six ans chez 26 personnes adultes atteintes de LGMD R9 liée à FKRP.

- Les valeurs de tests cliniques (testing manuel, épreuves chronométrées dont le test de six minutes de marche) et paracliniques, dont l'IRM musculaire et des épreuves fonctionnelles respiratoires, ont été comparées à celles mesurées au début de l'étude, 6 ans auparavant.
- Avec ce recul, l'aggravation de la maladie est plus perceptible et mesurable grâce à l'IRM de certains groupes musculaires (transformation graisseuse) et à la baisse de la capacité vitale.

[Natural history of limb girdle muscular dystrophy R9 over 6 years: searching for trial endpoints.](#)

Murphy AP, Morrow J, Dahlqvist JR, Stojkovic T, Willis TA, Sinclair CDJ, Wastling S, Yousry T, Hanna MS, James MK, Mayhew A, Eagle M, Lee LE, Hogrel JY, Carlier PG, Thornton JS, Vissing J, Hollingsworth KG, Straub V.

Ann Clin Transl Neurol. 2019 May 16;6(6):1033-1045.



Une base de données internationale

Base de données internationale FKRP (LGMD R9) Recenser les personnes atteintes de toute pathologie liée à une anomalie dans le gène <i>FKRP</i> , comme la myopathie des ceintures avec déficit en <i>FKRP</i> (soutenue par la Fondation LGMD21 et Alliance TREAT-NMD)		
Statut	Pays	Date de création
Recrutement en cours	International	2011

Le *Global FKRP Registry*

Initiée en 2011, le « *Global FKRP Registry* » est une base de données médicales qui concerne des personnes atteintes d'une maladie due à des anomalies (mutations) du gène *FKRP*, à savoir la LGMD R9 liée la *FKRP* (protéine reliée à la fukutine), la dystrophie musculaire congénitale 1C, le syndrome MEB (Muscle-œil-cerveau) et le syndrome de Walker-Warburg.

Une base de données pour mieux connaître les maladies liées à la *FKRP*

- L'objectif est de mieux connaître l'histoire naturelle et la fréquence de ces maladies, de faciliter l'identification de personnes atteintes de ces maladies susceptibles d'intégrer tel ou tel essai ou étude clinique. Le recueil des données est initié par le patient au travers d'un portail sécurisé en ligne : www.fkrp-registry.org.
- Les données recueillies concernent l'âge de début de la maladie, les premiers symptômes, l'histoire familiale, la fonction motrice et la force musculaire, les fonctions cardiaque et respiratoire, les traitements, la qualité de vie et les douleurs.

Un article publié en mai 2020 décrit les caractéristiques de 305 personnes issues de 23 pays et atteintes de LGMD R9 génétiquement confirmée.

- La majorité de ces personnes présentait la mutation fréquente c.836C>A sur un (28,5%) ou les deux (67,9%) exemplaires de leur gène *FKRP* (allèles).
- Les âges de début de la maladie, de la perte de la capacité de courir, de la dépendance du fauteuil roulant et de la mise en place de l'assistance ventilatoire étaient plus tardifs chez les porteurs de l'anomalie en double exemplaires (homozygote), lesquels avaient des signes moins marqués.
- Les trois quarts des personnes présentant une LGMD R9 avaient conservé la marche. Une atteinte cardiaque a été rapportée dans 23,2% des cas.

[Global FKRP Registry: observations in more than 300 patients with Limb Girdle Muscular Dystrophy R9.](#)

Murphy LB, Schreiber-Katz O, Rafferty K *et al.*
Ann Clin Transl Neurol. 2020 May;7(5):757-766.

Collecte globale de données médicales dans la LGMD R9 liée à <i>FKRP</i> Identifier et caractériser la population atteinte de LGMD R9 liée à <i>FKRP</i> [NCT04001595] (Promoteur : Newcastle University)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	670 (tous âges)	Royaume-Uni	6 ans	Nov. 2013- Déc. 2020

WEB www.fkrp-registry.org

L'Alliance TREAT-NMD est un réseau international dédié aux maladies neuromusculaires, regroupant des spécialistes scientifiques et cliniciens et des associations de patients. A l'origine soutenue par la Commission Européenne en tant que réseau Européen d'Excellence, l'Alliance TREAT-NMD continue depuis 2012 à avoir pour but la maintenance d'une infrastructure garantissant l'arrivée rapide en clinique des recherches les plus prometteuses. Elle vise aussi à la reconnaissance, à l'échelon international, des meilleures pratiques actuelles de soins des personnes atteintes de maladie neuromusculaire. Dans ce double but, elle a développé certains des outils nécessaires aux cliniciens et aux développeurs de thérapies tels que les registres globaux de patients ou le TACT, plateforme d'évaluation indépendante de projets précliniques.

WEB www.treat-nmd.eu



Une histoire naturelle norvégienne en cours

- Une étude de l'histoire naturelle de la LGMD R9 liée à FKRP chez 75 participants a démarré en Norvège.

LGMD R9 liée à FKRP (ex-LGMD2I) en Norvège Identifier et caractériser la population atteinte de LGMD R9 liée à FKRP et suivre l'évolution de la maladie sur 2 ans [NCT03930628] (Promoteur : University Hospital of North Norway)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	75 (tous âges)	Norvège	2 ans	Janvier 2020 - Sept. 2022

WEB [Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2I in Norway](#)

Une histoire naturelle promue par Généthon

- En prévision de futurs essais de thérapie génique, Généthon a mis en route une étude internationale de l'histoire naturelle de la LGMD R9 liée à FKRP.

Histoire naturelle de la LGMD R9 liée à FKRP Caractériser l'évolution de la LGMD R9 liée à FKRP en utilisant des paramètres de suivi de l'évolution standardisés [NCT03842878] (Promoteur : Genethon)				
Statut	Nombre de participants (âge)	Pays	Durée du suivi	Début - Fin
Recrutement en cours	60 (16 à 99 ans)	France, Danemark, Royaume-Uni	2 ans	Février 2020- Avril 2022



L'exercice physique

On a longtemps considéré que l'exercice n'était pas bénéfique dans les maladies neuromusculaires. La publication de récents articles médico-scientifiques sur ce sujet est toutefois en train de faire évoluer ce dogme.

Adapter les modalités de l'exercice selon les mécanismes de la maladie

Quatre articles sur ce sujet ont été publiés en décembre 2019 dans un numéro de la revue *Acta Myologica* par deux équipes italiennes, une danoise et une néerlandaise.

- Ces équipes font une compilation des nouvelles connaissances sur l'impact de différentes modalités d'entraînement physique dans les myopathies, les neuropathies et les maladies du motoneurone en regard des avancées dans la compréhension des mécanismes de chacune des maladies neuromusculaires, et ce jusqu'au niveau moléculaire.
- À la lumière de ces connaissances, elles ont émis plusieurs recommandations sur l'exercice dans les maladies neuromusculaires, comme par exemple privilégier des séquences courtes d'entraînement en endurance dans les LGMD R1 liée à la calpaïne ou exclure les exercices excentriques de l'entraînement dans les LGMD R2 liée à la dysferline.

Physiological aspects of muscular adaptations to training translated to neuromuscular diseases.

Berardinelli A, D'Antona G.

Acta Myol. 2019 (Dec). 38(4):197-206. eCollection 2019 Dec.

Exercise in neuromuscular disorders: a promising intervention.

Voet NBM.

Acta Myol. 2019 (Dec). 38(4):207-214. eCollection 2019 Dec.

Exercise therapy for muscle and lower motor neuron diseases.

Sheikh AM, Vissing J.

Acta Myol. 2019 (Dec). 38(4):215-232. eCollection 2019 Dec.

Exercise therapy in muscle diseases: open issues and future perspectives.

Siciliano G, Schirinzi E, Simoncini C, Ricci G.

Acta Myol. 2019 (Dec). 38(4):233-238. eCollection 2019 Dec.

L'entraînement en résistance dans les dystrophies musculaires

Afin de clarifier l'intérêt d'un entraînement en résistance (à forte intensité), longtemps déconseillé dans les dystrophies musculaires, et pour lequel il manque des arguments scientifiques, une équipe italienne a étudié les effets d'un tel programme d'entraînement de 12 semaines (à raison de 2 séances par semaine) chez des adultes marchants présentant une dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (n=6), une dystrophie musculaire des ceintures (n=8) ou une dystrophie musculaire de Becker (n=5).

- Au bout de 12 semaines, les participants avaient augmenté leur force de flexion du genou, et gagner en rapidité pour se relever d'une chaise, descendre et monter 4 marches.

Ces résultats encourageants devront être complétés par des études spécifiques à chaque forme de dystrophie musculaire afin de mieux préciser les exercices à prescrire dans ces maladies.

The Effects of Resistance Exercise Training on Strength and Functional Tasks in Adults With Limb-Girdle, Becker, and Facioscapulohumeral Dystrophies.

Bostock EL, O'Dowd DN, Payton CJ, Smith D, Orme P, Edwards BT, Morse CI.

Front Neurol. 2019 Nov 19;10:1216.



La sédentarité dans les LGMD

Pour être en bonne santé, l'OMS recommande la pratique d'au moins 150 minutes d'exercice modéré ou 75 minutes d'exercice vigoureux par semaine. Afin de savoir ce qu'il en était chez les personnes atteintes de maladie neuromusculaire, une équipe norvégienne s'est intéressée au niveau d'activité physique de personnes atteintes de maladie de Charcot-Marie-Tooth ou de LGMD en capacité de marcher en Norvège.

- Elle a adressé un auto-questionnaire d'évaluation de l'activité physique, le questionnaire IPAC (*International Physical Activity Questionnaire*), qui recense les activités physiques de 7 derniers jours, tant au travail, pendant les loisirs que dans les activités de la vie quotidienne.
- Sur les 108 participants, 50 avaient un diagnostic de LGMD. Les résultats ne montrent pas de différence significative dans les niveaux d'activités entre les personnes atteintes de maladie de Charcot-Marie-Tooth et celles atteintes de LGMD.
- Plus de la moitié des participants avaient un niveau d'activité plus faible que la moyenne avec 48 relevant du groupe de niveau d'activité « faible » (tel que défini par l'IPAC), 30 étaient dans le groupe de niveau « modéré » et 30 dans le groupe de niveau « élevé ». Sur les 50 personnes atteintes de LGMD, 24 atteignaient le seuil minimum d'activité recommandé par l'OMS. Les auteurs concluent leur « état des lieux » par l'intérêt d'explorer des mesures de promotion de l'activité physique chez les personnes atteintes de maladie neuromusculaire.

Self-reported physical activity in people with limb-girdle muscular dystrophy and Charcot-Marie-Tooth disease in Norway.

Andries A, van Walsem MR, Frich JC.

BMC Musculoskelet Disord. 2020 Apr 13;21(1):235.



D'autres avancées dans la LGMD R1 liée à la calpaïne

Une meilleure connaissance de la protéine

La calpaïne3 forme un homotrimère !

Les calpaïnes sont des enzymes régulatrices intracellulaires, qui, en clivant leur protéine cible (substrat), en modifie la fonction. Les calpaïnes sont activées par la présence de calcium.

On en connaît 15 sous-types différents. Les plus connues sont la calpaïne 1 et la calpaïne 2, qui ne sont pas spécifiques d'un tissu, contrairement à la calpaïne 3 qui est exprimée de façon prédominante dans le muscle.

Décrite en 1995, la calpaïne 3 joue un rôle de capteur de stress musculaire, notamment dans la croissance et le remodelage musculaire lors de l'exercice ou après une atrophie. La calpaïne 3 joue aussi un rôle dans le système de transfert du calcium dans la cellule musculaire, sans qu'on en connaisse le mécanisme exact.

- L'équipe du Projet Calpaïne de l'Institut métropolitain des sciences médicales de Tokyo (*Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*) a découvert que la calpaïne 3 fonctionne en homotrimère, c'est-à-dire que chaque unité fonctionnelle est constituée des 3 molécules de calpaïne 3.
- La majorité de la calpaïne 3 est localisée au niveau des myofibrilles. Elle est ancrée à la titine, une protéine élastique, principal constituant des filaments longitudinaux qui assurent le maintien de l'architecture de la myofibrille. En réponse à un étirement la calpaïne 3 modifie sa localisation sur la titine. La calpaïne 3 jouerait un rôle dans l'adaptation mécanique de la titine à la contraction/extension du muscle.
- L'étude de la formation en trimère de la calpaïne 3 devrait contribuer à une meilleure compréhension des effets pathologiques des anomalies génétiques responsable de la LGMD R1 .

A muscle-specific calpain, CAPN3, forms a homotrimer.

Hata S, Doi N, Shinkai-Ouchi F, Ono Y.

Biochim Biophys Acta Proteins Proteom. 2020 Jul;1868(7):140411. [2020 Mar 18 Epub ahead of print]

Les calpaïnes 1 et 2 jouent un rôle dans la réparation de la membrane

Les fibres musculaires sont de grandes cellules, de durée de vie longue, hautement différenciées, issues de la fusion de centaines de myoblastes, c'est pourquoi leur réparation (en particulier de leur membrane cellulaire) et leur maintien en bon état sont essentielles.

