

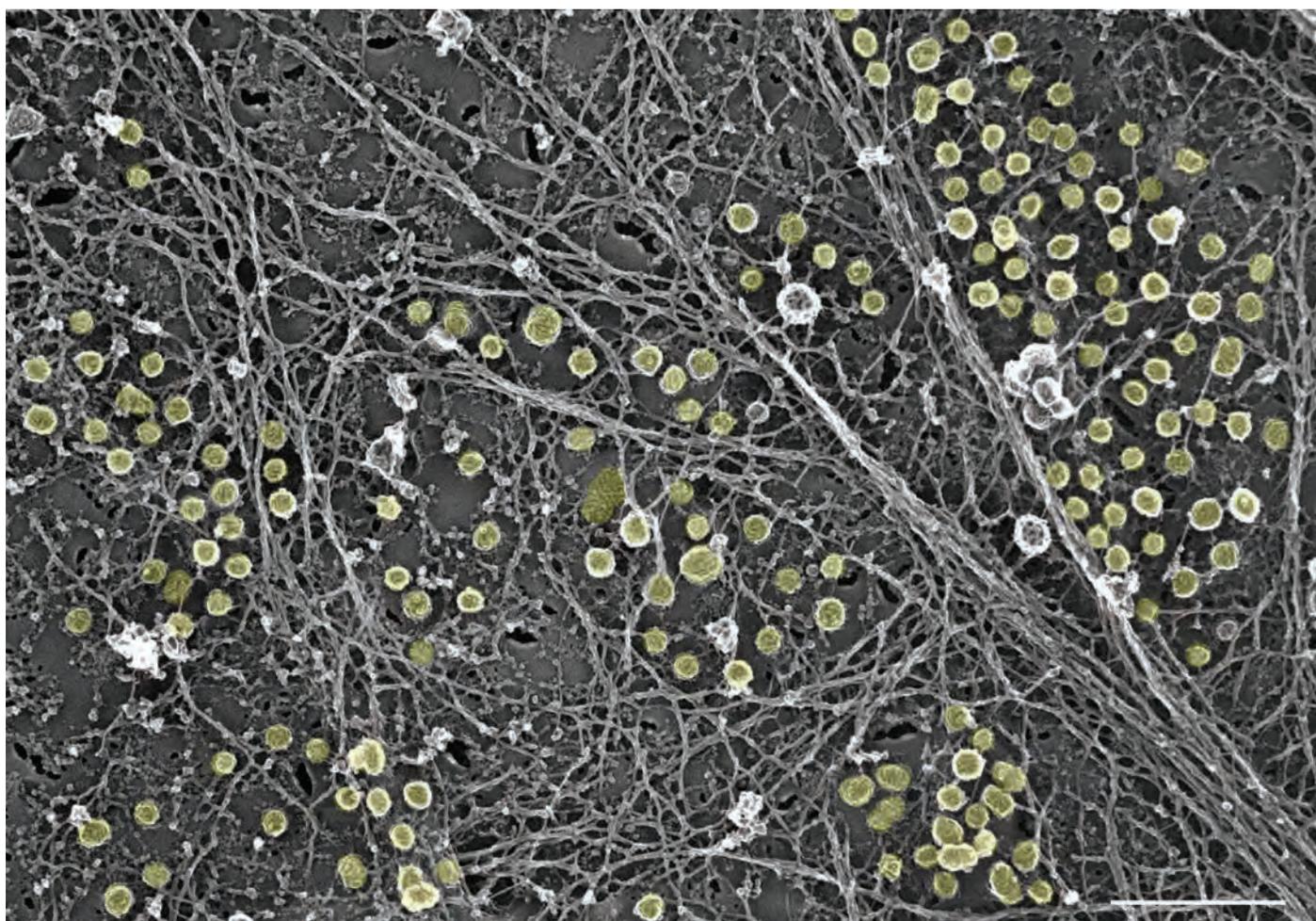
# Les cahiers de **myologie**

Mise au point :

**Tamoxifène :**  
**parcours d'un**  
**repositionnement**



N° **19** - juin 2019



# Les cahiers de myologie

N° 19 JUIN 2019

## Rédaction

### Directrices de la publication

Emmanuelle Salort-Campana  
Laurence Tiennot-Herment

### Directeurs de la rédaction

Michel Fardeau  
J. Andoni Urtizberea

### Directeurs adjoints de la rédaction

Valérie Allamand  
Guillaume Bassez  
Gisèle Bonne  
Jean-Claude Kaplan

### Rédactrice en chef

Tuy Nga Brignol

## Correspondance

### SFM

emmanuelle.salort-campana@ap-hm.fr

### AFM-Téléthon

BP 59 - 91002 Évry cedex  
cahiersdemyologie@afm-telethon.fr

## Siège social

Institut de Myologie  
75651 Paris cedex 13

## Réalisation

EDP Sciences  
109, avenue Aristide Briand  
92541 Montrouge Cedex, France  
17, avenue du Hoggar  
PA de Courtabœuf  
91944 Les Ulis, France  
www.edpsciences.org

## Mise en page

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

## Parution

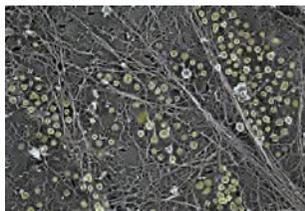
2 numéros/an  
ISSN électronique 2496-1558

## Réseau des correspondants

*Algérie* : Meriem Tazir  
*Allemagne* : Werner Stenzel  
*Argentine* : Alberto L. Rosa  
*Belgique* : Peter Van den Bergh  
*Bénin* : Jules Alao  
*Brésil* : Edmar Zanoteli  
*Canada* : Jean-Pierre Bouchard  
*Chili* : Jorge A. Bevilacqua  
*Chypre* : Kyproula Christodoulou  
*Croatie* : Nina Canki-Klein  
*Espagne* : Carmen Navarro  
*États-Unis* : Kevin Flanigan  
*Finlande* : Bjame Udd  
*Italie* : Corrado Angelini  
*Japon* : Keiko Ishigaki  
*Liban* : André Mégarbané  
*Maroc* : Ilham Slassi  
*Mexique* : Rosa-Elena Escobar  
*Pérou* : Ricardo Fujita  
*Royaume-Uni* : Kate Bushby  
*Russie* : Sergei Kurbatov  
*Suède* : Anders Oldfors  
*Suisse* : Thierry Kuntzer  
*Tunisie* : Fayçal Hentati  
*Uruguay* : Graciela Barros

## COMITÉ ÉDITORIAL

Jean-Christophe Antoine  
Serge Braun  
Gillian Butler-Browne  
Françoise Chapon  
Bernard Clair  
Jean-Marie Cuisset  
Isabelle Desguerre  
Claude Desnuelle  
Christian Devaux  
Denis Duboc  
Bruno Eymard  
Léonard Féasson  
Xavier Ferrer  
Luis Garcia  
Marcela Gargiulo  
Romain Gherardi  
Frédéric Gottrand  
Emmanuelle Guiraud  
Jean-Yves Hogrel  
Nathalie Koulmann  
Martin Krahn  
Leïla Lazaro  
France Leturcq  
Edoardo Malfatti  
Isabelle Marty  
Judith Melki  
Nadine Pellegrini  
Yann Péréon  
Jean Pouget  
Pascale Richard  
François Rivier  
Hélène Rivière  
Norma Romero  
Sandrine Segovia-Kueny  
Emmanuelle Uro-Coste  
Jean-Thomas Vilquin  
Louis Viollet  
Karim Wahbi



Analyse des composants de la membrane des cellules musculaires par microscopie électronique à transmission sur répliques de platine (© Stéphane Vassilopoulos, Centre de Recherche en Myologie/Institut de Myologie, UMRS 974 Sorbonne Université-Inserm, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France).

Les Cahiers de Myologie et les recommandations aux auteurs sont consultables sur le site  
[www.cahiers-myologie.org](http://www.cahiers-myologie.org)

## Nous vivons une époque formidable !

**N**ous vivons une époque formidable pour le traitement des maladies neuromusculaires !

Il n'y a jamais eu autant de perspectives thérapeutiques dans les maladies neuromusculaires. Des traitements ont obtenu l'AMM dans l'amyotrophie spinale infantile, la neuropathie amyloïde sans oublier la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Ces trois dernières années ont vu exploser le nombre d'essais de thérapie génique de phase II/III, notamment dans la maladie de Pompe, la myopathie myotubulaire et l'amyotrophie spinale. La FDA vient de rendre une autorisation de mise sur le marché d'un traitement par thérapie génique pour cette dernière. Différents traitements basés sur la délivrance, par un virus adéno-associé (AAV), d'un gène codant une micro-dystrophine sont en développement dans la dystrophie musculaire de Duchenne. Avec l'arrivée exponentielle des nouvelles molécules, la myologie entre enfin dans l'ère thérapeutique.

Cette révolution a cependant ses exigences. Après l'important effort de structuration de l'organisation du diagnostic et de la prise en charge pluridisciplinaire effectué depuis 2004 par les centres de référence et de compétences puis par la filière de santé FILNEMUS, les équipes françaises doivent se structurer pour répondre au mieux aux essais thérapeutiques, notamment lorsque plusieurs molécules dans la même indication sont en essai simultanément. L'arrivée tant attendue en prescription courante des thérapies innovantes nécessite également une rationalisation du circuit de prescription et a nécessité le développement des RCP (Réunions de Concertations Pluridisciplinaires) nationales thérapeutiques.

Ces progrès thérapeutiques nécessitent également le développement de biomarqueurs et d'outils de mesure fiables pour suivre l'évolution de l'histoire naturelle qui est déjà parfois impactée par les thérapeutiques en place.

Dans ce numéro des Cahiers de myologie, il sera beaucoup question d'actualités thérapeutiques, car nombreux sont les articles sur les innovations présentées au congrès international Myology 2019 organisé par l'AFM-Téléthon en mars dernier à Bordeaux. Les travaux de jeunes spécialistes du muscle qui représentent la recherche de demain ne sont pas en reste. Découvrez leurs travaux primés pour leurs

présentations orales ou leurs posters à Myology et aux JSFM 2018 à Brest.

Nous vivons une époque formidable pour le diagnostic des maladies neuromusculaires avec l'accès en routine au séquençage à haut débit et la mise en place très prochaine des plateformes à très haut débit !

Elle nécessite plus que jamais de favoriser la recherche transversale pour la mise en œuvre d'études fonctionnelles, notamment *via* un panel de modèles animaux (poisson zèbre, *C. elegans*, souris, drosophile). Le consortium pour les titinopathies en est un excellent exemple. Sous l'impulsion de la SFM et de FILNEMUS, un groupe de travail national rassemblant cliniciens, généticiens moléculaires et chercheurs fondamentaux s'est mis en place pour aider à l'interprétation des nouveaux variants mis en évidence en séquençage à très haut débit (NGS). Deux ans après sa création, beaucoup de chemin a été parcouru avec l'élaboration de la réunion régulière du consortium et la mise en place de projets de recherche transversaux visant à une meilleure compréhension du spectre clinique des titinopathies, des anomalies histopathologiques spécifiques observées et la mise en place d'une base de variants partagée par les membres du consortium. Cette belle réussite partagée fait l'objet d'une session particulière aux JSFM à Marseille.

Cette *success story* doit impulser la création de nouveaux groupes thématiques sur le même modèle autour de groupes de pathologies ou de mécanismes physiopathologiques communs. Ceci est d'ailleurs l'une des actions majeures de la commission « Recherche » en lien avec la commission « Outils diagnostiques » de FILNEMUS visant à fédérer les forces vives de la myologie française au niveau national et de la rendre plus visible au niveau international. Espérant vous avoir fait partager notre enthousiasme.

**We live a great time!**

**Gisèle Bonne** Présidente SFM (2015-2018)  
**Emmanuelle Salort-Campana** Présidente SFM

### LIENS D'INTÉRÊT

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

## ÉDITORIAL / EDITORIAL

- 3 **Nous vivons une époque formidable !**  
*We live a great time!*  
Gisèle Bonne, Emmanuelle Salort-Campana

## ACTUALITÉS THÉRAPEUTIQUES / THERAPEUTICS NEWS

- 6 **Les chercheurs innovent sur tous les fronts !**  
*Researchers innovate on all fronts!*  
Tuy Nga Brignol, Sylvie Marion, Shahram Attarian
- 9 **La thérapie génique ouvre une nouvelle ère**  
*Gene therapy opens a new era*  
Tuy Nga Brignol, Sylvie Marion, Emmanuelle Salort-Campana, Gisèle Bonne

## CAS CLINIQUE / CASE REPORT

- 12 **Neuropathie motrice périphérique et maladie de Pompe : association fortuite ?**  
*Pompe disease and motor neuropathy: coincidental association?*  
Céline Tard, François Cassim, Luc Defebvre, Patrick Vermersch, Roseline Froissart, Magali Pettazoni, Thierry Perez, Emmanuelle Jaillette, Sylvie Nguyen

## PRISE EN CHARGE / MANAGEMENT

- 15 **Dysarthrie et troubles de la déglutition dans la myosite à inclusions**  
**Revue de la littérature sur les méthodes d'évaluation et les prises en charge orthophoniques**  
*Dysarthria and swallowing disorders in inclusion body myositis. Review of the literature on assessment methods and speech therapy*  
Clara Solman, Vincent Sobanski, Sylvie Nguyen, Céline Tard
- 21 **Vivre avec une ventilation mécanique au quotidien : ergonomie et sécurité au domicile et à l'extérieur**  
*Living with mechanical ventilation on a daily basis: ergonomics and safety at home and outside*  
Perrine Delalande, Geert Wasteels

## MISE AU POINT / FOCUS

- 25 **Le tamoxifène dans l'arsenal thérapeutique des maladies neuromusculaires ?**  
*Tamoxifen in the therapeutic arsenal of neuromuscular diseases?*  
Olivier Dorchies, Tuy Nga Brignol

## IMAGE / IMAGING

- 28 **Les membranes vues en microscopie électronique à transmission**  
*The membranes seen by transmission electron microscopy*  
Stéphane Vassalipoulos

## LU POUR VOUS / LITERATURE REVIEW

- 29 **Préclinique/Preclinical studies**  
**Nouveau traitement pour ralentir l'évolution de la DMD : le sunitinib**  
*New treatment to slow the evolution of DMD: Sunitinib*  
Dominique Mornet
- 30 **Génétique/Genetics**  
**Dystrophie musculaire : approches ciblées d'un défaut d'épissage récurrent du gène COL6A1**  
*Muscular dystrophy: targeted therapies for a recurrent COL6A1 splice defect*  
Valérie Allamand
- 31 **Clinique/Clinical research**  
**Myopathie de Duchenne et impact de la charge de soins sur les aidants naturels**  
*The impact of care burden on family caregivers in Duchenne muscular dystrophy*  
Christian Réveillère
- 32 **Maladie de Pompe à début tardif : une nouvelle molécule en enzymothérapie substitutive**  
*Late-onset Pompe disease: a new molecule for enzyme replacement therapy*  
Françoise Chapon

## INFOS / NEWS

## JSFM 2018 Prix Communications / 2018 SFM Communications Awards

- 33 **La signalisation TGF $\beta$  contrôle la fusion cellulaire et la régénération musculaire**  
*TGF $\beta$  signaling curbs cell fusion and muscle regeneration*  
Francesco Girardi, Anissa Taleb, Lorenzo Giordani, Bruno Cadot, Fabien Le Grand
- 36 **Analyse de miR-1 et de sa cible potentielle Multiplexin dérégulés dans la dystrophie myotonique type 1**  
*Analysis of miR-1 and its potential target Multiplexin deregulated in myotonic dystrophy type 1*  
Anissa Souidi, Monika Zmojdian, Émilie Plantié, Yoan Renaud, Coralie Gimmonnet, Krzysztof Jagla

## Myology 2019 Prix Jeunes Chercheurs / Myology 2019 Young Investigators Awards

- 38 **Petits ARNs non codants dans la DM1 : nouveaux candidats vecteurs de défauts d'épissage**  
*Small non-coding RNAs in myotonic dystrophy type 1: new candidate drivers of splicing defects*  
Baptiste Bogard, Claire Francastel, Florent Hubé

- 40 **Contrôle génétique des différents types de fibres musculaires**  
*Genetic control of skeletal muscle fiber type*  
 Matthieu Dos Santos, Iori Sakakibara, Frédéric Auradé, Maud Wurmser, Stéphanie Backer, Marcio Do Cruzeiro, Jean Paul Concordet, Daan Noordermer, Frédéric Relaix, Pascal Maire
- 42 **Utilisation des hiPSC pour résoudre les mécanismes physiopathologiques liés à SMA**  
*Using hiPSC-derived motor neurons to address the pathogenesis of SMA*  
 Camille Januel, Julien Come, Cécile Martinat
- 44 **Cybrides virtuels : simuler l'influence du fond génétique mitochondrial sur le métabolisme**  
*Virtual cybrids: simulating the influence of the mitochondrial DNA background on the metabolism*  
 Margit Heiske, Lenka Tisseyre, Camille Fontes-Bouillet, Barbara DaCosta, Christophe Rocher, Edda Klipp, Thierry Letellier

- 47 **Modéliser la myopathie myofibrillaire pour élucider la pathogenèse cardiaque**  
*Cardiac cell modeling of myofibrillar myopathy to elucidate cardiac pathogenesis*  
 Yeranuhi Hovhannisyanyan, Maria Kitsara, Alexandre Simon, Dorota Jeziorowska, Ekaterini Kordeli, Pierre Joanne, Onnik Agbulut
- Journée Pompe 2019 / Pompe Disease Day 2019**
- 49 **Journée Française Maladie de Pompe : une neuvième édition riche de promesses**  
*The French Pompe Disease Day: a 9<sup>th</sup> edition full of promises*  
 Sylvie Marion
- 57 **AGENDA / FORTHCOMING MEETINGS**

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

la Société Française de Myologie

[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)



# Les chercheurs innovent sur tous les fronts !

Tuy Nga Brignol, Sylvie Marion, Shahram Attarian

Du Royaume-Uni à la Belgique en passant par la France, les équipes de recherche rivalisent de talent et d'imagination pour développer des stratégies innovantes qui préfigurent les médicaments de demain. Revue non exhaustive de la session « Thérapies innovantes » lors du congrès Myology 2019, qui s'est déroulé à Bordeaux du 25 au 28 mars.

## Dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale : un leurre pour piéger DUX4

Aucun traitement préventif ou curatif n'est encore disponible pour la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSHD), une maladie neuromusculaire liée non pas à une perte mais à un gain de fonction. La FSHD est due à une modification d'une petite région du chromosome 4 qui rend accessible *DUX4*, un gène exprimé dans les toutes premières phases du développement puis rendu silencieux par la suite. La perte de marques épigénétiques répressives au sein de la matrice D4Z4 conduit à une relaxation de la chromatine et, associée à un environnement permissif dans cette région du chromosome 4, à une reprise de l'expression de ce gène dormant présent dans chaque répétition D4Z4. La cellule musculaire re-fabrique alors la protéine *DUX4*, toxique pour les muscles.

Les signes cliniques les plus courants apparaissent généralement au cours de la deuxième décennie de la vie, mais on ignore encore quels sont les premiers dérèglements moléculaires.

L'équipe de Julie Dumonceaux (Londres, Royaume-Uni) a étudié la propagation des protéines nucléaires et ses conséquences potentielles en réalisant des co-cultures entre des myoblastes humains malades ou témoins et des myoblastes murins C2C12, créant ainsi des hétérokaryons. Les chercheurs ont démontré que dans la FSHD, bien que la transcription de la protéine toxique *DUX4* se produise uniquement dans un nombre limité de noyaux, la protéine résultante diffuse dans les noyaux proches situés dans les myotubes issus des hétérokaryons, propageant ainsi une expression génique aberrante [1].

Cette spécificité a été exploitée pour développer une approche thérapeutique originale dont le mécanisme d'action se situe au niveau du cytoplasme. La stratégie repose sur un leurre ADN double brin piégeant la protéine *DUX4* endogène, empêchant ainsi l'activation aberrante du réseau de transcription de *DUX4*.

L'expression du gène cible en aval de *DUX4* dans des myotubes en culture et des biopsies musculaires de quadriceps de patients FSHD1 (foetus ou adultes) et de sujets contrôles a été analysée. Les deux isoformes *DUX4-FL* sont déjà exprimés dans les myotubes FSHD1. Fait intéressant, le niveau d'expression de *DUX4-FL* est beaucoup plus bas dans les myotubes issus de biopsies du quadriceps que de trapèzes, ce qui est confirmé par le niveau d'expression des gènes en aval de *DUX4*. Dans les biopsies de quadriceps foetal FSHD1, les marqueurs moléculaires de la maladie (*TRIM43* et *MBD3L2*) sont déjà surexprimés à des niveaux similaires à ceux observés dans les biopsies de quadriceps FSHD1 adulte. Ces résultats ouvrent ainsi un nouveau champ d'investigation des mécanismes conduisant à la FSHD [2]. Chez la souris, le leurre vectorisé dans un AAV s'est montré aussi efficace que le leurre seul.

Ainsi a été établie la preuve de principe de cette stratégie pour traiter une pathologie du muscle squelettique par voie intramusculaire. Le leurre ne piège que *DUX4* sans tuer les cellules, un avantage par rapport à une stratégie anti-sens. Ces travaux prometteurs se poursuivent, avec notamment le développement d'un leurre AAV (dose-dépendant) pour cibler tout le corps, et la conception d'un nouveau leurre.

## Vers un essai clinique de thérapie génique pour la CMT1A

La neuropathie périphérique CMT1A, forme la plus fréquente de maladie de Charcot-Marie-Tooth, est due à la duplication du gène d'une protéine de la myéline périphérique (PMP22). Cette petite protéine de 22 kDa est produite pour l'essentiel par les cellules de Schwann.

La CMT1A s'accompagne d'un excès de PMP22, conduisant à une démyélinisation des nerfs périphériques. La CMT1A est une maladie non létale mais invalidante. À ce jour, il n'existe pas de traitement curatif, mais la thérapie génique constitue une approche thérapeutique innovante.

**Tuy Nga Brignol**  
**Sylvie Marion**  
AFM-Téléthon, Evry,  
France  
**Shahram Attarian**  
Centre de référence des  
maladies  
Neuromusculaires et de la  
SLA  
CHU la Timone,  
Marseille, France  
**Contact**  
tnbrignol@afm-telethon.fr

À l'Institut des Neurosciences de Montpellier, l'équipe de Nicolas Tricaud cherche à fournir une preuve de principe pour la thérapie génique dans les nerfs périphériques en utilisant un modèle de rat transgénique pour la CMT1A, possédant trois copies du gène murin *Pmp22*. La stratégie consiste à réduire la surexpression de la protéine PMP22 dans les cellules de Schwann de rats à l'aide d'ARN courts en épingle à cheveux (shRNA) [3].

Les shRNA sont de petits ARN non codants qui se lient spécifiquement aux ARNm ciblés, ce qui entraîne leur dégradation. Ces outils moléculaires sont distribués aux cellules cibles par le biais du vecteur viral AAV9. Ce vecteur est sélectionné pour son taux de transduction élevé dans les cellules de Schwann myélinisantes, pour sa bonne diffusion et sa faible immunogénicité.

Lors de Myology 2019, Nicolas Tricaud a présenté les résultats encourageants de cette approche de thérapie génique délivrant des micro-injections non traumatiques bilatérales dans le nerf sciatique de rats témoins et malades. Une seule injection a permis une récupération presque totale du phénotype moteur, et une augmentation de la vitesse de conduction nerveuse chez les rats malades. La réussite a été observée dans 77 % des cas. La force musculaire (test d'adhérence), la mobilité (Rotarod) et la vitesse de conduction nerveuse des rats CMT1A traités ont été maintenues à des niveaux équivalents à ceux du type sauvage sur une longue période (au moins 12 mois, soit le tiers de leur espérance de vie du rat). L'injection d'AAV9 n'a pas généré de réponse immunitaire chez la plupart des rats. Seuls deux sur 14 ont développé des anticorps contre le virus utilisé. L'infection indésirable par l'AAV9 non ciblée a été très limitée. Le virus, observé à 100 % (32/32) dans les nerfs sciatiques, a aussi été retrouvé dans le foie et le cœur, mais pas dans les autres organes.

Les chercheurs ont également développé des biomarqueurs fiables pour mesurer l'efficacité de la thérapie chez le rat. Ils s'attachent désormais à la validation préclinique des outils moléculaires et des méthodes d'injection non traumatique sur de grands modèles animaux (macaque), à optimiser la diffusion du virus et à déterminer la dose optimale, avant de démarrer un essai clinique. Le passage à l'espèce humaine devrait concerner les formes sévères de CMT1A chez l'enfant, pour prévenir les déformations des pieds (pied creux) par injection dans les nerfs tibiaux postérieurs. Ce principe pourrait ensuite être étendu à d'autres nerfs.

### Mieux comprendre le rôle de la dystrophine dans le cerveau grâce au saut d'exon médié par TcDNA-ASO

Dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), des premiers médicaments de thérapie génique utilisant des oligonucéotides antisens (ASO) existent, comme l'eteplirsén. Cependant, ces ASO administrés par voie systémique ne parviennent pas à franchir la barrière hémato-encéphalique (BHE) qui sépare le système nerveux central (SNC) du reste de l'organisme. Ils ne peuvent donc pas traiter les conséquences éventuelles de l'absence de dystrophine dans le cerveau (difficultés d'apprentissage, troubles du comportement, de l'attention...). Une nouvelle classe d'ASO (tricyclo-ADN ou tcADN) capable de traverser la BHE et d'induire le saut d'exon a permis l'expression d'une dystrophine tronquée, mais fonctionnelle, dans les tissus musculaires et cérébraux après des injections systémiques dans des modèles murins de DMD [4].

Plus récemment, un tcADN conjugué a été mis au point, montrant une absorption accrue et une efficacité améliorée dans la plupart des tissus musculaires striés, y compris le muscle cardiaque. Ce tcADN conjugué est également capable de traverser la BHE, d'induire le saut d'exon et de restaurer l'expression de la dystrophine dans le SNC. Les nouveaux tcDNA-ASO représentent donc des outils intéressants pour étudier plus avant la réversibilité des défauts cognitifs observés dans des modèles de souris dystrophiques. Des résultats ont été présentés à Myology 2019 par Faouzi Zarrouki (Université de Versailles St- Quentin, Neuroscience Paris-Saclay Institute, Orsay). En utilisant des tcDNA-ASO ciblant l'exon 23 du gène de la dystrophine, les chercheurs ont montré que la restauration de faibles niveaux de Dp427 entraîne une correction des caractéristiques comportementales liées au déficit émotionnel / cognitif dans les souris *mdx*. De manière similaire, en utilisant des tcDNA-ASO spécifiques de l'exon 51, la restauration du Dp427 (mais pas du Dp140) améliore de manière significative la réaction à la peur (*freezing response*) dans le modèle *mdx52*. Afin de définir plus précisément la quantité de dystrophine requise, ils ont évalué l'efficacité d'injections intracérébro-ventriculaires (ICV) de tcDNA-ASO, restaurant jusqu'à 40 % de la dystrophine dans l'hippocampe, et réalisé des tests cognitifs plus complexes tels que le test de traitement de la peur et le test de reconnaissance d'objet (mémoire à long terme). Par ailleurs, ils ont découvert que les composés à base de tcADN conjugués sont égale-

ment capables de traverser la barrière rétinienne après injections intraveineuses et d'induire le saut d'exon 51 dans la rétine de souris *mdx52*, ce qui permet aussi d'étudier la possibilité de restaurer les déficits de la fonction rétinienne.

Ces outils et données vont permettre de mieux comprendre la neurobiologie de la DMD et de mieux préciser le rôle de la dystrophine dans la modification des processus cognitifs chez les patients atteints de DMD.

### Myopathie centronucléaire : un nouveau modèle de poisson zèbre grâce à CRISPR/Cas9

Les myopathies centronucléaires (MCN) constituent un groupe d'affections musculaires génétiques rares et précoces pour lesquelles aucun traitement curatif n'est disponible. Elles sont dues à des mutations de plusieurs gènes, notamment ceux de la myotubularine (*MTM1*) et de la dynamine 2 (*DNM2*).

Des mutations dans *MTM1* entraînent la myopathie myotubulaire liée à l'X (XLCNM), forme la plus fréquente et la plus sévère de MCN.

Il existe de nombreux modèles animaux, dont la souris *Mtm1-KO* qui reproduit la symptomatologie et l'histologie de la maladie humaine. Dans le même modèle de souris, *Dnm2* a été identifié comme une cible thérapeutique potentielle. Un autre modèle, le poisson zèbre, est utilisé pour générer d'autres modèles de la maladie et des lignées transgéniques afin d'évaluer la fonction musculaire. Il est aussi très utile pour cribler les traitements avant de passer chez la souris, puis chez l'homme.

Les myotubularines constituent une grande famille de protéines composée de 17 membres chez le poisson zèbre (14 dans le génome humain). Dans un modèle murin de XLCNM, plusieurs défauts ont été observés, tels que le couplage dysfonctionnel excitation-contraction dû à une structure de triade anormale.

Le modèle transitoire de poisson zèbre *mtm1* obtenu par injections d'oligonucléotides morpholinos (*knockdown*) n'est pas idéal pour cribler des molécules à visée thérapeutique. Pour ce faire, il faut obtenir des lignées stables.

Afin de tester à grande échelle des thérapies médicamenteuses (par exemple, des inhibiteurs de la dynamine), l'équipe d'Eléonore Dupuis (Université Libre de Bruxelles) a généré un mutant de poisson zèbre, le mutant exon8 *mtm1* en utilisant la technologie CRISPR/Cas9, un outil de modification du génome qui permet de cibler une zone précise d'ADN pour l'enlever, la réparer ou la modifier (à la manière de « ciseaux moléculaires »).

Ce mutant présente une dégénérescence progressive du pli de la nageoire, des troubles moteurs

(diminution de la distance parcourue en 10 minutes) et une mortalité précoce (100 % de décès à J11) mais, étonnamment, aucun défaut de l'ultrastructure musculaire par comparaison au poisson sauvage. La fonction de la triade est conservée chez le mutant. La première hypothèse pour expliquer l'absence de défaut musculaire est la compensation génétique par un gène homologue redondant sur le plan fonctionnel de *mtm1*. Les chercheurs ont effectué une analyse du transcriptome par RNAseq sur des poissons mutants *mtm1* et sauvages afin de mettre en évidence les gènes potentiels présentant une expression dérégulée. L'analyse n'a pas montré de régulation positive évidente dans les autres gènes de la famille des tubularines, alors que les marqueurs de l'inflammation et de l'apoptose sont régulés positivement. Cette compensation génétique induite par des mutations délétères pourrait être une conséquence des déclencheurs de l'adaptation transcriptionnelle par l'ARNm muté. Ces données révèlent ainsi l'activation d'un réseau compensatoire servant de tampon contre les mutations délétères, phénomène non observé après un renversement de la traduction ou de la transcription par des suppressions (*knockdown*) de gènes [5].

Afin de vérifier cette hypothèse, les chercheurs ont généré des mutants *mtm1* présentant de grandes délétions englobant le promoteur et l'exon 1 du gène afin d'éviter toute transcription active de l'ARNm muté. L'étude des mécanismes moléculaires responsables d'un phénotype musculaire compensatoire chez le poisson zèbre *knock-out mtm1* pourrait aboutir à la mise au point de nouveaux traitements médicamenteux.

**Researchers innovate on all fronts!**

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Ferreboeuf M, Mariot V, Furling D, Butler-Browne G, Mouly V, Dumonceaux J. Nuclear protein spreading: implication for pathophysiology of neuromuscular diseases. *Hum Mol Genet* 2014 ; 23 : 4125-33.
2. Ferreboeuf M, Mariot V, Bessières B, et al. DUX4 and DUX4 downstream target genes are expressed in fetal FSHD muscles. *Hum Mol Genet* 2014 ; 23 : 171-81.
3. Van Hameren G, Gonzalez S, Fernando RN, Perrin-Tricaud C, Tricaud N. In vivo introduction of transgenes into mouse sciatic nerve cells using viral vectors. *Methods Mol Biol* 2018 ; 1791 : 263-76.
4. Relizani K, Griffith G, Echevarria L, et al. Efficacy and safety profile of tricyclo-DNA antisense oligonucleotides in Duchenne muscular dystrophy mouse model. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017 ; 8 : 144-57.
5. Rossi A, Kontarakis Z, Gerri C, et al. Genetic compensation induced by deleterious mutations but not gene knockdowns. *Nature* 2015 ; 524 : 230-3.

