

UNIVERSITE DE NANTES

Faculté de médecine

Année 2005

N°112

THÈSE

Pour le

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en neurologie

Par

MAGOT Armelle

Née le 02 février 1974 à Chamalières

Présentée et soutenue publiquement le 27 mai 2005

**MUTATION DU GENE CODANT LA PROTEINE 0 RESPONSABLE
D'UN PHENOTYPE CLINIQUE ET ELECTROPHYSIOLOGIQUE DE
NEUROPATHIE PAR HYPERSENSIBILITE A LA PRESSION**

Président du jury de thèse: Monsieur le Professeur ESCANDE

Directeur de thèse: Monsieur le Professeur PEREON

Assesseurs: Monsieur le Professeur GUIHENEUC
Monsieur le Professeur DAMIER
Monsieur le Docteur MUSSINI

SOMMAIRE

1. ETAT DES CONNAISSANCES ET BUT DU TRAVAIL	3
1.1. ORGANISATION DE LA MYELINE DANS LE SNP	3
1.2. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MYELINE PERIPHERIQUE	7
1.2.1. Les lipides de la myéline périphérique	7
1.2.2. Les protéines de la myéline périphérique	8
1.3. MYELINISATION	15
1.3.1. Synthèse de la myéline	17
1.3.2. Facteurs influençant le début de la myélinisation	20
1.3.3. Constituants indispensables à la synthèse et à la maintenance de la myéline	24
1.3.4. Réparation de la myéline	27
1.4. PHYSIOLOGIE DE LA MYELINE	29
1.4.1. Composition biochimique des fibres myélinisées	30
1.4.2. Transmission de l'influx nerveux	35
1.4.3. Interactions cellule de Schwann-axone	37
1.4.4. Rôle de la cellule de Schwann à la jonction neuro-musculaire:	38
1.5. NEUROPATHIES SENSITIVO-MOTRICES HEREDITAIRES DEMYELINISANTES	39
1.5.1. Les mutations responsables d'un phénotype CMT ou apparentés	42
1.5.2. La neuropathie par hypersensibilité à la pression (HNPP)	51
1.6. BUT DE L'ETUDE	54
2. PATIENTS ET METHODE	56
2.1. PATIENTS	56
2.2. ELECTROPHYSIOLOGIE	56
2.3. ANATOMOPATHOLOGIE	56
2.4. BIOLOGIE MOLECULAIRE	57
3. RESULTATS	58
3.1. HISTOIRE FAMILIALE	58
3.1.1. Famille 1	58
3.1.2. Famille 2	64
3.1.3. Famille 3	66
3.2. DONNEES ELECTROPHYSIOLOGIQUES	67
3.3. BIOLOGIE MOLECULAIRE	67
4. DISCUSSION	69
4.1. DIAGNOSTIC HNPP CHEZ NOS PATIENTS	69
4.2. ROLE DE P0	72
4.3. CORRELATIONS GENOTYPES - PHENOTYPES	75
4.4. NOUVELLE ENTITE OU CONTINUUM HNPP-CMT	82
4.5. ARBRE DECISIONNEL : NEUROPATHIE HEREDITAIRE	84
5. CONCLUSION	85
BIBLIOGRAPHIE	86

1. ETAT DES CONNAISSANCES ET BUT DU TRAVAIL

Dans le système nerveux périphérique (SNP), chaque fibre nerveuse est constituée par un axone ou une dendrite entourés d'une cellule de Schwann. Cette cellule de Schwann est capable ou non de synthétiser de la myéline : on distingue alors les fibres myélinisées et les fibres dites amyéliniques. La gaine de myéline a le même rôle dans le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP) mais présente des différences au niveau moléculaire et embryonnaire. Nous nous intéresserons uniquement à la myéline du système nerveux périphérique.

1.1. ORGANISATION DE LA MYELINE DANS LE SNP

Dans le SNP, la myéline est formée par la différenciation de la membrane plasmique des cellules de Schwann. Les cellules de Schwann (ainsi nommées d'après leur inventeur, il y a près de 160 ans) sont des cellules aplaties avec un noyau allongé le long de la fibre nerveuse. Le rôle de la cellule de Schwann est de créer un milieu isolant en supprimant autant que possible le milieu aqueux et cytosolique. Dans ce but, la cellule de Schwann élabore une membrane plasmique très riche en lipides et s'enroule plusieurs fois autour de l'axone. La plupart du matériel cytoplasmique et extra-cellulaire conducteur est exclue de la structure par la fusion de larges surfaces cytoplasmiques de la membrane plasmique composant la ligne dense majeure et par l'apposition étroite des surfaces exoplasmiques des spirales consécutives formant la ligne intrapériodique (figure 1).

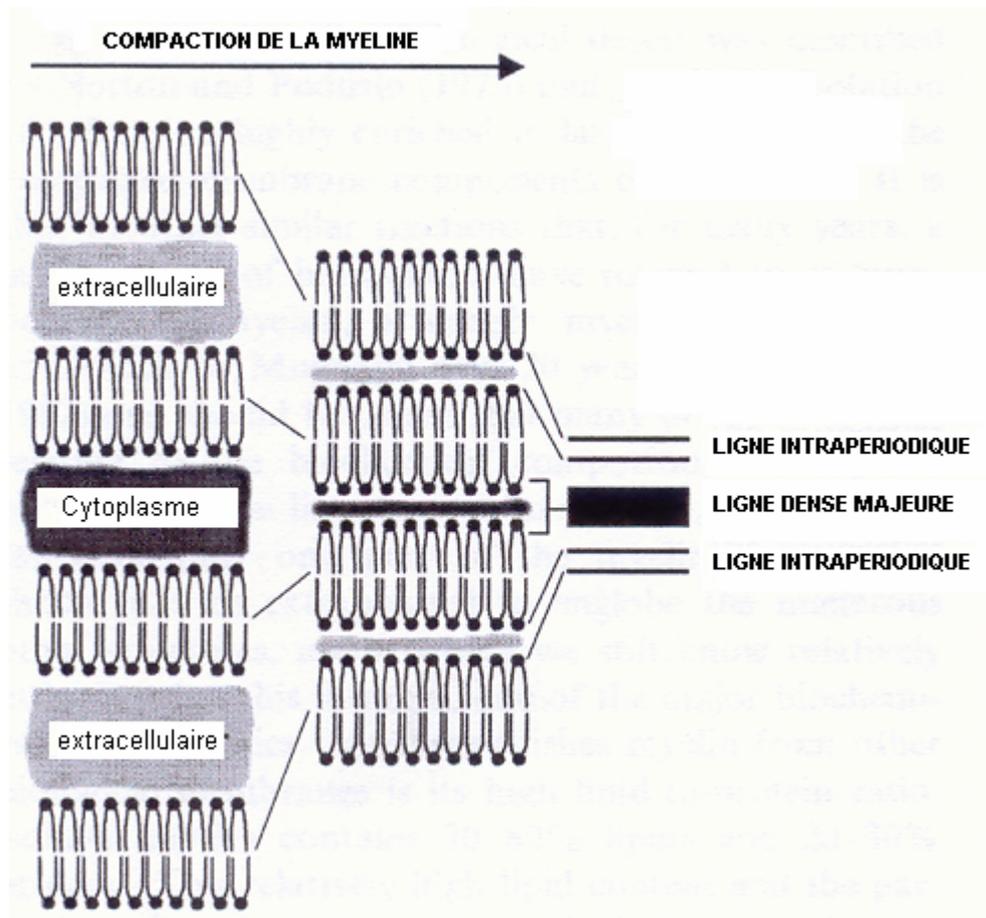


Figure 1. Représentation schématique d'un axone myélinisé. Formation de la ligne dense majeure et de la ligne intrapériodique.

En même temps, l'accès à tous les niveaux de la cellule de Schwann doit être assuré afin de garantir la maintenance et la fabrication des espaces correspondant aux nœuds de Ranvier. L'accès aux structures internes est assuré par des canaux cytoplasmiques qui s'enroulent en spirale de la limite externe (mesaxone externe) à la limite interne de la myéline (mesaxone interne) et des limites latérales de chaque segment (paranodal et nœud de Ranvier). Ces canaux sont visibles au niveau des incisures de Schmidt-Lanterman qui correspondent à des incisures transversales de la gaine de myéline. Elles apparaissent en ME comme une dissociation focale des lignes denses majeures s'expliquant par un manque partiel d'accolement qui entraînent la persistance entre les tours de spire d'un peu de cytoplasme schwannien. (figure 2).

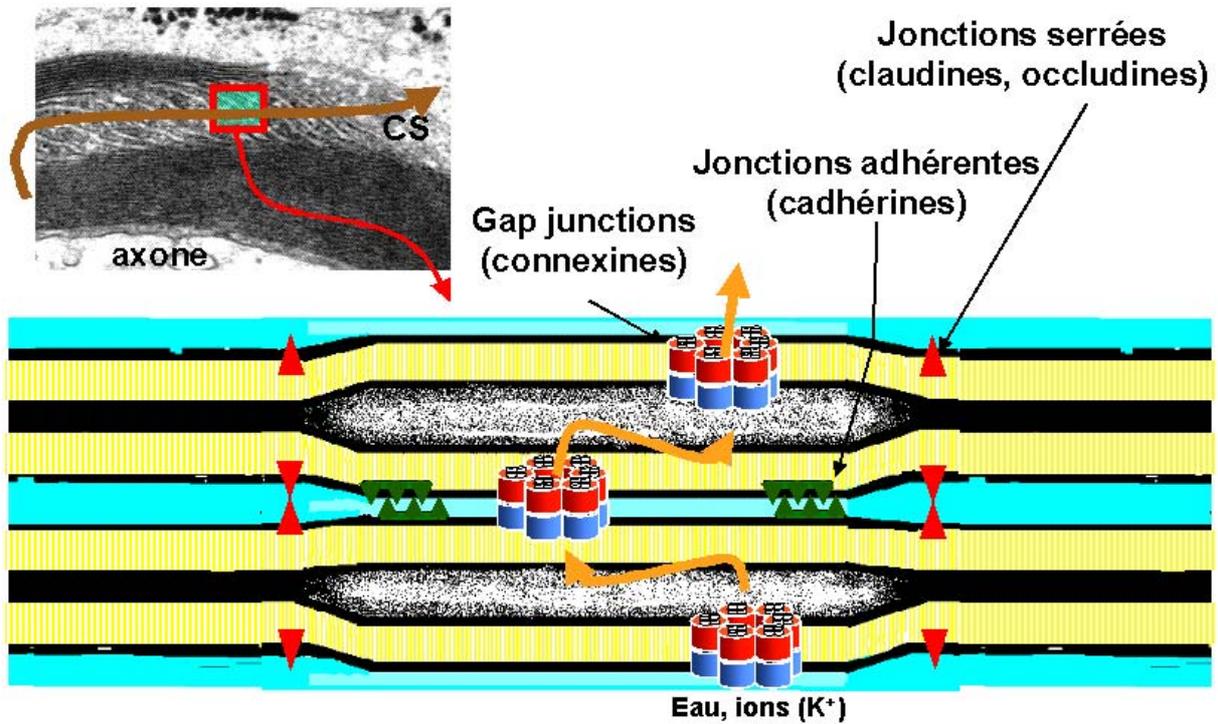


Figure 2. En haut, image en microscopie électronique d'une incisure de Schmidt-lanterman. En bas, schéma représentant l'ensemble des jonctions présentes au niveau des incisures

La région de chaque segment de myéline comprise entre deux nœuds de Ranvier est appelée l'internode. Une cellule de Schwann synthétise un segment de myéline autour d'un segment d'axone, chaque segment comprenant un internode et deux moitiés de nœuds de Ranvier. Ainsi, la composition gliale de chaque nœud de Ranvier est formée par la partie latérale non compactée de deux cellules de Schwann adjacentes. Chaque fibre myélinisée est encerclée dans son entière longueur par une lame basale constituée d'un mucopolysaccharide synthétisé par la cellule de Schwann.

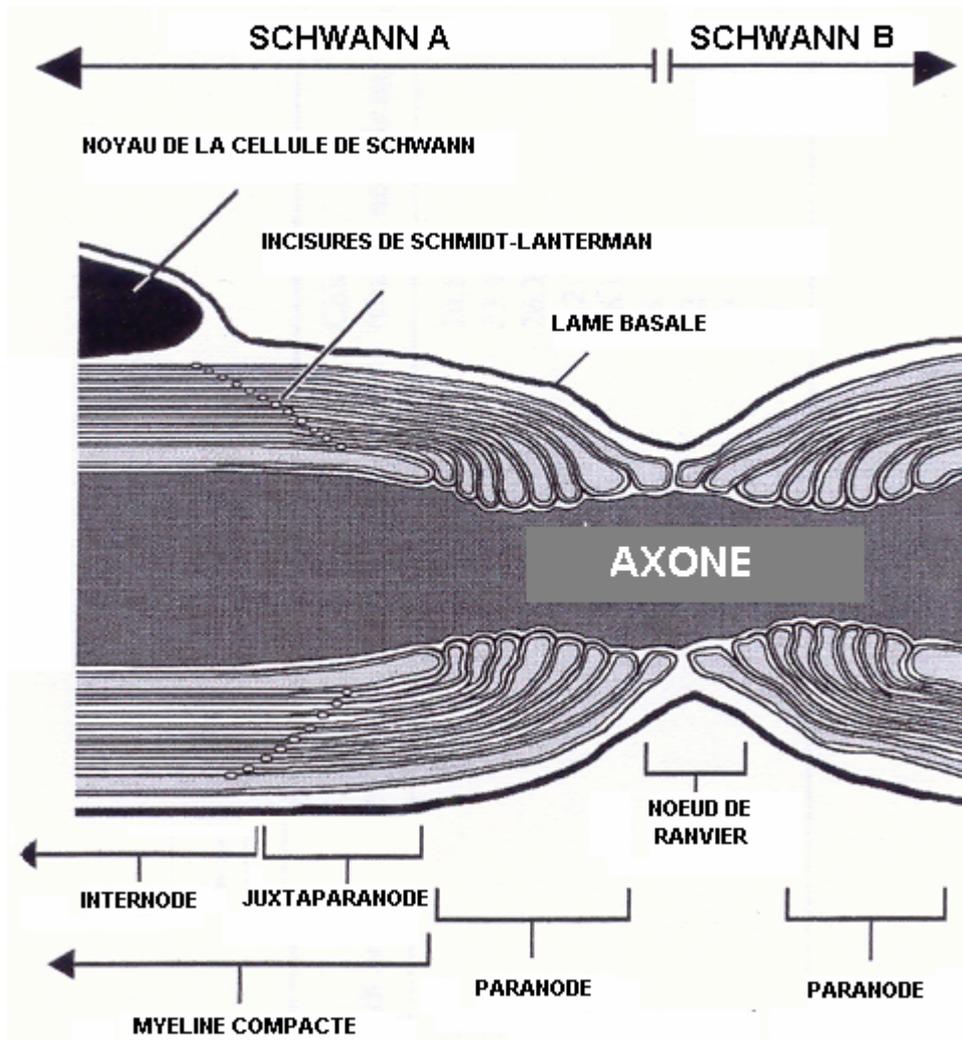


Figure 3. Représentation schématique des différentes régions d'un axone myélinisé

La gaine de myéline comprend ainsi deux régions majeures : la myéline compacte et la myéline non compacte (Figure 3). La myéline compacte contient les protéines structurales de la myéline. La myéline non compacte comprend la région paranodale et est séparée de l'internode par la région juxta-paranodale. La région paranodale contient des protéines qui interviennent dans les interactions cellules de Schwann-axone ou cellules de Schwann-cellules de Schwann et isolent la région du noeud de Ranvier électriquement (voir chapitre physiologie).

1.2. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MYELINE PERIPHERIQUE

La caractérisation chimique de la myéline est très difficile à effectuer du fait de la difficulté à isoler les différents composants de la cellule de Schwann. Une de ses caractéristiques majeures est la proportion inverse en lipides-protéines par comparaison aux autres membranes de l'organisme. La myéline comprend 70 à 80% de lipides et 20 à 30% de protéines. Cette forte proportion de lipides lui confère ses propriétés isolantes requises pour la conduction saltatoire (voir chapitre physiologie).

1.2.1. Les lipides de la myéline périphérique

Les principales classes de lipides et leurs sous-classes respectives rencontrées habituellement dans les membranes de l'organisme sont aussi retrouvées dans la myéline et, à strictement parler, il n'y a pas de lipide spécifique de la myéline. Chez les espèces mammifères, les lipides interviennent pour 72-78% de la masse sèche de la myéline. Le cholestérol représente 20 à 30 % de la totalité des lipides de la myéline du SNP. Chez la souris et le lapin, le cholestérol s'accumule durant les périodes de néo-myélinogénèse et de maturation myélinique¹ suggérant un rôle dans la stabilisation et la compaction de la membrane myélinique².

Parmi les autres lipides, les glycérophospholipides sont abondants dans le SNP. La sphingomyéline représente 10 à 35% des lipides totaux du SNP contre 3 à 8% dans le SNC. La caractéristique majeure des lipides de la myéline par rapport aux autres membranes est sa composition principale en monogalactosylsphingolipides (cérébrosides 14-26%, sulfatides 2-7%) restant néanmoins dans des proportions plus

faibles que dans le SNC. Le rôle de ces lipides est encore imprécis mais l'étude des souris déficientes montre qu'ils auraient un rôle dans le maintien de l'intégrité de la myéline du SNC³. Leur absence serait responsable d'une augmentation de la perméabilité et d'une altération de la bicouche lipidique de la membrane internodale, entraînant secondairement une altération de la conduction saltatoire⁴. La myéline du SNP contient aussi des gangliosides, là aussi de façon moindre que dans le SNC. Les souris déficientes en gangliosides GM2 et GD2 développent des pathologies centrales et périphériques comportant une dégénérescence axonale et une démyélinisation⁵. Concernant les acides gras, l'acide oléique est le principal AG retrouvé dans la myéline périphérique (30 à 40%). La découverte d'anticorps dirigés contre des composants lipidiques de la myéline dans différents types de neuropathie humaine aiguë ou chronique montre l'importance de ces lipides dans le maintien de l'intégrité de la myéline.

1.2.2. Les protéines de la myéline périphérique

Certaines protéines sont spécifiques de la myéline contrairement aux lipides. Elles représentent 20 à 30% de la masse sèche de la myéline. La principale caractéristique de la myéline périphérique est sa forte proportion en glycoprotéines (60%) et en protéines basiques (20-30%). Les 10-20% restants représentent des catégories diverses, chacune d'entre elles ne représentant que 1% des protéines totales (Tableau 1).

	% du nombre total des protéines	Masse moléculaire (Kda)	Domaines trans-membranaires	Localisation	Chromosome
Glycoprotéines					
P0	50-70%	28	1	Myéline compacte	1
PMP22	2-5%	22	4	Myéline compacte	17
MAG	1%	100	1	Non-compacte	19
Periaxin	5%	170	0	Non-compacte	7(souris)
E-cadherin	<0.5%	130	1	Non-compacte	16
Protéines basiques					
MBP	5-15%	14-21.5	0	Myéline compacte	18
P2	1-10%	14.8	0	Myéline compacte	8
Autres					
CNP	<0.5%	46/48	0	Myéline compacte	17
PLP/DM20	<0.5%	30/25	4	Controversée	X
Connexine 32	<0.5%	32	4	Non-compacte	X

Tableau 1. Répartition des principales protéines de la myéline. CNP=2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase.

1.2.2.1. Protéine P0 ou Myelin Protein Zero ou MPZ

La protéine P0 est la principale protéine composant la myéline du SNP, représentant plus de 50% des protéines de la gaine des nerfs périphériques^{6,7}. Le gène humain codant la P0 occupe environ 7 kb situées sur le chromosome 1 en position 1q22-q23⁸. Il possède 6 exons codants de 2 kb environs. La P0 est hautement conservée entre les espèces avec des homologies de séquence atteignant 80% avec les protéines des oiseaux, des bovins ou des rongeurs⁹.

L'expression de la P0 est limitée aux cellules de Schwann myélinisantes et elle n'est pas exprimée dans les cellules de Schwann non myélinisantes, ni dans les cellules gliales du système nerveux central. Il s'agit d'une glycoprotéine de 28 kDa

(KiloDalton) apparentée à la superfamille des immunoglobulines ayant donc une activité d'adhésion cellulaire. Le polypeptide comprend 219 acides aminés (248 avec le peptide signal)¹⁰, incluant un domaine trans-membranaire fortement hydrophobe de 25 acides aminés (résidus 125-150*) (figure 4). A l'extrémité N-terminale, il existe une séquence de 29 acides aminés (AA) non chargés et/ou polaires qui correspondent probablement à la séquence « signal » nécessaire à la translocation de la P0 vers le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi pour sa glycosylation, et à son insertion dans la membrane myélinique. Le domaine extra-cellulaire est composé de 124 AA et présente plusieurs similitudes avec une immunoglobuline, incluant un domaine Ig-like maintenu par un pont disulfure établi entre les cystéines 21 et 98. Ce domaine est relativement hydrophobe mais porte un site unique de glycosylation sur l'asparagine 93 dont l'oligosaccharide est composé d'une chaîne de neuf sucres. Quelques uns de ces sucres sont sulfatés, représentant en partie l'épitope HNK1 commun à plusieurs molécules d'adhésion¹¹.

* La numérotation des acides aminés dans le texte ne tient pas compte du peptide signal.

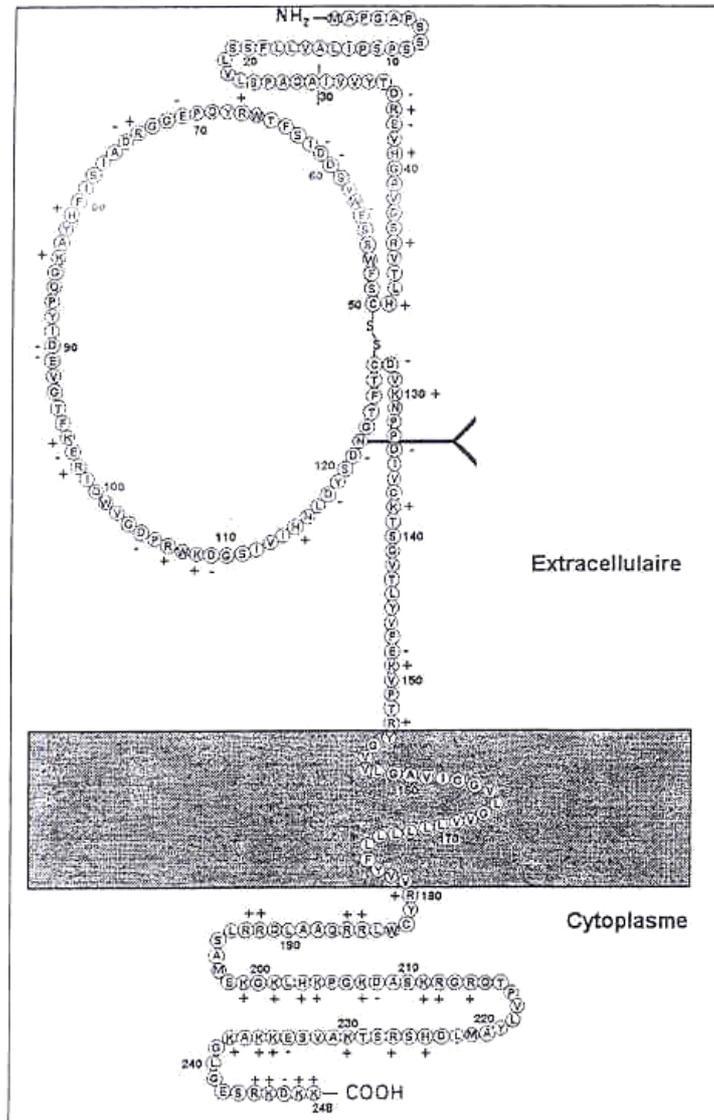


Figure 4. Représentation schématique de la structure et la composition en AA de la P0. Le numérotage tient compte du peptide signal.

