

UE2 Histologie

Pr ONOLFO

14/12/16 à 11h30

Ronéotypeuse/ ficheuse: Alice Delafosse

Ronéolecteur: Alexis Granjon

# COURS 4

## Biomarqueurs des maladies musculaires

*Le prof a accepté de relire la ronéo. Tout est tombable aux partiels, même le numéro des chromosomes où se trouvent les protéines dont on parle. Seuls les numéros des paires de base concernées ne sont pas à retenir, si quelqu'un comptait les apprendre... (je ne les ai pas mis dans la ronéo)*

*Le diapo est sur Moodle. Il y a une erreur sur les CMT 4, ce n'est pas une atteinte de la myéline ET de l'axone mais **UNIQUEMENT** de la myéline.*

# BIOMARQUEURS DES MALADIES MUSCULAIRES

Rappels anatomiques, physiologiques et histologiques

## I. Maladies musculaires neurogènes

- 1) Manifestation: l'atrophie musculaire
- 2) Causes
  - a) Centrales
    - Atteinte nucléaire: l'amyotrophie spinale
    - Atteinte cytoplasmique: la sclérose latérale amyotrophique
  - b) Périphériques
    - CMT de type 1
    - CMT de type 2
    - CMT de type 4
    - CMT de type X
- 3) Marqueurs

## II. Maladies musculaires myogènes

- 1) Manifestation: la dystrophie musculaire
- 2) Causes
  - Myopathie progressive de Duchenne
  - Myopathies congénitales

## III. Maladies musculaires avec atteinte de la synapse neuromusculaire

## **Rappels anatomiques, physiologiques et histologiques**

Les maladies neuromusculaires intéressent surtout le muscle strié squelettique.

### Exemple du quadriceps fémoral:

C'est un des plus gros muscles de l'organisme.

Il est composé de 4 parties que l'on peut voir sur une coupe histologique → vaste médial, vaste intermédiaire, vaste latéral externe et droit fémoral.

En histologie, on voit que les cellules musculaires squelettiques sont étirées, d'où leur nom de fibres striées. Ce sont des cellules plurinucléées.

En coupe transversale on voit les noyaux (il y en a moins chez le sujet jeune) et en coupe longitudinale on observe une alternance de bande sombres et de bandes claires ce qui explique le nom de fibres musculaires « striées » squelettiques.

Il y a 2 types de rhabdomyocytes (=fibres musculaires striées squelettiques):

- fibres rouges de type 1 = fibres lentes, riches en myoglobine
- fibres blanches de type 2 = fibres rapides, riches en glycogène

On peut distinguer ces fibres sur une coupe histologique grâce à leur composition.

Avec la réaction NADH Tétrazolium reductase qui fait intervenir les enzymes mitochondriales, les fibres lentes (type 1) apparaissent foncées et les fibres rapides sont claires.

Avec la coloration au PAS (Periodic Acid Schiff) qui met en évidence le glycogène, les fibres de type 2 sont foncées.

	Mitochondries	Myoglobine	Glycogène	Fonctionnement	Type de muscle
<b>Fibres de type 1</b> (rouges, lentes)	+	+	-	Aérobie	Muscles posturaux
<b>Fibres de type 2</b> (blanches, rapides)	-	-	+	Anaérobie (métabolisme glycolitique)	Muscles dynamiques

On dit que les fibres de type 1 sont les fibres du marathonien tandis que celles de type 2 sont les fibres du sprinter.

Il y a un mélange des 2 types de fibres dans tous les muscles. Cependant il y aura proportionnellement plus de fibres de type 1 chez le marathonien, plus de type 2 chez le sprinter et encore plus chez le bodybuilder.

Les fibres musculaires sont fabriquées à partir des cellules satellites.

### Exemple du triceps sural:

Il est formé de trois muscles → 2 muscles blancs (gastrocnémiens) qui sont dynamiques + 1 muscle rouge (soléaire) qui est le muscle de la statique.

« La danseuse se soulève grâce au gastrocnémiens et se maintient par le soléaire ».

