

# Anoctamine-5

## Introduction

Dans de nombreux processus physiologiques le calcium active spécifiquement des canaux pour le chlore (Cl<sup>-</sup>). De récentes revues traitent le sujet de ces [canaux chlore sensibles au calcium \(CaCCs\)](#). De tels canaux furent décrits pour la première fois dans les années 1980 à la suite de [travaux sur les œufs de Xénope](#).

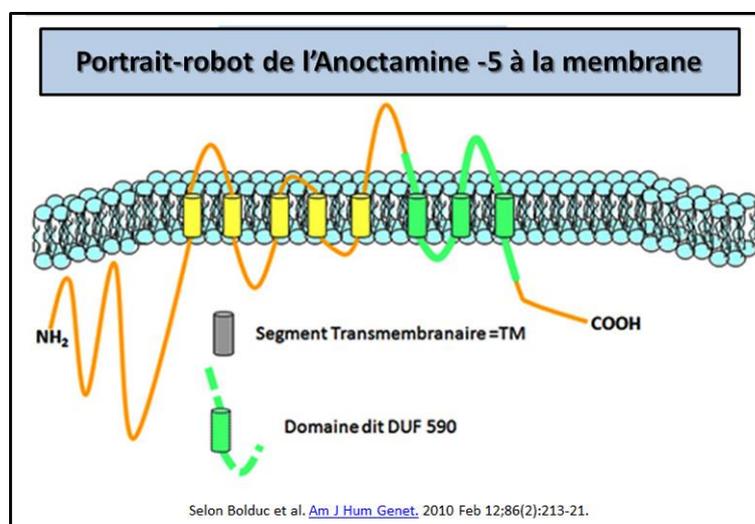
On va alors parler dans la littérature de protéines trans-membranaires que l'on baptisera d'abord TMEM de type 16A puis progressivement de la famille des [Anoctamines avec pour code de cette dernière l'ANO1](#).

Cette protéine présente de [multiples segments trans-membranaires](#) (8 pour la forme ANO1 que l'on identifie aussi [comme TMEM 16A](#)) et de plus possède de nombreux sites de phosphorylation. Puis rapidement il y a eu découverte que plusieurs protéines du même type existaient et formaient une famille de protéines capable de réaliser un canal pour le chlore (Cl<sup>-</sup>).

Il existe dix membres de cette [famille des ANOs](#) dont on peut consulter les [versions différentes](#) dans une banque des séquences protéiques.

On trouvera dans le tableau ci-dessous des informations sur la séquence d'une forme particulière pour une Anoctamine parmi les nombreuses séquences de la même famille (On dénombre actuellement 10 séquences différentes codants pour des formes différentes pour les Anoctamines). Il s'agit de (ANO5), Anoctamine de type 5 qui est plus particulièrement impliquée dans des dystrophies musculaires distales que l'on référence sous le terme de dystrophies des ceintures et cette dernière serait maintenant référencée sous le sigle LGMD2L mais aussi la Dystrophie musculaire Distale connue sous le sigle MMD3.

Toutes les propriétés répertoriées dans les banques de données sont résumées dans un tableau avec le lien suivant : ([Q75V66](#)).



Cette protéine dite Anoctamine-5 possède un portrait-robot dont la représentation est donnée ci-dessous en accord avec les [données contenues dans l'article de référence](#). Il existe au sein de l'Anoctamine-5 des séquences trans-membranaires au nombre de **8** bien identifiées. Cependant il existe au niveau de cette structure dans la partie C-terminale, une zone en vert sur ce schéma qui concerne les [trois dernières séquences Trans-Membranaires](#) = TM. L'exacte fonction de cette zone [dite DUF590, InterPro IPR007632](#) reste encore à définir.

Actuellement l'analyse des cristaux pour les Anoctamines est en cours et la réelle structure tridimensionnelle de cette protéine va permettre de mieux définir la conformation de cette protéine qui possède 8 séquences trans-membranaires comme c'est le cas pour l'analyse présentée dans l'[article en référence](#).