Le domaine extracellulaire confère donc à la protéine sa propriété adhésive et des analyses en cristallographie ont confirmé que la P0 formait des homotétramères à la surface de la membrane. Chaque homotétramère a une structure en forme de beignet avec un large trou central qui interagit en trans avec un homotétramère similaire sur la membrane opposée, ce qui permet le maintien de deux surfaces extra-cellulaires ensemble contribuant ainsi à la formation de la ligne intrapériodique (Figure 5). Le domaine extra-cellulaire de la P0 peut être également modifié par l'addition de multiples groupements sulphates, acyl, et phosphates ¹².

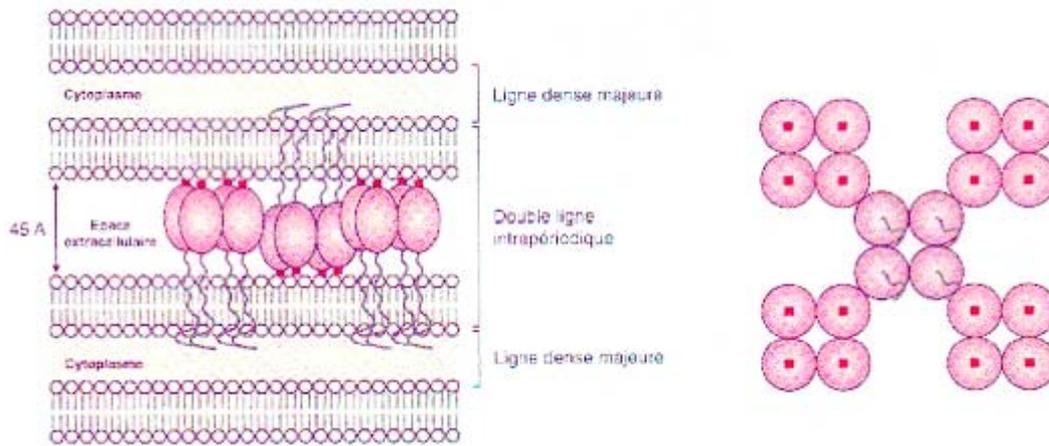


Figure 5. Schéma représentant l'assemblage en homotétramères de la P0

Le domaine cytoplasmique basique (AA 151-219) associé à la protéine *myelin protein basic* (MBP) interagit avec les phospholipides de la membrane chargés négativement. Il participe ainsi à l'apposition des faces cytoplasmiques des membranes contribuant à la formation de la ligne dense majeure¹³. Un site substrat pour la protéine kinase C est situé entre les AA 198 à 201 de ce domaine.

1.2.2.2. *Peripheral myelin protein* ou PMP 22

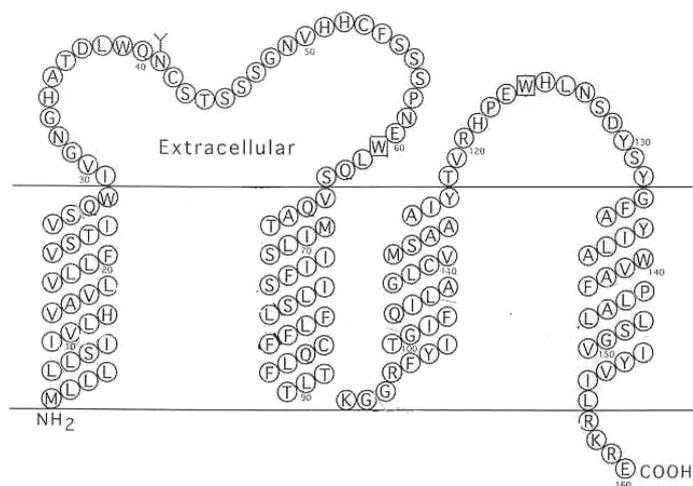


Figure 6. Représentation schématique de la structure et de la composition en AA de la PMP22

Il s'agit d'une protéine produite principalement mais pas exclusivement par les cellules de Schwann. Elle représente 2 à 5% des protéines de la myéline périphérique compacte ¹⁴. Le gène humain de la PMP22 est localisé sur le chromosome 17 et est formé de 4 exons codants et de 2 exons non codants à l'extrémité 5' précédés chacun par un site promoteur ^{15,16}. Ces deux promoteurs sont à l'origine de deux transcrits, le transcrit 1 produisant la PMP22 localisée dans les zones compactes de la myéline périphérique et le transcrit 2 produisant une protéine exprimée dans des tissus non neuronaux. La PMP22 est une petite glycoprotéine trans-membranaire de 18kDa qui possède 160 AA (Figure 6). Elle est formée de quatre domaines trans-membranaires et présente également l'épitope HNK-1 sur l'asparagine 41 dans le premier lasso extracellulaire (ce qui avait fait établir un poids moléculaire de 22 kDa en premier lieu, d'où son nom)¹⁷. Le résidu carbohydate participe aux fonctions d'adhésions cellulaires et par là, la PMP22 possède le même rôle que la P0. Le rôle de la PMP22 dans les tissus autres que les tissus neuronaux n'est pas complètement élucidé mais elle pourrait avoir un rôle dans la régulation de la croissance cellulaire ¹⁶. L'expression du gène de la PMP22 est probablement régulée par le contact axonal avec les cellules de Schwann induisant soit un processus de démyélinisation soit de remyélinisation. La PMP22 pourrait donc jouer un rôle dans le développement et la différenciation des cellules de Schwann (voir myélinisation). Son incorporation dans la myéline où elle jouerait un rôle structural n'interviendrait que dans un second temps.

1.2.2.3. Autres protéines de la myéline

- *Myelin-associated glycoprotein* ou MAG : il s'agit d'une glycoprotéine membranaire de 100 kDa de la famille des immunoglobulines, spécifique du SN qui prédomine dans le SNC. Elle représente 0.1% des protéines du SNP ¹⁸. Elle est localisée dans la membrane periaxonale de la cellule de Schwann, les mesaxones internes et externes, les espaces paranodaux et les incisures de Schmidt-Lanterman. Elle participerait à la reconnaissance axonale et à son adhésion, à la transduction du signal durant la différenciation gliale, à la régulation de la croissance du neurite et à la maintenance de l'intégrité de l'axone ¹⁹⁻²³. A ce jour aucune maladie humaine n'est liée à des mutations de la MAG. En revanche, il existe des neuropathies démyélinisantes auto-immunes en rapport avec la sécrétion d'anticorps anti-MAG.

- Les protéines basiques de la myéline constituent 5 à 18% des protéines de la myéline périphérique. Deux classes de protéines basiques sont présentes dans le SNP : la *myelin protein basic* ou MBP et la protéine P2. Il est supposé que la MBP participe avec la P0 au maintien de la ligne dense majeure et à la compaction de la myéline. La protéine myélinique P2 constitue 14% des protéines de la myéline périphérique. Sa fonction physiologique reste encore inconnue mais on suppose un rôle de transporteur de lipides.

- Connexine 32 : les connexines sont des constituants de canaux intercellulaires. La connexine 32 forme des dodécamères et constitue la plus petite unité des jonctions *gap* qui permettent des communications intercellulaires par le passage de petites molécules. Elle se situe notamment au niveau des incisures de Schmidt-Lanterman.

- La *proteolipid protein* (PLP) et la DM20 (ou PLP1) : ce sont des protéolipides. La PLP est considérée comme une protéine structurale intervenant dans le maintien des lignes intrapériodiques et la DM20 jouerait un rôle régulateur dans le développement des oligodendrocytes et participeraient à la formation des pores membranaires. Les mutations affectant leur gène commun sont responsables de la maladie de Pelizaeus-Merzbacher*.

1.3. MYELINISATION

La connaissance du développement de la cellule nerveuse et de la différenciation de la cellule de Schwann, la myélinisation, est indispensable pour comprendre la physiopathologie de tout type de neuropathie périphérique y compris les neuropathies héréditaires.

Les cellules de Schwann proviennent d'une cellule progénitrice présente dans la crête neurale : la cellule souche. Avant de devenir une cellule de Schwann, celle-ci passe par plusieurs étapes de maturation, au cours desquelles elle se multiplie avant d'atteindre son stade final de différenciation. Ainsi, la cellule souche donne d'abord naissance à un précurseur de cellule de Schwann dont la particularité principale est de dépendre complètement du contact avec les axones pour survivre. Ce précurseur évolue ensuite en cellule de Schwann embryonnaire qui peut survivre sans être en contact avec les neurones mais dépend de ceux-ci pour poursuivre sa différenciation. En effet, selon la taille des axones avec lesquelles elles sont en contact, les cellules de Schwann embryonnaires vont se différencier de deux manières distinctes: en

*Leucodystrophie récessive liée l'X caractérisée par une hypotonie associée, surtout dans les 2 premières années de vie, à un nystagmus et des mouvements ataxo-choréiques de l'axe et des membres, sans dégradation mais souvent avec des progrès lents jusqu'à l'adolescence.

cellules myélinisantes, si elles sont en relation avec des axones de diamètre d'au moins 1 μm , sinon elles deviennent des cellules de Schwann non-myélinisantes qui englobent dans leur cytoplasme plusieurs axones de petit calibre. Une fois différenciées, les cellules gliales arrêtent de proliférer. La différenciation des cellules de Schwann est réversible lorsque le contact Schwann/neurone est perdu, comme c'est le cas dans les traumatismes touchant les nerfs. A ce moment là, elles se différencient vers un phénotype proche de celui des cellules de Schwann embryonnaires et se multiplient pour favoriser la réparation du nerf lésé. La relation entre cellules de Schwann et neurones est bidirectionnelle car les cellules de Schwann sont indispensables à la survie des neuroblastes et des neurones des ganglions rachidiens et des motoneurones (SNC), ainsi qu'à la pousse des fibres nerveuses comme le montre l'examen du système nerveux de souris portant des mutations provoquant la disparition des cellules gliales (mutants *erb B2/3*)²⁴. Ces mutants sont dépourvus de précurseurs de cellules de Schwann. Il en résulte une absence totale de cellules de Schwann embryonnaires qui provoque, dans la période prénatale, la mort des neurones des ganglions rachidiens et des motoneurones de la corne ventrale de la moelle épinière. De plus, les neurones survivants sont incapables d'innover leurs cibles (muscles, tendons, peau). Le soutien trophique que les cellules de Schwann apportent aux neurones s'étend aussi à la maturation des axones car les cellules de Schwann myélinisantes sont indispensables à la concentration des canaux ioniques au niveau des nœuds de Ranvier. De plus, la myéline compacte induit une augmentation du calibre de l'axone en modulant l'état de phosphorylation du cytosquelette axonique. Ces deux aspects de la maturation des axones sont très importants pour assurer, à maturité, la conduction saltatoire du potentiel d'action.

La plupart des travaux étudiant la myélinisation ont été réalisés sur des modèles murins plus faciles à étudier mais surtout parce qu'il s'agit d'un événement post-natal chez ces animaux.

1.3.1. Synthèse de la myéline

1.3.2.1. Macroscopie

La myélinisation des axones du SNP est marquée par la succession de trois types de fibres nerveuses ²⁵:

- Les fibres nerveuses fœtales qui comprennent plusieurs petits axones entourés d'une fine couche de cytoplasme d'une seule cellule de Schwann.

- Ensuite des fibres promyélinisées apparaissent: une relation de un pour un s'établit entre chaque cellule de Schwann et son axone et chaque couple est entouré d'une lame basale. Le cytoplasme de la cellule de Schwann entoure en spirale l'axone formant l'espace periaxonal et le mesaxone.

- Finalement la fibre myélinisée mature apparaît : la myéline compacte peut être individualisée de la myéline non compacte, on distingue les mesaxones interne et externe qui incluent rarement plus de 2 à 3 spirales.

La myéline est formée lorsque les mesaxones, dont les spirales successives sont séparées de 12 à 14 nm, sont compactés de façon concomitante avec l'exclusion du cytoplasme de la cellule de Schwann. La fusion des deux feuilletts cytoplasmiques forme la ligne dense majeure. L'accolement des deux membranes extra-cellulaires également en contact forme la ligne intrapériodique. A ce stade la distance entre

deux spirales consécutives est réduite à la distance caractéristique de 2 nm. Le sens de l'enroulement de la myéline autour de l'axone a été sujet à débat (Figure 7). Actuellement, l'hypothèse retenue est que la progression se fait par le mésaxone interne et non pas par l'externe.

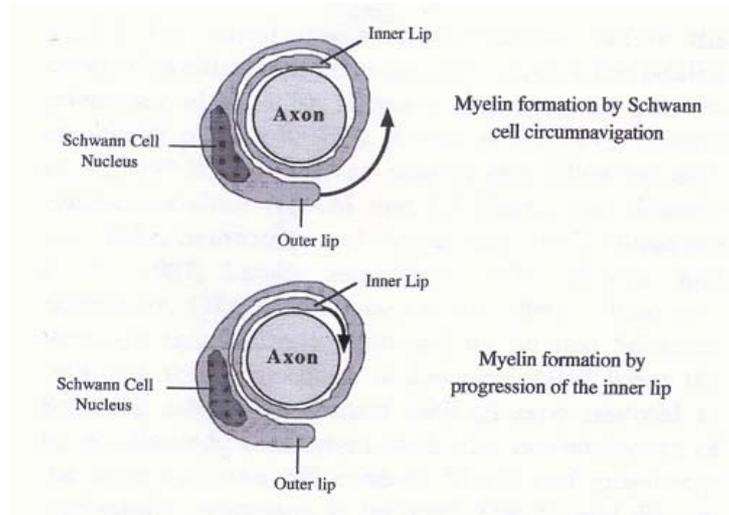


Figure 7. Représentation des deux hypothèses concernant la formation de la gaine de myéline

Chez la souris, le nombre de fibres promyélinisantes et myélinisées augmente progressivement jusqu'à 4-5 jours et à l'âge d'une semaine, la myélinisation est bien avancée avec un nombre moyen de 25 tours de spires. Il existe une relation linéaire entre le nombre de tours et le diamètre de l'axone.

1.3.2.2. Biochimie

Ces modifications morphologiques sont associées à des modifications biochimiques et des modifications de l'expression de différentes protéines et lipides composant la myéline à différents moments du développement nerveux.

Avant le début de la myélinisation, la cellule de Schwann exprime le *Nerve Growth Factor Receptor* (NGFR), la *neural cell adhesion molecule* (NCAM) et l'interleukine 1²⁶. Leur expression est diminuée quand la cellule entre en contact avec l'axone où l'expression de la MAG et des galactosylcérosides est alors activée. L'expression du gène de la MAG précède l'expression de la P0 et de la MBP. La MAG joue un rôle important dans les phases précoces de la myélinisation (enveloppement axonal). Gal-C et Sgal-C sont aussi des marqueurs précoces des cellules de Schwann, indispensables à la myélinisation. Les cellules de Schwann sans galactocéroside expriment des niveaux élevés de MAG mais n'expriment pas P0. De ces études, il apparaît que ces deux types de molécules sont nécessaires durant le stade de l'enveloppement axonal. La MAG peut être impliquée dans la formation de la relation un pour un entre l'axone et la cellule de Schwann tandis que Gal-C et Sgal-C peuvent être impliqués dans le dépôt de la première lamelle de la myéline. A la fin du stade de promyélinisation, la cellule de Schwann est prête à synthétiser la multitude de membranes destinées à former la gaine de myéline mature : elle accélère l'accumulation de composants spécifiques de la cellule de Schwann comme P0, PMP22 et MBP mais aussi des composants ubiquitaires des membranes comme les glycérophospholipides. Chez les rongeurs, cette période s'étend de la seconde à la quatrième semaine de vie et est appelée période de myélinisation active.

Chez la souris, il a été montré que l'accumulation de P0 s'effectue entre la naissance et J30. Le taux de P0 est à son maximum à J10 correspondant au dépôt maximal à ce moment puis décroît à partir de J20. Une corrélation directe entre P0 et la myélinisation a aussi été démontrée dans d'autres modèles. L'expression du gène de la P0 est aussi diminuée en fonction du taux d'axone en dégénérescence et les

cellules de Schwann se différencient en un profil non myélinisant. Chez la souris Trembler (mutant sur le gène de la PMP22), les taux de P0 et de son mRNA sont significativement plus bas que dans un nerf normal durant le développement concordant avec le blocage de la myélinisation à un stade promyélinisant chez ces mutants. Les modifications post-translationnelles de la P0 varient durant le développement. Le taux d'incorporation des groupements phosphates et sulfates diminue avec l'âge suggérant que ces modifications peuvent avoir un rôle durant la formation de la myéline ou sa maintenance.

Les taux de PMP22 durant le développement sont superposables à ceux de P0. Il a été prouvé²⁷ que l'expression de la PMP22 est inversement corrélée avec la division des cellules de Schwann durant le développement ; une régénérescence axonale post-lésionnelle conduit à une augmentation du taux de PMP22 semblable à celle observée avant les lésions. D'Urso et coll. en 1997²⁸ ont montré expérimentalement que la PMP22 est davantage impliquée dans le contrôle de l'épaisseur de la myéline et de sa stabilité que dans les phénomènes précédant la formation de la myéline. Il a été suggéré aussi que la PMP22 pourrait transmettre un signal de survie nécessaire au maintien de la viabilité des cellules différenciées au stade de non repos cellulaire.

1.3.2. Facteurs influençant le début de la myélinisation

Dans le système nerveux immature, une seule couche de cellule de Schwann va entourer une large bande d'axones nus. Le contact avec l'axone enclenche la prolifération des cellules de Schwann^{29,30}. Les axones vont être progressivement séparés par la prolifération des cellules de Schwann. Parallèlement, la cellule de

Schwann subit un allongement le long de l'axone et fabrique une lame basale à l'interface axone-cellule de Schwann ^{31,32}. Non seulement, la capacité d'élaboration de la lame basale est corrélée avec le processus de myélinisation mais réciproquement la présence de cette lame basale guide la différenciation de la cellule de Schwann durant la myélinisation ³³.

1.3.1.1. Interactions axone-cellule de Schwann

La relation entre le diamètre de l'axone et la myélinisation a été mise en évidence dès 1972 ³⁴. Chaque cellule de Schwann a un potentiel de base à former une gaine de myéline mais elle ne peut le faire que si elle est en contact avec certains types d'axones ³⁵⁻³⁷. Ainsi, la myélinisation ne survient que si le diamètre de l'axone est supérieur à 0.7 μm ³⁸. L'axone n'est pas seulement requis pour l'expression des gènes de la myéline durant le développement mais aussi pour la maintenance du phénotype myélinisé. La perte du contact axonal induit une diminution de l'expression des gènes de la myéline ³⁹.

1.3.1.2. Nature du signal de l'axone

La nature du signal qui initie la myélinisation n'est pas encore connue. Du fait de la nécessité de la continuité du contact, il apparaît que ce signal est partiellement médié par des récepteurs sur les deux membranes cellulaires axonale et schwannienne. Les partenaires intervenant dans ces échanges n'ont pas encore été identifiés. Bolin et coll. en 1993 ⁴⁰ ont démontré que des substances diffusibles étaient impliquées dans le processus de myélinisation.

Plus récemment, Il a été démontré que la cellule de Schwann synthétise de la progestérone ^{41,42} qui stimule la formation de la gaine de myéline dans des cultures de ganglions dorsaux de la moelle de rat vraisemblablement par un mécanisme autocrine. De plus, Koenig et coll.⁴² ont montré que la progestérone favorisait la remyélinisation après cryolésion du nerf sciatique de la souris mais seulement chez le male. Dans des cultures de cellules de Schwann de rats, il a été montré que les neurostéroïdes activent spécifiquement le promoteur de P0 et le promoteur 1 de la PMP 22 ⁴³, augmentent le taux de RNA messagers de la P0 et de la MBP et des protéines correspondantes ⁴⁴ alors que l'expression de la MAG n'est pas affectée. La progestérone accélère le délai d'initiation de la formation de la myéline et augmente le taux de synthèse de la myéline ⁴⁵.

Le *transforming growth factor β 1* (TGF β 1) est également considéré comme un médiateur de l'interaction myéline-axone pendant la myélinisation. Le traitement de cellules de Schwann en culture avec du TGF β 1 augmente leur prolifération mais favorise un phénotype pré-myélinisant ou non-myélinisant de la cellule de Schwann, caractérisé par l'augmentation de l'expression de la NCAM, la diminution de l'expression du *nerve growth factor receptor* (NGFR), l'induction de l'expression de Oct-6 et l'inhibition de l'induction de la P0 médiée par la forskoline ⁴⁶. L'expression de TGF β 1 est diminuée au fur et à mesure des interactions axones-cellules de Schwann. L'addition de TGF β 1 dans des cocultures d'axones-cellules de Schwann inhibe les effets de l'axone sur la cellule de Schwann, antagonise la prolifération induite par le contact, bloque la myélinisation et provoque une déficience en membrane basale. Il est supposé que TGF β 1 servirait d'inhibiteur de la prolifération

et de la myélinisation durant le développement mais après lésions nerveuses, pourrait à nouveau favoriser la remyélinisation par l'évolution de la cellule de Schwann vers un phénotype pré ou non-myélinisant.

L'AMP cyclique, un second messager est aussi impliqué dans la myélinisation parce que les agents comme la forskoline qui élève le taux intracellulaire de l'AMPc augmente aussi l'expression de plusieurs gènes synthétisant la myéline.

Récemment, Constant et coll. ont démontré que le nombre de tours de myéline était déterminé par un signal axonal le *growth factor neuroregulin* (Ngr1)⁴⁷. Par contre, Ngr1 ne contrôle pas la position des nœuds de Ranvier, c'est-à-dire la longueur de l'internode.

1.3.1.3. Facteurs de transcription

Quand une cellule de Schwann reçoit le signal de l'axone, son programme d'expression génétique est modifié afin de permettre le début de la myélinisation. Cette régulation implique des facteurs de transcription, parmi lesquels Oct-6, Krox 20 et Sox-10 participent activement au processus de myélinisation.

- Oct-6 (*Octamer Binding Transcription Factor 6*) est un facteur de transcription à domaine POU* dont l'expression est induite par la forskoline et par TGFβ1. Oct-6 est exprimé dans les progéniteurs tardifs des cellules de Schwann et les cellules de Schwann promyélinisantes mais pas dans les cellules de Schwann matures et c'est

* Le domaine POU est bipartite, contenant un sous-domaine variable à motif homéobox, POU-H, et un sous-domaine conservé et spécifique, POU-S. Chacun de ces domaines contient un motif hélice-tour-hélice s'associant directement avec chaque hémisite de fixation

un fort répresseur de l'expression de certains gènes de la myéline incluant P0 et MBP. Oct-6 servirait à maintenir les cellules de Schwann dans un état immature juste avant l'état myélinisant. L'expression des gènes de la myéline requiert la diminution d'expression d'oct-6. Il serait impliqué dans la progression du stade promyélinisant au stade myélinisant mais pas dans la phase terminale de différenciation.