Les 2 types de fibres ont donc une répartition histologique différente. Leur répartition architecturale au sein du muscle est en damier, il y a une alternance des fibres blanches et rouges.

La contraction du muscle strié squelettique est volontaire. Il y a des racines nerveuses: une racine antérieure qui est la racine motrice et une racine postérieure qui est la racine sensitive.

L'unité motrice des rhabdomyocytes comprend trois éléments: la fibre musculaire striée squelettique, le motoneurone alpha périphérique et entre les deux la jonction neuro musculaire.

La jonction neuromusculaire (=plaque motrice) est une innervation mononeuronale, c'est à dire qu'un motoneurone va innover plusieurs fibres musculaires striées squelettiques.

Le neurotransmetteur de cette jonction est l'acétylcholine (grandes vésicules synaptiques claires).

Le phénotype des rhabdomyocytes est du à l'innervation motrice. En effet, en fonction du motoneurone, on aura un certain type de fibre. S'il est de type rapide, on aura une fibre musculaire rapide, et inversement.

Dans les années 60, une expérience d'innervation croisée a montré que si on met un motoneurone lent sur une fibre rapide, celle-ci va devenir lente (et inversement).

Les motoneurones alpha vont donc définir les unités motrices rapides et lentes. Quand elles sont rapides, le péricaryon est de grande taille, la vitesse de conduction est rapide. Quand elles sont lentes, le péricaryon est de petite taille, la vitesse est lente.

L'électromyogramme permet l'examen du fonctionnement des muscles. Il consiste en l'enregistrement des courants électriques qui accompagnent l'activité musculaire. C'est une exploration assez invasive (il faut introduire une aiguille dans un muscle pour enregistrer sa contraction). On en tire soit la vitesse de conduction nerveuse avec les impulsions électriques, soit la contraction des muscles.

Les maladies neuromusculaires concernent les trois parties de l'unité motrice du rhabdomyocyte. Il y en a donc trois types: les maladies neurogènes affectant le motoneurone alpha, myogènes affectant la fibre musculaire, et celles affectant la jonction neuromusculaire.

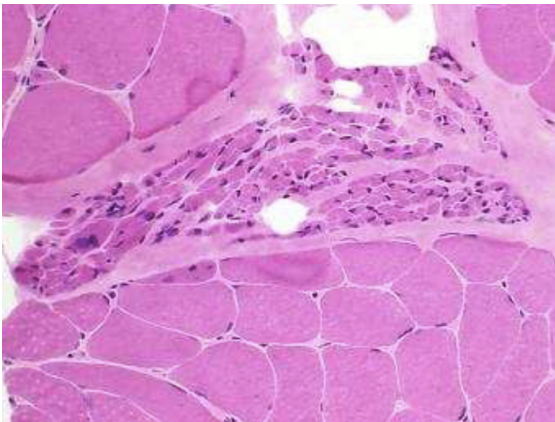
## I. Maladies musculaires neurogènes

Une maladie musculaire neurogène atteint la cellule nerveuse avec pour conséquence une atrophie musculaire qui s'accompagne d'un phénomène de recaptation.

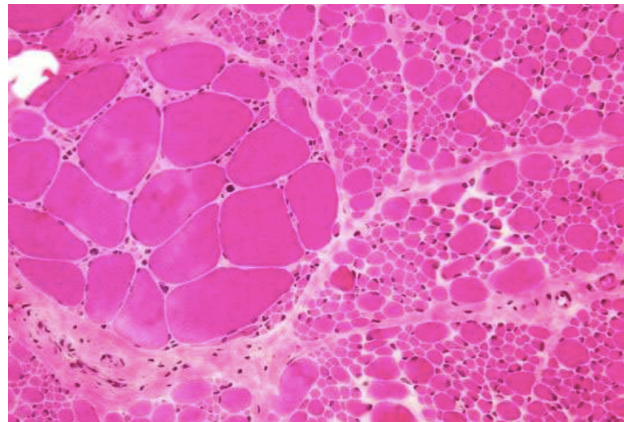
Les causes sont soit centrales, soit périphériques.