- Si on pense que la calpaïne 3 est liée au processus de remodelage du sarcomère au travers de la titine pour s'adapter à la contraction/étirement du muscle, les calpaïnes 1 et 2 semblent jouer un rôle important dans la réparation membranaire de la cellule musculaire, notamment :
 - leur capacité à séparer la membrane de la cellule de ses attaches au cytosquelette faciliterait l'apport de lipides membranaires pour refermer immédiatement une brèche dans la membrane ;
 - elles activent entre autres la dysferline, une protéine nécessaire à la fusion de membranes cellulaires et à leur réparation, et qui est altérée dans la LGMD R2 liée à la dysferline.

A noter, que l'absence de la seule calpaïne 1 est compensée par la calpaïne 2 et réciproquement dans les modèles de cellules étudiés.



- Enfin, les auteurs de cet article ont observé que l'absence de calpaïnes 1 et 2 dans un modèle de souris entraîne une dystrophie musculaire sévère.

Loss of calpains-1 and -2 prevents repair of plasma membrane scrape injuries, but not small pores, and induces a severe muscular dystrophy.

Piper AK, Sophocleous RA, Ross SE, Evesson FJ, Saleh O, Bournazos A, Yasa J, Reed C, Woolger N, Sluyter R, Greer PA, Biro M, Lemckert FA, Cooper ST.
Am J Physiol Cell Physiol. 2020 Jun 1;318(6)

Une nouvelle approche de thérapie cellulaire

La **thérapie cellulaire** consiste à remplacer des cellules malades (d'un tissu, d'un organe...) par une greffe de cellules saines, le plus souvent de cellules souches. Il peut s'agir de cellules provenant du patient lui-même (on parle de greffe autologue) ou d'un donneur (on parle de greffe hétérologue). Un des avantages de la greffe autologue est qu'il n'y a pas de risque de rejet des cellules puisqu'il s'agit de propres cellules du patient.

Les **cellules souches pluripotentes induites** (cellules iPS) sont des cellules qui peuvent s'auto-renouveler indéfiniment en culture et se différencier en n'importe quelles cellules spécialisées de l'organisme

Des chercheurs américains, espagnols et mexicains ont cherché à réparer des cellules souches pluripotentes induites (iPS) de personnes atteintes de LGMD R1 liée à la calpaïne 3 dans le but de les réimplanter.

- Ils ont utilisé le système CRISPR/Cas9, une sorte de ciseau moléculaire, pour réparer l'anomalie génétique de cellules souches pluripotentes induites de 3 personnes atteintes de LGMD R1, présentant trois mutations différentes dans le gène de la calpaïne 3.
- La transplantation de ces cellules souches ainsi corrigées dans des cultures de cellules musculaires en développement (myotubes) ou dans une souris modèle de LGMD R1 liée à la calpaïne 3 a permis une restauration de l'expression de la calpaïne 3 dans les deux modèles.
- Même s'il reste des difficultés à contourner avant une éventuelle application de cette technique chez l'homme, ces résultats apportent la preuve de concept de la faisabilité d'une telle approche pour le développement de thérapie cellulaire autologue dans cette forme de LGMD.

Gene Correction of LGMD2A Patient-Specific iPSCs for the Development of Targeted Autologous Cell Therapy.

Selvaraj S, Dhoke NR, Kiley J, Mateos-Aierdi AJ, Tungtur S, Mondragon-Gonzalez R, Killeen G, Oliveira VKP, López de Munain A, Perlingeiro RCR
Mol Ther. 2019 Dec 4;27(12):2147-2157. [e pub 2019 Aug 28]



D'autres avancées dans la LGMD R2 liée à la dysferline

Les anomalies du gène *DYSF* peuvent entraîner non seulement une myopathie des ceintures autosomique récessive (LGMD R2), mais aussi des myopathies distales, comme la myopathie de Miyoshi.

▪ La dysferline s'exprime de façon prédominante au niveau de la membrane des cellules musculaires, mais on en retrouve dans d'autres tissus, notamment dans des globules blancs du sang, les monocytes CD14+.

Une goutte de sang pour dépister une dysferlinopathie

La grande taille du gène *DYSF* ne permet pas d'en faire une analyse génétique en routine. Le diagnostic de dysferlinopathie repose donc sur l'absence de dysferline sur un prélèvement musculaire ou dans les monocytes CD14+. Si la méthode actuelle de détection de la dysferline est hautement efficace, elle nécessite, cependant, des conditions de prélèvement, de transport et de stockage particulières, un équipement spécialisé et l'expertise d'un laboratoire spécialisé.

▪ Une équipe britannique a mis au point une méthode de détection rapide et robuste de la dysferline sur une goutte de sang séchée à l'air libre (y compris conservée pendant 2 ans à température ambiante). L'absence ou la diminution de la dysferline peut ainsi être rapidement détectée en première approche chez les personnes présentant des signes de dysferlinopathie.

A simple and rapid immunoassay predicts dysferlinopathies in peripheral blood film.

Cox D, Henderson M, Straub V, Barresi R.

Neuromuscul Disord. 2019 Nov;29(11):874-880. [2019 Sep 13 Epub ahead of print]

Analyse du profil génétique d'une grande cohorte japonaise

Une grande étude japonaise s'est intéressée à la diversité des anomalies génétiques qui peuvent toucher le gène *DYSF* : 90 anomalies différentes ont été retrouvées chez 209 personnes atteintes de dysferlinopathie.

▪ L'anomalie la plus fréquente a été retrouvée chez 33,5% des personnes étudiées, dont 28,5% présentaient des signes de myopathie distale de Miyoshi et 61,5% un tableau de myopathie des ceintures.

▪ Dans 70% des cas, il s'agissait d'une mutation faux-sens dans la région interne de la dysferline (domaine iDysf), reflétant une certaine instabilité de cette partie du gène dans cette cohorte constituée à 95% de patients japonais.

The genetic profile of dysferlinopathy in a cohort of 209 cases: genotype-phenotype relationship and a hotspot on the inner DysF domain.

Izumi R, Takahashi T, Suzuki N, Niihori T, Ono H, Nakamura N, Katada S, Kato M, Warita H, Tateyama M, Aoki Y, Aoki M.

Hum Mutat. 2020 May 12. doi: 10.1002/humu.24036. [Epub ahead of print]

Mieux comprendre les mécanismes de la maladie

Le point sur les ferlines chez les vertébrés

Un article de synthèse fait le point sur les différentes ferlines chez les vertébrés avec un chapitre particulier sur la dysferline, la plus étudiée des ferlines.

▪ Dans les dysferlinopathies, l'absence ou le défaut de la dysferline entraîne une altération de la réparation de la membrane des fibres musculaires, et probablement des celles des tubules T, qui peut conduire à des

Les **tubules T** (ou **tubules transverse**) sont de fines invaginations de la membrane réparties régulièrement sur toute la fibre musculaire, qui comme un doigt de gants, pénètrent profondément pour venir au contact du réticulum sarcoplasmique qui entoure les myofibrilles

Le réticulum sarcoplasmique joue un rôle essentiel lors de la contraction musculaire en libérant et en recaptant le calcium qu'il contient.

➤➤ [Le muscle squelettique](#), Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.



modifications de l'équilibre du calcium de la cellule, à la nécrose des fibres musculaires, une inflammation et des cycles de régénération, aboutissant au remplacement du tissu musculaire par un tissu grasseux et fibreux.

- Cependant, les dysferlinopathies ne sont pas dues à la seule altération de la réparation membranaire, puisqu'il a été montré en 2012 que la restauration de la réparation de la membrane plasmique par une surexpression de la myoferline (une autre ferline que l'on retrouve dans le muscle) n'améliore pas les anomalies du tissu musculaire sans dysferline.

Functions of Vertebrate Ferlins.

Bulankina AV, Thoms S.
Cells. 2020 Feb 25;9(3):534.

Restaurer la réparation membranaire n'est pas suffisant

Dans un modèle de souris déficitaires en dysferline, la restauration d'une fonction de réparation membranaire par l'expression d'une mini-dysferline n'arrête pas l'évolution progressive des lésions musculaires suggérant la participation d'autre(s) facteur(s).

- Une équipe chilienne a montré que l'absence de connexines 43 et 45 dans ce modèle de souris déficiente en dysferline les protégeait des altérations musculaires. Ces protéines pourraient représenter une cible thérapeutique dans les dysferlinopathies.

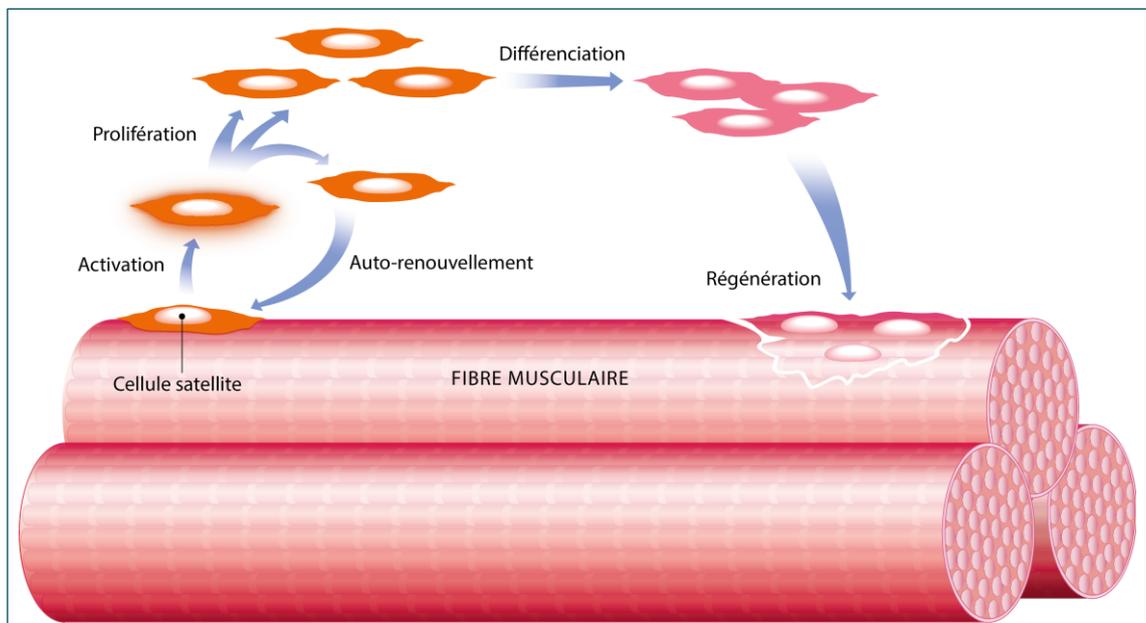
Myofibers deficient in connexins 43 and 45 expression protect mice from skeletal muscle and systemic dysfunction promoted by a dysferlin mutation.

Fernández G, Arias GB, Bevilacqua JA, Castillo-Ruiz M, Caviedes P, Sáez JC, Cea LA.
Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2020 Apr 16:165800. [Epub ahead of print]

Agir sur la transformation grasseuse du muscle

- Le muscle strié squelettique adulte normal est capable de régénérer après une lésion. Cette capacité est due à des cellules, situées le long des fibres musculaires, qui peuvent se différencier en cellule musculaire : les **cellules satellites**.

Les **connexines**, ou protéines de jonctions communicantes (Gap Junction proteins), sont de protéines transmembranaires qui s'assemblent pour former des jonctions communicantes entre les cellules.



Régénération des fibres musculaires. Cellules satellites.

Après une lésion, les cellules satellites sortent de quiescence et s'activent. Les précurseurs myogéniques (ou myoblastes) prolifèrent pendant la phase d'expansion. Une petite partie des cellules suit le programme d'auto-renouvellement et entrent en quiescence pour reformer le stock des cellules satellites. La grande majorité des cellules s'engage dans le programme de différenciation en cellules musculaires.



- Aux côtés des cellules satellites, il existe des **cellules** dites « **précurseurs fibro-adipogéniques** » qui, elles, sont capables de se différencier uniquement en cellules conjonctives (fibroblastes) et en cellules graisseuses (adipocytes) dans le muscle strié squelettique.

La régénération musculaire : un processus complexe

- On a longtemps penser que les cellules satellites, avec leurs capacités à se multiplier, fusionner pour régénérer les fibres musculaires, étaient le premier acteur de la régénération du muscles après une lésion (traumatique, dégénérative, toxique...).
- Cependant, il y a de plus en plus d'argument en faveur d'un processus de régénération des fibres musculaire impliquant des interactions complexes de différents acteurs (précurseurs des cellules musculaires et non musculaires, réaction inflammatoire, cellules immunitaires...) et de la matrice extra-cellulaire.

Dans les dysferlinopathies, c'est plus la transformation adipeuse du tissu musculaire que sa transformation fibreuse (comme dans d'autres dystrophie musculaire) qui est à l'œuvre dans la perte musculaire.

- L'annexine 2, une autre protéine de réparation de membrane, semble jouer un rôle dans la dégénérescence de la fibre musculaire sans dysferline : il existe une accumulation progressive d'annexine A2 dans les cellules musculaires déficitaires en dysferline et son absence protège les cellules musculaires de la dégénérescence graisseuse.
- Une équipe de chercheurs américains a démontré que c'est cette annexine A2 qui déclenche la différenciation des cellules précurseurs fibro-adipogéniques en cellules adipeuses, responsables de la perte musculaire dans les dysferlinopathies.