- Krox 20 ou Egr2 (*Early Growth Response 2*) est un facteur de transcription possédant un domaine en doigt de zinc^{**}. Il régule l'expression de certains gènes et la prolifération cellulaire. Il est activé dans la cellule de Schwann avant la myélinisation et son absence bloque les cellules de Schwann à un stade précoce de leur différenciation. Chez les souris KROX 20 *-/-*, l'expression des marqueurs précoces de la cellule de Schwann est maintenue mais P0 et MBP sont absents⁴⁸. Les mécanismes moléculaires responsables des altérations du processus de myélinisation ne sont pas encore connus.

- Sox 10 (*Sry-Related Hmg-Box Gene 10*) agit de façon synergique avec Oct-6 et réprime partiellement l'activité de Krox 20 dans la cellule de Schwann. Il est proposé que ce modulateur de la transcription confère à la cellule gliale mature une spécificité au niveau des facteurs de transcription.

1.3.3. Constituants indispensables à la synthèse et à la maintenance de la myéline

^{**} Ce type de protéines comporte des éléments répétitifs avec une forme de doigts de gant. On peut retrouver de nombreux doigts. Ainsi, la protéine Sp1 qui se fixe sur les boîtes GC possède trois doigts de zinc. L'ion Zn²⁺ sert à stabiliser le motif sous forme de doigt.

On ne reviendra pas sur les rôles des lipides, notamment du cholestérol et des galactocérébrosides qui ont déjà été décrits dans les chapitres précédents.

La meilleure appréhension du rôle des protéines dans la myéline est effectuée grâce aux études *in vivo*. Pour de telles études, la génération de souris mutantes, de souris *Knock Out* (KO) P0 ou PMP22 apporte de puissants outils de travail.

Giese et coll. en 1992⁴⁹ manipulent le gène de la P0 chez des souris. La souris hétérozygote P0^{+/-} est apparemment normale alors que l'homozygote présente un phénotype différent dès la troisième semaine de vie incluant des troubles de la coordination motrice, un tremblement et exceptionnellement des convulsions. Ces symptômes sont similaires à ceux observés chez la souris Trembler. L'examen morphologique et ultrastructural de la myéline du nerf sciatique de la souris homozygote montre que l'absence de P0 n'affecte pas les stades précoces de la myélinisation (établissement d'une relation avec l'axone destiné à être myélinisé). Par contre, la différenciation de la cellule de Schwann est affectée. La myéline est synthétisée mais elle est fine et peu compactée. Chez ces mutants, il n'y a pas de ligne intrapériodique et un allongement de l'espace du nœud de Ranvier. Les axones sont sévèrement hypomyélinisés et on observe une dégénérescence axonale. P0 apparaît donc essentielle à la formation des tours de myéline, à la compaction et la maintenance de la gaine de myéline. A côté des modifications de la P0, on observe aussi des modifications d'expression d'autres protéines. Par exemple, il existe une augmentation de l'expression de la MAG et de PLP alors que l'expression de la PMP22 est diminuée⁵⁰. Une des hypothèses qui expliquerait que P0 régule la myélinisation pourrait être qu'elle participe à une cascade de signal de transduction

par l'intermédiaire d'interactions entre son domaine cytoplasmique et d'autres composants cellulaires. Le fait que des mutations sur le site de la PKC intra-cellulaire sont responsables de neuropathies est en faveur de cette hypothèse. La PKC serait impliquée dans la régulation de l'adhésion de la P0. L'expression de NCAM et NGFR qui sont des marqueurs précoces de la différenciation de la cellule de Schwann (normalement diminués durant la myélinisation) reste anormalement haute chez la souris P0 $-/-$. L'expression de la MBP est également plus basse chez la souris KO que la souris normale. Ces observations suggèrent que P0 régule aussi l'expression de ces gènes. L'examen de la souris hétérozygote P0 $+/-$ est indissociable de celui de la souris normale jusqu'à quatre semaines. Après ces quatre semaines, on observe que certaines zones de la myéline compacte, d'une périodicité normale, sont anormalement fines et que de discrètes anomalies électrophysiologiques apparaissent. Ces résultats sont concordants avec le fait qu'il existe un effet dose du gène et qu'une réduction de 50% suffit pour faire apparaître des signes cliniques.

Pour la protéine PMP 22, le phénotype souris Trembler (mutation de la PMP22) est similaire à celui observé dans les souris KO P0 ^{51,52}. L'initiation de la myélinisation est normale alors que le processus de myélinisation s'interrompt. Il est conclu que la PMP 22 et P0 jouent des rôles similaires dans la myélinisation. Chez des souris KO PMP22, sont constatées des anomalies de la marche dès le 14^{ème} jour ⁵³. Seulement 20% des axones présentaient une gaine de myéline normale (60 % chez une souris normale) et la gaine de myéline entourant les axones restants était trop épaisse par rapport au diamètre de l'axone. Ces aspects dénommés tomacula résultent d'une hypermyélinisation locale et correspondent à des tours de myéline redondants (voir chapitre neuropathie par hypersensibilité à la pression). Elles sont abondantes chez

la souris de 24 jours puis deviennent plus rares avec l'âge au fur et à mesure qu'une démyélinisation s'observe. De cette étude a été conclu que la PMP 22 servait à l'initiation de la myélinisation, à la détermination de l'épaisseur de la myéline et à la stabilité de la gaine de myéline. Les études biochimiques de ces souris montrent qu'il existe une petite diminution du taux de P0 et de MBP dans le nerf sciatique des mutants de 10 jours (qui pourrait être le reflet de la démyélinisation). La souris hétérozygote présente un phénotype similaire mais moins intense que l'homozygote avec hypermyélinisation et démyélinisation.

1.3.4. Réparation de la myéline

Si des lésions neurologiques centrales (traumatisme crânien, accident cardiovasculaire cérébrale, tumeur...) provoquent la formation de cicatrices astrocytaires défavorables à la restauration des connexions neuroniques, les cellules de Schwann réagissent aux lésions en créant autour des axones périphériques sectionnés un microenvironnement favorisant la réparation des neurones. Ces réparations peuvent avoir deux aspects : la régénérescence axonale et la réparation synaptique.

La régénérescence axonale : la section d'un axone (axotomie) induit la dégénérescence de la partie distale de l'axone et la réaction des cellules de Schwann qui se différencient en dégradant leur propre myéline pour atteindre un état de différenciation comparable à celui des cellules de Schwann embryonnaires. Les cellules de Schwann qui sont capables de survivre en absence de contact axonal, se multiplient et s'allongent pour réparer la lésion. Ce processus post-lésionnel s'appelle la dégénérescence Wallérienne et conduit à l'établissement d'un

tube continu de cellules de Schwann : le tube endoneural (ou bande de Bungner). Ce tube est un véritable microenvironnement propice à la repousse axonale, riche en particulier en facteurs neurotrophiques sécrétés par les cellules gliales. La réponse « pro-régénératrice » des cellules de Schwann doit être accompagnée d'un bouleversement majeur de la physiologie du neurone blessé. Ce dernier doit passer d'un mode de fonctionnement mature, axé sur la transmission de l'influx nerveux, à un mode de fonctionnement reproduisant le processus développemental de pousse neuritique. La repousse axonale accomplie, le neurone se «repositionne» en mode fonctionnel de transmission. Les cellules de Schwann de la région lésée, retrouvent le contact neuronal qui induit leur différenciation vers le phénotype myélinisant. Une fois différenciées, elles reforment la gaine de myéline et les nœuds de Ranvier. La restauration fonctionnelle est achevée. Si la lésion nerveuse est trop importante ou que les conditions nécessaires à la régénération axonale ne sont pas rassemblées, il reste l'espoir d'une certaine récupération fonctionnelle grâce à la réparation synaptique. Cette dernière a lieu au niveau de l'innervation musculaire. La mort d'un motoneurone et la dénervation de la plaque motrice qui y est associée provoquent une réaction vaine des cellules de Schwann: dégénérescence Wallérienne et formation du tube endoneural. Par contre, les cellules de Schwann terminales qui recouvraient la jonction neuromusculaire vont essayer de rétablir cette synapse. Pour cela, elles émettent des prolongements en direction d'autres plaques motrices. Une fois le contact établi avec une plaque motrice saine (innervée), le pontage schwannien provoque le bourgeonnement de la terminaison du motoneurone. La branche collatérale néoformée de l'axone pousse le long du pont glial vers la plaque motrice dénervée. Arrivé dans cette dernière, le bourgeon axonal la ré-innervé et reconstitue donc une jonction neuromusculaire. Parallèlement à cette néo-

synaptogenèse, les cellules de Schwann terminales résorbent leurs extensions. Seul demeure le pontage schwannien entre les 2 plaques motrices. Elles se trouvent alors sous le contrôle du même motoneurone qui forme une jonction neuromusculaire polysynaptique²⁹.

1.4. PHYSIOLOGIE DE LA MYÉLINE

La myéline a un double rôle de propagation rapide de l'influx nerveux et d'échanges et de protection de la fibre nerveuse. Un des rôles principaux de la gaine de myéline est donc d'augmenter la vitesse de transmission de l'influx nerveux le long de la fibre où il est propagé. Elle accomplit cette fonction de la même manière qu'un isolant électrique en évitant la diffusion du courant dans l'espace environnant. La vitesse de propagation d'un potentiel d'action est de 50-100m/sec pour les fibres myélinisées mais seulement de 1m/sec pour les fibres non-myélinisées. La myéline permet une augmentation de la vitesse de conduction nerveuse mais permet aussi un gain de place et d'énergie. Un axone amyélinique consomme 5000 fois plus d'énergie et possède un diamètre au moins 40 fois plus important qu'un axone myélinisé. Le diamètre « d » de l'axone détermine l'épaisseur de la gaine de myéline ($=0.25 d$), la longueur de la zone internodale ($=300 d$) afin d'optimiser la vitesse de conduction de la fibre nerveuse (v en m/s = $6 d$ en μm). Par exemple, le diamètre d'une fibre myélinisée conduisant à 60 m/s est de 10 μm environ; pour qu'une fibre amyélinique qui conduise l'influx à la même vitesse il faudrait qu'elle possède un diamètre de 3,6 m !

Très tôt, les microscopistes Galvani et Virchow avaient anticipé que les fibres myélinisées conduisaient l'influx par saut et que la gaine de myéline était isolante ⁵⁴. Cependant ce n'est qu'en 1925 que Lillie propose que la conduction dans la fibre nerveuse soit saltatoire et passe de nœud en nœud. La membrane des axones myélinisés exprime différentes molécules actives qui interviennent directement dans la transmission de l'influx nerveux.

1.4.1. Composition biochimique des fibres myélinisées

Article de revue ⁵⁵.

L'interaction de l'axone avec la myéline conduit à un remodelage de l'axone, initialement uniforme en une structure hautement polarisée permettant une vitesse de conduction optimale. Les canaux sodiques et potassiques se séparent dans des domaines distincts, le nœud et le juxtaparanode et sont séparés par le complexe paranodal. Le cytosquelette axonal, les organelles et le trafic axonal sont aussi répartis différemment le long de l'axone. Les segments de myéline sont polarisés de façon radiale: des récepteurs pour des protéines de la matrice extra-cellulaire sont exprimés dans le mesaxone externe et des molécules d'adhésion comme la MAG interagissent avec l'axone au niveau du mesaxone interne. Les fibres myélinisées présentent également une polarité longitudinale centrée sur le nœud de Ranvier (figure 8).

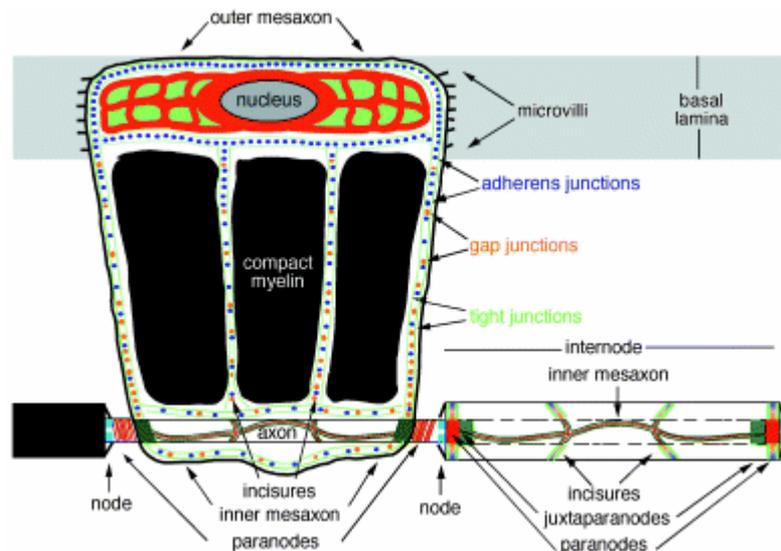


Figure 8. Vue schématique de l'axone myélinisé. A gauche, une cellule de Schwann déroulée

Nœud de Ranvier (figure 9): cette structure, un fossé de $1\mu\text{m}$ environ, correspond à l'espace situé entre deux cellules de Schwann où l'axone est exposé et communique avec l'environnement extra-cellulaire, entre chaque segment de myéline. Le segment initial de l'axone et le nœud de Ranvier sont respectivement les lieux de génération et de régénération du potentiel d'action. Ces deux domaines sont très riches en canaux Na^+ . $\text{Na}_v1.6$ est le canal prédominant dans les nœuds de l'adulte ⁵⁶. Il s'agit d'un canal sensible à la TTX (*tetrodotoxin*) et qui est rapidement inactivé. Il existe une phase de transition durant le développement où le canal $\text{Na}_v1.2$ est exprimé. La physiologie de cette phase de transition n'est pas bien élucidée mais il est supposé que cela permettrait aux neurones de s'adapter aux hautes fréquences de décharges. $\text{Na}_v1.6$ est activé pour de hautes fréquences de stimulation et est rapidement inactivé, propriétés essentielles permettant de soutenir le rythme soutenu des décharges du nœud de Ranvier. Les canaux sodiques font partie d'un complexe multiprotéique dont la composante principale est l'ankyrine G. L'ankyrine G soutient directement les sous-unités α du canal sodique (elle pourrait aussi interagir avec les

sous-unités β mais cela est controversé). L'ankyrine G se lie aussi avec la spectrine β IV localisée dans le nœud et le segment initial de l'axone. La spectrine permettrait le lien entre le complexe canalaire et le cytosquelette d'actine (bien qu'il n'ait pas été démontré de site pour l'actine dans l'isoforme nodale de la spectrine). L'ankyrine et la spectrine sont nécessaires à la formation du nœud. L'absence de l'isoforme Σ 1 de la spectrine β IV est responsable d'une neuropathie chez la souris⁵⁷. On trouve également des pompes Na⁺/K⁺ ATPase au niveau de l'axolemmе nodal et de récentes études ont également montré la présence de deux canaux potassiques au niveau des nœuds⁵⁸ (K_v3.1b et KCNQ2) qui contrôleraient les excitations aberrantes. Les nœuds sont en contact avec des centaines de microvillus, digitations de la cellule de Schwann qui contiennent de l'actine F. Les microvillus contiennent trois protéines : l'eitrine, la radixine et la moesine. Ces protéines auraient un rôle de liaison avec les protéines de la membrane axonale. Les microvillus contiennent également des canaux potassiques rectifieurs de courant KIR1 et KIR3 ce qui leur permet d'accumuler le potassium durant l'activité axonale.

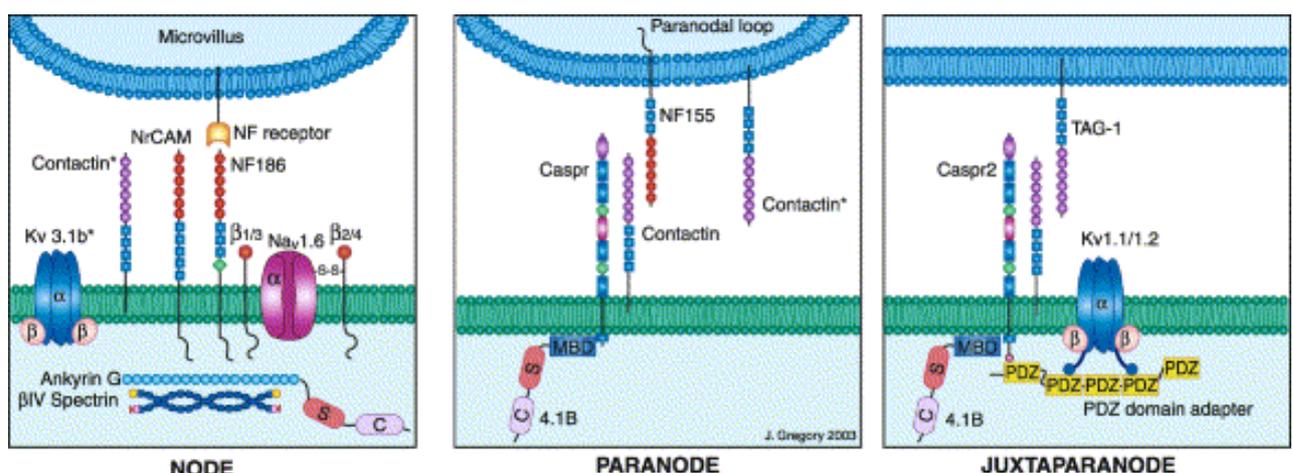


Figure 9. Composition moléculaire des domaines nodaux et paranodaux

Paranode : La jonction paranodale axonale est composée principalement de *contactin* et *caspr* (*Contactin-associated protein* aussi connue sous le nom de *paranodine*). Ces deux molécules participent à l'adhésion paranodale et à la formation de jonctions « septales » qui facilitent les échanges entre l'axone et la cellule de Schwann. Elles sont essentielles à la genèse de la jonction axogliale et leur absence résulte en la disparition des septa et à un élargissement de l'espace entre la cellule de Schwann et l'axone. La disparition des septa conduit à une rerépartition des canaux potassiques retrouvés habituellement dans le juxtapanode au niveau du paranode alors que les canaux sodiques nodaux ne semblent pas modifiés. Il apparaît donc que les septa servent de barrière aux canaux potassiques alors qu'ils ne sont pas indispensables à la formation du nœud de Ranvier. Les replis non myélinisés de la cellule de Schwann des zones paranodales portent des canaux à eau (aquaporines) ; à Cl^- , osmo-régulés ; des canaux KIR et purinergiques P2X, métalosensibles ainsi que des canaux Ca_v . Au contact de la myéline dense et au niveau des incisures, les membranes des enroulements de la cellule de Schwann supportent des canaux K_v 1.5 et des gap-jonctions réalisant des voies trans-cellulaires.

Juxtapanode: les canaux potassiques rectifieurs de courant type shaker K_v 1.1 et 1.2 sont exclus de l'axolemmе nodal et vont progressivement être séquestrés dans la région juxtapanodale. Durant la myélinisation, ils sont plus diffus au niveau du nœud et servirait de contrôle à une excitation aberrante ⁵⁹. Un homologue de *caspr*, *caspr2* est localisé au niveau du juxta-paranode possédant un domaine intracellulaire PDZ. K_v 1.1 et K_v 1.3, possédant eux aussi un domaine PDZ, interagiraient avec *caspr2* formant un complexe via l'intermédiaire d'une molécule, TAG1

(*Transiently-Expressed Axonal Glycoprotein 1*) récemment décrite dans le juxtapanode⁶⁰. Caspr2 forme un complexe cis avec TAG1, essentiel pour la répartition correcte des canaux potassiques dans le juxta-panode. Les canaux potassiques présents dans le juxtapanode empêchent une hyperexcitation servent aussi à maintenir le potentiel de repos.

Segment internodal: L'internode comprend 99% du segment total. C'est le site d'interaction entre l'axone et la cellule de Schwann. MAG est le candidat supposé pour médier ces interactions. Un nombre important de protéines neuronales interagit avec MAG afin de réguler la régénération axonale. Dans le SNP, deux particularités de l'axone sont liées à l'architecture de la cellule de Schwann: le juxtamesaxone et les juxtaincisions (qui correspondent aux membranes axonales se trouvant respectivement en face du mesaxone interne et des incisions de Schmidt Lanterman). A ce niveau, la MAG, la connexine 29 et la neurofascine sont présentes sur la membrane gliale alors que contactin et caspr sont présentes sur la membrane neuronale. Ainsi, ces deux régions apparaissent être une continuité internodale de la spécialisation moléculaire présente dans le paranode et juxtapanode. Le mesaxone externe au contact de la lame basale porte de nombreux canaux K_v 1.5 ainsi que des complexes protéiques associant laminines, intégrines, dystroglycans et utrophine reliés au cytosquelette de la cellule de Schwann et impliqués dans la formation et la conservation des gaines.

Il existe d'autres types de jonctions le long de l'axone et de sa gaine de myéline.

Les jonctions serrées constituées de claudine séparent les incisions et le paranode de l'espace extracellulaire. Les jonctions adhérentes contiennent de la cadhérine et

lient plusieurs tours de la gaine de myéline ensemble. Entre deux espaces intracellulaires contigus, de larges voies de communication sont ouvertes par des gap-jonctions formées de plusieurs connexons. Chaque connexon est un canal composé d'une double couronne de 6 molécules de connexine 32. Les jonctions gap forment un chenal radial contrôlant la diffusion des ions et des petites molécules. Elles sont présentes au niveau des incisures de Schmidt-lantermann.

1.4.2. Transmission de l'influx nerveux

Propagation de l'influx nerveux dans une fibre amyélinique. (figure 10)

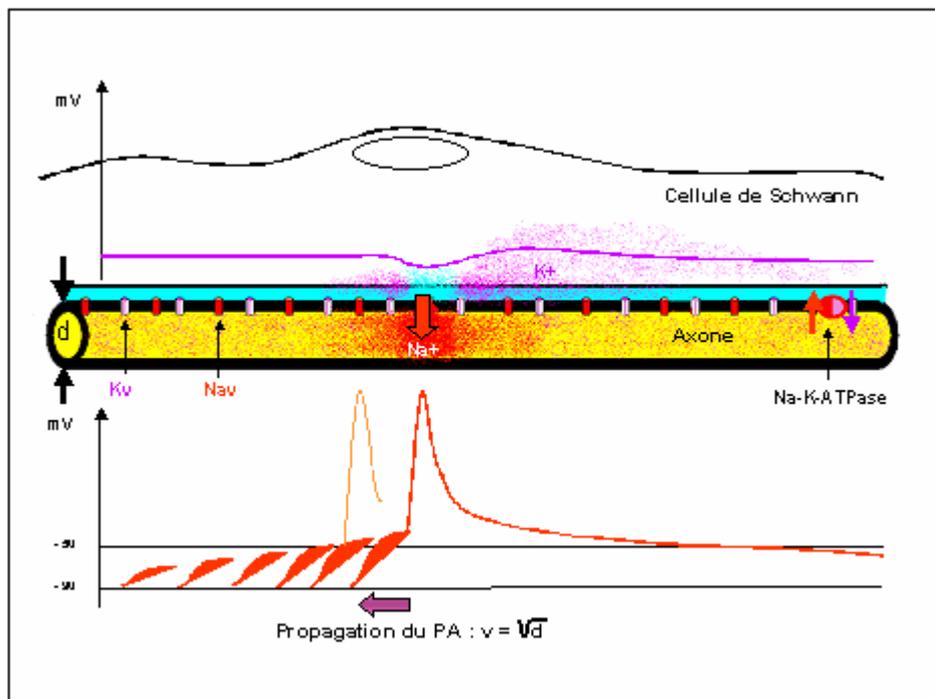


Figure 10. Propagation de l'influx dans une fibre amyélinique

Les axones de petit diamètre portent des canaux Na_v et K_v essaimés tout le long de leur membrane plasmique. Le passage d'un potentiel d'action (PA) correspond à l'arrivée massive de Na^+ qui repousse les autres charges positives et le K^+ en particulier. En avant du PA, la charge capacitive membranaire augmente sur une

faible distance mais suffit à dépolariser la zone adjacente de la membrane : le PA se propage ainsi de place en place à vitesse faible. En arrière du PA, la faible densité relative des canaux $K_v1.1$ lents éparpillés sur la membrane ne permet pas une sortie rapide de K^+ , ni un retour rapide au potentiel de repos, d'autant que la cellule de Schwann est de grand volume et n'exerce aucune pression forte pour renvoyer le K^+ vers l'axone et aider les pompes Na-K-ATPases. Ces conditions entraînent une dépolarisation prolongée de l'axone, une régénération relativement peu efficace du potentiel de repos, une tendance à l'instabilité et aux décharges prolongées et finalement un risque de propagation aléatoire s'il se produit un défaut de la membrane.