# La thérapie génique ouvre une nouvelle ère

Tuy Nga Brignol, Sylvie Marion, Emmanuelle Salort-Campana, Gisèle Bonne

Année après année, les techniques de thérapie génique s'affinent et se diversifient avec déjà des résultats très encourageants au niveau clinique. La preuve lors d'une session présidée par Serge Braun et Giuseppe Ronzitti au congrès *Myology 2019* qui s'est déroulé à Bordeaux du 25 au 28 mars.

## Deux nouvelles voies prometteuses dans la dystrophie musculaire de Duchenne

Différents traitements basés sur l'utilisation de matériel génétique sont en développement dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). La plupart repose sur la délivrance, par un virus adéno-associé (AAV), d'un gène thérapeutique codant une microdystrophine.

Lors du congrès *Myology 2019*, Kevin Flanigan du *Center for Gene Therapy* (Columbus, États-Unis) a présenté deux alternatives utilisant des AAV. Les deux approches peuvent être considérées comme complémentaires des thérapies par la microdystrophine, pour différents sous-groupes de patients.

## Thérapie génique de substitution par surexpression du gène GALGT2

Le gène *GALGT2* code la bêta1,4-N-acétylgalactosaminyltransférase ( $\beta$ -1,4-GalNAc transférase) ou *GALGT2*. La protéine *GALGT2* endogène est généralement exprimée dans le muscle au niveau de la synapse neuromusculaire et de la jonction myotendineuse, là où l'utrophine remplace la dystrophine dans un complexe protéique associé à l'utrophine. La surexpression de *GALGT2* entraîne l'expression de l'utrophine dans l'ensemble de la fibre musculaire, ainsi qu'une régulation positive d'autres protéines associées à la stabilisation de la membrane de la cellule musculaire.

La surexpression de *GALGT2* dans les muscles squelettiques de souris *mdx* inhibe le développement de la dystrophie musculaire. Chez des souris *mdx*, cette surexpression permet une conservation significative de la force mesurée lors de contractions excentriques et empêche la perte de force des muscles non dystrophiques. Dans un protocole de thérapie génique intravasculaire, une comparaison de la surexpression de *GALGT2* et de la microdystrophine a montré que *GALGT2* est aussi efficace pour prévenir la perte de force lors de contractions excentriques [1].

Dans un modèle de primate non humain, l'isolement transitoire du flux sanguin des membres

postérieurs à l'aide d'un cathéter à ballonnet a permis de concentrer le vecteur dans les muscles des jambes. Une dose bilatérale de  $2,5 \times 10^{13}$  génomes de vecteur (vg)/kg/membre s'est montrée suffisante pour provoquer une glycosylation induite par *GALGT2* dans 10 % à 60 % des myofibres squelettiques de l'ensemble des muscles des jambes traitées. Avec la même dose, le génome des vecteurs par microgramme d'ADN génomique a augmenté en moyenne de 6 à 19 fois pour l'ensemble du membre. Une dose unilatérale de  $6 \times 10^{13}$  vg/kg/membre administré à l'aide d'un cathéter à ballonnet a montré une augmentation de  $12 \pm 3$  fois dans les muscles du membre traité par rapport à ceux du membre controlatéral n'ayant reçu le vecteur qu'après libération dans la circulation systémique à partir du membre traité. La variabilité de la biodistribution des AAV entre différents segments du même muscle a été de  $125 \% \pm 18 \%$  pour une dose donnée, tandis que la variabilité entre le même muscle des deux côtés pour une dose de traitement donnée a été de  $45 \% \pm 7 \%$ .

Ces expériences démontrent que le traitement des muscles de la jambe avec rAAVrh74.MCK.*GALGT2* peut être réalisé en toute sécurité en utilisant une technique de perfusion isolée du membre, mais la variabilité intra- et inter-musculaire reste importante [2].

Cette approche fait l'objet d'un essai clinique ouvert de phase I/IIa (NCT03333590 ; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03333590>) à doses croissantes aux États-Unis. Son objectif est d'évaluer l'innocuité (signes cliniques, dosages biologiques sériques et urinaires, réponse immunologique à rAAVrh74 et à *GALGT2*) et l'efficacité (test de marche de 6 minutes ou 6MWT, testing musculaire des muscles des membres inférieurs) de l'administration intravasculaire isolée de rAAVrh74.MCK.*GALGT2* chez six patients âgés de plus de quatre ans atteints de DMD.

Le vecteur est administré, via l'artère fémorale, aux muscles des membres inférieurs. Une procédure de perfusion intravasculaire modifiée est utilisée pour

**Tuy Nga Brignol**  
**Sylvie Marion**  
AFM-Téléthon, Évry,  
France  
**Emmanuelle**  
**Salort-Campana**  
Centre de référence  
des maladies  
neuromusculaires  
et de la SLA, Hôpital  
de la Timone, Marseille,  
France  
**Gisèle Bonne**  
Sorbonne Université,  
Inserm UMRS 974,  
Institut de Myologie,  
GH Pitié-Salpêtrière,  
Paris, France  
**Contact**  
tnbrignol@afm-telethon.fr

administrer séquentiellement le vecteur. L'essai, qui a débuté en novembre 2017, a déjà inclus deux patients âgés de 8,4 ans et 6,9 ans. Présentés par Kevin Flanigan lors de *Myology 2019*, les résultats préliminaires montrent que le traitement est bien toléré et qu'il existe, à ce jour, une preuve d'efficacité limitée. Il n'y a pas de déclin évident au niveau de la force ou de la fonction motrice. La fin de l'essai est prévue pour novembre 2020.

### Expression de la dystrophine par des petits ARN nucléaires (ARNs) U7 non codants

La seconde approche consiste à fournir plusieurs copies de petits ARN nucléaires (ARNs) U7 non codants avec des séquences ciblant les sites donneur et accepteur de l'épissage de l'exon 2, ce qui entraîne *de facto* l'exclusion de l'exon 2 de l'ARNm du gène de la dystrophine.

Chez les patients présentant une duplication de l'exon 2 (la duplication d'exon simple la plus fréquente), il en résulte un transcrite de type sauvage (si un exon est exclu) ou un transcript sans exon 2, auquel cas la traduction à partir d'un site d'entrée de ribosome interne en aval est activé. L'isoforme qui en résulte est hautement fonctionnelle malgré l'absence de la première moitié du domaine de liaison à l'actine 1 (ABD1), comme le montre son expression chez des patients atteints de dystrophie musculaire de Becker. Testée chez la souris, cette stratégie entraîne bien une expression prolongée de dystrophine. Un essai clinique serait prévu pour 2019.

### Une isoforme fonctionnelle de la dystrophine traduite par un exon DMD 5 IRES

La traduction d'un exon *DMD* 5 IRES donne une isoforme fonctionnelle de la dystrophine qui atténue la dystrophinopathie chez l'homme et la souris. La plupart des mutations qui tronquent le cadre de lecture du gène *DMD* entraînent une perte d'expression de la dystrophine et conduisent à la dystrophie musculaire de Duchenne. Cependant, il a été démontré que la gravité de la maladie peut être améliorée par l'initiation alternative de la traduction commençant dans l'exon 6 de *DMD*, ce qui conduit à l'expression d'une dystrophine N-tronquée hautement fonctionnelle. L'équipe de Kevin Flanigan a démontré que cette isoforme entraîne l'utilisation d'un site d'entrée interne du ribosome (IRES pour *internal ribosome entry site*) dans l'exon 5 qui est inductible par les glucocorticoïdes. Ils ont confirmé l'activité de l'IRES par séquençage des peptides et par profilage du ribosome dans le muscle de patients présentant des symptômes mineurs de DMD malgré

la présence de mutations tronquantes. Ils ont généré un cadre de lecture tronqué en amont de l'IRES par saut d'exon, ce qui a conduit à la synthèse d'une isoforme N-tronquée fonctionnelle dans des lignées cellulaires humaines dérivées et dans un nouveau modèle murin DMD. Par rapport aux souris témoins, l'expression du muscle soumis aux contractions, et protégé par l'isoforme tronquée a pu être corrigée. Ces résultats soutiennent une approche thérapeutique possible pour les patients présentant des mutations dans les exons situés dans la région 5' du gène *DMD* [3].

### Trp3X : un allèle fondateur du gène DMD

Une mutation récurrente non-sens de l'exon 1 du gène *DMD*, p.Trp3X (c.9G>A) a été constatée pour la première fois chez un patient décédé à 77 ans et présentant un début de faiblesse musculaire proximale à l'âge de 20 ans. Il a conservé la marche jusqu'à l'âge de 62 ans. Cette mutation non-sens *DMD* p.Trp3X est associée à un effet fondateur dans les familles nord-américaines atteintes de formes bénignes de dystrophie musculaire de Becker.

Six autres familles non apparentées portant une mutation p.Trp3X ont ensuite été identifiées, cinq en Amérique du Nord et une en Italie. Dans six de ces sept familles, le cas-index a présenté dans l'enfance des taux élevés de créatine kinase détectés de manière fortuite, ou dans le cadre de bilan de crampes, avec ou sans épisode de rhabdomyolyse. L'analyse génétique par génotypage de SNP haute densité a montré que les six familles nord-américaines partagent un haplotype de 3,7 Mbp entourant l'allèle p.Trp3X, ce qui signifie qu'il s'agit d'une mutation fondatrice chez ces individus. La taille de l'haplotype fondateur et la structure de segments partagés d'un génome à l'autre suggèrent que l'âge minimal de cette mutation est supérieur à six générations.

La découverte de cette première mutation fondatrice du gène *DMD*, associée à un phénotype bénin de dystrophie musculaire de Becker, suggère que la prévalence des mutations hypomorphiques<sup>1</sup> de la dystrophine devrait être réexaminée à l'aide d'une analyse génomique améliorée [4].

### Après la SMA, des stratégies basées sur l'AAV pour les formes familiales de SLA

La thérapie génique est également d'actualité pour les formes génétiques, familiales, de sclérose latérale amyotrophique (SLA). Cette maladie se traduit par une dégénérescence des motoneurones, comme l'amyotrophie spinale proximale liée à *SMN1* (SMA). Dans la SMA comme dans la SLA, il faut

#### NOTES

<sup>1</sup> Un allèle est hypomorphe lorsque le produit du gène a la même fonction que le gène sauvage, mais qu'il est moins exprimé ou qu'il donne lieu à un produit moins actif. Il consiste en une perte ou une diminution d'une fonction. Il est en général récessif par rapport à l'allèle sauvage.

utiliser un vecteur viral capable d'atteindre le système nerveux central, où se trouvent les motoneurones.

Les formes familiales de la SLA représentent 10 % des cas de SLA. Dans 20 % des cas, elles sont liées au gène *SOD1* (superoxyde dismutase 1) et à une accumulation de la protéine SOD1, pour laquelle un modèle de souris existe. Plusieurs approches ont été testées pour cibler *SOD1*.

Après avoir développé un AAV de type 9 pour la SMA, l'équipe de Martine Barkats (Institut de Myologie, Paris) a mis au point une stratégie moléculaire innovante visant à induire une réduction substantielle, généralisée et durable du taux de SOD1 humain mutant (hSOD1) chez des souris *Sod1*<sup>G93A</sup>. Lors de *Myology 2019*, Maria-Grazia Biferi (Institut de Myologie) a rapporté que cette stratégie s'avère efficace.

L'administration d'AAV10-U7-hSOD à des souris *Sod1*<sup>G93A</sup>, injectées à la naissance ou à l'âge de 50 jours, a allongé leur survie respectivement de 92 % et 58 %. Ce traitement a aussi empêché la perte de poids et le déclin de la fonction neuromusculaire. Les résultats de l'injection intra-cérébro-ventriculaire (ICV) surpassent ceux de l'injection intraveineuse (IV). L'injection combinée ICV-IV n'améliore pas les résultats par rapport à ICV seule [5].

En parallèle, elle développe une approche comparable dans une autre forme familiale de SLA, liée cette fois au gène *C9ORF72*.

L'équipe s'attache désormais à optimiser cette thérapie dans la perspective d'une application à l'homme par une approche « Effacer/Remplacer » (Erase/Replace) pour SOD1-ALS.

### Un rêve devenu réalité dans la myopathie myotubulaire

Les développements de thérapie génique sont plus avancés pour la myopathie myotubulaire, une maladie neuromusculaire congénitale liée à l'X et due à des mutations du gène *MTM1* codant la myotubularine. La maladie entraîne le plus souvent un décès dans la petite enfance, avant l'âge de deux ans dans plus de 50 % des cas. L'équipe d'Ana Buj-Bello (Généthon, Évry) a développé une biothérapie basée sur l'administration intraveineuse d'un AAV recombinant de type 8 pour apporter le gène *MTM1* à l'ensemble des muscles. Les résultats spectaculaires chez des animaux modèles de la maladie [6] ont permis le lancement, en septembre 2017 aux États-Unis puis en Europe, d'un essai clinique international de phase I/II (étude ASPIRO) mené

par Audentes Therapeutics en partenariat avec Généthon (NCT03199469 ; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03199469>).

Cette étude à doses ascendantes et à traitement différencié vise à évaluer l'innocuité et l'efficacité préliminaire du produit AT132, un vecteur AAV8 contenant une copie fonctionnelle du gène humain *MTM1* (hMTM1). Le produit est administré une seule fois par voie intraveineuse. Il est prévu d'inclure 12 participants âgés de moins de cinq ans. Des résultats préliminaires ont été dévoilés par Ana Buj-Bello. À ce stade, huit garçons atteints de myopathie myotubulaire ont été inclus : sept dans la cohorte 1 ( $1,0 \times 10^{14}$  vg/kg d'AT132), un dans la cohorte 2 ( $3,0 \times 10^{14}$  vg/kg d'AT132). À un an de leur inclusion, les huit participants sont améliorés sur le plan moteur (échelle de mesure de la fonction motrice CHOP INTEND) et respiratoire [pression inspiratoire maximale (P<sub>lmax</sub>)]. Tous contrôlent leur tête et tiennent assis sans aide pendant plus de 5 secondes. Sur le plan respiratoire, la P<sub>lmax</sub> est améliorée chez tous les patients dès quelques semaines après l'administration, et pour certains elle atteint des valeurs normales. Trois enfants n'ont déjà plus besoin d'assistance respiratoire. La biopsie musculaire a montré une amélioration significative de l'aspect histologique des fibres musculaires à la 24<sup>e</sup> semaine post-injection. Le produit est généralement bien toléré. La dose prévue pour la cohorte 3 est égale à  $5,0 \times 10^{14}$  vg/kg d'AT132.

### Gene therapy opens a new era

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Martin PT, Xu R, Rodino-Klapac LR, *et al.* Overexpression of Galgt2 in skeletal muscle prevents injury resulting from eccentric contractions in both mdx and wild-type mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009 ; 296 : C476-88.
2. Xu R, Jia Y, Zygmunt DA, *et al.* An isolated limb infusion method allows for broad distribution of rAAVrh74.MCK.GALGT2 to leg skeletal muscles in the Rhesus macaque. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2018 ; 10 : 89-104.
3. Wein N, Vulin A, Falzarano MS, *et al.* Translation from a DMD exon 5 IRES results in a functional dystrophin isoform that attenuates dystrophinopathy in humans and mice. *Nat Med* 2014 ; 20 : 992-1000.
4. Flanigan KM, Dunn DM, von Niederhauser A, *et al.* DMD Trp3X nonsense mutation associated with a founder effect in North American families with mild Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2009 ; 19 : 743-8.
5. Biferi MG, Cohen-Tannoudji M, Cappelletto A, *et al.* A new AAV10-U7-mediated gene therapy prolongs survival and restores function in an ALS mouse model. *Mol Ther* 2017 ; 25 : 2038-52.
6. Goddard MA, Burlingame E, Beggs AH, *et al.* Gait characteristics in a canine model of X-linked myotubular myopathy. *J Neurol Sci* 2014 ; 346 : 221-6.

# Neuropathie motrice périphérique et maladie de Pompe : association fortuite ?

Céline Tard, François Cassim, Luc Defebvre, Patrick Vermersch, Roseline Froissart, Magali Pettazzoni, Thierry Perez, Emmanuelle Jaillette, Sylvie Nguyen

**Le cas suivant a été présenté le 20 mars 2019 à Paris lors de la Journée Annuelle de la Maladie de Pompe. Il s'agit d'un patient admis en réanimation pour une détresse respiratoire aiguë liée à une atteinte sévère du muscle diaphragmatique. L'EMG réalisé lors de cette première hospitalisation était compatible avec une neuropathie motrice démyélinisante auto-immune. Quelques années plus tard, devant la persistance de CPK subnormales et d'un tableau respiratoire toujours sévère, un dosage de l'activité maltase acide a été proposé. Le diagnostic de maladie de Pompe est alors posé.**

## Observation

En 2005, un patient âgé de 54 ans aux antécédents de déficience intellectuelle légère (attribuée à une méningite survenue vers l'âge de 3 ans) et tabagique à 30 paquets-années sevré était admis en réanimation pour un tableau de coma non traumatique révélateur d'une encéphalopathie hypercapnique avec détresse respiratoire aiguë : désaturation à 70 % en air ambiant et acidose respiratoire décompensée (pH à 7,18 ; PCO<sub>2</sub> à 108 mmHg ; PO<sub>2</sub> à 34 mmHg, SAO<sub>2</sub> à 54 %) nécessitant une ventilation invasive. Aucune cause cardio-pulmonaire n'était retrouvée. Devant l'échec d'extubation, une trachéotomie chirurgicale fut réalisée le mois suivant. La spirométrie réalisée sur canule de trachéotomie retrouvait un syndrome restrictif sévère (avec une capacité vitale à 22 % de la théorique) et une difficulté d'adaptation à l'effort sous forme d'une diminution du volume minute maximal.

L'IRM cérébrale était normale ainsi que la ponction lombaire (pas d'hyperprotéinorrhachie notamment). L'EMG montrait une réduction bilatérale de l'amplitude des réponses motrices diaphragmatiques sans allongement des latences.

On notait sur le plan moteur une discrète faiblesse de la pince pouce-index gauche. La sensibilité était normale. Il existait une aréflexie ostéotendineuse aux quatre membres. L'examen des nerfs crâniens était normal. Il n'y avait pas de troubles sphinctériens. En reprenant l'anamnèse, il avait déjà depuis quelques mois une fatigabilité à la marche, des crampes quadricipitales et une dyspnée.

L'EMG réalisé un mois après l'épisode aigu était compatible avec une neuropathie auto-immune, de type neuropathie motrice multifocale à blocs de conduction (Tableau 1). Les PES étaient normaux, les PEM retrouvaient une souffrance majeure de la

voie motrice à destinée des deux membres inférieurs avec temps de conduction centrale incalculable. Un bilan de neuropathie auto-immune secondaire avait été fait, négatif. Les anticorps anti-ouneuronaux et anti-gangliosides étaient négatifs.

L'état du patient s'est ensuite stabilisé : ventilation spontanée sur trachéotomie la journée, ventilation invasive la nuit ou lors du décubitus avec orthopnée sévère. Le déficit moteur était global, symétrique, coté entre 3 et 4/5 aux quatre membres avec une prédominance au niveau des extenseurs du genou et des fléchisseurs de la hanche. Les réflexes tendineux restaient abolis à l'exception du réflexe tricipital droit. Il n'y avait pas d'atteinte sensitive ni des nerfs crâniens. La capacité vitale restait très altérée à 26 % de la théorique.

Le patient avait repris la marche avec dandinement et steppage après la première cure d'immunoglobulines. Les cures ont été poursuivies toutes les 8 semaines avec une stabilisation globale de la symptomatologie. L'atteinte respiratoire restant sévère (ventilation 5 heures/nuit, pas nécessaire pendant la sieste), 6 cures d'ENDOXAN® ont été proposées en 2009, ce d'autant que les EMG de contrôle retrouvaient un tracé appauvri sur les quadriceps et jambiers antérieurs, le tout faisant discuter d'une atteinte neurogène témoin d'une possible aggravation.

Des complications à type d'infections urinaires les ont fait suspendre après six cures.

Un nouvel EMG en 2011 retrouvait un bloc de conduction sur le nerf médian droit à l'avant-bras et les blocs antérieurement décrits à l'avant-bras sur les nerfs ulnaires. Les CPK étaient alors à 295 unités/l (Tableau 1).

Un relais par immunosuppresseurs *per os* de type CELLCEPT® avait été instauré puis arrêté en 2015 du fait de surinfections pulmonaires fréquentes.

**Céline Tard**  
**François Cassim**  
**Luc Defebvre**  
**Patrick Vermersch**  
**Sylvie Nguyen**  
CHU de Lille, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord Est Ile-de-France, Clinique de neurologie, Lille, France  
**Roseline Froissart**  
**Magali Pettazzoni**  
Hospices civils de Lyon, Laboratoire des Maladies Héritaires du Métabolisme, Bron, France  
**Thierry Perez**  
CHU de Lille, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord Est Ile-de-France, Explorations fonctionnelles respiratoires, Lille, France  
**Emmanuelle Jaillette**  
CHU de Lille, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord Est Ile-de-France, Pôle de réanimation, Lille, France  
**Contact**  
celine.tard@chru-lille.fr

En 2016, les immunoglobulines polyvalentes étaient reprises et un nouveau bilan étiologique était décidé. Dans le cadre de ce bilan, le dosage de l'activité maltase acide sur papier-buvard était diminué à 2,3 pmol/tache/heure (normes 6,0-25,0) avec un rapport maltase/hexosaminidase x 1000 à 0,9 (norme > 3,0). La confirmation sur lymphocytes retrouvait une activité maltase acide nettement diminuée à 1,1 (normes 4,9-13,3) et une maltase inhibée par les anticorps à 0 (norme 2.6-10). L'étude du gène GAA en biologie moléculaire retrouvait deux mutations pathogènes : c. 3213T>G et c. 1437+2T>C confirmant de manière formelle l'existence d'une maladie de Pompe à début tardif (LOPD pour *late-onset Pompe Disease*) chez ce patient. Un traitement par enzymothérapie substitutive par Myozyme® a été débuté en juin 2017. Un dépistage systématiques des autres complications a été réalisé [cardiaque, ophtalmologique, cérébrale (anévrysme)...]. Le traitement par immunoglobulines intraveineuses a été repris un an après devant l'aggravation des paramètres EMG (Tableau 1).

### Commentaire

La maladie de Pompe à début tardif (LOPD) est la forme la plus fréquente débutant dans la troisième décennie. Le tableau clinique typique associe une faiblesse musculaire des membres à prédominance proximale, une atteinte axiale et une insuffisance respiratoire en rapport avec une atteinte diaphragmatique. L'atteinte respiratoire nécessite le plus souvent le recours à une ventilation non invasive nocturne. Il n'y a habituellement pas d'atteinte cardiaque. Dans la littérature, on trouve quelques cas de neuropathie associées à la maladie de Pompe avec ou sans corrélations anatomopathologiques de dépôts de glycogène. Un patient d'une grande famille costaricaine [1] présentait des CPK à 112, des activités spontanées anormales diffuses (étages facial, cervico-thoraco-lombaires) et une polyneuropathie sensitivo-motrice à prédominance démyélinisante mais possiblement associée à un diabète et à une neuropathie de réanimation. De manière plus intéressante par rapport à notre observation, il a été retrouvé sur des études autopsiques de patients Pompe des dépôts de glycogène dans les cellules de Schwann au niveau de la moelle épinière, des nerfs sensitifs périphériques et du nerf phrénique [2] mais sans description clinique de telles atteintes chez les patients de leur vivant. Seul un troisième article rapporte la survenue d'une neuropathie motrice aiguë chez un enfant combinée à la mise en évidence d'une atteinte motrice à l'autopsie : la ponction lombaire était normale, l'EMG retrouvait une diminution des amplitudes motrices avec abolition des ondes F

(latences et vitesses normales), sans atteinte sensitive. À l'aiguille, on retrouvait des activités spontanées anormales dans les territoires déficitaires évoquant une neuropathie motrice. La patiente avait également une atteinte respiratoire sévère nécessitant une ventilation mécanique [3].

Il n'a pas été retrouvé chez notre patient d'épaississements nerveux en regard des blocs de conduction, qui auraient pu faire évoquer des dépôts glycogéniques. Malgré la normalité de la ponction lombaire, l'hypothèse auto-immune reste pour nous l'hypothèse la plus vraisemblable. Nous aurions donc affaire à une double pathologie : une authentique maladie de Pompe à début tardif et une neuropathie auto-immune surajoutée.

Quoi qu'il en soit, l'atteinte respiratoire sévère dans une neuropathie auto-immune, d'autant plus motrice pure, doit rester un point d'appel important et faire pratiquer le dosage de la maltase acide. Il faudrait aussi pratiquer des EMG étagés chez les patients Pompe traités qui s'aggravent à la recherche d'une neuropathie surajoutée.

Initialement, on retrouvait des vitesses de conduction sensitives et amplitudes des réponses normales aux quatre membres. Les vitesses de conduction motrice, latences distales motrices et amplitudes étaient normales dans le territoire des nerfs médians et sciatiques poplités externes. On notait un ralentissement modéré sur les nerfs ulnaires avec une réduction d'amplitude à ce niveau par stimulation proximale évoquant une dispersion à l'avant-bras (anastomose de Martin-Grüber exclue). Aucune anomalie n'était notée en détection à l'aiguille avec des tracés interférentiels sans activité spontanée anormale de repos. Il n'y avait pas de bloc neuromusculaire. Les derniers EMG en 2017 confirmaient une neuropathie démyélinisante inhomogène, avec des sensitives normales (amplitudes et vitesses), aggravée sur les amplitudes motrices sur les nerfs tibiaux et fibulaires un an après malgré le traitement de substitution par Myozyme®.

### Pompe disease and motor neuropathy: coincidental association?

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Torrealba-Acosta G, Rodríguez-Roblero MC, Bogantes-Ledezma S, *et al*. First clinical and genetic description of a family diagnosed with late-onset Pompe disease from Costa Rica. *Neuromuscul Disord* 2017 ; 27 : 951-55.
2. Hobson-Webb LD, Proia AD, Thurberg BL, *et al*. Autopsy findings in late-onset Pompe disease: a case report and systematic review of the literature. *Mol Genet Metab* 2012 ; 106 : 462-9.
3. Burrow TA, Bailey LA, Kinnett DG, Hopkin RJ. Acute progression of neuromuscular findings in infantile Pompe disease. *Pediatr Neurol* 2010 ; 42 : 455-8.

Tableau 1

Nerfs	2012					2017					2018				
	Lat (ms)	Amp (mV)	VCM (m/s)	Différence Ampl		Lat (ms)	Amp (mV)	VCM (m/s)	% amplitude	Lat (ms)	Amp (mV)	Durée (ms)	VCM (m/s)	% amplitude	
<b>Moteur Médian Gauche</b>															
Poignet - OP	2,90	6,0				2,48	5,3			2,71	7,8	5,3			
Coude - Poignet	7,60	5,1	53,2	-15,0		6,63	4,2	57,8	-20,8	6,81	6,6	5,6	58,5	-15,4	
<b>Moteur Médian Droit</b>															
Poignet - OP	2,78	5,7				2,73	5,0			2,77	7,5	5,3			
Coude - Poignet	11,6	2,9	29,5	-49,1		17,0	2,1	17,2	-58,0	13,7	2,6	10,7	22,9	-65,3	
<b>Moteur Ulnaire Abducteur du V Gauche</b>															
Poignet - AbdV	2,55	8,8				2,05	6,9			2,41	7,2	6,6			
Sous-coude - Poignet	11,5	4,4	25,7	-50,0		12,5	2,8	20,1	-59,4	10,6	4,3	9,5	24,4	-40,3	
Sus-coude - Sous-coude						14,9	2,5	41,7	-10,7	12,2	4,8	10,1	67,5	11,6	
Creux ax. - Sous-coude			Données non disponibles			17,1	2,1	-	-25,0	14,2	3,5	10,9	-	-18,6	
Erb - Sous-coude						23,1	0,22	-	-92,1	18,7	0,29	75,0	--	-93,3	
<b>Moteur Ulnaire Abducteur du V Droit</b>															
Poignet - AbdV	2,53	9,4				2,56	6,5			2,28	5,7	6,3			
Sous-coude - Poignet	9,29	5,2	34,0	-44,7		10,8	3,3	27,8	-49,2	9,57	3,6	9,4	28,8	-36,8	
Sus-coude - Sous-coude						12,0	3,7	83,3	12,1	10,9	3,5	9,5	78,9	-2,8	
Creux ax. - Sous-coude			Données non disponibles			14,3	0,73	-	-77,9	16,2	0,97	8,1	--	-73,1	
Erb - Sous-coude						18,2	1,13	-	-65,8	16,2	0,97	8,1	24,5	-72,3	
<b>Moteur Fibulaire Commun Tibial Antérieur Gauche</b>															
Fibula - TA						2,71	3,2			2,54	1,45	7,5			
Genou - Fibula			Données non disponibles			4,10	2,4	57,6	-25,0	4,63	1,16	6,8	43,1	-20,0	
<b>Moteur Fibulaire Commun Tibial Antérieur Droit</b>															
Fibula - TA						2,18	5,2			2,54	2,9	5,5			
Genou - Fibula			Données non disponibles			3,68	4,2	53,3	-19,2	4,27	2,4	5,0	52,0	-17,2	
<b>Moteur Fibulaire Commun Pédiéux Gauche</b>															
Cheville - Pédiéux	3,22	3,5				3,46	2,2			3,55	0,44	6,6			
Col péroné - Cheville	9,79	2,8	44,9	-20,0		10,6	1,96	41,0	-10,9	10,1	0,29	10,4	43,1	-34,1	
<b>Moteur Fibulaire Commun Pédiéux Droit</b>															
Cheville - Pédiéux	3,13	2,7				3,72	2,0			3,73	0,70	2,9			
Col péroné - Cheville	9,81	1,80	44,2	-33,3		9,54	1,05	50,7	-47,5	10,0	0,35	10,7	47,8	-50,0	
<b>Moteur Tibial Gauche</b>															
Cheville - Gros Orteil						3,20	5,5			3,74	2,7	4,2			
Creux Pop - Cheville			Données non disponibles			11,7	1,99	41,4	-63,8	10,3	1,44	5,4	50,3	-46,7	
<b>Moteur Tibial Droit</b>															
Cheville - Gros Orteil						3,42	4,4			3,55	1,43	3,6			
Creux Pop - Cheville			Données non disponibles			10,7	2,0	50,8	-54,5	11,0	1,05	5,5	47,2	-26,6	

# Dysarthrie et troubles de la déglutition dans la myosite à inclusions

## Revue de la littérature sur les méthodes d'évaluation et les prises en charge orthophoniques

Clara Solman, Vincent Sobanski, Sylvie Nguyen, Céline Tard

La myosite à inclusions est une pathologie neuromusculaire rare touchant principalement les adultes âgés de plus de 50 ans. L'incidence de la dysphagie y est la plus élevée au sein des myopathies inflammatoires. La dysarthrie est un symptôme clinique pouvant également être présent. Actuellement, aucune revue ne s'est spécifiquement intéressée à la place occupée par l'orthophoniste dans l'évaluation et la prise en charge de cette pathologie. Cette revue de la littérature a pour but de faire un état des lieux de la recherche scientifique concernant l'évaluation de la dysarthrie et de la dysphagie dans la myosite à inclusions ainsi que des méthodes de rééducation orthophonique existantes.

### Introduction

La myosite à inclusions est une myopathie chronique et progressive caractérisée par une faiblesse musculaire touchant certains groupes musculaires spécifiques. Il s'agit de la myopathie inflammatoire la plus fréquemment retrouvée chez les personnes de plus de 50 ans, devenant ainsi la myopathie la plus souvent associée au vieillissement.

La dysphagie est une des manifestations cliniques de la myosite à inclusions et peut même en être un symptôme de présentation [1]. Cette dernière pouvant se révéler sévère, elle a un impact important sur le pronostic et la qualité de vie de ces patients. La dysarthrie est également un symptôme relativement présent dans la clinique des myosites. On peut ainsi observer lors de l'examen clinique une faiblesse linguale, des cordes vocales flasques ainsi que des mouvements palataux de faible amplitude [2].

