

Mypathie due à un défaut d'organisation de la desmine : **α B-cristalline mise en cause**

Les myopathies liées à la desmine sont des affections à transmission autosomique dominante qui se manifestent à l'âge adulte par une faiblesse des muscles proximaux et distaux des membres, des muscles du cou, du vélo-pharynx et du tronc. Elles sont caractérisées sur le plan histologique par l'accumulation d'agrégats de desmine dans le sarco-plasme des muscles squelettiques et cardiaque. Dans une grande famille française (18 sujets sur trois générations, dont 9 atteints), ce tableau était typique, complété par une cataracte et une cardiomyopathie ; or, l'analyse de liaison au locus de la desmine (2q35) était négative ; le séquençage complet du gène de la desmine n'apporta aucune réponse. Aussi fut-il décidé d'entreprendre une procédure de dépistage sur l'ensemble du génome.

Le gène en cause fut localisé en 11q21-23. Dans cette région, un gène fut considéré comme candidat : *CRYAB* car il code pour l' α B cristalline, une protéine abondante dans le cristallin, le cœur et les muscles. Une mutation faux sens (Arg120Gly) fut découverte dans ce gène qui ségrégeait avec la maladie dans cette famille ; l' α B cristalline appartient à la famille des petites protéines *heat shock* et a une activité de chaperon.

L'étude de la distribution de l' α B cristalline et de la desmine dans des biopsies des muscles atteints des malades a montré la présence de dépôts anormaux contenant en abondance à la fois de la desmine et de l' α B cristalline [1].

La desmine

La desmine est une protéine du cytosquelette de 52 kDa appartenant à la famille des filaments intermédiaires (IF). Elle est exprimée spécifiquement dans les muscles cardiaque, squelettique et lisse. Constituant de l'exosarcomère, elle relie les fibres musculaires au niveau des stries Z et assure la cohésion cellulaire des disques intercalaires cardiaques. Ces fonctions ne sont assurées que lorsque la desmine est sous forme de réseau de filaments.

Les filaments de desmine sont composés d'homodimères polymérisant pour donner un filament apolaire de 10 nm de diamètre. La partie centrale constituée d'heptades répétées est indispensable pour former le filament en hélice α , alors que les parties amino- et carboxy-terminales interagissent pour permettre l'allongement du filament et l'association aux constituants membranaires cytoplasmiques et nucléaires [2]. L'absence de desmine fonctionnelle, obtenue par invalidation du gène chez la souris, provoque une cardiomyopathie et des défauts vasculaires [3]. On observe dans le cœur de ces animaux une désorganisation des disques intercalaires, une rupture du sarcolemme. Des signes de dégénérescence apparaissent précocement, se traduisant par une nécrose et une fibrose autour des sites de calcification. Ces travaux démontrent que le réseau de desmine dans le tissu musculaire intervient dans la résistance à l'étirement

et maintient l'intégrité du tissu lors des *stress* mécaniques [4]. Bennardini *et al.* ont montré que l' α B cristalline est, comme la desmine, présente au niveau des sarcomères suggérant une interaction des deux protéines au niveau de la ligne Z [5].

L' α B cristalline

Les cristallines ont été découvertes dans le cristallin des vertébrés il y a plus d'un siècle. Ces protéines sont réparties en trois classes α , β , γ , compte tenu de leurs propriétés (pour revue voir [6]). Leurs fonctions sont multiples et leur expression caractérisée dans beaucoup d'autres tissus que le cristallin. Les cristallines α sont codées par deux gènes *A* et *B* correspondant à des protéines de 20 et 22 kDa. Bien que de petit poids moléculaire les α cristallines sont associées en un énorme complexe de 1 000 kDa. L' α B cristalline est phosphorylée sur la sérine 45 et la similitude de structure avec l'HSP (*heat shock protein*) porte sur 39 acides aminés conservés dans un motif de 80 ; de même, la structure intron/exon est conservée.

La structure tridimensionnelle de l' α B cristalline a été déterminée par Kim *et al.* [7]. C'est un chaperon moléculaire, membre de la famille des petites protéines de choc thermique, dont l'expression est restreinte à différents tissus ; on la trouve dans le cerveau, le muscle squelettique et le rein ; c'est toutefois dans le cœur que son expression est