Propagation de l'influx dans une fibre myélinisée (figure 11)

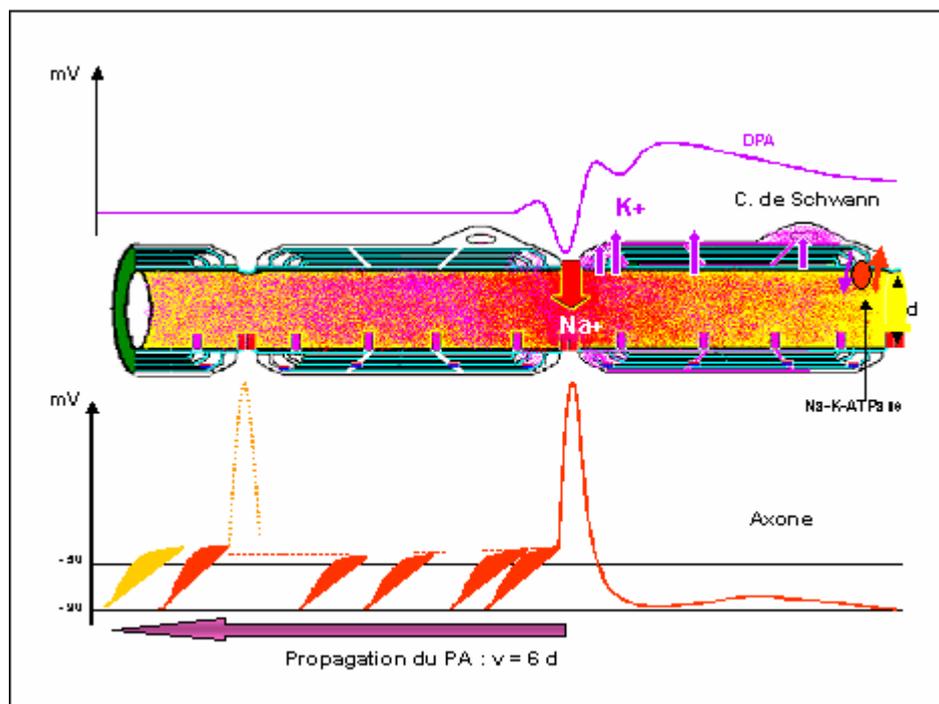


Figure 11. Propagation de l'influx dans une fibre myélinisée

Au niveau du nœud de Ranvier, l'ouverture brutale des canaux Na_v fait entrer une quantité d'ions positifs qui créent en avant du PA une dépolarisation efficace. Ce

potentiel local s'étend presque immédiatement jusqu'au nœud de Ranvier suivant parce que la membrane internodale pauvre en canaux de fuite sous la myéline possède une constante d'espace longue (qui dépend des résistances longitudinale et transversale) : la dépolarisation « saute » de nœud en nœud à l'intérieur de la fibre. En arrière du PA, l'ouverture des canaux K_v 1.2 rapides paranodaux repolarise vite la membrane du nœud raccourcissant la phase réfractaire et permettant rapidement la naissance éventuelle d'un nouveau PA. Au bord de la myéline et à travers les incisures, l'expulsion de K^+ par les canaux K_v 1.1 et les gap-jonctions vers le cytoplasme de la cellule de Schwann régénère le potentiel de repos (PR) de l'axone. La résistance transmyélinique est faible. L'influx de K^+ gonfle et dépolarise la cellule de Schwann dont le cytoplasme de volume réduit exerce alors une pression pour renvoyer le K^+ soit vers la membrane basale et le milieu extra-cellulaire soit vers l'axone par les pompes NA-K-ATPases qui finissent de stabiliser le PR du nœud de Ranvier.

1.4.3. Interactions cellule de Schwann-axone

A tout moment, la cellule de Schwann interagit avec l'axone et réciproquement. On a décrit ci-dessus le rôle de la cellule de Schwann dans l'organisation de la membrane axonale d'un axone myélinisé et on verra en pathologie l'importance de l'intégrité de la gaine de myéline pour la répartition de ces éléments.

Les cellules de Schwann myélinisantes influencent le calibre axonal en contrôlant l'expression et la phosphorylation des neurofilaments. Ces éléments du cytosquelette sont phosphorylés et en faible densité dans les fibres myélinisées responsable d'un

espacement entre les neurofilaments et d'une augmentation de calibre de l'axone. A l'inverse, dans les fibres non myélinisées et les nœuds de Ranvier, leur état de phosphorylation est plus bas, ils sont en densité beaucoup plus importante et le calibre de l'axone est plus petit. Il est supposé que le degré de phosphorylation des neurofilaments détermine le calibre de l'axone dans un contexte de myélinisation⁶¹. Quand il existe une démyélinisation, le calibre axonal diminue, la densité des neurofilaments augmente et leur état de phosphorylation diminue. De plus, on observe une diminution du transport antérograde dans l'axone. Une des protéines de la cellule de Schwann impliquée dans cet échange avec l'axone serait la MAG mais il existe des anomalies du diamètre axonal associées à d'autres mutations de gènes de la myéline comme la PMP22, la P0 ou la connexine 32. Il est difficile d'attribuer la réduction de volume à une seule protéine. Comment un défaut de la myéline peut entraîner une altération axonale ? Parmi les explications possibles, on peut citer une augmentation du coût énergétique lié aux potentiels d'action, une décroissance du soutien trophique des cellules de Schwann, des signaux anormaux provenant de la cellule de Schwann anormale et la perte du signal du mesaxone interne et/ou du cytoplasme spécialement dans la partie paranodale. D'autres facteurs liés à la démyélinisation ou à la perte axonale y compris des modifications inflammatoires provoquées par la démyélinisation peuvent intervenir. Déterminer la cause de la perte axonale dans les neuropathies héréditaires est un objectif important afin d'envisager des pistes thérapeutiques pour ces maladies.

1.4.4. Rôle de la cellule de Schwann à la jonction neuro-musculaire⁶²:

Il est maintenant établi que les cellules de Schwann modulent la libération des neurotransmetteurs au niveau de la plaque motrice. A ce niveau, on trouve des cellules de Schwann particulières: les cellules péri-synaptiques ou terminales. Ce sont des cellules apparentées au phénotype non-myélinisant qui recouvrent complètement la synapse entre la terminaison axonale du motoneurone et la fibre musculaire. Ces cellules de Schwann possèdent des récepteurs sensibles à l'acétylcholine (récepteurs muscariniques) libérée par le motoneurone. L'activation de ces récepteurs gliaux active une machinerie intracellulaire complexe, basée sur l'élévation de la concentration intracellulaire en calcium, qui conduit à une modulation de la libération de l'acétylcholine. Enfin, comme il l'a été mentionné pour les astrocytes, les cellules de Schwann éliminent des neurotransmetteurs présents dans la fente synaptique. Ceci est absolument nécessaire à un bon contrôle de la transmission synaptique. Tout excès de neurotransmetteurs dans l'espace synaptique est délétère pour la synapse (tant sur le plan fonctionnel que structural). Ces cellules gliales participent donc activement au nettoyage de la fente synaptique, de concert avec les processus de dégradation enzymatique extracellulaire et de recapture du neurotransmetteur par la présynapse.

1.5. NEUROPATHIES SENSITIVO-MOTRICES HEREDITAIRES DEMYELINISANTES

Les neuropathies héréditaires sont les plus fréquentes des pathologies neurologiques héréditaires. C'est en 1886 que Charcot et Marie (en France) et Tooth (en Angleterre) décrivent une forme particulière d'atrophie musculaire progressive, souvent familiale, débutant par les pieds et les jambes et plus tardivement les

membres supérieurs, qui porte maintenant leur nom : la maladie de Charcot-Marie-Tooth ou CMT. Dès 1889, Herringham décrit une forme particulière dans laquelle la maladie n'atteint que les hommes et est transmise par les femmes, correspondant très vraisemblablement à la première description du CMT lié à l'X. Dyck et Lambert en 1968, montrent l'hétérogénéité phénotypique de la maladie de CMT à l'aide d'études électrophysiologiques et anatomopathologiques. Ils différencient trois formes principales : une forme démyélinisante, une forme axonale ou neuronale, une forme démyélinisante sévère et précoce correspondant à la maladie de Déjerine et Sottas (DSS). La distinction phénotypique des deux premières formes reste un fait majeur : forme démyélinisante dite CMT 1 et forme axonale dite CMT2. Une autre entité a été décrite sous le terme de neuropathie congénitale hypomyélinisante (NCH) correspondant à des enfants qui présentaient une hypotonie néonatale avec une neuropathie sévère. De plus, s'y associent fréquemment une arthrogrypose et des difficultés respiratoires. Les VCNM sont inférieures à 5 m/s et la biopsie retrouve des caractéristiques identiques au DSS.

Au cours des quinze dernières années, la biologie moléculaire a considérablement modifiée cette nosologie simple et a montré l'hétérogénéité des anomalies génétiques de la maladie de CMT (figure 12).

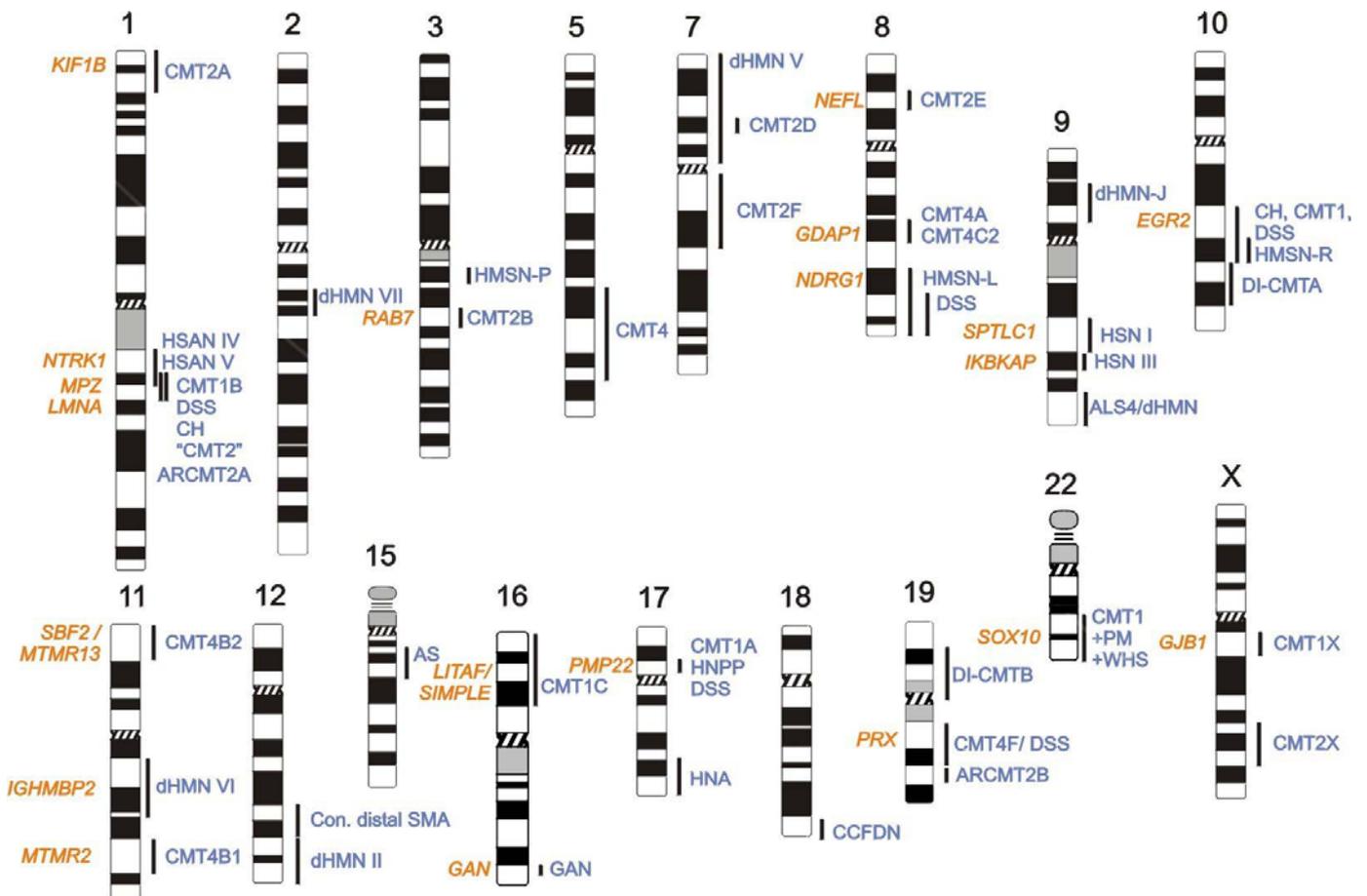


Figure 12. Représentation des différentes mutations associées aux neuropathies sensitivo-motrices héréditaires

Les CMT1, CMT2 et DSS/NCH sont causés par des mutations de gènes différents et inversement des mutations différentes dans le même gène peuvent être responsable de phénotypes différents.

Il devient ainsi extrêmement difficile de réaliser une classification universelle des neuropathies sensitivo-motrices héréditaires prenant en compte le phénotype, l'électrophysiologie et les données de la biologie moléculaire. Les CMT sont classés le plus souvent par un chiffre et une lettre en fonction de leur phénotype, de leur mode d'hérédité et leur mutation génétique. Nous avons pris le parti de les décrire en fonction des gènes mutés identifiés jusqu'à présent ⁶³ en réservant un chapitre

particulier à la neuropathie par hypersensibilité à la pression. Les mutations de la P0 seront décrites dans la discussion.

<http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/>

1.5.1. Les mutations responsables d'un phénotype CMT ou apparentés

(figure 13)

1.5.1.1. Les mutations de la PMP22

Une délétion de la PMP22 conduit habituellement au phénotype de neuropathie par hypersensibilité à la pression (HNPP) que nous décrivons plus loin. Le CMT1A est la forme la plus fréquente de neuropathie héréditaire et est habituellement causé par une duplication de la partie du gène contenant la PMP22. La plupart des patients débute la maladie dans la deuxième décennie de vie. Le tableau clinique est constitué d'une fatigabilité, d'une atrophie et d'une hypoesthésie des membres inférieurs, de déformations des pieds avec abolition des réflexes ostéo-tendineux (ROT). Les vitesses de conduction sont habituellement basses aux environs de 20 m/s précédant le début clinique de la maladie. Le fait que la PMP22 puisse être responsable soit d'un CMT1A soit d'une HNPP en fonction du nombre d'exemplaires du gène indique qu'il existe un effet de dose de gène impliqué dans la physiopathologie. La PMP22 interagit également avec la P0 et on peut supposer qu'il existe une altération du ratio PMP22/P0 qui déstabilise la gaine de myéline. Une surexpression de la PMP22 pourrait aussi conduire à une altération de la voie de recyclage endosomale résultant en une accumulation des membranes dans les endosomes tardifs. Ces résultats sont similaires à ceux obtenue avec la PLP1 qui

sature les transports raft* de la myéline au niveau du SNC, affectant la myélinisation et la viabilité des oligodendrocytes. Il est vraisemblable que la PMP22 possède le même rôle bien qu'elle ne soit pas classiquement un protéolipide. Des études récentes dans le SNC sur la PLP1 pourrait faire suggérer un rôle de la PMP22 dans la matrice extra-cellulaire : premièrement, les protéines tetraspans interagissent avec les intégrines, deuxièmement, PLP1 forment des complexes avec des intégrines et régulent la myélinisation via les oligodendrocytes. Troisièmement, la voie des intégrines est indispensable au développement. Il est possible que les effets d'une surexpression de la PMP22 soient médiés par les intégrines.

En dehors de la délétion ou de la duplication de la PMP22, il existe plus de 40 mutations de la PMP22 de type non sens, faux-sens ou avec changement du cadre de lecture. A l'exception des phénotypes HNPP, les CMT1A présentant une mutation de la PMP22 présentent tous un phénotype plus sévère que les patients possédant la duplication. Un effet gain de fonction toxique est supposé par le fait que les souris hétérozygotes trembler +/- (mutantes de la PMP22) ont un phénotype plus sévère que les souris PMP22 +/- . Le gain de fonction toxique peut être lié à un effet dominant négatif* de l'allèle muté sur l'allèle sauvage. Dans des cultures cellulaires, les mutants PMP22 sont retenus dans le réticulum endoplasmique (RE) ou dans le compartiment intermédiaire. Un rôle dans l'interaction avec la calnexine (protéine du RE), le protéasome ou les lysosomes est aussi supposé.

* Domaines de la membrane plasmique enrichis en sphingolipides et cholestérol. Ils incorporent des protéines associées aux lipides et ainsi servent à assembler des protéines impliquées dans la transduction du signal

* La fonction du produit est perdue mais l'effet phénotypique est dominant car le produit muté a gagné une autre fonction qui perturbe le fonctionnement normal du produit sauvage

1.5.1.2. Mutations de GJB1

GJB1 (*Gap Junction Protein β 1*) est le gène situé sur le chromosome X codant pour la connexine 32 responsable du CMT1X (CMT lié à l'X). L'interruption des gap-jonctions est vraisemblablement la cause de la survenue d'une neuropathie chez les patients présentant des mutations de la connexine 32. Mais chez la souris GJB1 $-/-$, il n'a pas été mis en évidence d'altération structurale des gap-jonctions et de la fluorescence traversant ces jonctions. Il est supposé qu'une autre connexine participe aussi à la fabrication des gap-jonctions et il pourrait s'agir de la connexine 29. Il reste à déterminer les fonctions de la connexine 32 non supplées chez les patients CMT1X et chez les souris GJB1 $-/-$. Il y a plus de 240 mutations différentes associées au CMT1X. Les manifestations cliniques sont plus homogènes que pour les CMT1A. Les garçons présentent un phénotype CMT débutant dans l'enfance ou à l'adolescence mais lors de l'évolution, les VCN sont modérément diminuées autour de 30-40 m/s, la perte axonale est plus prononcée que dans le CMT1A. Il peut exister aussi une atteinte des femmes conductrices.

Parmi les mutations connues de GJB1, une est responsable d'un phénotype DSS et quelques autres sont associées avec une surdité ou une atteinte du SNC ; Ces phénotypes semblent être la conséquence d'un effet dominant négatif de l'allèle mutant sur les connexines co-exprimées. Les mutants associés à ces mutations semblent être retenus dans le RE ou l'appareil de Golgi entraînant un trafic aberrant des autres connexines. Par contre le phénotype classique des CMT1X semble être la conséquence d'une perte de fonction.

1.5.1.3. Les mutations du gène LITAF/SIMPLE

Les mutations de LITAF (*lipopolysaccharide-induced tumour-necrosis α factor*) sont associées à une forme autosomique dominant de CMT appelée CMT1C. LITAF code pour une protéine de 161 AA dont la fonction n'est pas connue mais qui pourrait agir dans les voies de dégradation protéique.

1.5.1.4. Les mutations responsables de CMT récessifs

Les formes démyélinisantes récessives de CMT ont été dénommées CMT4. Chacune d'elle est rare et le plus souvent associée à une neuropathie sévère congénitale (NCH) ou infantile (DSS) et détermine un phénotype particulier.

Les mutations du gène de la GDAP1 (*ganglioside-induced differentiation-associated protein1*) sont responsables du CMT4A et sont caractérisées par une neuropathie démyélinisante sévère. Mais GDAP1 a aussi été décrite dans des formes sévères de neuropathie axonale (CMT2 AR). Les mutations GDAP1 sont responsables de phénotypes variés faisant supposer que ces mutations affectent autant le neurone que la cellule de Schwann. La protéine correspondante semble avoir deux domaines trans-membranaires et un domaine glutathione-S-transférase suggérant un rôle dans les voies anti-oxydantes ou de désintoxication.

Les mutations du gène de la MTMR2 (*myotubularin-related protein 2*) sont responsables du CMT4B1. Une fatigabilité apparaît après 2 à 4 ans et conduit au fauteuil roulant à l'âge adulte. Les VCN sont uniformément basses et les biopsies

montrent des irrégularités de la myéline avec des tours redondants. Les caractéristiques histopathologiques de ces mutations suggèrent un dommage primaire de la gaine de myéline mais MTMR2 est aussi exprimée par les neurones périphériques. Les mutations du gène de la MTMR2 peuvent toucher différentes parties de la protéine mais la diminution ou l'absence de son activité phosphatase semble être constante. Les phospholipides membranaires PIP3 et PIP3.5 sont déphosphorylés par cette MTMR. Ainsi, comme les phospholipides sont impliqués dans le trafic intra-cellulaire, le CMT4B1 pourrait être la conséquence d'altérations de différents processus comme le recyclage de la membrane, les processus d'endo- et d'exocytose et les voies de transport médiés par la membrane.

MTMR13 (*myotubularin-related protein 13*) est responsable du CMT4B2 qui a un pattern similaire au précédent. Certaines mutations sont responsables de neuropathies isolées alors que d'autres sont aussi responsables de glaucome. MTMR13 code pour une protéine qui ne possède pas de domaine à activité phosphatase mais qui interagit directement avec MTMR2.

Les mutations récessives du gène NDGR1 (*N-myc downstream-regulated gene-1*) sont responsables du CMT4D. CMT4D fait partie d'un syndrome car les individus présentent aussi une surdité et des traits dysmorphiques. La maladie a un début dans l'enfance et progresse vers un déficit sévère dans la 5^{ me} décade de la vie. NDGR1 est une protéine intra-cellulaire mais sa fonction est inconnue.

Les mutations récessives du gène de la p riaxine sont responsables du CMT4F. Les mutations provoquent une perte de fonction du gène et les individus affectés

présentent un phénotype de DSS avec un déficit moteur sévère, un déficit sensitif avec ataxie, ce qui le distingue des autres types de CMT où l'atteinte sensitive est moins prédominante. La periaxine est une protéine associée à la membrane possédant un domaine PDZ exprimée uniquement dans la cellule de Schwann. La periaxine située dans le mesaxone externe interagit avec le complexe dystroglycane via la *dystrophin related protein 2* qui lie la laminine 2 de la membrane basale au cytosquelette d'actine et possiblement à d'autres composants cellulaires. Il est surprenant de constater que des mutations de la périaxine soient responsables de phénotypes aussi sévères sachant que la cellule de Schwann possède deux autres complexes de dystrophines : l'un contenant de l'utrophine, l'autre un isoforme de dystrophine.

