ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTÉ DE PHARMACIE « PHILIPPE MAUPAS »

Année 2025

THÈSE D'EXERCICE

Pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Héloïse ROBINEAU

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 23 JANVIER 2026

Titre : Le poulet comme modèle animal pour comprendre les glycogénoses musculaires chez l'homme

JURY :

Présidente : Pr Karine Mahéo, Université de Tours, UFR de Pharmacie

Membres :

- Dr Audrey Oudin, Université de Tours, UFR de Pharmacie
- Pr Véronique Maupoil-David, Université de Tours, UFR de Pharmacie
- Dr Anna-Katia Vinikoff, Pharmacienne d'industrie, Sanofi

ANNEE : 2025 - 2026

Directeur **: Pr Denys BRAND**

Directeur Adjoint **: M. Matthieu JUSTE**

Assesseurs **: M. Gildas PRIE, Mme Emilie ALLARD -VANNIER, M. Bruno GIRAUDEAU, Mme Claire POUPLARD, Mme Audrey OUDIN, Mme GERMON Stéphanie**

ENSEIGNANTS

16 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLARD-VANNIER	**Emilie**	PHARMACIE GALENIQUE
ALLOUCHI	**Hassan**	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAYE	**Leslie**	PHARMACOGNOSIE
BRAND	**Denys**	MICROBIOLOGIE
BRAIBANT	**Martine**	MICROBIOLOGIE
CHEVALIER	**Stéphane**	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	**Igor**	CHIMIE ANALYTIQUE
CLASTRE	**Marc**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	**Isabelle**	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIES MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	**Cécile**	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	**Karine**	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	**Véronique**	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	**Emilie**	PHARMACIE GALENIQUE
TAUBER	**Clovis**	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	**Florence**	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VIAUD-MASSUARD	**Marie-Claude**	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	**Daniel**	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	**Nicolas**	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EDMOND	**Patrick**	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAUDEAU	**Bruno**	SANTE PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & EPIDEMIOLOGIE
LANOTTE	**Philippe**	MICROBIOLOGIE
POUPLARD	**Claire**	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

BARIN	**Francis**	MICROBIOLOGIE
THIBAULT	**Gilles**	IMMUNOLOGIE

33 MAITRES DE CONFÉRENCES

AUBREY	**Nicolas**	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	**Pierre**	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	**Caroline**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	**Franck**	CHIMIE ANALYTIQUE
BORDY	**Romain**	PHARMACOLOGIE & TOXICOLOGIE
BREDELOUX	**Pierre**	PHARMACOLOGIE
DAVID	**Stéphanie**	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	**Françoise**	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIES MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
DELAYE	**Pierre-Olivier**	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	**Caroline**	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	**Laurence**	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE

DUMAS	**Jean-François**	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
GERMON	**Stéphane**	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIES MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
GLEVAREC	**Gaëlle**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	**Katel**	CHIMIE ANALYTIQUE
JUSTE	**Matthieu**	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIES MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
LAJOIE	**Laurie**	IMMUNOLOGIE
LANOUE	**Arnaud**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	**Jillian**	BIOMOLECULES & BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MAVEL	**Sylvie**	CHIMIE THERAPEUTIQUE
OUDIN	**Audrey**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	**Cyril**	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASCALIN	**Côme**	PHARMACOLOGIE
PRIE	**Gildas**	CHIMIE ORGANIQUE
SAHLI	**Ramla**	PHARMACOGNOSIE
SIEROCKI	**Pierre**	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	**Martin**	CHIMIE ANALYTIQUE
VERCOUILLIE	**Johnny**	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGER	**Alexis**	PHARMACIE GALENIQUE
VERGOTE	**Jackie**	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	**Emilie**	SANTE PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & EPIDEMIOLOGIE
ZHANG	**Bei-Li**	PHARMACOLOGIE

1 MAST

CAMUS GABRIEL	**Mathilde**	*Filière Officine*

5 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	**Laura**	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	**Amélie**	HEMATOLOGIE
MARLET	**Julien**	MICROBIOLOGIE
POUPIN	**Pierre**	SANTE PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & EPIDEMIOLOGIE
VEYRAT DUREBEX	**Charlotte**	BIOCHIMIE CLINIQUE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

BOULARD	**Pierre**	IMMUNOLOGIE
DOUEZ	**Emmanuel**	PHARMACIE GALENIQUE
TULOUP	**Vianney**	PHARMACIE CLINIQUE

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	**Susan**	ANGLAIS

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

GERBIER	**Soledad**	ANGLAIS

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	**Mathieu**	INRAE
MEVELEC	**Marie-Noëlle**	INRAE
MOIRE	**Nathalie**	INRAE

université de TOURS | Faculté de pharmacie Philippe-Maupas

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Date :

L'étudiante Héloïse ROBINEAU

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

REMERCIEMENTS

Ce travail est l'aboutissement de mes études en Pharmacie remplies de connaissances et de compétences mais également de magnifiques rencontres.

Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de thèse, **Dr Audrey OUDIN**, pour son accompagnement tout au long de cette année de rédaction. Merci pour votre bienveillance et la qualité de vos conseils. Merci d'avoir été curieuse et confiante par rapport à ce sujet.

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury, **Pr Karine MAHEO**, **Pr Véronique MAUPOIL-DAVID**, **Dr Anna-Katia VINIKOFF** qui me font l'honneur d'évaluer ce travail et d'y apporter leur regard éclairé.

Je suis très reconnaissante envers l'ensemble des enseignants avec qui j'ai pu échanger dans le cadre de mon investissement associatif, notamment en tant qu'élue UFR et vice-doyenne étudiante. Merci pour votre bienveillance et votre volonté à faire évoluer nos études.

Je remercie également l'AFG, Association Francophone des Glycogénoses, et notamment la Présidente, **Laura SIMONOT**, de m'avoir invitée à présenter cette thèse lors de leur événement annuel. Cette intervention m'a permis d'avoir un regard extérieur, des chercheurs présents ainsi que des patients atteints, apportant de précieux retours.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toute l'équipe MOQA de l'INRAE, pour m'avoir accueillie l'an dernier en stage et m'avoir fait découvrir le monde de la recherche, ce qui m'a amenée à écrire cette thèse. Merci tout particulièrement à **Nathalie** et **Marine**. Votre soutien et votre bienveillance, tout au long de ce stage et encore maintenant, me touchent profondément.

Un grand merci à ma famille, **Molly**, **Wally**, **Anne-Julie**, **Alexis**, **Mamie**. Bien que très éloignés de ce domaine, vous avez été constamment curieux d'en savoir plus sur ce travail et m'avez soutenue chaque jour. Et bravo à vous d'avoir démêlé ce casse-tête entre thèse de pharmacie et thèse de sciences.

Merci à ceux qui veillent sur moi de là-haut, j'aurais aimé vous rendre fiers de votre petite-fille.

Je souhaite également remercier mes amis, **Romain, Faustine, Augustin, Arthur, Tristan, Chloé, Aurélien, Titouan, Gauthier, Lucie, Gabrielle, Maxime, Mathéo**, **Anna**, avec qui j'ai passé les meilleures années de ma vie. Merci pour ces moments inoubliables, vos encouragements et vos rires.

Merci à **Athéna**, même si elle ne sait pas lire, d'être mon petit rayon de soleil quotidien depuis 5 ans.

Merci à toi **Elsa**, d'avoir été une amie formidable, depuis le cours de biotech jusqu'à maintenant. Nous avons grandi ensemble, fait plein d'*activités*, vécu des hauts et des bas mais pas entre nous, bref une amitié en or et tu sais tout le reste que j'omets ici.

Merci à toi **Karim**, de partager ma vie, de me soutenir et me rassurer, d'être toi (et d'être le meilleur pharmacien-cuistot). Grâce à toi je deviens une meilleure personne, tu m'aides à me dépasser et dépasser mes peurs. Merci de me rendre heureuse depuis bientôt 5 ans et jusqu'à ce que la mort nous sépare.

Enfin, je dédie ce travail à toutes celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de cette thèse, autant sur le soutien moral que sur des discussions scientifiques.

Ce sujet a fait sourire, parce que parler de poulet n'est pas commun, mais merci à tous d'avoir eu espoir en nos amis aviaires et en moi.

TABLE DES MATIERES

Introduction 1
Partie I : Les glycogénoses musculaires humaines – bases biochimiques et physiopathologie5
I. Le métabolisme du glycogène 5
1. Le glycogène 5
1.1 Découverte du glycogène 5
1.2 Définition et structure 6
2. La voie du métabolisme du glycogène 7
2.1 Mécanismes de la glycogénogenèse 7
2.2 Mécanismes de la glycogénolyse dans les muscles squelettiques 9
2.3 Régulation du métabolisme du glycogène musculaire 11
2.4 Transport du glucose chez les mammifères dans les muscles squelettiques 11
3. La protéine phosphatase-1, une enzyme essentielle 12
3.1 Protéine phosphatase-1 (PP1) 12
3.2 Sous-unités régulatrices 12
3.3 Les pathologies associées à PP1 et à ses sous-unités 14
II. Les glycogénoses 15
1. Définition 15
2. Epidémiologie 15
3. Classification et étiologie 17
4. Physiopathologie des glycogénoses musculaires 19
4.1 Glycogénose de type 0b 21
4.2 Glycogénose de type II ou maladie de Pompe 22
4.3 Glycogénose de type III ou maladie de Cori-Forbes 24
4.4 Glycogénose de type IV ou Maladie d'Andersen 25
4.5 Glycogénose de type V ou maladie de McArdle 26
4.6 Glycogénose de type VII ou maladie de Tarui 28
4.7 Glycogénose de type IXb 29
4.8 Glycogénose de type IXd ou IXe 30
4.9 Glycogénose de type X 30
4.10 Glycogénose de type XI 31
4.11 Glycogénose de type XII 31

4.12 Glycogénose de type XIII 33
4.13 Glycogénose de type XIV 33
4.14 Glycogénose de type XV 33
5. Connaissances globales des professionnels de santé sur les glycogénoses et leur prise en charge 35
6. Economie : médicaments orphelins contre blockbusters 37
Partie II : Le poulet comme modèle animal : pertinence et caractérisation du métabolisme glycogénique 39
I. Les modèles animaux dans la recherche et éthique 39
II. Modèles animaux dans les glycogénoses et leurs limites 40
III. Métabolisme du glycogène chez le poulet : physiologie comparée à l'homme 42
1. Régulation du glucose chez les oiseaux 42
IV. Le poulet comme modèle d'étude 43
V. Justification du choix du poulet comme modèle d'étude des glycogénoses 45
Partie III : Application du modèle poulet à l'étude du métabolisme du glycogène et transposition à l'étude des glycogénoses 49
I. Contexte 49
II. Historique de l'étude 49
III. Objectifs 57
IV. Matériels et méthodes 58
1. Modèle animal 58
1.1 Modèle *in vivo* 58
1.2 Modèle *in vitro* 58
2. Immunocytochimie 59
3. Biologie moléculaire 60
3.1 Extraction des ARNs totaux 60
3.2 Rétrotranscriptase et qPCR 60
4. Lyse protéique et Western Blot 61
5. Statistiques 62
V. Résultats 62
1. Etude du modèle *in vivo* 62
1.1 Expression des sous-unités régulatrices de PP1 étudiées dans le *Pectoralis major in vivo* 62
1.2 Régulation des voies de signalisation de la synthèse du glycogène dans le *Pectoralis major* des lignées pHu+ et pHu- 66

2. Optimisation et étude du modèle expérimental *in vitro* 71
2.1 Capacité de différenciation myogénique dans les lignées pHu+ et pHu- *in vitro* . 71
2.2 Les gènes codants pour les isoformes PPP1R3A, B, C et D sont exprimés dans les cellules musculaires *in vitro* 72
2.3 Voie de signalisation du métabolisme du glycogène *in vitro* 74
2.4 Simulation de statuts alimentaires 74
VI. Conclusion du modèle expérimental 76
VII. Discussion générale 80
1. Contexte scientifique 80
2. Pertinence du poulet comme modèle des glycogénoses musculaires 81
3. Apports spécifiques du modèle poulet 81
4. Hypothèses de modèles de glycogénoses chez le poulet 82
5. Perspectives de recherche et de modélisation dans les glycogénoses musculaires .. 84
Bibliographie 89
Annexes 1

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ALDOA : Aldolase A

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

AMPK : Protéine Kinase Adénosine MonoPhosphate-dépendante

ATP : Adénosine TriPhosphate

CHO : Cellules de Hamster Chinois

CPK : Créatine PhosphoKinase

ECG : ElectroCardioGramme

EMA : *European Medicines Agency*

ERT : Enzymothérapie de remplacement

FDA : *Food and Drug Administration*

G1P : Glucose-1-Phosphate

G6P : Glucose-6-Phosphate

GAA : Alpha-1,4-glucosidase acide ou maltase acide

GBE : Enzyme branchante

GDE : Enzyme débranchante

GLUT : Transporteur du glucose

Gs : Protéine G stimulatrice

GSD : Maladie de Stockage du Glycogène ou glycogénoses

GSK3 : Glycogène synthase kinase 3

GYS : Glycogène synthase

HBP : Hexosamine

LDHA : Lactate déshydrogénase A

O-GlcNAc : N-acétylglucosamine liée à l'oxygène

PAS : *Periodic acid-schiff*

PFKM : Phosphofructokinase musculaire

PGAM2 : Phosphoglycérate mutase

PGM1 : Phosphoglucomutase 1

PHK : Glycogène phosphorylase kinase

PKA : Protéine kinase A

PKB : Protéine kinase B

PNMR1 : Plan National Maladies Rares 1

PP1 : Protéine phosphatase 1

PPP1R3A (B,C,D,E,F,G) : Protéine Régulatrice 3A (-B,C,D,E,F,G) de la Protéine Phosphatase-1

PTG : P*rotein targeting to glycogen*

PTM : Modification post-traductionnelle

PYG : Glycogène phosphorylase

PYGM : Glycogène phosphorylase musculaire

rhGAA : Protéine recombinante humaine de l'alpha-1,4-glucosidase acide

SGLT : Cotransporteurs sodium-glucose

UDP-glucose : Uridine diphosphate-glucose

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Molécule de glucose 6

Figure 2 : Molécule de glycogène 7

Figure 3 : Schéma de la glycogénogénèse 10

Figure 4 : Schéma simplifié de la glycogénolyse 10

Figure 5 : Schéma regroupant les organes principaux affectés dans les GSDs..... 18

Figure 6 : Schéma du métabolisme du glycogène et de la glycolyse ainsi que les étapes affectées par les GSDs.. 20

Figure 7 : Conséquences d'un déficit de GYS1 dans la voie du métabolisme du glycogène dans la GSD0b 21

Figure 8 : Mécanisme de la maladie de Pompe comparé au mécanisme avec un traitement ERT..... 23

Figure 9 : Glycogène avec des chaines périphériques courtes, les dextrines limites 25

Figure 10 : Comparaison entre une molécule de glycogène normalement ramifiée avec une molécule de glycogène avec polyglucosanes 25

Figure 11 : Schéma de la maladie de McArdle, déficit en glycogène phosphorylase musculaire (PYGM)..... 27

Figure 12 : Glycolyse anaérobie avec déficit en phosphofructokinase 1 musculaire 28

Figure 13 : Schéma simplifié de la glycolyse avec les conséquences du déficit en aldolase a dans la glycogénose de type XII. 32

Figure 14 : Evolution des vertébrés 44

Figure 15 : Production mondiale de viandes et poissons..... 50

Figure 16 : Evolution de la morphologie des poulets de chair 50

Figure 17 : Schéma illustrant les impacts des chutes de pH post-mortem sur le pH 15' et le pH ultime de la viande et les conséquences sur les caractéristiques de la viande. 51

Figure 18 : Evolution du pHu chez les lignées pHu+ et pHu- au fil des générations..... 52

Figure 19 : Teneur en glycogène musculaire (µmole/g) de poussins à l'éclosion et à 5 jours . 52

Figure 20 : Les différences défauts de la viande de poulet 54

Figure 21 : Analyse transcriptomique des lignées pHu+ et pHu- 54

Figure 22 : Expression des principales enzymes impliquées dans la régulation du métabolisme du glycogène musculaire dans les lignées pHu+ et pHu-..... 55

Figure 23 : Expression relative de PPP1R3A dans les différents tissus du poulet..... 55

Figure 24 : Expression relative de PPP1R3C et 3D dans les différents tissus du poulet 56

Figure 25 : Schéma anatomique du poulet illustrant le Pectoralis major 58

Figure 26 : Courbe d'amplification de PPP1R3A in vivo 63

Figure 27 : Expression relative du gène PPP1R3A en fonction des groupes de poulets 64

Figure 28 : Expression relative du gène PPP1R3C en fonction des groupes de poulets 65

Figure 29 : Expression relative de PPP1R3D en fonction des groupes de poulets 65

Figure 30 : Schéma de la régulation de PPP1R3A et PPP1R3C chez un poulet nourri 66

Figure 31 : Quantification relative de la glycogène phosphorylase PYG normalisée avec la vinculine (A) et blot représentatif (B) en fonction des groupes de poulet (lignée et statut alimentaire) 67

Figure 32 : Quantification relative de la phospho-glycogène synthase (pGS) normalisée avec la vinculine 67

Figure 33 : Quantification relative de la phospho-glycogène synthase (pGS) normalisée avec la vinculine 68

Figure 34 : Quantification relative de la pGS (A) et de la GSt (A') normalisée avec la vinculine et blot représentatif (B et B') en fonction des statuts alimentaires des poulets 69

Figure 35 : Quantification relative de la phosphoglucomutase (PGM1) normalisée avec la vinculine 69

Figure 36 : Quantification relative de la PGM1 normalisée avec la vinculine (A) et blot représentatif (B) en fonction des lignées de poulet..... 70

Figure 37 : Immunocytochimie de la myosine sarcomérique (MF20) sur les cellules satellites dérivées du Pectoralis major dans les lignées pHu+ et pHu-. 71

Figure 38 : Quantification de la protéine MF20 normalisée sur la vinculine (A) et blot représentatif (B), en fonction des lignées pHu+ et pHu-..... 72

Figure 39 : Courbe d'amplification de PPP1R3A in vitro 73

Figure 40 : Expression relative du gène PPP1R3D en fonction des lignées 73

Figure 41 : Quantification relative des protéines impliquées dans le métabolisme du glycogène en fonction des lignées pHu+ et pHu-..... 74

Figure 42 : Expression relative des gènes en fonction des groupes (lignée et concentration en glucose)..... 75

Figure 43 : Aperçu des maladies ciblées par les applications d'IA dans le domaine du repositionnement des médicaments. 86

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Prévalence des différentes glycogénoses 16

Tableau II : Classification des glycogénoses 17

Tableau III : Résumé des traitements et conseils hygiéno-diététique dans les glycogénoses musculaires 34

Tableau IV : Modèles animaux utilisés dans les GSD 41

Tableau V : Comparaison de la présence des gènes atteints dans les glycogénoses chez l'humain et le poulet 46

Tableau VI : Différences du métabolisme du glycogène entre l'humain et le poulet 47

Tableau VI : Pics de fusion des 4 sous-unités *in vivo* 63

Tableau VII : Définition des différents groupes 64

Tableau VIII : Pics de fusion des 4 sous-unités *in vitro* 72

Tableau IX : Sélection des modèles animaux issus des lignées pHu selon les différents types de glycogénoses 82

Introduction

Pour les patients atteints de glycogénoses musculaires, chaque mouvement devient un combat, comme si leurs muscles s'épuisaient face à une énergie enfermée et inaccessible.

Le métabolisme énergétique constitue l'un des piliers fondamentaux de la physiologie. L'organisme doit en permanence ajuster l'apport, le stockage et la consommation de substrats afin de maintenir l'homéostasie. Parmi ces substrats, le glucose occupe une place centrale : il constitue la principale source d'énergie pour de nombreux tissus tels que les muscles squelettiques lors de l'effort. La régulation de la glycémie repose sur des mécanismes complexes impliquant le foie, les muscles et le rein, ainsi qu'un contrôle hormonal par l'insuline et le glucagon. Le glycogène est la principale forme de stockage du glucose. Découvert en 1856 par Claude Bernard, il est constitué d'un polymère ramifié de molécules de glucose et est principalement localisé dans le foie et les muscles. Dans le foie, il permet de maintenir la glycémie entre les repas tandis que dans les muscles, il constitue une réserve énergétique mobilisable rapidement lors de l'exercice. La synthèse (glycogénogénèse) et la dégradation (glycogénolyse) du glycogène sont régulées par des cascades enzymatiques, incluant notamment la glycogène synthase et la glycogène phosphorylase.
Les glycogénoses ou *glycogen storage diseases* en anglais (GSD) sont des maladies génétiques rares dues à des anomalies du métabolisme du glycogène et dans la plupart des cas, liées à des déficits enzymatiques. Elles se traduisent par une accumulation ou une déplétion pathologique du glycogène avec des conséquences variables selon l'organe atteint. La classification distingue au moins 16 types différents, numérotés de 0 à XV, en fonction de l'enzyme impliquée. Les formes musculaires sont particulièrement invalidantes, entrainant une intolérance à l'effort, des crampes et une faiblesse musculaire progressive avec parfois une atteinte cardiaque. Leur prévalence est très faible, mais leur impact sur la qualité de vie des patients est conséquent et leur prise en charge est limitée. Elles ont longtemps été considérées comme incurables mais bénéficient désormais des progrès des nouvelles technologies : diagnostic moléculaire, thérapies géniques et enzymatiques, modèles animaux transgéniques et approches expérimentales innovantes. Malgré les avancées en recherche sur les glycogénoses, la prise en charge reste essentiellement symptomatique, les options

thérapeutiques sont limitées et la recherche de nouvelles stratégies se heurte à la rareté des patients ainsi qu'à l'hétérogénéité clinique.

Avec l'arrivée des nouvelles technologies et biotechnologies, la recherche ne cesse de progresser, et il est important de se saisir de sujets tels que les maladies rares et orphelines, encore trop délaissées pour des maladies générant des médicaments blockbusters. La recherche en particulier sur les glycogénoses, permettrait d'améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques, d'optimiser le diagnostic, de développer des thérapies innovantes et de renforcer l'accompagnement des patients. Mieux comprendre les glycogénoses c'est aussi étudier de près ou de loin, d'autres pathologies métaboliques comme le diabète ou les maladies hépatiques ou musculaires.

L'étude de ces maladies requiert des modèles expérimentaux fiables. Les modèles murins transgéniques ont permis des avancées considérables, notamment pour la maladie de Pompe et la maladie de McArdle. Cependant, ces modèles présentent des limites : différences métaboliques avec l'humain, phénotypes atténués, coût élevé et difficultés à reproduire la physiopathologie musculaire à long terme. Les modèles cellulaires, quant à eux, permettent d'étudier des mécanismes moléculaires précis mais ne reflètent pas la complexité de l'organisme entier.

Dans ce contexte, il est nécessaire d'explorer de nouveaux modèles animaux. Capable de voler par un effort bref et intense, le poulet mobilise ses réserves de glycogène avec une efficacité singulière : une particularité qui pourrait bien en faire un allié inattendu dans l'étude des glycogénoses musculaires humaines. Le poulet, *Gallus gallus*, présente plusieurs caractéristiques qui en font un candidat intéressant. D'abord, les oiseaux maintiennent une glycémie basale environ deux fois plus élevée que les mammifères de taille équivalente, sans développer les complications oxydatives associées à l'hyperglycémie chronique. Ensuite, la régulation glucidique chez l'oiseau repose moins sur l'insuline et davantage sur le glucagon et l'adrénaline, traduisant une adaptation endocrinienne originale. Sur le plan musculaire, le poulet est particulièrement pertinent. Son muscle pectoral, ou *Pectoralis major*, qui représente une grande partie de sa masse corporelle, d'autant plus chez les poulets de chair, est composé majoritairement de fibres glycolytiques rapides. Il dépend fortement du glycogène pour les efforts courts et intenses, ce qui en fait un tissu modèle pour l'étude des régulations énergétiques intramusculaires. De plus, d'autres muscles aviaires présentent des profils métaboliques différents, offrant une variabilité comparable à celle observée dans les

atteintes musculaires humaines. Le poulet présente également des avantages pratiques : son génome est entièrement séquencé et des outils modernes (CRISPR-Cas9, transcriptomique, protéomique) sont disponibles pour moduler ou analyser l'expression génique. Sa taille corporelle permet de disposer de tissus en quantité suffisante pour des analyses biochimiques et histologiques. De plus, il s'agit d'un modèle économiquement accessible, déjà utilisé dans la recherche, tant en biologie médicale qu'en production animale. Ces éléments suggèrent que le poulet pourrait constituer un modèle pertinent pour l'étude des glycogénoses musculaires humaines. La conservation des enzymes du métabolisme du glycogène, la forte sollicitation glycogénique des muscles aviaires et la faisabilité expérimentale renforcent cet intérêt. Néanmoins, certaines limites doivent être soulignées : l'absence du transporteur GLUT4 réduit la pertinence du poulet pour les formes de glycogénoses où la captation du glucose est insulino-dépendante.

Les principaux objectifs de cette thèse sont les suivants :

1) Présenter les bases biochimiques physiologiques chez l'humain ainsi que les mécanismes physiopathologiques des glycogénoses musculaires humaines et les traitements actuels
2) Caractériser le métabolisme glycogénique du poulet et le comparer à celui de l'humain
3) Appliquer ce modèle expérimental en étudiant les acteurs du métabolisme glycogénique chez le poulet de chair pour analyser la pertinence de cet animal dans l'étude des glycogénoses, tant sur le plan des mécanismes que sur l'aspect thérapeutique et développer un modèle *in vitro*
4) Explorer les perspectives de recherche

Cette thèse s'articule autour de trois parties. La première partie décrira le métabolisme du glycogène physiologique et pathologique dans les glycogénoses musculaires ainsi que les spécificités des GSD mais également les connaissances des professionnels de santé sur ces pathologies et l'enjeu économique des médicaments traitant les maladies rares. La deuxième partie sera axée sur le poulet comme modèle animal, le comparant avec les autres modèles dans le cadre des glycogénoses et étudiant cet animal vis-à-vis des différentes études l'ayant utilisé comme modèle. Enfin, la troisième partie est organisée autour d'une approche expérimentale sur le poulet et le métabolisme du glycogène, apportant des connaissances et hypothèses sur les leviers à utiliser pour l'étude des glycogénoses.

Partie I : Les glycogénoses musculaires humaines – bases biochimiques et physiopathologie

L'hypothèse de cette thèse ne peut être traitée qu'à la lumière d'une connaissance approfondie des mécanismes régissant le métabolisme du glycogène et des altérations responsables des glycogénoses musculaires. La première partie de ce manuscrit sera donc dédiée à leur présentation détaillée.