### 1) Manifestation des maladies neurogènes : l'atrophie musculaire

La maladie musculaire d'origine neurogène entraîne une atrophie fasciculaire qui est une atrophie des fibres. Ces fibres sont normales mais de diamètre moindre. Il y a un regroupement de fibres atrophiées au sein du muscle. Au fur et à mesure de l'évolution de la maladie, il y aura de plus en plus de faisceaux musculaires atrophiés par rapport aux faisceaux normaux.



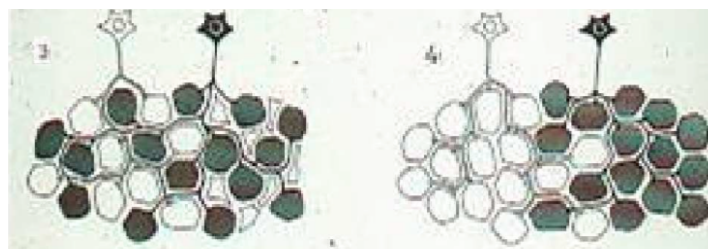
Fibres atrophiées au sein de faisceaux normaux (début de la maladie)



Un faisceau musculaire entouré de fibres atrophiées (stade avancé)

Quand on a une dénervation, les fibres musculaires squelettiques ne sont plus innervées donc elles s'atrophient. L'organisme procède à la ré-innervation pour que les fibres musculaires soient de nouveau innervées, c'est le phénomène de recaptation, les fibres atrophiées vont croître et redevenir normales.

Le phénomène de recaptation se traduit par la perte de la disposition en damiers des fibres de type 1 et 2. Il n'y a plus la disposition classique mais d'un côté les fibres de type 1 et de l'autre les fibres de type 2.



Exemple d'un petit garçon ayant subi un coup du lapin et qui a été « décapité », après reconstruction de ses vertèbres cervicales, il a pu récupérer ses muscles grâce au phénomène de recaptation.

## **2) Causes des maladies neurogènes**

La cause peut être centrale, elle touche alors le péricaryon, ou périphérique quand elle touche l'axone ou la myéline.

*Rappel : le motoneurone comprend le péricaryon (partie centrale) où se trouve le noyau et un prolongement qui correspond à l'axone (partie périphérique).*

### **a) Centrale**

Une atteinte du péricaryon (centrale) donnera soit des amyotrophies spinales si l'atteinte est nucléaire, soit des scléroses latérales amyotrophiques si l'atteinte est cytoplasmique.

- **Atteinte nucléaire = amyotrophie spinale**

Les corps de Cajal sont présents dans le noyau (1 à 3 par noyau), on s'est aperçu récemment qu'ils interviennent dans le métabolisme des Small Nuclear Ribonucleoproteins.

Ces corps de Cajal sont en contact avec des Gems qui sont constitués de la protéine SMN. C'est la protéine de survie du motoneurone, elle va assembler les complexes ribonucléoprotéiques dans le motoneurone. S'il n'y a pas cette protéine de survie, la croissance et la maintenance de la structure axonale va être perturbée.

Le gène codant pour la protéine SMN est situé sur le bras long du chromosome 5.

Il existe 2 formes de protéine SMN: le type 1 (90%) est fonctionnel et le type 2 (10%) peut subvenir à l'autre, il est partiellement fonctionnel. On possède normalement les 2 types.

Les amyotrophies spinales sont des maladies causées par des délétions ou mutations du gène codant pour la SMN. Il y a différents types d'amyotrophies spinales:

type 1 → infantile (maladie de Werdnig Hoffman), pas de SMN1

type 2 → infantile intermédiaire, il manque une partie de SMN1

type 3 → juvénile, il manque une partie de SMN1

type 4 → adulte, mutations de SMN, les symptômes apparaissent jusqu'à 50 ans, elle se traduit par un affaiblissement musculaire

Cette anomalie située sur le chromosome 5 est un cas d'hérédité récessive, il peut y avoir des porteurs sains (sujets hétérozygotes). La probabilité d'avoir un enfant atteint est de 25% pour des parents porteurs sains.