Fibroadipogenic progenitors are responsible for muscle loss in limb girdle muscular dystrophy 2B.

Hogarth MW, Defour A, Lazarski C, Gallardo E, Manera JD, Partridge TA, Nagaraju K, Jaiswal JK.

Nat Commun. 2019 Jun 3;10(1):2430.

A la recherche de pistes thérapeutiques chez la souris

Le losartan aggrave les lésions

Le losartan est un médicament utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle. Des études ont montré qu'il pouvait diminuer la fibrose de muscles dystrophiques dans plusieurs souris modèles de dystrophie musculaire, notamment dans des souris modèles de myopathie de Duchenne.

- Dans un article publié en août 2019, des chercheurs canadiens ont étudié l'effet du losartan dans deux souris modèles de dysferlinopathie, l'un avec un phénotype sévère, l'autre avec des manifestations moindres. À la surprise des auteurs, l'administration du losartan a aggravé les lésions de plusieurs groupes musculaires, notamment du quadriceps et du triceps brachial. Ceci s'accompagnait en outre d'une augmentation du cholestérol et des triglycérides sanguins.
- Ces données tendraient à prouver que le mécanisme des dysferlinopathies est différent de celui des autres formes de dystrophie musculaire.
- Les auteurs concluent aussi à la plus grande prudence dans la prescription de ce type d'anti-hypertenseur chez les personnes atteintes de dysferlinopathies.



Angiotensin II receptor blocker losartan exacerbates muscle damage and exhibits weak blood pressure-lowering activity in a dysferlin-null model of Limb-Girdle muscular dystrophy type 2B.

White Z, Milad N, Tehrani AY, Chen WW, Donen G, Sellers SL, Bernatchez P.
PLoS One. 2019 Aug 12;14(8):e0220903.

La metformine favorise la réparation membranaire

Après avoir montré l'importance de l'AMPK, une protéine qui se lie à la dysferline, dans le processus de réparation membranaire des cellules musculaires, une équipe japonaise a publié des travaux sur le rétablissement de la réparation membranaire par un activateur de l'AMPK dans des cellules musculaires humaine et de souris déficitaires en dysferline en culture.

- Ce rôle de l'AMPK est conforté par l'amélioration des signes musculaires de poissons zèbre et de souris modèles de dysferlinopathie traités par metformine, une molécule activatrice de l'AMPK.

AMPK Complex Activation Promotes Sarcolemmal Repair in Dysferlinopathy.

Ono H, Suzuki N, Kanno SI, Kawahara G, Izumi R, Takahashi T, Kitajima Y, Osana S, Nakamura N, Akiyama T, Ikeda K, Shijo T, Mitsuzawa S, Nagatomi R, Araki N, Yasui A, Warita H, Hayashi YK, Miyake K, Aoki M.
Mol Ther. 2020 Apr 8;28(4):1133-1153.

Un agent thérapeutique japonais à améliorer

Le laboratoire pharmaceutique japonais *Takeda* a identifié, à la suite d'un screening de molécules sur des cellules souches iPS de patients atteints de dysferlinopathie, une substance qui augmente la quantité de dysferline de façon proportionnelle à la dose utilisée. Cette molécule inhibe la polymérisation des microtubules, des organites indispensables au fonctionnement des cellules. C'est pourquoi la société a arrêté le développement de cette molécule vers un éventuel candidat médicament, mais elle poursuit l'étude de ses mécanismes d'action, qui pourrait conduire à l'identification de nouveaux agents thérapeutiques dans les dysferlinopathies.

Identification of 2,6-Disubstituted-3H-imidazo[4,5-b]pyridines as Therapeutic Agents for Dysferlinopathies through Phenotypic Screening on Patient-Derived iPSCs.

Takada H, Kaieda A, Tawada M, Nagino T, Sasa K, Oikawa T, Oki A, Sameshima T, Miyamoto K, Miyamoto M, Kokubu Y, Tozawa R, Sakurai H, Saito B.
J Med Chem. 2019 Oct 24;62(20):9175-9187.

L'edasonexent : un anti-inflammatoire non stéroïdien

L'edasonexent (ou CAT-1004) est un anti-inflammatoire non stéroïdien, qui se présente sous forme de comprimé à avaler et associe deux substances bioactives : l'acide salicylique (l'aspirine) et l'acide docosahexaénoïque (un oméga 3, qui présente aussi des propriétés anti-inflammatoires).

- Mis au point par le laboratoire *Catabasis Pharmaceuticals*, l'edasonexent devrait ses propriétés anti-inflammatoires à l'inhibition de l'activité de NF-KB, protéine clé d'une voie de signalisation cellulaire qui empêche la régénération du muscle malade et accroît sa dégradation.

Ce candidat-médicament est à l'essai dans la myopathie de Duchenne dans laquelle il a fait preuve d'une bonne tolérance, sans effet secondaire sérieux à long terme (près de 3 ans de recul).

Les **cellules souches pluripotentes induites** (cellules iPS) sont des cellules qui peuvent s'auto-renouveler indéfiniment en culture et se différencier en n'importe quelles cellules spécialisées de l'organisme

Les **anti-inflammatoires non stéroïdiens** constituent une classe de médicaments anti-inflammatoires qui ne sont pas de la famille chimique des stéroïdes et n'en présentent pas les effets secondaires.

Les **voies de signalisation** cellulaire permettent de transmettre un message à l'intérieur d'une cellule pour moduler son activité (croissance, division, différenciation, mort...). Le message peut provenir d'autres cellules de l'organisme ou de l'environnement extérieur. Son arrivée au niveau d'un récepteur de la cellule déclenche une cascade de réactions qui va modifier le comportement de la cellule.



- La *Jain Foundation* et le laboratoire *Catabasis Pharmaceuticals* ont annoncé par communiqué de presse une collaboration visant à évaluer l'edasalonexent sur des souris modèle de dysferlinopathie.

Catabasis Pharmaceuticals and the Jain Foundation Announce a Preclinical Research Collaboration to Study Edasalonexent in Dysferlinopathy

Catabasis Pharmaceuticals, Communiqué de presse du 26 septembre 2019

Combiner un travail d'entraînement musculaire concentrique et excentrique

Le muscle de souris modèles déficitaire en dysferline subit des lésions importantes au cours de contractions musculaires répétées excentriques, c'est-à-dire lorsque le muscle s'allonge en se contractant.

- Une étude a montré que, contrairement au travail excentrique, l'entraînement musculaire en concentrique (lorsque le muscle se raccourcit en se contractant) pendant 12 semaines n'entraîne pas de gain de force des souris qu'elles soient ou non déficitaire en dysferline.
- Elle a aussi montré que faire précéder le travail excentrique d'un travail concentrique permettait un gain de force en limitant les lésions musculaires chez les souris sans dysferline. Ces observations pourraient permettre de mieux guider le travail de rééducation musculaire dans les dysferlinopathies.

The effects of concentric and eccentric training in murine models of dysferlin-associated muscular dystrophy.

Begam M, Roche R, Hass JJ, Basel CA, Blackmer JM, Konja JT, Samojedny AL, Collier AF, Galen SS, Roche Bpt JA.

Muscle Nerve. 2020 May 3. [Epub ahead of print]



Les **acides aminés** représentent une famille de petites molécules qui constituent les éléments de base des protéines. Leur assemblage selon une séquence déterminée confère à chaque protéine des caractéristiques structurelles et fonctionnelles propres.

La **mucoviscidose** (pour « maladie du mucus visqueux » en français) ou fibrose kystique (en anglais : cystic fibrosis) est une maladie rare et génétique qui touche principalement les voies respiratoires et le système digestif. C'est la plus fréquente des maladies génétiques héréditaires. L'altération de la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator), découverte en 1989 et chargée d'assurer la fluidité du mucus, est à l'origine de la maladie. Le mucus alors anormalement épais va entraîner l'obstruction des voies respiratoires (bronches) et digestives (tube digestif, canaux du pancréas, canaux biliaires du foie). Cet encombrement des bronches va être responsable d'infections respiratoires (toux, expectorations...), celui des voies et canaux digestifs (intestin, pancréas, foie) de troubles digestifs et hépatiques. Un **modèle cellulaire** permet d'étudier les mécanismes biologiques d'une maladie à partir de cellules cultivées en laboratoire qui reproduisent les caractéristiques de cette maladie. Ces cellules peuvent provenir de personnes atteintes par la maladie. Un modèle cellulaire permet aussi de tester les effets d'un traitement potentiel.

D'autres avancées dans les sarcoglycanopathies

La plupart des anomalies génétiques en cause dans les sarcoglycanopathies sont des mutations faux sens, c'est-à-dire des anomalies qui aboutissent à la synthèse d'une protéine sarcoglycane, mais dont la composition est anormale. Beaucoup de ces sarcoglycanes avec une modification d'un acide aminé sont incapables de se replier correctement pour former un sarcoglycane normal. Ils sont alors reconnus par le contrôle qualité de la cellule et sont détruits. Leur absence entraîne un défaut d'assemblage, de transport et de localisation du complexe des sarcoglycanes, élément indispensable à la stabilité de la membrane des cellules musculaires.

Sur la piste des correcteurs CFTR

- Les correcteurs de CFTR, non seulement sont efficaces sur certains CFTR anormaux à l'origine de la mucoviscidose, mais aussi sur d'autres protéines.
- Un premier médicament, l'ivacaftor (Kalydeco®), est disponible en France depuis 2012 pour les patients atteints de mucoviscidose porteurs d'une altération particulière du gène CFTR.

- En 2018, une équipe franco-italienne a traité des cellules musculaires de personnes atteintes de LGMD R3 liée à l' α -sarcoglycane par des correcteurs de CFTR. Il en a résulté une **relocalisation de l' α -sarcoglycane anormal (muté) à la membrane** des cellules et une diminution de la fragilité de la membrane. L'un de ces correcteurs de CFTR, le C17, s'est avéré particulièrement efficace sur les cellules LGMD R3.
- En 2020, la même équipe a poursuivi ces travaux sur plusieurs de ces correcteurs de CFTR (le C17, le C13, le C9, le C6), ainsi que 2 autres composés utilisés aussi dans le traitement de la mucoviscidose. Certains augmentent la quantité d' α -sarcoglycane muté, d'autres restaurent son positionnement à la membrane, certains les deux. L'effet synergique de 2 correcteurs (par exemple l'association C17 et C6) permet de réduire les doses utilisées.

L' **α -sarcoglycane anormal « corrigé » par le C17**, s'est avéré, une fois inséré dans la membrane cellulaire, **stable** dans le temps.

- Ces résultats obtenus *in vitro* (sur des cultures de cellules) représentent une étape essentielle vers le développement d'un candidat médicament pour la plupart des personnes atteintes de sarcoglycanopathies et vont permettre d'explorer plus avant cette piste *in vivo* sur des modèles animaux.

Combined Use of CFTR Correctors in LGMD2D Myotubes Improves Sarcoglycan Complex Recovery.

Carotti M, Scano M, Fancello I, Richard I, Risato G, Bensalah M, Soardi M, Sandonà D. *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 6;21(5):1813.

Des nouveaux outils de recherche pour la LGMD R5

Un outil pour étudier la structure du γ -sarcoglycane

Une équipe de chimistes américains a réussi pour la première fois à purifier et extraire quelques milligrammes de protéine γ -sarcoglycane de pleine longueur. Le franchissement de cette étape techniquement complexe va permettre des études structurales de cette protéine, base de la compréhension des interactions et de la dynamique du complexe membranaire des sarcoglycanes.

Expression, purification, and structural analysis of the full-length human integral membrane protein γ -sarcoglycan.



Jamaladdine M, Harris MS, Liyanage L, Cook GA.
Protein Expr Purif. 2020 Mar;167:105525. [Epub 2019 Nov 1]

Un nouveau modèle de souris pour tester le saut d'exon

L'anomalie la plus fréquente en cause dans la LGMD R5 liée à l' γ -sarcoglycane est la perte d'un seul nucléotide (déletion). Cette déletion entraîne un décalage dans la lecture du gène codon par codon, aboutissant à l'absence de synthèse de γ -sarcoglycane.

Un **nucléotide** est l'unité de base de la molécule d'ADN. Il y en a 4 différents : A, T, G, C.

A chaque combinaison de 3 nucléotides (triplet ou trinuécléotide ou codon) sur le gène correspond un acide aminé dans la protéine.

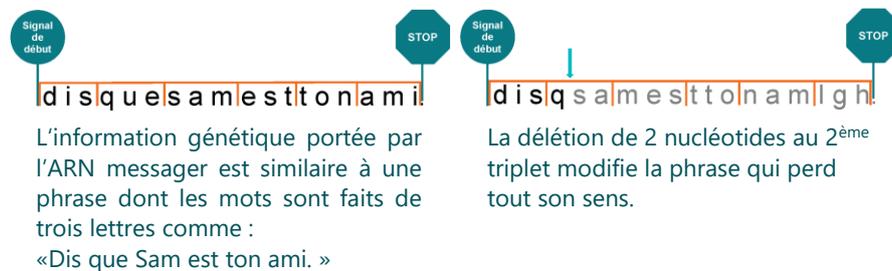
Cadre de lecture

L'ARN messenger est constitué d'une succession de nucléotides. Leur lecture selon un cadre précis permet de fabriquer une protéine. Ce cadre de lecture c'est :

- une lecture des nucléotides 3 par 3 (codon par codon) ;
- une séquence de 3 nucléotides (codon d'initiation) comme point de départ ;
- un codon stop qui signifie l'arrêt de la fabrication de la protéine.