1.5.1.5. Les mutations des facteurs de transcription

Les mutations de l'EGR2 sont responsables de phénotypes très variés allant de CH/DSS au CMT1. La surexpression de l'EGR2 est responsable d'une augmentation de nombreuses protéines de la myéline. EGR2 active le promoteur de la P0 par exemple. Toutes les mutations dans le domaine en doigt de zinc provoquent vraisemblablement un gain de fonction ou des effets dominants négatifs.

Le facteur de transcription SOX 10 active directement la P0 ou GDB1. Les mutations de son gène sont responsables de phénotypes CMT1, DSS/CNH ou même d'une atteinte démyélinisante du SNC. Ce facteur de transcription serait un régulateur des cellules souches de la crête neurale et du développement des oligodendrocytes et des cellules de Schwann. Les mutations hétérozygotes de SOX 10 sont

responsables du syndrome de Waardenburg* faisant supposer un effet dominant négatif. Un autre mécanisme est l'altération du site porteur de GJB1 responsable d'un phénotype CMT1X.

1.5.1.6. Mutations des protéines axonales et neuropathies axonales

Les mutations de deux gènes codant pour des protéines du cytosquelette axonal sont responsables de neuropathies axonales. Il s'agit de KIF1B (*kinesin family member1B*) et NEFL (*Neurofilament Protein, Light Polypeptide*). Les mutations touchant le site porteur de l'ATP de la KIF1B sont responsables du CMT2A. Les kinésines sont des molécules impliquées dans le transport des protéines et des organelles le long des microtubules. Les souris KIF1B *-/-* développent une neuropathie axonale avec en plus au niveau des jonctions neuro-musculaires une diminution des protéines des vésicules synaptiques. Ces constatations supportent l'hypothèse que les neuropathies sont longueur-dépendantes parce que les axones les plus longs sont les plus vulnérables à une défaillance du transport axonal.

Les mutations dominantes de NEFL sont responsables de CMT2E. Le tableau clinique peut aller d'une neuropathie débutant dans la deuxième ou troisième décennie de vie à un phénotype DSS. Les trois sous-unités des neurofilaments s'assemblent en filaments intermédiaires qui constituent une partie importante du cytosquelette axonal.

* Les syndromes de Waardenburg font partie des syndromes de surdité avec anomalies de la pigmentation

Récemment, Zuchner et coll.⁶⁴ ont rapporté le CMT2A a une mutation de la *mitofusin*

2. Les mitofusines contrôlent la fusion mitochondriale importante pour la morphologie de la mitochondrie. Les mitochondries déficientes en mitofusine perdent leur capacité à fusionner et probablement aussi leur capacité de migration le long des microtubules. Ainsi, on peut supposer une déprivation en énergie de l'axone distal, résultant en une neuropathie axonale.

1.5.1.7. Les mutations du gène Rab7

Elles sont responsables du CMT2B entraînant une neuropathie longueur dépendante et une perte sensitive conduisant à des lésions cutanées. Les protéines Rab font partie des protéines G, impliquées dans le trafic membranaire intra-cellulaire. En particulier Rab7 contrôle le transport lysosomal.

1.5.1.8. Les mutations du gène de la LMNA

De nombreuses mutations touchant les protéines de l'enveloppe nucléaire sont responsables de maladie neuromusculaires. Parmi celle-ci, les mutations de LMNA (qui code pour la lamine A) sont responsables du CMT2B1 ou d'une neuropathie axonale récessive appelée CMT2A-AR. Les lamines A/C sont des composants de filaments intermédiaires qui tapissent et organisent la surface interne de l'enveloppe nucléaire. Elles sont impliquées dans plusieurs activités nucléaires comme la réplication de l'ADN, la transcription des ARN, l'organisation nucléaire et de la chromatine, la migration nucléaire, la régulation du cycle cellulaire, le développement et la différenciation cellulaire et l'apoptose. Elles sont exprimées dans toutes les

cellules et malgré tout, la plupart des maladies se rapportant au gène LMNA sont tissu-spécifique. Les mutations dans le gène de la lamine peuvent être responsables de phénotypes variés comme la progéria, une dystrophie des ceintures type 1B, la dystrophie d'Emery-Dreyfuss, une cardiomyopathie dilatée type 1A et une lipodystrophie partielle autosomique dominante.

1.5.1.9. Les mutations de GARS et HSP

Les mutations de GARS (*Glycyl transfer RNA synthetase gene*) sont responsables du CMT2D et de l'amyotrophie spinale distale de type V.

Les mutations de HSP (small heat-shock proteins) sont responsables du CMT2F et de l'amyotrophie spinale distale de type II.

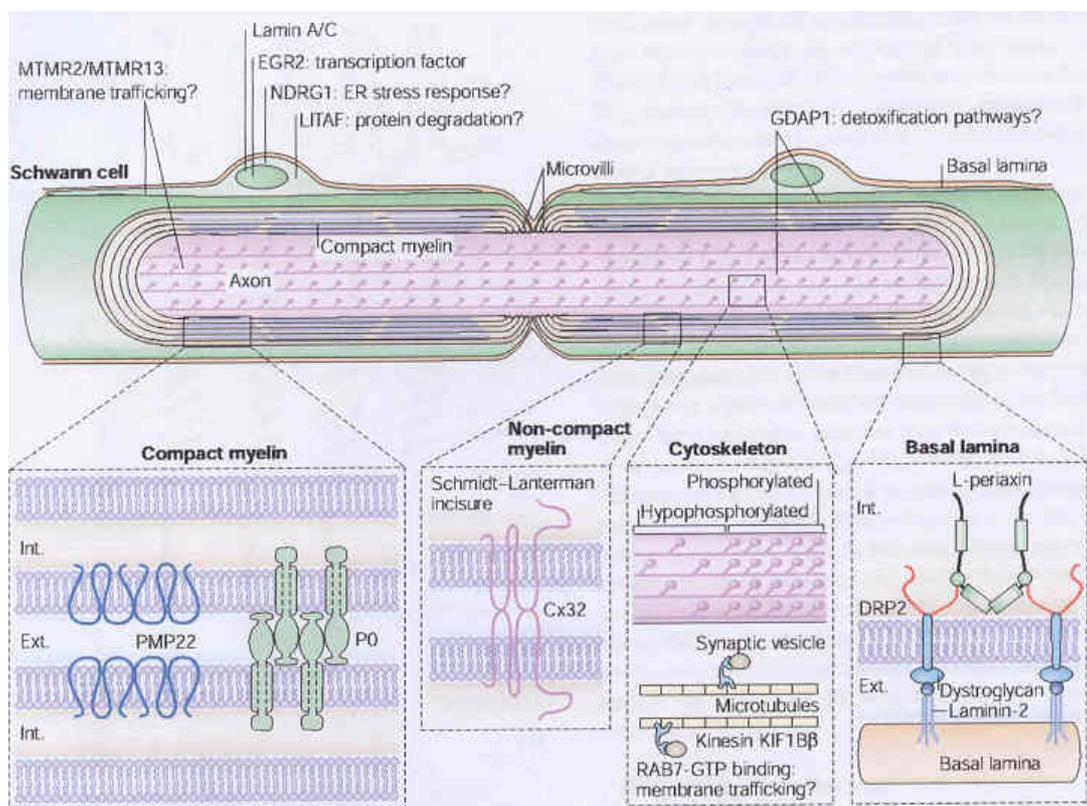


Figure 13. Représentation schématique des protéines impliquées dans les neuropathies héréditaires et leur rôle supposé.

1.5.2. La neuropathie par hypersensibilité à la pression (HNPP)

L'HNPP a été décrite pour la première fois par De Jong en 1947^{65,66}. De Jong rapporta dans une même famille des observations de paralysies récidivantes du ou des nerfs sciatiques poplités externes plus spécialement après avoir planté des pommes de terre. A tel point que la famille avait nommé cette affection la « maladie des planteurs de patates ». Davies en 1954 décrit des faits similaires⁶⁷. Un grand pas fut franchi en 1964 lorsque Earl et coll⁶⁸ rapportèrent les observations de paralysies récidivantes au sein d'une même famille sur plusieurs générations avec étude électrophysiologique des sujets atteints, sains et asymptomatiques. Ils mettaient en évidence des altérations de la conduction aux points habituels de compression non seulement chez les sujets atteints de paralysies mais aussi chez des sujets asymptomatiques. Ils nommèrent cette affection *hereditary neuropathy with liability to pressure palsies* ou HNPP. Les aspects histopathologiques particuliers notamment les images en saucisse des fibres myélinisées furent mis en évidence par Behse et al en 1972⁶⁹. Elles expliquent l'autre nom donné à cette neuropathie: la neuropathie tomaculaire (en latin tomaculum=petite saucisse).

1.5.2.1. Clinique

Sa prévalence reste mal connue. Une seule étude finlandaise estime la prévalence à 16/100000 en Finlande⁷⁰. Cliniquement, la neuropathie par hypersensibilité à la pression est le plus souvent différente d'une maladie de CMT. Elle se manifeste essentiellement par des épisodes de paralysies et/ou des paresthésies posturales ou canalaire de distribution tronculaire ou plexique. Par ordre de fréquence, elles

surviennent sur le nerf péronier au col de la fibula, sur le nerf ulnaire au coude, le plexus brachial, le nerf radial et le nerf médian au poignet. La moitié des patients récupèrent en quelques jours ou mois mais le déficit peut persister. A côté des formes typiques de HNPP, il existe des formes asymptomatiques de la maladie qui sont très souvent méconnue et des formes cliniques atypiques. Des formes limitées au plexus brachial ⁷¹ ont été décrites, bien différenciées génétiquement des formes familiales de la névralgie amyotrophique de l'épaule. Parmi les formes atypiques, il existe des phénotypes proches d'un CMT s'exprimant par une neuropathie chronique d'aggravation progressive.

1.5.2.2. Electrophysiologie

Le tableau électrophysiologique est caractéristique de l'HNPP bien que non spécifique⁷². Le pattern électromyographique est caractérisé par un allongement des latences distales motrices contrastant avec des vitesses de conduction peu ou pas diminuées, des ralentissements électifs des vitesses aux sites d'étranglement anatomique et une réduction d'amplitude ou de vitesse des potentiels d'action sensitif. Il existe aussi des anomalies dans des territoires cliniquement sains comme chez des patients asymptomatiques d'une famille touchée. Inversement, quand il n'y a ni anomalie clinique, ni anomalie électrophysiologique, il n'y a pas d'anomalie génétique. Les vrais blocs de conduction ne sont pas fréquents. Il ne s'agit pas d'une neuropathie démyélinisante longueur-dépendante ou d'une myélinopathie distale et l'allongement des latences distales n'est en rapport ni avec la longueur du nerf ni avec le degré de perte axonale ⁷².

1.5.2.3. Anatomopathologie

La biopsie nerveuse retrouve des épaisissements myéliniques (ou tomacula) inconstants. Les tomacula sont liées en un nombre de tours redondants de la myéline (figure 14). Alors qu'une fibre normale comprend environ 90 à 200 tours, on peut observer jusqu'à 500 tours dans une tomacula. Les tomacula ne sont pas spécifiques de la neuropathie HNPP et elles sont rencontrées dans d'autres types de neuropathies. Néanmoins, c'est dans l'HNPP qu'elles sont les plus nombreuses. Elles peuvent être localisées dans l'internode ou le paranode et on constate en regard une diminution du calibre de l'axone. Elles n'expliquent pas certaines anomalies rencontrées chez ces patients comme l'allongement des latences distales et les ralentissements dans les sites d'étranglement anatomique alors que les anomalies anatomopathologiques sont diffuses. Li et coll.⁷² suggèrent que le nerf des HNPP serait plus sensible aux compressions externes. La raison de cette plus grande vulnérabilité n'est pas connue.

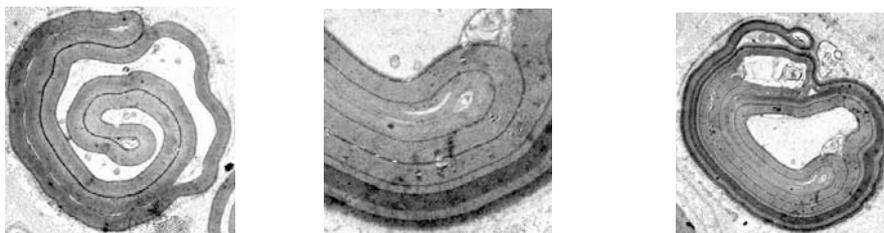


Figure 14. Coupe longitudinale d'axone représentant différents aspects d'une tomacula

1.5.2.4. Biologie

Les patients CMT1A présentent le plus souvent une duplication de 1,5 MB sur le chromosome 17 en position 17p11.2, cette région incluant le gène de la PMP22. Réciproquement la délétion de cette même région ne provoque pas de CMT mais

l'HNPP. Le mécanisme expliquant la duplication de cette région ou sa délétion a fait l'objet de nombreuses recherches. Ces deux anomalies résultent d'un « *crossing over* » inégal de cette région chromosomique ⁷³. Pour expliquer le « *crossing over* » il faut deux régions homologues. En fait, un faible nombre de séquences répétées (CMT1A-REP élément) qui flanquent les points de cassure en proximal et en distal a été identifié. Cette séquence est responsable d'un alignement pathologique des chromosomes lors de la méiose avec pour conséquence ce « *crossing over* » inégal. Cet arrangement serait dépendant du sexe. Les duplications de novo surviennent principalement lors de la spermatogénèse alors que les délétions de novo surviennent lors de l'ovogénèse ⁷⁴.

La délétion PMP22 est retrouvée dans 86 % des phénotypes HNPP ⁷⁵. Dans certains autres cas, ont été mises en évidence des mutations ponctuelles de la PMP22. Leur phénotype est parfois un peu différent avec une symptomatologie plus frustrée, des formes de polyneuropathie longueur dépendante. Malgré la découverte de ces mutations ponctuelles, il reste encore environ 15% des phénotypes HNPP sans anomalie génétique identifiée.

1.6. BUT DE L'ETUDE

Nous avons pu étudier cinq patients de trois familles de l'ouest qui présentaient (pour quatre d'entre eux) un phénotype clinique de neuropathie par hypersensibilité à la pression. Dans ces familles, une nouvelle mutation ne concernant pas le gène de la PMP22 a été mise en évidence. Il s'agit d'une mutation non-sens survenant dans le domaine extra-cellulaire de la protéine 0. Le but de ce travail a été de caractériser

cliniquement et électrophysiologiquement une nouvelle forme de neuropathie par hypersensibilité à la pression et de discuter l'intégration de ce nouveau phénotype-génotype dans l'ensemble des connaissances actuelles.

2. PATIENTS ET METHODE

2.1. PATIENTS

3 familles de l'Ouest de la France ont été examinées. Une famille de 4 patients a été examinée à Nantes. La patiente de la deuxième famille a été examinée à Saint-Brieuc et la dernière patiente a été examinée à Brest. Les examens cliniques ont été réalisés dans le cadre d'une consultation standard et ont comporté un examen neurologique complet.

2.2. ELECTROPHYSIOLOGIE

Les examens neurophysiologiques ont été réalisés sur un appareil VIKING (NICOLET biomedical, Madison, USA). Une mesure des vitesses de conduction motrice, des vitesses de conduction sensitive, une étude des réflexes H et/ou T, un électromyogramme de détection ont été réalisés chez tous les patients selon les techniques habituelles du laboratoire où ils ont été effectués. Les trajets nerveux examinés ont été choisis en fonction de la clinique. Les valeurs normales ont été établies en fonction des normes spécifiques de chaque laboratoire.

2.3. ANATOMOPATHOLOGIE

Une biopsie neuro-musculaire a été réalisée chez une des patientes. Il s'agit d'un prélèvement réalisé au niveau de la jambe droite comprenant le nerf péronier latéral

superficiel et du muscle extenseur de l'Hallux. Le muscle a été congelé en isopentane pour l'étude histochimique. Le nerf a été fixé au formol pour l'étude en microscopie optique et en glutaraldehyde pour les études de teasing (étude des fibres nerveuses dissociées) et de microscopie électronique.

2.4. BIOLOGIE MOLECULAIRE

La biologie moléculaire a été réalisée à l'hôpital DEBROUSSE de LYON dans l'unité de neurogénétique moléculaire dirigée par le Dr LATOUR Philippe. La recherche de mutation a été effectuée selon les techniques habituelles du laboratoire.

La recherche d'une délétion ou de mutations sur le gène de la PMP22 a été réalisée de façon systématique chez tous les patients. Le séquençage de la P0 a été réalisée secondairement chez tous les patients.

3. RESULTATS

3.1. HISTOIRE FAMILIALE

3.1.1. Famille 1

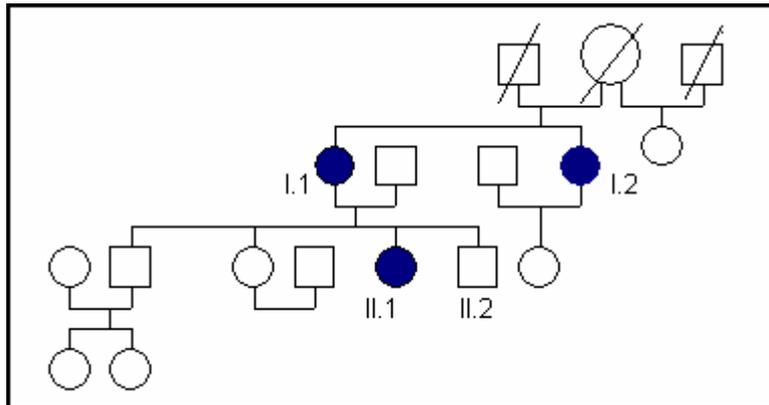


Figure 15. Arbre généalogique de la famille 1

Patiente I.1

Il s'agit d'une femme née le 17/10/1943. Elle présente des antécédents de rétrécissements de l'urètre et un fibrome opéré. En septembre 1988, elle présenta brutalement, sans facteur déclenchant, des douleurs de l'éminence hypothénar droite qui remontent dans l'avant-bras, associées à une hypoesthésie de ce territoire. Un électromyogramme (EMG) réalisé à cette époque retrouvait un tableau électrophysiologique compatible avec une compression du nerf ulnaire droit au coude. Une transposition du nerf ulnaire droit est effectuée avec succès. En mai 1989, elle présenta brutalement des douleurs de la face externe du genou droit et un nouvel EMG mettait en évidence des signes en faveur d'une compression du nerf sciatique poplité externe droit au col de la fibula et des ralentissements diffus des vitesses de conduction avec allongement des latences distales.

Elle est examinée dans le service d'Explorations Fonctionnelles de Nantes en 1989 et se plaint alors de douleurs sur le trajet du nerf sciatique poplité externe jusqu'à la cheville, des crampes des mollets et des pieds, des paresthésies dans les deux derniers doigts de chaque main avec engourdissement au réveil. L'examen clinique réalisé retrouvait un déficit moteur dans le territoire L5 gauche, une abolition bilatérale des réflexes ostéo-tendineux aux membres inférieurs. L'EMG réalisé en 1989 retrouvait une polyneuropathie démyélinisante diffuse (Tableau 2). En dehors de la compression du nerf ulnaire droit déjà opérée, il existait aussi des signes en faveur d'une compression du nerf médian au canal carpien droit. Le tableau évoqué est alors celui d'une neuropathie par hypersensibilité à la pression. Elle est revue en 1990 pour une aggravation de son tableau clinique avec impression de fatigabilité et des dysesthésies douloureuses des membres inférieurs. L'examen clinique retrouvait une discrète hypoesthésie de la plante du pied droit et des fasciculations des membres inférieurs. A l'EMG, il existait une augmentation nette des latences distales aux membres inférieurs, une diminution des vitesses de conduction sensitive (VCNS) des deux saphènes externes et des signes de dénervation à l'EMG à l'aiguille.

Devant la présentation inhabituelle, une biopsie neuromusculaire est réalisée (figure 16): le tissu musculaire montre un tableau typique d'atteinte neurogène avec présence de quelques fibres atrophiées, anguleuses riches en activité mitochondriale pour certaines. Quelques plaques motrices sont le siège d'une fragmentation multiple. L'étude du nerf en hématéine et trichome ne révèle aucune anomalie. En microscopie électronique, il n'existe qu'une réduction modérée de la densité des fibres myélinisées (60 à 65% du nombre théorique). Il n'y a pas de

lésion des fibres amyéliniques. L'anomalie principale est la présence de tomacula visibles sur les coupes fines et de teasing. Ces tomacula sont de petite taille (moins de 50 µm de long) souvent partielles sur les coupes transversales. Il n'est pas observé d'images en bulbes d'oignon vrais mais certaines fibres myélinisées sont partiellement entourées par une cellule de Schwann supplémentaire. Il y a des anomalies exceptionnelles comme la présence de deux axones myélinisés par une seule cellule de Schwann.

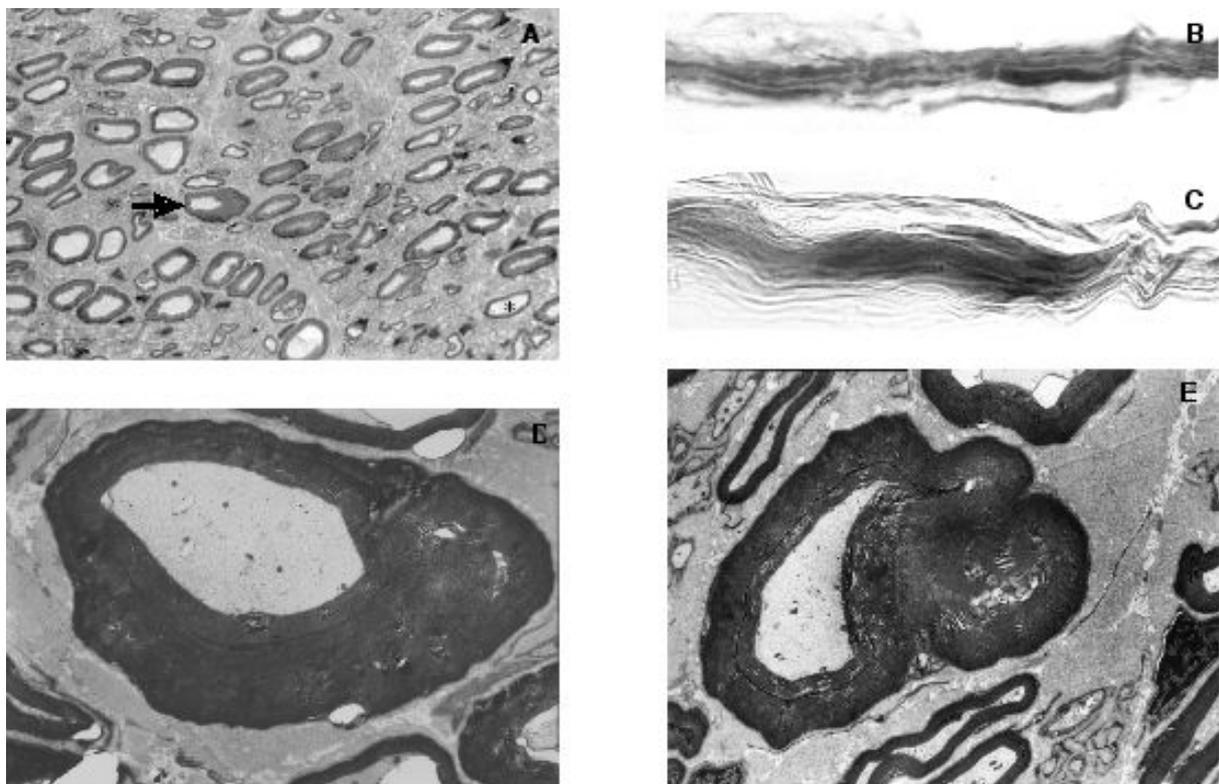


Figure 16. Résultats de la biopsie neuromusculaire pour la patiente F1.I.1. **A.** Coupe transversale montrant une fibre myélinisée avec une tomacula (coupe semi-fine ; inclusion en Epon ; coloration bleu de toluidine ; original X40). **B et C.** Présence de tomacula de petite dimension en situation paranodale (Fibres dissociées ; inclusion en Epon fluidifié par Toluène ; original x40 et x75). **D.** Grossissement de la tomacula fléchée en A caractérisée par un repli de la gaine de myéline très focal (microscopie électronique, contraste uranile/plomb ; original x 7500). **E.** Bas droite : un autre aspect de tomacula (Microscopie électronique ; original X6000)

En 1992, elle est opérée des deux canaux carpiens. En 1996, elle se plaint d'une augmentation de la fatigabilité des membres inférieurs, des crampes à l'effort et

nocturnes. L'examen retrouvait une discrète atrophie au niveau des mains. Au niveau électrophysiologique, elle restait stable.