L'amyotrophie spinale se traduit toujours par une paralysie des membres inférieurs puis supérieurs.

- **Atteinte cytoplasmique = sclérose latérale amyotrophique**

La sclérose latérale amyotrophique est appelée maladie de Charcot en France (maladie de Lou Gerhig aux Etats Unis). C'est donc une atteinte du cytoplasme du motoneurone. Les signes cliniques sont des fasciculations, l'hyperflexie, le signe de Babinski et la spasticité. Elle est sporadique dans 90% des cas et génétique dans 5 à 10% des cas. C'est une anomalie dominante.

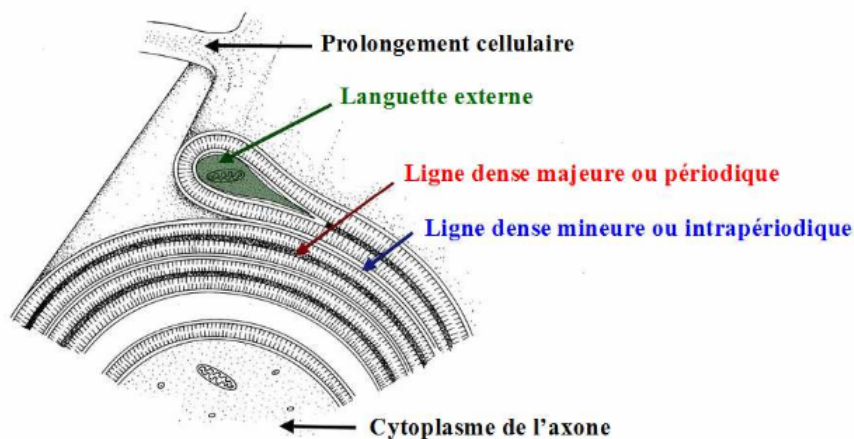
Les causes de cette maladie sont:

- la dérégulation de la gestion du stress oxydatif (impliquant SOD1)  
SOD1 = Superoxyde Dismutase 1, catalyse la réaction qui donne de l'eau à partir des ions H<sup>+</sup>. Le gène codant pour cette protéine est situé sur le bras long du chromosome 21.
- la dérégulation des mécanismes d'apoptose (impliquant la protéine ALSINE)  
ALSINE est une protéine de signalisation codée par le bras long du chromosome 2. Le phénomène d'apoptose est accéléré donc le motoneurone va dégénérer. C'est un marqueur génétique.
- un phénomène d'excito-toxicité soit par excès de glutamate soit à cause d'une mutation sur les récepteurs du glutamate
- une polymérisation anarchique des neurofilaments du motoneurone.

## b) Périphérique

Les maladies musculaires neurogènes périphériques touchent l'axone du motoneurone. L'axone est recouvert de la gaine de myéline qui augmente la vitesse de conduction des messages nerveux. Cette vitesse est normalement de 50 m/s.

Lors de la myélinogénèse dans le système nerveux périphérique, la cellule de Schwann s'enroule autour de l'axone pour former la gaine de myéline. Cette gaine présente des bandes claires et des bandes sombres. On a des lignes denses majeures formées par l'accolement des faces intracellulaires et les lignes denses mineures pour les faces extracellulaires.



Sur coupe histologique en microscopie électronique, la gaine de Myéline s'interrompt au niveau des noeuds de Ranvier, et il existe aussi des incisures de Schmidt Lanterman qui expliquent les accolements partiels de la gaine de myéline.

La gaine de myéline est formée de plusieurs protéines :

- la protéine basique de la myéline MBP, permet la fusion des faces membranaires internes
- la myéline associée au glycoprotéines MAG
- P0
- P1
- P2
- la protéine myéline périphérique PMP22

Il y a dans la gaine de la myéline compacte et non compacte. La myéline compacte contient P0, P1, P2, PMP22 et MBP. La myéline non compacte est composée de MAG et de connexine 32.