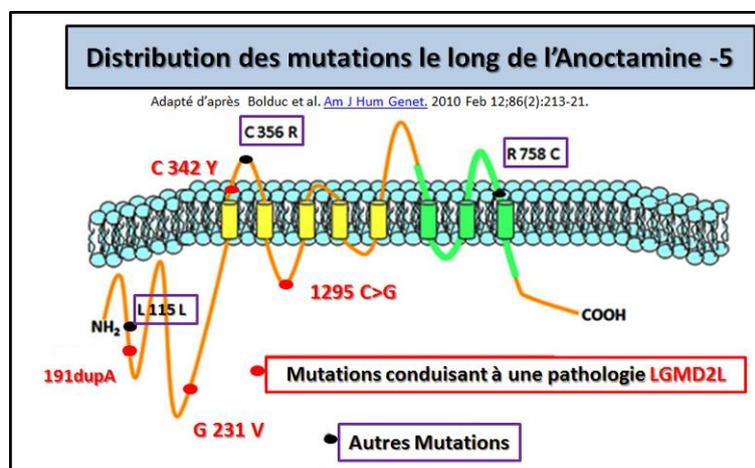
## Relation entre Anoctamine-5 et Pathologies.

Parmi les protéines formant des canaux spécifiques pour le chlore [on trouve les ANOs \(ou TMEMs\)](#), mais également une classification laissant apparaître l'originalité de ces protéines c'est-à-dire d'avoir des segments trans-membranaires on parle de la famille des [TMC \(TransMembrane Channel-like\)](#). Ainsi on parle actuellement que les [TMEMs pourraient alors former une classe particulière](#) de canaux à chlore. Des mutations récessives ont été trouvées dans ANO5 et elles aboutissent à une branche proximale de dystrophie musculaire des ceintures (LGMD2L/MMD3).

Cela résulte de l'étude de trois familles canadiennes-françaises, d'une famille néerlandaise et une famille finlandaise dont la dystrophie musculaire distale de type myopathie de Miyoshi n'était pas corrélée à un défaut de Dysferline.

Ces mutations trouvées sur la protéine Anoctamine de type 5 sont responsables des défauts rencontrés dans les LGMD 2L/MMD3 (matérialisées par un point rouge sur l'illustration) et sont décrites en détail dans [l'article original](#) et l'illustration présentée ci-dessous permet de visualiser leurs situations sur la protéine elle-même.

Une nouvelle mutation qui se traduit par un saut d'exon concerne le résidu [Leucine 115](#) de l'Anoctamine-5 comme cela est rapporté dans l'article en référence. Une nouvelle mutation chez un patient atteint de LGMD2L est décrite pour un acide aminé, la [Cystéine en position 342](#) et son remplacement par une Tyrosine (Y)



Plusieurs patients avec des mutations au sein de l'Anoctamine-5 sont finalement [atteint de cardiomyopathie Dilatée](#).

Un nouveau travail rapporte que des mutations associées à L'Anoctamine-5 présente un profil chez le patient d'une dystrophie musculaire qu'une étude de [l'IRM musculaire](#) donne un bon suivi. Les muscles des patients LGMD 2L/MMD3 présentent une réparation de la membrane qui est défectueuse comme cela était le cas dans les déficiences en Dysferline (LGMD 2B, voir chapitre « la Dysferline »). Pour autant le cas de ces mutations ne se limite pas aux LGMD 2L/ MMD3 et en effet sur l'illustration sont répertoriés d'autres types de mutations qui conduisent à des pathologies cliniquement différentes.

En fait, il est connu depuis quelques années que les défauts de l'ANO5 sont la cause [des dysplasies de type GDD \(Gnathodiaphyseal Dysplasia\)](#). En fait la protéine découverte initialement fut baptisée GDD1 en rapport avec cette pathologie et les premières [mutations](#) détectées sur cette protéine figurent dans cet article, mais [dont la caractérisation de la protéine chez la souris est plus ancienne](#). Des mutations ont également été comptabilisées sur [la TMEM A16](#) et résultèrent en une altération de la fonctionnalité des canaux chlore sensible au calcium (CaCCs). Un bilan sur [l'expression de cette protéine et son importance pour les canaux chlore](#) peut être également consulté dans un article récent pour une totale connaissance sur ce chapitre.