En 2002, elle consulta à nouveau pour des épisodes de « blocage des genoux » sans modification de l'examen clinique. L'EMG réalisé retrouvait une nouvelle aggravation des ralentissements des VCN sans bloc de conduction sans aggravation des lésions axonales.

VCNM	Segment	26/10/1989			25/03/1996			12/03/2002		
		VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)	VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)	VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)
Péronier G	Col fib.>cou de pied							34	6>7	5.9
Péronier D	Col fib.>cou de pied	37.5	3.7>4.3	6.7	38.5	2.4>2.6	6.7			
Tibial G	Mall. int>c. poplité	37.5	6>9.4	7.7						
Ulnaire G	sus>coude>poignet							43>48	11>12>12	3.7
Ulnaire D	Erb>coude>poignet	57> 51	2.3>2.3>3	2.5	52>54	5.5>6>6.5	3.7			
Médian D	Axil.>coude>poignet	57>43	11>8>6	4.2						
VCNS		VC (m/s)	PAN (µV)		VC (m/s)	PAN (µV)		VC (m/s)	PAN (µV)	
Médian G	Doigt II>poignet	38.5	28		41.5	23		35	16	
Médian D	Doigt II>poignet	40	16							
T, H		index	amplitude		index	amplitude		Index	Amplitud	
D. fémoral		60	1.55					52.6	2.8	
H soléaire		55	0.38		58	1				
EMG		repos	PUM	Rec.	Repos	PUM	Rec.	Repos	PUM	Rec.
Abd. V G.		0	V+d+	2	0	V++	3			
ECO		0	Ph+	2	0	V++,Ph++	2+			

Tableau 2. Electromyogrammes de la patiente F1.I.1. VC=vitesse de conduction. PAM=amplitude potentiel d'action motrice. LD=latence distale. PAN=amplitude potentiel d'action sensitif. VCNM=vitesses de conduction nerveuse motrice. VCNS=Vitesses de conduction nerveuse sensitive. EMG=EMG de détection. Col fib.=col fibula. Mall.int.=malléole interne. C.poplité=creux poplité. Axil.=axillaire. ECO=extenseur commun des orteils. Abd V= abducteur du V. PUM=potentiel d'unité motrice. V=amplitude du PUM, ph= nombre de phases du PUM, d= durée du PUM, N=normaux. Rec=recrutement. Le recrutement est côté sur une échelle de 0 à 4 où 0 représente l'absence de PUM et 4 une contraction avec recrutement normal.

Patiente I.2.

Il s'agit d'une femme née le 01/03/1946 aux antécédents de cataracte congénitale opérée des deux côtés. Elle consulta pour la première fois en 1991. Elle se plaignait depuis de nombreuses années d'une symptomatologie évoquant un canal carpien ² bilatéral opéré en 1985 sans succès. Un premier EMG retrouvait une neuropathie démyélinisante d'intensité variable selon les troncs nerveux, une compression bilatérale des nerfs médians aux canaux carpiens. Elle consulta en 1992 pour une symptomatologie ulnaire avec des dysesthésies et une hypoesthésie des derniers doigts lorsqu'elle fait des gestes les coudes fléchis. Elle se plaignait de crampes des membres inférieurs et de paresthésies dans les pieds. A l'examen clinique, il existait bien une anesthésie dans le territoire du nerf ulnaire et ce de façon bilatérale alors que la sensibilité du nerf médian était conservée. Parallèlement, aux membres inférieurs, il existait des signes de neuropathie périphérique avec une impossibilité à marcher sur les talons, une impression d'instabilité, une diminution de la sensibilité proprioceptive et une aréflexie achilléenne. On notait de plus un pied creux congénital avec pied court mais sans griffe des orteils. L'EMG réalisé à l'époque retrouvait des VCN diminuées aux quatre membres mais surtout des blocs de conduction sur les deux nerfs ulnaires au niveau de la gouttière épitrochléo-olécranienne.

Elle est revue en 1996 pour une aggravation clinique de sa symptomatologie ulnaire. A l'EMG, les signes de démyélinisation diffuse ne s'étaient pas aggravés. Il persistait aux membres supérieurs des ralentissements distaux sur les nerfs médians et ulnaires correspondant d'une part à la neuropathie mais aussi à des compressions aux poignets.

VCNM	Segment	24/12/1990			04/03/1996		
		VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)	VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)
Péronier G	Col fibula>cou de pied	38.5	4>4.6	4.8	45	2.1>2.4	4.7
Péronier D	Col fibula>cou de pied	47	5.4>6.3	4.2			
Tibial G	Creux poplité>malléole	43	3>7	6			
Tibial D	Creux poplité>malléole				47	7.5>8	6
Ulnaire G	Erb>axillaire>coude>poignet	46	16>16	3.9	80>51>52	8.5>9>10>12	2.7
Médian G	Coude>poignet	54.5	7.8>8	4			
Médian D	Erb>coude>poignet	53	11>11	4.6	57	10.5>10.5	4.1
VCNS		VC (m/s)	PAN (µV)		VC (m/s)	PAN (µV)	
Ulnaire D	IV>poignet				37	7	
Saphène ext. G	Rétromalléole ext.>jambe				27	2	
Médian G	II>poignet	31	12		33.5	14	
Médian D	II>poignet	34.5	14		32.5	16	
T, H		index	Amplitude		Index	amplitude	
H soléaire		77	0		73	8	
EMG		repos	PUM	Rec.	repos	PUM	Rec.
Abd. V G.					0	V++ph++	3-
ECO		0	V+,d+,ph	3-	0	V++ph++	3-

Tableau 3. Electromyogrammes de la patiente F1.1.2. Pour légende voir tableau 2.

Patiente II.1

Il s'agit d'une jeune femme née le 12/03/1977 sans antécédent particulier qui a présenté en 1997 brutalement, un épisode de douleurs de la main droite avec insensibilité de la paume et du pouce. Le trouble a cédé spontanément en quelques heures. L'EMG réalisé retrouvait des VCN diminuées aux quatre membres avec un allongement des latences distales sur les deux nerfs médians, des ralentissements plus importants des vitesses de conduction aux zones d'étranglement anatomique.

VCNM	Segment	VC (m/s)	16/04/1997	
			PAM (mV)	LD (ms)
Péronier D	Col fibula>cou de pied	30	1.5>1.5	10.8
Ulnaire G	Sus coude>sous coude>poignet	33.7>38.2	5>8>8	3.2
Ulnaire D	Sus coude>sous coude>poignet	36>40	5>6>6	2.8
Médian G	coude>poignet	39.2	6>6.5	5.2
Médian D	coude>poignet	41	10.5>10.5	5.2
VCNS		VC (m/s)	PAN (µV)	
Ulnaire D	IV>poignet	35.9	15	
Ulnaire G	IV>poignet	31.1	17	
Médian G	II>poignet	34.1	15	
Médian D	II>poignet	33.3	15	
EMG		Repos	PUM	Rec.
Court Abd. I.		0	Ph++	3+
Abducteur V		0	N	4

Tableau 4. Electromyogramme de la patiente F1.II.1. Pour légende voir tableau 2

Patient II.2

Il s'agit d'un homme né le 29/11/1979 qui se plaint d'un phénomène de crampes de l'écrivain. Les examens clinique neurologique et électrophysiologique sont normaux. La biologie moléculaire est négative.

3.1.2. Famille 2

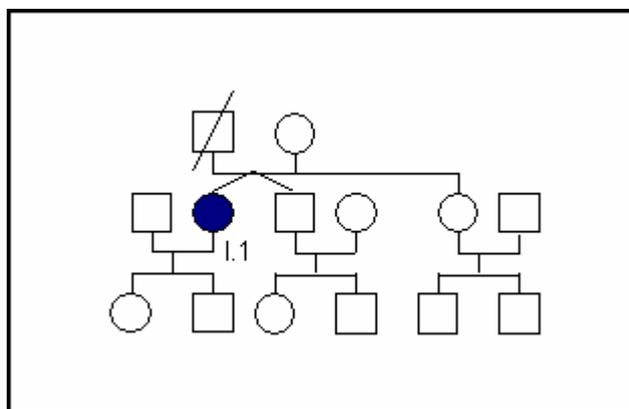


Figure 17. Arbre généalogique de la famille 2

Patient I.1

Il s'agit d'une femme née en 1955, assistante maternelle. Elle n'a aucun antécédent familial. Elle se plaint depuis avril 2001 de douleurs et paresthésies dans les deux membres supérieurs avec des paresthésies de l'ensemble des doigts volontiers nocturnes remontant le long des avant-bras. Il existe un signe de Tinel au poignet droit. L'EMG retrouve des latences distales allongées mais aussi une diminution des VCN à l'avant bras avec un ralentissement sur les nerfs ulnaires. Il existe également une disparition des potentiels sensitifs. Son canal carpien droit est opéré en 2002 avec légère amélioration clinique.

VCNM	Segment	04/03/1996		
		VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)
Péronier D	Col fibula>cou de pied	37	12>12	3.7
Péronier G	Col fibula>cou de pied	36	12>11	3.9
Ulnaire G	Erb>Coude>poignet	47>41	11>12>12	3.3
Ulnaire D	Erb>Coude>poignet	46>44	12>13>13	3.4
Médian G	Poignet>coude	39	5.6>5.4	10.4
Médian D	Poignet>coude	40	6.6>6.7	9.9
VCNS		VC (m/s)	PAN(µV)	
Médian G	II>poignet		0	
Médian D	II>poignet		0	
EMG		Repos	PUM	Rec.
CEO		0	V++d+	2
ECO		0	V+d+	3

Tableau 5. Electromyogramme de la patiente F2.I.1. Pour légende voir tableau 2. CEO=court extenseur des orteils

3.1.3. Famille 3

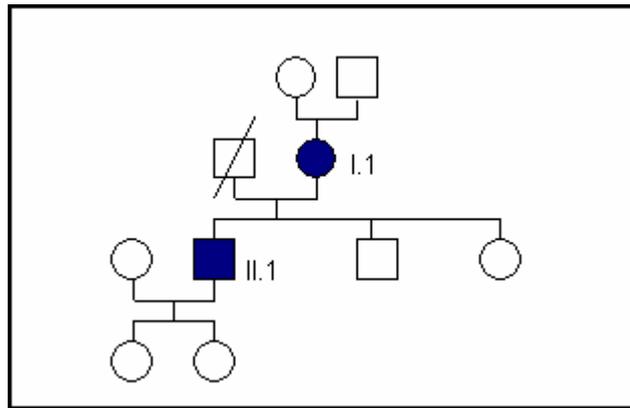


Figure 18. Arbre généalogique de la famille 3

Patient I.1.

Il s'agit d'une patiente née le 17/12/1938 qui présente un déficit moteur des membres inférieurs avec une amyotrophie distale, des troubles de la sensibilité profonde, une abolition des réflexes achilléens et rotuliens, un pied creux congénital d'évolution chronique sur plusieurs années (début des troubles à 30 ans). Elle n'a jamais présenté d'épisode aigu de compression. A l'EMG, il existe un important ralentissement des VCN motrices aux quatre membres avec réduction d'amplitude des potentiels moteurs, important allongement des LD motrices. Il n'y a pas de bloc de conduction. Le fils de la patiente était porteur aussi d'une neuropathie démyélinisante mais il n'a pas voulu être examiné ni testé en biologie moléculaire. Le diagnostic évoqué en premier lieu chez cette patiente était une maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1 (démyélinisante).

VCNM	Segment	04/03/1996		
		VC (m/s)	PAM (mV)	LD (ms)
Péronier D	Col>cou de pied	26.2	2>2.5	7.6
Péronier G	Col>cou de pied	27	0.3>0.3	9
Tibial G	Creux	27.5	3>4	6.2
Tibial D	Creux	23	0.3>0.5	9
Médian G	Coude>poignet	33	0.5>0.5	8
Médian D	Coude>poignet	31	2>2.5	9.2
VCNS		VC (m/s)	PAN (µV)	
Saphène externe G	Malléole>jambe	32.8	0.5	
Saphène externe D	Malléole>jambe		0	
EMG		repos	PUM	Rec.
CEO		0	V++d+	2
ECO		0	V+d+	3

Tableau 6. Electromyogramme de la patiente F3.I.1. Pour légende voir tableau 2

3.2. DONNEES ELECTROPHYSIOLOGIQUES

Les données électrophysiologiques de l'ensemble des patients sont reprises sur les tableaux. On retrouve les anomalies classiquement retrouvées dans l'HNPP chez l'ensemble des patients symptomatiques. Il existe une diminution d'amplitude des potentiels moteurs et sensitifs pour l'ensemble de nos patients, particulièrement marquée pour la patiente de la famille 3.

3.3. BIOLOGIE MOLECULAIRE

La recherche d'une délétion PMP22 et de mutations sur la PMP22 sont négatives pour tous les patients.

Chez les patients F1.I.1, F1.I.2, F1.II.1, F2.I.1, F3.I.1, après séquençage de l'exon 3 du gène de la MPZ, il a été identifié une substitution T-A au codon 116 (TAT-TAA). (figure 19) Cette substitution entraîne le remplacement d'une tyrosine par un codon

stop entraînant une P0 tronquée dans le domaine extra-cellulaire. Le sujet F1.II.2 ne présente pas la mutation sur le gène de la P0.

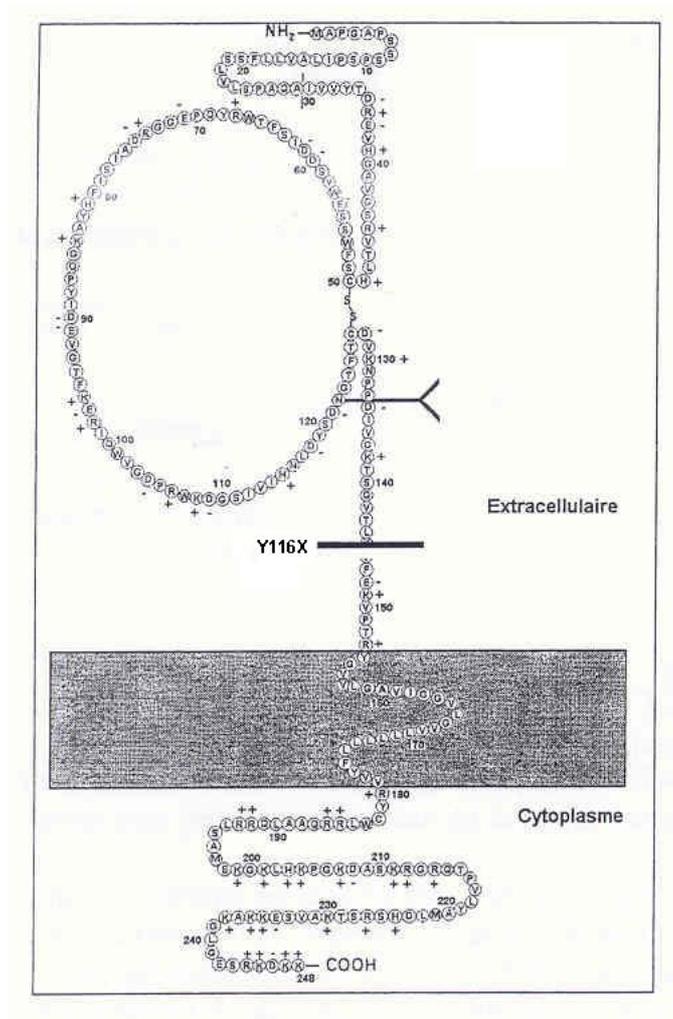


Figure 19. Représentation schématique de la mutation sur le codon 116. La numérotation sur le schéma tient compte du peptide signal.

4. DISCUSSION

Nous décrivons pour la première fois un phénotype clinique de neuropathie par hypersensibilité à la pression associé à une mutation du gène codant pour la protéine P0. Nous allons discuter les particularités du phénotype chez nos patients, le rôle de la P0 et les déductions que l'on peut tirer de l'analyse de nos cas concernant les corrélations génotypes-phénotypes dans les neuropathies sensitivo-motrices héréditaires.

4.1. DIAGNOSTIC HNPP CHEZ NOS PATIENTS

Sur un plan clinique, il faut noter d'emblée l'hétérogénéité phénotypique au sein de nos trois familles. Pour les patients F1 I.1, I.2, II.1 et F2 I.1, la présentation clinique initiale fait évoquer en premier lieu le diagnostic d'HNPP avec la survenue récurrente de compressions nerveuses dans des zones d'étranglement anatomique et la présence d'une neuropathie démyélinisante à l'EMG. Pour les deux sœurs de la famille 1 (F1 I.1 et I.2), l'évolution se fait vers une polyneuropathie longueur dépendante. Cette évolution a déjà été décrite dans les HNPP mais l'étude de Li et coll. en 2004⁷⁶ sur 17 patients HNPP avec délétion PMP22 ne retrouve aucun cas avec une authentique neuropathie symétrique longueur dépendante. L'âge de début de la polyneuropathie longueur-dépendante se fait vers 46 ans chez ces deux patientes. On peut supposer que pour la patiente II.1 de la même famille, le temps d'évolution de la maladie chez elle n'est pas encore assez long pour que la neuropathie ne soit déclarée. Pour la patiente de la famille 2, il n'y avait pas en 2002 d'évolution vers une neuropathie alors que la patiente avait 48 ans. Le cas de la patiente de la famille 3 est particulier

puisque le diagnostic initial est plutôt celui d'une neuropathie longueur dépendante chronique même si le tableau électrophysiologique peut orienter vers une HNPP.

Concernant les épisodes de paralysie transitoire, on note une forte proportion de compressions du nerf médian au canal carpien symptomatique (patientes F1. I.2, II.1 et F2.I.1) et de compressions du nerf ulnaire au coude (patientes F1.I.1, I.2) alors que les compressions classiquement les plus fréquentes dans l'HNPP sont celles du SPE (patiente F1.I.1). Une autre particularité dans nos familles est que les épisodes de paralysies tronculaires ne sont jamais survenus à la suite d'une compression externe prolongée.

Au niveau électrophysiologique, le tableau retrouvé chez nos patients est évocateur d'une HNPP même s'il existe quelques variations. On retrouve un allongement des latences distales, un ralentissement des vitesses de conduction dans les zones d'étranglement anatomique et une diminution d'amplitude des potentiels sensitifs qui sont les critères d'une HNPP. La particularité de nos patients est qu'il existe également une diminution des amplitudes motrices retrouvée pour toutes nos patientes même pour la plus jeune qui n'a pas de neuropathie clinique. Cette diminution d'amplitude motrice peut faire suspecter une atteinte axonale associée précoce qui ne fait pas partie de la description habituelle des HNPP. Le cas de la patiente de la famille 2 qui présentait une symptomatologie isolée de canal carpien peut faire poser la question d'un screening systématique de l'HNPP chez ces patients. En fait, ce sont les anomalies associées à l'EMG qui ont conduit au diagnostic moléculaire chez cette patiente. Li et coll ⁷⁶précisent que parmi tous leurs patients HNPP, aucun ne présentait de symptomatologie isolée de canal carpien à la

fois au niveau clinique et électrophysiologique. Il n'est donc pas intéressant de rechercher une HNPP chez les patients présentant un canal carpien isolé.

Au niveau anatomopathologique, la description classique des phénotypes HNPP est la tomacula (cf. introduction). Nous n'avons malheureusement les résultats de la biopsie neuromusculaire que pour une seule de nos patientes (Pour les autres, le diagnostic a été établi en biologie moléculaire). L'anatomopathologie est aussi particulière par le fait qu'il s'agit de tomacula de plus petite taille (50 μm) que celles retrouvées habituellement et qu'elles sont en nombre moins important (5% des fibres myélinisées). Elles sont formées le plus souvent par une myéline redondante plutôt que par une hypermyélinisation homogène.

Malgré les variations observées tant au niveau clinique, électrophysiologique ou anatomopathologique, il nous paraît logique d'étiqueter la maladie présentée par les patientes des deux premières familles comme une neuropathie par hypersensibilité à la pression. La seule réserve pourrait être émise pour la patiente de la famille 3 chez qui on pourrait discuter un phénotype de CMT1 où seul l'EMG permet d'orienter vers un diagnostic d'HNPP.

La découverte chez les membres de ces familles d'une mutation P0 responsable d'un phénotype HNPP particulier et l'absence d'anomalie sur le gène de la PMP22 nous permettent de discuter le rôle de la P0 dans la conduction nerveuse.

4.2. ROLE DE P0

Une avancée considérable dans la compréhension du rôle de la P0 a été réalisée lors du séquençage de la protéine^{9,10} qui a permis de distinguer les différentes structures de la P0 (cf introduction) participant à ses fonctions adhésives.

P0 est synthétisée dans le réticulum endoplasmique, transférée dans l'appareil de Golgi. Dans l'appareil de Golgi, elle est stockée dans des vésicules spécifiques puis est transportée le long des microtubules jusqu'à la membrane internodale où elle va s'insérer dans des sites appropriés⁷⁷. Le signal qui adresse la P0 à la membrane plasmique n'est pas connu mais on suppose que l'assemblage homophilique a lieu dès l'appareil de golgi. Chez les mutants P0, il a été mis en évidence l'importance du pont disulfure du domaine extra-cellulaire pour l'adressage⁷⁸. On retrouve également sur la P0 un motif YAML, L étant un AA hydrophobique impliqué dans l'adressage d'autres protéines de surface.

Plusieurs études ont essayé de déterminer les éléments indispensables aux propriétés adhésives de la P0. Le rôle du composant carbohydate a été suggéré par le fait que les anticorps anti-HNK-1 (souris N93A) inhibent les interactions P0-P0^{79,80}. De plus, les molécules mutées N93A-allèle sauvage n'adhèrent pas alors que les deux produits atteignent la surface cellulaire, probablement du fait d'un effet dominant négatif de la mutation. La P0 native contient un pont disulfure entre C21 et C28 du domaine extra-cellulaire ce qui contribue à la stabilisation du domaine Ig. Quand C21 est mutée, la protéine apparaît dans la membrane plasmique mais les propriétés adhésives de la protéine sont perdues⁸¹.