Les atteintes périphériques peuvent donner différentes maladies qui sont les maladies de Charcot Marie Tooth (CMT). Il en existe plusieurs types selon la protéine atteinte.

### • CMT Type 1 —> atteinte de la myéline

Ce sont les neuropathies tomaculaires (saucisse en latin). Il y a une atteinte de la gaine de myéline qui réduit la vitesse de conduction à moins de 20 m/s.

Ce type de maladie est dû à une atteinte des protéines PMP22 et P0 responsables respectivement de la maintenance de la myéline, et du maintien de la compaction. Ces protéines sont codées par des gènes sur le bras court du chromosome 17 pour PMP22 et sur le bras court du chromosome 1 pour la P0.

On dit que ce sont des maladies démyélinisantes.

Il existe plusieurs sous types de CMT1 (a, b, c...). La cause est soit la duplication de PMP22, la gaine de myéline est épaissie mais conduit moins bien l'influx nerveux, soit la délétion où il n'y a plus de compaction de la myéline.

- **CMT Type 2** —> **atteinte de l'axone**

Ce type apparaît chez l'adulte. La vitesse de conduction est plus élevée que pour les malades CMT1 mais elle est toujours inférieure à 50 m/s.

Au niveau de l'axone, il y a la protéine mitofusine, une GTPase qui permet la fusion des mitochondries. Si la mitofusine est absente, il n'y a pas de fusion, ce qui entraîne une diminution de la production d'ATP et la vitesse de conduction est donc diminuée.

Cette protéine est localisée sur le bras court du chromosome 1.

Il existe aussi plusieurs types de CMT2 (de a à p).

- **CMT type 4** —> **atteinte de la myéline** (*le prof a précisé qu'il y avait une erreur de le diapo, ce n'est pas une atteinte de la myéline ET de l'axone mais UNIQUEMENT de la myéline*)

C'est une anomalie récessive, assez rare. La vitesse de conduction est intermédiaire entre les CMT1 et 2, elle est comprise entre 25 et 40 m/s.

La protéine mise en cause est la PMP2, qui a pour rôle de stabiliser la ligne dense intra périodique.

Elle est située sur le bras long du chromosome 8.

Il y a aussi plusieurs sous types de CMT4.

- **CMT type X** —> **atteinte de la myéline et de l'axone**

La vitesse de conduction est aussi intermédiaire entre la CMT1 et 2.

La protéine impliquée est la connexine 32. Celle-ci permet la formation de jonctions gap dans la myéline non compactée, cela forme les incisures de Schmidt Lanterman.

La connexine 32 est située sur le bras long du chromosome X.

### **3) Marqueurs des maladies neuro musculaires**

On peut faire un électromyogramme qui sera modifié. La vitesse de conduction nerveuse va être diminuée à cause de l'atteinte du motoneurone alpha.

Le dosage des créatinines kinases sériques est nul et celui des anticorps anti Acétycholine également. *Ce sera expliqué dans la suite du cours.*

Les autres marqueurs des maladies musculaires neurogènes sont:

- l'électro neuro myogramme
- la biopsie musculaire
- la biopsie nerveuse
- la prise de sang —> on regarde les gènes atteints au niveau des chromosomes et on définit ainsi la protéine en cause parmi celles vues ci-dessus.

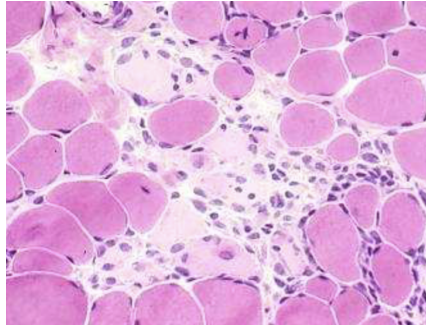
Nous avons donc vu dans cette partie les maladies musculaires neurogènes qui sont soit centrales (atteinte du péricaryon du motoneurone), soit périphériques (atteinte de l'axone ou de la myéline). Elles sont caractérisées par une atrophie musculaire.