L'objectif de cette revue de la littérature vise à faire un état des lieux de la recherche scientifique sur le thème de la dysphagie et de la dysarthrie dans la myosite à inclusions en s'interrogeant sur les critères d'évaluation.

Cette pathologie ayant été peu étudiée au niveau orthophonique, le second objectif de cette revue de la littérature est de combler le manque de ressources à ce sujet en étudiant les méthodes de rééducation orthophonique proposées.

### Méthode

Cette revue de la littérature est uniquement composée d'articles issus de la base de données *Pubmed* en raison de leur validité scientifique.

Le protocole dont nous nous sommes inspirés pour la réalisation de cette revue de la littérature est tiré du « *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analyses* » d'après la traduction française des lignes directrices PRISMA [3]. La première étape de la création de cette revue a consisté en la recherche de mots-clés MeSH. L'équation finale choisie permettant de regrouper le maximum d'articles sur le sujet a été « *Inclusion body myositis* » AND « *dysphagia* ». Les publications étant peu nombreuses pour la dysarthrie, l'association de mots-clés choisie a été « *Inclusion body myositis* » AND « *dysarthria* » OR « *speech* ». Deux articles ont été proposés par la base de données mais ces derniers n'ont pas pu être exploités.

Compte tenu du faible nombre de parutions concernant notre sujet, les articles et les résumés potentiellement éligibles n'ont pas été restreints quant à leurs dates de publication. De même, une structure IMRAD n'a pas été définie comme nécessaire à l'éligibilité de l'article. Le recueil des articles sur *Pubmed* s'est effectué de janvier 2016 à novembre 2017. Des critères d'inclusions ont été définis :

#### Clara Solman

Université de Lille,  
Département  
d'Orthophonie Gabriel  
Decroix, Lille, France  
**Vincent Sobanski**  
Univ. Lille, U995, Lille  
Inflammation Research  
International Center  
(LIRIC), CHU Lille,  
département de médecine  
interne et immunologie  
clinique F-59000 Lille,  
France

#### Sylvie Nguyen

Université de Lille, CHU  
de Lille, Centre de  
référence des maladies  
neuromusculaires  
Nord-Est-Île-de-France,  
Lille, France

#### Céline Tard

Université de Lille,  
U1171, CHU de Lille,  
Centre de référence des  
maladies  
neuromusculaires  
Nord-Est-Île-de-France,  
Service de neurologie,  
Lille, France

#### Contact

celine.tard@chru-lille.fr

- Sujet principal : « *Inclusion Body Myositis* » « *dysphagia/dysarthria* ».
- Présence des termes : « *evaluation* », « *swallowing* », « *swallowing rehabilitation* », « *speech therapist* ».
- Langues : français, anglais.
- Les doublons ont été exclus.

Après sélection des articles, nous avons procédé à un classement des articles suivant leur année de publication, le type d'étude et les méthodes d'évaluation utilisées. Le même procédé a été appliqué concernant les préconisations de prise en charge orthophonique. Les éléments obtenus répondant à notre problématique ont ensuite été triés puis rassemblés sous forme de tableaux. Les articles y sont répertoriés selon leur date de parution, de la plus récente à la plus ancienne.

### Résultats

Les différentes phases du traitement des articles, à savoir leur identification, leur éligibilité et leur inclusion à la revue, sont présentées dans la *figure 1*. Nos deux associations finales nous ont permis de recenser sur *Pubmed* 81 articles. Vingt-trois articles ont été sélectionnés pour être intégrés dans la revue de littérature finale.

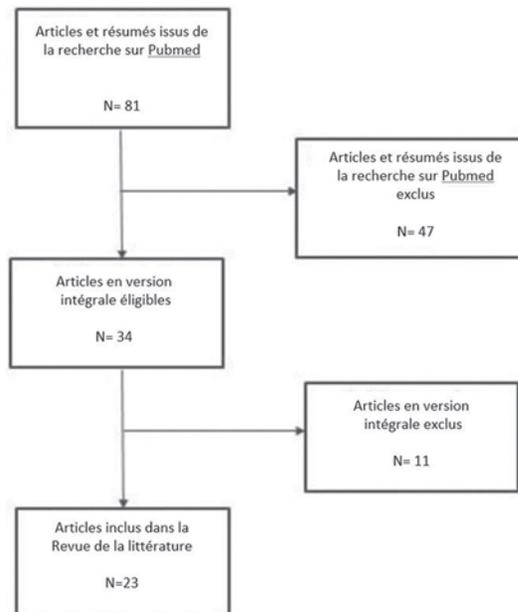


Figure 1  
Diagramme de flux (N : nombre d'articles).

### Méthodes d'évaluation

Les méthodes d'évaluation regroupent les questionnaires auto-administrés et les techniques d'imagerie. Dans les études associant questionnaire et technique

d'imagerie, le questionnaire permettait de récolter la présence d'une plainte et d'ainsi d'objectiver à l'imagerie le retentissement fonctionnel du trouble décrit. Un examen clinique est quelquefois compris dans le protocole d'évaluation de l'étude de la dysphagie. Pour la plupart, les questionnaires sont administrés lors de consultations ou durant un entretien téléphonique. Les questionnaires proposés par téléphone peuvent être administrés en première intention ou à distance des évaluations. Sur les vingt-trois articles composant la revue de littérature, six contiennent un questionnaire. Les questions posées appartiennent pour la plupart à des questionnaires validés et reconnus comme le *Deglutition Handicap Index* [4], le *Swallowing Related Quality of Life Questionnaire* [5], le *Sydney Swallow Questionnaire* [6] ainsi que le *MD Anderson Dysphagia Inventory* [7].

L'examen clinique n'est pas systématiquement proposé lors des expérimentations. En effet, il apparaît au sein de quatre articles sur les vingt-trois présentés.

Des explorations invasives sont présentes dans chaque article et regroupent plusieurs techniques. La vidéofluoroscopie est la technique d'imagerie médicale la plus répandue dans l'évaluation de la dysphagie. En effet, on la retrouve dans dix-neuf des vingt-trois articles. Elle peut être complétée par d'autres méthodes d'imagerie mais reste l'unique examen pratiqué au sein de sept articles. La manométrie œsophagienne est souvent proposée en complément de la vidéofluoroscopie. Leur association est retrouvée dans sept articles.

### Préconisations d'interventions orthophoniques

Les adaptations de textures alimentaires concernent dans un premier temps l'exclusion des aliments problématiques, à savoir ceux dont la texture est caoutchouteuse, à double texture ou dont les éléments se dispersent. Ensuite, la texture est adaptée en fonction des difficultés avec une proposition d'aliments semi-solides et/ou de liquides épaissis.

Les techniques de compensation comprennent des adaptations posturales telles que l'anté-flexion du cou et la rotation du cou mais aussi de nombreuses adaptations en fonction du déficit observé. La « déglutition d'effort » permet d'augmenter la propulsion du bol alimentaire et d'améliorer la contraction du pharynx tandis que la déglutition supra-glottique permet une fermeture précoce et volontaire des cordes vocales.

La manœuvre de Mendelsohn est citée dans plusieurs articles, son but est de favoriser l'élévation laryngée ainsi que l'ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage. En effet, la dysphagie touchant les

personnes atteintes de myosite à inclusions est caractérisée par un dysfonctionnement du sphincter supérieur de l'œsophage. Les fausses routes secondaires sont prévenues grâce aux raclements de la gorge, aux doubles déglutitions et à l'utilisation de la toux volontaire après chaque déglutition.

Des exercices de déglutition ont également été proposés à certains patients afin d'être réalisés en plus des temps de repas. Certaines techniques de compensation sont réutilisées sous forme d'exercices dans un but de renforcement et d'automatisation. Nous pouvons citer la déglutition d'effort, la déglutition supra-glottique mais également la manœuvre de Mendelsohn.

### Discussion

La problématique de la dysphagie au sein de la myosite à inclusions est particulièrement relayée par des études de cas, pour la plupart transversales. Le manque de données longitudinales peut se justifier par la rareté de cette pathologie. Les recherches existantes comprennent des études de type cohorte ou étude de cas. Les études de cohorte, à plus grande échelle, sont peu nombreuses et souvent rétrospectives. Les études de cas posent quant à elles la question de la représentativité de l'étude et de la généralisation des résultats ou observations obtenus à l'ensemble de la population. Globalement, les articles traitant de cette problématique se situent entre un niveau 3 et un niveau 4 de preuves. Ces derniers correspondant à un faible niveau de preuves scientifiques d'après les recommandations de la Haute Autorité de Santé.

### L'examen clinique

La plupart des études sur la dysphagie ont recours à l'utilisation d'examen d'imagerie, parfois en première intention, sans avoir fait état d'un entretien préalable ou d'un premier examen clinique de la dysphagie. Dans le cadre de la myosite à inclusions, cet examen clinique a pu être réalisé à partir d'observations cliniques simples comme le « test au verre d'eau » même s'il n'est pas explicitement cité sous cette appellation. Ces tests consistent en la déglutition de liquides et/ou de solides de type biscuit sec sous l'observation d'un orthophoniste, d'un médecin ou d'un ergothérapeute [8]. Une échelle de prise alimentaire orale a également été proposée [9]. La FOIS (*Functional Oral Intake Scale*) est une échelle de 7 points conçue pour désigner le type de texture et la quantité pouvant être gérés en toute sécurité par le patient.

Cependant, l'examen clinique est pratiqué par un orthophoniste dans seulement trois articles. L'examen clinique semble ainsi être très peu

exploité dans la littérature scientifique et aucun protocole de référence n'est utilisé. Les indications le concernant restent très succinctes et ne permettent en aucun cas sa reproductibilité.

### Les questionnaires

Parmi les procédés non invasifs, les questionnaires permettent d'interroger le patient selon des points précis, standardisés, et de récolter des informations ciblées et également standardisées. Les questionnaires sont reproductibles et peu onéreux. C'est une méthode non invasive et rapide qui ne présente que très peu de contraintes. La plupart des études l'employant attestent de son importance pour une utilisation en première ligne, dans un contexte d'entretien avec le patient et précédant l'imagerie médicale [9, 10]. Pour autant, le questionnaire n'est pas systématiquement utilisé.

Par ailleurs, les questionnaires cités et utilisés pour évaluer la dysphagie ne sont pas tous standardisés et validés. Actuellement, aucun n'est spécifique aux troubles de la déglutition au sein des myopathies inflammatoires. Nous pouvons toutefois relever que le *Sydney Swallowing Questionnaire* [6] semble être le questionnaire le plus spécifique car il est dédié à l'évaluation de la déglutition chez les patients atteints de dysphagie oropharyngée d'origine neuro-myogénique.

Le questionnaire présente un intérêt non négligeable compte tenu du nombre d'études ayant montré que les patients atteints de myosite à inclusions étaient les plus touchés par la dysphagie par rapport aux autres myopathies inflammatoires telles que la polymyosite et la dermatomyosite [1, 9]. De plus, peu de patients rapportent spontanément à leur praticien leurs difficultés pour s'alimenter et l'utilisation d'un questionnaire ou de quelques questions ciblées permettent de mettre en avant un potentiel trouble de la déglutition et d'agir ainsi en amont de l'installation des troubles.

La dysphagie pouvant également être un des symptômes de présentation de la myosite à inclusions durant plusieurs années, certains auteurs préconisent d'inclure des questions portant sur la dysphagie à la batterie d'évaluation classique administrée aux patients présentant des myopathies inflammatoires [11]. Les questions les plus sensibles à la détection d'une dysphagie sont : « la nourriture se coince-t-elle dans votre gorge ? », « avez-vous à avaler à plusieurs reprises pour avaler toute la nourriture ? », « est-ce que vous toussiez durant les repas ? » et « avez-vous des difficultés pour avaler la nourriture solide ? » et peuvent permettre d'évoquer la présence d'une potentielle dysphagie, objectivable lors d'une vidéo-fluoroscopie [9].

### Les méthodes d'exploration fonctionnelles

Les techniques utilisées comprennent le *gold-standard* des évaluations de la déglutition, à savoir la vidéofluoroscopie, couplée à la manométrie œsophagienne ou à l'endoscopie. Pour autant, aucun protocole n'est actuellement établi et repris par les auteurs. Il est à noter qu'il y a une absence de critères d'observation de la dysphagie pré-établis car peu d'études emploient des échelles d'observation lors de leur examen vidéofluoroscopique. Certains articles ne mentionnent aucun élément technique pouvant permettre de reproduire des conditions d'évaluation identiques. Ce manque d'exhaustivité se retrouve notamment dans les études plus anciennes. Une seule étude mentionne la présence de deux orthophonistes experts ayant assisté à la vidéofluoroscopie sur trois patients. Les résultats avaient montré un excellent effet inter-juges [9].

L'association de la manométrie œsophagienne et de la vidéofluoroscopie est recommandée afin d'étudier la préservation de la force du sphincter pharyngo-œsophagien et d'apprécier l'efficacité prévisible de techniques chirurgicales envisagées [12].

En comparaison à d'autres pathologies plus connues et étudiées, ce manque de standardisation dans les études traitant d'une même symptomatologie pourrait s'expliquer en raison du faible nombre d'études encore parues sur cette problématique. L'origine de la dysphagie dans la myosite à inclusions peut être due à un défaut d'ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage et d'une faiblesse musculaire affectant le muscle crico-pharyngé. L'imagerie médicale permet d'objectiver la physiopathologie des troubles observés.

### Les approches rééducatives orthophoniques

Peu d'études font référence aux méthodes de rééducation orthophoniques pouvant être proposées aux patients atteints de myosite à inclusions. Actuellement, il n'existe aucune recommandation spécifique. Les interventions les plus pratiquées visant la réhabilitation de la déglutition sont chirurgicales (myotomie du muscle crico-pharyngé), locales (injection de toxine botulique A), ou médicamenteuses avec la prise d'immuno-modulateurs. Ainsi, peu d'études s'intéressent à l'effet de l'exercice sur la déglutition et la prise en charge orthophonique ne semble pas faire partie des alternatives principales proposées. Une étude a d'ailleurs souligné le fait qu'aucun des patients atteints de myosite à inclusions n'avait vu

d'orthophoniste malgré la présence de troubles de la déglutition déjà fortement installés [9]. Les patients avaient tendance à adapter eux-mêmes leur façon de s'alimenter, notamment en se concentrant

d'avantage sur leur mastication et en évitant les distractions extérieures.

Woissard-Bassols et Puech [13] ont élaboré des indications de prise en charge orthophonique dans le cadre du dysfonctionnement du sphincter supérieur de l'œsophage. Concernant les stratégies d'adaptation, le bol alimentaire doit avoir de préférence une consistance davantage liquide que solide avec des prises en petites quantités. Durant le repas, la flexion antérieure est préconisée. Les principales manœuvres recommandées sont les déglutitions répétées à vide, l'alternance de liquides et de solides durant les repas, l'utilisation de la manœuvre de Mendelsohn ainsi que la stimulation externe du plancher buccal. La rééducation spécifique se scinde en exercices analytiques et exercices fonctionnels. La rééducation analytique est basée sur un travail de la musculature laryngée extrinsèque, le protocole cervical de Shaker (mouvements de flexion de tête quotidien d'une durée de 6 semaines afin de muscler les élévateurs du larynx) et le travail pharyngé. La rééducation fonctionnelle passe quant à elle par la réalisation de la manœuvre de Mendelsohn et de la déglutition tête en extension.

### La manœuvre de Mendelsohn

Le seul élément de rééducation propre à la myosite à inclusions semble être la manœuvre de Mendelsohn car elle est spécifique à l'ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage, déficiente dans cette pathologie. Cette technique consiste à prolonger volontairement l'élévation laryngée de quelques secondes afin de favoriser une meilleure et plus longue ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage durant la déglutition. Pour effectuer cette manœuvre, on demande au patient d'avaler en se concentrant sur l'ascension du larynx, de le maintenir en position haute durant quelques secondes après la fin de la déglutition puis de le relâcher. L'accompagnement peut être réalisé manuellement, prodigué par le patient lui-même ou un thérapeute (le plus souvent orthophoniste). Il est également possible de maintenir volontairement le larynx en position haute sans soutien manuel, grâce à de l'entraînement et en se concentrant sur l'ascension de ce dernier durant la déglutition.

Même si d'un point de vue physiopathologique, cette manœuvre semble être relativement adaptée à la problématique d'ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage, elle est pourtant limitée du fait de l'atteinte neuromusculaire. En effet, peu d'études ont pu évaluer cette manœuvre dans le cadre de myopathies inflammatoires. La majorité d'entre elles sont rétrospectives et intriquées avec d'autres recommandations et adaptations, elles ne permettent pas

d'observer une évolution due à l'utilisation spécifique de cette méthode. De plus, cette pathologie étant peu commune, le manque d'expertise clinique de l'orthophoniste d'une part et les capacités restreintes du patient d'autre part peuvent également être un frein à l'utilisation de cette manœuvre [1].

### La dysarthrie

Aucune étude ne s'est penchée sur la question de la dysarthrie dans la myosite à inclusions. Pourtant, la voix dans les myopathies inflammatoires est qualifiée de soufflée, de nasale et d'enrouée [14]. Les examens moteurs mettent en avant une faiblesse linguale, un manque de tonicité des cordes vocales et une altération des mouvements vélares [2]. Néanmoins, aucune étude de notre sélection n'y a fait spécifiquement référence. Comme évoquée lors de nos hypothèses, la raison de ce manque de données peut être due au caractère moins alarmant et prioritaire de la dysarthrie, survenant dans un contexte de pathologie rare. Cette dernière est donc peu étudiée. Les préconisations spécifiquement recommandées pour la myosite à inclusions étant peu nombreuses concernant la dysphagie, celles pour la dysarthrie sont pour le moment inexistantes. Généralement, sa prise en charge est effectuée en première intention par l'orthophoniste. Nous pouvons ainsi estimer qu'il en est de même lorsqu'elle survient dans un contexte de myosite à inclusions.

### Conclusion

La myosite à inclusions est une pathologie rare, encore peu étudiée au regard d'autres maladies neuromusculaires inflammatoires. La dysphagie étant un symptôme très présent et à l'origine de nombreuses complications, plusieurs études tendent à s'y consacrer afin de proposer les meilleures procédures interventionnelles. Les méthodes d'évaluation de la dysphagie dans la myosite à inclusions ne sont pas différentes de celles utilisées dans d'autres pathologies. La vidéofluoroscopie ainsi que la manométrie œsophagienne sont les principaux outils d'investigation. Outre l'imagerie, les questionnaires semblent se répandre peu à peu.

Le rôle de l'orthophoniste concernant l'évaluation de la dysphagie dans le cadre de la myosite à inclusions semble être encore à définir, il n'existe actuellement aucun consensus entre les auteurs.

L'orthophoniste ne fait pas encore partie du protocole d'évaluation de la dysphagie dans la myosite à inclusions mais des études ont montré que son expertise pouvait être requise, notamment lors de l'examen clinique, de l'administration de questionnaires et de l'observation de la vidéofluoroscopie. Actuellement, les protocoles de remédiation sont

pour la majorité chirurgicaux ou médicamenteux. Les bénéfices des techniques compensatrices de la déglutition et des exercices spécifiques ne sont pour le moment pas observables. En effet, les études sont majoritairement rétrospectives et ne permettent pas d'observer un réel avantage à l'utilisation de ces méthodes de prise en charge orthophonique.

Des études prospectives devront être entreprises afin de répondre à cette interrogation, notamment concernant la manœuvre de Mendelsohn qui pourrait se révéler efficace en raison de son action directe sur l'ouverture du sphincter supérieur de l'œsophage, principalement altérée dans la myosite à inclusions. Malgré son objectivation lors d'examens cliniques, la dysarthrie est un symptôme qui n'a pas été pour le moment spécifiquement étudié.

### Summary

#### **Dysarthria and swallowing disorders in inclusion body myositis. Review of the literature on assessment methods and speech therapy**

**Background:** Inclusion body myositis is a rare neuromuscular disease affecting mainly adults over 50 years. The incidence of dysphagia is highest in inclusion body myositis among inflammatory myopathies. Dysarthria is a clinical symptom that may also be present. Currently, no review has looked at the place occupied by the speech therapist in the evaluation and the management of this pathology.

**Objective:** This review of the literature aims to make an inventory of scientific research for the evaluation of dysarthria and dysphagia in inclusion body myositis as well as existing speech therapy rehabilitation methods.

**Method:** With a selection of 81 articles from the Pubmed database, 23 were chosen to integrate the final literature review.

**Results:** The results suggest that speech-language therapists seldom participate in the assessment of dysphagia. The effectiveness of rehabilitation strategies for swallowing is still under discussion, but indications on the rehabilitation are present. Regarding dysarthria, no study has referred to.

**Conclusion:** The role of the speech-language therapist regarding the assessment of dysphagia in the context of inclusion body myositis seems to be still defined; there is currently no consensus among the authors.

**Key words:** dysphagia, dysarthria, inclusion body myositis, evaluation, swallowing rehabilitation, speech therapist.

### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

- Oh TH, Brumfield KA, Hoskin TL, Kasperbauer JL, Basford JR. Dysphagia in inclusion body myositis: clinical features, management, and clinical outcome. *Am J Phys Med Rehabil* 2008 ; 87 : 883-9.
- Ebert EC. Review article: the gastrointestinal complications of myositis. *Aliment Pharmacol Ther* 2010 ; 31 : 359-65.
- Gedda M. Traduction française des lignes directrices PRISMA pour l'écriture et la lecture des revues systématiques et des méta-analyses. *Rev Francoph Int Rech Infirm* 2017 ; 3 : 19-24.
- Woisard V, Andrieux M, Puech M. Validation d'un questionnaire d'auto-évaluation du handicap pour les troubles de la déglutition oropharyngée (déglutition handicap index). *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 2006 ; 5 : 315-25.
- McHorney C, Bricker D, Robbins J, Kramer A, Rosenbek J, Chignell K. The SWAL-QOL outcomes tool for oropharyngeal dysphagia in adults. II. Item reduction and preliminary scaling. *Dysphagia* 2000 ; 15 : 122-33.
- Wallace KL, Middleton S, Cook IJ. Development and validation of a self-report symptom inventory to assess the severity of oropharyngeal dysphagia. *Gastroenterology* 2000 ; 118 : 678-87.
- Chen A, Frankowski R, Bishop-Leone J, Hebert T, Leyks S, Lewin J, et al. The development and validation of a dysphagia-specific quality-of-life cancer: the M.D. Anderson dysphagia inventory. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001 ; 127 : 870-6.
- Knuijt S, Kalf JG, de Swart BJM, Drost G, Hendricks HT, Geurts ACH, et al. Dysarthria and dysphagia are highly prevalent among various types of neuromuscular diseases. *Disabil Rehabil* 2014 ; 36 : 1285-9.
- Mulcahy KP, Langdon PC, Mastaglia F. Dysphagia in inflammatory myopathy: self-report, incidence, and prevalence. *Dysphagia* 2012 ; 27 : 64-9.
- Cox FM, Verschuuren JJ, Verbist BM, Niks EH, Wintzen AR, Badrising UA. Detecting dysphagia in inclusion body myositis. *J Neurol* 2009 ; 256 : 2009-13.
- Shibata S, Izumi R, Hara T, Ohshima R, Nakamura N, Suzuki N, et al. Five-year history of dysphagia as a sole initial symptom in inclusion body myositis. *J Neurol Sci* 2017 ; 381 : 325-7.
- Murata K, Kouda K, Tajima F, Kondo T. A dysphagia study in patients with sporadic inclusion body myositis (s-IBM). *Neurol Sci* 2012 ; 33 : 765-70.
- Woissard-Bassols V, Puech M. *La réhabilitation de la déglutition chez l'adulte, le point sur la prise en charge fonctionnelle*. 2<sup>e</sup> édition revue et argumentée. *Le monde du verbe*. Bruxelles : De Boeck Supérieur, 2011.
- Ko EH, Rubin AD. Dysphagia due to inclusion body myositis: case presentation and review of the literature. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 20.



**Global Registry for COL6-related dystrophies**

**Registre global des dystrophies liées au collagène de type VI**

S'inscrire sur : [www.collagen6.org](http://www.collagen6.org)

Ou contactez-nous par e-mail à l'adresse : [collagen6registry@ncl.ac.uk](mailto:collagen6registry@ncl.ac.uk)

La traduction française sera bientôt disponible sur le site web.



**Newcastle University**



TREAT-NMD  
Neuromuscular Network



**The John Walton**  
MUSCULAR DYSTROPHY RESEARCH CENTRE



**Muscular Dystrophy UK**  
Fighting muscle-wasting conditions



**cureCMD**  
a cure is among us



**AFM TÉLÉTHON**  
INNOVER POUR GUERIR



**fsrmm**  
fondation suisse de recherche sur les maladies musculaires

# Vivre avec une ventilation mécanique au quotidien : ergonomie et sécurité au domicile et à l'extérieur

Perrine Delalande, Geert Wasteels

L'évolution de certaines pathologies neuromusculaires conduit parfois à la nécessité d'une ventilation mécanique. Si l'adaptation de la ventilation est généralement réalisée à l'hôpital, la poursuite du traitement à domicile dans de bonnes conditions nécessite un environnement matériel et humain adapté pour garantir la sécurité et la qualité de vie de la personne.

Outre le ventilateur, le choix et le juste réglage de l'interface et de l'appareil d'humidification contribuent au confort du patient et à la qualité du traitement. La fixation du matériel au fauteuil et au patient contribue à sa sécurité.

À domicile, le patient est accompagné par des aidants familiaux ou professionnels. Il convient de veiller à leur formation afin qu'ils puissent être à l'aise avec le matériel et pour que celui-ci complique le moins possible le quotidien, l'objectif étant que le patient garde la meilleure qualité de vie possible.

En sortie à l'extérieur, le risque potentiel de défaillance du matériel devrait inciter le patient à s'équiper d'un « kit de secours » pour se déplacer en sécurité.

## Le point de vue des patients

### Quelle adaptation au domicile en cas de dépendance à la ventilation ?

Il n'y a pas à proprement parler d'adaptation spécifique du domicile pour la ventilation. Mais alors de quoi une personne ventilée a-t-elle besoin dans sa maison pour assurer un traitement sûr et efficace ? Pour le savoir, nous avons réalisé une enquête auprès des patients de l'hôpital d'Inkendaal en Belgique chez des personnes ventilées la nuit uniquement, ou de jour et de nuit. Les questions qui leur étaient posées relèvent d'une interrogation centrale : « outre votre respirateur, de quelles aides techniques et appareillages avez-vous besoin en qualité de patient ventilé lorsque vous êtes à l'intérieur de la maison ? ». Il n'est pas étonnant que leurs réponses tournent autour de la sécurité. Une première problématique porte sur le bon positionnement de l'interface (embout buccal ou nasal) Une autre préoccupation récurrente concerne la réserve d'alimentation électrique du respirateur.

Un problème fréquent concerne la fixation de l'embout buccal ou nasal et des tuyaux du circuit respiratoire au lit (Figures 1a, 1b) comme sur le fauteuil roulant (Figure 1c). Pour répondre à cette préoccupation, des crochets pour fixer les tuyaux ont été réalisés grâce à une imprimante 3D. De

même, un support (collier) placé sur les épaules de la personne ventilée vient fixer l'embout buccal devant sa bouche, même si elle bouge dans son fauteuil (Figure 2).

### Qu'en est-il de la ventilation en dehors du domicile ?

C'est la même histoire : la sécurité avant tout ! Les pannes mécaniques font partie des problèmes



Figure 1a  
Fixation du tuyau au bord du lit.

**Perrine Delalande**  
Résidence Yolaine de  
Kepper - AFM Téléthon,  
Angers, France  
**Geert Wasteels**  
Inkendaal - Koninklijke  
Instelling vzw, Vlezenbeek,  
Belgique

**Contacts**  
pdelalande  
@afm-telethon.fr  
geert.wasteels  
@inkendaal.be



Figure 1b  
Support maintenant l'embout buccal au lit (combiné avec un système d'appel).



Figure 1c  
Système de fixation au fauteuil roulant.



Figure 2  
Support maintenant l'embout buccal.

les plus redoutés, qu'elles soient mécaniques ou liées à la réserve d'alimentation électrique du respirateur. Pour limiter ces risques, le patient a intérêt à avoir avec lui des pièces de réserve ou rechange (une interface, un circuit ou du ruban adhésif...) et, peut-être le plus important, un ballon de réanimation (BAVU). Nous leur conseillons également de disposer d'un câble de charge et une batterie externe supplémentaire pour le ventilateur.

Comme au domicile, l'accent est mis en extérieur sur la fixation des tuyaux et le positionnement de l'embout buccal ou nasal. La continuité de la ventilation mécanique doit être considérée comme la première priorité.

Elle est assurée notamment par des adaptations (crochets, etc.) et des aides techniques, réalisés avec une imprimante 3D.

### Matériel nécessaire à domicile : prescripteur et prestataire ont un rôle majeur

#### Les ventilateurs

##### Des progrès incontestables

Aujourd'hui, les machines sont moins encombrantes et moins lourdes. Elles sont presque toutes équipées de sacs de transports. Les batteries ont une plus grande durée d'autonomie. Les écrans sont plus informatifs, indiquant notamment le niveau de charge des batteries et même, pour certains, le temps estimé restant d'autonomie.

Ces éléments ont permis aux patients de gagner en liberté de mobilité.

La possibilité d'enregistrer plusieurs programmes permet par exemple d'enregistrer un « programme jour » et un « programme nuit » sur chacun des ventilateurs, et éventuellement d'autres adaptés à des situations de la vie quotidienne, ou selon le besoin de gonfler/dégonfler le ballonnet. Certains ventilateurs permettent même de nommer ces différents programmes pour une meilleure information. Ces différents réglages « pré-programmés » permettent notamment d'utiliser le deuxième ventilateur en « machine de secours » en cas de panne. Les données de ventilation gardées en mémoire permettent au prescripteur (outre le suivi de la qualité de la ventilation), d'affiner le réglage des seuils d'alarmes pour sécuriser et limiter les alarmes intempestives. Le patient et son entourage gagnent en confort et en sécurité.

##### Alarmes : pouvoir les choisir, les inhiber, bien les régler et former les aidants

Les alarmes sont primordiales pour la sécurité du patient, encore faut-il trouver « la juste alarme » pour que la sécurité soit optimisée.

L'interprétation des messages peut s'avérer problématique. Lorsqu'une alarme sonne, les messages qui apparaissent à l'écran ne sont pas toujours interprétables par l'environnement du patient et il n'est pas facile de trouver rapidement l'information appropriée dans les notices, surtout « dans l'urgence ». Les manuels ne sont pas « pratiques ». Sur certains ventilateurs, il existe un tutoriel intégré qui indique ce qui se passe, et comment régler le problème. Sur ce point, la ventilation « à domicile » implique une bonne formation des aidants pour les rassurer et sécuriser le patient.

Les alarmes posent également un risque de pollution sonore. Leur mauvais réglage et leur déclenchement répété, *a fortiori* la nuit, peut altérer la qualité de vie des patients. Par ailleurs, les alarmes intempestives peuvent conduire le patient et son accompagnant à banaliser et donc négliger une alarme qui peut, en réalité, signaler un risque vital.

Malheureusement, sur la plupart des ventilateurs le patient n'a pas accès à l'écran, qui se trouve dans son dos... Il doit toujours solliciter un tiers pour visualiser les informations (message d'alarme, niveau de charge...).

#### La mise en charge

Le système de mise en charge doit être simple et pratique. a défaut, il existe un risque de mauvais branchement ou de débranchement dans la sacoche. Des batteries qui ne sont pas correctement chargées font perdre au patient son autonomie de déplacement en sécurité.

Là encore, il convient de former l'entourage à vérifier le témoin de charge en façade du ventilateur.

#### L'installation sur le fauteuil

Tout le matériel du patient (respirateur, « sac d'urgence », commande tierce personne, effets personnels, parfois matériel d'alimentation entérale, etc.) doit pouvoir être positionné sur le fauteuil roulant électrique, et correctement pour ne pas se détériorer. Les sacs ne peuvent pas toujours être fixés comme le fabricant l'a prévu et l'accessibilité aux informations ou aux prises est parfois difficile.