Le domaine cytoplasmique basique est aussi essentiel aux propriétés adhésives de la P0 par les interactions avec les lipides acides qui seraient de type électrostatique. Xu et al⁸² ont fait plusieurs expériences montrant que la séquence entre l'AA 193 et 206 est essentielle au maintien de l'adhésion. D'autres modifications post-translacionnelles dans le domaine cytoplasmique influencent les propriétés adhésives de la protéine. Une acétylation de la protéine est retrouvée en C153. Quand ce site est muté, la protéine est capable de migrer vers la surface mais ses propriétés adhésives sont altérées⁸³. Il reste à élucider comment l'acétylation stabilise P0. La P0 est aussi phosphorylée par la protéine kinase C sur plusieurs sérines proches de l'extrémité C-terminale du domaine cytoplasmique, vraisemblablement durant la période de synthèse de la myéline. Récemment il a été montré que l'adhésion est inhibée quand ces sites sont mutés⁸⁴. Durant la myélinisation, la phosphorylation de la P0 servirait à moduler l'attraction de la région cytoplasmique basique aux phospholipides anioniques. Dans ce scénario, la phosphorylation déclinant durant la maturation myélinique, les interactions seraient plus fortes, permettant la formation de la ligne dense majeure. La phosphorylation de la P0 survient à un stade précoce de la myélinisation et la déphosphorylation des tyrosines est nécessaire au contrôle du transport de P0.

L'absence de P0 entraîne une diminution d'autres ARN messagers et des protéines correspondantes, P0 pourrait donc être impliquée dans une cascade de signalisation. Une étude montre également que P0 est indispensable au bon adressage d'E-cadhérine et de β caténine normalement présentes dans l'espace paranodal et qui participent à la formation des jonctions adhérentes⁸⁵. Chez les souris P0 $-/-$, ces

protéines se retrouvent dans le cytoplasme suggérant un rôle de la P0 dans la translocation de ces protéines vers la région paranodale⁸⁶. De plus, seules des jonctions adhérentes rudimentaires sont formées. En revanche, la formation de la jonction axogliale (caspr) est normale dans le nerf P0 -/-. P0 serait donc nécessaire pour la formation des jonctions adhérentes mais pas pour la formation de la jonction axogliale.

Récemment, des études ont mis en évidence la survenue d'interactions entre la P0 et la PMP22 dans la myéline comme il est montré dans des expériences de co-immunoprécipitation⁸⁷. La formation du complexe n'est pas dépendante d'une glycosylation mais la nature précise de l'interaction n'est pas connue.

P0 interviendrait également dans la mise en place des constituants du nœud et des espaces paranodaux. Une étude de Ulzheimer JC en 2004⁸⁸ montre que les souris déficientes en P0 ont une expression altérée des canaux sodiques voltage dépendants au niveau du nœud de Ranvier. P0 jouerait ainsi un rôle dans la sélection des canaux Na au niveau du nœud de Ranvier. Les souris déficientes expriment de façon ectopique le canal Nav1.8 résistant TTX. De même, Caspr est distribuée asymétriquement et peut être absente dans les fibres mutantes. Kv 1.2 et Caspr2 ne sont pas localisés en juxtapanodal mais aussi dans le paranode. On peut suggérer une autre hypothèse pour expliquer cette distribution anormale des canaux. Les anomalies de la P0 étant responsables d'une altération de la myéline, on pourrait supposer que ces altérations, de façon non spécifique à P0, entraînent des modifications de l'expression de ces canaux.

Ces études menées principalement sur des modèles de souris KO ou des mutations ponctuelles permettent d'envisager les fonctions supposées de la P0. Il reste à déterminer comment des mutations sur la même protéine peuvent être responsables de phénotypes distincts et comment des mutations différentes du même AA peuvent avoir des conséquences différentes.

4.3. CORRELATIONS GENOTYPES - PHENOTYPES

La découverte de phénotypes plus ou moins sévères des gènes impliqués dans les CMT pose problème. Il existe fréquemment des variations intrafamiliales du phénotype. Les phénotypes causés par les mutations des gènes de la myéline ne peuvent pas être expliqués sur les bases du génotype seul et impliquent vraisemblablement des facteurs d'environnement ou des facteurs épigénétiques*. Des variations phénotypiques ont même été observées chez des jumeaux homozygotes possédant la même mutation du gène de la P0. Il n'existe pas de type ou de site particulier de mutations associées à un phénotype particulier.

Avant de définir les corrélations génotype-phénotype encore faut-il établir des critères cliniques stricts. Par exemple, le DSS peut être considéré comme une forme sévère de CMT1 et l'hypomyélinisation congénitale comme une forme plus sévère de DSS.

En ce qui concerne les anomalies du gène de la PMP22, les phénotypes cliniques peuvent aller de l'HNPP au phénotype de DSS. L'étude du type de la mutation peut

* Définit les modifications transmissibles et réversibles de l'expression des gènes, ne s'accompagnant pas de changements des séquences nucléotidiques. Ce type de régulation peut cibler l'ADN, l'ARN ou les protéines et agir au niveau du noyau ou du cytoplasme. Elles constituent l'un des fondements de la diversité biologique.

orienter la corrélation génotype-phénotype. Quatre phénotypes HNPP sans délétion PMP22 sont associés avec une délétion hors cadre, une mutation en 5', une mutation non sens et une insertion hors cadre. L'analyse en RT-PCR de la PMP22 de la mutation en 5' montre qu'il existe seulement une amplification de l'allèle sauvage suggérant qu'il n'y pas de protéine aberrante fabriquée⁸⁹. Une mutation déplaçant le cadre de lecture (frameshift) du codon 7 et les mutations non-sens résultent en une PMP22 tronquée qui est rapidement dégradée ou non fonctionnelle. Ceci est concordant avec le fait que l'HNPP serait liée à une haplo-insuffisance* du gène de la PMP22 (délétion) ou à une mutation « perte de fonction » du gène. L'insertion hors cadre conduit à une protéine aberrante plus longue de 61AA. Cette mutation entraîne un phénotype HNPP plus sévère, ce qui pourrait suggérer un effet dominant négatif. Une autre mutation hors cadre résultant en une protéine plus longue de 49 AA est responsable d'un phénotype DSS confirmant cette hypothèse. Les mécanismes moléculaires résultant d'une diminution ou d'une augmentation de la dose du gène sont probablement liés à un changement structural de la gaine de myéline alors que les mécanismes moléculaires dépendants du point et du type de mutation seraient liés aux fonctions de la cellule de Schwann comme le trafic membranaire.

Il existe environ 15% des patients HNPP qui ne présentent pas de délétion ni de mutation de la PMP22. Une hétérogénéité génétique de l'HNPP fut suspectée par Mariman en 1994 mais finalement cette hypothèse avait été rejetée⁹⁰. A ce jour, 115 mutations et polymorphismes ont été décrits sur le gène de la P0 <http://www.molgen.ua.ac.be/CMTMutations/>.

* Terme utilisé lorsque la présence d'un seul exemplaire d'un gène donné est insuffisante au fonctionnement normal de l'individu

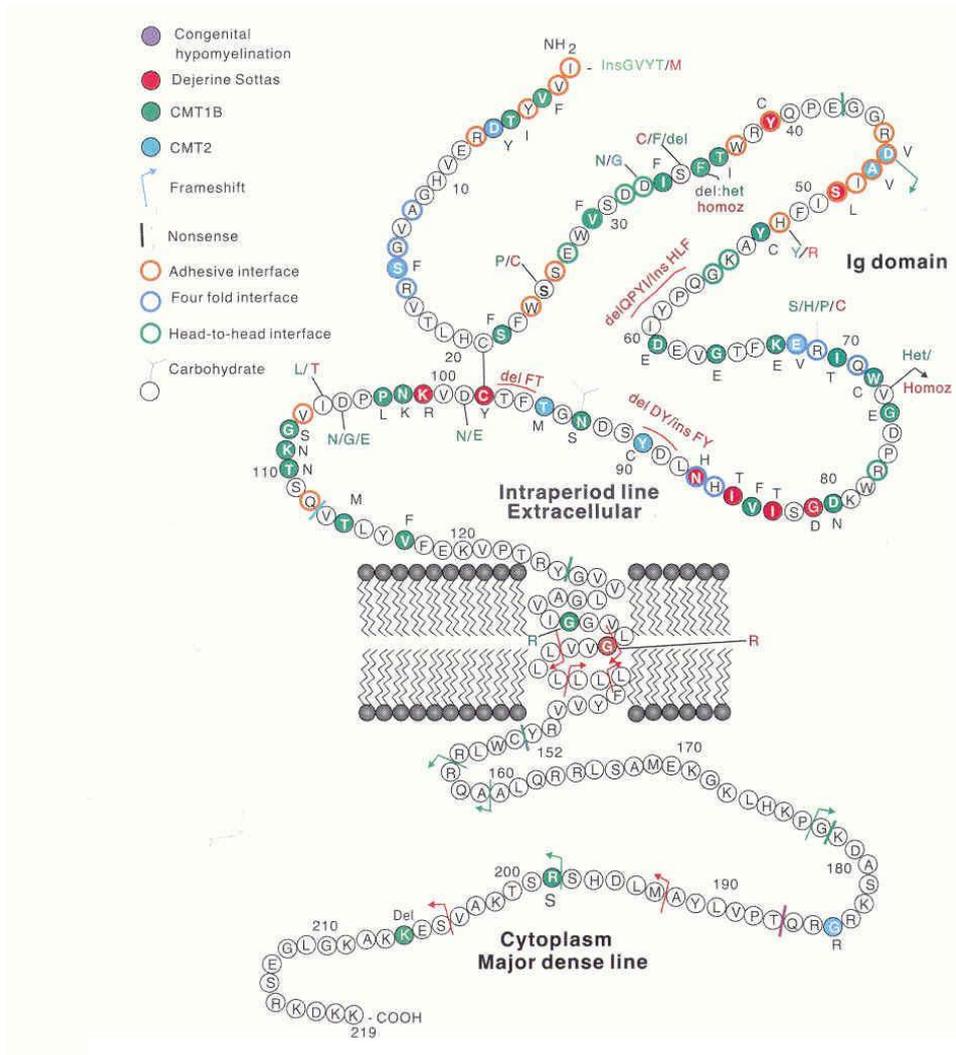


Figure 20. Représentation schématique de P0, d'une partie de ses mutations et des phénotypes associés

Les mutations sur la P0 sont de type faux sens, non-sens ou rompant le cadre de lecture (frame-shift). Pour la plupart, elles sont localisées dans le domaine extracellulaire de la protéine. La figure 20 représente une grande partie des mutations décrites et leur phénotype clinique. Les phénotypes peuvent cependant être très variables comme un CMT1B, un CMT dit « sévère », un DSS, une NCH ou un CMT2 like. Les mutations sur la P0 surviennent chez environ 5% des patients CMT⁷⁵. Elles n'ont jamais été décrites chez des patients présentant un phénotype HNPP. Il existe seulement une observation de Laguency et coll en 2001⁹¹ qui

décrivent le cas d'une patiente présentant un tableau de compression récurrente des nerfs médians aux canaux carpiens survenant lors de périodes de travail plus intensif. Cette patiente présentait aussi cliniquement un tableau de polyneuropathie périphérique. A l'examen électromyographique, un ralentissement des VCNM était retrouvé sans bloc de conduction, sans allongement des latences distales (en dehors du nerf médian droit associé à une diminution de l'amplitude du potentiel sensitif compatible avec un canal carpien droit). Les amplitudes des potentiels étaient basses aux membres inférieurs. La biopsie neuromusculaire retrouvait des bulbes d'oignon sans tomacula. Le séquençage du gène de la PMP22 était normal. Le séquençage du gène de la P0 retrouvait une mutation sur le codon 71 introduisant un codon stop prématuré. Dans leur observation, Lagueny et coll ne retiennent pas le diagnostic d'HNPP devant l'absence de tomacula et le tableau électrophysiologique atypique. Leur explication physiopathologique est celle d'un effet par perte de fonction de la P0 sans effet dominant négatif.

Actuellement que ce soit pour la P0 ou pour l'HNPP, on ne peut prédire le phénotype clinique en fonction de la mutation du gène considéré. Quelques grandes idées peuvent être dégagées des études phénotypiques. Les mutations de la P0 rompant les interactions entre ou à l'intérieur des homotétramères sont responsables d'un effet dominant négatif tandis que les mutations qui affectent la production de P0 sont responsables d'un effet perte de fonction de la protéine. Les mutations Y82C et G123C introduisant un groupement thiol (pour thioalcool) dans le domaine extracellulaire ont un effet dominant négatif causé par des interactions aberrantes entre les monomères et les homotétramères P0. Par ailleurs, certains auteurs ont décrit une mutation conduisant à la substitution de la sérine 34 par une cystéine⁹² ; la

conséquence est la formation de ponts dissulfures aberrants conduisant à des phénotypes beaucoup plus sévères, comme ceux observés parfois dans le groupe des DSS. Ainsi, toute substitution par une cystéine entraîne une mutation à effet négatif dominant⁹³. De nombreuses études montrent que pour toute substitution par un autre AA qu'une cystéine, les phénotypes observés apparaissent moins sévères par réduction du taux normale de la protéine normale de la myéline, confirmant l'hypothèse de Warner⁹⁴. L'AA valine codé en position 117 est responsable des interactions entre les molécules de P0 et par conséquent les mutations de ce résidu rompent ces interactions et le maintien de la myéline compacte. Les mutations non-sens trans-membranaires ou cytoplasmiques sont aussi nettement plus sévères.

Dans de rares cas, certaines mutations de la P0 sont responsables de phénotype axonaux type CMT2^{95,96}. Le mécanisme expliquant l'expression d'un phénotype plutôt démyélinisant ou plutôt axonal pour une mutation donnée de la P0 n'est pas élucidé bien que la démyélinisation soit la cause primitive aux deux phénomènes. On peut supposer que les fonctions de la P0 atteintes dans ces phénotypes sont les fonctions d'échanges avec l'axone.

Dans la même idée, Shy et coll.⁹⁷ ont examiné 13 de leurs patients porteurs d'un phénotype CMT1B avec mutation du gène de la P0 qu'ils ont comparé à 64 patients de la littérature. Leur étude permet de distinguer deux phénotypes: l'un avec un début infantile et une diminution importante des VCN, l'autre avec un début plus tardif et une baisse modérée des VCN. Les deux phénotypes sont également associés à des profils anatomopathologiques distincts. Dans les formes précoces, une perte en axones myélinisés est fréquente et il existe des axones démyélinisés

puis remyélinisés. De plus, ils notent la formation de bulbes d'oignon. Il existe deux types d'anomalies ultrastructurales : une avec des zones importantes de myéline non compactée, l'autre avec des zones ressemblant à des tomacula semblant s'exclure mutuellement. Dans les formes tardives, la dégénérescence axonale est le signe le plus fréquent avec perte d'axones myélinisés et clusters de régénération. Ils concluent que certaines mutations sont responsables d'un phénotype plus tardif avec une atteinte axonale prédominante par une altération des interactions axone-cellule de Schwann tandis que d'autres sont associées à un début plus précoce plutôt démyélinisant par altération de la myélinisation durant le développement.

Comme nous venons de le voir, les corrélations génotypes-phénotypes sont difficiles à prédire et la découverte de nouvelles mutations et de nouveaux gènes ne simplifie pas la tâche même si elle permet d'enrichir la piste de travail.

Une étude publiée en 2004⁹⁸ ouvre de nouvelles perspectives pour les corrélations génotype-phénotype. Inoue et coll partent des hypothèses que les phénotypes DSS et NCH seraient liés à des effets dominants négatifs des allèles tronqués tandis que pour le phénotype CMT1B, il s'agirait d'un effet par perte de fonction. Parfois, cependant, quelques mutations faux sens ou frame-shift sont responsables de CMT1B et des mutations non-sens responsables de NCH ou DSS. Ils supposent que la voie *non sense mediated decay* (NMD) est responsable de ce phénomène. La NMD a pour rôle physiologique d'éliminer les ARN messagers qui contiennent un codon de terminaison prématuré (PTC). Inoue et coll. trouvent une corrélation entre le PTC de la P0 et le phénotype exprimé. Les PTC situés en 5' entraînent des phénotypes modérés alors que les PTC en 3', des phénotypes plus sévères. Les

PTC situé en 3' correspondent à une diminution du transcrit de la P0. Ils supposent que ces mutants sont captés par la voie NMD et sont dégradés. A l'inverse, les mutants porteurs d'un PTC situé en 5' échappent à la NMD (il est connu que la NMD n'élimine pas les protéines porteuses d'un PTC situé sur les 50 derniers nucléotides⁹⁹) résultant en une accumulation de RNA messenger à un niveau équivalent à l'allèle sauvage. Ce transcrit est probablement traduit en protéine tronquée qui peut exercer un effet dominant négatif. Ils proposent que les corrélations génotypes-phénotypes des mutations non sens soient en rapport avec la NMD. Le mécanisme expliquant les phénotypes modérés est alors l'haplo-insuffisance tandis que les phénotypes plus sévères sont liés à des effets dominant négatifs. Un corollaire de leur étude est que plusieurs mutations dont on suspectait un effet dominant négatif in vitro résultent en fait d'une haplo-insuffisance in vivo grâce à la NMD. La NMD aurait un rôle protecteur en convertissant des effets dominants négatifs en haplo-insuffisance. Mais elle peut aussi avoir des effets délétères en supprimant une protéine qui pourrait avoir un rôle physiologique conservé malgré sa troncation. Leur hypothèse est séduisante mais n'explique pas les variations intrafamiliales observées.

Au niveau anatomopathologique, on peut se poser la question de la signification des tomacula. Les tomacula ne sont pas spécifiques de l'HNPP et peuvent être retrouvées dans certaines mutations P0. Les mutations P0, elles sont responsables de deux aspects anatomopathologiques particuliers¹⁰⁰. Dans les deux cas, il existe un processus de démyélinisation-remyélinisation avec formation de bulbes d'oignon. Il existe des anomalies de compaction de la myéline dans le premier type tandis que dans le deuxième type, il existe plutôt des anomalies localisées de repli de la myéline

pouvant ressembler à des tomacula. Il existe également des aspects tomaculaires dans le CMT4b (mutation MTMR2)¹⁰¹, ce qui pourrait faire suggérer une interaction entre la P0 et MTMR2 (La P0 serait un substrat de la phosphatase).

4.4. NOUVELLE ENTITE OU CONTINUUM HNPP-CMT

Le nouveau phénotype que nous avons observé permet de discuter encore une fois des corrélations génotypes-phénotypes. L'expression de la mutation P0 116X retrouvée dans notre famille est assez proche de celle retrouvée dans les mutations de la PMP22 avec des nuances phénotypiques comme on l'a décrit ci-dessus : symptomatologie plus fruste, pas d'histoire compressive externe, évolution vers une neuropathie longueur-dépendante fréquente ou même début par une neuropathie. Notre phénotype se rapproche plus d'un phénotype constaté lors d'une mutation frame-shift (insertion d'une base G dans un lot de six G)¹⁰². Le mécanisme le plus probable expliquant ce phénotype intermédiaire est vraisemblablement celui d'un effet par perte de fonction ou d'une haplo-insuffisance.

A l'heure actuelle, deux mutations stop dans le domaine extracellulaire de la P0 sont connues 71X⁹¹ que l'on a décrit plus haut et 141X décrite avec un phénotype CMT2. La mutation 71X se rapproche le plus de nos observations. Lagueny et coll concluent à un phénotype CMT mais on aurait pu classer cette patiente HNPP en l'absence du profil électrophysiologique.

Les aspects tomaculaires retrouvés chez notre patiente sont un argument de plus pour une HNPP mais s'ils sont le plus souvent décrits lors d'une délétion PMP22, on

les retrouve aussi lors de mutations de la P0. Le mécanisme de la tomacula n'est pas connu et il pourrait s'agir d'une réponse anormale à un traumatisme du nerf. Le fait que la tomacula ressemble aussi aux replis observés lors du développement peut suggérer un développement immature des interactions myéline-axone. On peut penser qu'il existe certaines mutations de la P0 responsables d'une hypermyélinisation alors que d'autres non, suggérant une altération d'une fonction particulière de la P0 qui contrôlerait la myélinisation.

Les protéines P0 et PMP22 sont clairement corrégulées probablement à la fois au niveau du transport et de l'assemblage dans le feuillet de myéline. Hasse et coll. démontrent que la PMP22 et la P0 sont impliquées dans des interactions hétérophiliques¹⁰³. On peut supposer qu'il existe un lien étroit entre la P0 et la PMP22 et qu'un déséquilibre dans le ratio de ces deux protéines entraîne l'apparition d'une symptomatologie similaire. S'agit-il d'une coséquestration dans le cytoplasme, d'une expression équilibrée au sein de la myéline avec une sous expression à la surface cellulaire de P0 avec relative surreprésentation de PMP22 ? Cela reste à déterminer.

Les anomalies associées aux mutations P0 sont donc très variées. Les phénotypes observés vont du CMT au NCH et au niveau anatomopathologique, il peut exister des tomacula. Récemment, une étude supposait que le CMT, le DSS et la NCH n'étaient pas des entités physiopathologiques distinctes mais représentaient le spectre d'expression résultant de mutations des gènes de la myéline⁹⁴. Notre étude suggère que le phénotype HNPP peut faire lui aussi partie de ce spectre d'expression pour les mutations P0.

4.5. ARBRE DECISIONNEL : NEUROPATHIE HEREDITAIRE

Il faut penser à une mutation du gène codant pour la protéine P0 devant un phénotype HNPP. Quelques particularités peuvent orienter le diagnostic moléculaire : la présence d'une neuropathie longueur dépendante associée, l'absence d'histoire compressive, l'atteinte axonale précoce à l'EMG.

On peut, d'après les données cliniques, essayer de déterminer une conduite à tenir pour les prélèvements génétiques à effectuer, résumée dans la figure ci-dessous.

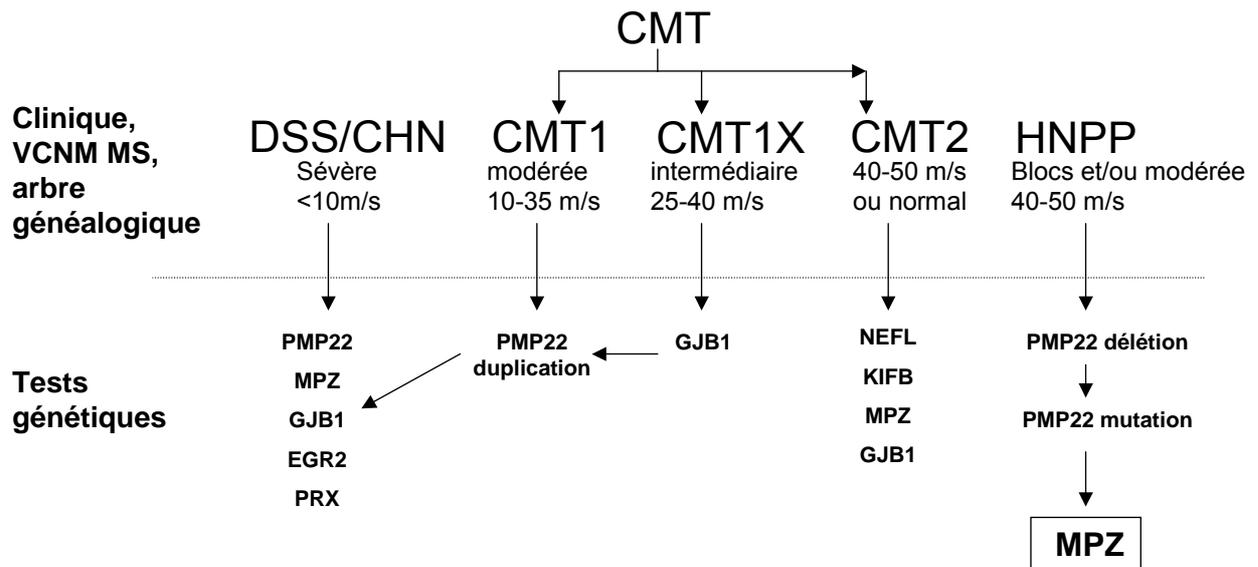


Figure 21. Arbre décisionnel devant une neuropathie héréditaire. VCNM MS= vitesse de conduction motrice membre supérieur

5. CONCLUSION

La découverte des gènes mutés dans les neuropathies sensitivo-motrices héréditaires n'a pas simplifié la classification de ces maladies mais elle a permis d'appréhender leur physiopathologie. Cela n'a actuellement malheureusement pas eu d'implication thérapeutique directe. L'étude de nos familles permet encore une fois d'appréhender les corrélations génotype-phénotype de ces neuropathies et de proposer le phénotype HNPP comme faisant partie du spectre d'expression des mutations P0.