Décalage du cadre de lecture

Certaines anomalies génétiques (délétions, mutations ponctuelles...) peuvent décaler le cadre de lecture de l'ARN messenger.



En utilisant la nouvelle technique d'édition du genome, CRISPR/Cas9, qui permet de couper l'ADN à des endroits précis, une équipe américaine a développé un modèle de souris LGMD R5 présentant une délétion d'un seul nucléotide similaire à l'anomalie génétique humaine. Ce nouveau modèle de souris a permis de montrer qu'un traitement par saut de plusieurs exons permettait de rétablir un cadre de lecture normal.

A gene-edited mouse model of Limb-Girdle muscular dystrophy 2C for testing exon skipping.

Demonbreun AR, Wyatt EJ, Fallon KS, Oosterbaan CC, Page P, Hadhazy M, Quattrocelli M, Barefield DY, McNally EM.
Dis Model Mech. 2019 Nov 4;13(2):dmm040832.



Mieux connaître les mécanismes dans LGMD R8 liée à TRIM 32

Ne détruire que les protéines de mauvaise qualité

Le contrôle qualité des protéines est crucial pour la santé cellulaire, en particulier pour les tissus comme le muscle ou le système nerveux qui contiennent des cellules à longue durée de vie.

Il y a deux grands processus qui contrôlent la dégradation des protéines :

- l'**autophagie sélective** assure un contrôle qualité des composants cellulaires, détruisant (ou recyclant), via les lysosomes, ceux qui sont endommagés ou nocifs ;
- le **système ubiquitine-protéasome (UPS)** met en jeu des mécanismes impliquant au total des centaines de composants pour reconnaître spécifiquement et de manière précisément régulée, les protéines à dégrader.

- Un article de synthèse fait le point des connaissances sur **les protéines TRIM**, ces protéines caractérisées par la présence d'un motif en trois parties (*TRIPartite Motif* en anglais).

Les protéines TRIM représentent une des plus grandes familles de ligases E3, lesquelles jouent un rôle dans l'entrée d'une protéine dans le système de dégradation ubiquitine-protéasome.

Elles sont impliquées dans de nombreux processus cellulaires comme l'apoptose, la régulation du cycle cellulaire, la physiologie musculaire et la réponse immunitaire innée.

- TRIM32 est impliquée dans la survenue de la LGMD R8 et dans une autre forme de myopathie plus sévère, la myopathie sarco-tubulaire. Les protéines cibles de TRIM32 sont multiples. Leur étude laisse penser que TRIM32 serait impliquée aussi bien dans le processus de dégénérescence musculaire que dans celui de la régénération du muscle avec une implication dans la biologie des cellules satellites.

- Une équipe norvégienne et une équipe italienne ont étudié les interactions entre TRIM32 et l'autophagie et a établi leur régulation réciproque. En revanche, la protéine TRIM32 anormale de la LGMD R8 perd ces interactions régulatrices entraînant une activation non régulée du processus atrophique dans le muscle.

TRIM E3 Ubiquitin Ligases in Rare Genetic Disorders.

Meroni G.

Adv Exp Med Biol. 2020;1233:311-325.

A TRIM32-AMBRA1-ULK1 complex initiates the autophagy response in atrophic muscle cells.

Di Rienzo M, Piacentini M, Fimia GM.

Autophagy. 2019 Sep;15(9):1674-1676. Epub 2019 Jun 28:1-3.

TRIM32, but not its muscular dystrophy-associated mutant, positively regulates and is targeted to autophagic degradation by p62/SQSTM1.

Stange Overå K, Garcia Garcia J, Bhujabal Z, Jain A, Øvervatn A, Larsen KB, Deretic V, Johansen T, Lamark T, Sjøttem E.

J Cell Sci. 2019 Dec 2;132(23):jcs236596. Epub 2019 Nov 4.

L'apoptose est une mort cellulaire physiologique, qui se déroule de manière ordonnée en plusieurs étapes au terme desquelles l'ensemble de la cellule et de son contenu est éliminé sans que les cellules avoisinantes soient endommagées. L'apoptose est en équilibre constant avec la multiplication des cellules pour assurer le renouvellement cellulaire.



D'autres avancées dans les dystroglycanopathies

Des corps embryoides pour mieux étudier la lame basale

Les cellules souches pluripotentes, embryonnaires ou induites à la pluripotence (cellule iPS) ont la propriété de s'organiser spontanément *in vitro* en agrégats tridimensionnels, appelés **corps embryoides**.

- Pour mieux étudier la lame basale, difficile d'accès *in situ*, une équipe américaine a mis au point un modèle expérimental en générant des corps embryoides à partir de cellules induites à la pluripotence (iPS) humaines de personnes atteintes d' α -dystroglycanopathie.
- L'analyse en microscopie a mis en évidence les mêmes anomalies de la matrice extra-cellulaire que celles retrouvées dans les α -dystroglycanopathies.
- Cette méthode expérimentale permettra d'étudier les anomalies de la lame basale dans les différentes pathologies (du rein, de l'œil, certaines malformations cérébrales, certains cancers...) où la lame basale est altérée.
- Elle a aussi permis de mettre en évidence une **restauration totale de la lame basale par le ribitol** administré à des corps embryoides issus de personnes atteintes de déficit en FKR, confortant les résultats obtenus chez la souris par un régime supplémenté en ribitol.

Les **cellules pluripotentes** ne peuvent pas produire un organisme entier (comme les cellules totipotentes), mais elles sont capables de se diviser indéfiniment, de s'auto-renouveler (c'est-à-dire de se multiplier sans se différencier) et de donner naissance à n'importe quel type de cellule (de se différencier).

Ribitol restores functionally glycosylated α -dystroglycan and improves muscle function in dystrophic FKR mutant mice

Marcela P Cataldi, Peijuan Lu, Anthony Blaaser, Qi Long Lu
Nat Commun. 2018 Aug 27;9(1):3448.

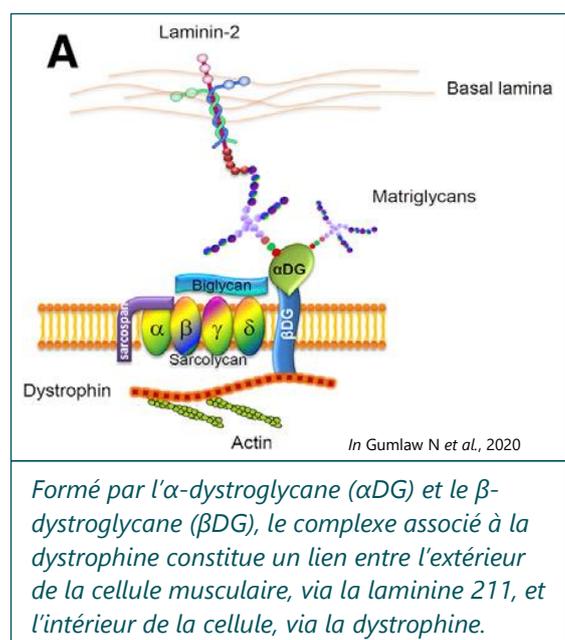
Human embryoid bodies as a 3D tissue model of the extracellular matrix and α -dystroglycanopathies.

Nickolls AR, Lee MM, Zukosky K, Mallon BS, Bönemann CG.
Dis Model Mech. 2020 Jun 26;13(6):dmm042986.

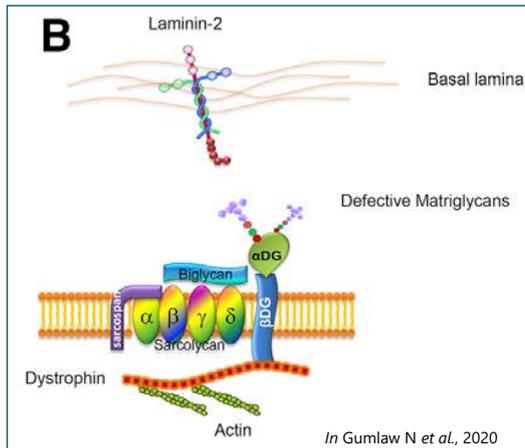
Un double anticorps rétablit la liaison avec la matrice extracellulaire

Les alpha-dystroglycanopathies (LGMD R9 liée à FKR, LGMD R11 liée à POMT1, LGMD R13 liée à la fukutine, LGMD R14 liée à POMT2, LGMD R15 liée à POMGnT1, LGMD R19 liée à GMPPB, LGMD R20 liée à ISPD, LGMD R24 liée à POMGNT2) sont dues (sauf la LGMD R16) à des anomalies de glycosylation qui empêchent l' α -dystroglycane de se lier à la laminine 211, entraînant une fragilisation du lien entre la fibre musculaire et la matrice extracellulaire qui l'entoure.

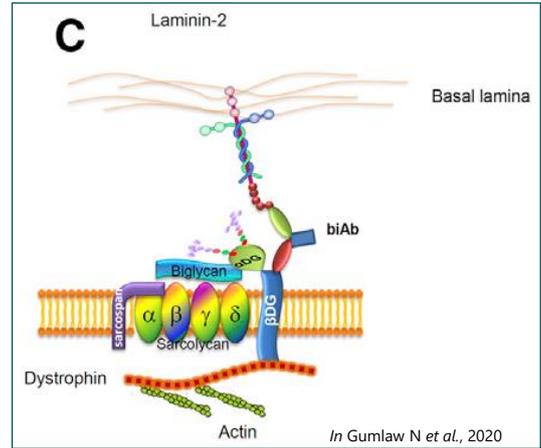
- Une équipe américaine du laboratoire Sanofi a mis au point un « double anticorps » spécifique qui a la particularité de se lier à la laminine 211 (appelée aussi laminine 2 ou mérosine) et au β -dystroglycane, qui constitue avec l' α -dystroglycane le complexe associé à la dystrophine. Administré par voie systémique à des souris modèle d' α -dystroglycanopathie, ce double anticorps améliore la force des souris traitées jusqu'à 70% de la normale et multiplie par deux leur endurance à courir par rapport aux souris modèles non traitées. Cette piste thérapeutique a l'intérêt de s'adresser à toutes les formes d' α -dystroglycanopathie.



Formé par l' α -dystroglycane (α DG) et le β -dystroglycane (β DG), le complexe associé à la dystrophine constitue un lien entre l'extérieur de la cellule musculaire, via la laminine 211, et l'intérieur de la cellule, via la dystrophine.



Les anomalies de glycosylation de l'α-dystroglycane l'empêche de se lier à la laminine 211 entraînant une rupture du lien entre la fibre musculaire et la matrice extracellulaire qui l'entoure.



Le double anticorps relie la laminine211 et le β-dystroglycane rétablissant le lien mécanique entre la cellule musculaire et la lame basale, partie de la matrice extracellulaire proche de la cellule.

biAb Mediated Restoration of the Linkage between Dystroglycan and Laminin-211 as a Therapeutic Approach for α-Dystroglycanopathies.

Gumlaw N, Sevigny LM, Zhao H, Luo Z, Bangari DS, Masterjohn E, Chen Y, McDonald B, Magnay M, Travaline T, Yoshida-Moriguchi T, Fan W, Reczek D, Stefano JE, Qiu H, Beil C, Lange C, Rao E, Lukason M, Barry E, Brondyk WH, Zhu Y, Cheng SH. *Mol Ther.* 2020 Feb 5;28(2):664-676.

Des anomalies de la jonction neuromusculaire dans la LGMD R19

Des anomalies de la transmission neuromusculaire ont été observées ces dernières années dans la LGMD R19 liée au gène *GMPPB*.

- Dans un article publié en janvier 2020, une équipe américaine a recherché et caractérisé des défauts de transmission neuromusculaire dans une cohorte de 31 patients atteints d'alpha-dystroglycanopathie dont une majorité avaient des mutations du gène *FKRP* (25/31). Les autres patients présentaient une mutation dans le gène *GMPPB* (n= 4), dans le gène *POMGNT1* (n=1) ou dans le gène *POMT2* (n=1).
- Les auteurs ont mis en évidence des signes cliniques évocateurs d'une atteinte de la transmission neuromusculaire, comme l'apparition d'une fatigue lors d'un effort. Celle-ci était présente au cours de la mastication chez 63% des personnes. En revanche, aucun défaut de la transmission neuromusculaire n'a été détecté à l'électroneuromyogramme (EMG) chez les malades avec mutations du gène *FKRP*. L'EMG ne s'est avéré perturbé que chez un des patients porteurs de mutations du gène *GMPPB*.
- Ces données ont des conséquences sur la prise en charge des personnes concernées puisque les formes liées au gène *GMPBB* répondent souvent bien aux anti-cholinestérasiques oraux à l'inverse des autres sous-types de LGMD.

Clinical and electrophysiological evaluation of myasthenic features in an alpha-dystroglycanopathy cohort (FKRP-predominant).

