Sarcoglycane Bêta

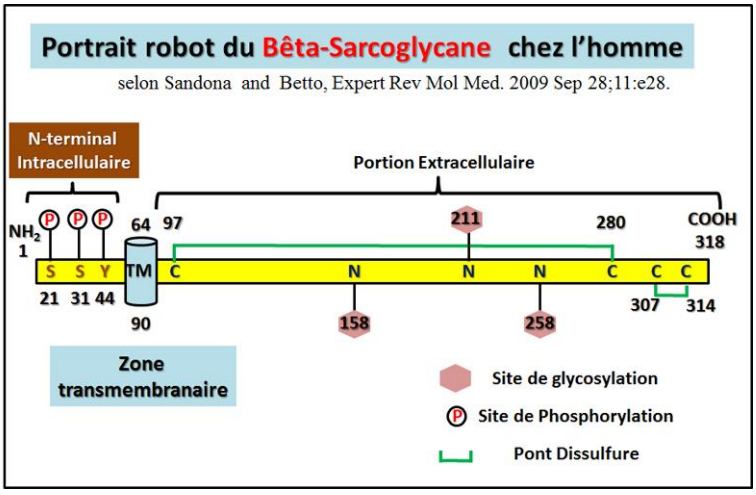
INTRODUCTION

Parmi les Sarcoglycanes au nombre total de 6 actuellement qui sont toutes des glycoprotéines situées au sein du Sarcolemme, parmi les premières identifiées le fut en 1989 avec les travaux pionniers du groupe de Campbell, et classée selon son poids moléculaire comme la protéine dite « 43DAG » (= A3b) mais à l'origine répertoriée par le groupe du Professeur Ozawa en 1990 comme une protéine d'environ 43 kDa, que l'on va séparer du complexe des protéines associées à la Dystrophine avec le dérivé sucré « n-octyl beta-D-glucoside ». Rapidement donc cette protéine fut identifiée comme appartenant au complexe des Sarcoglycanes

Appartenant au groupes des protéines dites **DAGs** (Dystrophin Associated Glycoprotein) puis plus tard associée à un type particulier de dystrophie musculaire , la dystrophie des ceintures (**LGMD** =Limb Girdle Muscular Dystrophy), actuellement on parle de cette protéine en tant **que la Bêta-Sarcoglycane.**

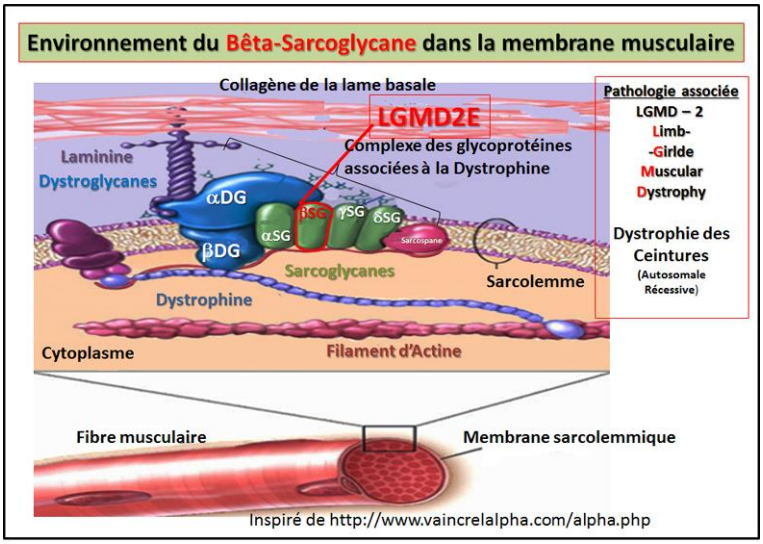
Le Bêta-Sarcoglycane

C'est ainsi comme toutes les Sarcoglycanes une glycoprotéine transmembranaire qui possède au moins 1 site de glycosylation. Dans le tableau suivant on trouvera également toutes les informations sur la séquence primaire de cette protéine. On trouvera par ailleurs de plus amples détails sur la Bêta-Sarcoglycane en consultant les liens SwissProt suivants : Q16585 .