- **En résumé**, les dystrophies musculaires des ceintures sont un groupe de troubles pathologiques dont l'hétérogénéité génétique et clinique est large. Récemment, des mutations dans le gène **ANO5**, qui code pour un canal chlorure activé par le calcium et qui fait partie de la famille des protéines baptisées « Anoctamines », ont été identifiés dans cinq familles dont l'un des deux troubles précédemment identifiés, myopathie des ceintures de type 2L, et la dystrophie musculaire de Miyoshi qui n'implique pas la déficience en Dysferline. L'[article ici en référence](#) indique un procédé pour dépister le type **LGMD 2L / MMD3** de pathologie dans le stade précoce de son évolution en étant attentif à un taux élevé de **créatine kinase** associé avec la fréquente mutation c.191dupA.

## Récentes mises à jour depuis 2012

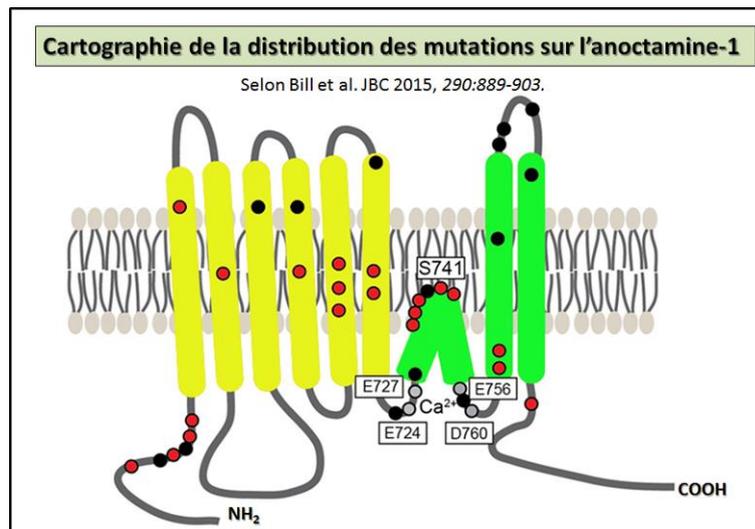
De [nouvelles mutations sont identifiées sur le gène codant pour l'Anoctamine](#) et cela conduit à une pathologie distale de **type Miyoshi-like**. Ces nouvelles mutations qui se traduisent par une Dystrophie musculaire de type LGMD2L sont maintenant clairement identifiées [sur la protéine baptisée Anoctamine-5](#). On identifiera avec ce travail une mutation référencée comme **c.352delG** qui va conduire à un codon stop prématuré (**p.Glu118LysfsSTOP23**) et dans une zone conservée de l'Anoctamine, la mutation référencée **c.1025G>A**, qui donne la conversion du résidu **Cystéine 342 en Tyrosine**.

- Chez les patients référencés comme atteints d'une dystrophie musculaire de type Miyoshi (=Miyoshi Muscular Dystrophy =MMD) il est maintenant possible de distinguer 3 classes dites MMD1, MMD2 et MMD3.
- Il est clair que la protéine déficiente respectivement associée à chacune de ces classes de MMD est : a) pour MMD1, la Dysferline ; b) [pour MMD3, L'Anoctamine-5](#); et c) pour la MMD2 une relation avec une protéine codée par un gène situé sur le chromosome 10. Des détails supplémentaires sont à consulter dans l'article en référence.

- [Un constat](#) : La déficience en « Anoctamine 5 (ANO5) » conduit à une pathologie de type LGMD2L qui ressemble beaucoup à l'autre pathologie LGMD2B qui est due à une déficience en Dysferline.
- Le [phénotype des souris déficientes en Dysferline n'est pas sauvé](#) par l'utilisation d'un adénovirus permettant le transfert de la protéine **Anoctamine de type 5**.

Un [bilan clinique, pathologique et moléculaire](#) permet de faire le point sur les Dystrophies qu'une Anoctamine défectueuse peut engendrer. Cependant, en 2014 l'anoctamine-5 est trouvée exprimée dans le [tractus gastro-intestinal des rongeurs](#).

Une nouvelle approche fait le bilan de l'[entraînement aérobie](#) chez des patients atteints d'une myopathie avec une Anoctamine 5 défectueuse et une hyperckemie.