Gonzalez-Perez P, Smith C, Sebetka WL, Gedlinske A, Perlman S, Mathews KD. *Neuromuscul Disord.* 2020 Mar;30(3):213-218.

La transmission neuromusculaire
La **jonction neuromusculaire**
est la zone de communication
entre le nerf par qui le signal de
contraction (influx nerveux)
arrive et le muscle qui se
contracte sous l'impulsion de

Les **anti-cholinestérasiques**
sont des substances qui inhibent
l'action de l'acétylcholinestérase



Dans la LGMD R9 liée à FKRP

Une thérapie cellulaire qui améliore la force des souris

Afin de savoir si la transplantation de cellules souches musculaires pouvait relancer la régénération musculaire et améliorer l'atteinte musculaire due à des anomalies du gène *FKRP*, une équipe américaine a injecté en intramusculaire des cellules souches musculaires humaines et de souris à une souris modèle de LGMD R9 liée à FKRP immunodéprimée avec succès : apparition de cellules musculaires du donneur et rétablissement de la glycosylation de l' α -dystroglycane.

- Les souris qui ont reçu les cellules souches de souris ont vu la force de leur muscle traités augmenter.

Efficient engraftment of pluripotent stem cell-derived myogenic progenitors in a novel immunodeficient mouse model of limb girdle muscular dystrophy 2I.

Azzag K, Ortiz-Cordero C, Oliveira NAJ, Magli A, Selvaraj S, Tungtur S, Upchurch W, Iaizzo PA, Lu QL, Perlingeiro RCR.
Skelet Muscle. 2020 Apr 22;10(1):10.

Validation d'une molécule augmentant la glycosylation de l' α -dystroglycane dans des cellules malades

Une équipe britannique a mis au point, en l'absence de modèle animal portant une anomalie génétique similaire à celle retrouvée chez l'homme, un nouveau modèle cellulaire dérivé de cellules iPS issues d'une personne atteinte de LGMD R9 liée à FKRP.

- Ce modèle cellulaire a permis de valider une molécule, découverte après un criblage de plus de 30 000 composants. Cette molécule est capable d'augmenter significativement la glycosylation de l' α -dystroglycane, en partie en augmentant l'activité de la glycosyltransférase LARGE1.

A new patient-derived iPSC model for dystroglycanopathies validates a compound that increases glycosylation of α -dystroglycan.

Kim J, Lana B, Torelli S, Ryan D, Catapano F, Ala P, Luft C, Stevens E, Konstantinidis E, Louzada S, Fu B, Paredes-Redondo A, Chan AE, Yang F, Stemple DL, Liu P, Ketteler R, Selwood DL, Muntoni F, Lin YY.
EMBO Rep. 2019 Nov 5;20(11):e47967.

Un nouveau modèle expérimental

Une équipe de Généthon a mis au point un système cellulaire *in vitro* qui permet d'étudier la localisation cellulaire ainsi que la fonction des protéines FKRP anormales dues aux différentes anomalies génétiques les plus fréquentes des personnes atteintes de LGMD R9.

- Ce système permet ainsi de tester fonctionnellement les protéines FKRP mutées dans le but de trouver des traitements pharmacologiques ciblant le contrôle qualité des protéines.

Functional and cellular localization diversity associated with Fukutin-related protein patient genetic variants.

Henriques SF, Gicquel E, Marsolier J, Richard I.
Hum Mutat. 2019 Oct;40(10):1874-1885.

Une organisation en dimère indispensable

Une équipe japonaise a étudié la structure cristalline de la FKRP. Les études fonctionnelles basées sur la structure de la FKRP confirment la nécessité de l'association de deux molécules de FKRP (sous forme de dimères) pour assurer l'activité enzymatique (glycosylation) de l' α -dystroglycane.

Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy.

Le **criblage** est une technique permettant la recherche, le tri et l'identification de molécules spécifiques parmi un grand nombre de molécules. Le criblage pharmacologique a pour but la découverte d'un médicament. Il consiste à faire réagir, de façon robotisée, un grand nombre de composés pharmacologiques (médicaments candidats) avec un système biologique qui reproduit certaines caractéristiques d'un organisme vivant, bien portant ou présentant une maladie.



Kuwabara N, Imae R, Many H, Tanaka T, Mizuno M, Tsumoto H, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T, Senda T, Endo T, Kato R.
Nat Commun. 2020 Jan 16;11(1):303.

Mieux connaître la LGMD R11 liée à POMT1

Les caractéristiques cliniques, neuroradiologiques et génétiques de 35 personnes porteuses d'une anomalie sur les 2 exemplaires du gène *POMT1* ont été rapportées dans un article paru en juillet 2019 :

- **15** présentaient un tableau de syndrome de Walker-Warburg et **1** un tableau de syndrome MEB, deux formes de **dystrophies musculaires congénitales** ;

- **19** présentaient un tableau de **myopathie des ceintures LGMD R11 avec atteinte cognitive**.

- Elles étaient issues de 27 familles non apparentées : 16 d'origine turque, une d'origine indonésienne, une d'origine tsigane, une d'origine africaine et 8 d'origine allemande. L'analyse des corrélations entre le type et la localisation des anomalies génétiques et la sévérité des signes cliniques devraient permettre aux généticiens d'affiner le conseil génétique.

- La LGMD R11 a débuté entre l'âge d'un mois et celui de trois ans avec une progression de l'atteinte musculaire conduisant à la perte de la marche entre 13 et 18 ans (sauf pour une personne qui conservait la marche à l'âge de 32 ans).

- L'atteinte cognitive présente dans tous les cas s'accompagnait d'une petite boîte crânienne (microcéphalie) dans 2/3 des cas.

- Une IRM cérébrale pratiquée chez 15 des 17 familles concernées par la forme des ceintures n'a retrouvé aucune malformation du système nerveux central.

Clinical long-time course, novel mutations and genotype-phenotype correlation in a cohort of 27 families with POMT1-related disorders.

Geis T, Rödl T, Topaloğlu H, Balci-Hayta B, Hinreiner S, Müller-Felber W, Schoser B, Mehraein Y, Hübner A, Zirn B, Hoopmann M, Reutter H, Mowat D, Schuierer G, Schara U, Hehr U, Kölbl H.

Orphanet J Rare Dis. 2019 Jul 16;14(1):179.

LGMD R20 : augmenter le CDP-ribitol par thérapie génique

Le déficit en ISPD, en cause dans la LGMD R20, entraîne une diminution de la quantité de ribitol disponible pour la glycosylation de l' α -dystroglycane.

- L'**ISPD** est une enzyme (la cytidine diphosphate-L-ribitol pyrophosphorylase A ou CRPPA) qui permet de produire du CDP-ribitol.
- Le **CDP-ribitol** est la molécule à partir de laquelle le ribitol est transféré sur l' α -dystroglycane, grâce à la FKRP et à la fukutine.
- Ce **transfert du ribitol** est une des réactions de glycosylation indispensables au bon fonctionnement de l' α -dystroglycane.

- Une équipe américaine a montré en 2018 que l'administration orale de ribitol à des souris modèles de déficit en FKRP, avant ou après le début de signes, réduisait les lésions musculaires, diminuait significativement la fibrose et améliorait les fonctions motrices et respiratoires des souris.

- La même équipe a montré, en décembre 2019, qu'une thérapie génique visant à surexprimer ISPD entraînait une augmentation des taux tissulaires de CDP-ribitol et de glycosylation de l' α -dystroglycane dans un modèle de souris de déficit en FKRP.



L'ajout d'une supplémentation orale de ribitol augmente la quantité de CDP-ribitol dans le muscle et plus encore dans le muscle cardiaque avec une glycosylation de l' α -dystroglycane atteignant jusqu'à 40% de la normale dans le cœur et 20% dans les membres et le diaphragme. Cependant la question des effets secondaires éventuels d'une surexpression d'ISPD doit être explorée plus avant.

ISPD Overexpression Enhances Ribitol-Induced Glycosylation of α -Dystroglycan in Dystrophic FKR Mutant Mice

Marcela P Cataldi, Anthony Blaeser, Peijuan Lu, Victoria Leroy, Qi Long Lu
Mol Ther Methods Clin Dev. 2019 Dec 24;17:271-280.

Ribitol restores functionally glycosylated α -dystroglycan and improves muscle function in dystrophic FKR-mutant mice

Marcela P Cataldi, Peijuan Lu, Anthony Blaeser, Qi Long Lu
Nat Commun. 2018 Aug 27;9(1):3448.

- Compte tenu du développement de ces pistes thérapeutiques, une équipe s'est attachée à mettre au point un examen de laboratoire pour doser le CDP-ribitol dans les tissus et les cellules des hommes et des souris, proposant ainsi un outil de suivi des effets de ces pistes thérapeutiques potentielles.

Cytidine Diphosphate-Ribitol Analysis for Diagnostics and Treatment Monitoring of Cytidine Diphosphate-L-Ribitol Pyrophosphorylase A Muscular Dystrophy

van Tol W, van Scherpenzeel M, Alsady M, et al.
Clinical chemistry, 2019 Oct;65(10):1295-1306.

LGMD R12 : comprendre le rôle de l'anoctamine 5

Découverte en 2005, l'anoctamine 5 est fortement exprimée dans les os, les muscles squelettiques, les testicules et le muscle cardiaque.

Les anomalies génétiques dominantes du gène *ANO5* entraîne une maladie osseuse malformative, tandis que les anomalies récessives entraînent une myopathie des ceintures (LGMD R12) ou une myopathie distale Miyoshi-like (MMD3).

Des noyaux mal positionnés et moins de calcium fonctionnel

Une équipe coréenne a cherché à mieux comprendre le rôle de l'anoctamine 5. En étudiant la différenciation de myoblastes sans anoctamine 5 en culture, elle a montré que l'absence d'anoctamine 5 entraîne :

- une anomalie de positionnement des noyaux, sans affecter la différenciation en myotubes ;
- une diminution de l'expression de *Kif5b*, une protéine motrice, pendant la différenciation ;
- une altération du métabolisme calcique entraînant une diminution du calcium disponible pour la contraction musculaire ;
- des anomalies de trois protéines qui règlent les mouvements du calcium dans la cellule musculaire lors de la contraction et de la décontraction de la fibre musculaire (diminution du récepteur de la dihydro-pyridine (DHRP) et de la pompe à calcium du réticulum endoplasmique (SERCA) et anomalie de la colocalisation de DHRP et du récepteur à la ryanodine RYR1).

Deficiency of Anoctamin 5/TMEM16E causes nuclear positioning defect and impairs Ca²⁺ signaling of differentiated C2C12 myotubes

Tam Thi Thanh Phuong, Jieun An, Sun Hwa Park, Ami Kim, Hyun Bin Choi, Tong Mook Kang
Korean J Physiol Pharmacol. 2019 Nov;23(6):539-547.

La différenciation cellulaire est le processus biologique qui permet à une cellule souche de se spécialiser en un type de cellule particulier (cellule musculaire, cellule nerveuse, cellule du foie...)

Les myoblastes sont les cellules précurseurs des cellules musculaires.



L'IRM ou **imagerie par résonance magnétique** est une technique d'imagerie médicale qui permet d'obtenir des images en coupe ou en volume d'un organe ou d'une région du corps humain. Pendant l'examen, la personne est allongée, immobile, sur un lit mobile qui coulisse dans un appareil cylindrique constitué d'un aimant très puissant. Cet examen n'est pas douloureux. L'impression d'être enfermé, isolé, le bruit de la machine, la durée de l'examen peuvent cependant être un peu impressionnants.

➤➤ [Diagnostic des maladies neuromusculaires](#), Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.

Les **voies de signalisation** cellulaire permettent de transmettre un message à l'intérieur d'une cellule pour moduler son activité (croissance, division, différenciation, mort...).

Le message peut provenir d'autres cellules de l'organisme ou de l'environnement extérieur.

Son arrivée au niveau d'un récepteur de la cellule déclenche une cascade de réactions qui va modifier le comportement de la cellule.

Les **cellules satellites** sont des cellules souches situées à proximité des cellules musculaires. Lors d'une lésion du muscle squelettique, les cellules satellites sont rapidement activées pour régénérer le muscle.

Mieux décrire la LGMD R21 liée à POGlut1

Les auteurs espagnols de la description initiale, en 2016, de la LGMD R21 liée à POGlut1, avec la collaboration de chercheurs internationaux, ont décrit la première série de 15 personnes atteintes de LGMD R21 issues de 9 familles non apparentées, et venant de différents pays du monde (Allemagne, Bulgarie, Espagne, Emirats arabes Unis, États-Unis, Italie, Iran).