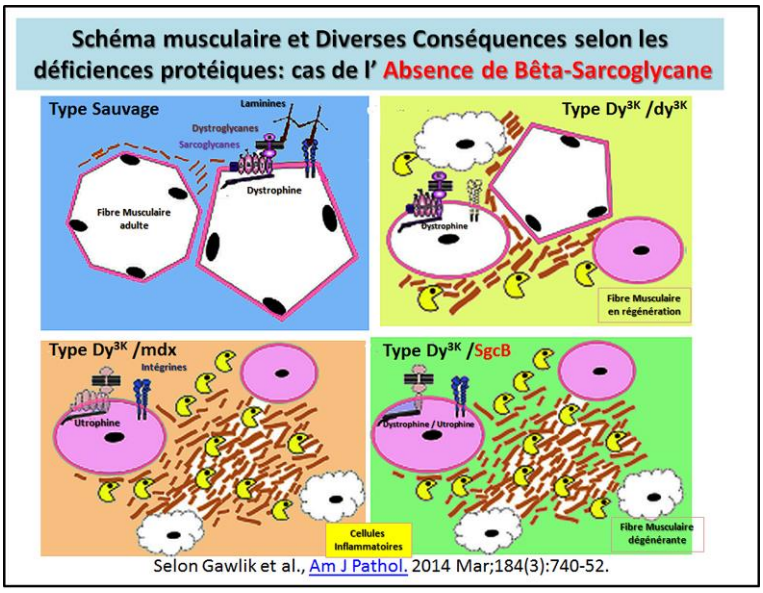


Cette protéine dite »43-DAG », également identifiée comme étant **l'entité A3b**, est un Sarcoglycane relativement unique du fait que c'est un Sarcoglycane qui ne possède pas de forte homologie avec aucune des autres Sarcoglycanes connues au début de la découverte de cette famille de protéine. (voir article relatif). Les mutations concernant cette protéine s'accompagnent d'une perte de la stabilité du complexe des Sarcoglycanes. Le schéma du Bêta-Sarcoglycane avec sa séquence transmembranaire et la particularité de la présence de son extrémité C-terminale du côté de la matrice extracellulaire. Comme précédemment la

zone transmembranaire est bien sous forme d'un cylindre avec une partie intracellulaire donc cytoplasmique indiquée en brun. Le portrait-robot de la forme Bêta du Sarcoglycane possède certains résidus glycosylés (Asn-158, -211, et -258) et/ou phosphorylés (Ser-21), (Ser-31) et (Tyr-43), avec de plus 2 ponts dissulfures (C307-C314) et (C97-C280) colorés en Vert comme cela est illustré ci-contre.