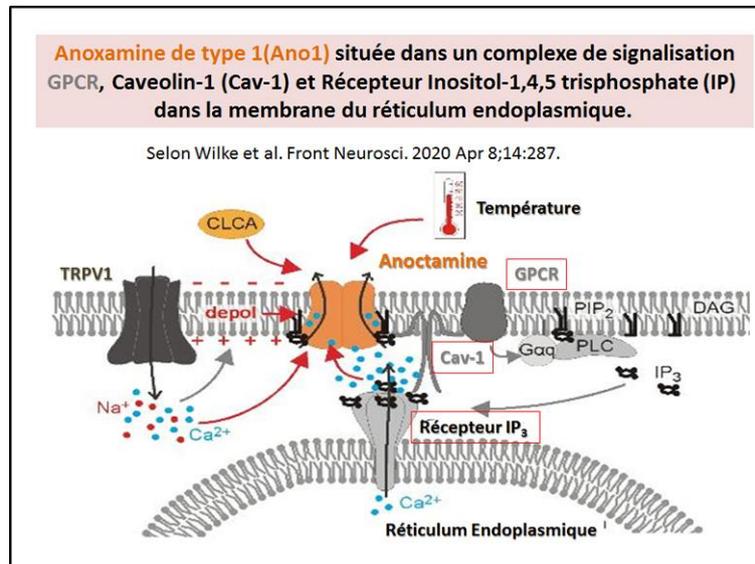


Une analyse toute récente sur une Anoctamine de type 1 (AON1) donne des informations supplémentaires. On y trouve une illustration schématique de la topologie prédictive de l'arrangement spatial légèrement modifié de cette Anoctamine de type 1 par rapport à celui de l'**AON5**. Sur cette représentation il est indiqué par des **taches circulaires grises** la zone de chélation du calcium ainsi que la position de l'ensemble des mutations actives (cercles rouges) et inactives (cercles noir) qui figurent au niveau de l'insertion de cette protéine dans la membrane.



indiquant les domaines topologiques cytoplasmiques ou extracellulaires. Les mutations de couleur noire indiquent des mutations connues, tandis que les mutations figurant en rouge indiquent de nouvelles mutations.

**En 2019** une revue fait le bilan sur [la contribution des formes Anoctamines 1 et 6](#) en relation de la **survie et/ou de la mort cellulaire**. (consulter l'article en référence avec de nombreux schémas récapitulatifs).

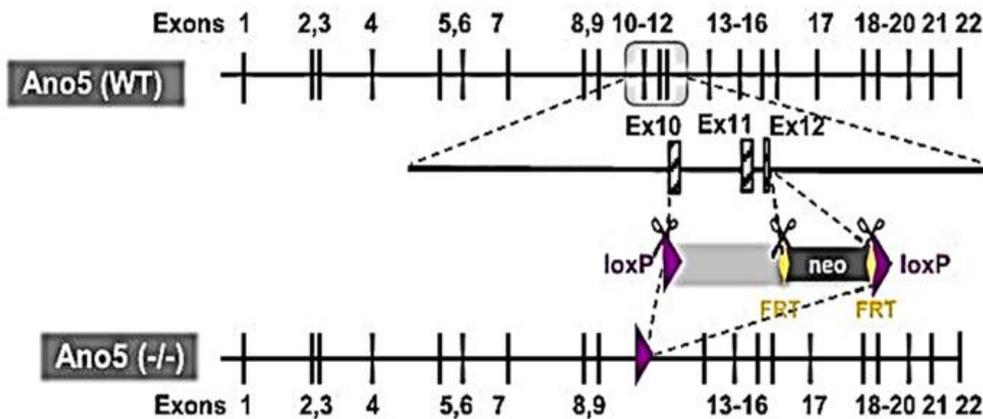


**En 2020**, Une étude montre l'activation différentielle des canaux Chlore dépendants du Calcium au niveau les nocicepteurs. Une vue d'ensemble de la régulation distincte des canaux Calcium-et du chlore impliquant l'anoxtamine et la bestrophine. La protéine **Anoxtamine de type 1(Ano1)** se trouve dans un complexe de signalisation avec GPCR, Caveolin-1 (Cav-1) et le récepteur Inositol-1,4,5 trisphosphate (IP) dans la membrane du réticulum endoplasmique. Cette proximité des molécules de signalisation permet une élévation de Calcium localisée qui est suffisante pour activer le canal Chlore de l' Ano1, tandis que l'augmentation de Calcium médiée par les VGCC n'affecte pas les courants qui impliquent l'anoxtamine. Cette étude permet de mettre en évidence que [le Chlorure est un ion que l'on sous-estime](#) **dans le mode de fonctionnement des nocicepteurs**. Un schéma didactique présente la situation comme cela est montré ci-contre avec plus de détails dans l'article en référence.