I. Le métabolisme du glycogène

1. Le glycogène

1.1 Découverte du glycogène

Claude Bernard, considéré comme le fondateur de la physiologie et de la médecine expérimentale, a fait grandir un intérêt pour le métabolisme du glucose après avoir constaté que la digestion gastrique du sucre de canne et de l'amidon aboutissait à la formation de glucose prêt à être absorbé. Il réalise alors de nombreuses expériences pour déterminer les organes jouant un rôle dans le métabolisme du glucose. Ces expériences ont été permises grâce aux travaux de Barreswill ayant mis au point une méthode de dosage du glucose. Il observe que, malgré une alimentation dépourvue de sucres, le sang des animaux en contient, de même que la présence de sucre dans les urines chez un patient diabétique, y compris après l'éviction de tout aliment féculent ou sucré. Il cherche alors à localiser une source interne de glucose, et après quelques hypothèses, constate que le sang sortant du foie est plus riche en glucose que celui qui y entre. En 1855, Claude Bernard entreprend une expérience décisive qui confirme ses hypothèses : l'expérience du foie lavé. Il observe, par sérendipité, grâce à un foie oublié sur la paillasse, que celui-ci contient davantage de sucre que la veille. Il en déduit que le foie fabrique du glucose. Pour le prouver, il lave un foie pour évacuer totalement le sucre contenu dedans puis, 24 heures plus tard, avec une conservation dans une étuve à 37°C, il constate une abondance de sucre dans les veines hépatiques. Deux ans plus tard il parvient à isoler la substance d'où provient le glucose : le glycogène (Schlienger, 2020).

1.2 Définition et structure

Le glycogène est un polymère ramifié de molécules de glucose utilisé par les organismes (humains, animaux, bactéries) et jouant un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie du glucose, en servant de réserve énergétique (Neoh et al., 2024). Les plantes synthétisent, quant à elles, des polymères de glycose similaires, sous forme d'amidon, composé d'amylopectine, un polysaccharide chimiquement proche du glycogène, et d'amylose, un polymère linéaire de glucose essentiellement non ramifié. Ainsi, la polymérisation du glucose pourrait être un mécanisme universel de stockage d'énergie (Roach et al., 2012).

La molécule de glucose est la forme fondamentale de transport d'énergie dans le sang. C'est un aldohexose, sucre simple, le plus répandu dans la nature. Il a pour formule brute $C_6H_{12}0_6$ (*Figure 1*) (*Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine*).

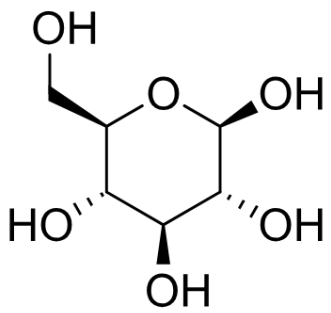


Figure 1 : Molécule de glucose

Le corps maintient habituellement une glycémie entre 0,6 à 0,9g/L. Le maintien de la glycémie nécessite des réactions biochimiques complexes détaillées par la suite. En effet, l'humain consomme de la nourriture de façon intermittente et dépense de l'énergie de façon tout aussi intermittente. De ce fait, après un apport conséquent de glucose, celui-ci doit être stocké sous forme de glycogène pour être réutilisé plus tard.

Une molécule de glycogène (*Figure 2*) peut contenir jusqu'à 55 000 unités de glucose et les particules de glycogène ont une taille entre 10 et 44 nm de diamètre. Les molécules de glucose sont liées par des liaisons glycosidiques α-1,4 et α-1,6 (Adeva-Andany et al., 2016; Roach et al., 2012).

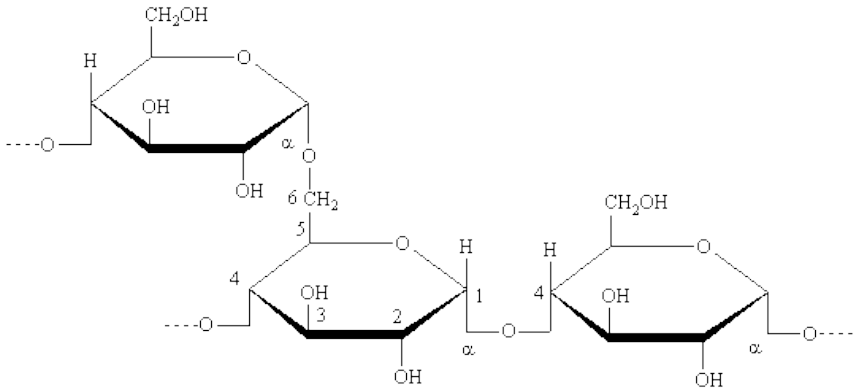


Figure 2 : Molécule de glycogène

Le glycogène est stocké au niveau du foie ainsi que dans les muscles squelettiques. Il est également présent en plus infime quantité dans les autres tissus comme les reins, le cœur ou le cerveau (Adeva-Andany et al., 2016). Le glycogène, stocké dans le foie, sert de réserve pour le glucose lorsque la glycémie tombe en-dessous de la normale, des signaux sont alors adressés au foie, par le biais de réponses hormonales pour effectuer la dégradation du glycogène en glucose. A contrario, le glycogène musculaire est utilisé localement lors d'exercices nécessitant des sources d'énergie immédiates.

2. La voie du métabolisme du glycogène

Les réserves en glycogène sont la résultante d'un équilibre entre la synthèse de glycogène produite par l'activation de la glycogène synthase (GYS) et sa dégradation induite par la glycogène-phosphorylase (PYG). Les signaux déclenchant la libération ou la mobilisation du glycogène sont l'adrénaline et l'insuline.

2.1 Mécanismes de la glycogénogenèse

La glycogénogénèse (*Figure 3*) correspond à la synthèse des polymères de glycogène. Elle peut s'effectuer dans le foie et dans les muscles lorsque la glycémie est élevée ou grâce à une stimulation insulinique. Elle se déroule dans le cytosol des cellules, précisément des fibres musculaires dans le cas de la glycogénogenèse musculaire. La voie lysosomale est secondaire, seulement une fraction minoritaire de glycogène est transportée vers les lysosomes. Dans ce compartiment, il est hydrolysé par l'alpha-1,4-glucosidase acide (GAA) aussi appelée maltase acide. Cette voie ne contribue que faiblement à la production énergétique en conditions normales, mais elle existe dans tous les tissus. Dans le foie, la

glycogénogénèse permet de mettre en réserve une partie du glucose excédentaire à l'issue d'une alimentation riche en glucides et en protéines tandis que dans les muscles, elle permet la régénération du stock glycogénique dont une fraction a été consommée par une activité physique (Daghlas et Mohiuddin, 2025).

La synthèse du glycogène est induite par la présence de glucose. Ces molécules sont phosphorylées, par une hexokinase, en glucose-6-phosphate (G6P) qui est alors stocké, assurant la permanence de ce métabolite à l'intérieur de la cellule. L'isoenzyme exprimée dans le muscule squelettique est l'hexokinase II (Adeva-Andany et al., 2016). Grâce à la **phosphoglucomutase 1** (PGM1), le G6P est converti en glucose-1-phosphate (G1P) (Altassan et al., 2021). Le G1P est transformé en uridine diphosphate-glucose (UDP-glucose) grâce à la glucose-1-phosphate uridyltransférase, nécessitant un UTP. La **glycogénine** est une protéine d'amorçage, une tyrosine glycosyltransférase qui catalyse le transfert des résidus de glucose de l'UDP-glucose vers elle-même, formant des liaisons α-1,6-glycosidiques générant un polymère de glucose linéaire (Smythe et Cohen, 1991). Cette chaine oligosaccharidique sert de base à la synthèse du glycogène. Deux formes de glycogénine existent chez l'humain : GYG1, contenue dans de nombreux tissus dont le muscle ; et GYG2, prédominante dans le foie (Adeva-Andany et al., 2016). Le glucose est ensuite associé à la suite du glycogène par la glycogène synthase et l'UDP est relargué. La **glycogène synthase** (GYS) est une glycosyltransférase (Azpiazu et al., 2000; Skurat et al., 2006) qui ajoute les résidus de glucose α-1,4 à la chaîne de glycogène. Cette réaction est régulée par des effecteurs allostériques tels que le glucose-6-phosphate (Ferrer et al., 2003). La glycogène synthase est inhibée par phosphorylation, conduite entre autres par la glycogène synthase kinase 3 (GSK3) (Welsh et al., 1996) ou la protéine kinase adénosine monophosphate-dépendante (AMPK). A contrario, la GYS est activée par déphosphorylation. D'autre part, la glycogène phosphorylase est inactivée (Katz, 2023). Dans la synthèse du glycogène, la glycogène synthase est l'enzyme primaire régulée par les enzymes protéine phophastase-1 (PP1), protéine kinase B (PKB) et protéine kinase A (PKA). Enfin, l'**enzyme branchante** (GBE) introduit des liaisons α-1,6 faisant du glycogène un polymère à ramifications multiples. (Adeva-Andany et al., 2016).

La quantité de glycogène stocké varie selon le type de fibre :

- Fibres oxydatives lentes (type I) : pauvres en glycogène, mais capables d'utiliser efficacement les lipides et l'oxygène pour l'endurance
- Fibres glycolytiques rapides (type II) : riches en glycogène, adaptées aux efforts courts et intenses (anaérobie)

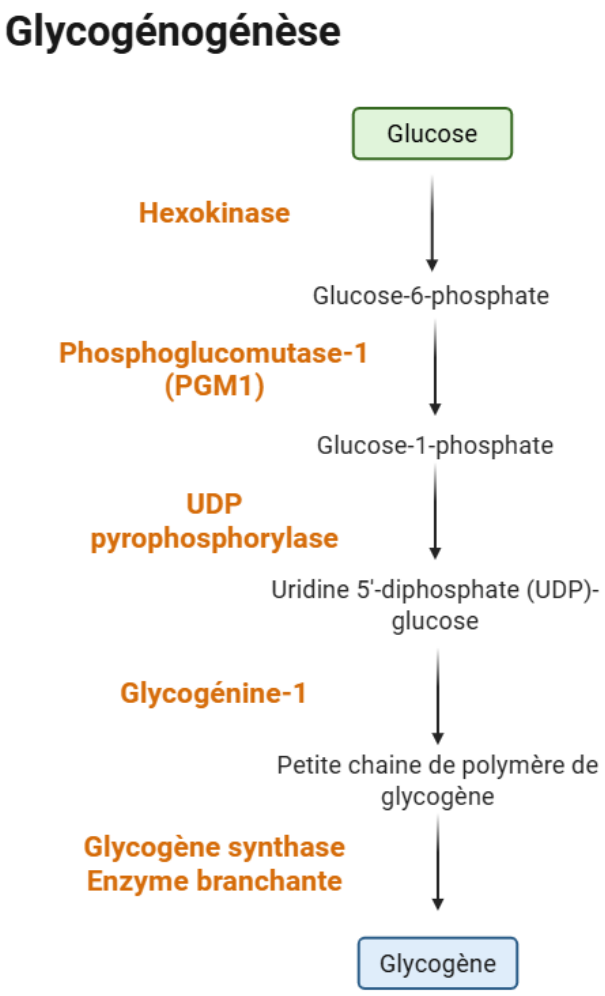


Figure 3 : Schéma de la glycogénogénèse

2.2 Mécanismes de la glycogénolyse dans les muscles squelettiques

La glycogénolyse (*Figure 4*) est le mécanisme permettant la dégradation du glycogène lors d'un effort ou en réponse à l'adrénaline. Cette dernière se fixe sur les récepteurs β-adrénergiques membranaires des fibres musculaires, puis active la protéine G stimulatrice (Gs) qui elle-même active l'adénylate cyclase. L'adénylate cyclase convertit l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMPc) intracellulaire activant la protéine kinase A (PKA). Cette dernière enzyme phosphoryle la glycogène phosphorylase kinase (PHK) qui

devient activée et active par phosphorylation la **glycogène phosphorylase musculaire** (PYGM). En parallèle, la PKA phosphoryle également la glycogène synthase qui sera inactivée (Daghlas et Mohiuddin, 2025). L'**enzyme débranchante** (GDE) possède une double activité. En tant que transférase, elle transfère trois résidus de la branche sur la chaine principale. En tant que amylo-α-1,6 glucosidase, elle hydrolyse la liaison α-1,6-glycosidique du point de ramification, libérant ainsi du glucose et permettant l'accès de la glycogène phosphorylase aux liaisons α-1,4 (Chen et al., 1987). La glycogène phosphorylase incorpore un phosphate inorganique sur le glycogène venant se fixer à la place de la liaison α-1,4, coupant cette liaison et donnant un glucose-1-phosphate (Adeva-Andany et al., 2016). Cette PYG existe sous deux états, l'un étant la glycogène phosphorylase A qui est active, l'autre étant la B qui est la forme déphosphorylée et donc inactive. La molécule de glycogène se retrouve donc avec n-1 glucose. Ensuite, la **phosphoglucomutase** phosphoryle le glucose 1-phosphate en glucose 6-phosphate. Cette réaction produit de l'ATP dans les muscles.

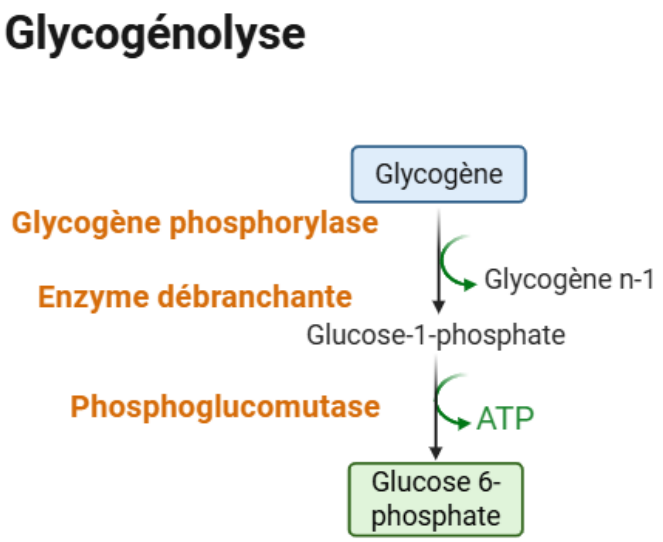


Figure 4 : Schéma simplifié de la glycogénolyse

2.3 Régulation du métabolisme du glycogène musculaire

2.3.1 Régulation hormonale

Le métabolisme du glycogène musculaire est régulé principalement par deux hormones peptidiques, l'insuline et l'adrénaline, favorisant respectivement l'anabolisme et le catabolisme du glycogène. L'insuline va, de ce fait, en présence d'une forte glycémie, provoquer la synthèse de glycogène, stocké dans les muscles. Elle va induire simultanément la synthèse du glycogène, par activation de la glycogène synthase (grâce à l'inhibition de la GSK3), et l'inhibition de sa dégradation en réduisant l'activité de la glycogène phosphorylase. Elle stimule la translocation de GLUT4, un transporteur du glucose insulino-dépendant, vers la membrane cellulaire. L'insuline est également associée à l'activation par déphosphorylation de la protéine phosphatase 1 (PP1) et de la protéine kinase B (PKB). L'adrénaline est quant à elle, sécrétée par la médullosurrénale. Lors d'un effort, dans le muscle, son rôle principal est de mobiliser rapidement le glycogène pour fournir du glucose-6-phosphate et alimenter la glycolyse anaérobie. L'adrénaline stimule la glycogénolyse musculaire par l'activation de la voie AMPc/PKA entrainant l'activation de la glycogène phosphorylase et l'inhibition de la glycogène synthase. Le glycogène musculaire fournit du glucose-6-phosphate pour la glycolyse et la production d'ATP. Dans le muscle squelettique, il n'y a pas de glucose-6-phosphatase (Daghlas et Mohiuddin, 2025).

2.4 Transport du glucose chez les mammifères dans les muscles squelettiques

Le transport du glucose est d'une grande importance pour les muscles squelettiques car ils consomment une grande partie du glucose circulant, notamment après un repas ou pendant l'exercice. Ce transport dépend de protéines spécialisées : les transporteurs du glucose (GLUT). Il existe à ce jour, 14 membres de la famille GLUT/SLC2 chez l'homme. Le transporteur **GLUT1** est présent de façon constitutive dans la membrane des fibres musculaires, il assure la captation basale du glucose, indépendamment de l'insuline et permet de couvrir les besoins minimaux au repos (Braun et Sweazea, 2008; Thorens, 2004). Le transporteur **GLUT2** a une faible affinité pour le glucose et est exprimé principalement dans les membranes basolatérales des intestins et des reins (Braun et Sweazea, 2008; Thorens, 2004). Le transporteur **GLUT3** est moins important dans le muscle chez l'humain. Son affinité au glucose est élevée mais il joue un rôle limité. Les profils d'expressions de cette protéine diffèrent entre l'humain et le rongeur ce qui suggère une expression divergente entre les espèces (Braun et Sweazea, 2008; Thorens, 2004). Le transporteur **GLUT4** est le transporteur majoritaire du

muscle chez l'humain, localisé dans les vésicules intracellulaires au repos. Lorsqu'il est stimulé, il transloque vers la membrane plasmique, augmentant massivement l'entrée de glucose. Il est stimulé par insuline (voie PI3K-Akt) et par les exercices (AMPK et Ca2+) (Braun et Sweazea, 2008; Uldry et Thorens, 2004). Enfin, le transporteur **GLUT8** est principalement présent dans les vésicules intracellulaires et est entre autres au niveau du cerveau, du foie, des poumons et du tissu adipeux brun (Thorens, 2004).

3. La protéine phosphatase-1, une enzyme essentielle

Parmi les acteurs du métabolisme du glycogène, une enzyme s'avère être au centre des régulations. Il s'agit de la protéine phosphatase-1. Il est de ce fait pertinent d'examiner plus en détail cette enzyme.

3.1 Protéine phosphatase-1 (PP1)

La **protéine phosphatase-1 (PP1)** participe à la régulation du métabolisme du glycogène en activant la glycogène synthase et inactivant la glycogène phosphorylase (Fong et al., 2000). La protéine phosphatase-1 (PP1) est une enzyme sérine/thréonine phosphatase ubiquitaire, appartenant à la famille des phosphoprotéines phosphatases. PP1 est constituée d'une sous-unité catalytique hautement conservée de 37kDa, exprimée dans pratiquement tous les tissus. PP1 est régulée par l'insuline qui la stimule via des cascades de signalisation et par l'adrénaline qui active la voie AMPc/PKA phosphorylant les inhibiteurs de PP1. Elle peut également être régulée par le glycogène lui-même via des protéines ancrées. Son activité et sa spécificité sont modulées par l'association avec de multiples sous-unités régulatrices décrites par la suite. Elles dirigent toutes PP1 vers des substrats précis et déterminent sa localisation intracellulaire (Newgard et al., 2000).

3.2 Sous-unités régulatrices

3.2.1 PPP1R3A ou GM

Le gène **PPP1R3A**, code une sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase-1 impliquée dans la balance entre synthèse et dégradation du glycogène. La protéine PPP1R3A, régulatrice de la protéine phosphatase-1, est un hétérodimère composé d'une sous-unité catalytique de 37kD et d'une sous-unité de ciblage et de régulation de 124kD. Elle se lie au glycogène musculaire avec une haute affinité, puis ancre PP1 au substrat, activant ainsi la GYS et inhibant

la PYG, par déphosphorylation, résultant, *in fine*, en une augmentation du stockage du glucose sous forme de glycogène (Hansen et al., 1995). Chez l'homme et la souris, cette protéine régulatrice joue un rôle majeur dans des pathologies associées à des déficits de glycogène au niveau du muscle ou des glycogénoses (Savage et al., 2008). PPP1R3A se situe principalement dans le muscle squelettique et le cœur.

Chez l'homme et la souris la sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase-1 est plutôt bien caractérisée. Chez les souris *knock-out*, c'est-à-dire dépourvues du gène codant la protéine PPP1R3A, est observée une réduction du glycogène musculaire (Aschenbach et al., 2001) et une tolérance au glucose altérée. Concernant la régulation, les deux espèces sont similaires, avec une induction par l'insuline et le jeûne prolongé.

3.2.2 PPP1R3B ou GL

La sous-unité PPP1R3B est présente principalement dans le foie mais également présente dans les muscles squelettiques. Elle cible PP1 vers le glycogène dans cet organe, favorisant la synthèse de glycogène via l'activation de GYS et l'inactivation de la glycogène phosphorylase hépatique. PPP1R3B est induite par l'insuline et diminuée en conditions de jeûne ou lors de stimulation par le glucagon (Niazi et al., 2019).

2.3.1 PPP1R3C ou PTG (protein targeting to glycogen)

PPP1R3C est présente dans divers tissus tels que le cerveau, le foie ou les muscles. La protéine de ciblage du glycogène se lie à la PP1 et au glycogène, ciblant la phosphatase vers la particule de glycogène. La PTG se lie également à trois autres enzymes régulées par la PP1 et l'insuline : la glycogène synthase, la glycogène phosphorylase et la glycogène phosphorylase kinase (Fong et al., 2000). Une étude a évalué la perturbation de la liaison de la PP1 ou du substrat à la PTG entrainant une annulation de la capacité de PPP1R3C à augmenter la synthèse du glycogène. Ainsi, la PTG agit comme un pont moléculaire, assemblant la PP1 avec ses substrats au niveau de la particule de glycogène et les préparant pour leur activation par l'insuline. La surexpression de la PTG entraine une augmentation de l'accumulation de glycogène dans les lignées cellulaires et les tissus indiquant un rôle important de cette protéine dans la régulation du métabolisme du glycogène. De plus, la PPP1R3C stimule fortement la synthèse de glycogène, et ce, même à faibles doses mais n'a pas d'effet sur la dégradation du glycogène (Montori-Grau et al., 2011).

3.2.3 PPP1R3D ou R6

La sous-unité PPP1R3D est présente au niveau du cerveau, du foie, des muscles, des reins et des testicules mais elle est moins bien caractérisée que les autres sous-unités. Elle est étudiée comme possible lien entre le métabolisme énergétique et la régulation neuronale (Israelian et al., 2021).

3.2.4 PPP1R3E

La sous-unité PPP1R3E est exprimée au niveau des muscles squelettiques et du cerveau. Une faible expression a également été retrouvé au niveau du foie. Son rôle est cependant encore peu défini (Munro et al., 2005).

3.2.5 PPP1R3F ou R6-like ou PPP1R6

PPP1R3F est principalement exprimée dans les astrocytes cérébraux et se localise dans le réticulum endoplasmique des cellules. La teneur en glycogène des cellules astrocytaires *knock-out* PPP1R3F semble être plus sensible aux fluctuations des niveaux de glucose extracellulaire que dans les cellules de type sauvage, suggérant que PPP1R3F joue un rôle dans le maintien de niveaux stables de glycogène cérébral dans des conditions de glucose variables (Liu et al., 2023).

3.2.6 PPP1R3G

PPP1R3G est une sous-unité dont l'expression varie au cours du cycle jeûne-alimentation jouant un rôle dans l'homéostasie glucidique postprandiale. La surexpression de PPP1R3G chez les souris augmente l'accumulation hépatique de glycogène, stimule l'activité de la glycogène synthase, élève la glycémie à jeun et accélère la clairance glycémique postprandiale (Zhang et al., 2014).

3.3 Les pathologies associées à PP1 et à ses sous-unités

Plusieurs pathologies sont associées à PP1 et à ses sous-unités comme le diabète de type 2 (PPP1R3B et C) (Newgard et al., 2000) ou l'obésité dans laquelle une régulation anormale de PP1 a été observée. Les mutations rares de **PPP1R3A** sont associées à des cardiomyopathies dilatées, des myopathies métaboliques, des troubles du stockage du glycogène musculaire (Groop et Orho-Melander, 2008) et à la fibrillation atriale (Alsina et al., 2019). **PPP1R3B** est quant à elle associée à des troubles métaboliques hépatiques, des dyslipidémies mais

également à une résistance à l'insuline et des stéatose hépatiques (Niazi et al., 2019). **PPP1R3F** pourrait intervenir dans des neurodégénérescences ou des maladies métaboliques. L'étude de ces sous-unités, et notamment celle de PPP1R3A, est donc fondamentale pour comprendre leur influence sur les glycogénoses musculaires.

II. Les glycogénoses

1. Définition

Les maladies liées au stockage du glycogène (GSD), connues également sous le nom de glycogénoses, sont des maladies rares d'origine génétique qui se traduisent par une accumulation ou une utilisation anormale du glycogène. Cette anomalie est causée par des déficits de différentes enzymes ou transporteurs impliqués dans la synthèse ou la dégradation du glycogène conduisant à des concentrations anormales de glycogène tissulaire ou à des structures anormales de glycogène. Les GSDs affectent particulièrement le foie et les muscles du fait de la présence plus abondante du glycogène dans ces tissus mais de nombreux organes peuvent également être touchés comme le cœur, les reins ou le cerveau, selon l'enzyme impliquée. Il existe près de vingt types et sous-types de glycogénoses ayant comme point commun l'incapacité de produire suffisamment de glucose ou de l'utiliser en quantité suffisante comme source d'énergie. Ces glycogénoses se manifestent très différemment d'une forme à l'autre mais entrainent fréquemment une intolérance à l'effort, des douleurs musculaires ou des crampes. L'hypoglycémie et l'hépatomégalie sont plus spécifiquement déclarées dans les glycogénoses hépatiques tandis que l'intolérance à l'exercice, les crampes, la faiblesse musculaire ou la rhabdomyolyse sont caractéristiques des glycogénoses musculaires (*Gümüş et Özen, 2023*).

2. Epidémiologie

L'incidence, selon le type de glycogénose, est estimée entre 1/20 000 et 1/100 000. Les GSD sont des maladies pouvant être déclarées à tout âge, de la période néonatale jusqu'à l'âge adulte. Le rapport du 3 décembre 2024 de la Banque nationale de données maladies rares (BNDMR, 2024) recense, pathologie par pathologie, les personnes suivies en centre expert. Selon ce rapport, les glycogénoses les plus fréquentes sont les Maladies de Pompe et de McArdle, rassemblant chacune plus de 300 patients, suivies par les maladies de Cori-Forbes (200 patients) et d'Andersen (environ une trentaine de patients) (*Tableau I*).