Le patient doit pouvoir bouger son dossier pour soulager ses appuis, ce qui peut modifier la position d'un embout buccal. Des tuyaux peuvent se coincer ou des câbles se déconnecter... Ce point mérite d'être pris en compte dans le choix d'un ventilateur ou d'un nouveau fauteuil. Afin d'optimiser l'ergonomie, il y aurait un intérêt au travail conjoint entre fabricants de ventilateurs et fabricants de fauteuils en particulier pour l'intégration du matériel (Figure 3).

#### L'interface

Le choix d'une interface est guidé d'une part par l'efficacité du traitement, d'autre part par la



Figure 3  
L'installation du matériel de ventilation sur le fauteuil roulant est parfois complexe.

tolérance du patient qui reste un paramètre majeur d'observance.

En ventilation « non invasive », il est assez classique que le patient ait à sa disposition plusieurs interfaces qu'il choisit en fonction de son état clinique et de son confort.

- Embout buccal : il en existe différentes formes, courbées ou droites, surface de l'ouverture, plus ou moins souples... Le ressenti du patient prime et son acceptation dépend du choix du bon matériel.

- Masque nasal ou narinare : une multitude de masques différents existe. Ils sont de plus en plus confortables. Cependant le risque de lésion cutanée par hyper-appui incite à choisir et laisser plusieurs interfaces à disposition du patient pour qu'il puisse alterner. Par ailleurs, pour un patient ventilé au masque en continu, l'utilisation d'un embout buccal peut être ponctuelle et adaptée pour la réalisation de soins d'hygiène et de confort au niveau du visage et du cuir chevelu, ou en cas d'épistaxis.

Pour les patients trachéotomisés, il existe aussi une large gamme de canules très différentes. Au-delà de la charnière, elles sont toutes caractérisées par un diamètre interne et externe, un rayon de courbure, une souplesse, une longueur, la possibilité ou non d'y associer une chemise interne, la forme de la

collerette... Autant de critères auxquels chaque patient sera sensible, en fonction de son anatomie notamment.

### L'humidification

Les nouvelles recommandations sont d'utiliser pour les patients trachéotomisés un circuit chauffant au moins sur la branche inspiratoire. Dans le cas d'une ventilation avec un circuit double branche, cela peut provoquer une condensation importante dans la branche expiratoire, source de risque : inhalation d'eau, inondation de la valve expiratoire et défaillance du ventilateur. Cela impose la formation et la vigilance du patient et de ses aidants à la surveillance et à l'adaptation du réglage.

L'utilisation d'un circuit chauffé sur les deux branches permet de réduire ce risque.

### Les sorties à l'extérieur du domicile

#### La contrainte principale est d'avoir à disposition le matériel nécessaire en cas de panne ou de problème technique

Pour cette raison, nous conseillons aux patients ventilo-dépendants de sortir équipés d'un deuxième ventilateur « de secours », d'un circuit de rechange (ou d'un rouleau de scotch !), d'une deuxième interface et d'un BAVU. Idéalement, l'ensemble de ce matériel est placé dans un sac dédié et accessible. Les coordonnées du prestataire sont généralement indiquées sur le matériel. Avant de sortir, il faut vérifier que le niveau de charge des batteries est suffisant pour couvrir la durée du déplacement et avoir un câble de charge sur soi en cas d'imprévu.

Certains patients ont aménagé et équipé leur véhicule personnel pour accueillir tout ce matériel, ainsi que le nécessaire de désencombrement si besoin (aspiration endo-trachéale ou aide à la toux). Pour éviter d'utiliser les batteries pendant le trajet, certains ont installé un transformateur afin de disposer d'une prise 220V. Des cordons allume-cigare sont également proposés pour certains ventilateurs.

Enfin, il est possible de modifier le volume sonore de l'alarme en fonction de l'environnement où l'on se trouve.

### Environnement humain : former les aidants et leur établir une *check-list*

Pour que la ventilation à domicile soit bien conduite et limite le moins possible l'autonomie dans la vie quotidienne, il est important que les aidants soient à l'aise avec le matériel et les grands principes du traitement. Il faut prévoir de les former notamment à la manipulation du ventilateur, à la mise en charge des batteries, ainsi qu'à l'interprétation des messages et aux actions à mener le cas échéant.

Le traitement implique une multitude de petits gestes simples et quotidiens. La rédaction d'une « *check-list* » énumérant tous ces gestes est une bonne aide pour ne pas en oublier.

### Conclusion

La ventilation mécanique est un traitement vital généralement initié à l'hôpital. Sa mise en œuvre à domicile, dans les conditions de vie, nécessite des adaptations qui sont guidées par trois objectifs clés : la qualité de vie, l'observance et la sécurité.

Le choix du ventilateur pour un patient dépend de la connaissance du matériel par le prescripteur et le prestataire pour le régler correctement. Mais il est guidé également par les habitudes de vie du patient (besoin en autonomie de batteries, nombre de programmes), la tolérance, les possibilités d'installation de l'appareil sur le fauteuil.

Au-delà du ventilateur, chaque accessoire doit être choisi, réglé et installé avec comme leitmotivs l'ergonomie et la sécurité. L'industrie propose déjà des choses intéressantes. D'autres méritent encore d'être développées, par exemple des crochets de fixation des circuits et un support pour embout buccal fixé au patient et non au fauteuil.

Enfin, l'environnement humain et la formation des aidants sont essentiels pour garantir la sécurité et la qualité de vie du patient.

### Living with mechanical ventilation on a daily basis: ergonomics and safety at home and outside

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

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

la Société Française de Myologie  
[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS  
[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)



# Le tamoxifène dans l'arsenal thérapeutique des maladies neuromusculaires ?

Olivier Dorchies, Tuy Nga Brignol

**Compte tenu des coûts importants du développement clinique de nouvelles molécules et de la lenteur de la découverte de nouveaux traitements, repositionner un médicament « ancien » dans une nouvelle indication s'avère parfois une solution intéressante. Elle implique de réutiliser un composé dont la sécurité et la tolérance ont déjà été démontrées, avec potentiellement une réduction des délais et des budgets de développement, mais aussi une augmentation des chances de succès. Le tamoxifène, utilisé en oncologie depuis près de 40 ans, est ainsi considéré comme un candidat médicament prometteur pour la dystrophie musculaire de Duchenne mais aussi pour la myopathie myotubulaire liée à l'X. Point d'étape...**

## Un modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes

Le mécanisme de blocage des récepteurs des œstrogènes des cellules cancéreuses a été découvert à la fin des années 1950 par Arthur Walpole. Le tamoxifène se fixe de façon spécifique sur les récepteurs des œstrogènes (ER $\alpha$ , ER $\beta$ ). Il agit par inhibition compétitive de la liaison de l'œstradiol sur ces récepteurs et en module la réponse : il exerce soit un effet agoniste (il mime les effets des œstrogènes), soit un effet antagoniste (anti-œstrogènes), selon les tissus. Ce médicament possède un effet œstrogénique dans plusieurs tissus tels que l'endomètre (utérus) et l'os (diminution de la perte osseuse après la ménopause) ainsi que sur les lipides sanguins (diminution du LDL-cholestérol). En revanche, le tamoxifène agit comme un anti-œstrogène sur la glande mammaire. Il est ainsi utilisé sous forme orale dans le traitement de cancers du sein hormono-dépendants (ceux stimulés par la liaison des œstrogènes à ER $\alpha$  et ER $\beta$ ) chez les femmes et les hommes [1, 2]. Il a aussi été expérimenté dans diverses pathologies telles que l'infertilité masculine idiopathique [3] et le rhinophyma [4]. Le tamoxifène s'est révélé sans danger chez des enfants dans le traitement de garçons pubères de petite taille [5] et de la gynécomastie pubertaire [6].

## Tamoxifène et dystrophie musculaire de Duchenne : un parcours de recherche méthodique

L'essai du tamoxifène dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD ; OMIM 310200) est intimement lié à l'étude de ses effets dans un modèle murin de DMD.

## Essais précliniques

Des améliorations de la force musculaire ainsi que de la structure du diaphragme et du cœur chez la souris *mdx*<sup>5Cv</sup> ont été observées, après administration orale de tamoxifène à partir de l'âge de trois semaines, pendant 15 mois à une dose de 10 mg/kg/jour. Il a stabilisé les membranes des myofibres, amélioré la structure des muscles des pattes postérieures, normalisé la motricité et la force des muscles des pattes postérieures. La fibrose du muscle cardiaque a été diminuée d'environ 50 %. Le tamoxifène a également réduit la fibrose du diaphragme, tout en augmentant son épaisseur, le diamètre et le nombre de ses fibres, accroissant ainsi de 72 % la quantité de tissu contractile disponible pour la fonction respiratoire. Le tamoxifène et ses métabolites ont été retrouvés à des concentrations nanomolaires dans le plasma et les muscles. Les récepteurs des œstrogènes ER $\alpha$  et ER $\beta$  se sont avérés nettement plus abondants dans les muscles dystrophiques que dans les muscles normaux, et le tamoxifène a normalisé l'abondance relative des isoformes d'ER $\beta$  [7]. Dans une étude qui n'a pas encore été publiée, il a par la suite été démontré chez la souris *mdx*<sup>5Cv</sup> adulte que le tamoxifène est efficace à des doses beaucoup plus faibles. Cette étude a permis de déterminer la dose équivalente chez l'homme pour que le tamoxifène exerce son action réparatrice sur des muscles endommagés [8].

## Un essai de phase I en ouvert

Ces résultats précliniques encourageants ont conduit le Pr Talya Dor (Hôpital Hadassah de Jérusalem) à une utilisation compassionnelle du tamoxifène chez

**Olivier Dorchies**  
Biochimie  
pharmaceutique, Section  
des sciences  
pharmaceutiques,  
Université de Lausanne,  
Université de Genève,  
Genève, Suisse

**Tuy Nga Brignol**  
Direction des Actions  
médicales, AFM-Téléthon,  
Évry, France

**Contact**  
Olivier.Dorchies  
@unige.ch

trois garçons DMD traités pendant plus de 24 mois. Les résultats, non encore publiés, sont en faveur d'une innocuité et d'une certaine efficacité clinique du tamoxifène.

Un essai ouvert de plus grande envergure sur 19 patients atteints de DMD a ensuite été initié par la même équipe sur une durée de 36 mois (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02835079>). Le critère principal de jugement est le test de marche de 6 minutes (6MWD), effectué tous les trois mois pendant les 12 premiers mois, puis tous les six mois pendant la période de suivi de 24 mois. En critère secondaire, l'échelle d'évaluation *North Star Ambulatory Assessment* (NSAA) est testée à la même fréquence. L'étude a débuté en novembre 2016 et devrait s'achever en novembre 2020.

### Essai de phase III multicentrique TAMDMD

À la suite de longues tractations et grâce à un financement associatif substantiel (en particulier de Duchenne UK), un essai de phase III multicentrique randomisé en double aveugle, contrôlé contre placebo (TAMDMD) a été lancé en juin 2018 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03354039>) et devrait se terminer en juin 2020. Coordonnée par le Pr Dirk Fischer (hôpital universitaire de Bâle, Suisse), cette étude a pour objectif d'évaluer l'innocuité et l'efficacité du citrate de tamoxifène administré pendant 48 semaines à une centaine de patients DMD. Les premiers patients ont été recrutés fin 2018.

Les participants sont répartis de façon aléatoire en deux groupes de traitement : tamoxifène et placebo. Le tamoxifène est administré à la dose de 20 mg une fois par jour, pendant 48 semaines. Il est prévu d'inclure au moins 84 patients DMD ayant gardé la marche, âgés de 6,5 à 12 ans (groupe A), sous corticothérapie, et 16 à 20 patients DMD non ambulants âgés de 10 à 16 ans (groupe B) non traités par corticoïdes. Pour atteindre la puissance statistique, 60 patients ambulants (groupe A) doivent avoir terminé l'essai. Cinq pays participent actuellement à cette étude : Allemagne, Espagne, Pays-Bas, Royaume-Uni et Suisse. La France aurait dû y participer (deux centres avaient manifesté leur intérêt) mais l'ANSM (Agence du Médicament) en a jugé autrement pour des questions réglementaires et méthodologiques.

Le principal critère de jugement est la réduction de la progression de la maladie, qui chez les patients DMD ambulants âgés de 6,5 à 12 ans (groupe A) doit être au moins égale à 50 % (en utilisant le sous-score MFM D1 comme critère d'évaluation clinique principal) par rapport au groupe contrôle sous placebo. Parmi les critères d'évaluation secondaires, figurent l'échelle de mesure de la fonction motrice

(sous-scores D2 et D3 de MFM), l'échelle d'évaluation NSAA, la distance de marche de 6 minutes, les tests de force musculaire quantitatifs (avec Myogrip) et l'IRM musculaire quantitative de la cuisse. Par ailleurs, une radiographie de la main et une analyse par absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA) seront effectuées au début et à la fin de l'étude.

### Un traitement potentiel également dans la myopathie myotubulaire liée à l'X

La myopathie myotubulaire liée à l'X (XLMTM, également connue sous le nom de XLCNM ; OMIM 310400) est une myopathie congénitale rare et grave, due à des mutations du gène de la myotubularine, *MTM1*. Elle est caractérisée par une hypotonie généralisée, entraînant le décès avant l'âge de deux ans chez la plupart des patients.

Des études précliniques ont montré que le tamoxifène administré par voie orale aux souris déficientes en myotubularine (*Mtm1*<sup>-/-</sup>) améliorait considérablement les caractéristiques fonctionnelles, histologiques et moléculaires de la maladie, avec pour conséquence une augmentation considérable (plus de six fois) de la durée de vie médiane (Figure 1).

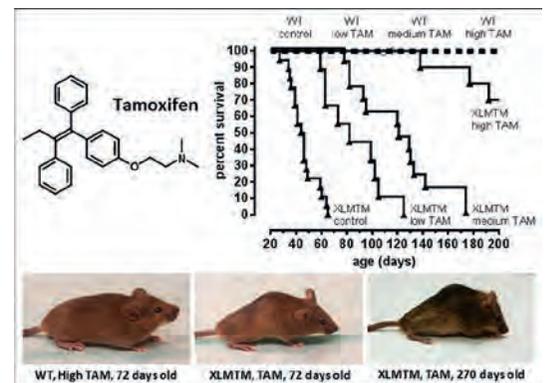


Figure 1  
Courbes de survie et photographies de souris saines (WT) et de souris malades « myotubulaires » (XLMTM) illustrant la protection conférée par le tamoxifène (TAM) chez les souris adultes et âgées.

Le tamoxifène améliore la fonction motrice globale et empêche la progression de la maladie, notamment la paralysie des pattes postérieures. Il améliore le positionnement des noyaux des cellules musculaires, l'architecture sarcomérique, le nombre de triades et le couplage excitation-contraction. Les taux d'expression des modificateurs de la XLMTM tels que la DNM2 (dynamine 2) et BIN1 (*Bridging Integrator 1* ou amphysine 2) sont normalisés, contribuant à l'amélioration phénotypique [9]. Ces résultats font du tamoxifène un candidat prometteur

pour une évaluation clinique chez les patients atteints de XLMTM, vraisemblablement *via* la modulation des voies dépendantes des œstrogènes [10]. Le tamoxifène pourrait également être utile dans d'autres myopathies où des anomalies des tubules T secondaires à une augmentation du taux de DNM2 contribuent à la pathogenèse, telles que les myopathies liées à BIN1 et les myopathies liées à la cavéoline-3 et à la dysferline [9, 11-13].

### Conclusion

La découverte de nouveaux médicaments est un processus long, coûteux et non dénué d'aléas de tous ordres. L'évaluation de médicaments dont l'utilisation chez l'homme a déjà fait ses preuves dans une nouvelle indication réduit considérablement les coûts et les délais de développement des traitements de maladies létales telles que la DMD et la myopathie myotubulaire liée à l'X [14].

Sans s'attaquer à la racine du mal, le tamoxifène pourrait être efficace pour contrer les symptômes de la maladie, à en juger par les études cliniques et précliniques en cours dans la DMD et la myopathie myotubulaire. L'étude des mécanismes d'action est en cours. Selon les résultats, le tamoxifène pourrait se montrer bénéfique pour un plus grand nombre de maladies musculaires.

De façon générale, et en l'absence d'AMM spécifiques, l'administration chez les patients de telles molécules repositionnées passent par une prescription laquelle engage, par définition, la responsabilité du médecin prescripteur. Du fait de son prix très modique et de sa grande disponibilité que ce soit en officine ou sur Internet, un certain nombre de familles DMD ont déjà recours au tamoxifène ce qui ne va pas sans poser de questionnements, la pire des situations résidant dans l'auto-médication. C'est la raison pour laquelle la Filière Filnemus œuvre à la mise en place d'un groupe de travail sur le sujet pour mieux accompagner les familles, les aider dans

leur décisions, et leur éviter l'automédication provenant de sources non certifiées.

### Tamoxifen in the therapeutic arsenal of neuromuscular diseases?

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

- Hayes TG. Pharmacologic treatment of male breast cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2009 ; 10 : 2499-510.
- Peddi PF. Hormone receptor positive breast cancer: state of the art. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2018 ; 30 : 51-4.
- Chua ME, Escusa KG, Luna S, Tapia LC, Dofitas B, Morales M. Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: a meta-analysis. *Andrology* 2013 ; 1 : 749-57.
- Payne WG, Ko F, Anspaugh S, Wheeler CK, Wright TE, Robson MC. Down-regulating causes of fibrosis with tamoxifen: a possible cellular/molecular approach to treat rhinophyma. *Ann Plast Surg* 2006 ; 56 : 301-5.
- Kreher NC, Eugster EA, Shankar RR. The use of tamoxifen to improve height potential in short pubertal boys. *Pediatrics* 2005 ; 116 : 1513-5.
- Derman O, Kanbur N, Kilic I, Kutluk T. Long-term follow-up of tamoxifen treatment in adolescents with gynecomastia. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008 ; 21 : 449-54.
- Dorchies OM, Reutenauer-Patte J, Dahmane E, et al. The anti-cancer drug tamoxifen counteracts the pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy. *Am J Pathol* 2013 ; 182 : 485-504.
- Gayi E, Neff LA, Ismail HM, Ruegg UT, Scapozza L, Dorchies OM. Repurposing the selective oestrogen receptor modulator tamoxifen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Chimia (Aarau)* 2018 ; 72 : 238-40.
- Cowling BS, Chevremont T, Prokic I, et al. Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 1350-63.
- Gayi E, Neff LA, Massana Muñoz X, et al. Tamoxifen prolongs survival and alleviates symptoms in mice with fatal X-linked myotubular myopathy. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 4848.
- Cowling BS, Prokic I, Tasfaout H, et al. Amphiphysin (BIN1) negatively regulates dynamin 2 for normal muscle maturation. *J Clin Invest* 2017 ; 127 : 4477-87.
- Demonbreun AR, McNally EM. Dynamin 2 the rescue for centronuclear myopathy. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 976-8.
- Böhm J, Vasli N, Maurer M, et al. Altered splicing of the BIN1 muscle-specific exon in humans and dogs with highly progressive centronuclear myopathy. *PLoS Genet* 2013 ; 9 : e1003430.
- Ismail HM, Dorchies OM, Scapozza L. The potential and benefits of repurposing existing drugs to treat rare muscular dystrophies. *Expert Opin Orphan Drugs* 2018 ; 6 : 259-71.

MISE AU POINT

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

la Société Française de Myologie

[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)



# Les membranes vues en microscopie électronique à transmission

Stéphane Vassilopoulos

The membranes seen by transmission electron microscopy

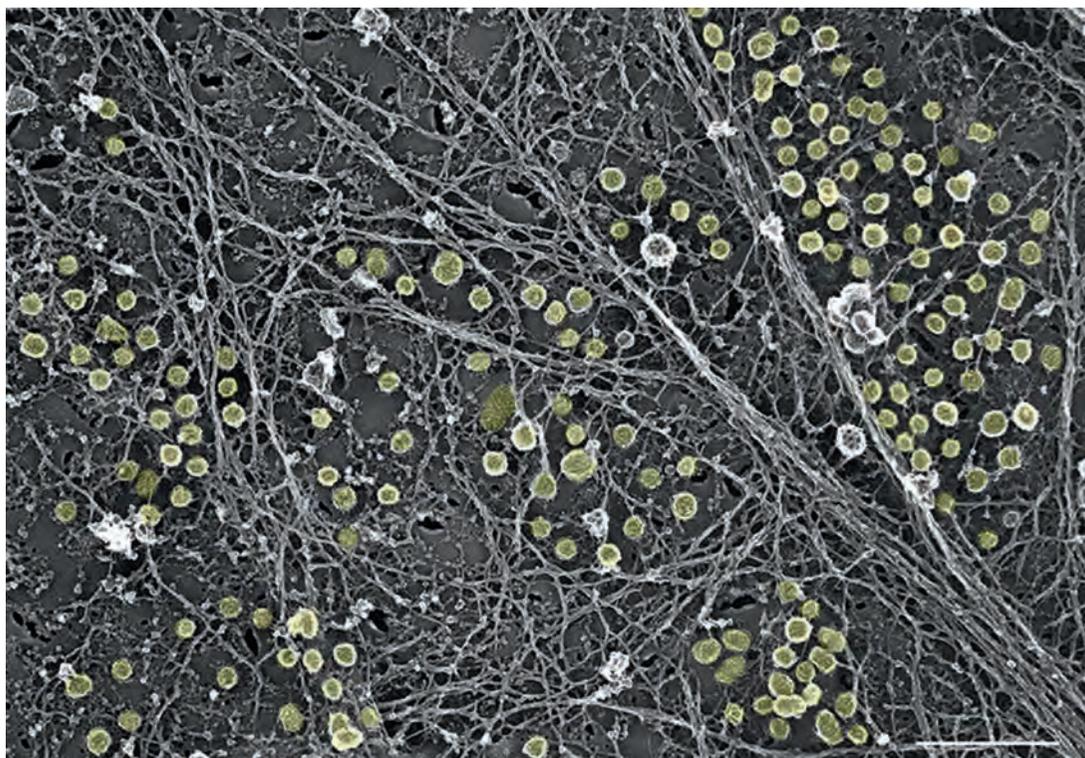


Figure 1

**Analyse des composants de la membrane des cellules musculaires par MET sur répliques de platine.**

Cette image montre des structures appelées cavéoles (colorées en jaune pâle sur l'image) qui sont particulièrement abondantes à la surface des cellules musculaires et dont la fonction demeure à ce jour mal comprise. Elles sont principalement composées d'une protéine, la cavéoline, dont l'isoforme musculaire est mutée dans une famille de myopathies connues sous le nom de cavéolinopathies. Afin de visualiser les cavéoles, les cellules musculaires en culture sont « décapées » grâce à des ultrasons, puis fixées, rapidement congelées et déshydratées à froid avant la production d'une réplique métallique de leur surface par ombrage rotatif. Barre d'échelle 500 nm.

## LIENS D'INTÉRÊT

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

**NDLR :** Mise au point en 1931 par Max Knoll et Ernst Ruska, le principe du microscope électronique à transmission (MET, ou TEM pour *Transmission Electron Microscopy*) permet de révéler les caractéristiques ultrastructurales des membranes biologiques. La MET consiste à placer un échantillon suffisamment mince sous un faisceau d'électrons, et à utiliser un système de lentilles magnétiques pour projeter l'image électronique de l'échantillon sur un écran phosphorescent qui la transforme en image optique, dont la résolution peut atteindre 0,08 voire 0,04 nm.

# Nouveau traitement pour ralentir l'évolution de la DMD : le sunitinib

Dominique Mornet

## Résumé

Chez le patient atteint de dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), les cellules satellites (CSs) possèdent un taux de division asymétrique défectueuse et une diminution en nombre, conduisant à une régénération musculaire inappropriée. Des voies spécifiques de signalisation permettent l'activation de la transcriptase 3 (STAT3) ce qui va favoriser la prolifération et l'auto-renouvellement des CSs en réponse à un exercice de résistance et à une lésion musculaire. Par ailleurs, divers travaux ont ciblé l'intégrine  $\alpha7\beta1$ , un autre complexe membranaire, comme modulateur positif dans la pathologie DMD aussi bien en utilisant des techniques d'administration transgénique qu'avec un traitement par le SU9516, une molécule améliorant son expression mais avec cependant des niveaux de toxicité qui empêcheraient son utilisation chez les patients.

Dans ce travail, une autre molécule, le sunitinib, qui s'apparente structurellement au SU9516 est présentée comme une stratégie alternative au traitement de la DMD [1]. Le sunitinib présente plusieurs avantages dont celui d'être un produit approuvé par la FDA pour le traitement du carcinome à cellules rénales chez l'homme. Ainsi, le traitement par le sunitinib avec une concentration de 1 mg/kg peut favoriser jusqu'à une augmentation maximale d'environ 1,5 fois du niveau d'expression de l'intégrine  $\alpha7\beta$  dans le muscle du diaphragme. Le sunitinib favorise la différenciation terminale des myotubes sans épuiser la réserve des CSs. De plus, cette thérapie alternative permet d'améliorer la contractilité musculaire, et des études de contraction isométrique du muscle isolé *ex vivo* indiquent une augmentation significative de la force de contraction. Des preuves solides montrent que le sunitinib inhibe la voie de signalisation Jak-2 vers SHP-2 et ERK1/2 conduisant à l'activation de STAT3. L'ensemble de ces données font du sunitinib une nouvelle molécule candidate à un essai thérapeutique chez le patient DMD.

## Commentaires

Il est évident que toute régénération des fibres musculaires va entraîner une augmentation de la production de force musculaire. Ainsi intervenir de manière à stabiliser l'intégrité de la membrane musculaire en proposant une thérapie médicamenteuse est une stratégie générale pour ralentir l'évolution dégénérative de la pathologie DMD. Chez la souris, l'apport en L-arginine a permis de stimuler l'expression de l'intégrine  $\alpha7\beta$ , mais aussi de diminuer l'inflammation et de moduler la cascade de facteurs nucléaires, NF $\kappa$ B/métallo-protéinase matricielle au niveau des fibres musculaires de la souris *mdx* et de favoriser l'intégrité membranaire [2]. Un protocole de première intention utilisant le sunitinib dans le traitement du carcinome à cellules rénales métastatiques a indiqué qu'il existe bien des effets de diminution de la masse du muscle squelettique [3]. Mais le sunitinib est susceptible de moduler la voie STAT3 dans le cancer, ce qui indique un potentiel d'activation des CSs et de la régénération myogénique, entraînant une amélioration significative de la pathologie de la maladie musculaire et de la production d'une force musculaire squelettique plus fonctionnelle [1].

En conclusion, le traitement au sunitinib favorise non seulement la différenciation myogénique, mais permet également la prolifération et l'auto-renouvellement du nombre des CSs. Cela suggère que la nature transitoire du schéma posologique proposé dans ce travail permet de reconstituer la population des réserves de cellules souches, la division cellulaire asymétrique et la différenciation ultérieure en myofibres matures.

En conséquence, ces résultats démontrent que le sunitinib peut être proposé comme une thérapie alternative à base de petites molécules ciblant la régénération musculaire pour le traitement de la DMD.

## New treatment to slow the evolution of DMD: Sunitinib

### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

- Fontelonga TM, Jordan B, Nunes AM, Barraza-Flores P, Bolden N, Wuebbles RD, Greiner LM, Hu X, Ferrer M, Marugan J, Southall N, Burkin DJ. Sunitinib promotes myogenic regeneration and mitigates disease progression in the *mdx* mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2019 Feb 26. pii : ddz044. doi : 10.1093/hmg/ddz044.
- Hnia K, Gayraud J, Hugon G, Ramonaxo M, De La Porte S, Matecki S, Mornet D. L-arginine decreases inflammation and modulates the nuclear factor-kappaB/matrix metalloproteinase cascade in *mdx* muscle fibers. *Am J Pathol* 2008 ; 172 : 1509-19.
- Ishihara H, Takagi T, Kondo T, Fukuda H, Yoshida K, Izuka J, Tanabe K. Effect of changes in skeletal muscle mass on oncological outcomes during first-line Sunitinib therapy for metastatic renal cell carcinoma. *Target Oncol* 2018 ; 13 : 745-55.

**Dominique Mornet**  
Ancien DR2CNRS,  
PhyMedExp,  
Université de Montpellier,  
Inserm, CNRS,  
Montpellier 34295  
Cedex 5, France

**Contact**  
domimornet@gmail.com

## Dystrophie musculaire : approches ciblées d'un défaut d'épissage récurrent du gène *COL6A1*

Valérie Allamand

### Résumé

L'application accrue en clinique des technologies de séquençage haut débit permet l'identification de nouveaux types de mutations pouvant être des cibles potentielles de thérapies de médecine de précision. Cette étude [1] présente un défaut d'épissage dû à une mutation intronique profonde dans le gène *COL6A1*, initialement découverte par séquençage d'ARN de muscle squelettique de patients de présentation clinique compatible avec une dystrophie liée au collagène VI (COL6-RD). Ce défaut introduit un pseudoexon en phase dans l'ARN *COL6A1*, codant ainsi une protéine  $\alpha 1(VI)$  mutée qui exerce un effet dominant négatif sur l'assemblage du réseau de COLVI dans la matrice, et représente donc une opportunité unique de correction de l'épissage pour restaurer l'expression du gène « normal ». L'utilisation des oligomères anti-sens d'épissage a permis le saut du pseudoexon avec une bonne efficacité dans des fibroblastes en culture issus de patients, permettant la mise en place d'une matrice intacte. De façon similaire, les auteurs ont utilisé la technologie CRISPR/Cas9 pour éliminer de façon précise une séquence intronique contenant le pseudoexon, ce qui a aboli son inclusion tout en préservant l'épissage normal. Ce défaut d'épissage s'avérant comme une des mutations les plus fréquentes dans les COL6-RD, le développement de thérapies de correction d'épissage efficaces et spécifiques ouvre une voie prometteuse vers une application en clinique.

### Commentaire

Cette étude est, à mon sens, un bel exemple de médecine personnalisée allant du diagnostic d'une nouvelle mutation au développement d'une approche thérapeutique spécifique. L'identification de cette mutation intronique profonde (en +189 de l'intron 11 du gène *COL6A1*) a été rapportée dans

une étude précédente [2] démontrant l'utilité de la transcriptomique (séquençage d'ARN ou RNA seq) pour améliorer l'efficacité du diagnostic des maladies neuromusculaires. En effet, grâce au séquençage des transcrits musculaires, ce travail a permis d'apporter un diagnostic moléculaire à 17 patients pour lesquels les analyses ADN (*whole exome* ou *whole genome sequencing*) n'avaient pas été concluantes. De plus, le RNA seq apporte aussi une information supplémentaire sur la conséquence des mutations lorsqu'elles affectent l'épissage. C'était le cas pour la mutation intronique du gène *COL6A1*, qui a conduit l'équipe de C Bönemann à lancer une collaboration internationale, menant à 35 le nombre de patients porteurs de cette mutation, apparue *de novo* dans les tous les cas où cela a pu être vérifié. Cette étude montre l'intérêt de travailler directement sur le(s) tissu(s) affecté(s) ; en effet la détection du défaut d'épissage était plus aisée dans le muscle que dans les fibroblastes en culture. Enfin, 2 approches différentes ont pu être utilisées pour corriger ce défaut : l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens de même chimie (PMO) que ceux déjà approuvés par la FDA pour la DMD et la SMA, et le système d'édition génique CRISPR/Cas9 basé sur un guide RNA. Cette étude ouvre donc des perspectives aussi bien pour le diagnostic des COL6-RD, et d'autres maladies neuromusculaires, grâce à l'utilisation du RNAseq, que pour le développement de stratégies thérapeutiques ciblées.

**Muscular dystrophy: targeted therapies for a recurrent *COL6A1* splice defect**

### LIENS D'INTÉRÊT

V. Allamand est co-auteur du papier présenté. Son groupe a recherché et détecté la mutation décrite chez deux patients français pour lesquels aucun diagnostic n'avait pu être apporté auparavant.

### RÉFÉRENCES

1. Bolduc V, Foley AR, Solomon-Degefa H, et al. A recurrent *COL6A1* pseudoexon insertion causes muscular dystrophy and is effectively targeted by splice-correction therapies. *JCI Insight* 2019 ; 4 : pii : 124403.
2. Cummings BB, Marshall JL, Tukiainen T, et al. Improving genetic diagnosis in Mendelian disease with transcriptome sequencing. *Sci Transl Med* 2017 ; 9 : pii : eaal5209.