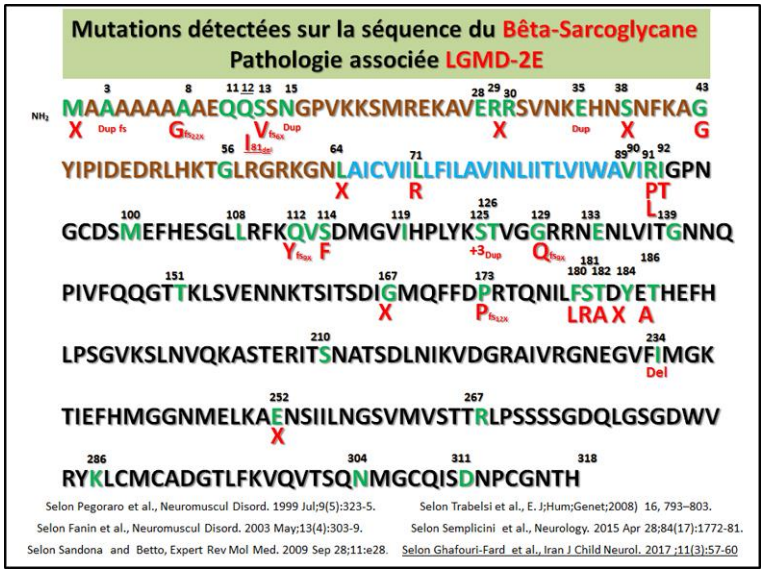


Ainsi le Bêta Sarcoglycane sera ancré à la membrane cytoplasmique du muscle squelettique et va se trouver exposée dans la matrice extracellulaire avec pour environnement la forme Alpha Sarcoglycane mais aussi d'autres Sarcoglycanes. Un schéma récapitulatif de l'ensemble Dystrophine et glycoprotéines associées est repris du site AFM dédié plus particulièrement à la forme Alpha des Sarcoglycanes et se présente ci-contre, avec d'indiqué son ancrage membranaire et sa glycosylation dans la zone extracellulaire.

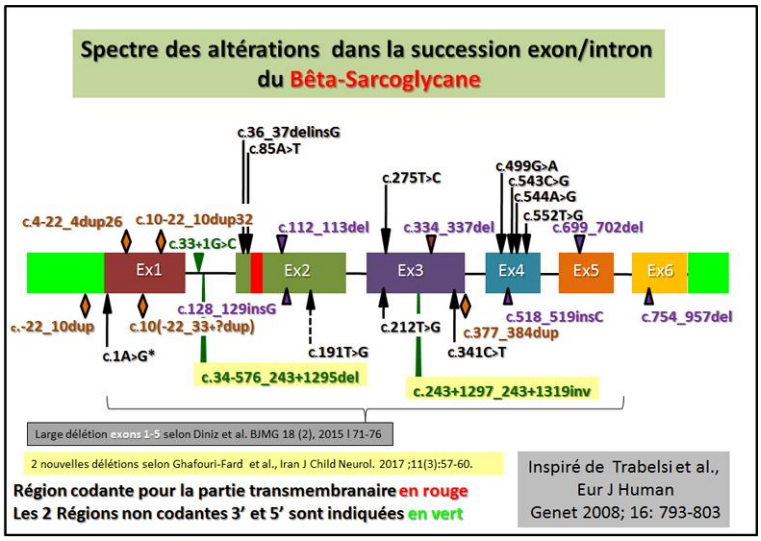


En 2014, un travail identifie des fuites de calcium au niveau des récepteurs de la Ryanodine chez des souris **déficientes en ß-Sarcoglycane**. Un plus récent travail constate que la fibrose et l'inflammation est plus importante chez un animal déficient en Bêta-Sarcoglycane qu'en

Dystrophine. De plus, la **Perte de la Dystrophine et de la forme Bêta du Sarcoglycane** aggrave considérablement le phénotype des animaux **déficients pour la chaîne A2 de la Laminine.** Dans ce travail selon le modèle considéré il y a présence d'un phénotype plus ou moins aggravé. Il n'y a guère de cellules musculaires saines, et des fibres en régénération sont petites et subissent une rapide dégénérescence. Il y a une augmentation spectaculaire de l'inflammation et de la production de matrice interstitielle. En conséquence, les fibres musculaires des souris déficientes en Bêta-Sarcoglycane sont très légèrement tassées, ce qui représente une condition musculaire amoindrie avec une présence réduite de Dystroglycanes et de Sarcoglycanes au niveau du sarcolemme, avec une augmentation de l'Utrophine,mais une expression inchangée de l' Intégrine A7B.Une illustration (avec plus de détails dans l'article original) montre les différents types de situations des cellules musculaires en particulier avec déficit en Bêta-Sarcoglycane comme cela est présenté ci-contre.