Tableau I : Prévalence des différentes glycogénoses, sources (BNDMR, 2024; Orphanet, 2024)

Type de GSD	**Nombre de cas dans la BNDMR**	**Nombre de cas vivants**	**Prévalence**
Type 0a ou GSD par déficit en glycogène synthase hépatique	21	20	< 1 / 1 000 000
Type 0b ou GSD par déficit en glycogène synthase cardiaque et musculaire	< 10	< 10	< 1 / 1 000 000
Type Ia : Maladie de Von Gierke ou GSD par déficit en glucose-6-phosphatase de type Ia	280	273	Inconnue Incidence < 1 / 1 000 000 Le type *Ia* touche environ 80% des patients atteints de la GSD I
Type Ib : Maladie de Von Gierke ou GSD par déficit en glucose-6-phosphatase de type Ib	280	273	Inconnue Incidence < 1 / 1 000 000 Le type b touche environ 20% des patients atteints de la GSD I
Type II : Maladie de Pompe ou GSD par déficit en maltase acide	488	408	Inconnue
Type III : Maladie de Cori-Forbes ou GSD par déficit en enzyme débranchante	218	206	1/100 000
Type IV : Maladie de Andersen ou GSD par déficit en enzyme branchante	40	36	Inconnue
Type V : Maladie de McArdle ou GSD par déficit en glycogène phosphorylase musculaire	377	360	Entre 1 / 100 000 et 1 / 170 000
Type VI : Maladie de Hers ou GSD par déficit en phosphorylase hépatique	42	42	Inconnue Incidence entre 1/65 000 et 1/85 000
Type VII : Maladie de Tarui ou GSD par déficit en phosphofructokinase musculaire	< 10	< 10	< 1 / 1 000 000 Plus de 100 cas rapportés
Type IXa, ou c ou GSD par déficit en phosphorylase kinase hépatique	23	23	Inconnue Incidence < 1 / 1 000 000
Type IXb ou GSD par déficit en phosphorylase kinase hépatique et musculaire	10	10	Inconnue
Type IXd ou IXe ou glycogénose par déficit en phosphorylase kinase musculaire	10	10	< 1 / 1 000 000 Moins de 30 patients rapportés
Type X ou GSD par déficit en phosphoglycérate mutase	< 10	< 10	< 1 / 1 000 000 Moins de 50 cas rapportés
Type XI ou maladie de Fanconi-Bickel ou GSD par déficit en LDAH			< 1 / 1 000 000 Moins de 200 cas rapportés

Type XII ou GSD par déficit en aldolase A musculaire	< 10	< 10	Inconnue
Type XIII ou GSD par déficit en bêta-énolase musculaire			< 1 / 1 000 000
Type XIV ou PGM1-CDG			< 1 / 1 000 000
Type XV ou GSD avec cardiomyopathie sévère par déficit en glycogénine	< 10	< 10	< 1 / 1 000 000

3. Classification et étiologie

Ce groupe hétérogène de pathologies rares est classé selon l'enzyme déficitaire et les tissus affectés (Almodóvar-Payá et al., 2020; *Gümüş et Özen, 2023*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023) (*Tableau II*).

Tableau II : Classification des glycogénoses

Type de GSD	**Déficit enzymatique ou de transporteur**	**Gène**	**Tissu primaire atteint**
Type 0a	Glycogène synthase hépatique	GYS2	Foie
Type 0b	**Glycogène synthase musculaire 1**	**GYS1**	**Muscle**
Type Ia : Maladie de Von Gierke	Glucose-6-phosphatase	G6PC	Foie, rein
Type Ib : Maladie de Von Gierke	Transporteur T1 de glucose-6-phosphate (G6PT)	SLC37A4	Foie, rein
Type II : Maladie de Pompe	**α-glucosidase (ou maltase acide)**	**GAA**	**Muscle squelettique, foie**
Type III : Maladie de Cori-Forbes	**Enzyme débranchant ou de déramification : amylo-1,6-glucosidase**	**AGL**	**Foie, muscle squelettique et cardiaque**
Type IV : Maladie de Andersen	**Enzyme branchant ou de ramification : amylo-1,4 → 1,6-transglucosylase**	**GBE1**	**Foie, muscle squelettique**
Type V : Maladie de McArdle	**Glycogène phosphorylase musculaire**	**PYGM**	**Muscle squelettique**
Type VI : Maladie de Hers	Glycogène phosphorylase hépatique	PYGL	Foie
Type VII : Maladie de Tarui	**Phosphofructokinase musculaire**	**PFKM**	**Muscle squelettique**
Type IXa ou c	Phosphorylase kinase hépatique	PHKA2 (liée à l'X), PHKG2	Foie

Type IXb	Phosphorylase kinase hépatique et musculaire	PHKB	Foie et muscle
Type IXd ou IXe	**Phosphorylase kinase musculaire**	**PHKA1 (lié à l'X) ou PHKG1**	**Muscle**
Type X	**Phosphoglycerate mutase musculaire**	**PGAM2**	**Muscle squelettique**
Type XI ou maladie de Fanconi-Bickel	**Lactate déshydrogénase A**	**SLC2A2**	**Muscle, rein**
Type XII	**Aldolase A**	**ALDOA**	**Muscle squelettique**
Type XIII	**β-énolase**	**ENO3**	**Muscle squelettique**
Type XIV ou PGM1-CDG	**Phosphoglucomutase 1**	**PGM1**	**Foie, muscle, cœur**
Type XV	**Glycogenine-1**	**GYG1**	**Muscle**
Cardiomyopathie avec stockage de glycogène	Phosphorylase kinase gamma-2	PRKAG2	Cœur
GSD par déficit en phosphoglycérate kinase 1	**Phosphoglycérate kinase**	**PGK1 (lié à l'X)**	**Muscle**

En bleu, les glycogénoses musculaires

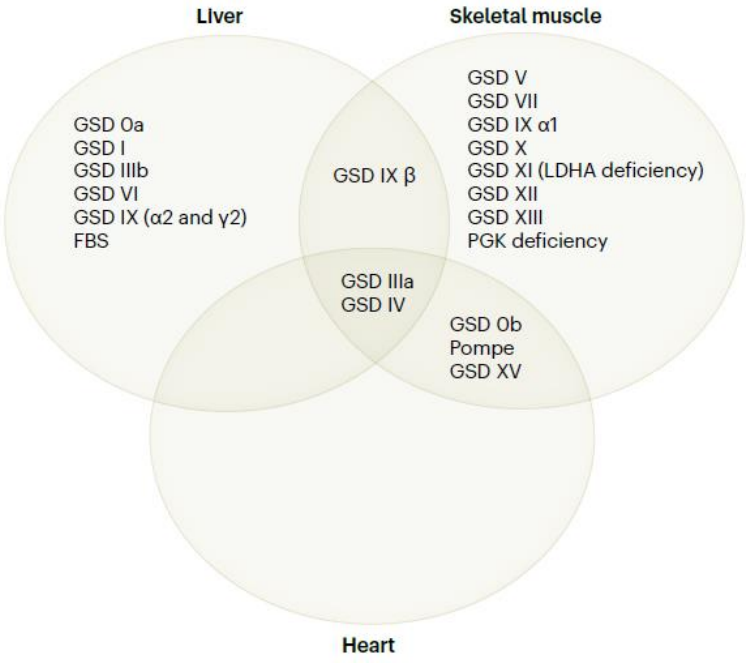


Figure 5 : Schéma regroupant les organes principaux affectés dans les GSDs.
LDHA : lactate déshydrogénase A. PGK : phosphoglycérate kinase. Source Hannah et al., 2023

Le muscle squelettique est, par conséquent l'organe le plus touché par les glycogénoses (*Figure 5*).

4. Physiopathologie des glycogénoses musculaires

Cette partie décrira uniquement les glycogénoses musculaires, un sous-ensemble des glycogénoses, qui atteignent le muscle squelettique. Celles-ci seront les maladies d'intérêt pour ce travail, les étudiant afin de définir si le poulet peut être utilisé comme modèle animal pour les comprendre.

Le métabolisme du glycogène repose sur un équilibre dynamique entre la glycogénogenèse et la glycogénolyse, processus indispensables au maintien de l'homéostasie glucidique et énergétique dans l'organisme. Lorsqu'un déficit enzymatique congénital affecte l'une des étapes de ces voies métaboliques (*Figure 6*), il en résulte un ensemble de maladies de surcharge en glycogène. Les glycogénoses musculaires représentent un sous-groupe des maladies de surcharge en glycogène dans lesquelles l'atteinte principale concerne le muscle squelettique. Elles partagent un ensemble de caractéristiques physiopathologiques qui traduisent une atteinte commune du métabolisme énergétique musculaire. Leur mécanisme repose sur une anomalie enzymatique héréditaire entrainant soit une incapacité à mobiliser les réserves de glycogène, soit une accumulation anormale de ce polymère, résultant d'une altération profonde du métabolisme énergétique au cours de l'effort. Le glycogène constitue en effet la source majeure de glucose mobilisable rapidement au sein du muscle lors d'une activité anaérobie intense. Toute défaillance dans sa mobilisation se traduit par une incapacité du muscle à produire de l'ATP à un rythme compatible avec la demande énergétique, ce qui explique la physiopathologie des glycogénoses. Sur le plan clinique, ces maladies se traduisent typiquement par une intolérance à l'effort, des douleurs musculaires à l'exercice, une fatigue rapide, et dans certains cas, des épisodes de rhabdomyolyse. Etant d'origine génétique, ces maladies présentent un mode de transmission le plus souvent autosomique récessif, impliquant des mutations spécifiques dans les gènes codant les enzymes du métabolisme du glycogène. Enfin, du fait de la spécificité tissulaire de ces déficits, ces pathologies n'affectent pas la glycémie contrairement aux formes hépatiques, mais elles compromettent la fonction musculaire et altèrent le mécanisme énergétique cellulaire. La prise en charge actuelle est symptomatique pour la plupart des glycogénoses musculaires, exceptée la maladie de Pompe (GSD de type II) qui est traitée par une enzymothérapie de remplacement (ERT). Il existe de nombreuses disparités entre les glycogénoses musculaires, notamment sur les connaissances de celles-ci. Certaines sont bien décrites dans la littérature, comme la maladie de Pompe et d'autres sont presque inconnues comme la glycogénose de

type XII, et ne possèdent pas de modèles animaux pour les étudier. Cette partie décrira l'ensemble des glycogénoses musculaires afin de faire un état des lieux des connaissances (*evm.health2media.com*; *Gümüş et Özen, 2023*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023).

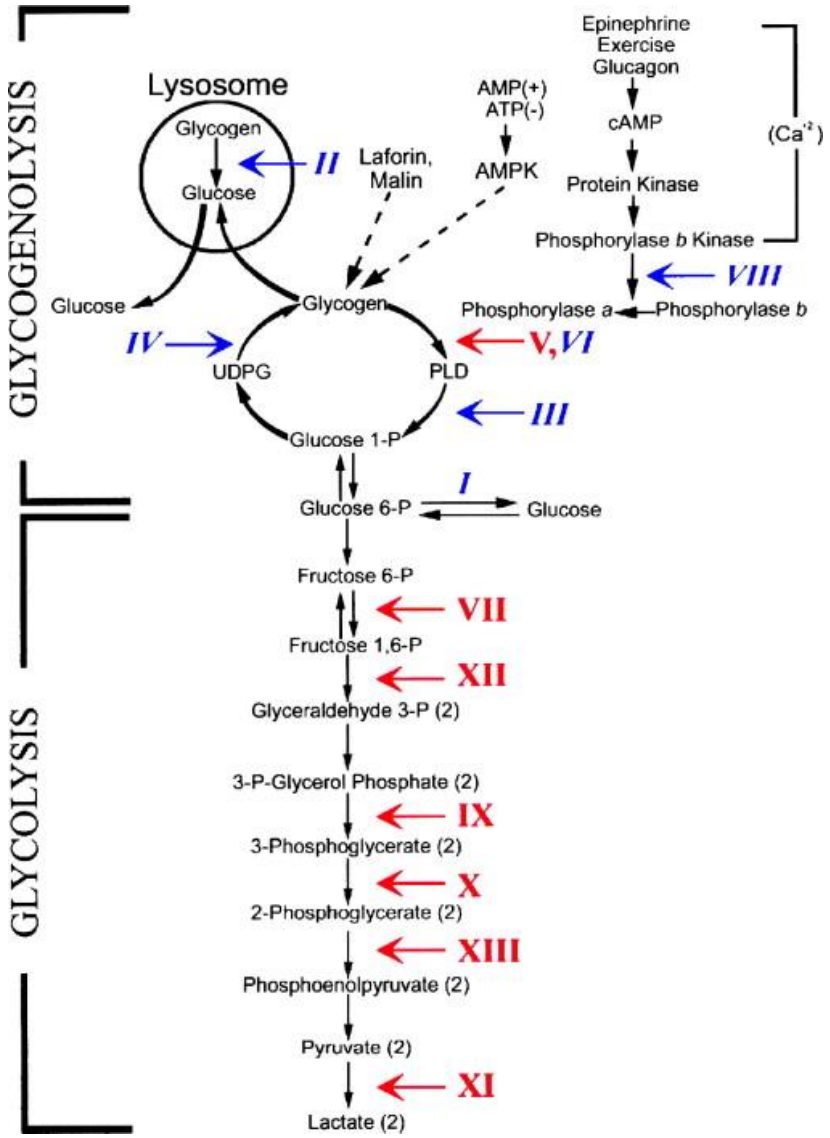


Figure 6 : Schéma du métabolisme du glycogène et de la glycolyse ainsi que les étapes affectées par les GSDs. Les chiffres romains indiquent les glycogénoses musculaires dues à des défauts des enzymes suivantes : I, glucose-6-phosphatase ; II, maltase acide ; III, débranchante ; IV, branchante ; V, myophosphorylase ; VI, phosphorylase hépatique ; VII, phosphofructokinase musculaire ; VIII, phosphorylase b kinase ; IX, phosphoglycérate kinase ; X, phosphoglycérate mutase ; XI, lactate déshydrogénase ; XII, aldolase ; XIII, β-énolase. Les symboles en italique et en bleu indiquent les glycogénoses provoquant une faiblesse permanente ; les symboles standard et en rouge indiquent les glycogénoses provoquant une intolérance à l'exercice, des crampes et une myoglobinurie. Les anomalies de la protéine kinase activée par l'AMP 5' (AMPK) provoquent une cardiomyopathie hypertrophique familiale avec syndrome de Wolff-Parkinson-White (FHC/WPWS). Les anomalies de la laforine ou de la maline provoquent une accumulation de polyglucosane par un mécanisme inconnu. Source Dimauro et al.

4.1 Glycogénose de type 0b

La GSD-0b, ou GSD par déficit en glycogène synthase cardiaque et musculaire, se caractérise par un déficit musculaire et cardiaque en glycogène. La GSD-0b, maladie métabolique extrêmement rare (7 cas reportés dans la littérature), est causée par une mutation bi-allélique du gène GYS1 situé, chez l'humain, sur le chromosome 19q13.3 conduisant à une déficience en **glycogène synthase**. D'un point de vue métabolique, ce déficit empêche l'ajout de résidus de glucose au glycogène (*Figure 7*). Le gène GYS1 est principalement exprimé dans les muscles squelettiques et cardiaques (Llauradó et al., 2025). Les patients atteints présentent une intolérance à l'effort, une arythmie et une cardiomyopathie hypertrophique. A la suite d'un effort physique, les patients peuvent souffrir d'une mort subite, sans antécédents d'intolérance à l'effort ou d'anomalies structurelles cardiaques (Hannah et al., 2023). Le bilan biologique et histologique montre une diminution du taux de glycogène dans les muscles squelettiques et cardiaque, une prédominance de fibres oxydatives dans le muscle squelettique, et une clairance normale à élevée du glucose. La particularité de la GSD0b réside dans les modifications histologiques observées dans le tissu musculaire squelettique. L'insuffisance profonde de glycogène dans les fibres musculaires est démontrée par coloration PAS (*Periodic Acid-Schiff*) (Llauradó et al., 2025).

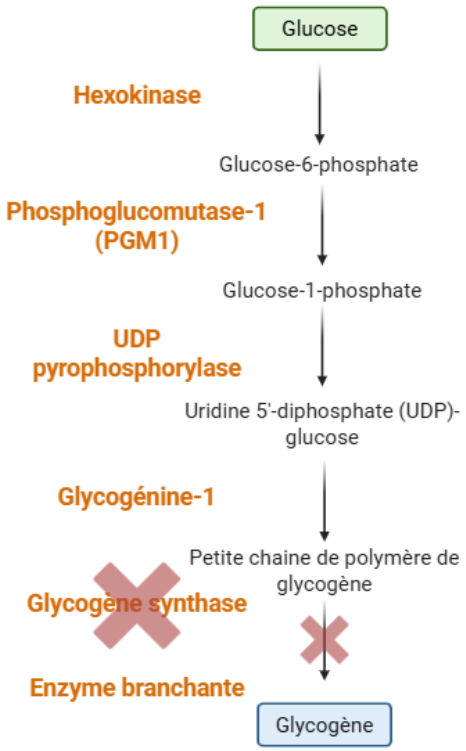


Figure 7 : Conséquences d'un déficit de GYS1 dans la voie du métabolisme du glycogène, dans la GSD0b

4.2 Glycogénose de type II ou maladie de Pompe

La glycogénose de type II appelée encore maladie de Pompe ou GSD par déficit en **alpha-glucosidase acide** est caractérisée par une accumulation intra-lysosomale de glycogène.

La GSD de type II est causée par une mutation du gène GAA codant pour l'enzyme alpha-glucosidase acide qui dégrade le glycogène dans le lysosome. La mutation génétique peut conduire à une absence de l'enzyme, à une enzyme instable ou à une enzyme qui n'atteint pas le lysosome, site fonctionnel de l'enzyme. Une fois dans le lysosome, le glycogène peut sortir sous forme de glucose grâce à la dégradation de l'enzyme GAA. Une déficience de cette enzyme entraine une accumulation du glycogène dans les lysosomes de nombreux tissus et notamment au niveau du cœur et du muscle squelettique. Cette pathologie est à la fois un trouble de stockage du glycogène, un trouble lysosomal et une myopathie autophagique.

La maladie de Pompe affecte des personnes de tout âge avec des niveaux variés de sévérité rendant difficile la classification en sous-types. Cependant, la forme la plus sévère, appelée maladie de Pompe infantile classique, se manifeste avant la première année de vie. Elle se caractérise par une cardiomyopathie hypertrophique à progression rapide, une obstruction du débit ventriculaire gauche, une hypotonie, une faiblesse musculaire généralisée, un retard de croissance, une insuffisance respiratoire et une perte progressive de la ventilation autonome. De plus, le développement moteur est considérablement retardé, rendant l'enfant incapable de se retourner, s'asseoir ou se tenir debout. Sans traitement, seul un faible pourcentage de patients survit au-delà de l'âge d'un an, et la principale cause de décès est une insuffisance cardiaque et respiratoire (Almodóvar-Payá et al., 2020; *evm.health2media.com*; Hannah et al., 2023; Taverna et al., 2020).

Les recherches sur cette pathologie ont permis de mettre en exergue d'autres symptômes tels que la dysarthrie, dysphagie, ostéoporose, scoliose, apnée du sommeil, neuropathie des petites fibres, perte auditive, troubles de la fonction gastrique, atteinte des voies urinaires et du sphincter anal, douleurs et fatigue et un risque d'arythmie cardiaque et d'anévrismes cérébraux et intracrâniens (Kohler et al., 2018). Le bilan biologique des patients atteints de la maladie de Pompe révèle une activité de la créatine kinase élevée. D'autres enzymes sont généralement augmentées comme l'aminotransférase, l'alanine aminotransférase et la lactate déshydrogénase. Le diagnostic repose surtout sur la démonstration du déficit de l'activité de la GAA (*evm.health2media.com*).

Bien que cette pathologie ait été connue cliniquement depuis 75 ans, il n'existe que depuis 2006 un traitement basé sur l'enzymothérapie substitutive (Myozyme®, alglucosidase alfa), dont le service médical rendu est important pour les formes infantiles mais faible pour les formes tardives chez l'adulte (HAS, 2025). Cette enzymothérapie a modifié l'évolution naturelle de la maladie notamment grâce à son effet sur le muscle cardiaque (*Figure 8*). Les patients atteints de la forme infantile vivent significativement plus longtemps mais développent de nouvelles anomalies myopathiques et neurologiques (Meena et al., 2020).

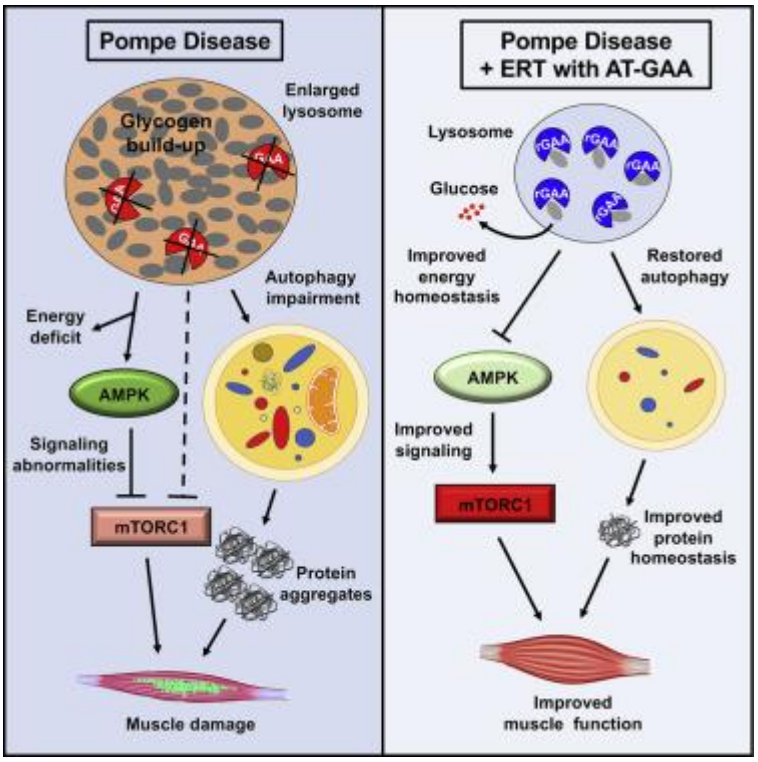


Figure 8 : Mécanisme de la maladie de Pompe comparé au mécanisme avec un traitement ERT (Meena et al., 2020)

Cependant, en 2022, une nouvelle molécule arrive sur le marché, Nexviadyme® (alvaglucosidase alfa) dans le traitement enzymatique substitutif à long terme chez les patients ayant un diagnostic confirmé de la maladie de Pompe (HAS, 2025). L'avalglucosidase alfa est une α-glucosidase acide humaine produite dans des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) par la technologie de l'ADN recombinant, puis conjuguée à environ sept structures hexamannose (*nexviadyme-epar-product-information_en*).

4.3 Glycogénose de type III ou maladie de Cori-Forbes

La maladie de Cori-Forbes est causée par une mutation bi-allélique du gène AGL situé sur le chromosome 1p21. Le gène AGL code **l'enzyme débranchante** du glycogène (GDE) nécessaire à la dégradation du glycogène. La mutation entraine une accumulation intracellulaire de glycogène de structure anormale, avec des chaines périphériques courtes, les dextrines limites, par déficit de l'enzyme débranchante (*Figure 9*). Ce déficit entraine un défaut de libération du glucose à partir du glycogène du foie et du muscle, sans anomalie de la néoglucogénèse. Les principaux tissus affectés dans la maladie de Cori-Forbes sont le foie et les muscles vu qu'ils ont une importante capacité de stockage du glycogène. (Almodóvar-Payá et al., 2020; *Centre de référence des Maladies héréditaires du métabolisme, 2021*). Il existe différents sous-types de cette pathologie mais celle-ci se manifeste généralement dans l'enfance par un retard de croissance staturopondérale, une hépatomégalie et des épisodes d'hypoglycémie de jeûne sans hyperlactatémie. Sur le plan musculaire, cette pathologie est souvent bénigne car ces symptômes disparaissent après la puberté. Cependant, certains patients développent, à l'âge adulte, une faiblesse musculaire lentement progressive voire des myopathies, neuropathies ou cardiomyopathies. L'atteinte musculaire se manifeste par une fonte musculaire et une faiblesse à prédominance distale (mains et pieds). Il s'y associe parfois une faiblesse des muscles respiratoires. Le sous-type IIIa concerne le foie et les muscles tandis que le sous-type IIIb n'affecte que le foie. Le bilan sanguin révèle chez ces patients des hypoglycémies de jeûne court accompagnées d'une cétose et d'une hypolactacidémie, une hypertriglycéridémie, une augmentation des transaminases et des créatines phosphokinases (CPK). Une hépatomégalie hyperéchogène est retrouvée à l'échographie abdominale. L'affectation cardiaque, notamment l'hypertrophie ventriculaire gauche, est observable à l'échographie et sur l'électrocardiogramme (ECG). A la suite des manifestations cliniques et du bilan sanguin, le diagnostic peut être confirmé par la mesure de l'enzyme débranchante, normalement présente dans tous les tissus, via son activité, sur les leucocytes à partir d'un prélèvement sanguin (*Centre de référence des Maladies héréditaires du métabolisme, 2021*). Les traitements pour la maladie de Cori-Forbes sont uniquement symptomatiques et non curatifs. Il s'agit notamment de mesures diététiques comme l'administration d'amidon de maïs cru pour prévenir l'hypoglycémie chez les jeunes enfants, ou des régimes hyperprotidiques, riches en protéines, permettant d'inverser l'évolution de la cardiomyopathie (Sentner et al., 2011).

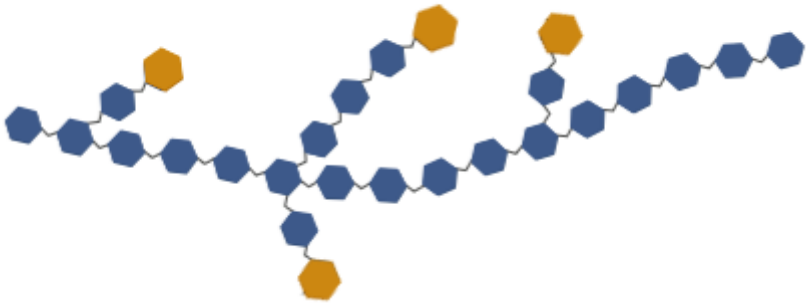


Figure 9 : Glycogène avec des chaines périphériques courtes, les dextrines limites. En orange, les dextrines limites. En bleu, les molécules de glucose.

4.4 Glycogénose de type IV ou Maladie d'Andersen

La GSD de type IV ou GSD par déficit en **enzyme branchante** est une forme rare et sévère de maladie de stockage du glycogène mais elle représente 3% de l'ensemble des glycogénoses. La maladie d'Andersen est due à des mutations du gène GBE1 situé sur le chromosome 3p12 codant pour l'enzyme branchante du glycogène GBE. A cause de ce déficit de ramification, le glycogène n'est pas correctement synthétisé, et des molécules anormales, les polyglucosanes, s'accumulent dans les cellules (*Figure 10*).

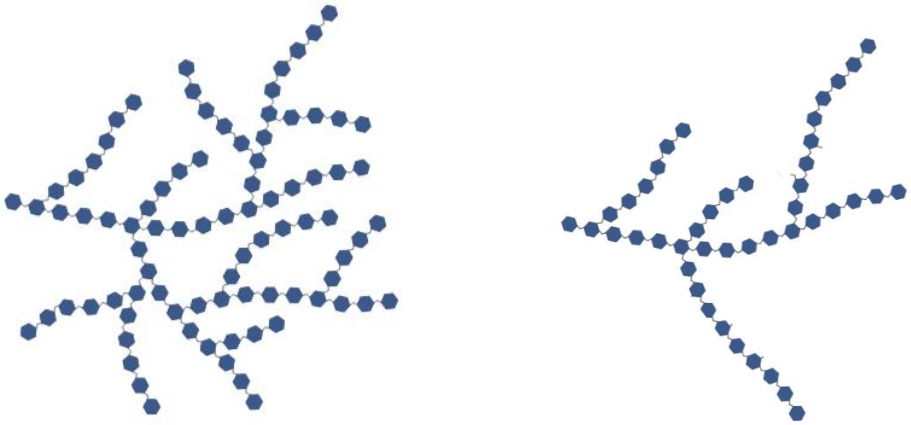


Figure 10 : Comparaison entre une molécule de glycogène normalement ramifiée (à gauche) avec une molécule de glycogène avec polyglucosanes (à droite).