**Valérie Allamand**  
Centre de Recherche en  
Myologie, Sorbonne  
Université,  
Inserm UMRS 974,  
Institut de Myologie,  
Groupe Hospitalier  
Pitié-Salpêtrière, Paris,  
France

**Contact**  
valerie.allamand  
@inserm.fr

# Myopathie de Duchenne et impact de la charge de soins sur les aidants naturels

Christian Réveillère

## Résumé

Une revue systématique de la littérature sur le fardeau porté par les aidants naturels dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) a été réalisée à partir des bases de données Embase, Web of Science et PubMed [1]. À partir de 483 publications, les auteurs ont retenu 21 articles éligibles au vu des exigences méthodologiques PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) [2]. Le fardeau des aidants, le plus souvent des parents, a été défini comme « la mesure à partir de laquelle les aidants perçoivent que les soins ont eu un effet négatif sur leur fonctionnement émotionnel, social, financier, physique et spirituel ». Les études retenues (à base d'enquêtes ou d'entretiens), se répartissent dans 15 pays différents. Il ressort particulièrement : une altération de la qualité de vie liée à la santé, une mauvaise qualité du sommeil, une disponibilité familiale réduite, une atteinte à la vie sexuelle, des épisodes dépressifs, une confrontation au stress et à la douleur (hanche et dos), une faible estime de soi, ainsi qu'un impact considérable sur la vie professionnelle et la productivité.

Que sait-on de l'impact de la progression de la maladie chez les patients DMD sur le fardeau de leurs soignants naturels ? Sur 10 études, neuf montrent un effet aggravant, dû au statut ambulatoire et à l'assistance respiratoire et fonctionnelle, ainsi qu'à la charge financière croissante.

Quelques études ont recherché un possible impact positif. Sur les trois études citées : 96 % des aidants déclarent « aimer faire ce type de soins », 66 % perçoivent un effet positif sur leur vie en termes de maturité et de renforcement de la cohésion familiale.

Enfin, la forte implication des frères et sœurs dans la prestation de soins informels est relevée sans qu'il soit possible d'en dégager une tendance favorable ou défavorable.

## Commentaire

Les soins prodigués par les aidants naturels ou parents auprès d'un enfant atteint de DMD peuvent être associés à un lourd fardeau. Situation d'autant plus préoccupante que ce phénomène de surcharge est associé à l'évolution de la maladie. Après les améliorations remarquables apportées à la prolongation de la vie dans la DMD au cours des deux dernières décennies, il convient de souligner la vulnérabilité croissante des aidants-parents face au vieillissement. Des études complémentaires seraient souhaitables pour préciser l'effet sur la fratrie. Pour autant les aidants, même éprouvés, ne perçoivent pas que des effets négatifs à cette fonction d'aidant. Ce point avait été souligné dans une autre étude [3] réalisée auprès de mères d'enfants atteints de dystrophinopathie. Ce qui en effet les aidait à tenir c'était : d'une part, de penser qu'elles apportaient une qualité aux soins que leur enfant ne pourrait pas trouver ailleurs et d'autre part, de se sentir comprises dans leur vécu de mère (à la fois pour les moments difficiles de chagrin mais aussi de joie à d'autres moments).

Au total, ces études montrent l'importance de : (1) dépister les signes de vulnérabilité : fatigue et douleur physiques, trouble du sommeil, souffrance anxio-dépressive..., et les mesurer pour une meilleure prise en compte de leur influence sur la santé physique et mentale ; (2) mesurer le temps passé et son impact socio-professionnel et économique ; (3) compenser le poids de ces difficultés et contraintes : facilité d'accès aux soins, aides techniques (pour les transferts...) et financières.

## The impact of care burden on family caregivers in Duchenne muscular dystrophy

### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Landfeldt E, Edström J, Buccella F, Kirschner J, Lochmüller H. Duchenne muscular dystrophy and caregiver burden: a systematic review. *Dev Med Child Neurol* 2018 ; 60 : 987-96.
2. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and metaanalyses of studies that evaluate health care interventions: Explanation and elaboration. *PLoS Med* 2009 ; 6 : e1000100.
3. Peay HL, Meiser B, Kinnett K, Tibben A. Psychosocial needs and facilitators of mothers caring for children with Duchenne/Becker muscular dystrophy. *J Genet Couns* 2018 ; 27 : 197-203.

**Christian Réveillère**  
 AFM-Téléthon, Évry,  
 France  
 Centre de Référence  
 Maladies  
 Neuromusculaires, CHU  
 Henri Mondor, Créteil,  
 France  
 Université de Tours,  
 France

**Contact**  
 creveillere  
 @afm-telethon.fr

# Maladie de Pompe à début tardif : une nouvelle molécule en enzymothérapie substitutive

Françoise Chapon

## Résumé

Cet article [1] rapporte l'évaluation d'un nouveau traitement substitutif dans la maladie de Pompe par alpha avalglucosidase (ou néoGAA). Les patients inclus sont atteints de la forme tardive et ont bénéficié d'une enzymothérapie substitutive préalable par GAA, ou non (patients naïfs). Entre 2013 et 2015, répartis dans 17 centres, 24 patients âgés de plus de 18 ans, ambulatoires et sans assistance respiratoire (capacité vitale - CV -  $\geq 50\%$ ), ont été inclus. Neufs patients naïfs sur 10 et 12/14 préalablement traités par alglucosidase sur une durée de 9 mois ou plus, sont allés au bout de l'étude. Des perfusions aux doses de 5, 10 ou 20 mg/kg ont été administrées une semaine sur deux sur une période de 24 semaines. La durée totale de l'étude pour chaque patient a été en moyenne de 41 semaines. L'évaluation a comporté l'appréciation des fonctions respiratoire et motrice, des données pharmacocinétiques (concentration plasmatique de l'enzyme avant, pendant, et après la perfusion - jusqu'à 48 heures post-perfusion -, visites réalisées sur les semaines 1, 13 et 25), des données pharmacodynamiques (taux de glycogène dans le muscle squelettique évalué par résonance magnétique, du tétraglycose urinaire, contenu glycogénique dans la biopsie musculaire évalué par analyse automatisée en microscopie optique), des données de surveillance (réactions aux perfusions, effets indésirables, recherche d'anticorps anti-néoGAA, neutralisants, et anti-GAA). Le traitement a été globalement bien toléré à toutes les doses. Un seul patient, du groupe naïf, a présenté un effet indésirable sévère (détresse respiratoire et gêne thoracique) à la 9<sup>e</sup> perfusion, à l'origine d'une sortie de l'étude. L'état clinique des patients est resté stable ou s'est amélioré. La concentration du produit a diminué de façon mono-exponentielle sans variation du profil sur les différentes semaines étudiées et les paramètres étaient sensiblement identiques dans les deux groupes de patients. Enfin, le taux de glycogène intramusculaire est resté stable.

## Commentaire

La maladie de Pompe ou glycogénose de type 2 est liée à un déficit en alpha glucosidase acide (GAA).

Différentes formes sont décrites selon l'âge de survenue des symptômes, la forme la plus fréquente étant la forme tardive, caractérisée par l'atteinte des muscles proximaux des membres et des muscles respiratoires. Dans cette forme tardive, un traitement substitutif par enzyme recombinante, l'alglucosidase (Myozyme<sup>R</sup>, AMM en 2006) a permis une stabilisation de l'atteinte respiratoire et une amélioration des capacités de marche. Cependant, l'alglucosidase est plus efficace sur la surcharge glycogénique du muscle cardiaque que sur celle du muscle squelettique. Cela a été corrélé à une différence tissulaire dans l'expression du récepteur mannose 6-phosphate cation-indépendant (CIM6P)/*insulin like growth factor-2* ou facteur de croissance-2 analogue à l'insuline (IGF2) et dans la captation enzymatique. Ainsi la molécule utilisée dans l'étude ici rapportée, le néoGAA ou avalglucosidase est un recombinant de seconde génération comportant un taux plus important de M6P (sites de glycosylation) afin d'augmenter la captation médiée par le récepteur. Les travaux précliniques effectués dans le modèle murin de maladie de Pompe ont montré une affinité de l'avalglucosidase pour ces récepteurs MP6 1 000 fois supérieure comparée à celle de l'alglucosidase. Cette étude de phase I s'attache à l'évaluation de l'innocuité du traitement mais l'évaluation de l'efficacité n'est désignée qu'« exploratoire » du fait de la très petite cohorte. Les résultats montrant une bonne tolérance du produit encouragent à d'autres études sur un plus grand nombre de patients et une période plus longue afin de déterminer l'efficacité de l'avalglucosidase et de permettre des comparaisons avec celle de l'alglucosidase. Une étude en cours, COMET (NCT02782741), portant sur 96 patients traités soit par Myozyme<sup>R</sup> soit par néoGAA, doit se poursuivre jusqu'en 2020 et permettra de répondre à cette question.

**Late-onset Pompe disease: a new molecule for enzyme replacement therapy**

## LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Pena LDM, Barohn RJ, Byrne BJ, *et al.* Safety, tolerability, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and exploratory efficacy of the novel enzyme replacement therapy avalglucosidase alfa (neoGAA) in treatment-naïve and alglucosidase alfa-treated patients with late-onset Pompe disease: a phase 1, open-label, multicenter, multinational, ascending dose study. *Neuromuscul Disord* 2019 ; 29 : 167-86.

**Françoise Chapon**  
CHU  
de Caen-Normandie,  
Centre de Compétences  
des Maladies  
Neuromusculaires,  
14033 Caen, France

**Contact**  
chapon-f@chu-caen.fr

# La signalisation TGF $\beta$ contrôle la fusion cellulaire et la régénération musculaire

Francesco Girardi, Anissa Taleb, Lorenzo Giordani, Bruno Cadot, Fabien Le Grand

## Introduction

La régénération musculaire repose sur une réserve de cellules souches musculaires appelées cellules satellites (MuSCs) [1]. Les MuSCs sont quiescentes et s'activent à la suite d'une blessure au muscle, donnant ainsi naissance à des progéniteurs s'amplifiant transitoirement (myoblastes), et fusionnant pour former de nouvelles fibres musculaires [2]. Ce processus est finement régulé par un réseau complexe de voies de signalisation, parmi lesquelles la cascade de signalisation « *Transforming Growth Factor  $\beta$*  » (TGF $\beta$ ) joue un rôle fondamental. Des rapports antérieurs ont proposé de nombreux rôles pour les membres de la superfamille TGF $\beta$ , généralement considérés comme des régulateurs négatifs de la différenciation myogénique [3]. Toutefois, il a récemment été montré que l'activation de TGF $\beta$ 2 est essentielle à la régénération musculaire [4]. En raison de ces différents résultats, nous avons décidé d'étudier le rôle de la cascade de signalisation TGF $\beta$  durant la différenciation des myoblastes et la régénération musculaire.

## Résultats

Avant d'évaluer les rôles respectifs des trois isoformes de TGF $\beta$ , nous avons voulu estimer leur profil d'expression au cours de la différenciation *in vitro* des myoblastes et de la régénération musculaire *in vivo*. Les myoblastes primaires ont été différenciés durant trois jours, tandis que le muscle de souris était lésé par injection de cardiotoxine et analysés après différentes durées de régénération. Même s'ils se comportent différemment, les isoformes de TGF $\beta$  sont tous les trois exprimés dans chacun de ces processus (*in vitro* et *in vivo*). De plus, nous avons vérifié les profils d'expression de TGF $\beta$ R1 (Alk5) et TGF $\beta$ R2 *in vitro*, confirmant que ces récepteurs ainsi que leurs ligands étaient bien exprimés dans les myoblastes primaires.

Ceci étant établi, nous avons commencé à étudier le rôle de ces isoformes de TGF $\beta$  sur des myoblastes en prolifération et leur taux de mortalité. Nous avons sélectionné le dosage par incorporation de BrdU pour quantifier la vitesse de prolifération, et le dosage TUNEL (Kit de détection *in situ* de la

mortalité des cellules) pour identifier les cellules qui subissent une mort cellulaire programmée. Dans ces deux essais, les cellules ont été fixées et exploitées 24 heures après traitement avec les protéines recombinantes de TGF $\beta$  (TGF $\beta$ 1, 2 et 3). Mises ensemble, ces expériences suggèrent que l'action de la voie de signalisation TGF $\beta$  n'altère ni la prolifération des myoblastes, ni leur taux de mortalité.

En conséquence, nous nous sommes concentrés sur la différenciation des myoblastes. Nous avons différencié des myoblastes primaires durant trois jours, en administrant régulièrement des protéines TGF $\beta$ 1, 2 et 3 ou ITD-1, un inhibiteur spécifique de TGF $\beta$ R2. Nous avons analysé les effets de ces traitements par immunofluorescence (IF), et découvert que l'activation de la cascade TGF $\beta$  inhibe fortement la différenciation des myoblastes. En effet, l'administration de protéines TGF $\beta$  réduit le pourcentage de cellules engagées (myoblastes Myogenin+) et l'index de fusion (paramètre indiquant la quantité de cellules ayant fusionné ensemble). D'autre part, l'administration d'inhibiteur entraîne la formation de grands myotubes (augmentation de l'index de fusion et de la taille des myotubes), présentant une forme ramifiée et aberrante, en comparaison aux formes linéaires caractérisant habituellement les myotubes.

L'effet sur la fusion étant très important, nous avons voulu comprendre si nos traitements avaient un effet direct sur la fusion des myoblastes, ou s'ils avaient un effet général sur la différenciation des myoblastes qui impacterait indirectement le processus de fusion. Pour répondre à cette question, nous avons mis en œuvre ce que nous avons appelé de la « Culture en forte densité » ; un protocole dans lequel nous prédifférencions des myoblastes en basse densité pendant deux jours, puis les remettons en forte densité, et répétons la même expérience que précédemment (traitement avec TGF $\beta$ s ou ITD-1). Avec ce protocole, nous travaillons sur des myocytes préalablement différenciés (confirmés par IF pour Myogenin après l'étape de prédifférenciation), et par conséquent, nous nous concentrons exclusivement sur le processus de fusion. Nous avons ainsi confirmé que l'activation de la voie TGF $\beta$  réduit la fusion des

Francesco Girardi  
Anissa Taleb  
Lorenzo Giordani  
Bruno Cadot  
Fabien Le Grand  
Sorbonne Université,  
Inserm UMRS974,  
Centre for Research  
in Myology,  
75013 Paris, France

Contact  
francesco.girardi1992  
@gmail.com

myoblastes, tandis que son inhibition entraîne la formation de très gros myotubes, présentant de nombreux noyaux et une forme aberrante.

Après avoir établi le rôle de la cascade de signalisation TGF $\beta$  *in vitro*, nous avons voulu évaluer son rôle dans la fusion des cellules musculaires *in vivo*. Pour cette raison, nous avons blessé des muscles TA (Tibialis Antérieur) de souris adultes, et injecté soit la protéine TGF $\beta$ 1, soit ITD-1, à trois jours après blessure (3dpi), au moment où la fusion commence à se produire. L'évaluation de la régénération des tissus à 7dpi a révélé que ces deux traitements entraînaient des changements frappants au niveau de la taille et de la morphologie des myofibres. L'addition de TGF $\beta$ 1 a provoqué une diminution très importante du nombre de noyaux dans les fibres nouvellement formées, comparé aux contrôles, ce qui a également provoqué une diminution considérable de l'aire transversale des fibres (CSA). Au contraire, ITD-1 induit une large augmentation du nombre de noyaux de cellules musculaires, débouchant ainsi sur la formation de larges fibres, comparées aux contrôles. Pour déterminer si une modification de la signalisation TGF $\beta$  *in vivo* affecte les structures et fonctions du muscle régénéré, nous avons réalisé une blessure du TA, suivie par trois injections successives de TGF $\beta$ 1 ou d'ITD-1, et avons évalué la régénération du tissu, ainsi que sa force musculaire deux semaines après blessure. Tandis que TGF $\beta$ 1 entraînait une forte réduction de la CSA ainsi qu'une diminution significative de la force musculaire, les muscles traités avec ITD-1 ne montraient aucune amélioration en termes de génération de force, bien que la taille des fibres ait largement augmenté. Ces observations indiquent que la signalisation TGF $\beta$  détermine le nombre d'événements de fusion qui se produisent durant la régénération des tissus musculaires *in vivo*, et que l'augmentation de la taille des fibres résultant de l'excès de la fusion n'est pas bénéfique à la fonction musculaire.

Actuellement, notre but est de comprendre comment la cascade TGF $\beta$  régule le processus de fusion. Pour identifier le réseau génétique régulé par

cette signalisation dans les cellules musculaires, nous avons réalisé une analyse du transcriptome des myocytes primaires différenciés, stimulés avec TGF $\beta$ 1 ou ITD-1. Curieusement, nous avons trouvé que le cytosquelette d'actine faisait partie des signalisations les plus régulées. Nous avons alors décidé de visualiser le réseau filamenteux d'actine et de mesurer l'orientation de ces filaments dans les myoblastes traités avec TGF $\beta$ 1 ou ITD-1. Nous avons observé que ces deux traitements entraînaient une dérégulation du cytosquelette d'actine, comparé aux formes linéaires standards des myoblastes en différenciation. Ces effets suggèrent que la cascade de signalisation TGF $\beta$  pourrait réguler la fusion à travers le remodelage de F-Actine.

### Conclusion

Nos expériences ont confirmé le rôle négatif de l'activation de la signalisation TGF $\beta$  sur la différenciation myogénique, et montré un effet spécifique sur la fusion des myoblastes. Nous avons aussi testé les effets de l'inhibiteur de la cascade TGF $\beta$ , et trouvé que la déficience/faiblesse de la voie de signalisation TGF $\beta$  augmentait la fusion des myoblastes *in vitro* et *in vivo*. Nos études suggèrent donc que la cascade TGF $\beta$  joue un rôle critique dans la différenciation myogénique, dans la fusion des myocytes, ainsi que dans la régénération du muscle.

### TGF $\beta$ signaling curbs cell fusion and muscle regeneration

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961 ; 9 : 493-495.
2. Yin H, Price F, Rudnicki MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 2013 ; 93 : 23-67.
3. Kollias HD, McDermott JC. Transforming growth factor- $\beta$  and myostatin signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2008 ; 104 : 579-87.
4. Rudolf A, Schirwis E, Giordani L, et al.  $\beta$ -catenin activation in muscle progenitor cells regulates tissue repair. *Cell Rep* 2016 ; 15 : 1277-90.

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

la Société Française de Myologie  
[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS  
[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)



## 1. TGFβ Signaling in Myoblast Differentiation

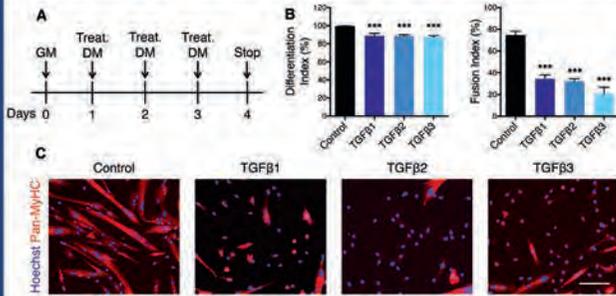


Figure 2: A. Experimental scheme. B. Fusion Index and Myonuclei Distribution. C. Immunofluorescent staining of 3-days differentiated myotubes. Scale bar is 200µm.

## 2. TGFβ Signaling in Myoblast Fusion

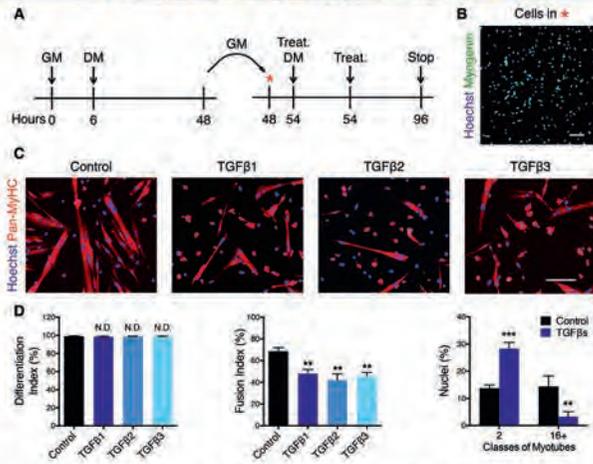


Figure 3: A. Experimental scheme. Primary myoblasts were pre-differentiate and then re-plated at High Density. B. Myogenin cells after 48h. C. Immunofluorescent staining for all myosin heavy-chain isoforms. D. Differentiation Index, Fusion Index and Myonuclei Distribution. Scale bars are 200µm.

## 3. TGFβ Signaling Inhibition

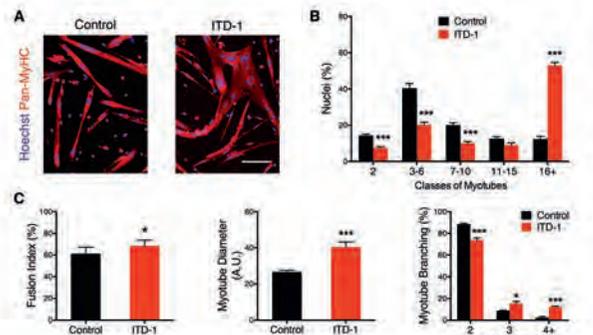


Figure 4: A. Immunofluorescent staining for all myosin heavy-chain isoforms. B. Myonuclei Distribution. C. Fusion Index, Myotube Diameter and Branching. Scale bar is 200µm.

## 4. TGFβ Signaling regulates Actin Cytoskeleton

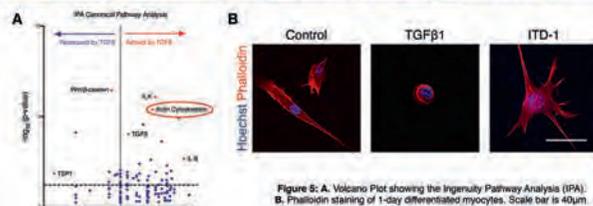


Figure 5: A. Volcano Plot showing the Ingenuity Pathway Analysis (IPA). B. Phalloidin staining of 1-day differentiated myocytes. Scale bar is 40µm.

## 5. Live Imaging of Myoblast Fusion

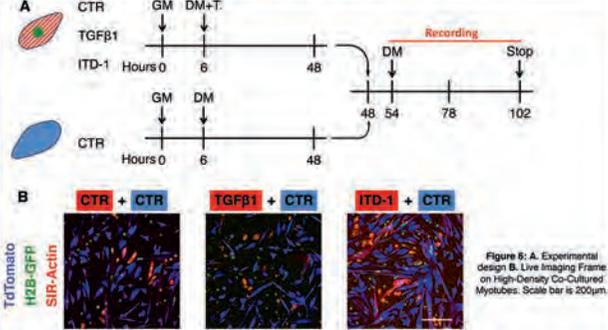


Figure 6: A. Experimental design. B. Live Imaging Frame on High-Density Co-Cultured Myotubes. Scale bar is 200µm.

## 6. Actin polymerization is essential for fusion

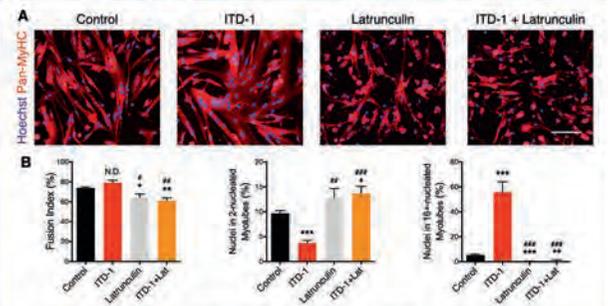


Figure 7: A. Experimental scheme. Primary myoblasts were pre-differentiate and then re-plated at High Density. B. Fusion Index and Myonuclei Distribution. Scale bar is 200µm.

## 7. TGFβ Signaling in Muscle Regeneration

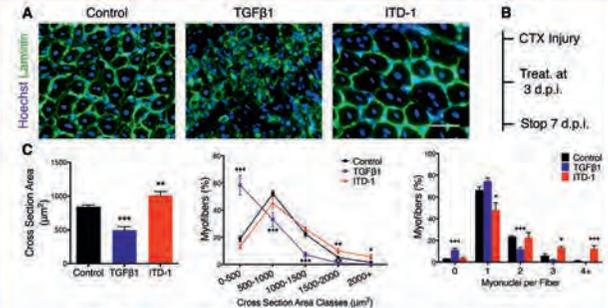


Figure 8: A. Immunofluorescence on TA muscle cryosection. B. Mice were injected with TGFβ1 or ITD-1 three days post injury with Cardiotoxin. C. Cross Section Area (CSA), CSA Distribution and Myonuclei Distribution. Scale bar is 200µm.

## 8. TGFβ Signaling regulates Muscle Architecture

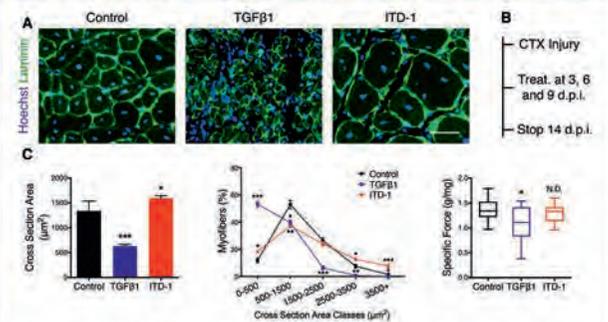


Figure 9: A. Immunofluorescence on TA muscle cryosection. B. Mice were injected three times after Cardiotoxin injury, and sacrificed after 14 days. C. CSA, CSA Distribution and Force Measurement. Scale bar is 200µm.

## Conclusions

TGFβ Signaling Pathway acts on Myoblast Fusion and plays an essential role during Muscle Regeneration.

# Analyse de miR-1 et de sa cible potentielle Multiplexin dérégulés dans la dystrophie myotonique type 1

Anissa Souidi, Monika Zmojdzian, Émilie Plantié, Yoan Renaud, Coralie Gimmonnet, Krzysztof Jagla

La dystrophie myotonique de type 1 (DM1), une des maladies neuromusculaires les plus fréquentes chez l'adulte, à transmission autosomique dominante, est une maladie multisystémique caractérisée par une myotonie, une cataracte, une atrophie testiculaire et des troubles cardiaques tels que les complications de conduction, les arythmies et la cardiomyopathie dilatée. La DM1 est causée par une expansion de répétitions CTG dans la région 3'UTR du gène *Dmpk* (*dystrophia myotonica protein kinase*). Le nombre de ces répétitions varie entre 5 et 37 chez les personnes saines, et entre 50 et 4 000 chez les patients DM1 [1]. Les transcrits mutés *Dmpk* forment des foci nucléaires qui séquestrent MBNL1 (*Muscleblind-like 1*) [2] et stabilisent CELF1 (*Elav-Like Factor 1*) [3], deux facteurs d'épissage alternatif qui se fixent sur les régions 3'UTR de leurs gènes cibles. MBNL1 régule la maturation de *miR-1*, un microARN conservé, important pour la cardiogénèse et connu pour réguler des gènes codant des canaux potassiques et calciques dans le cœur [4]. Il est fortement diminué dans les modèles DM1 de drosophile et aussi dans les muscles squelettique et cardiaque des patients DM1 [5]. L'objectif de notre étude est d'appliquer le modèle drosophilien pour effectuer une analyse fonctionnelle de *miR-1* et de sa cible potentielle Multiplexin et de leurs implications dans les défauts cardiaques associés à la DM1. Mp, orthologue du collagène XV/XVIII chez les mammifères, est fortement dérégulée dans la DM1. Tout d'abord nous avons analysé l'effet de l'inhibition de *miR-1* au niveau du cœur d'une part sur la structure et la physiologie cardiaque par l'approche SOHA (*Semi-intact Optical Heartbeat Analysis*) et d'autre part sur l'expression de Mp par immunomarquage. Ensuite nous avons analysé la fonction de Mp dans la

physiologie cardiaque en utilisant des lignées *Mp RNAi*. Les résultats montrent une augmentation de l'expression de Mp dans le contexte DM1 et une diminution de la taille du cœur et des arythmies cardiaques dans le contexte perte de fonction Mp, suggérant l'importance de la régulation de Mp dans le maintien de la structure et de la physiologie cardiaque et son implication probable dans les complications cardiaques associées à la DM1. La perte de fonction *miR-1* au niveau cardiaque cause une cardiomyopathie dilatée accompagnée d'une augmentation de l'expression de Mp, similaire aux symptômes DM1. L'ensemble des résultats suggèrent que la dérégulation de Mp, dépendante de *miR-1*, contribue aux défauts cardiaques observés dans la DM1.

## Analysis of miR-1 and its potential target Multiplexin deregulated in myotonic dystrophy type 1

### LIENS D'INTÉRÊT

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

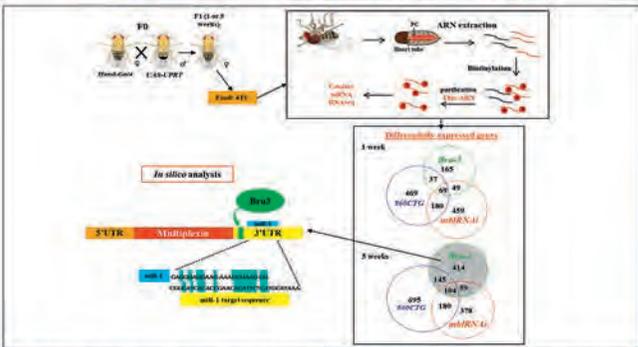
### RÉFÉRENCES

1. Meola G, Cardani R. Myotonic dystrophies: an update on clinical aspects, genetic, pathology, and molecular pathomechanisms. *Biochim Biophys Acta* 2015 ; 1852 : 594-606.
2. Mankodi A, Urbinati CR, Yuan QP, *et al.* Muscleblind localizes to nuclear foci of aberrant RNA in myotonic dystrophy types 1 and 2. *Hum Mol Genet* 2001 ; 10 : 2165-70.
3. Kim YK, Mandal M, Yadava RS, *et al.* Evaluating the effects of CELF1 deficiency in a mouse model of RNA toxicity. *Hum Mol Genet* 2014 ; 23 : 293-302.
4. Rau F, Freyermuth F, Fugier C, *et al.* Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* 2011 ; 18 : 840-5.
5. Fernandez-Costa M, Garcia-Lopez A, Zuñiga S, *et al.* Expanded CTG repeats trigger miRNA alterations in Drosophila that are conserved in myotonic dystrophy type 1 patients. *Hum Mol Genet* 2013 ; 22 : 704-16.

Anissa Souidi  
Monika Zmojdzian  
Émilie Plantié  
Yoan Renaud  
Coralie Gimmonnet  
Krzysztof Jagla  
GRéD, Inserm U1103,  
CNRS, UMR6293,  
Université Clermont  
Auvergne,  
Clermont-Ferrand, France  
Contact  
christophe.jagla@uca.fr

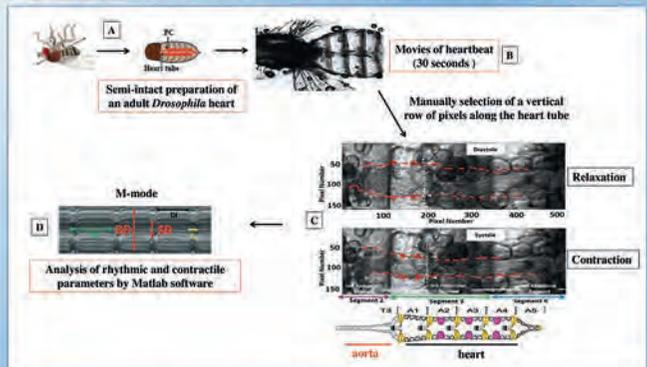
INFOS

### Cardiac transcriptome analysis from TU-tagging RNA seq



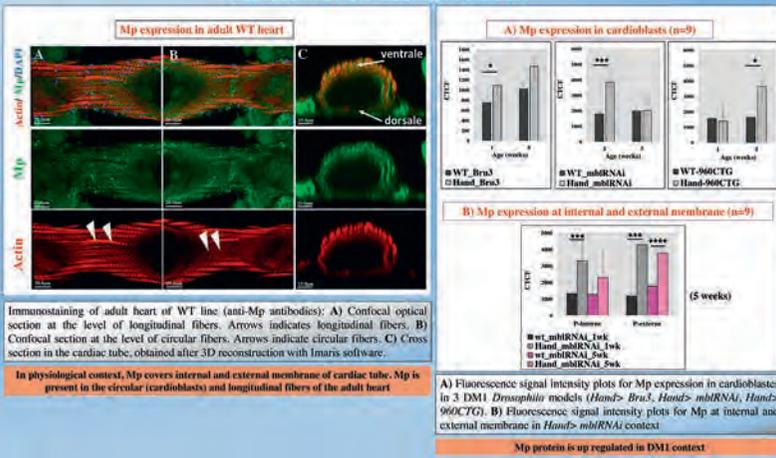
The heart targeting of TU-tagging technique consisted in crossing the *Hand-GAL4* line with *UAS-UPRT*. The UPRT enzyme (Uracil Phosphoribosyl Transferase) will be expressed only in the cardiac tissue of the descendants (F1) according to cardiac driver (*Hand*). After the addition of the modified uracil (4-TU) in the food, the cardiac RNAs are modified by the incorporation of this modified uracil base into the neo-synthesized RNA. After extraction of the total RNAs, the modified RNAs are purified and then sequenced. Cardiac transcriptome analysis of *Drosophila* DMI models (*Hand>Bru3/CELF1*, *Hand>miR RNA/MBNL1*, *Hand>960CTG*) identified genes differentially expressed at one and five weeks of age. The *Multiplexin* "Mip" gene is strongly increased in *Hand>Bru3* context at 5 weeks. *In silico* analysis show that *Mip* is a potential target of *miR-1* and *Brca3*.