Pour autant la littérature autour des connaissances acquises sur la Bêta Sarcoglycane permet de proposer sur la séquence primaire de cette protéine les principales mutations déjà connues comme cela est indiqué sur une récente publication de 2015 avec compilation d'informations indiquées dans d'autres articles sur le sujet. La séquence primaire de la Bêta-Sarcoglycane est reprise dans un schéma avec les informations sur les sites de mutations comme illustré ci-contre.



La séquence primaire est actuellement totalement connue et on trouve des données sur l'arrangement du gène codant pour le Bêta-Sarcoglycane en consultant le lien suivant avec les données précises sur les 6 exons correspondant. Ainsi à côté des données cumulées avec les mutations bien identifiées précédemment et indiquées sur la séquence primaire du Bêta-Sarcoglycane, existent de plus larges informations sur le gène codant pour le Bêta-Sarcoglycane avec les altérations de bases au long de la succession des introns et des exons qui conduisent à une déficience protéique. . Cela est illustré par une compilation des données acquises en 2016 avec le schéma présenté ci-contre.

Le **déficit sarcolemmiques du complexe des Sarcoglycanes** chez un garçon âgé de 18-mois et d'origine turc présente une grande délétion dans le gène du Bêta-Sarcoglycane qui couvre de l'exon 1 à l'exon 3, voir détails ans l'article en référence. Ceci est indiqué ans le schéma des exons présenté plus haut

Perspectives de Thérapie

Dès 2002 des tentatives de transfert du gène codant pour la forme Bêta du Sarcoglycane semblait donner des résultats encourageant pour traiter une éventuelle déficience. **Notons cependant qu' en 2015**, il a été possible de réaliser **un** transfert efficace du gène codant pour la Bêta-Sarcoglycane ce qui conduit à une diminution de la fibrose et redonne de la vigueur musculaire si l'expérience est faite chez les souris déficiente modèle de la pathologie LGMD2E.

En 2017, cette nouvelle étude démontre que le ciblage systématique de la distribution du Bêta Sarcoglycane via un vecteur AAV systémique dans les muscles cardiaque et squelettique permet améliorer les déficits histologiques et fonctionnels chez les souris ayant une pathologie de **type LGMD2E.**

Dernièrement, et cela est intégré dans les illustrations des résidus mutés et dans la séquences des exons codant pour la forme bêta du Sarcoglycane, il y a maintenant suite à une étude sur une famille d'Iran , **détection de 2 nouvelles délétions**.

En 2018, une nouvelle étude porte sur des analyses morphologiques et fonctionnelles des muscles squelettiques à partir d'un **modèle animal immunodéficient de dystrophie musculaire des ceintures de type 2E**. Il y est ainsi constaté que l'absence de système

immunologique entrainait une augmentation de la calcification des muscles striés sans nuire à la performance du muscle extenseur des orteils long. Les **muscles Sgcb / Rag2 / γc-null ont montré une réduction significative des mésoangioblastes alcalins** phosphatés positifs. En conclusion il apparait évident que le système immunologique contrecarre la dégénérescence des muscles squelettiques dans le modèle murin de la LGMD2E.

En 2020, on découvre la présence de graisse intramyocardique chez une famille avec la dystrophie musculaire des ceintures de type 2E avec une Cardiomyopathie et un constat de mort cardiaque subite. Cette étude présente une femme pakistanaise de 37 ans (proband) présentant une faiblesse des muscles proximaux de la hanche et de l'épaule en raison d'une dystrophie musculaire de Becker présumée auparavant s'est présentée à l'hôpital avec une douleur thoracique non angineuse intermittente. Ses antécédents familiaux étaient significatifs pour la consanguinité entre ses parents, un frère de 35 ans décédé d'une mort cardiaque subite et un frère de 40 ans atteint de cardiomyopathie non ischémique qui a subi un placement de défibrillateur cardiaque implantable pour la prévention primaire. Compte tenu de la présentation atypique de la dystrophie de Becker chez cette femme, nous avons poursuivi des tests génétiques qui ont révélé une **mutation pathogène homozygote de c.-18_8dup26 p.Ala6GlyfsX22 dans le gène codant pour le β-sarcoglycane (SGCB)**, compatible avec **une pathologie de type LGMD 2E.** Sur la base d'une étude préclinique dans un modèle murin de LGMD 2E, il est ainsi engagé **un traitement avec du vérapamil,** ce qui a permis de résoudre **sa douleur thoracique.**