- L'âge de début de la maladie était le plus souvent l'âge adulte (58,3% dans la deuxième décennie, 25% dans la troisième et 16,6% après 40 ans). Cependant, les premiers signes sont apparus à la naissance pour une des personnes et avant l'âge de 3 ans pour trois autres.
- La faiblesse musculaire touchait les ceintures avec une prédominance sur les muscles des membres inférieurs et avec une évolution lente. Sept personnes avec des premiers signes apparus à l'adolescence sont devenues dépendantes d'un fauteuil roulant entre 20 et 40 ans.
- Une atteinte respiratoire modérée à sévère est apparue chez 6 personnes à partir de l'âge de 45 ans, seules 2 d'entre elles avaient besoin d'une assistance ventilatoire nocturne. Aucun signe d'atteinte cardiaque n'a été retrouvé.
- L'imagerie par résonance magnétique musculaire (IRM) a retrouvé chez toutes les personnes des signes d'une atteinte musculaire (remplacement par du tissu graisseux) évoluant de l'intérieur vers l'extérieur, qui semble caractéristique de cette forme de LGMD.
- L'analyse des biopsies musculaires a montré une diminution de la protéine Notch1 intracytoplasmique (elle joue un rôle dans la régénération musculaire et le maintien des populations de cellules satellites), des cellules satellites et des signes d'hypoglycosylation de l' α -dystroglycane. La mise en cultures de myoblastes provenant de personnes atteintes de LGMD R21 montre une diminution de leur capacité de prolifération et de différenciation en cellules musculaires matures.
- Cette étude, par la description de la plus grande série de cas à ce jour, apporte une meilleure description clinique de la LGMD R21. Elle suggère qu'une altération des cellules satellites (*via* la voie de signalisation Notch1) associée à une hypoglycosylation de l' α -dystroglycane serait à l'origine de la maladie.

POGLUT1 biallelic mutations cause myopathy with reduced satellite cells, α -dystroglycan hypoglycosylation and a distinctive radiological pattern.

Servián-Morilla E, Cabrera-Serrano M, Johnson K, Pandey A, Ito A, Rivas E, Chamova T, Muelas N, Mongini T, Nafissi S, Claeys KG, Grewal RP, Takeuchi M, Hao H, Bönnemann C, Lopes Abath Neto O, Medne L, Brandsema J, Töpf A, Taneva A, Vilchez JJ, Tournev I, Haltiwanger RS, Takeuchi H, Jafar-Nejad H, Straub V, Paradas C. *Acta Neuropathol.* 2020 Mar;139(3):565-582.



D'autres avancées dans la LGMD R22 liée au collagène VI

La LGMD R22 liée au collagène VI ou myopathie de Bethlem est due comme la forme de dystrophie musculaire congénitale d'Ullrich à une anomalie dans l'un des trois gènes (*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3*) codant la fabrication des protéines constitutives du collagène VI.

Une hétérogénéité génétique complexe

Plusieurs études confirment l'hétérogénéité et décrivent la complexité des anomalies génétiques de la myopathie de Bethlem (LGMD R22 et LGMD D5)

Autosomal recessive Bethlem myopathy: A clinical, genetic and functional study.

Caria F, Cescon M, Gualandi F, Pichiechio A, Rossi R, Rimessi P, Cotti Piccinelli S, Gallo Cassarino S, Gregorio I, Galvagni A, Ferlini A, Padovani A, Bonaldo P, Filosto M. *Neuromuscul Disord.* 2019 Sep;29(9):657-663.

Coexistence of digenic mutations in the collagen VI genes (COL6A1 and COL6A3) leads to Bethlem myopathy.

Choi E, Shin S, Lee S, Lee SJ, Park J. *Clin Chim Acta.* 2020 May 7;508:28-32.

Collagen VI-related limb-girdle syndrome caused by frequent mutation in COL6A3 gene with conflicting reports of pathogenicity.

Stavusis J, Micule I, Wright NT, Straub V, Topf A, Panadés-de Oliveira L, Domínguez-González C, Inashkina I, Kidere D, Chrestian N, Lacey B. *Neuromuscul Disord.* 2020 Jun;30(6):483-491.

Une étude descriptive brésilienne des myopathies par déficit en collagène VI

L'équipe du département de Neurologie de la Faculté de médecine de São Paulo au Brésil a identifié, parmi les 964 dossiers de nouveaux patients examinés entre 2009 et 2018, 28 personnes, issues de 27 familles, âgées de 6 à 38 ans (16,96 ans en moyenne) et atteintes d'un déficit en collagène VI.

- Les auteurs ont distingué différents groupes de sévérité des manifestations :
 - 7 présentaient des manifestations de myopathie de Bethlem (adulte sans atteinte de la marche ou de la fonction respiratoire avant l'âge de 20 ans) ;
 - 9 avaient une forme intermédiaire entre la myopathie de Bethlem et la dystrophie musculaire congénitale d'Ullrich (capable de marcher au-delà de l'âge de 12 ans et pas d'atteinte respiratoire ou une atteinte respiratoire minime) ;
 - 9 présentaient un tableau une dystrophie musculaire congénitale d'Ullrich modérée (ayant acquis la marche et l'ayant perdu vers l'âge de 12 ans ou capable de déambuler seulement à l'intérieur et/ou étant sous ventilation noninvasive avant l'âge de 10 ans
 - 3 avaient une dystrophie musculaire congénitale d'Ullrich sévère (pas d'acquisition de la marche et atteinte respiratoire importante).
- Parmi les personnes atteintes de myopathie de Bethlem, 4 ont eu des manifestations néonatale (hypotonie et/ou luxation de hanche) ; aucune n'a eu de retard de développement moteur ; une a perdu la marche à 20 ans, les six autres, à l'âge moyen de 29 ans, pouvaient marcher ; aucune n'avait d'atteinte respiratoire.
- Sur le plan génétique, cinq étaient des cas sporadiques, un avait une LGMD D6, c'est-à-dire une forme autosomique dominante de myopathie de Bethlem, et un une forme autosomique récessive (LGMD R22). Les anomalies génétiques touchaient le gène *COL6A1* chez quatre d'entre eux,



le gène *COL6A2* chez une personne et le gène *COL6A3* chez une autre personne.

Clinical features of collagen VI-related dystrophies: A large Brazilian cohort.

Zanoteli E, Soares PS, Silva AMSD, Camelo CG, Fonseca ATQSM, Albuquerque MAV, Moreno CAM, Lopes Abath Neto O, Novo Filho GM, Kulikowski LD, Reed UC. *Clin Neurol Neurosurg.* 2020 May;192:105734.

Une structure tendineuse altérée

Les tendons sont constitués de quelques cellules, les ténocytes, dispersés au sein d'une matrice extracellulaire qu'ils fabriquent.

La **matrice extracellulaire** est un réseau complexe de protéines dans lequel baignent les cellules.

Elle assure la cohésion des cellules au sein d'un tissu et joue un rôle essentiel dans la constitution, le maintien, l'adhérence, le mouvement et la régulation des cellules.

Une matrice extracellulaire spécialisée

- Essentiellement composée de fibrilles de collagène, organisées en séries longitudinalement pour transmettre sans dommage la force générée par le tissu musculaire, la matrice extracellulaire des tendons contient aussi des facteurs de régulation de l'assemblage des fibrilles de collagène, comme le collagène de type V et celui de type VI, et joue probablement un rôle important dans la réparation tendineuse.
- Le collagène VI est ancré à la membrane des ténocytes et constitue un élément de liaison des fibrilles plus grossières de collagène I entre elles.

- Une équipe italienne a montré que, aussi bien dans la forme sévère (dystrophie musculaire congénitale d'Ullrich) que dans la forme adulte (myopathie de Bethlem) de myopathie liée au collagène VI, il y a une **atteinte de la matrice extracellulaire des tendons**, avec une altération non seulement du collagène VI mais aussi des collagènes I et XII.

- Des études *in vitro* ont aussi montré que les altérations du réseau du collagène VI affectent aussi la polarisation et la migration cellulaires. Ces altérations pourraient expliquer en partie les anomalies musculo-tendineuses (rétractions, hyperlaxité) observées dans ces maladies.

Tendon Extracellular Matrix Remodeling and Defective Cell Polarization in the Presence of Collagen VI Mutations.

Antoniell M, Traina F, Merlini L, Andrenacci D, Tigani D, Santi S, Cenni V, Sabatelli P, Faldini C, Squarzoni S. *Cells.* 2020 Feb 11;9(2):409.

Deux anomalies dans le gène *COL6A3* chez le chien

Des vétérinaires américains et anglais ont trouvé des anomalies du gène *COL6A3* dans 2 lignées de chien *Labrador Retriever* : l'une se transmettait sur le mode récessif, l'autre sur le mode dominant.

- Les chiens présentaient des manifestations similaires à celles de la maladie de Bethlem chez l'homme (rétractions musculaires associées à une hyperlaxité des articulations distales).

Pathogenic variants in COL6A3 cause Ullrich-like congenital muscular dystrophy in young Labrador Retriever dogs.

Bolduc V, Minor KM, Hu Y, Kaur R, Friedenber SG, Van Buren S, Guo LT, Glennon JC, Marioni-Henry K, Mickelson JR, Bönnemann CG, Shelton GD. *Neuromuscul Disord.* 2020 May;30(5):360-367.



D'autres avancées dans la LGMD R23 liée à la laminine $\alpha 2$

Les anomalies du gène *LAMA2*, qui code la sous-unité $\alpha 2$ (appelée aussi laminine $\alpha 2$) de la laminine 211, sont en cause dans la LGMD R23 et la dystrophie musculaire congénitale DMC1A (ou mérosinopathie).

La laminine 211 (appelée aussi laminine 2 ou mérosine) est une protéine constituée de 3 sous-unités ($\alpha 2$, $\beta 1$ et $\gamma 1$) et qui contribue au lien mécanique entre la fibre musculaire et la matrice extracellulaire qui l'entoure.

- La laminine $\alpha 2$ est avant tout exprimée dans la lame basale des cellules musculaires et des cellules de Schwann (celles qui constituent une gaine isolante autour des nerfs périphériques). Elle est aussi exprimée dans d'autres tissus comme le cœur, les reins, l'estomac, les poumons...
- Déjà exprimée à 7 semaines de vie embryonnaire chez l'homme, elle joue un rôle important pendant le développement du muscle squelettique.

Les scientifiques sont à la recherche de stratégies de réparation de l'assemblage de la matrice extracellulaire pour pallier le déficit en laminine $\alpha 2$ et rétablir le lien mécanique entre la fibre musculaire et la matrice extracellulaire.

Des souris et des hommes

Les modèles animaux (et les modèles cellulaires) sont indispensables pour étudier et comprendre les mécanismes d'une maladie ou pour tester des pistes thérapeutiques, préalables nécessaires au développement d'un éventuel traitement chez l'homme.

Des modèles biologiques pour progresser vers d'éventuels traitements

- Pour le déficit en laminine $\alpha 2$, il existe plusieurs modèles de souris différents (dy^{2j}/dy^{2j} , dy/dy , dy^W/dy^W , dy^{3K}/dy^{3K} ...) qui présentent des signes dont la sévérité est directement corrélée à la quantité de laminine $\alpha 2$ exprimée dans les tissus.

- Une équipe suédoise a publié en avril 2020 un article de synthèse sur les modèles de souris dy/dy déficientes en laminine $\alpha 2$ et comment chacun de ces modèles a contribué à mieux comprendre la DMC1A humaine.

A Family of Laminin $\alpha 2$ Chain-Deficient Mouse Mutants: Advancing the Research on LAMA2-CMD.

Gawlik KI, Durbeej M.

Front Mol Neurosci. 2020 Apr 21;13:59.

Un processus lésionnel qui varie au cours du temps dans la souris dy^{3K}/dy^{3K}

- L'étude la souris dy^{3K}/dy^{3K} , par la même équipe, a montré la présence de fibres musculaires apoptotiques dès le premier jour de vie, des signes de dystrophie musculaire évidents (dégénérescence musculaire, inflammation, importante production de protéines de la matrice extra-cellulaire...) au 4^{ème} jour, maximum au 7^{ème} jour et qui semblent s'améliorer à la troisième semaine, malgré une aggravation de l'état de santé de la souris. L'atteinte des muscles masticateurs particulièrement sévère contribuerait à la survenue du décès des souris vers le 21^{ème} jour du fait de l'incapacité à se nourrir qui en résulterait.

La lame basale (ou membrane basale) est un épaississement de la matrice extra cellulaire aux abords des cellules. Elle est constituée de protéines qui s'enchevêtrent les unes aux autres pour former un réseau élastique qui entoure les cellules.

Un modèle animal d'une maladie est un animal (mouche, poisson zèbre, souris...) qui présente, plus ou moins fidèlement, les caractéristiques de la maladie humaine à la fois sur le plan génétique et sur le plan clinique.

L'apoptose est une mort cellulaire physiologique, qui se déroule de manière ordonnée en plusieurs étapes au terme desquelles l'ensemble de la cellule et de son contenu est éliminé sans que les cellules avoisinantes soient endommagées. L'apoptose est en équilibre constant avec la multiplication des cellules pour assurer le renouvellement cellulaire.



- Les auteurs concluent sur l'importance de prendre en compte, dans ce modèle, ces variations du processus pathologique au cours du temps lors de tests de procédure thérapeutique.

Early skeletal muscle pathology and disease progress in the dy3K/dy3K mouse model of congenital muscular dystrophy with laminin $\alpha 2$ chain-deficiency.

Gawlik KI, Körner Z, Oliveira BM, Durbeej M.
Sci Rep. 2019 Oct 4;9(1):14324.

L'absence d'activation de certains gènes pourrait expliquer la sévérité de l'atteinte d'un modèle de souris de DMC1A

- Une équipe israélienne a montré que des gènes de maturation des cellules musculaires étaient sous-exprimés lors de la régénération musculaire dans la souris dy^{2J}/dy^{2J} , alors qu'ils sont surexprimés dans la souris mdx , modèle de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Ce qui expliquerait la différence de gravité d'évolution entre ces deux souris modèles de dystrophie musculaire.