Le tableau clinique est extrêmement hétérogène avec différentes formes : classique, légère, neuromusculaire, hépatique, congénitale. Dans la forme classique, les enfants, normaux à la naissance, développent une hépatomégalie, une hypotonie et un retard de développement apparait. La maladie évolue vers une cirrhose avec hypertension portale et ascite, conduisant

à un décès vers l'âge de 4-5 ans. Une forme hépatique non évolutive a été décrite dans quelques cas. Dans les formes plus légères a été rapporté un début tardif marqué par une faiblesse musculaire ou une cardiomyopathie avec insuffisance cardiaque. Dans la forme neuromusculaire, l'âge d'apparition des symptômes s'étend de la période prénatale à l'âge adulte. La forme la plus sévère débute à la période prénatale, avec une diminution ou une absence de mouvements fœtaux, une arthrogrypose, une hypoplasie pulmonaire et un décès périnatal. Les formes congénitales se manifestent par une hypotonie sévère, une cardiomyopathie, une détresse respiratoire et une atteinte neuronale. Des formes neurologiques adultes avec une atteinte du système nerveux central et périphérique ont également été décrites. Le diagnostic repose sur la mise en évidence des anomalies biochimiques sur une biopsie hépatique, contenant du glycogène de structure anormale, et du déficit enzymatique dans le foie, le muscle, les érythrocytes ou les fibroblastes et dans le trophoblaste ou les cellules amniotiques en culture. Un diagnostic prénatal est possible par dosage enzymatique et analyse moléculaire (Almodóvar-Payá et al., 2020; *evm.health2media.com*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023). Il n'existe pas de traitement spécifique. Une transplantation hépatique peut être proposée dans les formes sévères sans atteinte cardiaque associée.

4.5 Glycogénose de type V ou maladie de McArdle

La maladie de McArdle ou GSD par déficit en **glycogène phosphorylase musculaire** est causée par une mutation du gène PYGM codant pour la glycogène phosphorylase, situé sur le chromosome 11q13. Le déficit de cette enzyme induit une accumulation du glycogène dans les muscles par un déficit en dégradation de celui-ci (*Figure 11*).

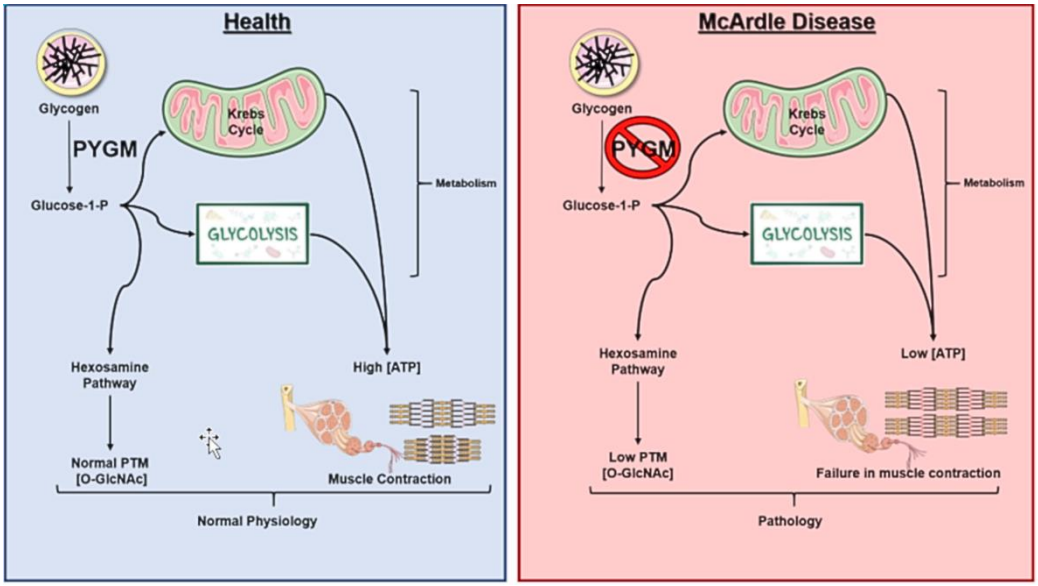


Figure 11 : Schéma de la maladie de McArdle, déficit en glycogène phosphorylase musculaire (PYGM). Les patients présentent un déficit en monomères de glucose-1-phosphate (G1P) nécessaires à la glycolyse et à la voie de biosynthèse de l'hexosamine (HBP). Il en résulte une diminution de l'ATP et, par conséquent, une diminution de la contraction musculaire, ainsi qu'une diminution des modifications post-traductionnelles par O-GlcNAcylation par rapport à des conditions normales. PTM : modification post-traductionnelle ; O-GlcNAc : N-acétylglucosamine liée à l'O. Source : Llavero et al., 2019

Les symptômes généralement retrouvés sont une intolérance musculaire à l'exercice et des épisodes de rhabdomyolyse, se traduisant par des douleurs déclenchées par les efforts, associées à une sensation de perte en puissance musculaire et à un essoufflement, des crampes et de la fatigue. Les patients peuvent cependant reprendre l'effort après quelques minutes grâce à la lipolyse qui prend le relais pour compenser le déficit de la glycogénolyse. C'est le phénomène de « second souffle » qui se traduit par un soulagement de la myalgie et de la fatigue (Gümüş et Özen, 2023).

La maladie de McArdle est souvent diagnostiquée tardivement malgré l'intolérance à l'effort manifestée dès l'enfance ou l'adolescence. Ce diagnostic tardif est notamment dû au manque de connaissances sur cette pathologie. Cependant, celui-ci est porté à l'occasion d'épisodes de rhabdomyolyse, déclenchés par des efforts intenses. La rhabdomyolyse se manifeste notamment par des douleurs musculaires intenses et d'une coloration marron des urines (myoglobinurie). Le diagnostic repose sur le test non ischémique de l'avant-bras révélant un ralentissement de l'augmentation du lactate et une augmentation du taux d'ammoniaque. Le bilan biologique révèle une augmentation de la créatine kinase. L'analyse du gène PYGM confirme le diagnostic.

Il n'existe toujours pas de traitement pour cette maladie. Avant l'effort, il est conseillé d'ingérer un repas riche en sucres, apportant des hydrates de carbone afin de limiter les symptômes musculaires. Des sports sont déconseillés pour éviter les épisodes de rhabdomyolyse, comme les compétitions de haut niveau, la musculation ou encore la marche en montagne. A contrario, les patients doivent tout de même continuer l'activité physique pour éviter le déconditionnement musculaire entrainant une accentuation des symptômes d'intolérance musculaire à l'effort (Lam et al., 2025).

4.6 Glycogénose de type VII ou maladie de Tarui

La maladie de Tarui ou GSD par déficit en **phosphofructokinase musculaire** (PFKM) est caractérisée par une fatigue à l'effort et une intolérance à l'exercice musculaire. La PFKM est un important point de régulation de la vitesse de la glycolyse et intervient dans la première réaction irréversible spécifique de la glycolyse, empêchant ainsi au glucose-6-phosphate de retourner dans le cycle de la glycogénogénèse. Ce déficit en PFKM bloque la glycolyse anaérobie et donc l'utilisation du glucose issu de ce mécanisme. Le glucose-6-phosphate retourne dans le cycle de la glycogénogénèse, entrainant une accumulation du glycogène (*Figure 12*).

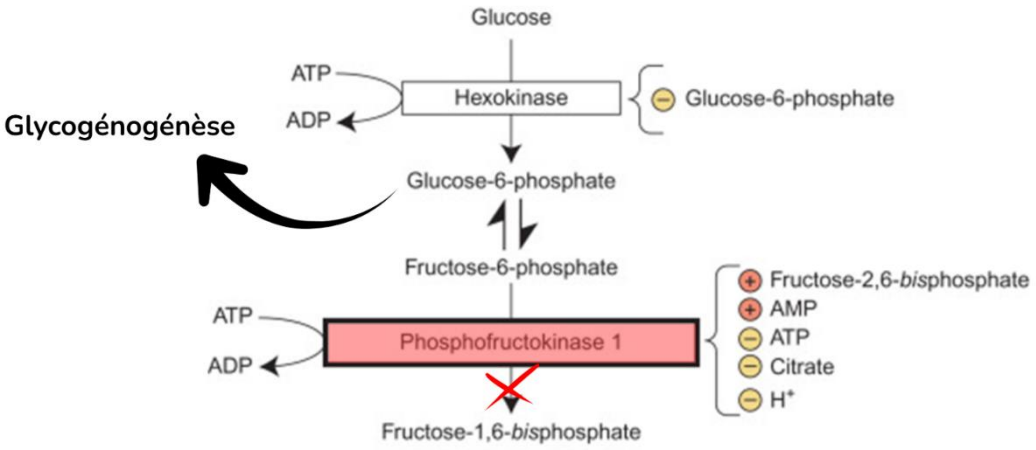


Figure 12 : Glycolyse anaérobie avec déficit en phosphofructokinase 1 musculaire

La GSD de type VII est causée par une mutation bi-allélique du gène PFKM situé sur le chromosome 12q13.11 codant pour l'isoforme musculaire de l'enzyme phosphofructo-1-kinase (PFK-M). La maladie survient généralement pendant l'enfance et l'adolescence. Le

tableau clinique est similaire à la GSD de type V (Intolérance à l'exercice souvent accompagnée d'une rhabdomyolyse, crampes, faiblesse musculaire, fatigue, myoglobinurie) mais dans la maladie de Tarui, les patients reportent des nausées et vomissements associés à l'effort. Le diagnostic est confirmé par l'analyse moléculaire du gène PFKM. Le diagnostic différentiel vise à écarter les autres formes de glycogénoses notamment la GSD de type V (McArdle). Contrairement à la maladie de McArdle, les repas supplémentés en carbohydrates ou l'ingestion de carbohydrates avant l'effort vont exacerber l'intolérance à l'exercice chez les patients atteints de la maladie de Tarui. En effet, le glucose ne peut pas être utilisé par les cellules musculaires car le blocage métabolique se produit en aval de l'absorption du glucose. L'utilisation du glycogène musculaire et celle du glucose sanguin est donc bloquée chez ces patients. Actuellement, aucun traitement n'existe pour la maladie de Tarui. Cependant, un régime cétogène s'est révélé bénéfique chez un patient, avec un soulagement des douleurs musculaires, une augmentation de la tolérance à l'effort et de la capacité de travail et de motricité. D'autre part, il est conseillé d'éviter tout exercice physique intense pour prévenir les épisodes de rhabdomyolyse (Gümüş et Özen, 2023; Hannah et al., 2023).

4.7 Glycogénose de type IXb

La GSD de type IXb ou GSD par déficit en **phosphorylase kinase hépatique et musculaire** débute dans l'enfance. Elle se manifeste par une hépatomégalie marquée et une hypotonie musculaire discrète. Après un jeûne prolongé, une hypoglycémie peut survenir. Les symptômes diminuent avec l'âge. Le type IXb est dû à des mutations du gène PHKB situé sur le chromosome 16q12-q13 codant la sous-unité bêta. Le diagnostic biochimique est effectué par la détermination de l'activité de la PHK dans les érythrocytes ou sur prélèvement de biopsie musculaire ou hépatique. Le bilan biologique peut indiquer une élévation de transaminases sériques. Le diagnostic peut être confirmé par des tests génétiques. La plupart des patients ne nécessite aucun traitement mais dans certains cas, des repas fréquents supplémentés en amidon cru peuvent être nécessaires (Almodóvar-Payá et al., 2020; *evm.health2media.com*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023).

4.8 Glycogénose de type IXd ou IXe

La GSD de type IXd/e ou GSD par déficit en **phosphorylase kinase musculaire** est caractérisée par une intolérance à l'effort. Elle fait suite à une mutation d'une des isoformes des sous-unités alpha et gamma, spécifiques du muscle, codées respectivement par les gènes PHKA1 et PHKG1. La transmission est liée à l'X. Cette pathologie débute entre l'adolescence et l'âge adulte. Elle se manifeste par une intolérance à l'effort, des myalgies, des crampes, une fatigue et parfois des épisodes de myoglobinurie. Une faiblesse musculaire progressive peut être observée. La myopathie peut être asymptomatique. Il existe également une forme néonatale avec hypotonie musculaire généralisée et insuffisance respiratoire. Le diagnostic biochimique peut être effectué par la détermination de l'activité de la PHK sur prélèvement de biopsie musculaire. Les tests génétiques peuvent confirmer le diagnostic. Ce type de GSD est bénin et la plupart des patients ne nécessite aucun traitement (Almodóvar-Payá et al., 2020; *evm.health2media.com*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023).

4.9 Glycogénose de type X

La GSD de type X ou GSD par déficit en **phosphoglycérate mutase** est caractérisée par une susceptibilité à la rhabdomyolyse compliquée par des épisodes de douleurs musculaires et de crampes induits par l'effort ainsi que par une myoglobinurie. La maladie est due à des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène PGAM2 codant pour l'isoenzyme musculaire de la phosphoglycérate mutase PGAM2, enzyme terminale de la glycolyse. Le bilan biologique montre des taux anormaux de créatine kinase persistants après l'effort, des taux anormalement élevés d'aspartate aminotransférase et d'alanine aminotransférase. Le test d'effort de l'avant-bras ischémique produit une augmentation anormalement faible de la concentration en lactate. La biopsie du muscle squelettique révèle des agrégats tubulaires et peut mettre en évidence une accumulation de glycogène. Le séquençage de PGAM2 pour la recherche de mutations permet de confirmer le diagnostic. A ce jour, il n'existe aucun traitement pour restaurer l'activité de PGAM2. La prise en charge est symptomatique. Bien que les exercices intenses soient proscrits, un exercice régulier à faible intensité est recommandé pour réduire l'intensité des symptômes musculaires (Almodóvar-Payá et al., 2020; *evm.health2media.com*; *Orphanet*, 2024; Hannah et al., 2023).

4.10 Glycogénose de type XI

La GSD de type XI est causée par un déficit en **lactate déshydrogénase A**, conséquence d'une mutation sur le gène LDHA situé sur le chromosome 11p15.1. Cette GSD provoque de la fatigue, des myalgies induites par l'exercice ou encore des lésions cutanées (Gümüş et Özen, 2023).

4.11 Glycogénose de type XII

La GSD de type XII ou GSD par déficit en **aldolase A musculaire** est caractérisée par une anémie hémolytique avec ou sans myopathie ou déficience intellectuelle. La myopathie peut être suffisamment grave pour entrainer une rhabdomyolyse. La GSD de type XII est due à une mutation du gène ALDOA situé sur le chromosome 16p11.2 (Gümüş et Özen, 2023) induisant le déficit en aldolase a. Cette enzyme catalyse la réaction réversible du fructose-1,6-diphosphate en glycéraldéhyde dans la glycolyse permettant in fine la production du pyruvate puis du lactate (Papadopoulos et al., 2021). En l'absence d'aldolase a, la glycolyse s'arrête au fructose (*Figure 13*). Il n'existe pas de traitement mais seulement des mesures de soutien comme éviter des activités sportives trop intenses et administrer des antipyrétiques pendant les épisodes de fièvre (Kara et al., 2021).

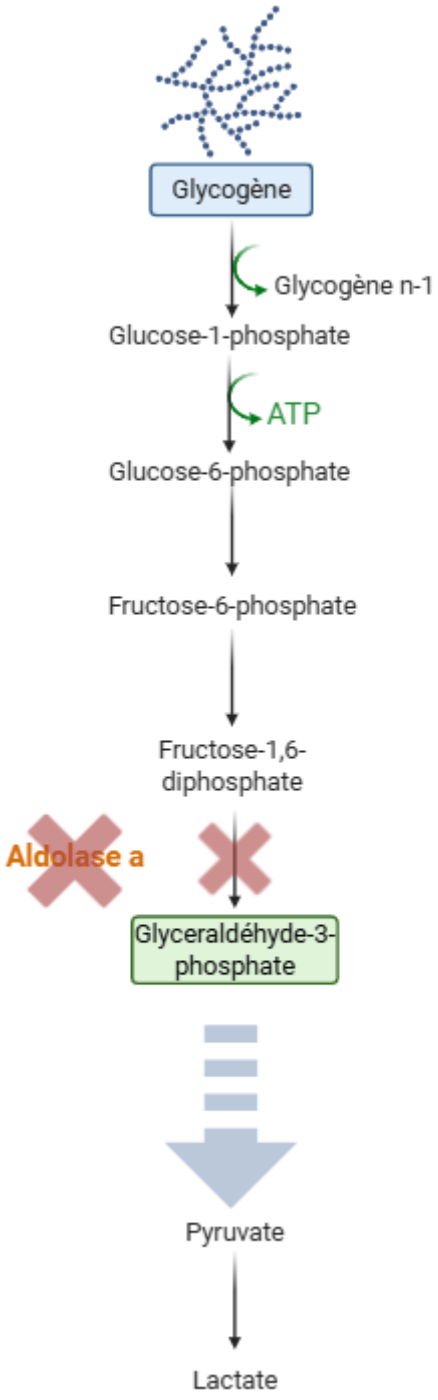


Figure 13 : Schéma simplifié de la glycolyse avec les conséquences du déficit en aldolase a dans la glycogénose de type XII.

4.12 Glycogénose de type XIII

La GSD de type XIII ou GSD par déficit en **bêta-énolase musculaire** est caractérisée par des myalgies induites par l'exercice, sans crampes, mais avec des faiblesses musculaires et de l'intolérance à l'effort. La GSD de type XIII est due à une mutation du gène ENO3 situé sur le chromosome 17p13.2.

4.13 Glycogénose de type XIV

La glycogénose de type XIV, de son nouveau nom, anomalie congénitale de la glycosylation associée à la **phosphoglucomutase-1** (PGM1) possède deux phénotypes principaux. L'un induisant une myopathie et l'autre étant multisystémique. Elle est caractérisée par de nombreuses manifestations cliniques, dont les plus fréquentes sont une luette bifide avec ou sans fente palatine à la naissance, associée à un retard de croissance, une myopathie (y compris une fatigue liée à l'exercice, une intolérance à l'effort, une faiblesse musculaire), une hypoglycémie intermittente et une cardiomyopathie dilatée et/ou un arrêt cardiaque, dus à une diminution de l'activité enzymatique de la phosphoglucomutase 1 (Orphanet). Un déficit en PGM1 empêche l'interconversion entre le glucose-1-phosphate et le glucose-6-phosphate et donc la production d'énergie.

4.14 Glycogénose de type XV

La GSD de type XV ou glycogénose avec cardiomyopathie sévère par déficit en **glycogénine** se caractérise, comme son nom l'indique, par une cardiomyopathie sévère et dilatée pouvant évoluer vers une insuffisance cardiaque nécessitant une transplantation. Dans ce type, sont également retrouvés les symptômes communs avec les autres types musculaires, tels que la faiblesse musculaire et l'intolérance à l'exercice. La glycogénose de type XV est causée par des mutations sur le gène GYG1 situé sur le chromosome 3q24, codant pour la glycogénine-1, la protéine *primer* formant le glycogène. Les cardiomyocytes des patients atteints présentent d'importants dépôts correspondant à du polyglucosane, forme anomale et insoluble du glycogène, présentant moins de branchement que celui-ci. Cette GSD se manifeste généralement entre 20 et 50 ans, par une faiblesse musculaire progressive et généralisée ainsi que par une atrophie (Gümüş et Özen, 2023; Hannah et al., 2023).

Tableau III : Résumé des traitements et conseils hygiéno-diététique dans les glycogénoses musculaires

Type GSD	Traitement	Conseils hygiéno-diététiques
0b		
II	Enzymothérapie substitutive	
III		Administration d'amidon de maïs cru, régime hyperprotidique
IV		
V		Hydrates de carbone avant l'effort Certains sports déconseillés mais activité physique recommandée
VII		Régime cétogène Exercice physique intense déconseillé
X		Exercice régulier à faible intensité recommandé
XI		
XII		Exercice physique intense déconseillé
XIII		
XIV		
XV		

5. Connaissances globales des professionnels de santé sur les glycogénoses et leur prise en charge

Les glycogénoses constituent un ensemble hétérogène de maladies métaboliques rares qui imposent aux professionnels de santé une connaissance globale de leurs mécanismes physiopathologiques ainsi que leurs modalités de prise en charge, connaissance encore trop peu développée du fait de la rareté des GSD. En effet, du fait de la faible prévalence, les professionnels de santé ne sont que rarement confrontés à des cas de glycogénoses au cours de leur carrière. Leurs connaissances sont donc, la plupart du temps, purement théoriques et peu actualisées. De plus, dans la plupart des cursus médicaux, les glycogénoses sont rapidement évoquées et rarement approfondies. Les étudiants retiennent principalement les exemples les plus connus comme la maladie de Pompe ou de McArdle. Certains spécialistes sont tout de même renseignés sur ces pathologies, notamment les métaboliciens, les neurologues, les pédiatres (du fait du diagnostic dès l'enfance), les internistes, les généticiens et les cardiologues. En outre, leurs connaissances restent variables en fonction des sous-types. A cause de ce manque de connaissances, le diagnostic des GSD est souvent retardé de plusieurs années après l'apparition des symptômes. Mais ce n'est pas la seule raison. En effet, les symptômes généraux sont peu spécifiques (fatigue, crampes, intolérance à l'effort) et peuvent entrainer une confusion avec d'autres pathologies musculaires ou métaboliques. De plus, il y a un manque de sensibilisation des praticiens, ne rendant pas automatique l'hypothèse de diagnostic d'une glycogénose. Les glycogénoses regroupent de nombreux sous-types pour lesquels il n'existe pas encore de recommandations cliniques. De même, il existe peu d'articles scientifiques sur certains sous-types.

Compte tenu de la diversité des organes atteints, le suivi des glycogénoses repose sur une prise en charge multidisciplinaire associant entre autres, le médecin généraliste pour l'orientation diagnostique, le généticien pour le diagnostic étiologique, le neurologue pour l'évaluation des fonctions motrices, le cardiologue pour la surveillance des complications cardiaques ainsi que le diététicien dont l'intervention est primordiale dans l'adaptation du régime alimentaire. Dans ce contexte, le pharmacien occupe une place transversale et complémentaire. En officine, bien qu'il n'y ait qu'un traitement pour la maladie de Pompe et des régimes alimentaires, le pharmacien assure l'information, notamment sur les essais cliniques disponibles, le suivi de l'observance et le soutien aux patients et à leurs proches. Le

pharmacien hospitalier, quant à lui, garantit la dispensation sécurisée et adaptée de l'enzymothérapie substitutive pour la maladie de Pompe. Enfin, le pharmacien industriel participe activement à la recherche, au développement et à chaque étape du cycle du médicament jusqu'à mise sur le marché. Ainsi, le pharmacien contribue à renforcer la continuité et la qualité de la prise en charge en articulation avec les autres acteurs de la santé. Le pharmacien est souvent au carrefour de la prise en charge du patient grâce à la polyvalence de ses missions. Il peut contribuer à la diffusion de l'information scientifique auprès des professionnels de santé par l'organisation de formations médicales, la publication de données cliniques ou encore l'accompagnement des centres de référence de maladies rares, développés grâce au Plan National Maladies Rares 1 (PNMR1). Ces centres de référence ont permis d'assurer une expertise nationale visible et relayée par des structures territoriales au travers des autres centres constitutifs et centres de compétences, permettant ainsi un maillage territorial et une prise en charge de meilleure qualité (Orphanet*, 2024*).

Le pharmacien peut aussi soutenir la création de réseaux de soins spécialisés et de partenariats avec les associations de patients. Ses missions, vis-à-vis des maladies rares, pourront évoluer en corrélation avec l'amélioration de la connaissance et des traitements disponibles sur le marché. Deux dispositifs ont été mis en place en juillet 2021 pour garantir l'accès aux traitements contre des maladies rares (DGOS, 2025). Le premier, l'accès précoce, vise les médicaments répondant à un besoin thérapeutique non couvert, susceptibles d'être innovants et pour lesquels le laboratoire s'engage à déposer une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Le second dispositif est l'accès compassionnel, visant les médicaments non nécessairement innovants mais répondant de façon satisfaisante à un besoin thérapeutique non couvert. Le pharmacien est un des acteurs assurant ces dispositifs par le recueil de données en vie réelle concernant les patients bénéficiant de ces traitements (Orphanet*, 2024*). Les professionnels de santé doivent alors participer, à leur niveau, à l'amélioration de la prise en charge, tout en conciliant innovation thérapeutique et viabilité économique dans un contexte où les coûts de productions et de recherche sont élevés mais le nombre de patients, et donc de médicaments vendus, est limité.

6. Economie : médicaments orphelins contre blockbusters

Les glycogénoses sont des maladies rares, signifiant qu'elles concernent un nombre limité de patients (moins de 1 personne sur 2000).

Cette faible prévalence est un frein dans le développement des médicaments traitant les glycogénoses, principalement pour des raisons économiques. D'une part, la connaissance encore très incomplète des mécanismes physiopathologiques contribue à augmenter le coût de la recherche. D'autre part, le nombre total de patients concernés est restreint, estimé par exemple entre 5000 à 10 000 patients dans le monde pour la maladie de Pompe et à quelques milliers pour la maladie de McArdle. Cela complique le recrutement de patients pour les essais cliniques et limite la puissance statistique des études. Le marché potentiel étant très restreint, les investissements sont peu attractifs pour l'industrie pharmaceutique, qui privilégie le développement de médicaments dits « *blockbusters* » destinés à des pathologies à forte prévalence comme le diabète, les cancers ou les maladies cardiovasculaires, et donc plus rentables.

Par ailleurs, dans le cas des glycogénoses, les stratégies thérapeutiques envisagées reposent majoritairement sur des biomédicaments, notamment des enzymes recombinantes utilisées dans le cadre de l'enzymothérapie substitutive. Or, le développement de ce type de traitement est long, complexe et particulièrement coûteux. A cette contrainte s'ajoute une faible perspective de retour sur investissement : le développement d'un biomédicament représente en moyenne un coût compris entre 1 à 2 milliards de dollars, depuis les phases de recherche et développement (10-15 ans) jusqu'à l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Ainsi, bien que les coûts de développement soient comparables à ceux d'un *blockbuster*, le retour sur investissement demeure nettement inférieur. Afin de pallier cette situation, les autorités de santé (FDA *Food and Drug Administration*, EMA *European Medicines Agency*) ont créé le statut de médicament orphelin. Ce dispositif offre des incitations réglementaires et financières visant à rendre économiquement viable le développement de traitements destinés aux maladies rares. Un médicament est dit orphelin s'il n'existe pas de méthode satisfaisante de diagnostic, de prévention ou de traitement à cette affection (*Orphanet*, 2024). Il est destiné soit au diagnostic, à la prévention ou au traitement d'une affection entrainant une menace pour la vie ou une invalidité chronique ne touchant pas plus de 5 personnes sur 10 000 ou d'une affection grave ou chronique dont la commercialisation du

médicament ne génèrera pas suffisamment de bénéfices pour justifier l'investissement. Ce statut confère une exclusivité commerciale de 7 ans aux Etats-Unis (par la FDA) et de 10 ans en Europe (par l'EMA). Il débloque également des aides fiscales et financières et réduit les frais d'enregistrement, contribuant ainsi à soutenir et à encourager la recherche dans le domaine des maladies rares. Néanmoins, lorsque des traitements contre les glycogénoses sont développés, leur coût de commercialisation demeure très élevé. A titre d'exemple dans le cas de la maladie de Pompe, l'enzymothérapie substitutive coûte près de 300 000€ par an par patient. Cette situation soulève d'importants enjeux d'équité dans l'accès aux soins. Si en France, le système de Sécurité Sociale permet d'avoir accès facilement aux soins, ce n'est pas le cas dans d'autres pays.