## II. Maladies musculaires myogènes

Les maladies musculaires myogènes sont une atteinte de la fibre musculaire.

### 1) Manifestation des maladies myogènes : la dystrophie

Cette fois-ci ces maladies sont caractérisées par une dystrophie musculaire (et non une atrophie). Le muscle se nécrose (*image ci dessous de fibres nécrosées*) et se régénère, il va alors y avoir des remaniements dystrophiques du muscles.



Le muscle se régénère grâce aux cellules satellites qui sont périphériques de la fibre musculaire striée squelettique.

Ces cellules satellites ont deux états : un état activé (facteurs *myf5* et *myoD* individualisés) et un état quiescent (on a *CD34* et *M* cadhérine).

Lors de la myogénèse, un myoblaste va augmenter de volume puis fusionner avec d'autres myoblastes pour former un syncytium plurinucléé qui va s'organiser pour former une fibre musculaire striée squelettique avec des noyaux périphériques.

Les rhabdomyocytes se régénèrent soit après une lésion, soit sous l'emprise de dopants (exemple des athlètes).

Après lésion, il y a une migration des cellules quiescentes qui augmentent de volume, fusionnent et fabriquent de nouvelles fibres musculaires.

L'espace vide des fibres nécrosées est remplacé par du tissu conjonctif riche en adipocytes.

### 2) Causes des maladies myogènes

Les maladies musculaires myogènes peuvent être génétiques ou acquises. Parmi les dystrophies génétiques, il y a les dystrophies progressives, congénitales et métaboliques.

*Nous ne parlerons pas des dystrophies acquises ni des dystrophies métaboliques dans ce cours, le prof n'ayant pas le temps de les traiter.*

#### • **Myopathie progressive de Duchenne**

Duchenne a fait une observation d'un jeune garçon qui présentait une faiblesse musculaire mais avait de très grosses jambes. C'était une dystrophie avec pseudo-hypertrophie ayant débuté à l'âge de 5 ans.

La myopathie décrite par Duchenne est une maladie progressive où le décès survient généralement avant 25 ans. Elle touche 1 garçon sur 3700 chaque année. Elle est due à une absence de dystrophine.

L'anomalie en cause dans la myopathie progressive de Duchenne est portée par le bras court du chromosome X.

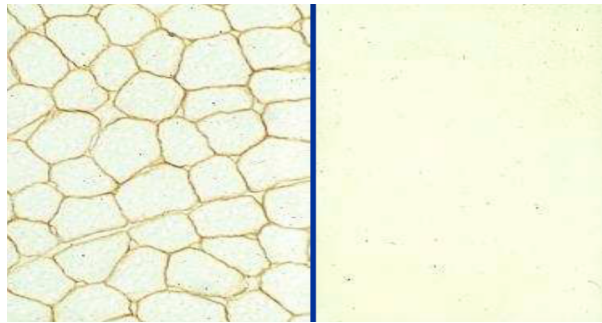
Rappel sur la dystrophine: Elle est située sous le sarcolemme et sert à fixer et à maintenir l'architecture de la fibre musculaire striée squelettique.

L'évolution de la myopathie est que le muscle va se nécroser, puis se régénérer et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il ne puisse plus se régénérer, ce qui entraîne le décès du sujet.