Par ailleurs, la **dystrophie musculaire liée à l'ANO5 est une maladie hétérogène avec différents phénotypes cliniques** ainsi que différents schémas histologiques, qui peuvent même imiter une myopathie mitochondriale. Les résultats de cette étude en référence sont à consulter et fournissent des connaissances supplémentaires **sur les caractéristiques cliniques, histologiques et pathologiques liées aux mutations ANO5**.

Dans ce travail il est question du [spectre phénotypique des myopathies avec mutations récessives de l'anoxtamine-5](#). Dans la cohorte étudiée il est confirmé que la grande variabilité clinique contribue à élargir le spectre génétique des myopathies liées à des mutation au sein de l'ANO5.

## Modifications génétiques utilisées pour perturber le gène *Ano5* de la souris dans le modèle de souris *ANO5*<sup>-/-</sup>.



Selon Thiruvengadam G, et al., J Neuromuscul Dis. 2021;8(s2):S243-S255

En 2021, cette analyse [présente le modèle de souris Anoctamin 5 Knockout qui permet de récapituler la pathologie musculaire LGMD2L et offre un aperçu des déficits fonctionnels in vivo.](#) Les mutations du gène de l'anoctamine 5 (*Ano5*) qui entraînent l'absence d'expression ou de fonction de la protéine ANO5 sont à l'origine de la dystrophie musculaire des ceintures (LGMD) 2L/R12 et de la dystrophie musculaire de Miyoshi (MMD3). Cependant, le phénotype dystrophique observé dans les muscles des patients n'est pas uniformément récapitulé par l'inactivation d'ANO5 dans les modèles animaux de LGMD2L. Il est décrit ici la génération d'un modèle murin de LGMD2L généré par une délétion hors cadre ciblée du gène *Ano5*. Ce modèle présente une perte musculaire progressive, une faiblesse musculaire accrue et des épisodes persistants de régénération des myofibres sans inflammation musculaire chronique, ce qui récapitule la dystrophie musculaire squelettique légère à modérée observée chez les patients atteints de LGMD2L. **Il est montré que ces caractéristiques du muscle déficient en ANO5 ne sont pas associées à un changement dans l'activité du canal chlorure sarcolemmal activé par le calcium ou à une myogenèse régénérative in vivo compromise.** L'utilisation de ce modèle de souris permet de mener des recherches in vivo sur le rôle fonctionnel d'ANO5 dans la santé musculaire et de développer des thérapies précliniques pour la LGMD2L. Un schéma présente la génération et la caractérisation génétique du modèle de souris *ANO5*<sup>-/-</sup>. (Ainsi un schéma montrant les modifications génétiques utilisées pour perturber le gène *Ano5* de la souris dans le modèle de souris *ANO5*<sup>-/-</sup>. Le modèle de souris *ANO5*<sup>-/-</sup> a été créé à partir du gène WT et de la recombinaison homologue du génome qui a conduit aux souris *ANO5*<sup>-/-</sup>.

En 2022, [l'article suivant présente la dystrophie musculaire à l'anoctamine 5 : Rapport de deux cas avec des phénotypes et des génotypes différents dans le sous-continent indien.](#) Les patients porteurs de mutations récessives dans ANO5 présentent des symptômes variables allant d'une hyperCKémie asymptomatique et d'une myalgie induite par l'exercice à une faiblesse musculaire proximale et/ou distale. Il est présenté ici les résultats cliniques,