En résumé, si les *blockbusters* reposent sur une logique de volume et de rentabilité, les traitements destinés aux maladies rares, telles que les glycogénoses, relèvent d'un modèle économique dont la viabilité dépend fortement de l'intervention publique et réglementaire. Ce modèle soulève par ailleurs d'importants enjeux éthiques notamment en matière d'équité d'accès des soins (Grand et al., 2024). Afin de stimuler la recherche et le développement dans le domaine des médicaments orphelins, de nouveaux leviers sont développés, tels que les start-ups en biotechnologies, les « *orphan drug acts* » ainsi que le développement de partenariats avec des associations nationales, internationales ou associations de patients permettant notamment le co-financement de projets de recherche.

Partie II : Le poulet comme modèle animal : pertinence et caractérisation du métabolisme glycogénique

I. Les modèles animaux dans la recherche et éthique

Les animaux sont étudiés depuis des millénaires pour comprendre les mécanismes du corps humain. Dès l'Antiquité, Aristote et Hippocrate pratiquaient des dissections d'animaux pour comprendre l'anatomie et les fonctions vitales. Plus tard, au IIe siècle, Galien fonde les connaissances en physiologie grâce à la vivisection sur des singes et des porcs. Au XVIe siècle, Vésale entame des dissections humaines mais l'animal reste utilisé pour les expériences vivantes. Au XIXe siècle, Claude Bernard, défend la méthode expérimentale sur les animaux, la jugeant indispensable pour comprendre la physiologie humaine. Ses travaux ont d'ailleurs contribué à la compréhension du métabolisme du glycogène. Au XXe siècle, les modèles animaux sont au cœur de la recherche notamment avec les essais pour tester les vaccins. Des lignées standardisées de souris sont également développées et deviennent un pilier conséquent de la recherche biomédicale.

Actuellement, les modèles animaux restent essentiels à la compréhension des pathologies et aux essais des nouveaux traitements. Dans le cas des glycogénoses, où la physiopathologie n'est pas encore bien connue, l'animal reste le meilleur modèle pour développer les connaissances du métabolisme pour les transposer aux mécanismes pathologiques chez l'humain. En recherche, les souris (68%) sont les principaux animaux utilisés grâce à leur facilité d'élevage, leur petite taille et la calibration des tests effectuée depuis des années (Gircor, 2025). Cependant, il est essentiel de garder à l'esprit que les souris ne sont pas la représentation parfaite de l'humain et par conséquent, ces modèles peuvent entrainer des erreurs d'analyse sur la physiopathologie ou les traitements.

Une fois un état des lieux plus détaillé de la physiopathologie effectué, d'autres méthodes peuvent être recherchées comme les techniques *in vitro* permettant de réduire la proportion d'animaux utilisés.

II. Modèles animaux dans les glycogénoses et leurs limites

De nombreux animaux ont été étudiés pour analyser leur pertinence en tant que modèle dans les glycogénoses. L'étude intitulée "*Preclinical research in glycogen storage diseases : a comprehensive review of current animal models*" (Almodóvar-Payá et al., 2020) recense 42 modèles animaux utilisés dans le cadre d'une maladie de surcharge en glycogène. Ces modèles comportent 26 modèles murins génétiquement modifiés, un modèle de poisson-zèbre génétiquement modifié et 15 modèles naturels comme le chien, le chat, le cheval ou la caille. Bien que des modèles aient été développés pour ces pathologies, dans la plupart des cas, aucun traitement n'a été évalué.

L'article s'est quelque peu intéressé au modèle aviaire, étudiant la caille japonaise dans le cas de la maladie de Pompe (Type II) où l'animal est naturellement mutant, entrainant un déficit de l'enzyme glucosidase acide alpha-1,4 (GAA). La caille présente alors une faiblesse musculaire progressive, une myopathie avec accumulation de glycogène dans les muscles, notamment pectoraux, et le cœur, symptômes homologues avec les patients atteints de la maladie de Pompe. Il a été testé une thérapie de remplacement enzymatique (ERT) à base de rhGAA, protéine recombinante humaine de l'alpha-1,4-glucosidase acide, résultant d'une réduction du glycogène et d'une augmentation de l'activité enzymatique.

L'article permet de mettre en exergue les avantages et les limites de chaque modèle, certains reproduisant fidèlement les symptômes humains tandis que d'autres permettent surtout de tester des traitements. Les modèles murins sont les plus utilisés dans les études précliniques et permettent des manipulations génétiques précises. Cependant, des différences significatives de teneur en glycogène entre les patients atteints de GSD et les souris ont été observées résultant d'un métabolisme plus rapide de la souris qui entraine une accumulation accélérée de glycogène dans les tissus affectés. En revanche, les animaux de plus grand gabarit présentent des taux de glycogène similaires à ceux des patients. Ces modèles naturels comme les moutons, les bovins ou les chevaux reproduisent mieux les phénotypes de maladies humaines que les plus petits modèles, notamment grâce à leurs similitudes en termes d'organes, de taille, de masse musculaire et de caractéristiques physiopathologiques et métaboliques. Cependant, la recherche sur des modèles animaux de grande taille rencontre de nombreuses difficultés comme la manipulation ou les tests à effectuer pour la caractérisation du phénotype, la longévité de gestation, l'espace nécessaire pour les loger ou

encore les coûts associés. Les modèles naturels ont offert des perspectives uniques notamment sur la progression de la maladie.

Bien que les modèles précédemment développés puissent être pertinents pour l'étude des GSD, il peut être intéressant d'envisager un autre modèle complémentaire. En effet, des modèles peuvent représenter la symptomatologie humaine mais ne pas répondre correctement au traitement, comme le paracétamol hautement hépatotoxique chez la souris. Au contraire, ils peuvent répondre parfaitement au traitement qui engendrera de graves effets indésirables une fois testé chez l'humain comme dans le cas du Supermab® de TeGenero où aucun effet indésirable n'avait été remarqué chez le lapin et le singe mais a provoqué une défaillance multiviscérale chez les volontaires sains, les amenant dans un état critique (Comité de Protection des Personnes, 2006). C'est pourquoi il est demandé d'étudier les traitements sur au moins deux modèles animaux, d'abord sur un petit modèle animal puis sur un plus gros (porc, chien ou singe) (Gircor, 2024). Plus spécifiquement, les modèles les plus utilisés aujourd'hui pour étudier les glycogénoses sont les souris transgéniques dans les études mécanistiques et thérapeutiques, les chiens, étant plus proches de l'humain, pour l'évaluation des thérapies enzymatiques et les poissons-zèbres pour le criblage rapide de gènes et de médicaments. Bien que la plupart des glycogénoses ait un modèle animal de référence, cinq d'entre elles n'en possèdent pas encore. Il s'agit des types IX, X, XII, XIII et XIV (*Tableau IV*). Les types X, XII, XIII et XIV concernent le muscle squelettique, tissu d'intérêt dans ce travail.

Tableau IV : Modèles animaux utilisés dans les GSD

Type GSD	Modèle animal
0b	Souris
II	Souris, chien, caille
III	Souris, chien
IV	Souris, chat, cheval
V	Souris, bovin, ovin, poisson zèbre
VII	Souris, chien
IX	
X	
XII	
XIII	
XIV	
XV	Souris

III. Métabolisme du glycogène chez le poulet : physiologie comparée à l'homme

1. Régulation du glucose chez les oiseaux

Les oiseaux utilisent le glucose pour de nombreuses fonctions notamment pour la production d'énergie par oxydation cellulaire, la synthèse du glycogène dans le foie et les muscles glycolytiques, la synthèse des acides gras ainsi que celle des acides aminés non essentiels, de la vitamine C et autres métabolites (Braun et Sweazea, 2008).

Vis-à-vis du glucose, les oiseaux ne sont pas des vertébrés comme les autres. En effet, ils maintiennent des concentrations plasmatiques de glucose plus élevées que les autres vertébrés (2g/L) de masse corporelle comparable, et le poids de l'oiseau est corrélé négativement avec sa glycémie. Plus un oiseau à une masse corporelle faible, plus sa glycémie est élevée. De plus, les oiseaux semblent stocker relativement peu de glucose sous forme de glycogène intracellulaire. Une autre particularité est que les oiseaux sont insensibles à la régulation du glucose par l'insuline. Mais cette glycémie plus élevée n'est pas délétère pour les oiseaux. Chez les mammifères, une glycémie élevée entraine un stress oxydatif tandis que les oiseaux ont plusieurs systèmes de protection. Ils produisent de l'acide urique, un puissant antioxydant les prévenant de ce stress oxydatif (Machín et al., 2004), mais également des enzymes antioxydantes comme la catalase et la glutathion peroxydase et produisent une faible quantité de radicaux libres par les mitochondries. Ces mécanismes leur permettent d'avoir durée de vie plus longue que les mammifères.

Le glucose est absorbé par le tube digestif des oiseaux grâce à des cotransporteurs sodium-glucose (SGLT) et à des protéines de transport du glucose (GLUT). Malgré une glycémie élevée, aucune glycosurie n'est observée grâce à l'efficacité de réabsorption du glucose filtré par les reins. Le foie, quant à lui, participe à la néoglucogenèse et au maintien de l'homéostasie.

Le système endocrinien aviaire se distingue par une prédominance du glucagon (environ 10 fois plus abondant que chez les mammifères) et une relative insensibilité à l'insuline. Les transporteurs du glucose chez les oiseaux sont particulièrement le GLUT1 et GLUT3 qui ne sont pas stimulés par l'insuline. Ils ne possèdent pas le GLUT4, transporteur insulino-dépendant, présent chez les mammifères (Braun et Sweazea, 2008). Cette absence serait responsable de l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline observées chez les poulets (Seki et al., 2003).

L'absorption musculaire de glucose ne répond donc ni à l'insuline ni à l'AMPK contrairement aux mammifères.

Des analyses combinées de génomique fonctionnelle et positionnelle ont permis d'appréhender les mécanismes physiologiques impliqués dans les variations du glycogène musculaire. Les analyses du transcriptome réalisées avec des puces à ADN suggèrent que des régulations au niveau transcriptionnel d'un certain nombre de gènes peuvent intervenir dans le contrôle des réserves musculaires en glycogène (Sibut *et al,* 2011). Des études complémentaires de signalisation ont démontré le rôle central de l'activation par phosphorylation de l'AMPK dans le contrôle des réserves en glycogène musculaire, qu'elles soient modulées par la génétique (Sibut *et al* 2008) ou la nutrition (Mameri *et al,* 2010, Jlali *et al,* 2012).

IV. Le poulet comme modèle d'étude

L'utilisation du poulet comme modèle animal s'inscrit dans une longue tradition scientifique qui remonte à l'Antiquité. Aristote fut l'un des premiers à décrire le développement embryonnaire du poussin dans l'œuf, en observant la formation progressive du cœur et des organes, faisant de cet animal un des premiers organismes étudiés en embryologie (*De la génération des animaux*, Aristote). Au XVIIe siècle, William Harvey approfondit cette approche dans son traité *Exercitationes de Generatione Animalium* (1651) où il formula la théorie « *ex ovo omnia* », c'est-à-dire, « tout provient d'un œuf », théorie appuyée par l'observation d'embryons de poulets. Ensuite, au XIXe siècle, Karl Ernst von Baer établit à partir de l'embryon de poulet, les lois générales du développement embryonnaire : Les caractères généraux des embryons, visibles tôt dans leur développement, seront remplacés progressivement par des caractères de plus en plus spécifiques. Au XXe siècle, le poulet acquit une nouvelle importance dans la recherche biomédicale. En 1911, le virologue américain Francis Peyton Rous, démontra que les tumeurs peuvent être causées par des virus suite à ses expériences sur le sarcome du poulet au cours desquelles il identifie le premier virus oncogène à ARN (Rous, 1911). En 1965, c'est le système immunitaire du poulet qui est étudié, distinguant les voies des lymphocytes B et T de l'immunité adaptative (Cooper et al., 1965). Ce modèle aviaire a ainsi permis d'élucider les mécanismes fondamentaux de la défense immunitaire transposable chez l'humain.

Après les études historiques embryologiques, le poulet s'est de nouveau imposé comme un organisme de choix en embryologie expérimentale. Sa facilité d'accès *in ovo*, la possibilité d'observer et de manipuler directement les embryons et sa rapidité de développement, en ont fait un système modèle pour l'étude de l'organogénèse, de la différenciation cellulaire et des pathologies du développement (Mellouk et al., 2018).

Un tournant décisif a été franchi avec le séquençage du génome complet du poulet (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004) qui en fait le premier oiseau dont le patrimoine génétique a été entièrement caractérisé et ainsi le modèle de laboratoire pour les 9600 espèces aviaires existantes (*Figure 14*).

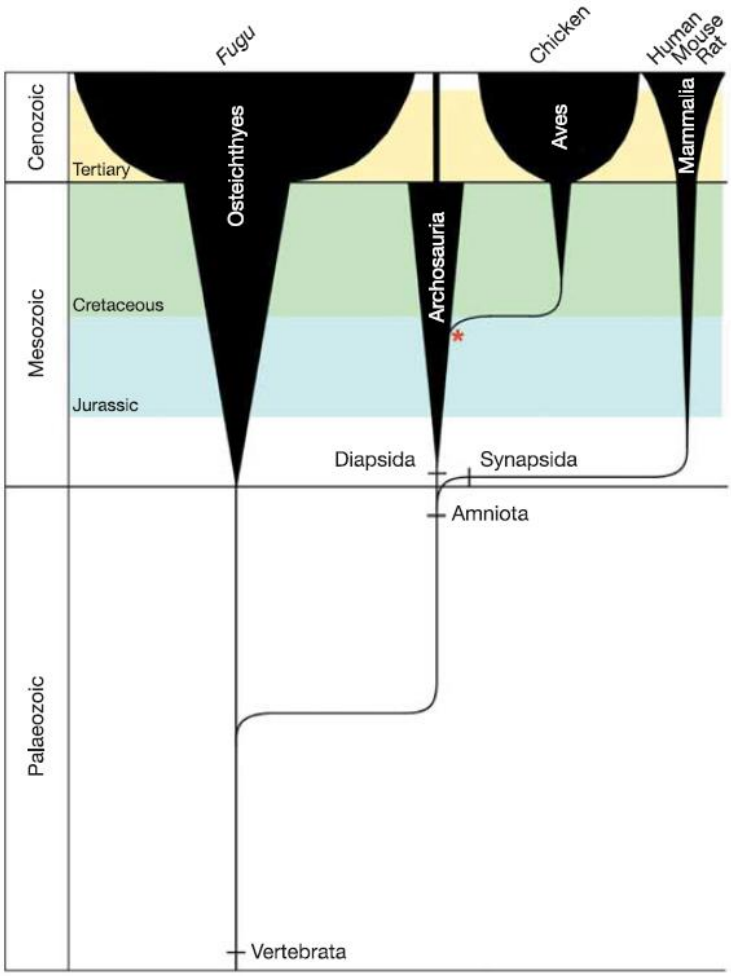


Figure 14 : Evolution des vertébrés montrant les espèces existantes dont les génomes ont été séquencés.

Le caryotype du poulet est composé de 38 autosomes et d'une paire de chromosome sexuels, la femelle étant le sexe hétérogamétique (femelle ZW, mâle ZZ) (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004). Son génome, composé d'environ un milliard de

paires de bases et de 20 000 à 23 000 gènes, est riche en gènes homologues à ceux de l'humain, et est devenu une ressource incontournable pour la génomique comparée. Depuis, les études post-génomiques ont mis en évidence la pertinence du poulet comme modèle pour explorer les pathologies métaboliques, cardiovasculaires et infectieuses (Gilyazova et al., 2025). Le poulet est également étudié comme système de production biopharmaceutique via des œufs génétiquement modifiés capables de synthétiser des protéines thérapeutiques (Oishi et al., 2018).

Ainsi, et depuis l'Antiquité, malgré les différences physiologiques entre oiseaux et mammifères, l'ensemble des travaux antérieurs démontre que le poulet constitue un modèle complémentaire et puissant pour l'étude des pathologies humaines voire une perspective pour de nouvelles stratégies thérapeutiques.

V. Justification du choix du poulet comme modèle d'étude des glycogénoses

Concernant les glycogénoses, le poulet n'a pas particulièrement été étudié et seulement quelques articles décrivent ce qui ressemblerait à une glycogénose de type X induite par l'ochratoxine A (Huff et Hamilton, 1978; Warren et Hamilton, 1981; Warren et Hamilton, 1980). Après l'analyse de la physiopathologie des glycogénoses et l'étude du poulet, des similitudes et différences ont été mises en avant. Il est retrouvé une conservation des enzymes du métabolisme du glycogène entre *Gallus gallus* et *Homo sapiens* impliquant des gènes codant pour les enzymes principales (GS, PYG, enzymes branchante et débranchante, PP1). Cette conservation permet de transposer des déficits enzymatiques aux GSD humaines. Seulement deux des gènes déficitaires dans les glycogénoses musculaires n'existent pas chez le poulet (*Tableau V*).

Tableau V : Comparaison de la présence des gènes atteints dans les glycogénoses chez l'humain et le poulet (Annotation database, 2025; Home - Gene - NCBI)

Type GSD	Enzyme/gène déficitaire	Présence chez le poulet
0b	GYS1	
II	GAA	
III	AGL	
IV	GBE	
V	PYGM	
VII	PFKM	
X	PGAM2	
XII	ALDOA	
XIII	ENO3	
XIV	PGM1	
XV	GYG	

L'accumulation pathologique de glycogène retrouvée dans les glycogénoses musculaires humaines peut également être observée chez le poulet grâce à des variations importantes du contenu glycogénique selon l'état nutritionnel. De plus, la variable alimentation est très importante dans les glycogénoses, notamment pour prévenir d'épisodes hypoglycémiques. Le poulet peut être utilisé pour mimer ces situations de jeûne.

Cependant, des différences majeures sont retrouvées entre l'humain et le poulet, impliquant des limites dans le choix de sélection des glycogénoses à étudier chez le poulet (*Tableau VI*).

Tableau VI : Différences du métabolisme du glycogène entre l'humain et le poulet

Humain	**Poulet**	**Conséquence**
Transporteur GLUT4	GLUT4 absent	Limite de modélisation pour les GSD influencées par la voie insulino-dépendante
Régulation hormonale par insuline/glucagon	Rôle majeur du glucagon	Régulation de la glycogénogenèse et glycogénolyse différente dans certains cas
Glycémie basale entre 0,7 et 1,10 g/L	Glycémie basale = 2 g/L	Effets toxiques liés à l'hyperglycémie non comparables
Complications liées au stress oxydatif observées dans les GSD humaines	Production naturelle de substrats antioxydants	Complications liées au stress oxydatif peuvent être sous-estimées

Le poulet a été identifié comme potentiel modèle animal pour comprendre les glycogénoses musculaires dans le cadre de ce travail grâce à l'étude expérimentale effectuée sur le métabolisme du glycogène du poulet et les pistes que ces expériences ont apportées (Partie III). Ces résultats sont additionnés à de multiples arguments trouvés dans la littérature. Tout d'abord, le génome du poulet a été séquencé en 2004 (*cf* IV) le rendant entièrement exploitable pour la recherche génétique. De ce fait, des techniques modernes peuvent être utilisées pour modéliser les déficits enzymatiques spécifiques. De plus, le poulet est l'une des espèces aviaires les mieux étudiées en physiologie du glycogène (foie, muscle, rein). Il reste néanmoins des zones d'ombre dans le fonctionnement du métabolisme. Les oiseaux tolèrent une hyperglycémie chronique sans complications oxydatives majeures. Cela permet d'étudier les anomalies de stockage glycogénique indépendamment des effets confondants d'un stress oxydatif massif, ce qui rend l'interprétation plus claire. En jeûne prolongé, le poulet montre une déplétion glycogénique musculaire et hépatique, comparable aux déficits observés dans

certaines GSD. Le muscle *Pectoralis major*, représentant une part importante de la masse corporelle, est riche en fibres glycolytiques rapides qui sont très dépendantes du glycogène intramusculaire pour fournir de l'énergie lors de l'effort court et intense. Cette dépendance est comparable à celle des muscles humains lors d'exercices anaérobies. Elle peut permettre de modéliser les GSD où le déficit enzymatique entraine une incapacité à mobiliser ou utiliser le glycogène telles que celles de type V et VII. L'hétérogénéité des profils musculaires chez le poulet reflète la variabilité clinique des atteintes musculaires humaines. L'aspect économique est intéressant car le poulet est un modèle accessible et peu coûteux, déjà largement utilisé en recherche biomédicale et en production animale. Les lignées de poulets sont bien établies, avec des outils génétiques permettant d'induire ou de mimer des déficits enzymatiques spécifiques. Sa taille corporelle et la quantité de tissus disponibles facilitent les analyses biochimiques, histologiques et enzymatiques. Grâce à cette quantité de tissus, il est également plus facile d'isoler les fibres musculaires ou des cellules satellites pour des modèles *in vitro*.

Les rongeurs sont beaucoup utilisés dans l'étude des GSD. Pour les GSD hépatiques, ils ont l'avantage d'avoir une régulation glycémique proche de celle de l'humain tandis qu'au niveau musculaire, les rongeurs possèdent un métabolisme moins dépendant du glycogène que l'humain. En effet, ils utilisent davantage les lipides alors que le poulet utilise le glycogène comme carburant principal pour l'effort anaérobie.

Comprendre comment le poulet compense certaines altérations du glycogène peut ouvrir des pistes thérapeutiques innovantes pour les patients comme l'utilisation de voies métaboliques alternatives.

Le poulet aurait pu être utilisé pour comprendre les glycogénoses hépatiques car le foie se rapproche de celui de l'humain, mais il s'avère que la régulation hormonale diffère. Les GSD hépatiques dépendent de la capacité du foie à libérer du glucose sanguin via la G6Pase, or, chez l'oiseau, la régulation glycémique n'est pas sensible aux régulations insulino-dépendantes tandis que le rein contribue fortement, et bien plus que chez l'humain, à la néoglucogénèse et au maintien de la glycémie.

Partie III : Application du modèle poulet à l'étude du métabolisme du glycogène et transposition à l'étude des glycogénoses

I. Contexte

Valider un modèle animal pour l'étude d'une pathologie humaine nécessite la compréhension totale du métabolisme de l'animal et particulièrement le fonctionnement de la physiologie impliquée dans la maladie. De ce fait, dans le cadre de la recherche de validation du poulet pour l'étude des glycogénoses, le métabolisme du glycogène chez le poulet doit être connu alors que celui n'est encore que partiellement identifié. Le travail de recherche a donc ciblé le métabolisme du glycogène et l'implication des différents acteurs dans sa régulation et notamment celle de la protéine phosphatase-1, principal régulateur, et de sa sous-unité PPP1R3A, spécifique aux muscles squelettiques. Il était question de comprendre la modulation par PPP1R3A des activités enzymatiques clés associées à la synthèse et à la dégradation du glycogène chez le poulet.

II. Historique de l'étude

Depuis quelques années, la viande de volaille est devenue la première viande produite dans le monde avec 146 millions de tonnes en 2023. Les prévisions de production mondiale dans les prochaines années soutiennent l'augmentation de la consommation de volaille étant moins coûteuse et non soumise à des interdits religieux (*Figure 15*).

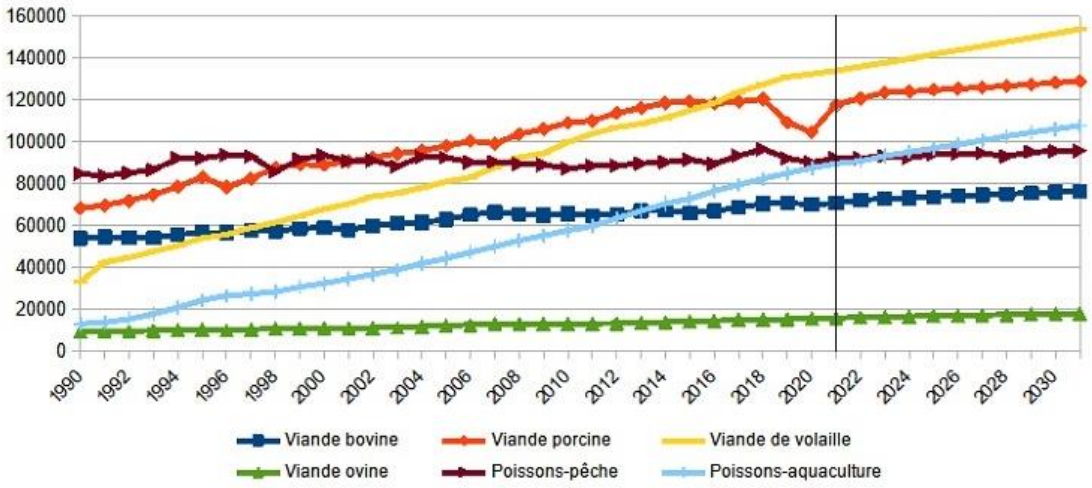


*Figure 15 : Production mondiale de viandes et poissons (milliers de tonnes). Source **:** FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), dans un rapport publié en avril 2024.*

Pour répondre à une demande mondiale croissante en viande de volaille, les poulets de chair ont été sélectionnés sur leur vitesse de croissance, leur efficacité alimentaire et leur rendement en viande (*Figure 16*).

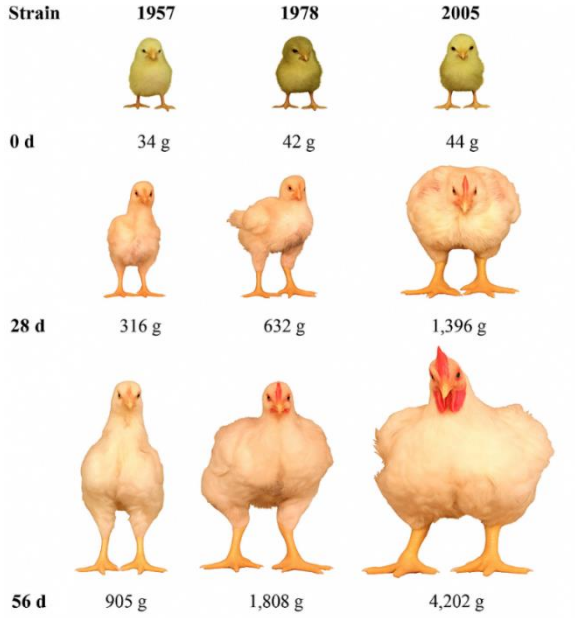


Figure 16 : Evolution de la morphologie des poulets de chair (Zuidhof et al. 2014)

Cette sélection a conduit à des effets négatifs sur les développements du squelette et des systèmes immunitaire et cardiovasculaire qui n'ont pas suivi la croissance de la masse musculaire (Havenstein et al., 2003; Tona et al., 2003). Les conséquences observées sont une augmentation des anomalies squelettiques et musculaires, une immunodéficience, une plus

grande sensibilité aux maladies infectieuses et une incidence plus élevée de pathologies métaboliques (Emmerson, 1997). Les poulets de chair, sélectionnés pour leur vitesse de croissance, ont vu leurs réserves énergétiques musculaires diminuer (Berri et al., 2007). Cette diminution impacte alors directement la qualité de la viande (couleur, pH, dureté) mais aussi ses capacités à la transformation pour les produits transformés.