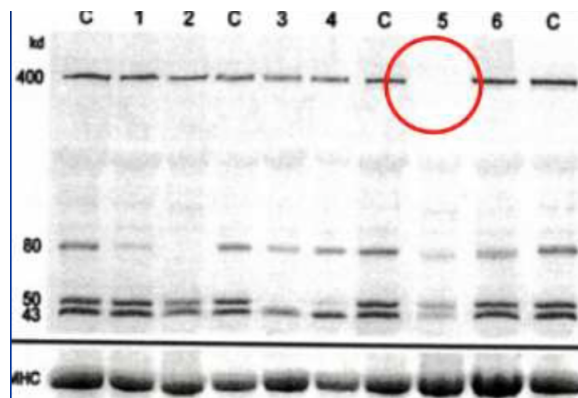


### Biomarqueurs de la dystrophine:

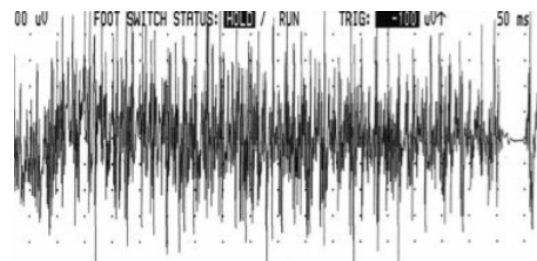
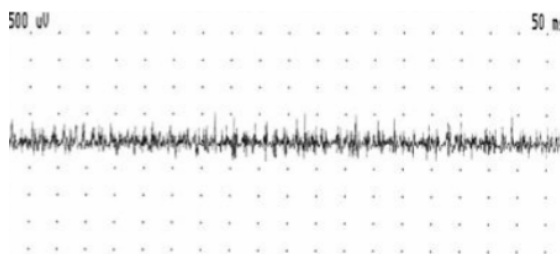
- Immunomarquage (marqueur histologique) —> anticorps anti-dystrophine, sur un muscle normal on va voir chaque fibre musculaire qui est entourée de dystrophine (*image de gauche*) alors qu'en cas de myopathie, il n'y en a plus donc la coupe sera blanche (*image de droite*).



- Western blot (marqueur biochimique) —> la bande de la dystrophine est absente.



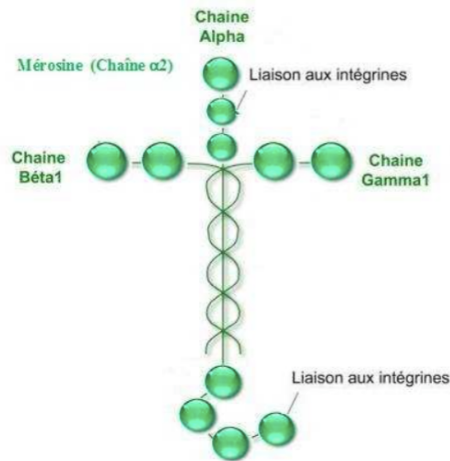
- Dosage des micro ARN 1, 133a et 206 (marqueur biochimique)
- Dosage de la créatine phosphokinase CPK (marqueur biochimique) qui est augmentée de 20 à 100 fois chez la personne atteinte de myopathie de Duchenne. En effet comme il n'y a plus de dystrophine, le cytoplasme est fragilisé et toute la CPK passe dans le sang.
- Chromatographie en phase liquide haute performance (marqueur biochimique) pour détecter la mutation sur le gène de la dystrophine
- Electromyogramme (marqueur physiologique) —> pics de très faible amplitude chez un sujet atteint de myopathie (*image à droite*) par rapport au sujet normal (*image à gauche*).



## • Myopathies congénitales

Ces formes de myopathie sont autosomique récessives. C'est un groupe hétérogène d'affections pouvant se manifester précocement, et qui s'accompagnent d'altérations dystrophiques du muscle.

La protéine en cause est la mérosine qui est une des chaînes de la laminine 2. La laminine permet l'adhésion des cellules à la lame basale, ainsi que la différenciation, la croissance et la migration.



La chaîne alpha-2 de la laminine est la mérosine. Celle-ci intervient avec l'alpha-dystroglycane et est portée par le bras long du chromosome 6.

En absence de mérosine ou si la mérosine est anormale, on a une maladie myogène congénitale.

Dans le cas des maladies musculaires myogènes, l'électromyogramme est modifié (comme pour les maladies neurogènes), mais la vitesse de conduction est normale. Il y a une augmentation des créatinines kinases sériques et les anticorps anti-acétylcholine sont nuls.