### Cardiac physiology analysis by SOHA (Semi-intact Optical Heartbeat Analysis) approach



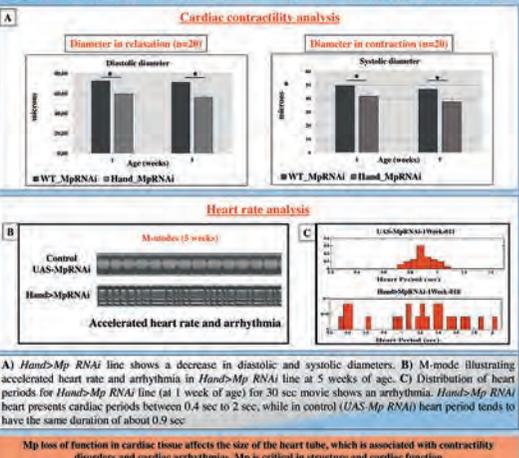
After dissection and preparation of semi-intact adult hearts (A), the heartbeats are filmed by a digital camera by zooming the A3 and A4 (B) segments. The cardiac tube membrane during maximum diastole and systole are defined manually. One pair of marks identifies the diastolic diameter and one pair identifies the systolic diameter (C). From this vertical row of pixels, an M-mode is generated to analyze the contraction and relaxation intervals (D): diastolic (DD), and systolic (SD) diameters, heart period (HP), and systolic (SI) and diastolic (DI) intervals.

### Mp protein is up regulated in DMI context



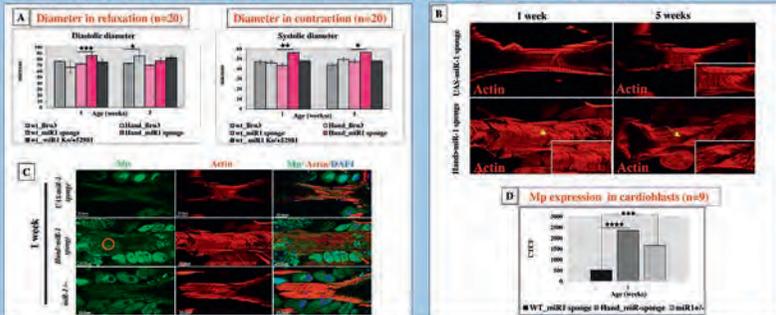
**Mp protein is up regulated in DMI context**

### Mp loss of function induces decrease in heart tube size and arrhythmias



**Mp loss of function in cardiac tissue affects the size of the heart tube, which is associated with contractility disorders and cardiac arrhythmias. Mp is critical in structure and cardiac function**

### miR-1 loss of function induces dilated cardiomyopathy concomitant with an increase in Mp



**miR-1 loss of function in heart causes dilated cardiomyopathy and an increase in Mp expression, similar to DMI symptoms**

### Conclusion

- Functional analysis of Mp in cardiac physiology highlights the importance of Mp protein in cardiac structure and physiology and suggests its involvement in heart defects associated with DMI.
- Our data support the view that the increase of Mp and the decrease of *miR-1* are associated with the cardiac defects observed in DMI.

### Perspectives

- Test the direct regulation of Mp by *miR-1* in vivo by generating *GFP-Mp3'UTR* reporter lines (carrying or not the *miR-1* target sequence).
- Testing rescue of heart tube dilatation observed in *Hand>Bru3* by inhibiting the expression of Mp, specifically in heart tissue.

INFOS

# Petits ARNs non codants dans la DM1 : nouveaux candidats vecteurs de défauts d'épissage

Baptiste Bogard, Claire Francastel, Florent Hubé

L'avènement du séquençage à haut débit a révélé que le génome humain n'est composé que de 2 % de séquences codantes et de plus de 50 % d'introns. Les introns sont transcrits, généralement excisés de l'ARN messager précurseur lors de l'épissage et rapidement dégradés. Néanmoins, les introns contiennent des informations génétiques importantes ; ils peuvent être précurseurs d'ARN régulateurs plus petits tels que les microARN et les petits ARN nucléolaires (snoARN), tous impliqués dans la régulation de l'expression génique à un niveau post-transcriptionnel [1]. Les introns peuvent également être retenus dans l'ARNm mature par l'épissage alternatif pour produire d'autres isoformes et aussi pour ajuster la production de petits ARNnc (ARN non codants) régulateurs [2]. Par conséquent, l'épissage alternatif assure la plasticité des génomes eucaryotes en augmentant la diversité du protéome et du transcriptome.

Comme l'épissage de l'ARN est une étape critique pour l'expression des gènes chez les eucaryotes, toute perturbation entraînera des maladies chez l'Homme comme la dystrophie myotonique de type 1 (DM1). Pourtant, l'épissage alternatif des introns reste peu documenté dans ces contextes. Nous avons précédemment rapporté que la rétention d'introns peut favoriser la production d'ARN non-codants au lieu d'ARN codants des protéines, avec des conséquences distinctes sur le devenir des cellules musculaires [3]. Maintenant, nous explorons l'épissage alternatif des introns comme mécanisme pour affiner la production de petits ARNnc dérivés d'introns (SID ou *Short Intron-Derived* ncRNA) pendant la différenciation musculaire normale, et chez les patients atteints de la DM1 [4].

Nous avons mis au point un séquençage d'ARN original sur des ARNs fractionnés selon leur taille (*medium* RNA-seq) dédié à l'identification systématique des SID, sans *a priori* sur leur biogenèse et

leur origine génomique, dans le cadre des cellules satellites normales et DM1. Nous avons identifié plusieurs classes de SID qui sont exprimés différemment lors de la différenciation musculaire normale et dont les niveaux d'expression sont perturbés dans les cellules DM1. Les candidats les plus perturbés appartiennent à la classe des snoARN. Nous avons découvert de nouveaux membres d'une famille de snoARN (snoX) dont les niveaux d'expression augmentent pendant la différenciation musculaire normale, mais qui sont drastiquement réduits dans les cellules DM1. Les expériences de perte et de gain de fonction révèlent que la famille snoX est impliquée dans la différenciation musculaire. En effet, des niveaux réduits de snoX altèrent la fusion cellulaire dans les cellules normales alors que la surexpression de snoX favorise légèrement la fusion cellulaire dans les cellules DM1 (*Figure 1*).

En conclusion, les snoARN, et plus généralement les SID, peuvent jouer un rôle inattendu dans la différenciation musculaire. Ils fournissent des biomarqueurs non conventionnels pour les maladies d'épissage et de nouveaux axes de recherche pour des approches thérapeutiques.

## Small non-coding RNAs in myotonic dystrophy type 1: new candidate drivers of splicing defects

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Hube F, Francastel C. Mammalian introns: when the junk generates molecular diversity. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 4429-52.
2. Hube F, Francastel C. Coding and non-coding RNAs, the frontier has never been so blurred. *Front Genet* 2018 ; 9 : 140.
3. Hube F, Velasco G, Rollin J, *et al.* Steroid receptor RNA activator protein binds to and counteracts SRA RNA-mediated activation of MyoD and muscle differentiation. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : 513-525.
4. Hube F, Ulveling D, Sureau A, *et al.* Short intron-derived ncRNAs. *Nucleic Acids Res* 2017 ; 45 : 4768-4781.

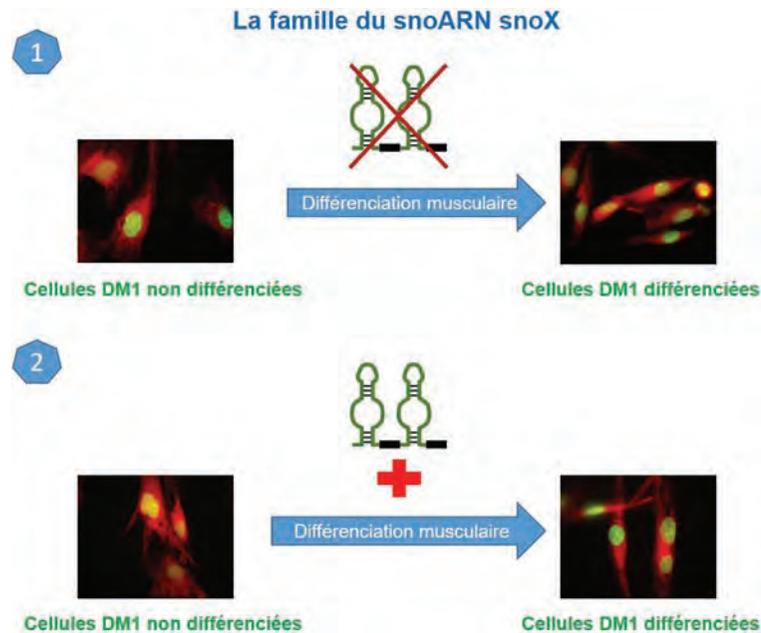


Figure 1  
**Rôle de la famille des petits ARNs nucléolaires (snoARN) snoX dans la différenciation musculaire.** (1) La famille de snoX est absente dans les cellules de patients atteints de la dystrophie myotonique de type 1 (DM1). Cette maladie est caractérisée par une différenciation musculaire anormale. (2) Lorsque snoX est surexprimé dans les cellules de patients atteints de DM1, on observe une correction partielle de la différenciation musculaire.

**IGBMC call for  
group leader positions  
in Translational Medicine & Neurogenetics**

The **Translational Medicine** department ([www.igbmc.fr](http://www.igbmc.fr)) is welcoming applications for group leader positions (junior and senior) and aims to reinforce one of the following research axes:

- Neurological or muscle disorders with a focus on cellular biology, genetics, imaging, electrophysiology and/ or therapeutic development,
- Animal and cell (iPS, organoids) models of neurological and/or muscle diseases,
- Bioinformatic and large-scale analysis dedicated to human pathologies.

**Your application:** Expression of interest will include, in a single PDF file, a curriculum vitae, a list of publications, names and contact of three referees, a brief description (2 to 4 pages) of past achievements and a detailed description (4 to 5 pages) of future research. Applications should be addressed to [TMNcall2019@igbmc.fr](mailto:TMNcall2019@igbmc.fr) subject: TMNcall2019.

The call is open until July 15<sup>th</sup> 2019. Pre-selected candidates will be invited to the IGBMC to present a seminar and will be interviewed by the scientific direction of the IGBMC.

INFOS

# Contrôle génétique des différents types de fibres musculaires

Matthieu Dos Santos, Iori Sakakibara, Frédéric Auradé, Maud Wurmser, Stéphanie Backer, Marcio Do Cruzeiro, Jean Paul Concordet, Daan Noordermer, Frédéric Relaix, Pascal Maire

Les muscles squelettiques sont composés de fibres à vitesse de contraction lente ou rapide. Il existe trois sous-types de fibres rapides, chacun exprimant une isoforme différente de chaîne lourde de la myosine (MYH) codée par trois gènes distincts situés au même locus [1]. Le contrôle spatio-temporel de l'expression de ces gènes n'est pas connu. Notre objectif est d'étudier le lien entre l'organisation 3D de la chromatine du locus *Myh* et l'expression de ces gènes dans les fibres musculaires.

Nous avons créé un modèle de souris transgénique à partir d'un BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) d'environ 250 kb du locus *Myh* rapide ou nous avons cloné différents gènes rapporteurs fluorescents au niveau des premiers exons de chaque gène *Myh* rapide. Ce BAC a été injecté dans des ovocytes de souris et deux lignées de souris ont été obtenues : une lignée ayant intégré 2 copies complètes du BAC (Enh<sup>+</sup>) et une autre avec une délétion de la région 5' (Enh<sup>-</sup>). Dans la lignée Enh<sup>+</sup>, l'expression des transgènes récapitule celle des gènes endogènes. L'expression des transgènes dans la lignée Enh<sup>-</sup> est fortement réduite : la région 5' du BAC absente dans ces souris, est nécessaire pour contrôler spatialement l'expression des trois gènes rapides *Myh*.

Pour identifier ces éléments régulateurs, nous avons réalisé des expériences de *Chromatin Conformation Capture* (4C-seq) à partir de muscles squelettiques adultes. Ces expériences permettent d'identifier les interactions physiques entre un promoteur et des séquences régulatrices. Nous avons identifié une séquence régulatrice en cis d'environ 40 kb qui interagit avec le promoteur *Myh4* au niveau du quadriceps et le promoteur *Myh2* au niveau du soleus. Cette séquence pourrait être l'association de multiples séquences régulatrices ; un *SuperEnhancer*. Son absence dans la lignée BAC Enh<sup>-</sup> suggère que cette séquence est nécessaire pour activer et restreindre l'expression d'un seul gène de *Myh* rapide. Nous sommes en train de mieux caractériser les propriétés de ce *SuperEnhancer* dans la régulation des gènes de *Myh* rapides en générant des souris possédant une délétion de cet élément grâce à la technique de *Crispr/Cas9* (Figure 1).

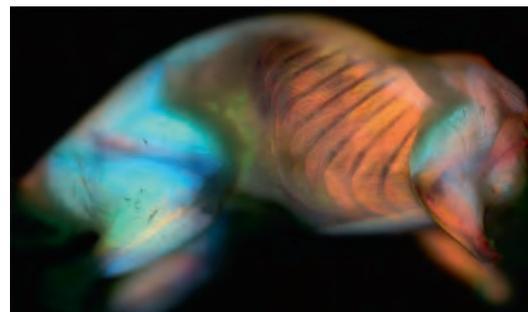


Figure 1  
Image d'une souris transgénique 5 jours après la naissance, exprimant différents transgènes au niveau des différents types de fibres rapides. Les fibres bleues expriment Myh4, les fibres rouges Myh1 et les fibres vertes Myh2 (© photo : Matthieu Dos Santos, Institut Cochin).

Les fibres musculaires squelettiques sont des cellules plurinucléées pouvant posséder plus de 250 noyaux chez la souris. Moins de 5 % des fibres adultes expriment plusieurs isoformes de Myh au niveau protéique [2, 3], ce sont des fibres hybrides. Ces résultats suggèrent que dans 95 % des fibres adultes, un seul gène *Myh* rapide du locus est activé et qu'un noyau ne peut exprimer qu'un seul gène de *Myh* rapide à la fois. Pour tester cette hypothèse, nous avons isolé des noyaux de muscle lent et rapide et nous avons séquencé les ARNm de chaque noyau individuellement grâce à la technique de *Single Cell RNAseq* de 10X genomics. Les résultats montrent que moins de 5 % des noyaux expriment 2 isoformes à la fois. Pour confirmer cela et visualiser si les noyaux d'une myofibre ont une expression de *Myh* coordonnée, nous avons visualisé l'expression des premARN de *Myh* rapide par hybridation *in situ* à fluorescence (RNAscope) sur des fibres musculaires isolées. Dans la majorité des cas un seul gène *Myh* rapide est exprimé par noyau et les différents noyaux d'une myofibre expriment la même isoforme de *Myh*. Cependant, dans l'EDL, environ 5 % des fibres possèdent une décoordination d'expression : dans une même myofibre, certains noyaux expriment différentes isoformes et d'autres expriment deux gènes de *Myh* en même temps. Le

Matthieu Dos Santos  
Iori Sakakibara  
Maud Wurmser  
Stéphanie Backer  
Marcio Do Cruzeiro  
Pascal Maire

Institut Cochin, Paris, France

Frédéric Auradé  
Frédéric Relaix  
Université de Créteil, France

Jean Paul Concordet  
Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), Paris, France  
Daan Noordermer  
Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (IBIC), Gif-sur-Yvette, France

#### Contact

dossantos.ferreira.matthieu@gmail.com

nombre de fibres hybrides augmente de 10 fois au cours de la dénervation, prouvant que l'innervation participe à la coordination de l'expression des gènes de *Myh* rapide dans les myofibrilles.

### Genetic control of skeletal muscle fiber type

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev* 2011 ; 91 : 1447-531.
2. Sawano S, Komiya Y, Ichitsubo R, *et al.* A one-step Immunostaining method to visualize rodent muscle fiber type within a single specimen. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0166080.
3. Rowan SL, Rygiel K, Purves-Smith FM, *et al.* Denervation causes fiber atrophy and myosin heavy chain co-expression in senescent skeletal muscle. *PLoS One* 2012 ; E7 : e29082.





## MYOBASE.ORG

LE PORTAIL DOCUMENTAIRE SUR LES MALADIES NEUROMUSCULAIRES

Ce portail documentaire spécialisé dans le domaine des maladies neuromusculaires, les situations de handicap qu'elles génèrent et leurs aspects psychologiques est publié par l'AFM-Téléthon.

UN ACCÈS facile et simple

- Utiliser les guillemets pour la recherche d'une expression "**maladie de pompe**"
- Utiliser le signe + pour signifier ET "**sma+mutation**"
- Utiliser le signe - pour signifier NON "**Duchenne--diagnostic**"  
(- : barre espace)

  
Alertes Myobase

  
Veille Maladies Neuromusculaires

  
Fils RSS

- Cliquez sur l'onglet **thématique** qui vous convient (haut de la page d'accueil)
- Abonnez-vous aux **alertes thématiques**. Créez vos alertes personnalisées en ouvrant un **compte personnel**
- Téléchargez la **Veille Neuromusculaire**
- Abonnez-vous aux **flux RSS**

Un outil ergonomique, UNE INTERFACE BILINGUE

- Laissez-vous guider par les **tutoriels**
- Lancez une **recherche** et affinez votre sélection grâce aux filtres

TOUT MYOBASE

Recherche avancée

Historique

FILTRES

Type de document

Article [3443]  
 Publication AFM [176]  
 Thèse/Mémoire [107]  
 Brève [102]

PUBLICATIONS AFM-Téléthon

BRÈVES

DOCUMENTS DE SYNTHÈSE

INSTITUT DES BIOTHERAPIES PUBLICATIONS

- Partagez les résultats de votre recherche
- Utilisez les onglets thématiques ou type de publication

En 2019, Myobase donne un accès libre à 75 % des 55 000 notices bibliographiques du fond documentaire collecté depuis 1990

- > **articles** de la littérature biomédicale et psycho-sociale
- > **livres, thèses...**
- > **guides** d'associations et **rapports** institutionnels d'agences internationales
- > **brèves en français**, synthèses des articles médico-scientifiques internationaux les plus pertinents
- > **publications AFM-Téléthon** destinées aux professionnels de santé ou aux personnes atteintes de maladie neuromusculaire et à leur entourage

INFOS

# Utilisation des hiPSC pour résoudre les mécanismes physiopathologiques liés à SMA

Camille Januel, Julien Come, Cécile Martinat

L'amyotrophie spinale infantile (SMA) représente l'une des causes principales de mortalité chez l'enfant. Elle est caractérisée par la dégénérescence spécifique des motoneurons, situés dans la moelle épinière, qui entraîne une atrophie musculaire et une paralysie progressive [1, 2]. La SMA est la conséquence de mutations du gène *SMN1*, essentiellement des délétions, codant chez le sujet sain la protéine de survie du motoneurone (SMN ou *Survival Motor Neuron*) [3]. Malgré l'expression ubiquitaire de la protéine SMN, les mécanismes génétiques et moléculaires expliquant l'altération spécifique des motoneurons restent à ce jour peu connus. La compréhension de ce tropisme cellulaire spécifique est critique et nécessite l'accès au type cellulaire concerné. Ainsi, la capacité de reprogrammer des cellules somatiques en cellules souches humaines induites à la pluripotence (hiPSC) offre une occasion unique d'accéder à des populations neuronales normales et pathologiques en quantité suffisante pour une analyse moléculaire et cellulaire systématique [4, 5].

Dans cette étude, nous avons tout d'abord démontré que la réduction de l'expression de SMN entraînait une diminution de la survie des motoneurons dérivés des hiPSC plutôt qu'un défaut dans leur génération, caractéristique qui peut être modifiée par la réintroduction de la protéine SMN. Ensuite, nous avons identifié une petite molécule, la kenpaulone, un inhibiteur de plusieurs CDKs (*cyclin-dependent kinases*) et de la voie JNK (*cJun N-terminal kinase*), comme pouvant restaurer le phénotype.

Enfin, par une approche transcriptomique sur les motoneurons dérivés des hiPS-SMA, nous avons identifié des modifications dans les motoneurons précoces qui incluent des gènes impliqués dans la plasticité synaptique.

Ces résultats suggèrent que l'altération de l'organisation synaptique pourrait être une nouvelle cible thérapeutique pour la SMA. Dans l'ensemble, nos résultats démontrent le potentiel qu'offrent les cellules souches pluripotentes humaines pour étudier les bases cellulaires et moléculaires de la vulnérabilité spécifique des motoneurons dans la SMA (Figure 1).

## Using hiPSC-derived motor neurons to address the pathogenesis of SMA

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Lefebvre S, Bürglen L, Frézal J, Munnich A, Melki J. The role of the SMN gene in proximal spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 1998 ; 7 : 1531-6.
2. Prior TW, Krainer AR, Hua Y, Swoboda KJ, Pamela C. Snyder PC, *et al.* A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene. *Am J Hum Genet* 2009 ; 85 : 408-13.
3. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, *et al.* Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995 ; 80 : 155-65.
4. Ebert AD, Yu J, Rose FF, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009 ; 457 : 277-80.
5. Sareen D, Ebert AD, Heins BM, McGivern JV, Ormelas L, Svendsen CN. Inhibition of apoptosis blocks human motor neuron cell death in a stem cell model of spinal muscular atrophy. *PLoS One* 2012 ; 7(6).

**Camille Januel**  
**Cécile Martinat**  
Inserm/UEVE UMR 861,  
I-STEM (Institute for  
Stem Cell Therapy and  
Exploration of  
Monogenic Diseases),  
AFM, Évry, France

**Julien Come**

CECS, I-STEM, AFM,  
Évry, France

Contact  
cjanuel@istem.fr

INFOS

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

la Société Française de Myologie

[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)



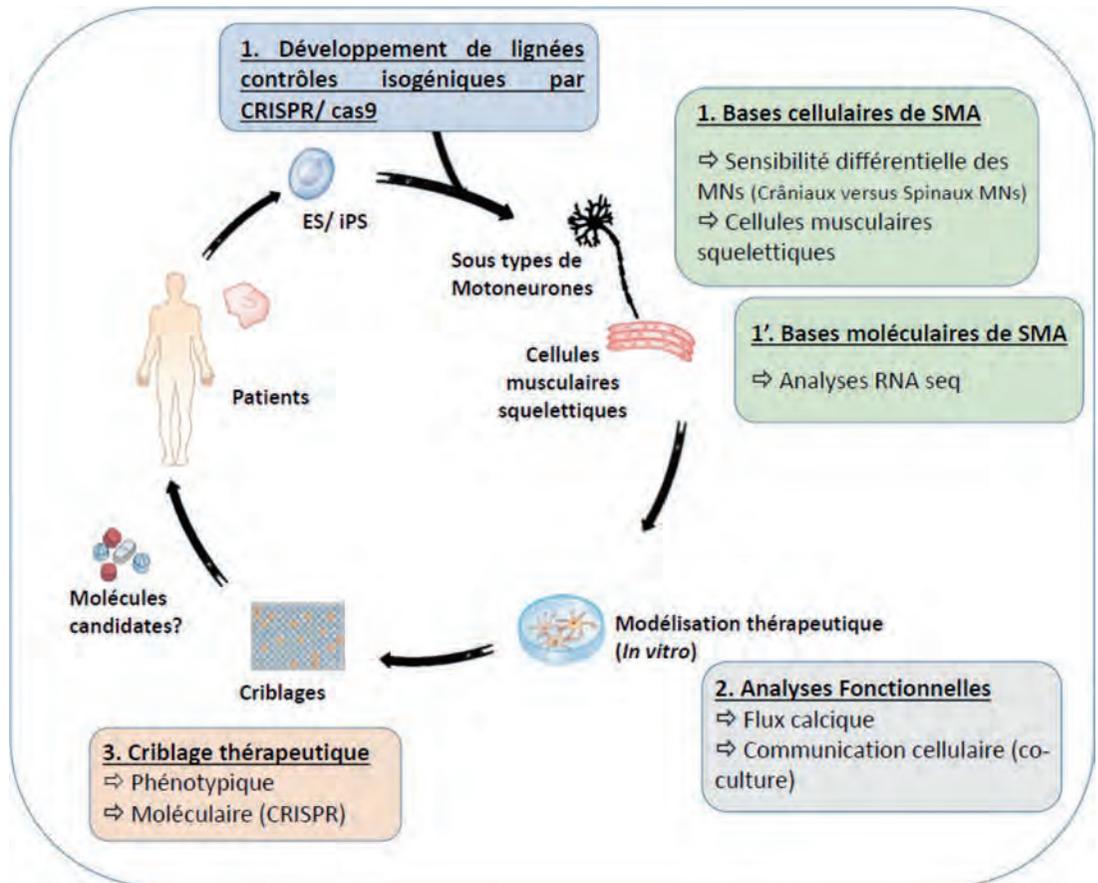


Figure 1  
Étude des modèles thérapeutiques dans l'amyotrophie spinale.

The poster features the logo of the Société Française de Myologie (sfm) and the word "Marseille" in a stylized font. Below the text is a silhouette of the Marseille skyline, including the Calévaux tower, the Notre-Dame de la Garde church, and the Ferris wheel. The event details are listed at the bottom.

**sfm**  
SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MYOLOGIE

**Marseille**

17e Journées de la Société Française de Myologie  
Marseille, du 20 au 22 novembre 2019

INFOS

# Cybrides virtuels : simuler l'influence du fond génétique mitochondrial sur le métabolisme

Margit Heiske, Lenka Tisseyre, Camille Fontes-Bouillet, Barbara DaCosta, Christophe Rocher, Edda Klipp, Thierry Letellier

Les mitochondries sont les centrales énergétiques de nos cellules en fournissant 90 % de l'énergie indispensable à la survie cellulaire (sous forme d'ATP). Le cœur du métabolisme énergétique mitochondrial est la phosphorylation oxydative (OXPHOS) où les complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire établissent un gradient de protons qui est ensuite utilisé par l'ATP synthase pour la production d'ATP. Ce processus est en outre couplé à la production des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) qui jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire mais qui sont également délétères pour les protéines, les lipides et l'ADN de la cellule. Les mitochondries sont aussi impliquées dans de nombreux autres processus cellulaires essentiels comme la thermogenèse, la signalisation calcique, l'apoptose, ainsi que la biosynthèse des acides aminés, des nucléotides et des acides gras. De par leur rôle central, une dysfonction mitochondriale est impliquée dans de nombreuses maladies (neuromusculaires, neurodégénératives, cancéreuses, etc.) ainsi que dans des processus physiologiques (vieillesse, adaptation humaine à de nouveaux environnements) [1, 2].

D'un point de vue phylogénétique, les mitochondries proviennent d'une fusion ancestrale entre une archéobactérie et une cellule primitive procaryote il y a plus de 1.5 milliards d'années [3] ; il en résulte qu'elles possèdent leur propre ADN (ADNmt). Si depuis les années 90, un grand nombre de mutations pathogènes sur l'ADNmt ont été impliquées dans des pathologies, récemment, des variations non pathologiques de l'ADN mitochondrial (polymorphismes) ont permis de définir des « haplogroupes mitochondriaux » qui regroupent des individus partageant les mêmes polymorphismes. En anthropologie, cette notion d'haplogroupe a très rapidement permis d'établir les relations parentales mitochondriales (arbre phylogénétique mitochondrial) ainsi que des scénarios de peuplement de l'espèce humaine. D'un point de vue clinique, les haplogroupes mitochondriaux se sont avérés être

des facteurs de risque ou de protection vis-à-vis d'un grand nombre de pathologies comme les cytopathies mitochondriales, maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, et cancer [4, 5], cependant à ce jour, peu de bases biochimiques ou moléculaires claires ont été proposées pour expliquer cette influence.

Afin d'élucider ces mécanismes, nous avons utilisé une approche de biologie des systèmes (*in silico*) comprenant une partie théorique (construction du modèle mathématique) et expérimentale (afin de paramétrer et valider le modèle) (Figure 1). Cette approche devrait nous permettre de mieux comprendre l'influence des haplogroupes mitochondriaux sur le métabolisme énergétique dans le contexte de (1) mutations pathogènes, (2) facteurs environnementaux (climat, molécules nocives, rayonnement ionisant) et (3) nutrition.

L'approche théorique est basée sur notre modèle déterministe des OXPHOS [6, 7] qui permet une description précise de la fonction mitochondriale (flux respiratoire, production ATP) grâce aux équations de type Michaelis-Menten que nous avons développées pour décrire l'activité de chaque complexe OXPHOS sur un large intervalle de substrats, produits et gradient de protons. Récemment,

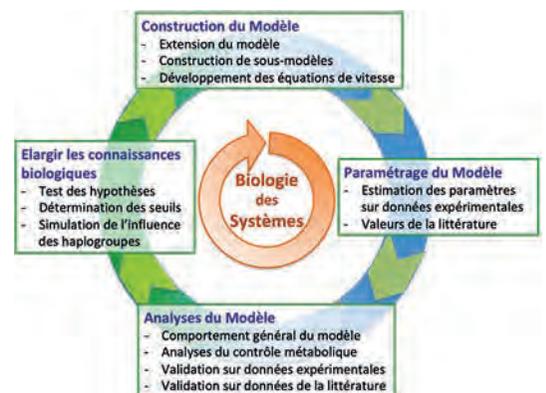


Figure 1  
Approche de biologie des systèmes.

**Margit Heiske**  
**Lenka Tisseyre**  
**Camille Fontes-Bouillet**  
**Barbara DaCosta**  
**Thierry Letellier**  
Équipe Médecine Évolutive, Laboratoire AMIS CNRS UMR 5288, Université Paul Sabatier Toulouse III, France  
**Christophe Rocher**  
Laboratoire de Biogenèse Membranaire - UMR 5200 - CNRS, Université de Bordeaux, France  
**Edda Klipp**  
Theoretische Biophysik, Institut für Biologie, Humboldt-Universität zu Berlin, Allemagne  
**Contact**  
margitheiske@yahoo.de

nous avons étendu notre modèle OXPHOS par l'addition d'un module « ROS » (Figure 2). Ce module comprend des équations au niveau (1) biochimique pour décrire la production de ROS séparément pour chacun des complexes respiratoires I-III et (2) la dégradation enzymatique des ROS, basées sur le modèle de Gauthier *et al.* [8]. Dans un premier temps, ce modèle global (OXPHOS + ROS) a été paramétré et validé avec des données expérimentales de mitochondries de cœur.

Nous avons étudié la relation entre la production de ROS et la production d'ATP dans différentes conditions (Figure 3A). Ainsi, selon nos simulations, la manière dont la cellule va moduler la production d'ATP va avoir de profondes implications sur la production de ROS. En effet, à l'état 3, une variation de substrats respiratoires impacterait plus la production de ROS qu'une variation du couplage ou de concentration en ADP.