En 2021, cet article porte sur la génération d'une lignée de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) (JUCTCi017-A) à partir d'un patient atteint de dystrophie musculaire des ceintures (LGMD) due à une mutation homozygote p.Lue287Ser fs14* dans le gène SGCB. Les dystrophies musculaires des ceintures (LGMD) constituent un vaste groupe de maladies génétiques hétérogènes caractérisées par une faiblesse musculaire. Dans cette étude, une lignée de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) a été générée à partir de fibroblastes dermiques de patients atteints de LGMD, porteurs d'une mutation homozygote du gène Sarcoglycan Beta (SGCB) ; chr4:52890221, c. 859 delC, p.Lue 287Ser fs14*. Le processus de reprogrammation a été réalisé à l'aide de virus Sendai codant pour les facteurs de Yamanaka. Les iPSC résultantes présentaient une morphologie et un caryotype normaux, exprimaient des marqueurs de pluripotence, démontraient un potentiel de différenciation in vitro en trois couches germinales et conservaient la mutation SGCB à l'origine de la maladie. **Cette lignée iPSC représente une source idéale de cellules pour l'étude des mécanismes de la maladie de LGMD.**

En 2022, cette approche concerne la correction in vitro d'un variant générant un pseudoexon dans le gène SGCB à l'aide de morpholino antisens. La bêta-sarcoglycanopathie (LGMDR4) résulte de défauts moléculaires bialléliques dans le SGCB et se caractérise par un début pédiatrique avec une atteinte des ceintures, souvent compliquée par un dysfonctionnement respiratoire et cardiaque. Il est décrit ici un patient qui s'est présenté à l'âge de 12 ans avec un taux élevé de créatine kinase et l'apparition de crampes après un exercice physique intense. Les examens instrumentaux, y compris une biopsie musculaire, ont orienté le diagnostic vers une bêta-sarcoglycanopathie. Le séquençage du panel NGS a identifié deux variantes dans le gène SGCB, dont l'une (c.243+1548T>C) favorise l'inclusion d'un pseudoexon entre les exons 2 et 3 dans le transcrit SGCB. Il est intéressant de noter que nous avons détecté le même génotype chez un patient LGMDR4 précédemment signalé, décédé il y a plus de vingt ans,

qui avait échappé au diagnostic moléculaire jusqu'à présent. **Après l'administration d'oligomères morpholino ciblant le pseudoexon dans des cellules souches pluripotentes induites spécifiques du patient, il est observé observé la correction de l'épissage physiologique et la restauration partielle des niveaux de protéines.** Ces résultats incitent à analyser le variant c.243+1548T>C chez les patients soupçonnés d'être atteints de LGMDR4, en particulier ceux qui portent des variants SGCB monoalléliques, et fournissent un nouvel exemple de l'efficacité de la technologie antisens pour la correction des défauts moléculaires entraînant des anomalies de l'épissage.