L'étude avait pour objectif principal d'étudier le métabolisme du glycogène pour comprendre la variabilité de la qualité de la viande chez les poulets de chair. Pour cela, deux lignées de poulet divergentes pour leurs réserves en glycogène ont été sélectionnées génétiquement à l'UMR BOA (Bihan-Duval et al., 2013) car il avait été démontré que le potentiel glycolytique était héréditaire. Cette divergence a été fondée sur le pH ultime (pHu), critère héritable et négativement corrélé avec le potentiel glycolytique (Le Bihan-Duval et al., 2008), mesuré au niveau du muscle *Pectoralis major* 24 heures après la mort de l'animal. Après l'abattage, le glycogène musculaire se dégrade rapidement pendant les 15 premières minutes. Cette dégradation entraine une diminution du pH. Plus la quantité de glycogène musculaire est élevée, plus le pH ultime est acide (*Figure 17*).

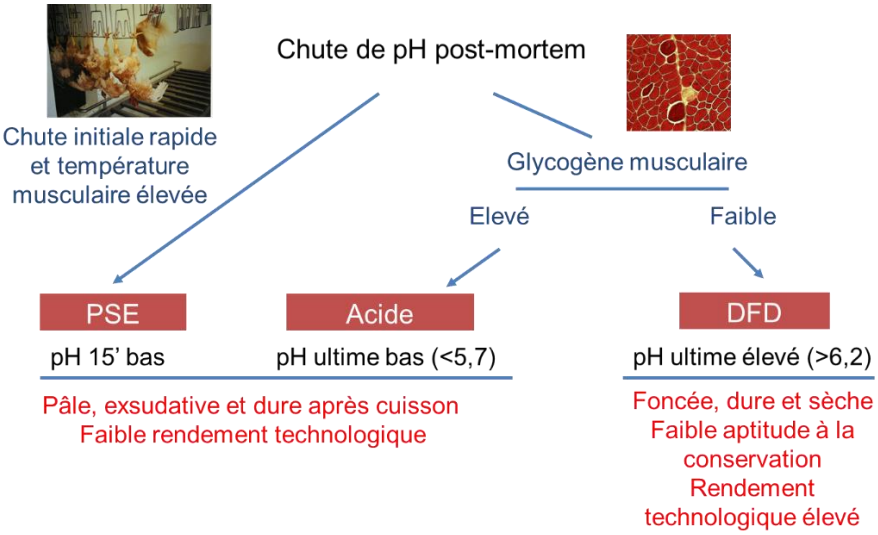


Figure 17 : Schéma illustrant les impacts des chutes de pH post-mortem sur le pH 15' et le pH ultime de la viande et les conséquences sur les caractéristiques de la viande.

Après 15 générations de sélection, les deux lignées avaient un différentiel de pHu de 0,65, avec un pHu plus élevé (moins acide) pour la lignée « pHu+ » (*Figure 18*). La sélection basée sur le pHu s'est avérée efficace pour améliorer la capacité de transformation de la viande et réduire l'incidence des défauts de qualité de la viande sans affecter les performances de croissance des poulets (Alnahhas et al., 2014).

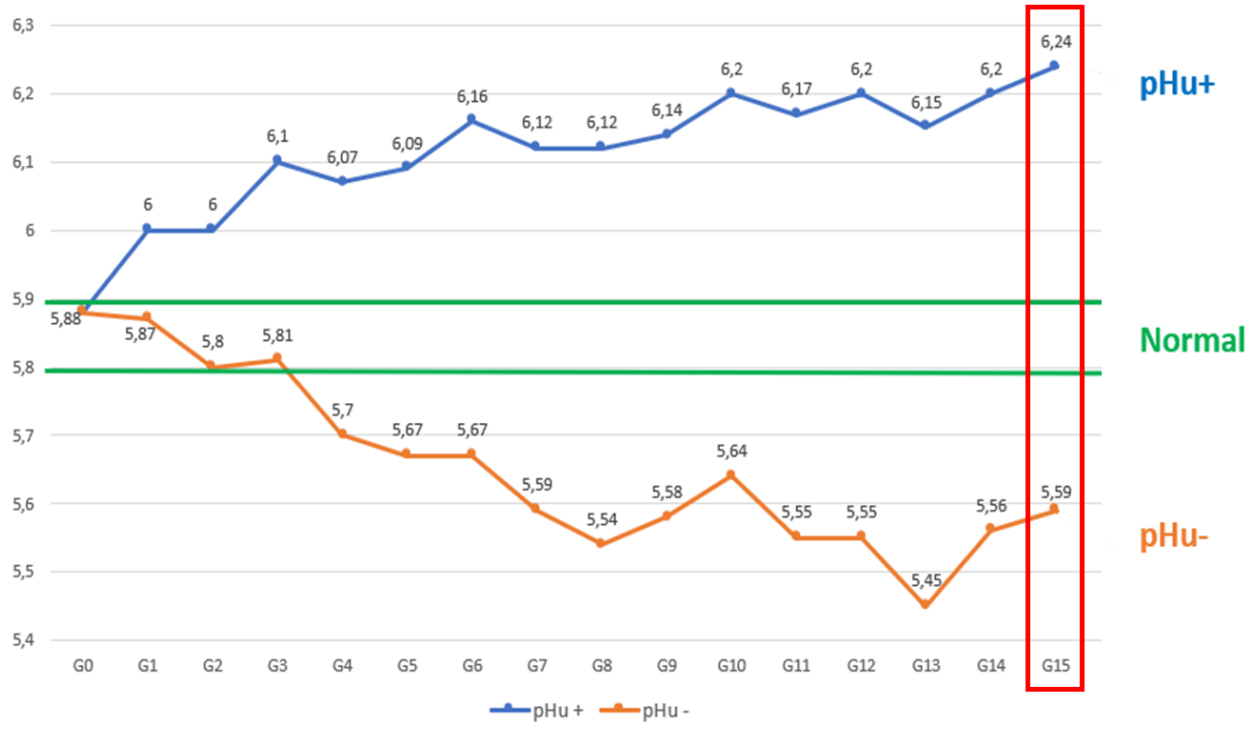


Figure 18 : Evolution du pHu chez les lignées pHu+ et pHu- au fil des générations.

Ces animaux ont été caractérisés à l'âge d'abattage pour la recherche d'indicateurs de qualité de la viande (Beauclercq et al., 2017). Cette étude a montré des orientations métaboliques différentes entre les deux lignées. Le phénotype de ces deux lignées est déjà déterminé à l'éclosion et la différence de teneur en glycogène musculaire à 5 jours est déjà comparable à celle observée sur les animaux à l'âge d'abattage (Métayer-Coustard et al., 2021).

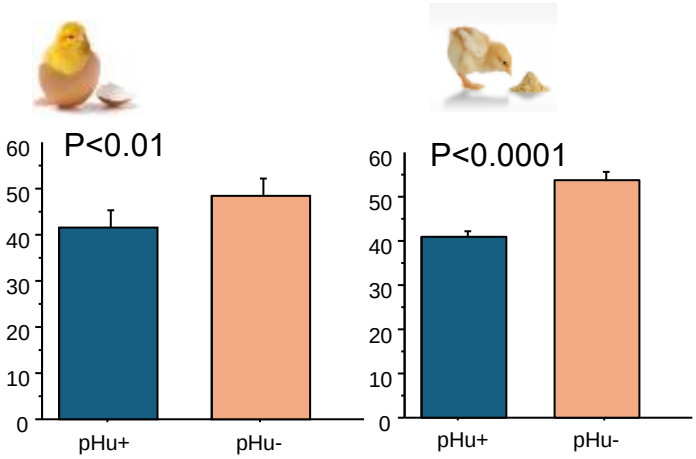


Figure 19 : Teneur en glycogène musculaire (µmole/g) de poussins à l'éclosion (à gauche) et à 5 jours (à droite).

La lignée pHu+ qui présente le moins de glycogène musculaire est celle qui présente des scores de qualité de poussin moins bons à l'éclosion (score déterminé selon la grille de Tona et al., 2003) et un pourcentage de mortalité précoce plus élevé sur la première semaine de vie. Le score de qualité du poussin comprend une notation sur l'état général du poussin et sur son activité (duvet et apparence, posture, yeux, capacité à se retourner si posé sur le dos) ; une notation des malformations, inflammations et déshydratation (bec, pattes infectées ou abimées, déshydratation visible par des veines saillantes, inflammation des tarses) et enfin une notation sur les facteurs de risque d'infection (abdomen, ombilic, membrane, jaune).

La différence en réserve de glycogène affecte également la reproduction des animaux (entrée en ponte plus tardive, moins d'œufs pondus, moins bonne fertilité et mortalité embryonnaire précoce plus élevée) (Erensoy et al., 2022). La lignée pHu+ présente également une incidence plus forte de défauts musculaires de type *white striping* à l'abattage (Alnahhas et al., 2016). Ces défauts sont caractérisés par des processus de dégénérescence et de régénération.

Chez les poulets, le pH ultime des muscles est un facteur majeur de variation tant de la qualité de la viande que sa capacité de transformation. Les valeurs normales du pHu de la poitrine du poulet se situent entre 5,8 et 5,9. Plus le pHu s'écarte de cette valeur, plus les défauts de qualité sont nombreux. Une viande de poulet de chair dont le pHu est supérieur à 6,1 est une viande foncée, ferme et sèche (peu exsudative), notée DFD tandis qu'une viande dont le pHu est inférieur à 5,7 est une viande pâle, molle et exsudative, notée PSE.

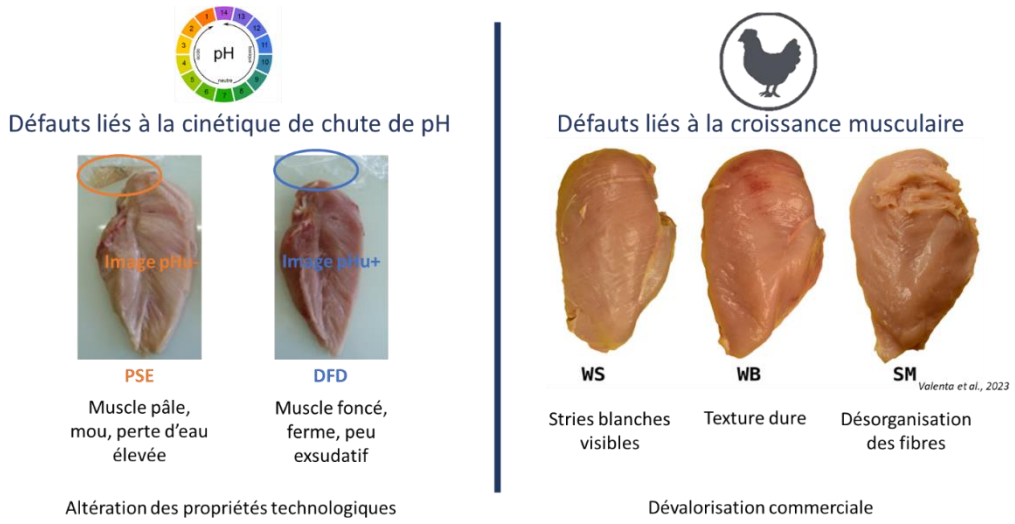


Figure 20 : Les différences défauts de la viande de poulet

Les lignées pHu+ et pHu- représentent donc un modèle unique pour étudier les contrôles génétiques et physiologiques du métabolisme du glycogène chez le poulet et ses conséquences sur la physiologie et la robustesse de l'animal mais aussi vis-à-vis de la physiopathologie des maladies de stockage du glycogène. Une approche transcriptomique a été réalisée sur les lignées pHu+ et pHu- afin de comprendre les voies moléculaires pouvant agir sur les variations entre ces deux lignées (Beauclercq et al., 2017). De nombreux gènes sont différentiellement exprimés entre les deux lignées, et le gène PPP1R3A, a été mis en exergue. PPP1R3A est un gène candidat fonctionnel et positionnel.

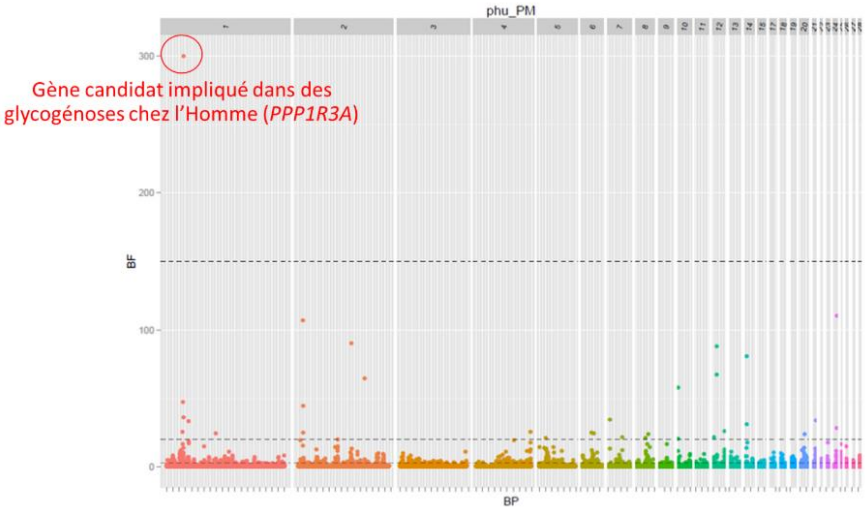


Figure 21 : Analyse transcriptomique des lignées pHu+ et pHu-

Ce gène, spécifique du muscle squelettique, est surexprimé dans la lignée pHu-, ce qui pourrait expliquer les différences de métabolisme musculaire entre les deux lignées. A noter qu'une mutation de PPP1R3A est retrouvée chez l'homme, impactant la synthèse du glycogène et diminuant son stockage (Savage et al., 2008b).

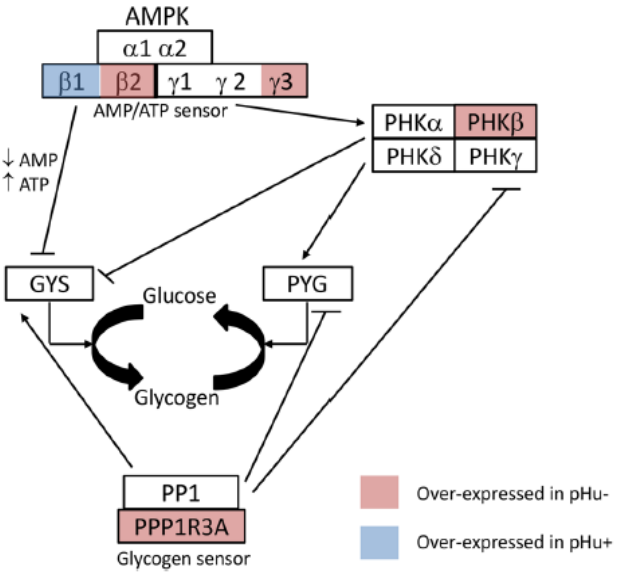


Figure 22 : Expression des principales enzymes impliquées dans la régulation du métabolisme du glycogène musculaire dans les lignées pHu+ et pHu-. AMPK = adénosine monophosphate protein kinase ; PHK = phosphorylase kinase ; GYS = glycogène synthase ; PYG = glycogen phosphorylase ; PP1 = protein phosphatase-1 ; PPP1R3A = protein phosphatase-1 regulatory subunit 3A, Beauclercq et al. 2017

Une étude plus récente (2023) a confirmé la spécificité de PPP1R3A dans les muscles (*Pectoralis major* et cardiaque) du poulet, totalement absent des autres tissus.

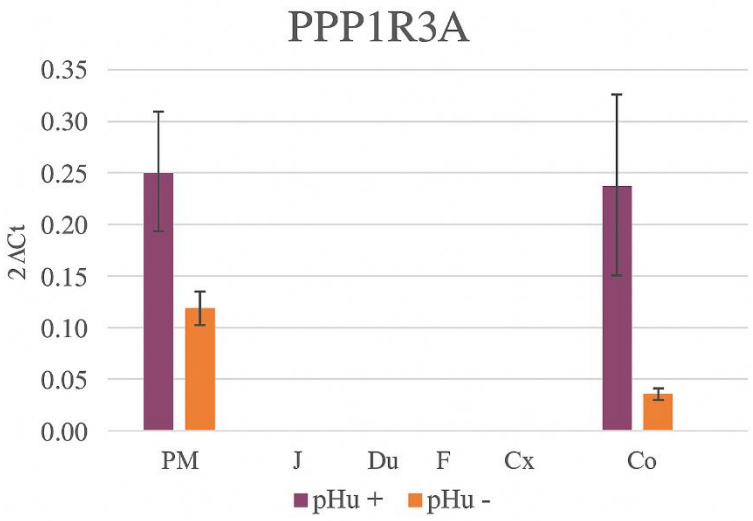


Figure 23 : Expression relative de PPP1R3A dans les différents tissus du poulet. PM : Pectoralis major ; J : jéjunum ; D : duodénum ; F : foie ; Cx : cerveau ; Co : cœur

En revanche, chez le poulet, cette isoforme n'est pas la seule exprimée dans ce tissu. Deux autres isoformes PPP1R3C et D, plus ubiquitaires y sont également exprimées (M. Alexandre,

2023, Rapport de stage de L3, Université de Tours, « Caractérisation des différentes sous-unités régulatrices de la protéine phosphatase 1 (PP1) chez le poulet de chair »).

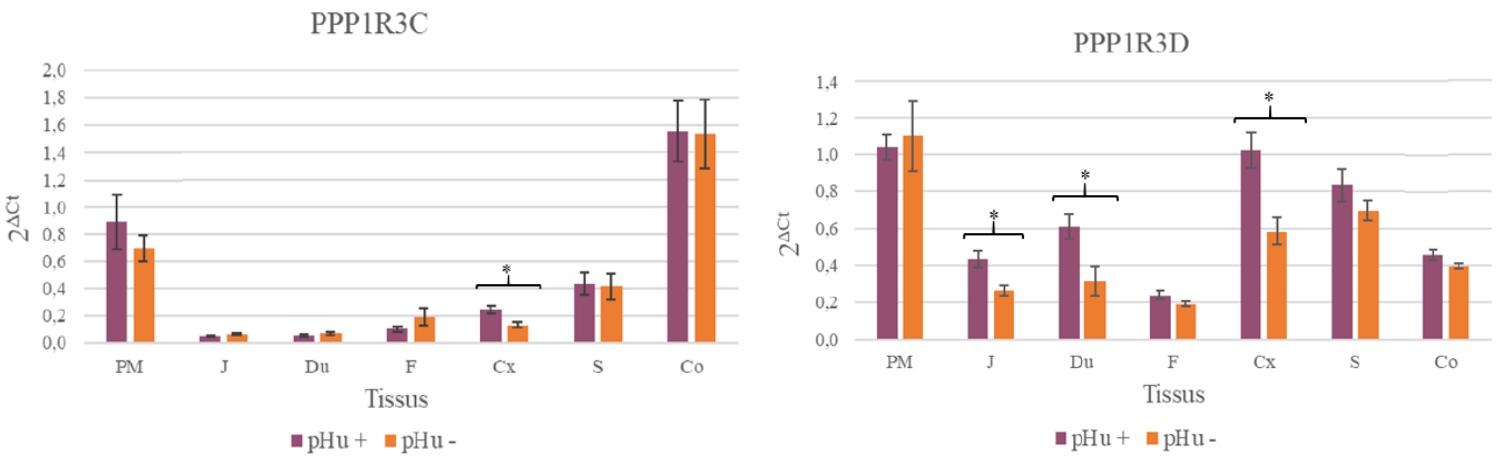


Figure 24 : Expression relative de PPP1R3C et 3D dans les différents tissus du poulet. PM : Pectoralis major ; J : jéjunum ; D : duodénum ; F : foie ; Cx : cerveau ; S : sartorius ; Co : cœur

Chez l'homme, des approches par histologie ont montré une distribution de PPP1R3A dans les fibres musculaires alors que les deux autres formes seraient plus exprimées à la périphérie des fibres ce qui suggère des rôles différents et pas forcément redondants ou compensateurs de ces différentes sous-unités même si elles sont présentes au sein d'un même tissu. (Montori-Grau et al., 2011)

Une meilleure caractérisation des protéines régulatrices de la PP1 au niveau du muscle et de leur régulation chez le poulet est une étape essentielle pour confirmer leurs rôles dans le contrôle du métabolisme énergétique musculaire de l'animal et ainsi les utiliser dans le cadre des glycogénoses musculaires.

III. Objectifs

Ce projet s'inscrit dans la continuité des études précédentes pour valider le rôle potentiel de PPP1R3A et des autres isoformes dans les différences de teneur en glycogène observées dans les lignées pHu+ et pHu-. Pour atteindre cet objectif, des approches complémentaires *in vivo* et *in vitro* sont envisagées. Dans un premier temps, les différents acteurs impliqués dans le métabolisme du glycogène (protéines et gènes) seront étudiés *in vivo*, dans le muscle *Pectoralis major* (PM), selon les lignées (pHu+ et pHu-), le sexe de l'animal et son alimentation, afin d'identifier les variables influençant les expressions géniques et protéiques. Les régulations des voies de signalisation de la synthèse du glycogène y seront également étudiées. En parallèle, nous chercherons par une approche *in vitro* si les mécanismes et régulations de la synthèse de glycogène dans des cultures de cellules satellites extraites de muscle *Pectoralis major* issues d'animaux pHu+ et pHu- sont similaires et représentatives du modèle *in vivo*. Dans une démarche de respect de la règle des 3R (Remplacer, Réduire, Raffiner) en éthique animale, un modèle *in vitro* va être développé afin de permettre de diminuer le recours aux animaux à des fins expérimentales. Dans les années 1950, des comités d'éthique sont formés et le principe des 3R (Remplacer, Réduire, Raffiner) est créé par Russell et Burch. Ce principe vise à limiter l'usage des animaux dans la recherche. Un 4e R, le replacement, est ajouté en 2010.

Remplacer

Il faut utiliser des méthodes alternatives, dans la mesure du possible, à l'utilisation d'animaux vivants. Il existe par exemple des méthodes de culture cellulaires, des modèles cellulaires 3D ou encore des méthodes informatiques (*in silico*).

Réduire

Il faut utiliser le nombre minimal d'animaux lors de l'expérimentation. Ceci implique une réflexion approfondie sur le plan expérimental et un choix méthodique du nombre d'animaux pour obtenir une puissance statistique suffisante.

Raffiner

Tout doit être mis en œuvre afin que les contraintes subies par les animaux soient minimales et que leur bien-être soit préservé au mieux.

Replacer

Encore appelé réhabilitation, le 4e R consiste à placer les animaux précédemment utilisés à des fins expérimentales dans des structures spécialisées, afin de permettre le maintien en vie des animaux.

L'objectif final serait de valider PPP1R3A comme un gène d'intérêt dans l'étude du métabolisme du glycogène et des pathologies associées, amenant à l'approfondissement des mécanismes de régulation de la voie du métabolisme du glycogène avec des approches d'invalidation de gènes, notamment PPP1R3A, de type CRISPR ou siRNA, voire de générer une lignée de poulets génétiquement modifiés via CRISPR, si le modèle est viable.

IV. Matériels et méthodes

1. Modèle animal

1.1 Modèle *in vivo*

Ce travail a été conduit sur les tissus de deux lignées divergentes de poulet sélectionnées génétiquement selon leurs réserves en glycogène, lignée pHu+ ou lignée pHu-. Les tissus étudiés *in vivo* sont issus du muscle *Pectoralis major* (PM) de 44 poussins, pHu+ et pHu-, mâles et femelles, âgés de 8 jours, et présentant des statuts alimentaires différents (nourris *ad libitum* ou à jeun). Chaque groupe est composé de 5 ou 6 poussins.

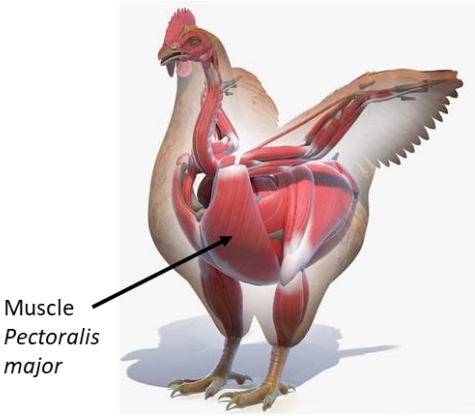


Figure 25 : Schéma anatomique du poulet illustrant le muscle d'intérêt, le Pectoralis major
Source : Généré par l'intelligence artificielle ChatGPT

1.2 Modèle *in vitro*

Les cellules étudiées *in vitro* sont issues de myoblastes dérivés de cellules satellites, obtenues à partir de muscle *Pectoralis major* de 6 poussins âgés de 6 jours de chaque lignée pHu- et pHu+ de la 16e génération. Les muscles ont été fragmentés, rincés puis dissociés par réaction enzymatique de la pronase (SIGMA Aldrich, 5147). Les myoblastes primaires ont été cultivés dans un milieu de prolifération puis, au bout de 3 jours, ont été passés à la trypsine EDTA 1X (SIGMA Aldrich T4049), pour les détacher de la gélatine, repris dans un milieu complet DMEM-

HAM-F12 (SIGMA Aldrich, France, réf D6421), contenant 1% d'antibiotiques (Penicillin-Streptomycin-Amphotericin B, SIGMA Aldrich, A5955) et supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal (SVF) (HYCLONE Thermo Scientific SV30160.03), 2% d'Ultroser G (Sartorius, France, 15950-017) et 0,025mM de L-glutamine (200mM, SIGMA Aldrich, 59202C) avec 10% final de DMSO (Sigma Aldrich T4049) et congelés dans l'azote pour leur utilisation ultérieure. Après décongélation, les cellules sont soumises à un *preplating*, pendant 1 heure sur un support non gélatiné. Les fibroblastes adhèrent au support tandis que les myoblastes, non adhérents, sont récupérés. Ils sont re-suspendus dans du milieu complet puis ensemencés dans des flasques gélatinées à 8000 cellules/cm^2. Tous les supports de culture sont gélatinés à 0,1% pour permettre une meilleure adhésion des cellules. Les cultures cellulaires se sont déroulées dans les conditions suivantes : 39°C à 5% CO_2. Les cellules sont mises en prolifération pendant 3 à 4 jours. Elles sont ensuite passées à la trypsine afin de les ensemencer à une densité de 100 000 cellules/cm^2, dans des plaques 6 puits, dans le même milieu complet de prolifération, supplémenté en B-FGF (Biotechne Recombinant Human FGF basic, 146 aa). Après 24h, le milieu de culture est remplacé par le milieu de différenciation DMEM-HAM-F12, contenant 1% d'antibiotiques (Penicillin-Streptomycin-Amphotericin B, SIGMA Aldrich, A5955) et supplémenté avec 0,5% de SVF et 2% de sérum de cheval (Sigma Aldrich H1270). Après 3 jours de différenciation, le milieu est aspiré, les cellules lavées au PBS froid 1X et les plaques sont stockées à sec à -80°C.