pathologiques et moléculaires de deux patients non apparentés atteints de dystrophie musculaire liée à ANO5. Quatre-vingt-seize cas de dystrophie musculaire identifiés histologiquement ont été soumis à un séquençage de nouvelle génération utilisant un panel personnalisé de 54 gènes (Illumina Design Studio). Deux patients ont été diagnostiqués avec une MD liée à ANO5. L'un d'eux présentait une mutation homozygote pathogène c.1406G>A dans l'exon 14, tandis que l'autre présentait une nouvelle mutation hétérozygote c.2141C>G dans l'exon 19 du gène ANO5. Les deux patients présentaient deux phénotypes différents (la myopathie des ceintures et la myopathie de Miyoshi) et des schémas histomorphologiques différents. La biopsie musculaire d'un patient a en outre révélé des dépôts amyloïdes dans les parois des vaisseaux sanguins interstitiels. La myopathie liée à l'ANO5 est une maladie hétérogène avec différents phénotypes cliniques et génotypes. Toutes les biopsies musculaires de dystrophies musculaires non classées devraient être soumises à une coloration au rouge Congo. **Les résultats de cette étude suggèrent que le dépistage du gène ANO5 devrait constituer une étape précoce dans le bilan diagnostique des patients présentant une dystrophie musculaire non diagnostiquée et une hyperCKémie asymptomatique persistante, même lorsque l'histomorphologie de la biopsie musculaire est normale.**

L'étude concerne [plus précisément les maladies musculaires liées à l'ANO5](#) : **De la clinique et de la génétique à la pathologie et aux stratégies de recherche.** Il est résumé ici le spectre clinique, les données d'imagerie et les résultats de la recherche moléculaire, ainsi que les résultats de la modélisation animale, qui ont fait progresser de manière significative la compréhension des mécanismes sous-jacents aux maladies musculaires liées à l'ANO5. Étant donné que l'on manque encore d'informations histologiques précises sur les processus inflammatoires qui se déroulent dans les muscles des patients, une étude (immuno)histologique a été réalisée sur des biopsies provenant de six patients atteints d'ANO5, montrant une accumulation focale de fibres nécrotiques, de légères variations de la taille des fibres et de la myophagocytose. En outre, les données d'IRM de quatre patients atteints d'ANO5 (y compris un suivi de 10 ans chez un patient) sont présentées et discutées dans le contexte des résultats d'IRM précédemment publiés. Ainsi, les données présentées dans cet article, qui combinent une revue de la littérature et des résultats myopathologiques propres, abordent les tendances scientifiques et les questions ouvertes sur les maladies musculaires liées à l'ANO5, ce qui serait d'un intérêt significatif pour une large communauté de spécialistes des maladies neuromusculaires. **En conclusion, il n'existe pas de corrélation génotype-phénotype claire, et les maladies musculaires liées à l'ANO5 pourraient représenter la prochaine entité d'un continuum clinique avec des degrés variables de pathologies des cellules musculaires.** En outre, les résultats des études précliniques ont permis de définir des modèles cellulaires et animaux appropriés, caractérisés par certaines pathologies histologiques et fonctionnelles ressemblant au phénotype humain. Ces modèles pourraient servir de systèmes appropriés pour tester les concepts interventionnels à l'avenir.

**En 2023, [de nouvelles données figure dans l'analyse sur la maladie musculaire liée à l'anoctamine-5](#) : Résultats cliniques et génétiques dans une grande cohorte européenne.** Aucune association significative n'a été identifiée entre le mode de vie sportif ou non sportif avant l'apparition des symptômes et l'âge à l'apparition des symptômes, ni aucun des résultats moteurs. Les atteintes cardiaques et respiratoires nécessitant un traitement sont très rares. Quatre-vingt-dix-neuf variantes pathogènes différentes ont été identifiées dans ANO5, dont 25 étaient nouvelles. Les variantes les plus fréquentes étaient c.191dupA (p.Asn64Lysfs\*15) (57,7 %) et c.2272C > T (p.Arg758Cys) (11,1 %). Les patients présentant deux variantes de perte de fonction ont utilisé des aides à la marche à un âge significativement plus précoce (P = 0,037). Les patients homozygotes pour la variante c.2272C > T ont

montré une utilisation plus tardive des aides à la marche par rapport aux patients avec d'autres variantes ( $P = 0,043$ ). La **conclusion de l'article montre qu'il n'y a pas de corrélation entre le phénotype clinique et les variantes génétiques spécifiques, et que les LGMD-R12 et MMD3 affectent principalement les hommes qui ont un résultat moteur significativement plus mauvais.** Notre étude fournit des informations utiles pour le suivi clinique des patients et pour la conception d'essais cliniques avec de nouveaux agents thérapeutiques.