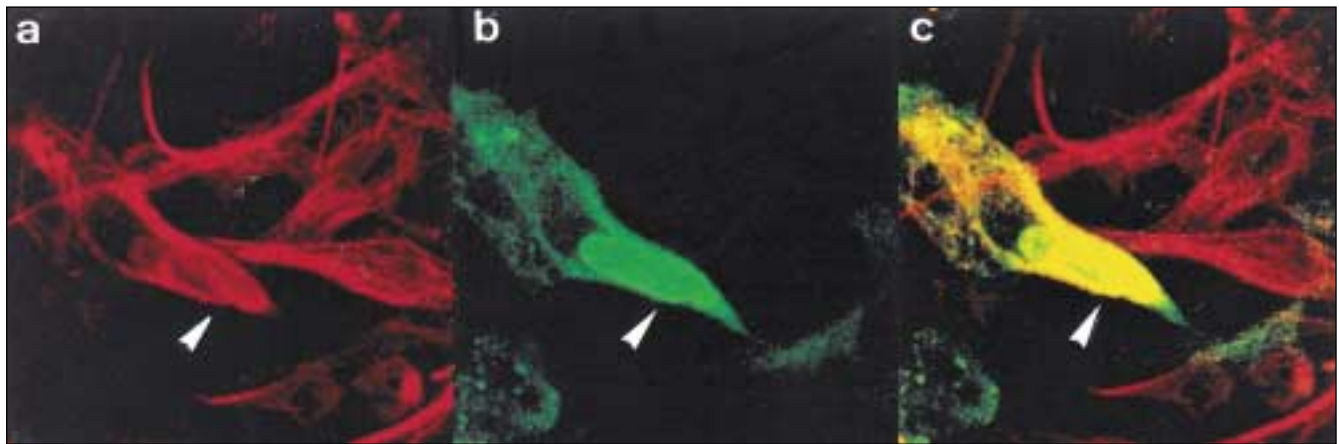


Figure 1. **Formation d'agrégats provoqués par l' α B cristalline mutée dans des cellules musculaires.** Les cellules musculaires sont transfectées avec l'ADNc codant pour l' α B cristalline mutée isolé de patients atteints de cardiomyopathie. En A, un anticorps spécifique de la desmine couplé à la Rhodamine révèle le réseau de filaments cytoplasmiques caractéristique présent dans toutes les cellules musculaires. En B, l'anticorps anti α B cristalline couplé à la fluorescéine révèle l'agrégat cytoplasmique provoqué par l'expression de l'ADNc muté. En C, reconstruction de la co-localisation de la desmine et de l' α -B-cristalline de l'agrégat.

la plus élevée et la plus précoce, couplée au programme de myogenèse et de différenciation cardiaque [8].

Dans le cœur en situation non pathologique, l' α B cristalline est liée aux constituants cellulaires insolubles. Au cours de l'ischémie, l'acidification du cytosol des cardiomyocytes entraîne l'agrégation de la protéine avec des éléments du cytosquelette. La concentration d' α B cristalline est inversement corrélée à la capacité du cœur de recouvrer une activité contractile après une période ischémique, ce qui en fait un marqueur du dommage subi par le cœur [9].

Le repliement d'une protéine en structure tridimensionnelle dans une cellule implique de franchir plusieurs obstacles. Des molécules particulières « chaperonnent » les protéines et assistent leur repliement jusqu'à leur forme définitive. La fonction chaperonne de l' α B cristalline serait d'empêcher l'agrégation de plusieurs types de protéines cellulaires dont certaines enzymes.

En revanche, l'accumulation de l' α B cristalline est associée à une série de maladies dégénératives du système nerveux, par exemple la maladie d'Alexander caractérisée par des inclusions dans les astrocytes mais

aussi la maladie de Creutzfeldt-Jakob et son modèle animal qu'est la scrapie du hamster [10].

Dans le cas original des cardiomyopathies à desmine, le gène muté n'est pas celui codant pour la desmine, mais le gène codant pour la protéine chaperon qui s'associe à la desmine. Le changement de conformation du chaperon, induit par sa mutation, entraîne l'agrégation des deux protéines. Une démonstration en a été apportée par l'utilisation d'un vecteur d'expression portant l'ADNc mutant obtenu à partir de biopsies de malades. Les cellules musculaires transfectées par cet ADNc contiennent des agrégats cytoplasmiques constitués d' α B cristalline et de desmine comme on les observe dans les biopsies des individus atteints (figure 1).

Ces résultats sont les premiers à démontrer l'implication d'une mutation dans une protéine chaperon causant une maladie transmissible du système musculaire. D'autres maladies dégénératives dans lesquelles on observe des agrégats de protéines de structure pourraient résulter de mécanismes similaires. Ainsi, l'incapacité d'une protéine de former une structure native dans des conditions physiologiques peut

être à la base d'une nouvelle classe de maladies humaines.

**D.P.
P.V.**

1. Vicart P, Caron A, Guicheney P, *et al.* A missense mutation in the α B-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat Genet* 1998; 20: 92-5.
2. Fuchs E, Weber K. Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 345-82.
3. Li Z, Colucci-Guyon E, Pincon-Raymond M, Mericskay M, Pournin S, Paulin D, Babinet C. Cardiovascular lesions and skeletal myopathy in mice lacking desmin. *Dev Biol* 1996; 175: 362-6.
4. Li Z, Mericskay M, Agbulut O, Butler-Browne G, Carlsson L, Thornell LE, Babinet C, Paulin D. Desmin is essential for the tensile strength and integrity of myofibrils but not for myogenic commitment, differentiation, and fusion of skeletal muscle. *J Cell Biol* 1997; 139: 129-44.
5. Bennardini F, Wrzosek A, Chiesi M. α B-crystallin cardiac tissue: association with actin and desmin filaments. *Circ Res* 1992; 71: 288-94.
6. Graw J. The crystallins genes, proteins and diseases. *J Biol Chem* 1997; 272: 1331-48.
7. Kim K, Kim R, Kim S. Crystal structure of a small heat-shock protein. *Nature* 1998; 394: 595-9.
8. Benjamin IJ, Shelton J, Garry DJ, Richardson JA. Temporospatial expression of the small HSP/alpha B-crystallin in cardiac and skeletal muscle during mouse development. *Dev Dyn* 1997; 208: 75-84.
9. Chiesi M, Bennardini F. Determination of alpha B crystallin aggregation: a new alternative method to assess ischemic damage of the heart. *Basic Res Cardiol* 1992; 87: 38-46.
10. Duguid JR, Rohwer RG, Seed B. Isolation of cDNAs of scrapie-modulated RNAs by subtractive hybridization of a cDNA library. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5738-42.