Les simulations de statuts alimentaires *in vitro* jouent sur la concentration en glucose des milieux de culture. Le statut normal, qu'on appellera G+, correspond à une concentration en glucose de 3,15g/L. Le statut pauvre en glucose, qu'on appellera G-, correspond à une concentration en glucose de 1g/L.

2. Immunocytochimie

Les cellules ont été mises en différenciation dans une chambre de culture (Sarstedt 94.6140.802), destinée à la lecture microscopique, selon les mêmes conditions que les cultures. La fixation, utilisant du méthanol froid a été effectuée selon la méthode décrite par Praud et al., 2017. Après blocage avec du sérum de chèvre 10% (SIGMA Aldrich G6767) dans du PBS (SIGMA Aldrich P4417), les cellules ont été incubées avec des anticorps primaires contre la myosine sarcomérique MF20 présente dans les myotubes (DSHB 55µg/ml) au 1/200

dans du sérum de chèvre 1% dans du PBS pendant 1 heure à température ambiante. L'immunofluorescence a été effectuée en utilisant un anticorps biotinylé anti-souris et la streptavidine-Cy2 diluée au 1/200 dans du PBS 1X. (Southern Biotech 7100-21). Les noyaux sont marqués avec du DAPI 1/10 000 (SIGMA Aldrich D9542). La lecture se fait à l'aide du microscope NIKON Eclipse Ti2E (Nikon 542259) après montage au Mowiol sur lamelle en verre.

3. Biologie moléculaire

3.1 Extraction des ARNs totaux

La méthode d'extraction d'ARN à partir des cellules stockées à -80°C, est réalisée avec le kit d'extraction et de purification NucleoSpin RNA II (Macherey-Nagel, 740955.250 Allemagne) selon les recommandations du fournisseur basées sur le principe d'extraction sur colonnes de silice. Tous les échantillons ont été traités à l'identique et en même temps. Les cellules ont été récupérées après grattage du support, lysées avec un tampon de lyse et déposées sur colonne. La concentration des ARNs totaux extraits est déterminée en spectrophotométrie avec un Nanodrop ND-1000 (Nanodrop, Wilmington, États-Unis). La qualité des ARNs est évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose 1% avec une migration de 30 minutes à 100 V par utilisation de gel RED (Biotium Fremont, California, United States) puis lecture en UV. Concernant les extractions des ARNs totaux à partir du *PM in vivo*, nous utilisons le même mode opératoire mais en adaptant une pré-étape de lyse en amont proposée par le fournisseur du kit purification NucleoSpin RNA II.

3.2 Rétrotranscriptase et qPCR

Les ADNc ont été obtenus à partir de 250 ng d'ARNs totaux par retro transcription avec Super Script II RNase H Reverse Transcriptase (Invitrogen, USA, réf 18064071) en présence d'amorces Random primer (C1181 Promega) pour le dispositif *in vitro,* et à partir de 500 ng d'ARNs totaux pour les extractions à partir du dispositif *in vivo*. La PCR quantitative (qPCR) a été réalisée sur les échantillons en plaque 384 puits, en présence des couples d'amorces des gènes PPP1R3A, PPP1R3C, PPP1R3B et PPP1R3D par l'utilisation de l'appareil ROCHE LC480 (à des dilutions respectives des ADNc *in vivo* de 1/50 (A et C) et 1/10 (C et D), et à des dilutions des ADNc *in vitro* de 1/10). Les gènes de référence, TBP, CyB et Eif3F ont été utilisés pour la normalisation pour les tests *in vitro* à une dilution de 1/200 pour les ADNc. Les gènes de référence, TBP, Eif3F, YWHAZ, ACTB, COX4, HADH et PHKB sont utilisés pour les tests *in vivo* à une dilution de 1/200 pour les ADNc. Le logiciel Genorm (Vandesompele et al., 2002) a été

utilisé pour vérifier la variabilité des gènes de ménage et obtenir le facteur de normalisation. Cp correspond au cycle seuil correspondant au nombre de cycles auquel la fluorescence de l'ADN amplificateur indique une augmentation significative de l'intensité du signal. Les résultats ont été exprimés grâce à la formule suivante :

Note échantillon = 2^(Cp Référence – Cp Echantillon)

Les échantillons sont normalisés selon la formule :

Echantillon normalisé = Note échantillon / Facteur de normalisation

4. Lyse protéique et Western Blot

Les cellules stockées à -80°C, ont été lysées sur la glace dans du tampon de lyse 1X (Cell Lysis Buffer (10X) Cell Signaling, réf 9803) supplémenté avec un cocktail d'inhibiteurs de protéase EDTA free 1X (ROCHE Cat. No. 05 056 489 001). Les lysats sont mélangés puis laissés 30 minutes sur la glace. Ils sont ensuite centrifugés à 4°C pendant 30 minutes à 13 000 x g. Les tissus broyés de *PM* stockés à -80°C, ont été lysés dans du tampon de lyse 1X par broyage à bille inox puis mis sur la glace 30 minutes. Les lysats sont centrifugés à 4°C pendant 30 minutes à 1000 x g. puis à 31000 x g pendant 45 min. Un dosage selon la méthode de Bradford est réalisé sur le surnageant pour connaitre la concentration en protéines totales des échantillons. Le reste du lysat est stocké à -80°C. Les échantillons sont préparés à 10µg de protéines totales pour l'étude *in vitro* et 40 µg pour l'étude *in vivo*. Ils sont préparés avec du tampon de charge (tampon de Laemmli 4X, Bio RAD, réf 1610747) contenant 5% de 2β-mercaptoéthanol (Sigma Aldrich, réf M6250). Les protéines sont dénaturées pendant 5 minutes à 95°C et sont déposées sur le gel de polyacrylamide (Midi gel Criterion TGX ANY KD BIORAD, réf 5678124). La migration s'effectue à un courant de 100 volts pendant 1H30 puis de 150 V pendant 1h. Le gel est ensuite transféré sur une membrane en nitrocellulose (BIORAD, réf BR20200330) par l'équipement Trans Blot Turbo (BIORAD, réf 1704150). Les membranes sont incubées dans un tampon TBS-Tween 0,1% (Tween 20 Sigma Aldrich, réf P1379) et 5% de lait, pour bloquer les membranes et éviter la fixation aspécifique d'anticorps ultérieurement. Les anticorps primaires, dilués dans un tampon (Intercept, LICOR, réf 927-70001) sont incubés pendant 2h sous agitation à température ambiante. Les membranes sont lavées à trois reprises pendant 5 minutes dans du tampon TBS-Tween 0,1%. Les anticorps secondaires sont dilués au 1/2000e dans de l'Intercept. L'incubation se réalise sous agitation, à l'obscurité,

pendant minimum 2h à température ambiante. La protéine vinculine a été utilisée pour normaliser les données (% signal protéine / % signal vinculine). Les bandes ont été visualisées avec l'équipement Odyssey® Imaging System (LI-COR Inc. Biotechnology, Lincoln, NE) et quantifiées avec le logiciel de l'équipement Odyssey®.

5. Statistiques

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel R Studio. Le test ANOVA à un facteur a été utilisé après avoir vérifié la normalité de la distribution (Shapiro-Wilk) et l'homogénéité des variances (Levene). Le seuil de significativité est fixé à 5%. Quand les variances n'étaient pas homogènes entre les groupes et que les résultats ne suivaient pas la loi normale, les données ont été analysées avec les tests non-paramétriques Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney, selon le nombre de groupes. Les différences ont été considérées significatives quand la p-value était inférieure à 0,05. Si les résultats sont significatifs pour le test de Kruskal-Wallis, celui-ci est suivi du test de Dunn avec une correction de Benjamini-Hochberg.

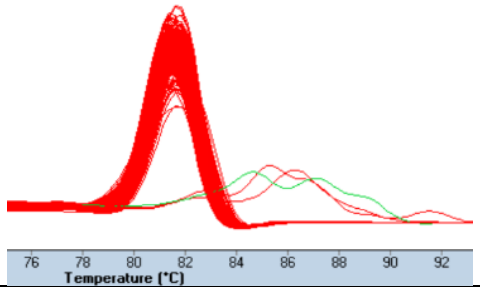
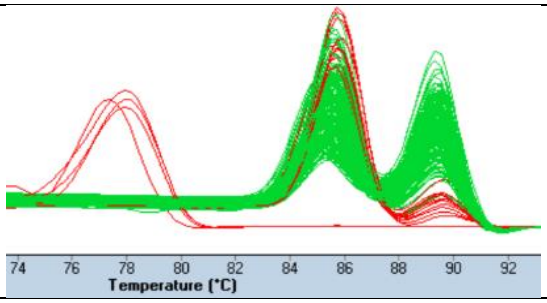
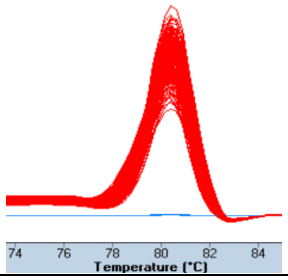
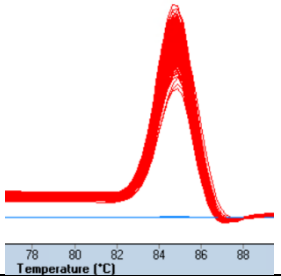
V. Résultats

1. Etude du modèle *in vivo*

1.1 Expression des sous-unités régulatrices de PP1 étudiées dans le *Pectoralis major in vivo*

Les niveaux d'expression des gènes PPP1R3A, B, C et D ont été mesurés par PCR quantitative (qPCR) dans le muscle *Pectoralis major* des 44 poussins. La température de fusion de l'amplicon, ou pic de fusion, a été contrôlée pour chacun des couples d'amorces de gènes (*Tableau VI*). Les gènes PPP1R3A, C et D indiquent un seul pic de fusion (Tm), symbolisant une amplification spécifique et cohérente entre les échantillons, tandis que le gène PPP1R3B affiche plusieurs pics, synonymes de la présence de plusieurs amplifications non spécifiques. Nous nous sommes donc concentrés sur les expressions quantifiables, à savoir PPP1R3A, C et D.

Tableau VI : Pics de fusion des 4 sous-unités in vivo

PPP1R3A	PPP1R3B
	
PPP1R3C	**PPP1R3D**
	

Les expressions des gènes ont été mesurées puis normalisées grâce aux 7 gènes de référence. Après amplification, l'expression de PPP1R3A ressort à partir de 24 cycles, signifiant une quantité moyenne mais homogène de PPP1R3A (*Figure 26*).

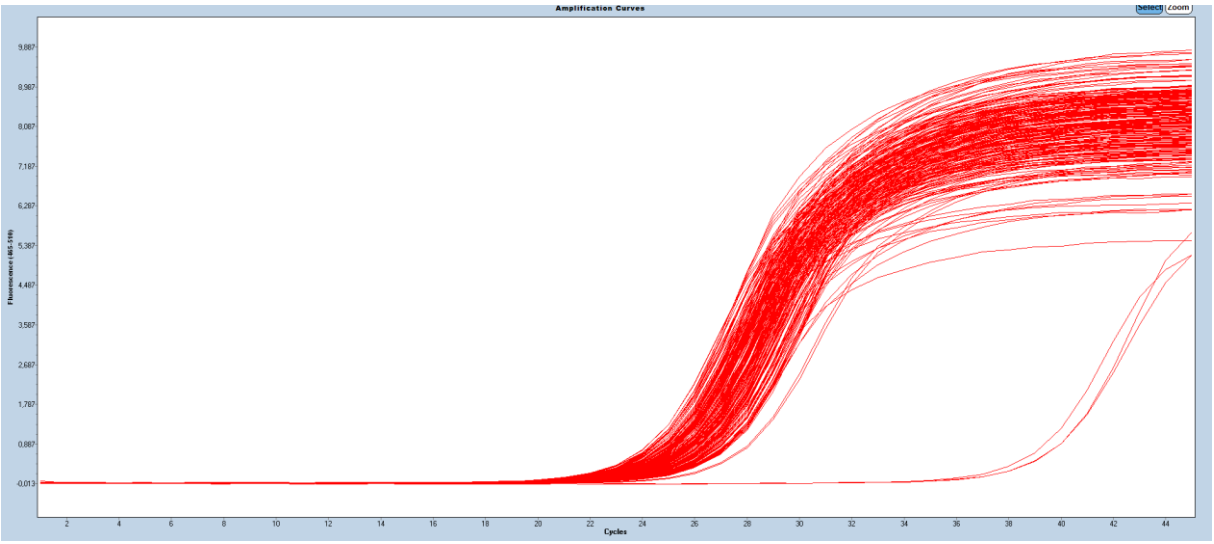


Figure 26 : Courbe d'amplification de PPP1R3A in vivo, fluorescence en fonction du nombre de cycles

Les variances sont homogènes pour l'ensemble des gènes mais les gènes PPP1R3A et 3C ne suivent pas la loi Normale. L'analyse statistique non paramétrique pour A et C (Kruskal-Wallis) et paramétrique pour D (ANOVA à un facteur) a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les sexes (*Annexe I*). Cette analyse permet de rassembler les groupes pour la suite des tests statistiques, en s'affranchissant du sexe des animaux (*Tableau VII*). Les effectifs sont ainsi montés à n=12 par condition.

Tableau VII : Définition des différents groupes

pHu- à jeun	pHu- J
pHu- nourris	pHu- N
pHu+ à jeun	pHu+ J
pHu+ nourris	pHu+ N

Le gène codant la sous-unité régulatrice PPP1R3A est surexprimé chez les poulets à jeun, quelle que soit la lignée (p-value= 0,0195 et p-value = 0,0281 respectivement pour les pHu- et les pHu+) (*Figure 27*) tandis que celui qui code pour PPP1R3C est surexprimé chez les poulets nourris (p-value =0,006 et p-value = 0,05 respectivement pour les pHu- et les pHu+) (*Figure 28*).

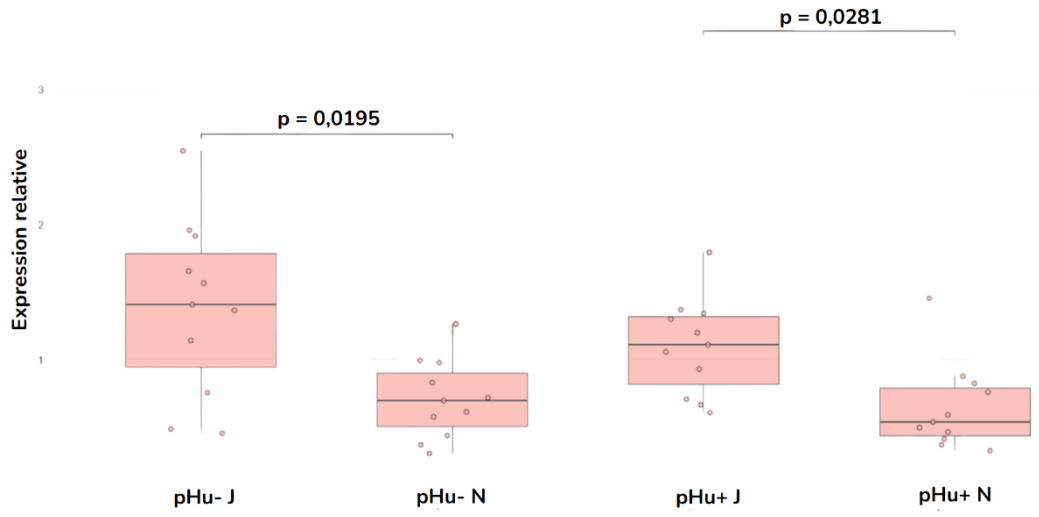


Figure 27 : Expression relative du gène PPP1R3A en fonction des groupes de poulets

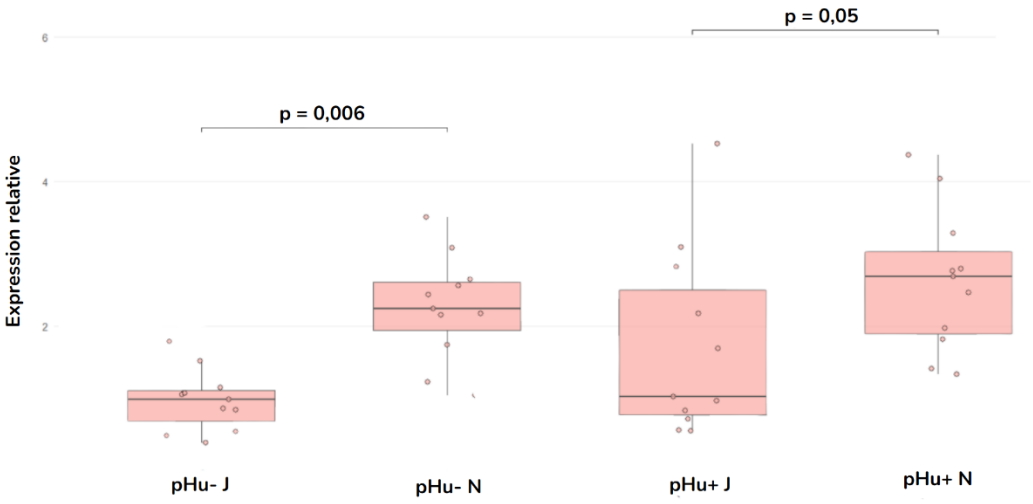


Figure 28 : Expression relative du gène PPP1R3C en fonction des groupes de poulets

L'expression de la sous-unité PPP1R3D a été analysée par le test paramétrique ANOVA à un facteur. Aucun effet significatif n'a été mis en évidence que ce soit pour l'effet lignée ou le statut alimentaire (*Figure 29*).

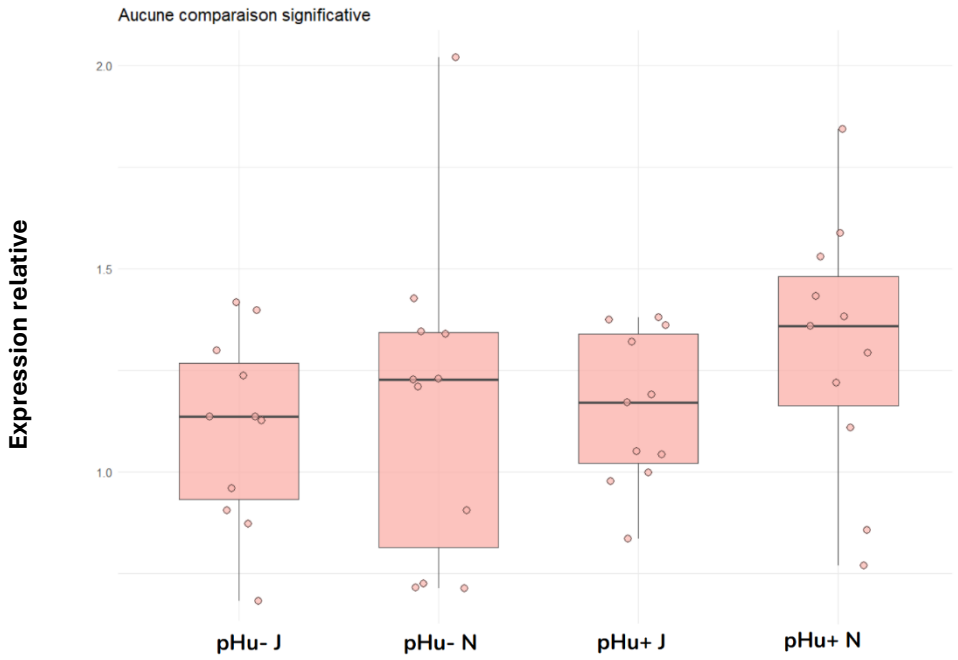


Figure 29 : Expression relative de PPP1R3D en fonction des groupes de poulets

En résumé, quelle que soit la lignée, l'expression des formes PPP1R3A et C semblent être régulée au niveau du *Pectoralis major* par le statut alimentaire des animaux (*Figure 30*) mais pas la forme PPP1R3D.

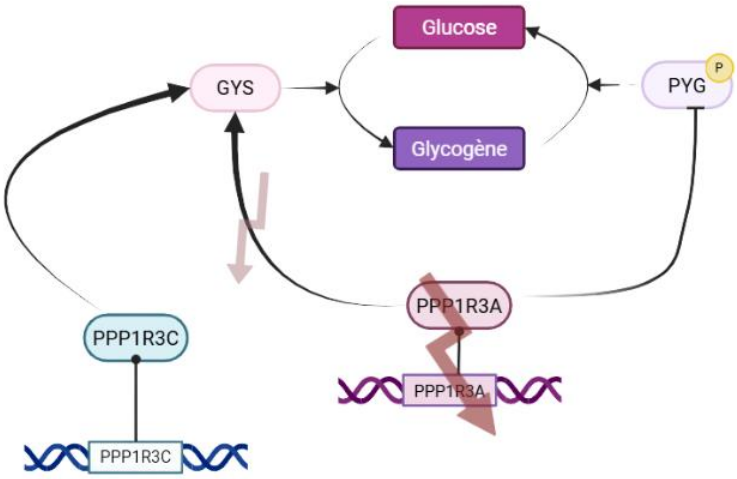


Figure 30 : Schéma de la régulation de PPP1R3A et PPP1R3C chez un poulet nourri. Après ingestion d'un repas, la protéine PPP1R3C est augmentée tandis que PPP1R3A est diminuée.

1.2 Régulation des voies de signalisation de la synthèse du glycogène dans le *Pectoralis major* des lignées pHu+ et pHu-

Les voies de régulation de la synthèse de glycogène ont été étudiées sur le même dispositif que précédemment, à savoir dans les muscles *Pectoralis major* de 44 poussins (pHu+/pHu- ; mâles/femelles ; à jeun/nourris). Les quantifications des protéines ont été normalisées par une protéine stable dans le muscle, la vinculine. Ces quantifications ont été soumises à des tests non paramétriques Kruskal-Wallis pour les protéines phosphoGS (pGS), GS totale (GSt), phosphoGSK3b (pGSK3b), PYG et PPP1R3A et par ANOVA à un facteur pour les protéines GSK3b totale, PGM1 et PP1. Les tests d'expression protéique sur le sexe de l'animal montrent qu'il n'existe pas de différence significative pour l'expression des protéines. Pour renforcer la robustesse des résultats, nous regroupons donc les groupes mâles et femelles entre eux, comme pour l'expression des gènes (*Tableau VII*). Parmi tous les anticorps testés contre les protéines, seuls les résultats concernant la PYG, la GS et la PGM1 se sont avérés significatifs. La glycogène phosphorylase (PYG), impliquée dans la dégradation du glycogène, a été quantifiée par un anticorps reconnaissant la protéine totale dans les lysats de tissus analysés par Western Blot. À la suite de l'analyse statistique (test de Kruskal-Wallis, test de Dunn suivi d'une correction de Benjamini-Hochberg), la protéine PYG est significativement plus exprimée

chez les animaux à jeun en comparaison aux animaux nourris dans la lignée pHu+ (p-value <0,001). De plus, pour la modalité des animaux à jeun, la PYG est plus exprimée dans la lignée pHu+ en comparaison de la lignée pHu- (p-value = 0,01) (*Figure 31*).

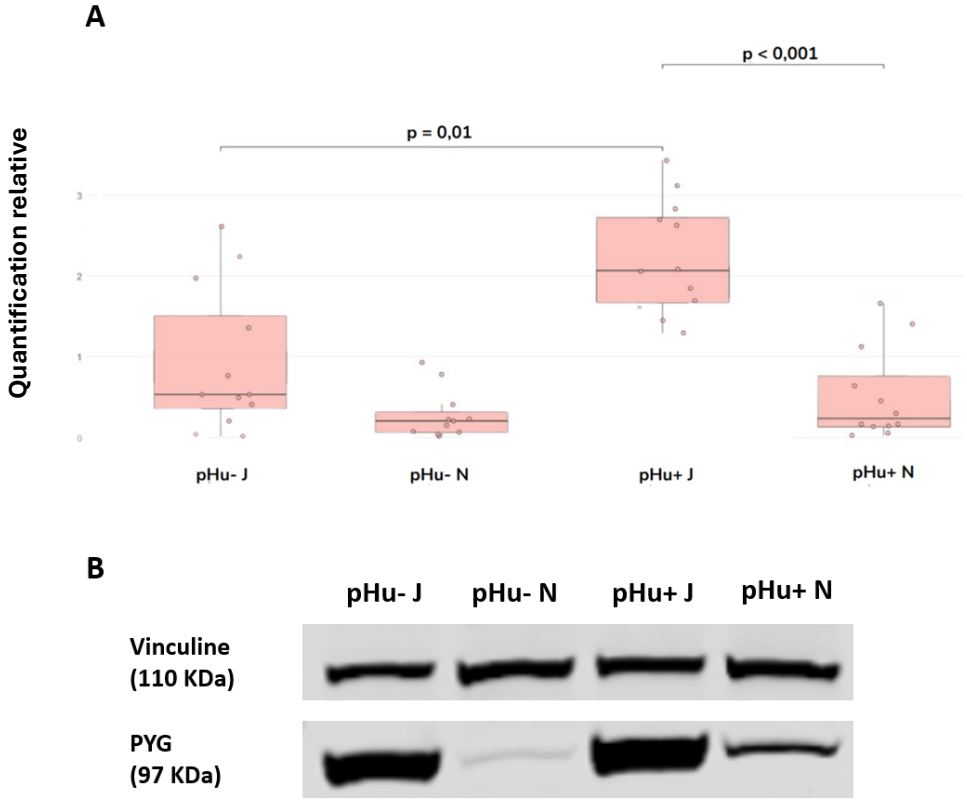


Figure 31 : Quantification relative de la glycogène phosphorylase PYG normalisée avec la vinculine (A) et blot représentatif (B) en fonction des groupes de poulet (lignée et statut alimentaire)

La glycogène synthase (GS) est l'enzyme principale de la synthèse du glycogène. Elle est active lorsqu'elle est déphosphorylée. La phosphoGS (pGS) est donc la forme inactive. La quantification relative de pGS en fonction des groupes ne permet pas de conclure à une différence significative. (*Figure 32*)

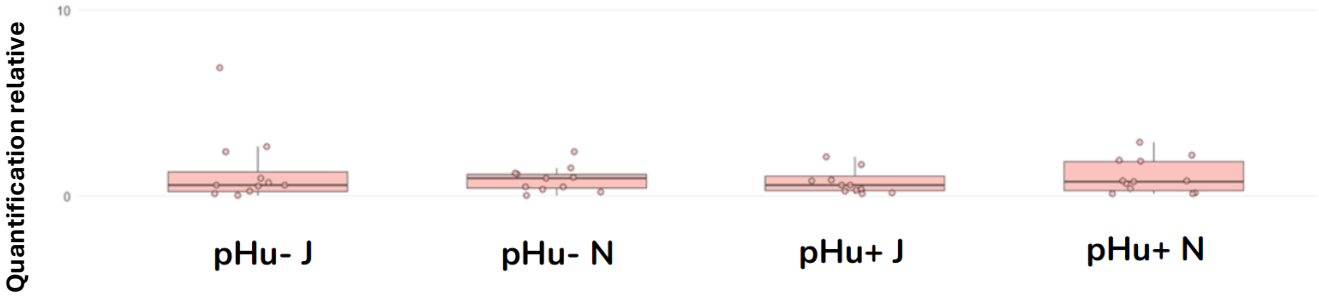


Figure 32 : Quantification relative de la phospho-glycogène synthase (pGS) normalisée avec la vinculine

Nous regroupons donc les statuts alimentaires entre eux afin de mesurer l'effet lignée. Aucune différence significative n'est avérée (*Figure 33*).