Par ailleurs, cette étude montre un profil clinique, la génétique et l'évolution de la maladie des sarcoglycanopathies dans une grande cohorte indienne : forte prévalence de SGCB c.544A > C. Dans la présente étude, il est recherché à étudier le tableau clinique, la base génétique et l'évolution de la maladie chez des patients dont la sarcoglycanopathie a été confirmée génétiquement. Un séquençage de nouvelle génération a été réalisé chez 68 patients suspects de sarcoglycanopathie. Au total, 35 variantes différentes ont été détectées dans les gènes de la sarcoglycane chez 68 patients (M = 37 ; âge compris entre 5 et 50 ans). La consanguinité était présente dans 44 familles. Trente-deux variants sont considérés comme pathogènes ou probablement pathogènes, dont 25 (78,13 %) ont été signalés et 7 (21,87 %) sont nouveaux. Le diagnostic clinique a été confirmé chez 64 (94,12 %) sujets présentant des variations bialléliques [SGCA(n=18) ; SGCB(n=34) ; SGCG(n=7) ; SGCD(n=5)]. La mutation la plus fréquente était c.544A > C (p.Thr182Pro) dans le SGCB, et a été détectée chez 20 patients (29,42%). La majorité des mutations pathogènes sont homozygotes (n = 30 ; 93,75%). Les variantes dans 4 cas sont d'une signification incertaine. Trente-trois patients ont perdu leur mobilité à un âge moyen de 15,12 ± 9,47 ans, après 7,76 ± 5,95 ans de maladie. Seuls deux patients présentaient des symptômes cardiaques et un patient avait une atteinte des muscles respiratoires**. Les résultats de cette étude suggèrent que les mutations du SGCB sont les plus fréquentes, suivies par celles du SGCA, du SGCG et du SGCD.** Les nouvelles variations identifiées dans cette étude élargissent le spectre mutationnel des sarcoglycanopathies. À notre connaissance, il s'agit de la première étude indienne à décrire une large cohorte de patients génétiquement confirmés atteints de sarcoglycanopathie et à rendre compte de l'évolution de la maladie.

En 2024 cette étude porte sur la thérapie génique avec le bidridistrogène xeboparvovec pour la dystrophie musculaire des ceintures de type 2E/R4 : **résultats de l'essai de phase 1/2. La dystrophie musculaire des ceintures 2E/R4 est causée par des mutations dans le gène de la β-sarcoglycane (SGCB), entraînant une déficience en SGCB et une perte musculaire conséquente.** Il est développé une approche de thérapie génique basée sur le remplacement fonctionnel de la protéine SCB déficiente. **Il est rapporté ici les résultats intermédiaires d'un premier essai humain de phase 1/2, ouvert, non randomisé, évaluant la sécurité et l'efficacité du bidridistrogène xeboparvovec, une thérapie génique basée sur un virus adéno-associé contenant un transgène SGCB humain de pleine longueur optimisé au niveau du codon.** Des patients âgés de 4 à 15 ans présentant des mutations SGCB confirmées sur les deux allèles ont reçu une perfusion intraveineuse de 1,85 × 1013 copies du génome du vecteur kg-1 (Cohorte 1, n = 3) ou de 7,41 × 1013 copies du gène du vecteur kg-1 (Cohorte 2, n = 3). Le critère d'évaluation principal était la sécurité, et le critère d'évaluation secondaire était le changement dans l'expression des SGCB dans le muscle squelettique entre le début de l'étude et le jour 60. Les résultats intermédiaires de l'année 2 (essai en cours) sont ici

présentés. Les effets indésirables liés au traitement les plus fréquents ont été les vomissements (quatre patients sur six) et l'augmentation de la gamma-glutamyl transférase (trois patients sur six). Les effets indésirables graves ont disparu avec les traitements standard. Une expression robuste de SGCB a été observée : Jour 60 pourcentage moyen (s.d.) de l'expression normale 36,2% (2,7%) dans la Cohorte 1 et 62,1% (8,7%) dans la Cohorte 2. L'analyse exploratoire post hoc a montré que les améliorations motrices préliminaires obtenues à l'aide du North Star Assessment for Limb-girdle Type Muscular Dystrophies se sont maintenues tout au long de l'année 2. La sécurité et l'efficacité à deux ans du bidridistrogène xeboparvovec soutiennent l'avancement du développement clinique. D'autres études sont nécessaires pour confirmer la sécurité et l'efficacité à long terme de cette thérapie génique.