Il existe aussi des myopathies toxiques et médicamenteuses qui sont dues à certains corticoïdes et rétroviraux, ainsi que des myopathies endocriniennes. *Le prof n'a pas plus développé sur ces maladies.*

### **III. Maladies musculaires avec atteinte de la synapse neuro-musculaire**

Le dernier type de maladie musculaire, après les maladies neurogènes (atteinte du motoneurone alpha) et les maladies myogènes (atteinte de la fibre musculaire), est l'atteinte de la jonction neuro-musculaire, c'est la myasthénie.

Il y a une échelle qui est l'évaluation de la force musculaire pour savoir si le sujet est atteint de myasthénie. C'est un score prenant en compte différents critères (maintien des membres fléchis, flexion de la tête, passage assis/ debout, mastication, oculomotricité, déglutition, phonation...).

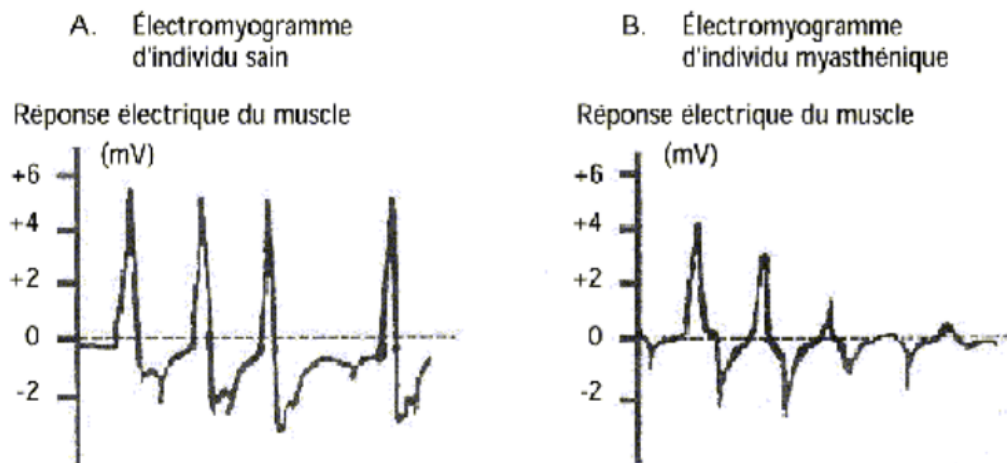
En conditions normales, le neurotransmetteur de la jonction neuro-musculaire est l'acétylcholine. Après une brève stimulation, l'acétylcholine est libérée, elle agit sur le muscle et est recaptée.

Lors du fonctionnement normal de la synapse, après des stimulations nerveuses répétées, on a un épuisement pré-synaptique.

Si le sujet est myasthénique, on a une diminution des récepteurs à l'acétylcholine. La transmission neuromusculaire est altérée, elle sera en effet plus faible et le sujet va s'épuiser plus vite.

Cette altération des récepteurs peut être due à des anticorps qui bloquent le site actif des récepteurs à l'acétylcholine. Le site actif ne peut plus recevoir d'acétylcholine, il y a donc épuisement de la synapse. C'est une des hypothèses expliquant la myasthénie.

Sur l'électromyogramme d'un sujet sain, il y a toujours une reprise après l'épuisement. Chez un sujet myasthénique, le pic diminue de plus en plus au fur et à mesure des stimulations jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de réponse possible.



On peut également doser les anticorps anti-acétylcholine, s'ils augmentent, cela traduit une myasthénie.

La vitesse de conduction nerveuse et les créatinines kinases sont normales.

*Le tableau suivant a été complété au fur et à mesure du cours par le prof et résume les trois types de maladies musculaires.*

	Electromyogramme	Vitesse de conduction nerveuse	Créatinines kinases sériques	Anticorps anti-acétylcholine
NEUROGÈNE	-	-	Normales	0
MYOGÈNE	-	Normale	+	0
MYASTHÉNIE	Variable	Normale	Normales	+

*Ptite dédi à ceux qui auront le temps de lire cette ronéo 12  
Mais surtout à ceux qui l'ouvriront au mois d'août  
Et aussi aux autres ronéotypeurs qui avaient enfin une bonne excuse pour pas bosser cette semaine  
Bonnes fêtes à tous et bon courage...*