Pax7, Pax3 and Mamstr Genes are Involved in Skeletal Muscle Impaired Regeneration of dy2J/dy2J Mouse Model of Lama2-CMD.

Yanay N, Elbaz M, Konikov-Rozenman J, Elgavish S, Nevo Y, Fellig Y, Rabie M, Mitrani-Rosenbaum S, Nevo Y.
Hum Mol Genet. 2019 Oct 15;28(20):3369-3390.

Un rôle mécanique... mais pas seulement

Une équipe australienne a examiné le comportement cellulaire en l'absence de laminine $\alpha 2$ et lorsqu'on la réintroduit par thérapie génique dans un modèle de poisson zèbre déficient en laminine $\alpha 2$.

- En l'absence de laminine $\alpha 2$, les cellules musculaires se détachent de la membrane basale qui les entoure et les relie à la matrice extracellulaire. Elles gardent cependant une membrane cellulaire intacte et survivent sous forme hyper-contractée.
- La réintroduction d'une laminine $\alpha 2$ prévient les lésions mécaniques des fibres musculaires dues à leur contraction en restaurant l'adhésion des cellules. Par ailleurs, elle induit aussi un remodelage et une survie des fibres musculaires, elle favorise leur ré-attachement à la matrice extracellulaire et contribue à l'activation des cellules progénitrices (cellules satellites) lors d'une lésion du muscle.

Cellular rescue in a zebrafish model of congenital muscular dystrophy type 1A.

Hall TE, Wood AJ, Ehrlich O, Li M, Sonntag CS, Cole NJ, Huttner IG, Sztal TE, Currie PD.
NPJ Regen Med. 2019 Nov 15;4:21.

La laminine 111 : une laminine remplaçante

En 2005, des travaux suédois avaient montré que la surexpression de la laminine $\alpha 1$ dans une souris modèle dy^{3K}/dy^{3K} faisait disparaître les signes d'atteintes musculaire et nerveuse de la souris déficiente en laminine $\alpha 2$.

- La laminine $\alpha 1$ est une des trois sous-unités constitutives de la laminine 111, un autre membre de la famille des laminines, qui, comme la laminine 211, est aussi constituée de 3 sous-unités : les sous unités $\alpha 1$, $\beta 1$ et $\gamma 1$ en ce qui la concerne.
- La sous-unité $\alpha 1$ (ou laminine $\alpha 1$) une protéine structurellement proche de la laminine $\alpha 2$, n'est exprimée ni dans le muscle, ni dans la cellule de Schwann à l'état naturel.
- La laminine 111 est exprimée pendant le développement embryonnaire et dans les reins chez l'adulte.

Les **cellules satellites** sont des cellules souches situées à proximité des cellules musculaires. Lors d'une lésion du muscle squelettique, les cellules satellites sont rapidement activées pour régénérer le



▪ En 2020, après avoir publié un article de synthèse sur les interactions de la laminine 211 avec l'intégrine $\alpha7\beta1$ et sur les mécanismes d'action potentiels par lesquels la laminine 111 est capable de prévenir l'apparition d'une myopathie, une équipe américaine a montré que l'administration de laminine 111 à des souris modèles déficitaires en mérosine entraîne une diminution des lésions musculaires et améliore de façon franche la durée de vie des souris traitées précocement ou après l'installation de la maladie musculaire.

Laminin and Integrin in LAMA2-Related Congenital Muscular Dystrophy: From Disease to Therapeutics.

Barraza-Flores P, Bates CR, Oliveira-Santos A, Burkin DJ.
Front Mol Neurosci. 2020 Feb 11;13:1.

Laminin-111 protein therapy after disease onset slows muscle disease in a mouse model of Laminin- $\alpha2$ related congenital muscular dystrophy.

Barraza-Flores P, Bukovec KE, Dagda M, Conner BW, Oliveira-Santos A, Grange RW, Burkin DJ.
Hum Mol Genet. 2020 May 29. pii: ddaa104.

▪ La même équipe a mis au point un nouveau modèle de souris déficiente en laminine $\alpha2$ immunodéficiente, ce qui permet de tester des pistes thérapeutiques en s'affranchissant des questions immunitaires.

▪ En utilisant ce modèle, elle a montré que la laminine humaine 111 et la laminine 211 humaine pouvait pallier l'absence de laminine 211 murine. Elle a aussi observé que les laminines humaines 111 et 211 augmentent les capacités régénératives du muscle, en agissant de façons différentes sur les cellules satellites.

Human laminin-111 and laminin-211 protein therapy prevents muscle disease progression in an immunodeficient mouse model of LAMA2-CMD.

Barraza-Flores P, Hermann HJ, Bates CR, Allen TG, Grunert TT, Burkin DJ.
Skelet Muscle. 2020 Jun 4;10(1):18.

La piste du système CRISPR/Cas9

Le système CRISPR/Cas9 permet de réaliser des modifications dans le génome (méthode dite de « *gene editing* » ou édition du génome). Le principe consiste à cibler une séquence d'ADN ou un gène dans une cellule pour le modifier, le réparer, l'enlever...

CRISPR/Cas9 dans la DMC1A

▪ Il a été récemment démontré que le défaut génétique d'une souris dy^{2j}/dy^{2j} pouvait être corrigé en utilisant la technique CRISPR/Cas9.

▪ Cependant, cette approche se heurte, chez l'homme, à la grande diversité des mutations du gène *LAMA2* (plus de 350 répertoriées dans le monde à ce jour), qui presque toutes nécessiteraient la fabrication d'un dispositif CRISPR/Cas9 propre.

▪ Dans un article publié en août 2019, des chercheurs américains ont utilisé avec succès, sur deux modèles de souris, la dy^{2j}/dy^{2j} et la dy^{3K}/dy^{3K} , le système CRISPR/Cas9 pour faire surexprimer la laminine $\alpha1$.

L'intérêt de cette approche thérapeutique est qu'elle pourrait s'appliquer à l'ensemble des cas de DMC1A, quelle que soit l'anomalie du gène *LAMA2*.

A mutation-independent approach for muscular dystrophy via upregulation of a modifier gene.

Kemaladewi DU, Bassi PS, Erwood S, Al-Basha D, Gawlik KI, Lindsay K, Hyatt E, Kember R, Place KM, Marks RM, Durbeej M, Prescott SA, Ivakine EA, Cohn RD.
Nature. 2019 Aug;572(7767):125-130.

L'intégrine $\alpha7\beta1$ est une protéine ancrée dans la membrane de la fibre musculaire qui joue un rôle important dans la liaison de la cellule à la matrice extracellulaire au cours du développement embryonnaire et dans la réparation du muscle adulte.



Vers une reconnexion par thérapie génique

▪ Dans la DMC1A, en l'absence de laminine $\alpha 2$, la laminine 211 est « remplacée » naturellement par la laminine 411, une autre laminine, qui, sans sous-unité $\alpha 2$, ne solidarise pas aussi bien la cellule musculaire à la matrice extracellulaire.

- L'approche mise au point par le Pr Rüegg du Biozentrum, soutenu par l'AFM-Téléthon, consiste à utiliser deux petites protéines dites « connectrices » qui, en se liant à la laminine 411, permettent de rétablir un lien avec la matrice extracellulaire. L'expression de ces protéines dans des souris déficientes en laminine $\alpha 2$ a permis de restaurer la structure et la fonction du muscle de ces modèles de DMC1A.
- Cette approche s'appuie sur les travaux Pr P. Yurchenco de l'Université Rutgers (New Jersey, États-Unis), pionnier dans la compréhension de l'assemblage de la matrice extracellulaire. Son équipe travaille à l'optimisation de « connecteurs » protéiques, dérivés de protéines de la matrice extracellulaire comme l'agrine, la laminine et le nidogène, qui pourraient pallier le déficit en laminine $\alpha 2$.
- L'intérêt de ces protéines « connectrices » est qu'elles sont de plus petites tailles que la laminine $\alpha 2$, ce qui, contrairement à cette dernière, permet aux gènes qui les codent d'être intégrés à un vecteur viral AAV utilisé en thérapie génique.

Laminin-deficient muscular dystrophy: Molecular pathogenesis and structural repair strategies.

Yurchenco PD, McKee KK, Reinhard JR, Rüegg MA.
Matrix Biol. 2018 Oct;71-72:174-187.

Linker Proteins Restore Basement Membrane and Correct LAMA2-related Muscular Dystrophy in Mice

Reinhard JR, Lin S, McKee KK, Meinen S, Crosson SC, Sury M, Hobbs S, Maier G, Yurchenco PD, Rüegg MA.
Sci Transl Med. 2017 Jun 28;9(396):eaal4649.

- La société *Santhera Pharmaceuticals* a annoncé, par un communiqué de presse en mai 2020, la signature de deux conventions avec l'Université Rutgers de l'état du New Jersey (États-Unis), pour compléter son programme de recherche de thérapie génique dans la dystrophie musculaire congénitale avec déficit en laminine $\alpha 2$ (DMC1A).

Ces contrats viennent compléter la collaboration, cofinancée par Innosuisse, que Santhera a établie l'année dernière à la même époque avec le Biozentrum de l'Université de Bâle (Suisse) dans le but de réaliser des travaux de recherche préclinique explorant la faisabilité d'une thérapie génique apportant les gènes codant de petites molécules « connectrices » pour pallier le dysfonctionnement de la laminine.

Santhera Signs Agreements in Gene Therapy Research for Congenital Muscular Dystrophy with Rutgers University

Santhera Pharmaceuticals, *Communiqué de presse du 06 mai 2020.*

Santhera Starts Collaboration in Gene Therapy Research for Congenital Muscular Dystrophy with the Biozentrum, University of Basel, Co-Financed by Innosuisse.

Santhera Pharmaceuticals, *Communiqué de presse du 21 mai 2019.*

La fibrose : un phénomène central dans le déficit en *LAMA2*

Une inflammation chronique et une fibrose étendue dans l'espace interstitiel (entre les cellules musculaires) sont les signatures de l'atteinte



des tissus musculaires déficients en laminine 211. Chez les enfants atteint de DMC1A, il y a une inflammation massive dans les mois qui suivent la naissance. La fibrose s'installe précocement et devient, après l'épisode inflammatoire initial, le principal moteur du processus pathologique.

- Les auteurs d'un article de synthèse sur la fibrose dans les déficits en *LAMA2* y décrivent la biologie de la fibrose sous la dépendance des voies de signalisation du TGF β et du système rénine-angiotensine, ainsi que sur le rôle de l'intégrine $\alpha 5$, impliquée dans la libération du TGF β à partir de la matrice extracellulaire et facilitatrice de fibrose et du remodelage de la matrice extracellulaire dans de nombreux organes.
- Ils font aussi le point sur les différentes pistes thérapeutiques agissant sur la fibrose étudiées jusqu'à présent, en décrivant ce que l'on sait sur leurs mécanismes d'action et où en est le développement d'éventuels candidat-médicaments issus de ces recherches.
 - Le **losartan** inhibe la voie de signalisation du TGF β , mais a aussi une action qui limite le développement des cellules musculaires.
 - Le **TXA127** aurait des propriétés antifibrotiques et myogéniques, mais doit encore être testé dans des modèles de déficits en *LAMA2*. Il a reçu la désignation de médicament orphelin dans les dystrophies musculaires, mais aucun essai clinique dans ces maladies n'a été lancé.
 - L'**halofuginone** a fait l'objet d'un essai dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Ses résultats n'ont pas encore été publiés.
 - L'**omigapil**, bien que ne ciblant pas directement la voie de signalisation du TGF β , a fait l'objet d'un essai clinique dans la DMC1A terminé en 2018. Bien qu'il ait atteint ses objectifs et que le profil pharmacocinétique soit compatible avec la poursuite de son développement, l'étape d'après n'a toujours pas été annoncée par *Santhera Pharmaceuticals*, le laboratoire pharmaceutique qui le développe.
 - Si la suppression de certaines protéines de la matrice extra-cellulaire (comme l'ostéopontine ou la périostine) s'est montrée protectrice dans des souris *mdx*, modèle de DMD, la délétion de l'ostéopontine a, au contraire, aggravé la pathologie dans un modèle de souris *dy^{3K}* sévère.
 - Des pistes de compensation de l'absence de laminine $\alpha 2$ comme la **surexpression d'une mini-agrine** apportée par thérapie génique, la **surexpression de la laminine $\alpha 1$** ou un traitement par une **laminine 111 recombinante** ont montré une certaine efficacité dans des modèles expérimentaux. Cependant, il semble crucial de traiter en parallèle la fibrose, compte tenu de sa précocité et de son importance dans la DMC1A.

Fibrogenesis in LAMA2-Related Muscular Dystrophy Is a Central Tenet of Disease Etiology.

Accorsi A, Cramer ML, Girgenrath M.
Front Mol Neurosci. 2020 Feb 4;13:3.

L'aspect neuropathique des déficits en *LAMA2*

La laminine $\alpha 2$ est aussi un composant majeur de la lame basale des cellules de Schwann, qui constituent une gaine isolante autour des nerfs périphériques.