Il est par ailleurs présenté dans cette étude une identification d'un haplotype commun et partagé ségrégeant avec une mutation SGCB c.544 T > G chez des patients indiens atteints de sarcoglycanopathie. La sarcoglycanopathie est la forme la plus fréquente des dystrophies musculaires autosomiques récessives des ceintures causées par des mutations du gène SGCB codant pour les protéines bêta-sarcoglycanes. **Dans cette étude, il est décrit un haplotype commun et partagé, coségrégé dans 14 cas de sarcoglycanopathie provenant de 13 familles non apparentées de la région du sud de l'Inde, avec la mutation homozygote probablement pathogène c.544 T > G (p.Thr182Pro) dans le gène SGCB.** L'haplotype a été reconstruit sur la base de 10 marqueurs polymorphes entourant la mutation c.544 T > G chez les cas et les membres des familles apparentées ainsi que chez 150 témoins non apparentés issus de populations indiennes à l'aide de PLINK1.9. Il est identifié l'haplotype H1 = G, A, G, T, G, G, A, C, T, G, T à une fréquence significativement plus élevée chez les cas que chez les témoins apparentés et les témoins non apparentés de la population indienne. Lors de l'analyse de la ségrégation dans les pédigrées familiaux, il a été observé que H1 était co-ségrégé avec c.544 T > G à l'état homozygote dans tous les pédigrées des cas sauf un, ce qui indique un événement probable d'effet fondateur. En outre, l'analyse de l'identité par descendance et du coefficient de consanguinité a révélé une parenté entre 33 nouvelles paires d'individus apparemment non apparentés de la cohorte de sarcoglycanopathie et une proportion plus élevée de marqueurs homozygotes, ce qui indique une ascendance commune. Étant donné que tous ces patients sont originaires du sud de l'Inde, il est suggéré que cette région est le principal foyer de la sarcoglycanopathie.

Dans ce travail on trouve des données sur une évaluation pharmacocinétique et pharmacodynamique du bidridistrogène xeboparvovec dans un modèle murin âgé de dystrophie musculaire des ceintures de type 2E/R4. La dystrophie musculaire des ceintures de type 2E/R4 (LGMD2E/R4) est une maladie autosomique récessive ultra-rare causée par des mutations du gène SGCB, qui code pour la β-sarcoglycane (SGCB), un composant du complexe protéique associé à la dystrophine qui stabilise les fibres musculaires pendant les contractions. Le bidridistrogène xeboparvovec est un traitement expérimental par transfert de gène à l'aide d'un virus adéno-associé, conçu pour délivrer un SGCB humain optimisé au niveau des codons et induire l'expression ciblée de la protéine SGCB humaine fonctionnelle. Les données intermédiaires sur la sécurité et l'efficacité issues d'un essai clinique mené chez des patients âgés de 4 à 15 ans atteints de LGDM2E/R4 (NCT03652259) soutiennent la poursuite du développement clinique du bidridistrogène xeboparvovec. Environ 12 semaines après l'administration, nous avons observé l'expression du SGCB et constaté une réduction de

la fibrose musculaire, une diminution des lésions musculaires et une restauration de la force musculaire. Dans l'ensemble, une augmentation dose-dépendante de l'exposition au vecteur dans tous les types de tissus a été observée, avec une augmentation non linéaire et dépendante de l'exposition de l'expression du SGCB et de l'amélioration fonctionnelle, qui a atteint la saturation à 7,4 × 1013 vg/kg. Les analyses pharmacocinétiques et pharmacodynamiques ont démontré une relation solide entre la biodistribution du vecteur, l'expression du SGCB et la force musculaire, ce qui renforce encore le développement clinique du bidridistrogène xeboparvovec à la dose la plus élevée (7,4 × 1013 vg/kg), dans une large population atteinte de LGMD2E/R4 et indépendamment de la progression de la maladie.

En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances sur la protéine **le Bêta-Sarcoglycane** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

A) **Le Bêta-Sarcoglycane** 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 : SARCOGLYCAN, BETA; SGCB

Pathologies associées : MUSCULAR DYSTROPHY, LIMB-GIRDLE, TYPE 2E; LGMD2E