D'un point de vue expérimental et afin d'étudier les effets des haplogroupes mitochondriaux sur le métabolisme énergétique, nous avons réalisé des lignées cellulaires transmitochondriales (cybrides : cellules ayant le même fond génétique nucléaire mais différent par leur fond génétique mitochondrial). Ces lignées cellulaires transmitochondriales sont en train d'être caractérisées au niveau biochimique et moléculaire (activité des complexes respiratoires, ATP

synthase, état redox, *etc.*). En re-paramétrant notre modèle avec ces nouvelles données, nous comptons obtenir des « cybrides virtuels » qui prennent en compte des spécificités des haplogroupes au niveau local (activités enzymatiques) et permettent de simuler et prédire leur impact sur le système global d'OXPHOS (production d'ATP, taux respiratoire, potentiel membranaire, *etc.*) dans différentes conditions physiologiques.

Un résultat préliminaire que nous avons obtenu est présenté (Figure 3B). Nous avons simulé le cas de l'haplogroupe J qui présente une déficience en couplage au niveau du complexe III [4], en le comparant à une lignée ne présentant pas ce découplage. L'étude de la production de ROS par rapport à la production de l'ATP, montre qu'à l'état 3 (en présence d'ADP), nous observons pour l'haplogroupe J une production diminuée d'ATP, mais aussi de ROS, alors qu'à l'état 4 (absence d'ADP), la production des ROS est égale à la référence. Ainsi, pour l'haplogroupe J, cette légère diminution du couplage au niveau du complexe III peut être bénéfique car on produira moins de ROS. Cependant, lorsque les individus de l'haplogroupe J seront aussi porteurs d'une mutation pathogène touchant la chaîne respiratoire (entraînant une diminution de la production d'ATP) la légère diminution de production d'ATP déjà présente chez ces individus sains pourra aggraver le phénotype.

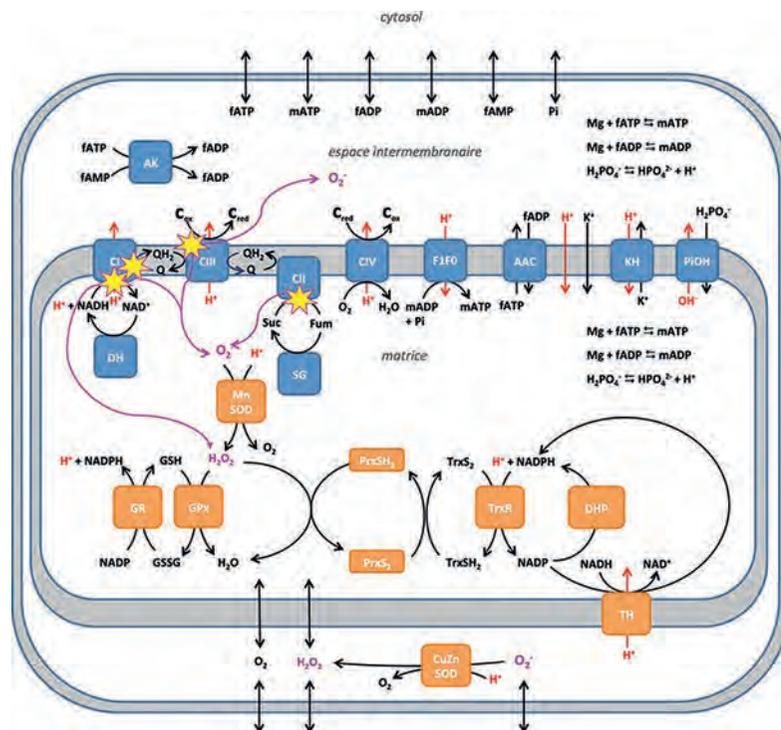


Figure 2  
Représentation schématique du modèle avec les parties OXPHOS (bleu), production des ROS (jaune/rose) et de l'élimination des ROS (orange).

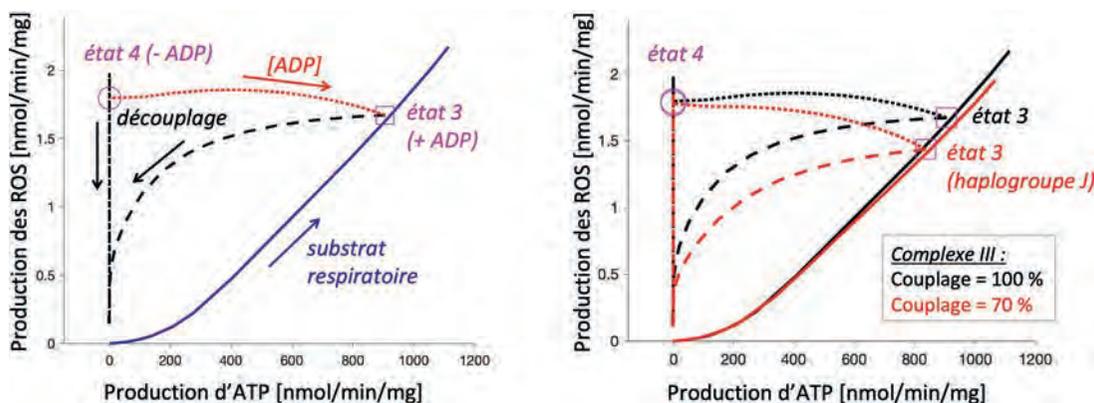


Figure 3  
**Simulation des relations entre production de ROS et production d'ATP sous différentes conditions.**  
 3A : Mitochondrie de cœur : variation du substrat respiratoire (NADH) (bleu), variation de la concentration d'ADP (rouge) et variation du découplage (noir).  
 3B : Cybrides virtuels : En noir les simulations de référence (A), en rouge les simulations avec une déficience en couplage au niveau du complexe III.

À la vue de ces premiers résultats, les cybrides virtuels permettent donc d'analyser, prédire et tester des hypothèses sur le rôle des haplogroupes mitochondriaux au niveau du métabolisme énergétique, tant chez les individus sains que pathologiques. Notre modèle va aussi être étendu par un module « thermogénèse », qui nous permettra d'étudier les équilibres de production d'ATP, ROS et chaleur indispensable pour une étude intégrée et complète du métabolisme mitochondrial. D'autre part, l'addition d'un module « apport de substrats respiratoires » (glucose, acides gras...), nous permettra de prendre aussi en compte les aspects de la nutrition. Cet outil de biologie des systèmes pourra aussi (1) aider au diagnostic notamment dans la prédiction de la sévérité et de la progression des maladies liées au métabolisme mitochondrial, et (2) améliorer et développer des approches thérapeutiques comme les restrictions alimentaires, en adaptant ces approches aux spécificités métaboliques des haplogroupes individuels.

**Virtual cybrids: simulating the influence of the mitochondrial DNA background on the metabolism**

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

- Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005 ; 39 : 359-407.
- Shapira AHV, Mitochondrial diseases. *Lancet* 2012 ; 379 : 1825-34.
- Gray MW, Burger G, Lang BF. Mitochondrial evolution. *Science* 1999 Mar 5 ; 283 (5407) : 1476-81.
- Pierron D, Rocher C, Amati-Bonneau P, et al. New evidence of a mitochondrial genetic background paradox: impact of the J haplogroup on the A3243G mutation. *BMC Med Genet* 2008 ; 9 : 41.
- Marom S, Friger M, Mishmar D. MtDNA meta-analysis reveals both phenotype specificity and allele heterogeneity: a model for differential association. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 43449.
- Heiske M, Letellier T, Klipp E. Comprehensive mathematical model of oxidative phosphorylation valid for physiological and pathological conditions. *FEBS J* 2017 ; 284 : 2802-28.
- Heiske M, Nazaret C, Mazat JP. Modeling the respiratory chain complexes with biothermokinetic equations - the case of complex I. *Biochim Biophys Acta* 2014 ; 1837 : 1707-16.
- Gauthier LD, Greenstein JL, Cortassa S, O'Rourke B, Winslow RL. A computational model of reactive oxygen species and redox balance in cardiac mitochondria. *Biophys J* 2013 ; 105 : 1045-56.

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

la Société Française de Myologie  
[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS  
[www.filmemus.fr](http://www.filmemus.fr)



# Modéliser la myopathie myofibrillaire pour élucider la pathogenèse cardiaque

Yeranuhi Hovhannisyan, Maria Kitsara, Alexandre Simon, Dorota Jeziorowska, Ekaterini Kordeli, Pierre Joanne, Onnik Agbulut

Les myopathies myofibrillaires (MFM) forment un groupe hétérogène de maladies musculaires sévères qui affectent le muscle strié squelettique et/ou le myocarde [1]. Dans ce groupe de myopathies, les desminopathies, myopathies myofibrillaire liées à une mutation du gène de la desmine (*DES*) sont fréquentes. La desmine est le filament intermédiaire spécifique du muscle, un des acteurs du cytosquelette et de l'architecture de la cellule musculaire striée. Parmi toutes les mutations de la desmine induisant une MFM, certaines sont plus spécifiquement à l'origine des affections cardiaques induisant une insuffisance cardiaque sévère et des troubles du rythme. Or, les mécanismes cellulaires à l'origine de la composante cardiaque de cette pathologie restent très mal compris alors même que les atteintes cardiaques sont la cause majeure de mortalité de ces patients. À ce jour, des traitements médicamenteux ou des dispositifs cardiaques implantables sont proposés pour minimiser les dommages liés à cette maladie cardiaque progressive et handicapante. De nouvelles stratégies de recherche pouvant conduire au développement de traitements innovants sont donc fortement désirées.

Pour cela, notre objectif est d'étudier l'impact de différentes mutations de la desmine sur l'organisation structurelle et la fonction des cellules musculaires contractiles du cœur : les cardiomyocytes. Afin de modéliser les affections cardiaques des desminopathies, nous proposons deux approches *in vitro* basées sur : 1) la génération de cellules souches induites à la pluripotence issues de patients porteurs d'une mutation *DES* [2] ; 2) l'expression de la desmine sauvage ou mutée par l'utilisation d'un virus adéno-associé (AAV) dans des cardiomyocytes de rats nouveau-nés [3] (Figure 1).

De plus, pour imiter l'organisation anisotrope des cardiomyocytes *in vivo*, nous avons développé des supports de culture cellulaire comportant des motifs obtenus grâce à la technique de l'impression

par microcontact qui permet de déposer précisément de fines bandes de gélatine sur des lamelles de verre [4]. Nos résultats ont démontré l'avantage de ce support de culture à micro-motifs par rapport à une boîte de culture standard. Ainsi, les cardiomyocytes ensemencés sur des bandes de gélatine s'alignent les uns par rapport aux autres et présentent une morphologie longitudinale avec une structure sarcomérique bien organisée, prouvant ainsi la pertinence de ce modèle pour l'étude des défauts de structure des cardiomyocytes porteurs des mutations de la desmine. L'organisation structurelle de nos modèles cellulaires est en cours d'évaluation par immunomarquage de marqueurs protéiques des compartiments cellulaires des cardiomyocytes (myofibrilles, réticulum sarcoplasmique et disques intercalaires). Les résultats préliminaires suggèrent que les mutations de la desmine impliquées dans les MFM induisent une perturbation de l'organisation des sarcomères. Notre prochain objectif est d'explorer les perturbations fonctionnelles causées par les mutations de la desmine à l'aide de ces modèles cellulaires innovants.

## Cardiac cell modeling of myofibrillar myopathy to elucidate cardiac pathogenesis

### LIENS D'INTÉRÊT

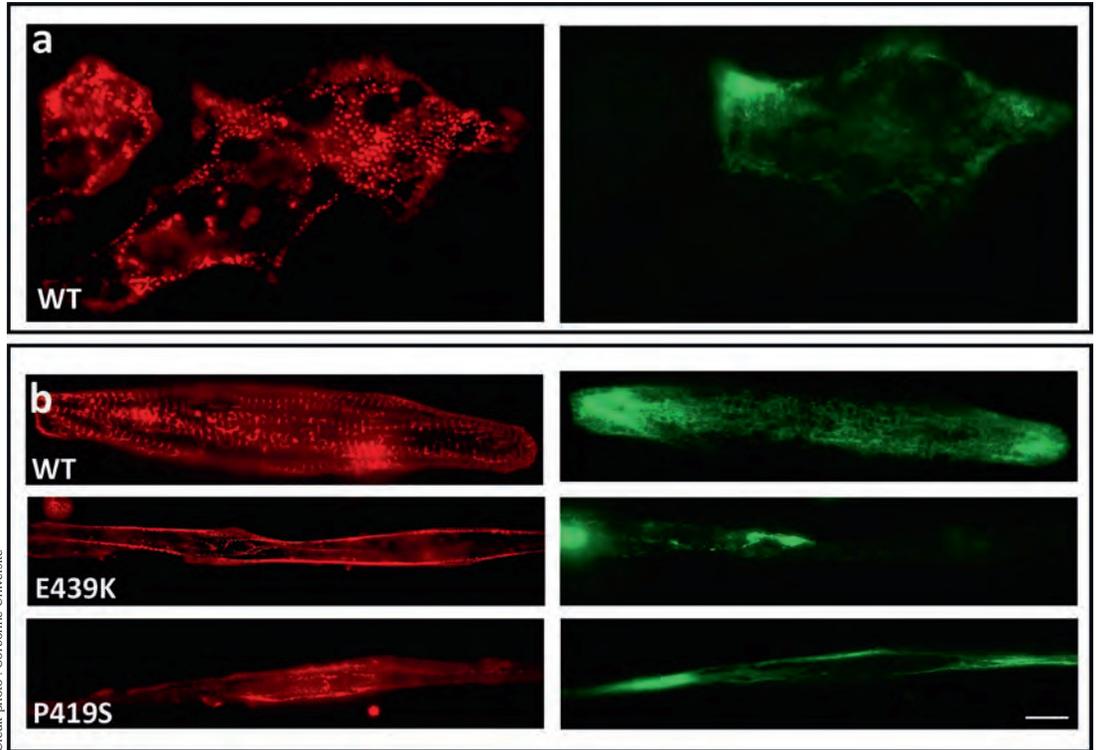
Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

### RÉFÉRENCES

1. Béhin A, Salort-Campana E, Wahbi K, *et al.* Myofibrillar myopathies: state of the art, present and future challenges. *Rev Neurol* 2015 ; 171 : 715-29.
2. Lian X, Zhang J, Azarin SM, *et al.* Directed cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells by modulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling under fully defined conditions. *Nat Protoc* 2013 ; 8 : 162-75.
3. Joanne P, Chourbagi O, Hourdè C, *et al.* Viral-mediated expression of desmin mutants to create mouse models of myofibrillar myopathy. *Skelet Muscle* 2013 ; 3 : 4.
4. Rape AD, Guo WH, Wang YL. The regulation of traction force in relation to cell shape and focal adhesions. *Biomaterials* 2011 ; 32 : 2043-51.

Yeranuhi Hovhannisyan  
Maria Kitsara  
Alexandre Simon  
Dorota Jeziorowska  
Ekaterini Kordeli  
Pierre Joanne  
Onnik Agbulut  
Sorbonne Université,  
Institut de Biologie  
Paris-Seine (IBPS), UMR  
CNRS 8256, Adaptation  
biologique et  
vieillesse, Paris,  
France

Contact  
onnik.agbulut  
@sorbonne-universite.fr



Crédit photo: Sorbonne Université

**Figure 1**  
 Observation en microscopie à fluorescence de cardiomyocytes dérivés de cellules souches pluripotentes obtenues à partir de patients. Les cardiomyocytes sont cultivés dans des boîtes de cultures classiques (a) ou sur des motifs en ligne de gélatine (b) pour favoriser la structuration du matériel contractile de la cellule. Nos résultats démontrent l'avantage de cette méthode de culture puisque les cardiomyocytes issus d'individus contrôles (WT) présentent une structure sarcomérique mieux organisée. De plus, nous observons des perturbations morphologiques dans les cardiomyocytes des patients porteurs des mutations E439K et P419S. Immunomarquage de l' $\alpha$ -actinine (en rouge), de la desmine (en vert). Barre d'échelle = 10  $\mu$ m.

INFOS

*Journée de la*  
**MYOPATHIE DE DUCHENNE**

6 Septembre 2019 CAPITAL 8  
32 rue de Monceau  
75008 Paris

**Comité scientifique**

- Pr Brigitte Chabrol, Marseille
- Pr Isabelle Desguerre, Paris
- Pr Nathalie Goemans, Louvain
- Dr Emmanuelle Lagrue, Tours
- Pr Vincent Laugel, Strasbourg
- Dr France Léturcq, Paris
- Pr Yann Péron, Nantes
- Dr Jon Andoni Urtizberea, Paris
- Dr Carole Vuillerot, Lyon

SAREPTA  
THERAPIES

**SAVE THE DATE**

**CAPITAL 8**  
32 rue de Monceau  
75008 Paris

POUR TOUTE INSCRIPTION OU INFORMATION

Votre contact KPL : Sophie Gabriel-Leal  
[sophie.gabriel-leal@kpl-paris.com](mailto:sophie.gabriel-leal@kpl-paris.com)  
 Tél : 01 82 73 19 42

# Journée Française Maladie de Pompe : une neuvième édition riche de promesses

Sylvie Marion

**Le 20 mars dernier, l'Institut de Myologie accueillait des médecins et des chercheurs impliqués sur tout le territoire dans la glycogénose de type 2 pour un événement organisé par le Pr Pascal Laforêt (Garches). Au programme, les progrès les plus récents des connaissances fondamentales, cliniques et thérapeutiques avec cette année une large place accordée aux essais cliniques.**

## I. Maladie de Pompe infantile Une filière de soins guyano-francilienne

*D'après une communication du Dr Samia Pichard (Hôpital Robert Debré, Paris ; Hôpital d'Argenteuil)*

Situé entre le Brésil et le Surinam, la Guyane Française compte près de 250 000 habitants. Parmi eux, les Bushinengués (ou Noirs marron) sont les descendants d'esclaves qui se sont installés le long du fleuve Maroni au XIX<sup>e</sup> siècle. Cette communauté représente actuellement 10 à 20 % de la population guyanaise. Elle connaît une très forte incidence de la maladie de Pompe avec, sur le plan génétique, deux variants seulement (c.1942G>A p.(Gly648Ser) et c.2560C>T p.(Arg854\*) [1]. La glycogénose de type 2 affecte 1 nouveau-né sur 4 255 en Guyane Française, mais 1 sur 1 604 à Saint Laurent du Maroni. L'incidence de la maladie dans la population guyanaise est probablement sous-estimée. Aucun cas de forme juvénile n'a encore été diagnostiqué. Un essai de dépistage néonatal non obligatoire a été mené entre 2014 et 2015, mais aucun diagnostic positif n'a été porté sur cette période.

À l'heure actuelle, si un nourrisson présente des signes évocateurs d'une maladie de Pompe infantile, un diagnostic rapide par dosage de la maltase acide sur goutte de sang séché (papier buvard) est réalisé. Lorsque ce premier examen est positif, un prélèvement sanguin est envoyé à l'hôpital Robert Debré (Paris) pour confirmation diagnostique par test génétique. Si le transfert de l'enfant vers la métropole est possible, l'enzymothérapie de substitution (alglucosidase alfa) est initiée à l'hôpital Robert Debré. L'enfant revient ensuite en Guyane où il poursuit son traitement à l'hôpital de Cayenne.

Depuis 2010, 10 enfants ont été diagnostiqués comme atteints d'une maladie de Pompe infantile. Ils étaient tous Bushinengués, sans notion de consanguinité. Parmi eux, neuf étaient CRIM<sup>1</sup>

positif, et un seul CRIM négatif. Tous étaient hypotoniques à la naissance. Le premier symptôme de la maladie (détresse respiratoire) est apparu entre l'âge d'un et de cinq mois. L'un des enfants avait une forme trop sévère de la maladie pour être transféré en métropole. Les neuf autres ont pu l'être. Pour tous les enfants, le tableau clinique initial comportait une hépatomégalie, une macroglossie, des fasciculations de la langue et une hypotonie. Des signes de lutte respiratoire ont été observés pour la grande majorité d'entre eux. La plupart (8/9) ne présentait aucun signe d'insuffisance cardiaque, mais tous avaient une cardiomégalie et une hypertrophie myocardique à l'échocardiographie. Une à deux semaines après la confirmation diagnostique, huit patients ont pu débiter l'enzymothérapie substitutive à l'hôpital Robert Debré, sans immunomodulation. La posologie initiale de l'alglucosidase alfa a été de 20 mg/kg/2 semaines, de 20 mg/kg/semaine, ou de 40 mg/kg/semaine soit quatre fois la dose usuelle pour deux frères dont le second a débuté le traitement à l'âge de deux semaines.

À ce jour, six enfants sont vivants (60 %). Le patient le plus âgé a six ans. Fait déjà connu, le risque de décès s'est avéré plus important pour les enfants dont le diagnostic et donc le traitement ont été les plus tardifs. Le pronostic est lié à la rapidité de prise en charge. Les quatre décès sont survenus aux âges de 7 mois, 8 mois, 15 mois et 2 ans, les trois premiers suite à une insuffisance respiratoire et cardiaque, le dernier suite à une infection. Au dernier bilan, les deux frères traités à 40 mg/kg/semaine vont bien. Un seul enfant présente une discrète hypoacousie. Tous ont une alimentation orale normale. Aucun n'a de ventilation non invasive, d'insuffisance cardiaque, de cardiomégalie ni de traitement à visée cardiologique. Tous ont acquis la marche à un âge sensiblement normal (13 à 18 mois). Ils reçoivent l'alglucosidase alfa à la posologie usuelle

### NOTES

<sup>1</sup> Cross Reactive Immune Material.

### Sylvie Marion

AFM Téléthon, Évry, France

### Contact

smarion@afm-telethon.fr

(20 mg/kg/2 semaines) ou deux fois la posologie usuelle. Deux réactions à la perfusion sont survenues, l'une transitoire et l'autre sous immunomodulation.

Ces bons résultats encouragent à sensibiliser et à former les équipes locales à évoquer de principe la maladie de Pompe infantile devant un tableau d'hypotonie néonatale et à orienter très rapidement les enfants vers l'hôpital Robert Debré.

### L'essai mini-COMET livre ses tout premiers résultats

*D'après une communication du Pr François Labarthe (CHRU Clocheville, Tours)*

Dans la maladie de Pompe infantile, l'espérance de vie est inférieure à un an en l'absence de traitement. Le premier médicament spécifique mis sur le marché (alglucosidase alfa ou Myozyme®) améliore la survie, mais il existe un risque d'échappement avec perte d'efficacité à terme (cinq à 10 ans). Diverses hypothèses sont émises pour expliquer ce phénomène : diffusion modeste du produit dans les muscles, immunogénicité, apparition d'une atteinte du système nerveux central... Le néoGAA ou avalglucosidase alfa est une enzymothérapie de nouvelle génération. Elle améliorerait l'adressage et l'entrée de l'enzyme dans les cellules musculaires grâce à l'ajout en surface de bismannose-6-phosphate.

Un essai clinique de phase 2 multicentrique international, randomisé, en ouvert appelé « mini-COMET »<sup>2</sup> a été lancé voici un peu plus d'un an. La première inclusion a été réalisée en octobre 2017. Son objectif est d'évaluer la sécurité d'emploi, la tolérance, la pharmacocinétique et l'efficacité du néoGAA administré une semaine sur deux à 20 enfants atteints d'une forme classique de maladie de Pompe infantile (avec notamment cardiomyopathie au moment du diagnostic) et traités auparavant par Myozyme® depuis au moins six mois, avec réponse suboptimale ou déclin malgré le traitement. Un taux élevé d'anticorps anti-alglucosidase alfa ( $\geq 1/25\ 600$ ) constitue un critère d'exclusion. La France a inclus quatre patients sur deux sites : le CHRU Clocheville (Tours) et l'hôpital Robert Debré (Paris).

L'essai comporte trois cohortes, initiées de façon séquentielle. La première rassemble six enfants qui ont connu un déclin malgré le traitement par Myozyme®. Dans le cadre de l'essai mini-COMET, ils reçoivent le néoGAA à la dose de 20 mg/kg/2 semaines pendant six mois (13 doses au total). Quatre patients ont déjà terminé le semestre de traitement et sont passés en phase d'extension. La deuxième cohorte inclut cinq enfants, qui ont également connu un déclin malgré l'enzymothérapie

par Myozyme®. Ils sont traités par néoGAA à la posologie de 40 mg/kg/2 semaines pendant six mois. La troisième cohorte concerne 10 enfants chez lesquels l'efficacité du Myozyme® n'a été que partielle. Répartie en deux groupes, le traitement a démarré en décembre 2018 : l'un reçoit pendant six mois du Myozyme®, l'autre pendant six mois du néoGAA à la posologie la plus forte la mieux tolérée dans les étapes précédentes de l'essai soit 40 mg/kg/2 semaines. Une phase d'extension est d'ores et déjà prévue.

Les critères primaires de l'essai mini-COMET sont en lien avec la sécurité d'emploi et la tolérance du néoGAA (événements indésirables et immunogénicité). À ce stade, aucune donnée d'efficacité ni de pharmacocinétique n'est encore disponible, mais des résultats préliminaires ont été présentés lors du dernier *WORLD<sup>3</sup> Symposium* à Orlando. Ils concernent les deux premières cohortes et donc des patients atteints d'une forme sévère, avec début de l'enzymothérapie très tôt dans la vie. Leur âge moyen est de 7,5 ans pour la cohorte 1, 8 ans pour la cohorte 2. La tolérance du néoGAA a été bonne. Tous les enfants ont présenté des effets secondaires mais relativement modestes et pas forcément en lien avec le traitement. Aucun patient n'a développé d'anticorps anti-avalglucosidase alfa à six mois. Aucun n'avait reçu au préalable de traitement immunosuppresseur. À noter que certains patients avaient à l'inclusion des taux modérés d'anticorps anti-alglucosidase alfa, qui ont disparu par la suite.

### II. Maladie de Pompe chez l'adulte Expérience du Myozyme® en Grèce : plus de 10 ans déjà

*D'après une communication du Dr Constantinos Papadopoulos (Hôpital universitaire neurologique Eginitio, Athènes)*

Les premiers patients traités en Grèce par alglucosidase alfa (Myozyme®) étaient deux sœurs, dans le cadre du programme d'accès anticipé<sup>4</sup> dès février 2006. Elles sont atteintes d'une forme juvénile de la maladie de Pompe et toutes deux homozygotes. Depuis, 12 autres patients moins sévères ont commencé à recevoir le même traitement, également à la dose de 20 mg/kg/2 semaines et avec une évaluation annuelle. Ces 14 patients atteints d'une forme tardive de la maladie de Pompe étaient âgés de 13 à 72 ans à la mise au traitement par Myozyme®. L'évolution des cinq premiers patients mis sous enzymothérapie substitutive a fait l'objet d'une publication [2]. Un registre grec sur la maladie de Pompe est en cours de constitution.

À ce jour, les 14 patients ont reçu des perfusions d'alglucosidase alfa pendant 9 à 136 mois. Au

#### NOTES

<sup>2</sup> NCT03019406, EUDRACT

2016-003475-21

<sup>3</sup> *We're Organizing Research on Lysosomal Diseases.*

<sup>4</sup> *Early access program (EAP).*

moment de l'instauration du traitement, un patient était en fauteuil roulant et un autre marchait avec un aide unilatérale, un patient était sous ventilation invasive et quatre sous ventilation non invasive nocturne. L'enzymothérapie a entraîné une amélioration les deux premières années chez tous les patients, pour l'ensemble des paramètres (capacité vitale forcée ou CVF, force musculaire, performances motrices). Leurs résultats se sont ensuite détériorés. L'effet de l'enzymothérapie est donc maximal les deux premières années, mais il est de courte durée avec reprise du déclin dans un second temps. L'âge de début de la maladie influence la réponse au traitement. Une maladie de Pompe tardive qui commence avant l'adolescence se traduit par de moins bons résultats en termes de force musculaire et de CVF en position debout. De même, le délai entre le début des symptômes et le début de l'enzymothérapie de substitution influence la réponse thérapeutique. Le Myozyme® a été bien toléré par l'ensemble des patients de la cohorte grecque, avec seulement quelques symptômes mineurs lors de la première perfusion (céphalées, prurit). Un taux très élevé d'anticorps anti-alglucosidase alfa a été retrouvé chez un patient. Les 13 autres ont connu une augmentation transitoire de ce taux les six premiers mois de traitement. Cinq patients ont arrêté l'enzymothérapie, après un délai d'un à cinq ans : trois pour une absence de bénéfice perçue, un après une fracture de hanche, et le cinquième pour un taux élevé d'anticorps anti-alglucosidase alfa mais la reprise de son traitement est programmée. La notion d'absence de bénéfice est subjective. Bien expliquer au patient ce qu'il peut attendre de l'enzymothérapie aide à réduire le risque d'arrêt ultérieur.

La nécessité d'améliorer l'efficacité du traitement dans la forme tardive de la maladie a conduit à réaliser deux études sur l'exercice physique, dont on sait qu'il empêche le déconditionnement et l'atrophie musculaire. La première a rassemblé cinq patients et comportait un programme d'exercice physique supervisé, trois fois par semaine pendant 20 semaines, à domicile. Ses résultats montrent une amélioration des performances au test de 6 minutes de marche et de la force musculaire, sans changement significatif de la masse maigre totale et des membres inférieurs [3]. La deuxième étude a exploré l'effet de l'exercice physique pratiqué cette fois pendant la perfusion de Myozyme®, pour augmenter le flux sanguin musculaire. L'efficacité de l'enzymothérapie n'a pas été améliorée [4].

Une dernière étude menée sur la cohorte grecque a exploré la composition corporelle par absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA). Sur les neuf patients inclus, deux avaient initialement une ostéopénie, trois

une diminution de la densité minérale osseuse en L2-L4 et six une diminution de la densité minérale osseuse du col fémoral. La majorité présentait une augmentation de la masse grasse. L'enzymothérapie substitutive n'a pas eu d'impact sur la composition corporelle [5].

### **Le registre Français de la maladie de Pompe en 2019**

*D'après une communication du Pr Pascal Laforêt (Hôpital Raymond Poincaré, Garches)*

Créé en 2004, le registre Français de la maladie de Pompe a pour objectif de recenser tous les patients atteints de glycogénose de type 2 en France dans un but de recherche clinique et fondamentale : épidémiologie, profils moléculaires, histoire naturelle (grâce aux patients non traités par enzymothérapie substitutive), effets des traitements, causes de décès... Au premier février 2019, il comptait 212 patients, soit 198 adultes et 14 enfants. Ils sont 70 à être suivis à Paris et dans sa région, 32 à Lyon, 15 à Lille, 14 à Marseille et 13 à Nancy. Une dizaine de nouveaux patients adultes sont inclus chaque année dans le registre, ce qui correspond peu ou prou au nombre de nouveaux diagnostics annuels en France. Il y a donc une quasi exhaustivité des données pour les patients adultes. Ce n'est pas encore le cas pour les enfants, dont les inclusions devraient monter en puissance en 2019.

Sur l'ensemble des patients du registre, 153 sont traités par alglucosidase alfa. Les patients non traités par enzymothérapie représentent donc près du quart du registre, une proportion loin d'être négligeable. Certains sont cependant inclus dans des essais cliniques, à l'exemple de l'étude COMET. Parmi les 14 enfants inscrits au registre, 10 sont traités par alglucosidase alfa.

Le registre Français permet chaque année différents travaux de recherche. Une étude sur l'épidémiologie et les caractéristiques génétiques des patients atteints d'une maladie de Pompe à début tardif est ainsi parue fin 2018 [6]. Une autre étude, en cours de révision avant publication, porte sur le devenir à long terme des patients traités par enzymothérapie. Elle confirme la grande variabilité interindividuelle de la réponse thérapeutique. À quatre ans de traitement, les patients semblent néanmoins globalement stabilisés sur le plan moteur et respiratoire. Le nombre de patients sous ventilation non invasive (VNI) a un peu augmenté depuis leur mise sous traitement, mais pas celui des patients sous ventilation invasive (VI). La pente de déclin de la capacité vitale (CV) sous traitement reste moins importante que celle de l'histoire naturelle. Cependant, une comparaison *stricto sensu* n'est pas possible, comme elle

le serait dans le cadre d'un essai clinique comparant une cohorte traitée par alglucosidase alfa et une autre qui ne l'est pas. En ce qui concerne le test de 6 minutes de marche (6 MWT), le traitement entraîne une amélioration durant les trois premières années, suivie d'une dégradation. Là encore, le déclin est probablement ralenti mais le manque de données d'histoire naturelle pour ce test complique la comparaison. Les meilleurs résultats pour le 6 MWT sous traitement sont obtenus lorsque la maladie évolue depuis moins de 15 ans.