- Le déficit en laminine $\alpha 2$ conduit non seulement à une dystrophie musculaire et à des anomalies asymptomatiques de la substance blanche cérébrale, mais aussi à une démyélinisation des nerfs périphériques.

Les voies de signalisation cellulaire permettent de transmettre un message à l'intérieur d'une cellule pour moduler son activité (croissance, division, différenciation, mort...). Le message peut provenir d'autres cellules de l'organisme ou de l'environnement extérieur. Son arrivée au niveau d'un récepteur de la cellule déclenche une cascade de réactions qui va modifier le comportement de la cellule.



- Un article de synthèse fait le point sur le versant nerveux du déficit en laminine $\alpha 2$. Des anomalies de la conduction des nerfs périphériques ont très tôt été décrites chez des enfants atteints d'une dystrophie musculaire liée au gène *LAMA2*.
- L'absence de laminine $\alpha 2$ entraîne une anomalie de la maturation de la myéline s'accompagnant d'une démyélinisation segmentaire qui retentit sur l'innervation des muscles.
- L'importance de la contribution de cette atteinte du nerf périphérique à la faiblesse musculaire n'est pas claire, dans la mesure où l'atteinte musculaire est prédominante et masque d'éventuels signes de dénervation.

[LAMA2 Neuropathies: Human Findings and Pathomechanisms From Mouse Models.](#)

Previtali SC, Zambon AA.

Front Mol Neurosci. 2020 Apr 23;13:60.

Améliorer la conduction des nerfs moteur : l'acétate de glatiramère

L'acétate de glatiramère est un agent immunomodulateur utilisé dans la prise en charge de la sclérose en plaques.

- Des travaux ont montré qu'il améliorerait la motricité et la force des pattes postérieures d'une souris *dy^{2J}/dy^{2J}*. Une équipe israélienne a mis en évidence une amélioration de la vitesse de conduction des nerfs moteur de ces souris modèles grâce à l'acétate de glatiramère.

[Improvement of motor conduction velocity in hereditary neuropathy of LAMA2-CMD dy2J/dy2J mouse model by glatiramer acetate.](#)

Rabie M, Yanay N, Fellig Y, Konikov-Rozenman J, Nevo Y.

Clin Neurophysiol. 2019 Aug 16;130(10):1988-1994.



Des avancées dans les LGMD dominantes

Mieux connaître le rôle et la fonction de DNAJB6

DNAJB6 est une protéine localisée au niveau du disque Z du sarcomère à proximité de la protéine chaperonne HSP70, qu'elle active.

- Les protéines chaperonnes permettent aux protéines natives de se replier sur elles-mêmes pour atteindre leur conformation dans l'espace (leur forme), empêche l'agrégation des protéines mal ou pas repliées et dirige les protéines abimées ou superflues vers les voies de dégradation.
- Leur rôle est donc essentiel au maintien d'une bonne santé cellulaire, en particulier pour les tissus comme le muscle ou le système nerveux qui contiennent des cellules à longue durée de vie.

Dans la LGMD D1, des anomalies du gène *DNAJB6* entraîne une accumulation toxique de la protéine DNAJB6 anormale.

- Un article de synthèse sur les maladies neuromusculaires dues à des anomalies des protéines chaperonnes fait le point sur ces protéines, leurs cofacteurs, les co-chaperonnes, et leurs rôles respectifs dans les maladies neuromusculaires.

Neuromuscular Diseases Due to Chaperone Mutations: A Review and Some New Results.

Sarparanta J, Jonson PH, Kawan S, Udd B.
Int J Mol Sci. 2020 Feb 19;21(4).

- Une équipe a montré que la protéine DNAJB6 anormale formait un complexe avec la protéine chaperonne HSP70 qui la fixe et l'empêche de fonctionner.

L'administration d'un inhibiteur de ce complexe à des souris modèle des LGMD D1 permet une remobilisation de HSP70 et améliore la force et les lésions musculaires des souris.

Inhibition of DNAJ-HSP70 interaction improves strength in muscular dystrophy.

Bengochea R, Findlay AR, Bhadra AK, Shao H, Stein KC, Pittman SK, Daw J, Gestwicki JE, True HL, Wehl CC.
J Clin Invest. 2020 May 19. pii: 136167.

- En étudiant les conséquences fonctionnelles d'une anomalie du gène *DNAJB6* dans des levures, des chercheurs du Missouri (États-Unis) ont montré qu'elle entraîne une altération sélective du traitement de certaines protéines natives par la protéine chaperonne DNAJB6.

Client processing is altered by novel myopathy-causing mutations in the HSP40 J domain.

Pullen MY, Wehl CC, True HL.
PLoS One. 2020 Jun 4;15(6):e0234207.

- Des chercheurs américains ont montré dans des cultures cellulaires et des souris modèles de LGMD D1 que les anomalies de *DNAJB6* inhibent la formation de cellules musculaires en augmentant l'activité de GSK3 β . L'inhibition de GSK3 β par du chlorure de lithium améliore la taille et la force des muscles des souris modèles traitées.

Lithium chloride corrects weakness and myopathy in a preclinical model of LGMD1D.

Findlay AR, Bengochea R, Pittman SK, Chou TF, True HL, Wehl CC.
Neurol Genet. 2019 Apr 18;5(2):e318.



Deux nouvelles familles concernées par une LGMD D2 liée à la transportine

La dystrophie musculaire des ceintures D2 liée à la transportine (LGMD D2) est une forme de dystrophie musculaire des ceintures dominante très rare.

Les anomalies du gène *TNPO3* en cause dans la LGMD D2 n'ont été décrites que dans une seule famille et chez une personne non apparentée en 2013.

Deux nouvelles familles atteintes de LGMD D2 liée à la transportine ont été rapportées, l'une en mai 2019 par une équipe finlandaise et l'autre en juin 2019 par une équipe italienne.

- Dans la famille finlandaise, d'origine suédoise, trois membres étaient atteints sur trois générations. La maladie s'y manifestait plutôt comme une forme congénitale de myopathie.
- Dans la famille italienne, d'origine hongroise, la mère présentait une myopathie des ceintures peu sévère, alors que son fils présentait des manifestations plus précoces, ressemblant à une myopathie congénitale. Ni l'un, ni l'autre, ne présentaient d'atteinte cardiaque et l'histologie musculaire montrait des anomalies non spécifiques.
- L'analyse génétique par séquençage à haut débit a retrouvé la même anomalie génétique dans les deux familles (c2757delC).

A new family with transportinopathy: increased clinical heterogeneity.

Angelini C, Marozzo R, Pinzan E, Pegoraro V, Molnar MJ, Torella A, Nigro V. *Ther Adv Neurol Disord.* 2019 Jun 9;12:1756286419850433.

Novel mutation in TNPO3 causes congenital limb-girdle myopathy with slow progression.

Vihola A, Palmio J, Danielsson O, Penttilä S, Louiselle D, Pittman S, Wehl C, Udd B. *Neurol Genet.* 2019 May 2;5(3):e337.

LGMD D3 liée à hnRNPD : encore le codon 378

Décrite pour la première fois en 2004, la LGMD D3 liée à hnRNPD est une myopathie des ceintures extrêmement rare puisque jusqu'en mai 2019 seules 3 familles avaient été rapportées : la première famille était brésilienne, la deuxième, rapportée en 2014, était uruguayenne, et la troisième décrite en février 2019 était une famille chinoise.

Trois nouvelles familles et toujours une anomalie du codon 378

Deux familles argentines non apparentées ayant des ancêtres européens ont été décrites en juillet 2019 et une sixième famille, européenne celle-ci, a été rapportée en mai 2020 par une équipe espagnole.

- La LGMD D3 débute à l'âge adulte aux alentours de 40 ans en moyenne (de 15 à 63 ans). Elle se manifeste par un déficit des muscles des ceintures évoluant lentement vers les extrémités des membres ou par un déficit proximal des membres supérieurs et distal des membres inférieurs (scapulo-péronier), associé fréquemment à des rétractions des fléchisseurs des doigts et des orteils. Un décollement des omoplates a été retrouvé chez presque toutes les personnes atteintes de LGMD D3. Une cataracte précoce est souvent présente et un diabète de type 2 a été décrit dans trois des six familles. Certaines personnes peuvent ne pas présenter de signes de la maladie même à un âge avancé (65 ans).
- La biopsie musculaire montre des vacuoles bordées et des inclusions cytoplasmiques.

Atteinte musculaire proximale

Les muscles proximaux sont les muscles qui sont proches de l'axe du corps. Ils sont situés aux racines des membres : muscles des épaules et des bras pour les membres supérieurs, muscles des hanches et des cuisses pour les membres inférieurs.

➤ Le système musculaire squelettique, Repères Savoir & Comprendre, AFM-Téléthon.





- L'IRM musculaire montre une atteinte prédominante sur les vastes (une partie du muscle quadriceps localisée à la partie antérieure de la cuisse), le tibial antérieur, l'extenseur des orteils et le jumeau interne. Les muscles vastes des cuisses semblent être atteints précocement, alors que le droit antérieur (une autre partie du quadriceps) et le long adducteur sont préservés même à des stades tardifs de la maladie.

Cette atteinte sélective des muscles pourrait en partie s'expliquer par des niveaux d'expression de gènes et d'isoformes différents dans des muscles anatomiquement différents, comme cela a été montré en 2015 dans deux autres myopathies (titinopathie, myosinopathie) par une équipe finlandaise.

- Seules deux anomalies génétiques différentes et touchant la même partie du gène *HNRNPDL* (le codon 378) ont été retrouvées dans les six familles. C'est grâce aux techniques NGS que la mutation a été identifiée dans les familles argentines et la famille espagnole. Ces techniques n'ont pas retrouvé d'anomalies associées pouvant jouer un rôle de gène modificateur qui aurait pu expliquer des différences de manifestations cliniques.

HNRNPDL-related muscular dystrophy: expanding the clinical, morphological and MRI phenotypes.

Berardo A, Lornage X, Johari M, Evangelista T, Cejas C, Barroso F, Dubrovsky A, Bui MT, Brochier G, Saccoliti M, Bohm J, Udd B, Laporte J, Romero NB, Taratuto AL.
J Neurol. 2019 Oct;266(10):2524-2534.

HNRNPDL-related limb girdle muscular dystrophy in a Spanish family with scapulo-peroneal phenotype, the first family in Europe.

Vicente LM, Martí P, Azorín I, Olivé M, Muelas N, Vilchez JJ.
J Neurol Sci. 2020 May 1;414:116875.

Differential isoform expression and selective muscle involvement in muscular dystrophies

Huovinen S, Penttilä S, Somervuo P, Keto J, Auvinen P, Vihola A, Huovinen S, Pelin K, Raheem O, Salenius J, Suominen T, Hackman P, Udd B
Am J Pathol. 2015 Oct;185(10):2833-42.

Une perte de fonction de hnRNPDL

- Des chercheurs américains et espagnols ont montré que les anomalies du codon 378 du gène *HNRNPDL* impactent les propriétés d'assemblage de la protéine hnRNPDL accélérant son agrégation et diminuant fortement sa solubilité dans le muscle de la mouche *Drosophila*. Une anomalie génétique de type perte de fonction serait donc à l'origine de l'atteinte musculaire dans la LGMD D3.

hnRNPDL Phase Separation Is Regulated by Alternative Splicing and Disease-Causing Mutations Accelerate Its Aggregation.

Battle C, Yang P, Coughlin M, Messing J, Pesarrodona M, Szulc E, Salvatella X, Kim HJ, Taylor JP, Ventura S.
Cell Rep. 2020 Jan 28;30(4):1117-1128.e5.

LGMD D4 liée à la calpaïne 3 : un nouveau variant

La forme dominante de calpainopathie, la LGMD D4 liée à la calpaïne, a été décrite pour la première fois en 2016 dans 10 familles non apparentées. Depuis, trois autres familles et plus de trente cas sporadiques ont été identifiés.

- L'équipe de Centre de référence de Marseille en collaboration avec le réseau de la filière de santé maladies neuromusculaires Filnemus, a identifié 14 membres de 4 familles non apparentées, présentant une anomalie du gène de la calpaïne se transmettant sur le mode autosomique dominant. Cette mutation, pas encore décrite dans sa forme dominante, existe aussi



associée à une anomalie sur l'autre gène *CAPN3* dans les formes de calpainopathies récessives (LGMDR1 liée à la calpaïne).

C'est pourquoi les auteurs soulignent l'importance de considérer cette mutation en un seul exemplaire (hétérozygote) chez des personnes présentant une myopathie tardive des ceintures prédominant aux membres inférieurs, car elle peut être responsable de la forme dominante de calpainopathie.

Novel CAPN3 variant associated with an autosomal dominant calpainopathy.

Cerino M, Campana-Salort E, Salvi A, Cintas P, Renard D, Morales RJ, Tard C, Leturcq F, Stojkovic T, Bonello-Palot N, Gorokhova S, Mortreux J, De Paula AM, Lévy N, Pouget J, Cossée M, Bartoli M, Krahn M, Attarian S.

Neuropathol Appl Neurobiol. 2020 Apr 28. [Epub ahead of print]



- Tout au long de l'année, suivez l'actualité de la recherche dans les maladies neuromusculaires sur le site de l'AFM-Téléthon :

WEB www.afm-telethon.fr > Voir toutes les Actus > Maladies