BIBLIOGRAPHIE

1. Yates AJ, Wherrett JR. Changes in the sciatic nerve of the rabbit and its tissue constituents during development. *J Neurochem* 1974; 23(5):993-1003.
2. Detering NK, Wells MA. The non-synchronous synthesis of myelin components during early stages of myelination in the rat optic nerve. *J Neurochem* 1976; 26(2):253-257.
3. Dupree JL, Coetzee T, Blight A, Suzuki K, Popko B. Myelin galactolipids are essential for proper node of Ranvier formation in the CNS. *J Neurosci* 1998; 18(5):1642-1649.
4. Bosio A, Binczek E, Haupt WF, Stoffel W. Composition and biophysical properties of myelin lipid define the neurological defects in galactocerebroside- and sulfatide-deficient mice. *J Neurochem* 1998; 70(1):308-315.
5. Sheikh KA, Sun J, Liu Y, Kawai H, Crawford TO, Proia RL et al. Mice lacking complex gangliosides develop Wallerian degeneration and myelination defects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(13):7532-7537.
6. Kitamura K, Suzuki M, Uyemura K. Purification and partial characterization of two glycoproteins in bovine peripheral nerve myelin membrane. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455(3):806-816.
7. Roomi MW, Ishaque A, Khan NR, Eylar EH. The PO protein. The major glycoprotein of peripheral nerve myelin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 536(1):112-121.
8. Hayasaka K, Himoro M, Wang Y, Takata M, Minoshima S, Shimizu N et al. Structure and chromosomal localization of the gene encoding the human myelin protein zero (MPZ). *Genomics* 1993; 17(3):755-758.
9. Sakamoto Y, Kitamura K, Yoshimura K, Nishijima T, Uyemura K. Complete amino acid sequence of PO protein in bovine peripheral nerve myelin. *J Biol Chem* 1987; 262(9):4208-4214.
10. Lemke G, Axel R. Isolation and sequence of a cDNA encoding the major structural protein of peripheral myelin. *Cell* 1985; 40(3):501-508.
11. Bollensen E, Schachner M. The peripheral myelin glycoprotein P0 expresses the L2/HNK-1 and L3 carbohydrate structures shared by neural adhesion molecules. *Neurosci Lett* 1987; 82(1):77-82.
12. D'Urso D, Brophy PJ, Staugaitis SM, Gillespie CS, Frey AB, Stempak JG et al. Protein zero of peripheral nerve myelin: biosynthesis, membrane insertion, and evidence for homotypic interaction. *Neuron* 1990; 4(3):449-460.
13. Ding Y, Brunden KR. The cytoplasmic domain of myelin glycoprotein P0 interacts with negatively charged phospholipid bilayers. *J Biol Chem* 1994; 269(14):10764-10770.

14. Pareek S, Suter U, Snipes GJ, Welcher AA, Shooter EM, Murphy RA. Detection and processing of peripheral myelin protein PMP22 in cultured Schwann cells. *J Biol Chem* 1993; 268(14):10372-10379.
15. Patel PI, Roa BB, Welcher AA, Schoener-Scott R, Trask BJ, Pentao L et al. The gene for the peripheral myelin protein PMP-22 is a candidate for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nat Genet* 1992; 1(3):159-165.
16. Suter U, Snipes GJ, Schoener-Scott R, Welcher AA, Pareek S, Lupski JR et al. Regulation of tissue-specific expression of alternative peripheral myelin protein-22 (PMP22) gene transcripts by two promoters. *J Biol Chem* 1994; 269(41):25795-25808.
17. Snipes GJ, Suter U, Shooter EM. Human peripheral myelin protein-22 carries the L2/HNK-1 carbohydrate adhesion epitope. *J Neurochem* 1993; 61(5):1961-1964.
18. Quarles RH, Everly JL, Brady RO. Evidence for the close association of a glycoprotein with myelin in rat brain. *J Neurochem* 1973; 21(5):1177-1191.
19. McKerracher L, David S, Jackson DL, Kottis V, Dunn RJ, Braun PE. Identification of myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite growth. *Neuron* 1994; 13(4):805-811.
20. Mukhopadhyay G, Doherty P, Walsh FS, Crocker PR, Filbin MT. A novel role for myelin-associated glycoprotein as an inhibitor of axonal regeneration. *Neuron* 1994; 13(3):757-767.
21. Fruttiger M, Montag D, Schachner M, Martini R. Crucial role for the myelin-associated glycoprotein in the maintenance of axon-myelin integrity. *Eur J Neurosci* 1995; 7(3):511-515.
22. Filbin MT. The Muddle with MAG. *Mol Cell Neurosci* 1996; 8(2/3):84-92.
23. Trapp BD. Myelin-associated glycoprotein. Location and potential functions. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 605:29-43.
24. Lin W, Sanchez HB, Deerinck T, Morris JK, Ellisman M, Lee KF. Aberrant development of motor axons and neuromuscular synapses in erbB2-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(3):1299-1304.
25. Friede RL, Samorajski T. Myelin formation in the sciatic nerve of the rat. A quantitative electron microscopic, histochemical and radioautographic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1968; 27(4):546-570.
26. Garbay B, Heape AM, Sargueil F, Cassagne C. Myelin synthesis in the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol* 2000; 61(3):267-304.
27. Snipes GJ, Suter U, Welcher AA, Shooter EM. Characterization of a novel peripheral nervous system myelin protein (PMP-22/SR13). *J Cell Biol* 1992; 117(1):225-238.

28. D'Urso D, Schmalenbach C, Zoidl G, Prior R, Muller HW. Studies on the effects of altered PMP22 expression during myelination in vitro. *J Neurosci Res* 1997; 48(1):31-42.
29. Salzer JL, Bunge RP. Studies of Schwann cell proliferation. I. An analysis in tissue culture of proliferation during development, Wallerian degeneration, and direct injury. *J Cell Biol* 1980; 84(3):739-752.
30. Wood PM, Bunge RP. Evidence that sensory axons are mitogenic for Schwann cells. *Nature* 1975; 256(5519):662-664.
31. Owens GC, Bunge RP. Evidence for an early role for myelin-associated glycoprotein in the process of myelination. *Glia* 1989; 2(2):119-128.
32. Eldridge CF, Bunge MB, Bunge RP, Wood PM. Differentiation of axon-related Schwann cells in vitro. I. Ascorbic acid regulates basal lamina assembly and myelin formation. *J Cell Biol* 1987; 105(2):1023-1034.
33. Eldridge CF, Bunge MB, Bunge RP. Differentiation of axon-related Schwann cells in vitro: II. Control of myelin formation by basal lamina. *J Neurosci* 1989; 9(2):625-638.
34. Friede RL. Control of myelin formation by axon caliber (with a model of the control mechanism). *J Comp Neurol* 1972; 144(2):233-252.
35. Weinberg HJ, Spencer PS. Studies on the control of myelinogenesis. II. Evidence for neuronal regulation of myelin production. *Brain Res* 1976; 113(2):363-378.
36. Aguayo AJ, Charron L, Bray GM. Potential of Schwann cells from unmyelinated nerves to produce myelin: a quantitative ultrastructural and radiographic study. *J Neurocytol* 1976; 5(8):565-573.
37. Bray GM, Rasminsky M, Aguayo AJ. Interactions between axons and their sheath cells. *Annu Rev Neurosci* 1981; 4:127-162.
38. Windebank AJ, Wood P, Bunge RP, Dyck PJ. Myelination determines the caliber of dorsal root ganglion neurons in culture. *J Neurosci* 1985; 5(6):1563-1569.
39. LeBlanc AC, Poduslo JF. Axonal modulation of myelin gene expression in the peripheral nerve. *J Neurosci Res* 1990; 26(3):317-326.
40. Bolin LM, Shooter EM. Neurons regulate Schwann cell genes by diffusible molecules. *J Cell Biol* 1993; 123(1):237-243.
41. Baulieu EE, Schumacher M. Neurosteroids, with special reference to the effect of progesterone on myelination in peripheral nerves. *Mult Scler* 1997; 3(2):105-112.
42. Koenig HL, Schumacher M, Ferzaz B, Thi AN, Ressouches A, Guennoun R et al. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. *Science* 1995; 268(5216):1500-1503.

43. Desarnaud F, Do Thi AN, Brown AM, Lemke G, Suter U, Baulieu EE et al. Progesterone stimulates the activity of the promoters of peripheral myelin protein-22 and protein zero genes in Schwann cells. *J Neurochem* 1998; 71(4):1765-1768.
44. Melcangi RC, Magnaghi V, Cavarretta I, Martini L, Piva F. Age-induced decrease of glycoprotein Po and myelin basic protein gene expression in the rat sciatic nerve. Repair by steroid derivatives. *Neuroscience* 1998; 85(2):569-578.
45. Chan JR, Phillips LJ, Glaser M. Glucocorticoids and progestins signal the initiation and enhance the rate of myelin formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(18):10459-10464.
46. Einheber S, Hannocks MJ, Metz CN, Rifkin DB, Salzer JL. Transforming growth factor-beta 1 regulates axon/Schwann cell interactions. *J Cell Biol* 1995; 129(2):443-458.
47. ffrench-Constant C, Colognato H, Franklin RJ. *Neuroscience. The mysteries of myelin unwrapped.* *Science* 2004; 304(5671):688-689.
48. Topilko P, Schneider-Maunoury S, Levi G, Baron-Van Evercooren A, Chennoufi AB, Seitanidou T et al. Krox-20 controls myelination in the peripheral nervous system. *Nature* 1994; 371(6500):796-799.
49. Giese KP, Martini R, Lemke G, Soriano P, Schachner M. Mouse P0 gene disruption leads to hypomyelination, abnormal expression of recognition molecules, and degeneration of myelin and axons. *Cell* 1992; 71(4):565-576.
50. Xu W, Manichella D, Jiang H, Vallat JM, Lilien J, Baron P et al. Absence of P0 leads to the dysregulation of myelin gene expression and myelin morphogenesis. *J Neurosci Res* 2000; 60(6):714-724.
51. Suter U, Moskow JJ, Welcher AA, Snipes GJ, Kosaras B, Sidman RL et al. A leucine-to-proline mutation in the putative first transmembrane domain of the 22-kDa peripheral myelin protein in the trembler-J mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(10):4382-4386.
52. Suter U, Welcher AA, Ozcelik T, Snipes GJ, Kosaras B, Francke U et al. Trembler mouse carries a point mutation in a myelin gene. *Nature* 1992; 356(6366):241-244.
53. Adlkofer K, Martini R, Aguzzi A, Zielasek J, Toyka KV, Suter U. Hypermyelination and demyelinating peripheral neuropathy in Pmp22-deficient mice. *Nat Genet* 1995; 11(3):274-280.
54. Rosenbluth J. A brief history of myelinated nerve fibers: one hundred and fifty years of controversy. *J Neurocytol* 1999; 28(4-5):251-262.
55. Poliak S, Peles E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(12):968-980.

56. Caldwell JH, Schaller KL, Lasher RS, Peles E, Levinson SR. Sodium channel Na(v)1.6 is localized at nodes of ranvier, dendrites, and synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(10):5616-5620.
57. Lacas-Gervais S, Guo J, Strenzke N, Scarfone E, Kolpe M, Jahkel M et al. BetaIVSigma1 spectrin stabilizes the nodes of Ranvier and axon initial segments. *J Cell Biol* 2004; 166(7):983-990.
58. Devaux JJ, Kleopa KA, Cooper EC, Scherer SS. KCNQ2 is a nodal K⁺ channel. *J Neurosci* 2004; 24(5):1236-1244.
59. Vabnick I, Trimmer JS, Schwarz TL, Levinson SR, Risal D, Shrager P. Dynamic potassium channel distributions during axonal development prevent aberrant firing patterns. *J Neurosci* 1999; 19(2):747-758.
60. Traka M, Goutebroze L, Denisenko N, Bessa M, Nifli A, Havaki S et al. Association of TAG-1 with Caspr2 is essential for the molecular organization of juxtaparanodal regions of myelinated fibers. *J Cell Biol* 2003; 162(6):1161-1172.
61. Hsieh ST, Kidd GJ, Crawford TO, Xu Z, Lin WM, Trapp BD et al. Regional modulation of neurofilament organization by myelination in normal axons. *J Neurosci* 1994; 14(11 Pt 1):6392-6401.
62. Koirala S, Reddy LV, Ko CP. Roles of glial cells in the formation, function, and maintenance of the neuromuscular junction. *J Neurocytol* 2003; 32(5-8):987-1002.
63. Suter U, Scherer SS. Disease mechanisms in inherited neuropathies. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(9):714-726.
64. Zuchner S, Mersiyanova IV, Muglia M, Bissar-Tadmouri N, Rochelle J, Dadali EL et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat Genet* 2004; 36(5):449-451.
65. De Jong JGY. Over families met hereditaire disposite tot het optreten van neuritiden, gecorreleard met migraine. *Psychiat neurol* 1947; 50:60-76.
66. Koehler PJ. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: the first publication (1947). *Neurology* 2003; 60(7):1211-1213.
67. DAVIES DM. Recurrent peripheral nerve palsies in a family. *Lancet* 1954; 267(6832):266-268.
68. EARL CJ, FULLERTON PM, WAKEFIELD GS, SCHUTTA HS. HEREDITARY NEUROPATHY, WITH LIABILITY TO PRESSURE PALSIES; A CLINICAL AND ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF FOUR FAMILIES. *Q J Med* 1964; 33:481-498.
69. Behse F, Buchthal F, Carlsen F, Knappeis GG. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. Electrophysiological and histopathological aspects. *Brain* 1972; 95(4):777-794.

70. Meretoja P, Silander K, Kalimo H, Aula P, Meretoja A, Savontaus ML. Epidemiology of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) in south western Finland. *Neuromuscul Disord* 1997; 7(8):529-532.
71. Pou SA, De Paiva VJ, Alameda F, Lloreta J, Blasco R, Piqueras A. [Familial recurrent paralysis of the brachial plexus. Tomaculous neuropathy]. *Rev Neurol (Paris)* 1992; 148(2):123-128.
72. Li J, Krajewski K, Shy ME, Lewis RA. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsy: the electrophysiology fits the name. *Neurology* 2002; 58(12):1769-1773.
73. Chance PF, Alderson MK, Leppig KA, Lensch MW, Matsunami N, Smith B et al. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 1993; 72(1):143-151.
74. Blair IP, Nash J, Gordon MJ, Nicholson GA. Prevalence and origin of de novo duplications in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: first report of a de novo duplication with a maternal origin. *Am J Hum Genet* 1996; 58(3):472-476.
75. Nelis E, Van Broeckhoven C, De Jonghe P, Lofgren A, Vandenberghe A, Latour P et al. Estimation of the mutation frequencies in Charcot-Marie-Tooth disease type 1 and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: a European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 1996; 4(1):25-33.
76. Li J, Krajewski K, Lewis RA, Shy ME. Loss-of-function phenotype of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Muscle Nerve* 2004; 29(2):205-210.
77. Trapp BD, Kidd GJ, Hauer P, Mulrenin E, Haney CA, Andrews SB. Polarization of myelinating Schwann cell surface membranes: role of microtubules and the trans-Golgi network. *J Neurosci* 1995; 15(3 Pt 1):1797-1807.
78. Pford G, Matthieu JM, Garin N, Tosic M. Implication of the extracellular disulfide bond on myelin protein zero expression. *Neurochem Res* 2001; 26(5):503-510.
79. Griffith LS, Schmitz B, Schachner M. L2/HNK-1 carbohydrate and protein-protein interactions mediate the homophilic binding of the neural adhesion molecule P0. *J Neurosci Res* 1992; 33(4):639-648.
80. Filbin MT, Tennekoon GI. Homophilic adhesion of the myelin P0 protein requires glycosylation of both molecules in the homophilic pair. *J Cell Biol* 1993; 122(2):451-459.
81. Zhang K, Filbin MT. Formation of a disulfide bond in the immunoglobulin domain of the myelin P0 protein is essential for its adhesion. *J Neurochem* 1994; 63(1):367-370.
82. Xu W, Shy M, Kamholz J, Elferink L, Xu G, Lilien J et al. Mutations in the cytoplasmic domain of P0 reveal a role for PKC-mediated phosphorylation in adhesion and myelination. *J Cell Biol* 2001; 155(3):439-446.

83. Gao Y, Li W, Filbin MT. Acylation of myelin Po protein is required for adhesion. *J Neurosci Res* 2000; 60(6):704-713.
84. Lanwert C, Jeserich G. Structure, heterologous expression, and adhesive properties of the P(0)-like myelin glycoprotein IP1 of trout CNS. *Microsc Res Tech* 2001; 52(6):637-644.
85. Fannon AM, Sherman DL, Ilyina-Gragerova G, Brophy PJ, Friedrich VL, Jr., Colman DR. Novel E-cadherin-mediated adhesion in peripheral nerve: Schwann cell architecture is stabilized by autotypic adherens junctions. *J Cell Biol* 1995; 129(1):189-202.
86. Menichella DM, Arroyo EJ, Awatramani R, Xu T, Baron P, Vallat JM et al. Protein zero is necessary for E-cadherin-mediated adherens junction formation in Schwann cells. *Mol Cell Neurosci* 2001; 18(6):606-618.
87. D'Urso D, Ehrhardt P, Muller HW. Peripheral myelin protein 22 and protein zero: a novel association in peripheral nervous system myelin. *J Neurosci* 1999; 19(9):3396-3403.
88. Ulzheimer JC, Peles E, Levinson SR, Martini R. Altered expression of ion channel isoforms at the node of Ranvier in P0-deficient myelin mutants. *Mol Cell Neurosci* 2004; 25(1):83-94.
89. Bort S, Nelis E, Timmerman V, Sevilla T, Cruz-Martinez A, Martinez F et al. Mutational analysis of the MPZ, PMP22 and Cx32 genes in patients of Spanish ancestry with Charcot-Marie-Tooth disease and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Hum Genet* 1997; 99(6):746-754.
90. Mariman EC, Gabreels-Festen AA, van Beersum SE, Jongen PJ, van de LE, Baas F et al. Evidence for genetic heterogeneity underlying hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Hum Genet* 1994; 93(2):151-156.
91. Lagueny A, Latour P, Vital A, Le Masson G, Rouanet M, Ferrer X et al. Mild recurrent neuropathy in CMT1B with a novel nonsense mutation in the extracellular domain of the MPZ gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70(2):232-235.
92. Hayasaka K, Himoro M, Sawaishi Y, Nanao K, Takahashi T, Takada G et al. De novo mutation of the myelin P0 gene in Dejerine-Sottas disease (hereditary motor and sensory neuropathy type III). *Nat Genet* 1993; 5(3):266-268.
93. Shapiro L, Doyle JP, Hensley P, Colman DR, Hendrickson WA. Crystal structure of the extracellular domain from P0, the major structural protein of peripheral nerve myelin. *Neuron* 1996; 17(3):435-449.
94. Warner LE, Hilz MJ, Appel SH, Killian JM, Kolodry EH, Karpati G et al. Clinical phenotypes of different MPZ (P0) mutations may include Charcot-Marie-Tooth type 1B, Dejerine-Sottas, and congenital hypomyelination. *Neuron* 1996; 17(3):451-460.

95. Chapon F, Latour P, Diraison P, Schaeffer S, Vandenberghe A. Axonal phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease associated with a mutation in the myelin protein zero gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66(6):779-782.
96. Marrosu MG, Vaccargiu S, Marrosu G, Vannelli A, Cianchetti C, Muntoni F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. *Neurology* 1998; 50(5):1397-1401.
97. Shy ME, Jani A, Krajewski K, Grandis M, Lewis RA, Li J et al. Phenotypic clustering in MPZ mutations. *Brain* 2004; 127(Pt 2):371-384.
98. Inoue K, Khajavi M, Ohyama T, Hirabayashi S, Wilson J, Reggin JD et al. Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet* 2004; 36(4):361-369.
99. Maquat LE. Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5(2):89-99.
100. Gabreels-Festen AA, Hoogendijk JE, Meijerink PH, Gabreels FJ, Bolhuis PA, van Beersum S et al. Two divergent types of nerve pathology in patients with different P0 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 1996; 47(3):761-765.
101. Sander S, Ouvrier RA, McLeod JG, Nicholson GA, Pollard JD. Clinical syndromes associated with tomacula or myelin swellings in sural nerve biopsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68(4):483-488.
102. Lenssen PP, Gabreels-Festen AA, Valentijn LJ, Jongen PJ, van Beersum SE, van Engelen BG et al. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. Phenotypic differences between patients with the common deletion and a PMP22 frame shift mutation. *Brain* 1998; 121 (Pt 8):1451-1458.
103. Hasse B, Bosse F, Hanenberg H, Muller HW. Peripheral myelin protein 22 kDa and protein zero: domain specific trans-interactions. *Mol Cell Neurosci* 2004; 27(4):370-378.

MAGOT Armelle

Mutation du gène codant la protéine 0 responsable d'un phénotype clinique et électrophysiologique de neuropathie par hypersensibilité à la pression

Résumé:

La neuropathie par hypersensibilité à la pression est classiquement décrite associée à une délétion ou à des mutations du gène de la PMP22. Les mutations du gène de la P0 sont responsables de phénotypes variés allant de l'hypomyélinisation congénitale à la maladie de Charcot Marie Tooth. Nous décrivons pour la première fois, dans trois familles de l'Ouest, un phénotype clinique d'HNPP associé à une mutation non-sens du codon 116 du gène de la protéine 0 responsable d'une protéine tronquée dans son domaine extra-cellulaire.

Ce phénotype est caractérisé par son évolution secondaire vers une neuropathie longueur-dépendante, son tableau démyélinisant et axonal précoce à l'électromyographie. Nous discutons les rôles de la P0 au sein de la myéline, les corrélations génotypes-phénotypes dans les neuropathies héréditaires, l'intégration de ce nouveau phénotype parmi les neuropathies héréditaires.

Ce nouveau phénotype étudié représente une nouvelle entité dans le spectre clinique des mutations P0.

Mots-clés : neuropathie héréditaire sensitivo-motrice, myéline, protéine P0, hypersensibilité à la pression, corrélations génotypes-phénotypes

Thèse de médecine, faculté de Nantes, 2005

Discipline:neurologie