Une autre étude récente a porté sur la mortalité sous alglucosidase alfa. Quinze patients traités sont décédés, le plus souvent d'une cause respiratoire et ce même en l'absence d'atteinte respiratoire sévère. Certains patients décédés de cause respiratoire n'étaient pas sous VI mais sous VNI. Aucun décès n'est consécutif aux effets secondaires de l'enzymothérapie substitutive. Sa durée au moment du décès était de 11 à 122 mois. Parmi les patients décédés, deux ont fait une mort subite sans plus de précision, et notamment sans information sur une éventuelle atteinte cardiaque.

Toujours à partir des données du registre, d'autres publications sont en projet, notamment sur les patients en interruption d'enzymothérapie, les événements indésirables du traitement, le tétraglycose (Glc4), l'échelle R-PAct et les patients non traités par alglucosidase alfa.

### **R-PAct à l'épreuve du registre français de la maladie de Pompe**

*D'après une communication du Dr Claire Lefeuvre (Hôpital Raymond Poincaré, Garches)*

Conçue par une équipe néerlandaise, l'échelle *Rasch-built Pompe-specific activity* (R-PAct) a été développée de façon spécifique pour la glycogénose de type 2 afin de mesurer les effets de la maladie sur la capacité des patients à effectuer les activités de la vie quotidienne et sur leur participation à la vie sociale [7]. Pour construire ce nouvel outil, un modèle mathématique a été créé afin d'identifier les items pertinents et déterminants d'évaluation des impacts de la maladie et de son traitement. L'équipe s'est appuyé sur une cohorte de 186 patients de sept pays, âgés de plus de 16 ans (âge moyen : 50 ans) avec une durée médiane d'évolution de la maladie de 11 ans. Parmi eux, 37 % étaient ambulants sans aide, 16 % utilisaient une aide technique, 47 % un fauteuil roulant. Près de la moitié (44 %) étaient sous ventilation mécanique. Une série initiale de 136 items fonctionnels et occupationnels a été soumise à une analyse statistique (modèle de Rasch) qui a permis d'élaborer un questionnaire de 18 items : se peigner les cheveux, prendre une

douche, marcher vite, etc. Pour chaque item, le patient a trois choix possibles : non (0 point), oui avec difficultés (1 point) et oui sans difficulté (2 points). Le score final va donc de 0 à 36 points. L'échelle R-PAct a été utilisée sur une cohorte de 65 patients du registre français de la maladie de Pompe, de 56 ans d'âge moyen. Plus de la moitié (55 %) étaient ambulants sans aide, 34 % avec une aide technique, 11 % se déplaçaient en fauteuil roulant. L'analyse a retrouvé une bonne corrélation de l'échelle R-PAct avec les données relatives à la marche et à l'autonomie de marche mesurées par d'autres tests (6 minutes de marche, 4 marches, échelle de Vignos). Il existe également une bonne corrélation avec le recours aux appareils de ventilation, mais pas avec la capacité vitale. Souple et spécifique, ce nouvel outil pourrait à l'avenir être notamment utilisé de façon étendue dans le registre Français de la maladie de Pompe.

### **Arrêt de l'enzymothérapie chez l'adulte : des causes et des conséquences mieux connues**

*D'après une communication du Dr Emmanuelle Salort-Campana (CHU La Timone, Marseille)*

Sur une période de 14 ans, 145 patients du registre français de la maladie de Pompe ont été traités par alglucosidase alfa. Ils ont été 22 à arrêter ce traitement après un délai de 1 à 84 mois. Leur âge moyen au moment du diagnostic était de 47,8 ans. Et l'intervalle entre diagnostic et début de l'enzymothérapie, de 1 à 24 ans. La première cause d'arrêt est la décision du patient. Ce premier groupe (G1) rassemble 10 patients qui ont choisi d'interrompre l'enzymothérapie en raison de la fatigue qu'elle engendre, de la perception d'une progression de la maladie en dépit des perfusions ou d'une non-compliance (parfois pour raison professionnelle). Les effets indésirables constituent la deuxième cause d'arrêt. Ce deuxième groupe (G2) compte 12 patients, en majorité de femmes mais la différence n'est pas significative, qui ont connu des réactions à la perfusion (RAP) modérée à sévère.

Sur les 22 patients qui ont arrêté le traitement, sept sont décédés à ce jour soit 31,8 %, une mortalité supérieure à celle enregistrée dans l'ensemble du registre (13,3 %). L'arrêt de l'enzymothérapie substitutive entraîne donc une surmortalité. L'âge moyen au moment du décès atteint 64 ans. Il survient après une durée médiane de cessation du traitement de 38 mois. Cinq des 10 patients du G1 sont décédés (50 %), versus 2/12 dans le G2. Deux décès sont dus à une insuffisance respiratoire, un à une pneumopathie de déglutition, un à une cause cardiorespiratoire, un à un cancer du pancréas, un dans un

contexte de syndrome douloureux abdominal et le dernier est survenu à domicile de cause inconnue. Les patients décédés étaient en moyenne plus âgés au début et à la fin du traitement que ceux qui ne sont pas décédés.

Les conséquences de l'arrêt du traitement sur les fonctions respiratoire et motrice s'avèrent variables selon les patients. Parmi ceux dont l'interruption thérapeutique a duré plus de 24 mois, les performances au test de 6 minutes de marche (6 MWT) ont chuté pour quatre patients, mais elles ont augmenté ou se sont stabilisées pour les autres. Lorsque l'arrêt du traitement a duré moins de 24 mois, quatre patients ont eu des résultats stables au 6 MWT, alors qu'ils ont baissé chez les autres. En ce qui concerne les performances respiratoires, plus l'arrêt de l'enzymothérapie est prolongé, plus la capacité vitale (CV) baisse. Le risque d'avoir recours à une aide à la marche et à une augmentation de l'assistance respiratoire augmente avec la durée de cessation de l'enzymothérapie substitutive. Son interruption à long terme semble donc être associée à une aggravation respiratoire et ambulatoire.

Parmi les 22 patients qui ont arrêté leur traitement, cinq l'ont ensuite repris et, parmi eux, deux l'ont de nouveau arrêté. Dans la littérature, plusieurs publications font état des effets d'un arrêt puis d'une reprise du traitement. La plus grande étude, réalisée en Suisse, ne concerne que sept patients. Dans ce pays, le remboursement du Myozyme® a cessé de façon temporaire, entraînant *de facto* une interruption de traitement pour sept patients, puis sa reprise. Leurs résultats au 6 MWT ont chuté après l'arrêt du traitement, pour s'améliorer lorsqu'il a pu reprendre, sans toutefois revenir à l'état antérieur. De même, leur CV s'est améliorée ou stabilisée à la reprise thérapeutique, sans revenir à l'état antérieur [8]. Une étude menée au Royaume-Uni fait état de résultats similaires [9].

Tout doit donc être fait pour éviter une interruption thérapeutique. Quand elle survient néanmoins, le suivi doit se poursuivre. Un patient qui arrête son traitement doit continuer d'être évalué à intervalles réguliers, peut-être même davantage que les autres. En amont, sachant que les contraintes qu'entraînent les perfusions sont des causes majeures de décision d'arrêt par le patient, l'éducation thérapeutique prend tout son sens pour améliorer l'adhésion thérapeutique. En France, l'enzymothérapie substitutive à domicile n'est pas encore une réalité, en particulier par crainte des RAP. Néanmoins, une prise en charge dans un hôpital de proximité s'avère parfois possible.

### III. Recherche

#### Les cellules satellites musculaires sont fonctionnelles mais échouent à réparer le muscle

*D'après une communication du Dr Karl Rouger (INRA, UMR 703, ONIRIS, Atlantic Gene Therapies, Nantes)*

La glycogénose de type 2 entraîne des modifications des fibres musculaires (vacuolisation, accumulation d'agrégats autophagiques...). Ces événements n'entraînent pourtant ni nécrose massive, ni régénération des fibres musculaires. La sévérité des dommages engendrés par la maladie de Pompe n'est pas associée à une réparation par les cellules satellites musculaires. Cette thématique a été le sujet de la thèse de biologie de Lydie Lagalice<sup>5</sup>, soutenue en octobre 2018.

Dans un premier temps, elle a cherché à évaluer l'incidence des modifications tissulaires de la maladie de Pompe sur le comportement des cellules satellites, grâce à une étude histo-pathologique longitudinale menée sur un modèle murin de la maladie (souris). Une surcharge en glycogène apparaît dans les muscles après l'âge de 2,5 mois. Elle reste stable ensuite, touchant 8 à 10 % des fibres musculaires. Il se produit également une augmentation progressive des cellules contenant des agrégats liés à l'autophagie et du nombre de ces mêmes agrégats. La vacuolisation progressive des cellules musculaires est corrélée à l'agrégation autophagique. Il existe en revanche très peu de fibres nécrotiques, quel que soit l'âge de la souris. De même, la régénération est extrêmement rare. Il se produit par ailleurs une augmentation progressive du nombre de fibres musculaires avec un noyau internalisé. La souris modèle de la maladie de Pompe possède bien un stock de cellules satellites musculaires, identique à tous les âges et comparable à celui de la souris sauvage. Ces cellules conservent leurs capacités à s'activer et à s'impliquer dans le processus myogénique, mais leur activation diminue en dépit de l'augmentation des dommages structuraux.

Dans un deuxième temps, le potentiel intrinsèque des cellules satellites musculaires a été étudié. Leur morphologie ainsi que leurs capacités proliférative et de différenciation se sont avérées identiques chez la souris modèle de la maladie et chez la souris sauvage. Les cellules satellites musculaires semblent donc fonctionnelles dans la glycogénose de type 2. Après induction d'une lésion (injection de cardiotoxine), l'analyse histologique des muscles des souris modèles de la maladie retrouve, à 21 jours, une taille et une distribution des fibres musculaires presque identiques à celles des souris sauvages. Les cellules

#### NOTES

<sup>5</sup> Physiopathologie musculaire et implication des cellules satellites dans la maladie de Pompe (glycogénose de type II), à voir sur <http://www.theses.fr/s137869>

satellites musculaires sont donc capables de s'activer et de contribuer à la régénération musculaire. Elles restent intrinsèquement fonctionnelles. Alors pourquoi leur activation diminue-t-elle spontanément au fil des dommages musculaires dans la maladie de Pompe ? Le signal d'activation (trop faible, mal transmis) ou sa perception par les cellules satellites pourrait être en cause [10].

### Forme tardive : analyser les biopsies musculaires pour éclairer la physiopathologie

*D'après une communication du Dr Edoardo Malfatti (Hôpital Raymond Poincaré, Garches)*

L'accumulation de glycogène caractéristique de la glycoséose de type 2 est objectivable à la coloration au PAS<sup>6</sup>, mais aussi en microscopie électronique. Dans 70 à 89 % des cas de maladie de Pompe à début tardif (*late onset Pompe disease* ou LOPD), l'examen de la biopsie musculaire retrouve des anomalies : vacuoles (parfois optiquement vides), activation lysosomale, accumulation d'agrégats autophagiques... Une étude a été menée, en aveugle, sur 16 patients du registre français de la maladie de Pompe atteints de LOPD et non traités par enzymothérapie au moment de leur biopsie musculaire. Ses résultats ne sont pas encore publiés. L'âge moyen de ces 16 patients (9 hommes, 7 femmes) était de 45 ans. Après analyse en microscopie optique, leurs biopsies ont pu être réparties en quatre groupes histologiques. Dans le premier (3 patients), la maladie est très sévère sur le plan histologique, avec vacuolisation de nombreuses fibres musculaires, activation lysosomale massive et forte variation de la taille des fibres musculaires, sans signe de nécrose ni de régénération. Dans le deuxième groupe (5 patients), les anomalies histologiques sont plus discrètes, avec quelques fibres musculaires atrophiques contenant des vacuoles, une surcharge glycogénique des vacuoles et du cytoplasme. Une activation lysosomale est retrouvée dans les fibres sans vacuoles. Elle pourrait donc être le premier phénomène survenant dans la maladie de Pompe. Le troisième groupe (5 patients) se caractérise par une myopathie vacuolaire minime, et le quatrième (3 patients) par une absence d'anomalies. Les mêmes biopsies ont été analysées en microscopie électronique. Elle a révélé une autophagie prédominante dans le premier groupe, la présence de glycogène et de quelques agrégats de matériel autophagique dans le deuxième, la présence de glycogène à l'intérieur des lysosomes et du matériel autophagique dans le troisième, la présence de quelques agrégats autophagiques parfois associés à du

glycogène à l'intérieur des lysosomes dans le quatrième (pourtant exempt d'anomalie en microscopie optique).

Cette étude permet de conclure que le spectre histologique s'avère très variable dans la maladie de Pompe, avec des patients quasi asymptomatiques sur ce plan. L'augmentation de l'autophagie pourrait être le mécanisme initial, mais ce point nécessite des travaux complémentaires. Le projet *French MorphoPompePhagy*, porté par Edoardo Malfatti et Pascal Laforêt, va désormais s'attacher à étendre l'analyse des biopsies musculaires à un plus grand nombre de patients, traités ou non par enzymothérapie substitutive.

### Signes ophtalmologiques : les leçons de la littérature

*D'après une communication du Dr Tuy Nga Brignol (AFM-Téléthon, Évry)*

Des informations limitées sont disponibles sur les manifestations oculaires dans la maladie de Pompe. Chez l'enfant, il s'agit essentiellement de strabisme et de ptosis bilatéral [11-13]. Des observations en microscopie de fœtus provenant d'avortements (spontanés ou thérapeutiques) liés à la glycoséose de type 2, d'autopsies ou de muscles oculaires réséqués lors de la chirurgie du strabisme chez des enfants atteints ont été rapportées. La première étude histo-pathologique de l'œil en microscopie optique a été réalisée en 1965, chez un nourrisson de sexe féminin décédée à l'âge de 5 mois [14]. Elle montre que des dépôts de glycogène sont présents dans pratiquement tous les tissus oculaires, à l'exception de l'épithélium pigmentaire de la rétine. De ce fait, un suivi ophtalmologique dans l'évolution à moyen - long terme de la maladie de Pompe chez l'enfant est nécessaire. La prise en charge doit inclure des bilans ophtalmologiques complets, pour dépister de façon précoce des atteintes oculaires potentiellement amblyopiques.

Une collaboration entre les Centres de référence et de compétences des maladies neuromusculaires rares du réseau FILNEMUS ([www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)), de la filière des maladies métaboliques G2M ([www.filiere-g2m.fr](http://www.filiere-g2m.fr)) et de la filière des maladies rares sensorielles SENSGENE ([www.sensgene.com](http://www.sensgene.com)) serait justifiée, afin de mieux définir le spectre des anomalies oculaires susceptibles de survenir avec l'amélioration de la survie. De nouvelles études sont également nécessaires pour mieux comprendre les atteintes oculaires dans la maladie de Pompe, ainsi que les améliorations possibles liées à l'enzymothérapie substitutive ou à d'autres thérapies émergentes.

#### NOTES

<sup>6</sup> Periodic Acid Schiff.

#### IV. Essais cliniques COMET compare le néoGAA au Myozyme®

*D'après une communication du Pr Sabrina Sacconi (CHU de Nice)*

Enzyme recombinante de nouvelle génération, l'avalglucosidase alfa ou néoGAA a été développée par le laboratoire Sanofi Genzyme à partir de l'algucosidase alfa (Myozyme®) à laquelle a été ajouté du mannose-6-phosphate pour en améliorer l'internalisation dans les cellules musculaires et les lysosomes. Initié fin 2016, COMET est un essai clinique de phase III, international multicentrique, contrôlé en double aveugle, destiné à évaluer l'efficacité, la sécurité et la tolérance du néoGAA versus Myozyme®. Il s'agit de démontrer la supériorité, ou la non-infériorité, du néoGAA. Les patients inclus doivent être atteints d'une forme tardive de la maladie de Pompe, porteurs de deux mutations pathogènes sur le gène GAA, âgés de trois ans ou plus et naïfs de tout traitement. Ils doivent être capables de marcher plus de 40 mètres sans aide, et leur capacité vitale forcée (CVF) en position assise doit être comprise entre 30 et 85 % de la valeur prédite. Le traitement est administré par voie intraveineuse à la posologie de 20 mg/kg/2 semaines dans les deux groupes, Myozyme® et néoGAA, pendant 12 mois (phase de double aveugle), suivi de 24 mois où tous les patients reçoivent un traitement par néoGAA. Le critère principal de l'essai est l'évolution de la CVF en position assise en pourcentage de la valeur prédite. L'objectif d'inclusion (96 patients) sera atteint le 29/03/2019.

Les centres investigateurs sont situés aux États-Unis (six sites et 31 patients inclus), en Australie, en Asie, en Europe (17 sites). Pays majeur de cet essai, la France compte 10 centres investigateurs qui vont recruter 10 à 12 patients sur 96. La fin de la période double aveugle est prévue pour mars 2020, et ses résultats préliminaires attendus pour le dernier trimestre 2020.

#### Un essai de phase III pour une nouvelle GAA avec molécule chaperonne

*D'après une communication du Dr Françoise Bouhour (Hôpital Pierre Wertheimer, CHU de Lyon)*

Le laboratoire Amicus Therapeutics explore l'association d'une enzyme de nouvelle génération (ATB200) associée à une molécule chaperonne (miglustat ou AT2221). L'ATB200 comporte davantage de mannose 6-phosphate à sa surface que l'algucosidase alfa. Le miglustat se fixe sur l'ATB200 avec une grande affinité, car sa conformation est proche de celle du glycogène, substrat de l'alpha-glucosidase acide (GAA). Il stabilise l'enzyme

en milieu alcalin, comme le sang. Dans la circulation sanguine, l'ATB200 garderait donc sa conformation et pourrait ainsi à la fois pénétrer en plus grande quantité en intracellulaire et en intralysosomal, et avoir une activité préservée.

Un essai clinique international de phase I/II<sup>7</sup> a déjà exploré l'administration conjointe d'ATB200 (par voie intraveineuse) et d'AT2221 (voie orale) sur quatre cohortes de patients adultes atteints d'une maladie de Pompe. Chez 11 patients ambulants déjà sous enzymothérapie de substitution (*ERT-Switch*) et cinq patients naïfs d'enzymothérapie de substitution (*ERT-Naive*), les résultats au test de 6 minutes de marche (6MWT) ont augmenté de 50 mètres après près de 2 ans de traitement, avec amélioration également des autres scores fonctionnels et de la force musculaire. La fonction respiratoire des patients *ERT-Naive* s'est également discrètement améliorée. Elle s'est stabilisée chez les patients déjà sous enzymothérapie de substitution. L'association ATB200/AT2221 a été bien tolérée, avec des événements indésirables en général modérés, transitoires et peu fréquents (1,3 %) après un total de plus de 1 110 perfusions. Un seul traitement a dû être arrêté en raison d'une réaction à la perfusion.

Ces bons résultats ont conduit au lancement d'un essai de phase III<sup>8</sup>, randomisé en double aveugle. Il prévoit d'inclure 100 à 110 patients âgés de plus de 18 ans atteints d'une maladie de Pompe à début tardif confirmée, naïfs d'enzymothérapie substitutive (n = 30) ou sous enzymothérapie depuis plus de deux ans, d'un poids supérieur à 40 kg et dont la capacité vitale forcée se situe entre 30 et 80 %. L'utilisation d'une ventilation invasive ou non invasive plus de 6 heures dans la journée constitue un critère d'exclusion. Les participants recevront durant 52 semaines soit ATB200/AT2221, soit algucosidase/placebo. Le critère primaire d'évaluation est l'évolution du 6 MWT. Cet essai va rassembler 87 centres investigateurs dans le monde, dont cinq en France à Lyon, Marseille, Nice, Paris et Lille. Les inclusions débuteront à partir d'octobre 2019.

#### Thérapie génique : après la souris et le primate, bientôt un essai clinique

*D'après une communication du Dr Giuseppe Ronzitti (Généthon, INSERM U951 INTEGRARE, Évry)*

Dans la maladie de Pompe, l'enzymothérapie substitutive connaît plusieurs limitations à commencer par son immunogénicité, son effet limité chez les patients CRIM<sup>9</sup> négatif et son coût. Généthon travaille depuis plusieurs années au développement d'une alternative thérapeutique : la thérapie

#### NOTES

<sup>7</sup> ATB200-02 study, NCT02675465

<sup>8</sup> PROPEL study, NCT03729362

<sup>9</sup> Cross Reactive Immune Material.

génique. Elle utilise comme vecteur un virus adeno-associé (*adeno-associated virus* ou AAV). La stratégie choisie a été de cibler, non pas l'ensemble des muscles, mais le foie. L'AAV porteur d'un gène GAA modifié pénètre dans le noyau des hépatocytes qui sécrètent dès lors l'enzyme alpha-glucosidase alpha (GAA). Une fois libérée dans la circulation sanguine, cette GAA sécrétable devrait être mieux tolérée sur le plan immunitaire qu'une enzyme exogène.

Chez la souris modèle de la maladie de Pompe, cette thérapie réduit bien la taille des lysosomes et modifie le phénotype : amélioration des fonctions cardiaque, musculaire et respiratoire, prolongation de la survie de plusieurs mois. Elle a été comparée à une enzymothérapie par alglucosidase alfa toujours sur une souris modèle de la maladie. L'alglucosidase

alfa à la dose de 20 mg/kg n'a pas entraîné d'amélioration de la force musculaire, ni de réduction de l'accumulation de glycogène dans les muscles et le système nerveux central. La thérapie génique s'est montrée plus efficace, à la dose de  $10^{11}$  vg/kg, avec notamment une réduction du glycogène cérébral (jusqu'à 50 %) [15]. De même, chez le macaque rhésus, elle a augmenté la production et l'activité de la GAA dans le plasma, sans événement indésirable jusqu'à une dose de  $2 \times 10^{13}$  vg/kg. Le développement clinique de ce produit (SPK-3006) est désormais dans les mains du laboratoire Sparks Therapeutics, qui envisage de déposer une demande d'autorisation d'essai clinique dès 2019 au États-Unis, puis en Europe.

**The French Pompe Disease Day: a 9<sup>th</sup> edition full of promises**

### Information de l'Association Francophone des Glycogénoses

#### • Une mascotte voyageuse

Le projet international Hope a pour objectif de sensibiliser à la maladie de Pompe. Il est incarné par une mascotte (un paresseux) qui rend visite aux familles concernées dans différents pays, pour leur apporter joie et espoir. Son tour du monde a commencé en 2017 au Royaume-Uni. Hope est arrivé en France en novembre 2018. Il participera à la 19<sup>e</sup> édition de la course cycliste Paris - Brest - Paris avec plusieurs membres de la *Malaysia Lysosomal Disease Association*, en août 2019. Ses aventures sont partagés sur les réseaux sociaux (groupe Facebook Hope Travels - Pompe Awareness notamment).

Hope © Crédit photo : Julie Garfield: Hope Travels - Pompe Awareness



### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Elenga N, Verloes A, Mrcic Y, et al. Incidence of infantile Pompe disease in the Maroon population of French Guiana. *BMJ Paediatr Open* 2018 ; 2 : e000182.
2. Papadimas GK, Spengos K, Konstantinopoulou A, et al. Adult Pompe disease: clinical manifestations and outcome of the first Greek patients receiving enzyme replacement therapy. *Clin Neurol Neurosurg* 2011 ; 113 : 303-7.
3. Terzis G, Dimopoulos F, Papadimas GK, et al. Effect of aerobic and resistance exercise training on late-onset Pompe disease patients receiving enzyme replacement therapy. *Mol Genet Metab* 2011 ; 104 : 279-83.
4. Terzis G, Krase A, Papadimas G, et al. Effects of exercise training during infusion on late-onset Pompe disease patients receiving enzyme replacement therapy. *Mol Genet Metab* 2012 ; 107 : 669-73.
5. Papadimas GK, Terzis G, Methenitis S, et al. Body composition analysis in late-onset Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2011 ; 102 : 41-3.
6. Semplicini C, Letard P, De Antonio M, et al. Late-onset Pompe disease in France: molecular features and epidemiology from a nationwide study. *J Inheret Metab Dis* 2018 ; 41 : 937-46.
7. van der Beek NA, Hagemans ML, van der Ploeg AT, et al. The Rasch-built Pompe-specific activity (R-PAct) scale. *Neuromuscul Disord* 2013 ; 23 : 256-64.
8. Scheidegger O, Leupold D, Sauter R, et al. 36-Months follow-up assessment after cessation and resuming of enzyme replacement therapy in late onset Pompe disease: data from the Swiss Pompe registry. *J Neurol* 2018 ; 265 : 2783-8.
9. Stepien KM, Hendriks CJ, Roberts M, et al. Observational clinical study of 22 adult-onset Pompe disease patients undergoing enzyme replacement therapy over 5years. *Mol Genet Metab* 2016 ; 117 : 413-8.
10. Lagalice L, Pichon J, Gougeon E, et al. Satellite cells fail to contribute to muscle repair but are functional in Pompe disease (glycogenosis type II). *Acta Neuropathol Commun* 2018 ; 6 : 116.
11. Slingerland NW, Polling JR, van Gelder CM, van der Ploeg AT, Bleyen I. Ptosis, extraocular motility disorder, and myopia as features of Pompe disease. *Orbit* 2011 ; 30 : 111-3.
12. Ravaglia S, Bini P, Garaghani KS, Danesino C. Ptosis in Pompe disease: common genetic background in infantile and adult series. *J Neuroophthalmol* 2010 ; 30 : 389-90.
13. Yanovitch TL, Banugaria SG, Proia AD, Kishnani PS. Clinical and histologic ocular findings in Pompe disease. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2010 ; 47 : 34-40.
14. Toussaint D, Danis P. Ocular histopathology in generalized glycogenosis (Pompe's disease). *Arch Ophthalmol* 1965 ; 73 : 342-9.
15. Armour SM, Nordin J, Puzzo F, et al. Safety and efficacy evaluation of investigational liver gene transfer for secretatable GAA in the treatment of Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2019 ; 126 : S24.

# AGENDA 2019

**10-14 juin 2019** (Göteborg, Suède)

## **IDMC-12**

<https://idmc12.org>

**14-15 juin 2019** (Paris, France)

## **SISMA Sessions Interactives SMA**

Inscription : <http://sisma2019.biogencongres.com/>

**13 juin 2019** (Paris, France)

## **7th Translational Research Meeting on Peripheral Neuropathies**

[crm.n@chu-limoges.fr](mailto:crm.n@chu-limoges.fr)

**17-18 juin 2019** (Berlin, Allemagne)

## **9<sup>e</sup> Congrès mondial sur les maladies rares et les médicaments orphelins**

<https://rarediseases.insightconferences.com>

**17-22 juin 2019** (Paris, France)

## **Summer School de Myologie de Paris**

Contact : [ja.urtizberea@free.fr](mailto:ja.urtizberea@free.fr)

**22-26 juin 2019** (Gênes, Italie)

## **Réunion annuelle de la société du nerf périphérique**

[www.pnsociety.com](http://www.pnsociety.com)

**27-30 juin 2019** (Orlando, Floride, USA)

## **Conférence annuelle PPM (Parent Project Muscular Dystrophy)**

[www.parentprojectmd.org/get-involved/attend-events/annual-conference](http://www.parentprojectmd.org/get-involved/attend-events/annual-conference)

**28 juin 2019** (Tours, France)

## **8<sup>e</sup> Tour de France médico-sociale**

Contact : [Annamaria.MOLON@ap-hm.fr](mailto:Annamaria.MOLON@ap-hm.fr)

**28 juin-1<sup>er</sup> juillet 2019** (Anaheim, Californie, USA)

## **Conférence annuelle Cure SMA**

[www.curesma.org/get-involved/conference](http://www.curesma.org/get-involved/conference)

**29 juin-2 juillet 2019** (Oslo, Norvège)

## **Congrès EAN (European Academy of Neurology)**

[www.ean.org/oslo2019](http://www.ean.org/oslo2019)

**2-5 septembre 2019** (Londres, Angleterre)

## **9<sup>th</sup> UK Nuclear Envelope and Chromatin Organization Meeting/3<sup>rd</sup> International Meeting on Laminopathies**

[www.laminopathiesmeeting2017.com/](http://www.laminopathiesmeeting2017.com/)

# 2020

**15-17 janvier 2020** (Toulouse, France)

## **Congrès SFNP (Société française de Neuropédiatrie)**

[www.sfnp-congres.com](http://www.sfnp-congres.com)

**5-6 février 2020** (Paris, France)

## **Congrès SMA Europe**

[www.sma-europe.eu](http://www.sma-europe.eu)

**11-14 mars 2020** (Orlando, Floride)

## **Jain Foundation Meeting (dysferlinopathies)**

[www.jain-foundation.org](http://www.jain-foundation.org)

**2-4 avril 2020** (Santiago, Chili)

## **3<sup>e</sup> Congrès SOLANE**

Contact : [jbevilacqua@mi.cl](mailto:jbevilacqua@mi.cl)

**6 septembre 2019** (Paris, France)

## **Journée Nationale Duchenne**

Contact : [amelie.parry@kpl-paris.com](mailto:amelie.parry@kpl-paris.com)

**19 septembre 2019** (Paris, France)

## **11<sup>e</sup> Journée Interdisciplinaire du Muscle Inflammatoire (JIMI)**

Contact : [olivier.benveniste@aphp.fr](mailto:olivier.benveniste@aphp.fr)

**23-28 septembre 2019** (San José, Costa Rica)

## **Frontiers in Myogenesis « Skeletal Muscle : Development, Regeneration and Disease »**

[www.musclebiology.org/](http://www.musclebiology.org/)

**1<sup>er</sup>-5 octobre 2019** (Copenhague, Danemark)

## **Congrès de la World Muscle Society**

<http://www.wms2019.com/>

**10 octobre 2019** (Paris, France)

## **Neuropathies périphériques : Rencontres professionnels de santé et patients**

[www.rencontres-neuropathies.com](http://www.rencontres-neuropathies.com)

**15 octobre 2019** (Paris, France)

## **6<sup>e</sup> Journée Annuelle de la Filière FILNEMUS**

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)

**16-19 octobre 2019** (Bordeaux, France)

## **34<sup>e</sup> congrès SOFMER**

<https://bordeaux.sofmer2019.com>

**17-19 novembre 2019** (Berlin, Allemagne)

## **Imagerie dans les maladies neuromusculaires 2019**

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

**20-22 novembre 2019** (Marseille, France)

## **JSFM 2019**

[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)

**4-7 décembre 2019** (Asuncion, Paraguay)

## **EVELAM (Ecole euro-latino-américaine de myologie)**

Contact : [jbevilacqua@mi.cl](mailto:jbevilacqua@mi.cl)

**6-7 décembre 2019** (partout en France)

## **Téléthon**

[www.afm-telethon.fr](http://www.afm-telethon.fr)

La Filière **FILNEMUS** est dédiée au diagnostic et à la prise en charge des **Maladies NeuroMusculaires (MNM)** rares.



**50 000**  
personnes atteintes



**300**  
formes de MNM

Types de pathologies prises en charge :

- Maladies du muscle et de la jonction NM
- Maladies du nerf périphérique
- Maladies mitochondriales à expression NM
- Amyotrophies spinales

DIAGNOSTIC & PRISE EN CHARGE

FORMATION & INFORMATION

RECHERCHE TRANSLATIONNELLE

EUROPE & INTERNATIONAL



**Filnemus**  
Filière Neuromusculaire

**COORDONNER**

les acteurs de  
la Filière

**FORMER**

les  
professionnels

**LES MISSIONS :**

**AMELIORER**

le diagnostic et  
la prise en  
charge

**DEVELOPPER**

la recherche

**INFORMER**

les patients

**FAVORISER**

le réseau  
européen  
EURO-NMD

**Le maillage territorial**



La Réunion  
Guadeloupe  
Martinique

**71**  
Centres de Référence  
et de Compétences



filières de santé  
maladies rares

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)