On trouve ici [des informations sur la Maladie musculaire liée à l'anoctamine-5 : résultats cliniques et génétiques dans une grande cohorte européenne.](#) La maladie musculaire liée à l'anoctamine-5 est causée par des variants pathogènes bialléliques du gène de l'anoctamine-5 (ANO5) et présente des phénotypes cliniques variables : dystrophie musculaire des ceintures de type 12 (LGMD-R12), dystrophie musculaire distale de type 3 (MMD3), myopathie pseudométabolique ou hyperCKaémie asymptomatique. Dans cette étude rétrospective, observationnelle et multicentrique, nous avons rassemblé une vaste cohorte européenne de patients atteints d'une maladie musculaire liée à l'ANO5 afin d'étudier le spectre clinique et génétique et les corrélations génotype-phénotype. Nous avons inclus 234 patients issus de 212 familles différentes, provenant de 15 centres de 11 pays européens. Le sous-groupe le plus important était le LGMD-R12 (52,6 %), suivi par la myopathie pseudométabolique (20,5 %), l'hyperCKémie asymptomatique (13,7 %) et le MMD3 (13,2 %). Dans tous les sous-groupes, il y avait une prédominance masculine, sauf pour la myopathie pseudométabolique. L'âge médian de tous les patients au moment de l'apparition des symptômes était de 33 ans (de 23 à 45 ans). Les symptômes les plus fréquents au début de la maladie étaient la myalgie (35,3 %) et l'intolérance à l'effort (34,1 %), tandis que lors de la dernière évaluation clinique, les symptômes et signes les plus fréquents étaient la faiblesse proximale des membres inférieurs (56,9 %) et l'atrophie (38,1 %), la myalgie (45,1 %) et l'atrophie du muscle gastrocnémien médian (38,4 %). La plupart des patients sont restés ambulatoires (79,4 %). Lors de la dernière évaluation, 45,9 % des patients atteints de LGMD-R12 présentaient en outre une faiblesse distale des membres inférieurs et 48,4 % des patients atteints de MMD3 présentaient également une faiblesse proximale des membres inférieurs. L'âge d'apparition des symptômes ne diffère pas significativement entre les hommes et les femmes. Cependant, les hommes avaient un risque plus élevé d'utiliser des aides à la marche plus tôt ( $P = 0,035$ ). Aucune association significative n'a été identifiée entre le mode de vie sportif ou non sportif avant l'apparition des symptômes et l'âge à l'apparition des symptômes, ni aucun des résultats moteurs. Les atteintes cardiaques et respiratoires nécessitant un traitement sont très rares. Quatre-vingt-dix-neuf variantes pathogènes différentes ont été identifiées dans ANO5, dont 25 étaient nouvelles. Les variantes les plus fréquentes étaient c.191dupA (p.Asn64Lysfs\*15) (57,7 %) et c.2272C>T (p.Arg758Cys) (11,1 %). **Les patients présentant deux variantes de perte de fonction ont utilisé des aides à la marche à un âge significativement plus précoce ( $P = 0,037$ ).** Les patients homozygotes pour la variante c.2272C>T ont montré une utilisation plus tardive des aides à la marche par rapport aux patients avec d'autres variantes ( $P = 0,043$ ). La conclusion indique qu'il n'y a pas de corrélation entre le phénotype clinique et les variantes génétiques spécifiques, et que les LGMD-R12 et MMD3 affectent principalement les hommes qui ont un résultat moteur significativement plus mauvais. Cette étude fournit des informations utiles pour le suivi clinique des patients et pour la conception d'essais cliniques avec de nouveaux agents thérapeutiques.

## **En conclusion**

Pour suivre l'évolution des connaissances sur l' **Anoctamine de type 5**, il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

A) **Anoctamine-5** avec son lot de références historiques.

B) Les principales maladies actuellement connues qui résultent d'une mutation ou d'un défaut dans la protéine considérée (avec des références associées).

- **Protéine** : ANOCTAMIN 5 ; [ANO5](#)
- **Pathologies associées** : GNATHODIAPHYSEAL DYSPLASIA ; [GDD](#) ; MIYOSHI MUSCULAR DYSTROPHY 3 ; [MMD3](#);

MUSCULAR DYSTROPHY, LIMB-GIRDLE, TYPE 2L ; [LGMD2L](#).