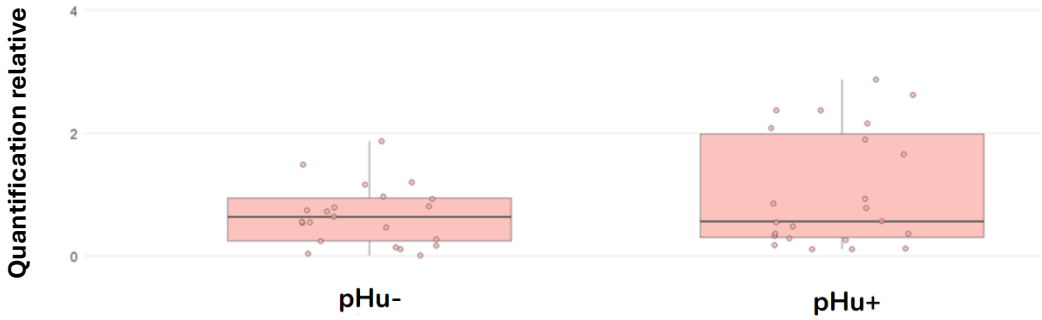


Figure 33 : Quantification relative de la phospho-glycogène synthase (pGS) normalisée avec la vinculine

Nous regroupons alors les lignées pour évaluer l'effet statut alimentaire. Nous obtenons une expression de pGS plus élevée chez les poulets à jeun que chez les nourris (p-value = 0,0193) (*Figure 34A*). Pour vérifier que l'augmentation de la pGS soit bien uniquement due à une augmentation de sa phosphorylation, nous quantifions la protéine totale correspondante (GSt). La protéine GS totale est également augmentée chez les poulets à jeun (p-value = 0,007) (*Figure 34A'*). Par conséquent, le ratio pGS/GS totale n'est pas différent selon le statut alimentaire.

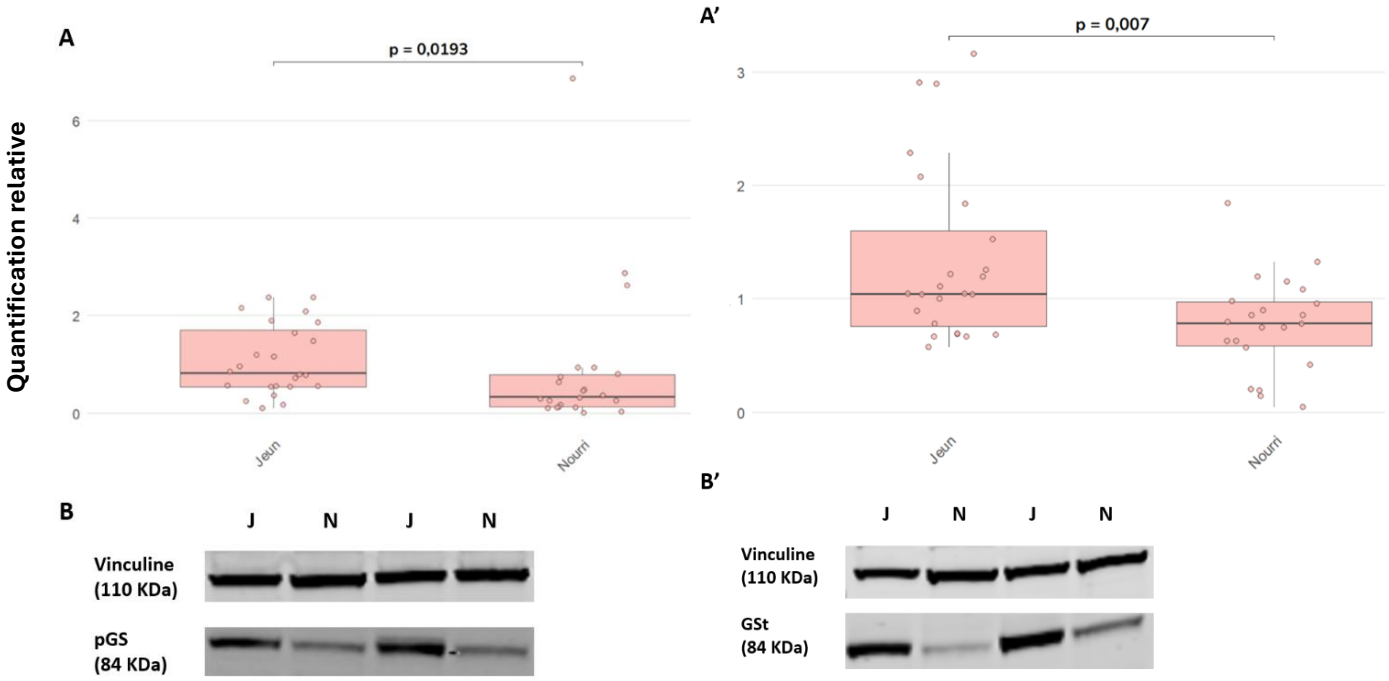


Figure 34 : Quantification relative de la pGS (A) et de la GSt (A') normalisée avec la vinculine et blot représentatif (B et B') en fonction des statuts alimentaires des poulets

La phosphoglucomutase-1 (PGM1) est un intermédiaire entre le stockage du glucose sous forme de glycogène et son utilisation dans le métabolisme énergétique. Cette enzyme peut d'une part convertir le glucose-1-phosphate (G1P) en glucose-6-phosphate (G6P) dans le cadre de la dégradation du glycogène et d'autre part, faire la conversion inverse (G6P en G1P) dans le cadre de la synthèse du glycogène. La quantification relative de PGM1 en fonction des groupes ne permet pas de conclure à une différence significative (*Figure 35*).

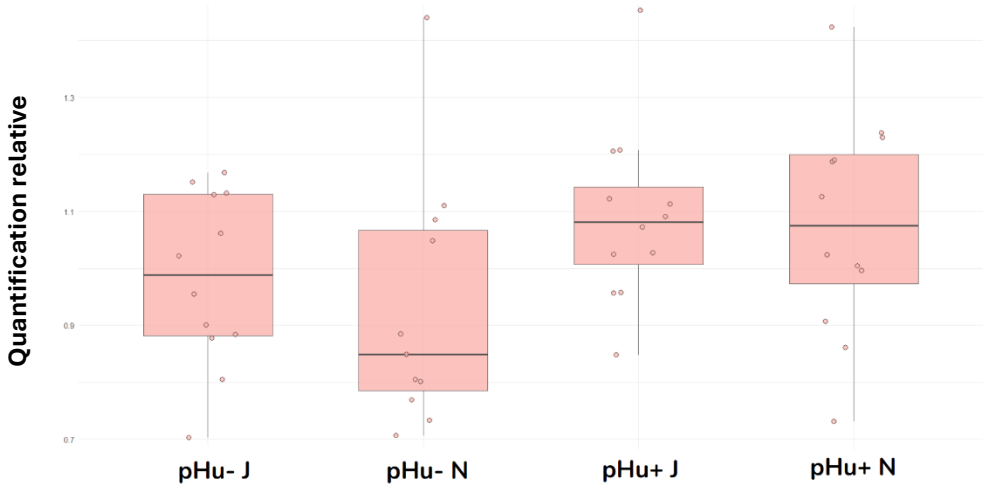


Figure 35 : Quantification relative de la phosphoglucomutase (PGM1) normalisée avec la vinculine

Nous regroupons les lignées entre elles afin de mesurer l'effet statut alimentaire. Aucune différence significative n'est avérée. Nous regroupons alors les statuts alimentaires pour évaluer l'effet lignée. Nous obtenons une expression de PGM1 plus élevée pour la lignée pHu+ (p-value = 0,0197) (*Figure 36*).

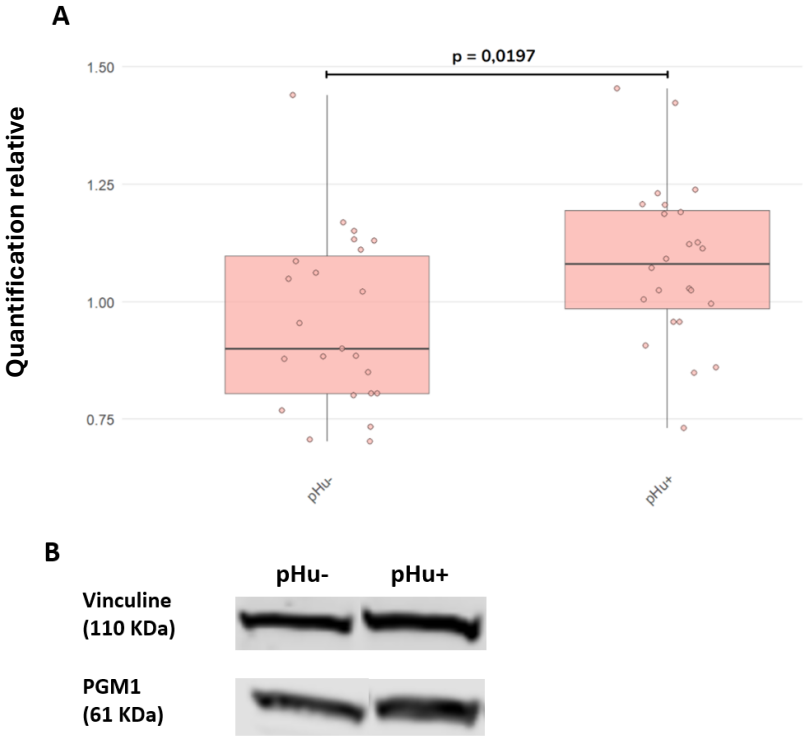


Figure 36 : Quantification relative de la PGM1 normalisée avec la vinculine (A) et blot représentatif (B) en fonction des lignées de poulet

Nos résultats montrent ainsi une plus grande expression de PYG et de PGM1 chez les pHu+, ces deux protéines conduisant à une dégradation du glycogène et une production d'énergie plus importantes chez les pHu+. Nos résultats sont cohérents avec la plus faible teneur en glycogène du muscle chez ces animaux. En revanche, la capacité de synthèse de glycogène, illustrée par l'activité de la GS, n'est pas différentielle entre les lignées mais est plutôt influencée par le statut alimentaire. Dans ce dispositif, les quantités de PPP1R3A ou de PP1 ne sont pas différentes entre les lignées ou les statuts alimentaires mais ce résultat peut être dû à de nombreux facteurs comme l'homologie des anticorps humains avec ceux du poulet qui n'est pas à 100%. La quantité des autres isoformes n'a pas pu être analysée du fait de l'absence d'anticorps commerciaux qui fonctionnent chez l'oiseau.

2. Optimisation et étude du modèle expérimental *in vitro*

Un modèle *in vitro* est développé afin de définir s'il est représentatif du dispositif *in vivo* pour étudier plus finement, en réduisant les expérimentations sur les animaux, les régulations du métabolisme du glycogène, et valider, ou non, le rôle de PPP1R3A pour l'étude des glycogénoses musculaires.

2.1 Capacité de différenciation myogénique dans les lignées pHu+ et pHu- *in vitro*

Une fois les conditions de culture optimisées, la capacité de différenciation des myoblastes en myotubes, issus des deux lignées, a été évaluée avec l'anticorps dirigé contre la protéine sarcomérique MF20 par immunocytochimie et confirmée par Western Blot. L'immunocytochimie et la quantification de la myosine sarcomérique (MF20) ont été évaluées *in vitro* pour comparer la capacité de différenciation des cellules myogéniques des lignées pHu+ et pHu-. Au microscope (*Figure 37*), les myoblastes dérivés de pHu+ ont montré une meilleure capacité de différenciation par rapport aux myoblastes dérivés de pHu-. Cependant, le pourcentage de surface des myotubes, même pour l'échantillon pHu+ le plus dense, est faible (28%). La corrélation entre l'expression de MF20 et le pourcentage de surface est de r^2 = 0,45.

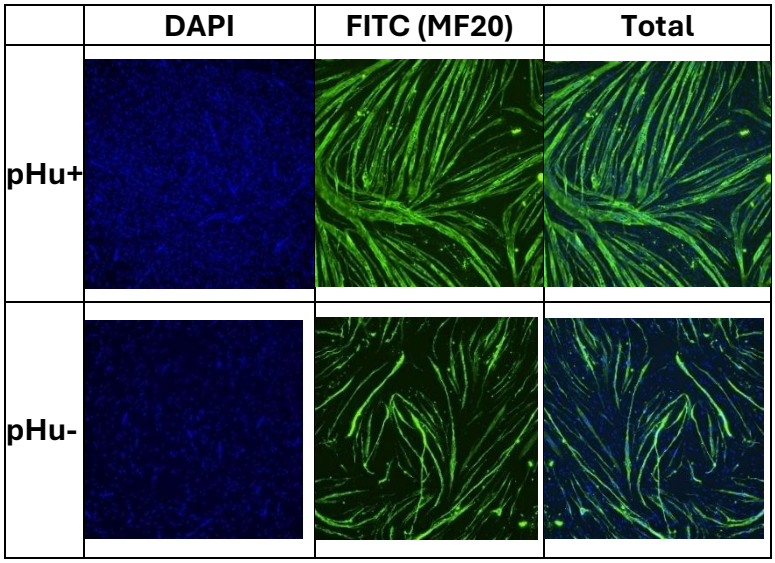


Figure 37 : Immunocytochimie de la myosine sarcomérique (MF20) sur les cellules satellites dérivées du Pectoralis major dans les lignées pHu+ et pHu-.

Bien que la significativité n'ait pas été confirmée en Western Blot, une tendance d'expression plus élevée de la protéine MF20 dans les pHu+ (p-value = 0,065) par rapport à la lignée pHu- (*Figure 38*) est observée.

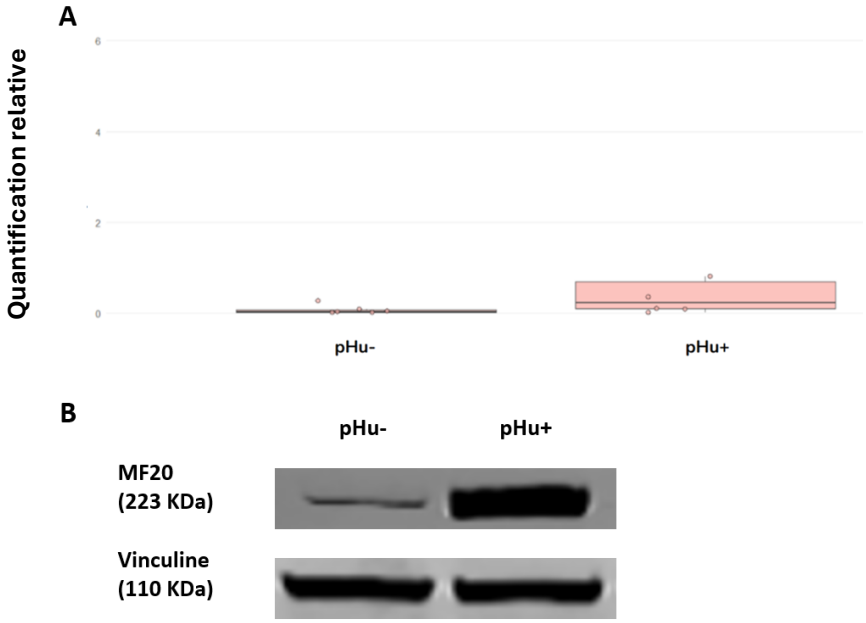


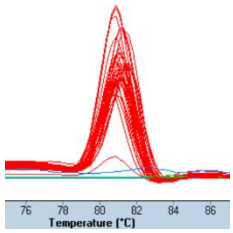
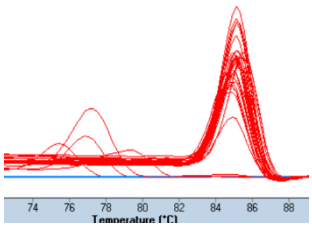
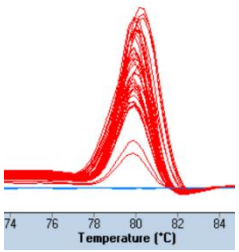
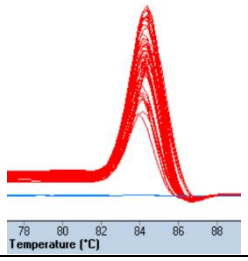
Figure 38 : Quantification de la protéine MF20 normalisée sur la vinculine (A) et blot représentatif (B), en fonction des lignées pHu+ et pHu-

Nos résultats montrent une perspective d'optimisation pour les futures études par le biais de l'augmentation de la différenciation cellulaire. Un meilleur pourcentage de surface de myotubes pourrait amener à améliorer la qualité des résultats *in vitro*.

2.2 Les gènes codants pour les isoformes PPP1R3A, B, C et D sont exprimés dans les cellules musculaires *in vitro*

Nous avons mesuré l'expression de PPP1R3A, B, C et D dans les cellules issues d'animaux pHu+ et pHu-. Les pics de fusion ont été contrôlés pour chacun des couples d'amorces de gènes (*Tableau VIII*). Les gènes PPP1R3A, B, C et D indiquent un seul pic de fluorescence de Tm, symbolisant une amplification spécifique et cohérente entre les échantillons.

Tableau VIII : Pics de fusion des 4 sous-unités in vitro

PPP1R3A	PPP1R3B	PPP1R3C	PPP1R3D
			

Les Ct sont en moyenne élevés (25-30 cycles) ce qui suggère un taux d'expression assez faible (*Figure 39*).

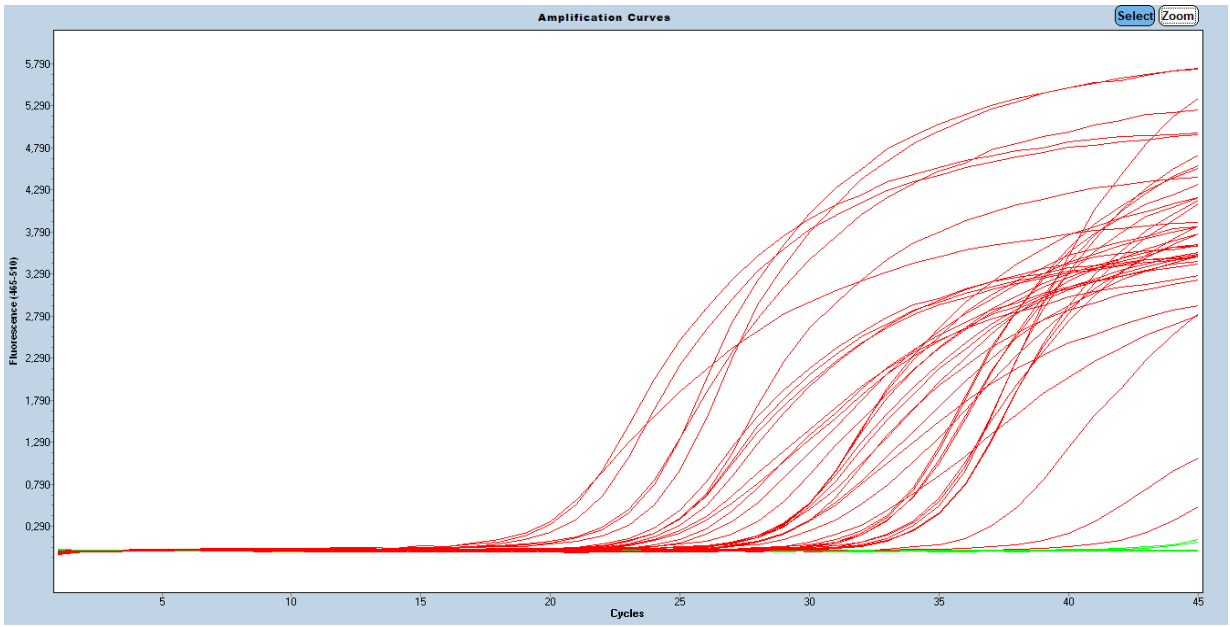


Figure 39 : Courbe d'amplification de PPP1R3A in vitro, fluorescence en fonction du nombre de cycles

L'expression des différentes isoformes de la protéine régulatrice de PP1 a été quantifiée dans les cultures de myoblastes des lignées pHu+ et pHu- en différenciation. La détermination de l'expression des différentes isoformes a été réalisée par qPCR. *In vitro*, les expressions des gènes codant pour PPP1R3A, B et C ne sont pas significativement différentes entre les pHu+ et les pHu-. Contrairement aux résultats *in vivo*, l'isoforme PPP1R3B est exprimée dans les cellules musculaires *in vitro*. Seule l'isoforme D est significativement plus exprimée chez les pHu+ (p-value = 0,0411) (*Figure 40*).

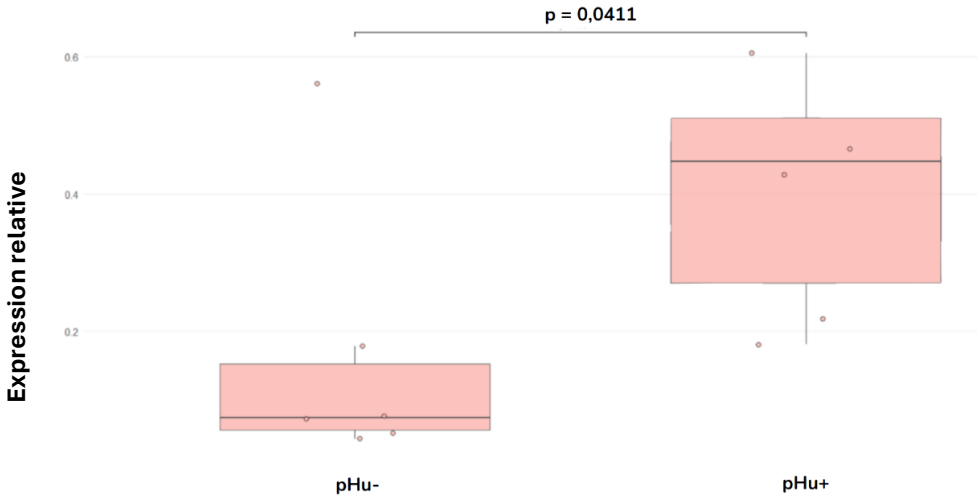


Figure 40 : Expression relative du gène PPP1R3D en fonction des lignées

In vitro, l'expression des gènes n'est pas différenciée entre les lignées mis à part celle de l'isoforme ubiquitaire PPP1R3D.

2.3 Voie de signalisation du métabolisme du glycogène *in vitro*

Les principales protéines impliquées dans le métabolisme du glycogène étudiées *in vivo* sont également mesurées *in vitro*. Cependant, aucune protéine n'est significativement différentielle entre les cultures de cellules des lignées pHu+ et pHu- (*Figure 41*).

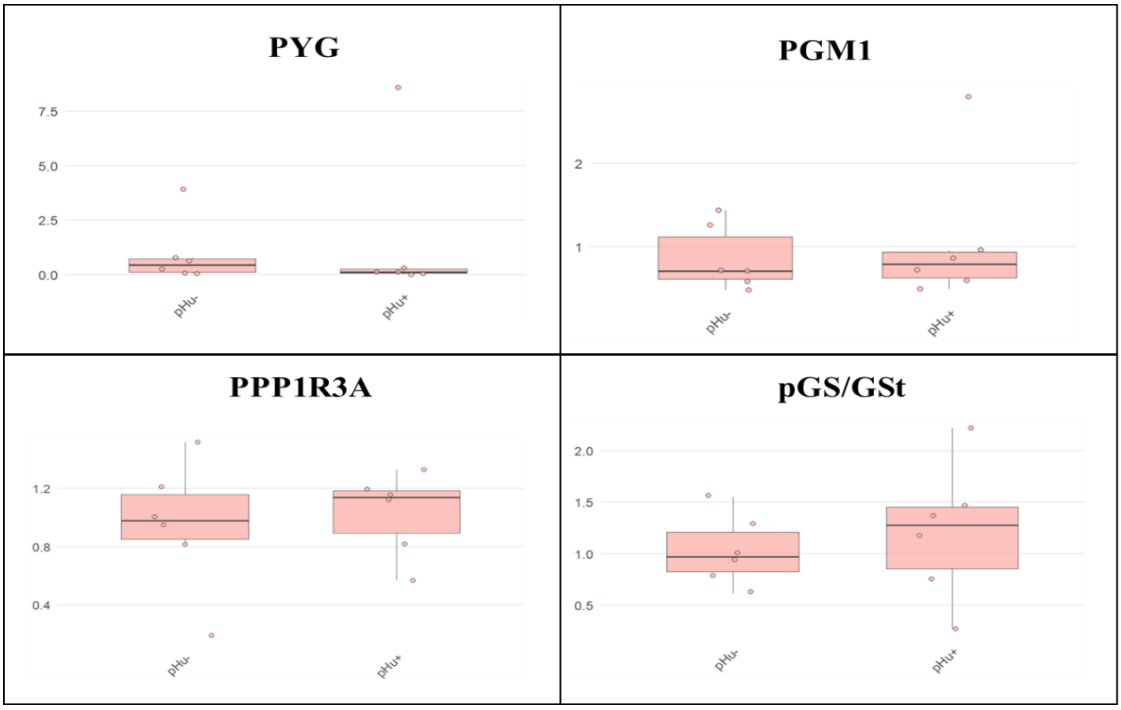


Figure 41 : Quantification relative des protéines impliquées dans le métabolisme du glycogène en fonction des lignées pHu+ et pHu-

Par l'étude quantificative des protéines, le modèle *in vitro* ne reflète pas les résultats observés dans le dispositif *in vivo*. Le modèle *in vitro* nécessite très certainement de réaliser des stimulations pour pouvoir observer des régulations du métabolisme du glycogène.

2.4 Simulation de statuts alimentaires

Le statut alimentaire étant la plus grande variable dans le dispositif *in vivo*, nous tentons de simuler différents statuts alimentaires dans le dispositif *in vitro*, en modifiant la concentration en glucose des milieux lors des cultures cellulaires. Deux statuts sont alors testés : G- et G+. Le statut normal, G+, correspond à une concentration en glucose de 3,15g/L. Le statut pauvre en glucose, G-, correspond à une concentration en glucose de 1g/L.

L'expression des gènes, ne suivant pas la loi Normale, est analysée par Kruskal-Wallis en fonction des groupes : pHu+ G- ; pHu+ G+ ; pHu- G- ; pHu- G+. Aucune différence significative n'est retrouvée entre les groupes. Nous remarquons cependant une augmentation de l'expression de PPP1R3A et D chez les pHu+ lorsque que la concentration en glucose est plus élevée, due à 3 échantillons pour A et 2 pour D exprimant beaucoup plus les isoformes dans les conditions « nourries ». De plus, la moyenne de l'expression de PPP1R3A chez les pHu- G+ a une tendance légèrement plus élevée que les autres groupes. Cependant, les quantités géniques sont trop faibles pour établir des conclusions (*Figure 42*).

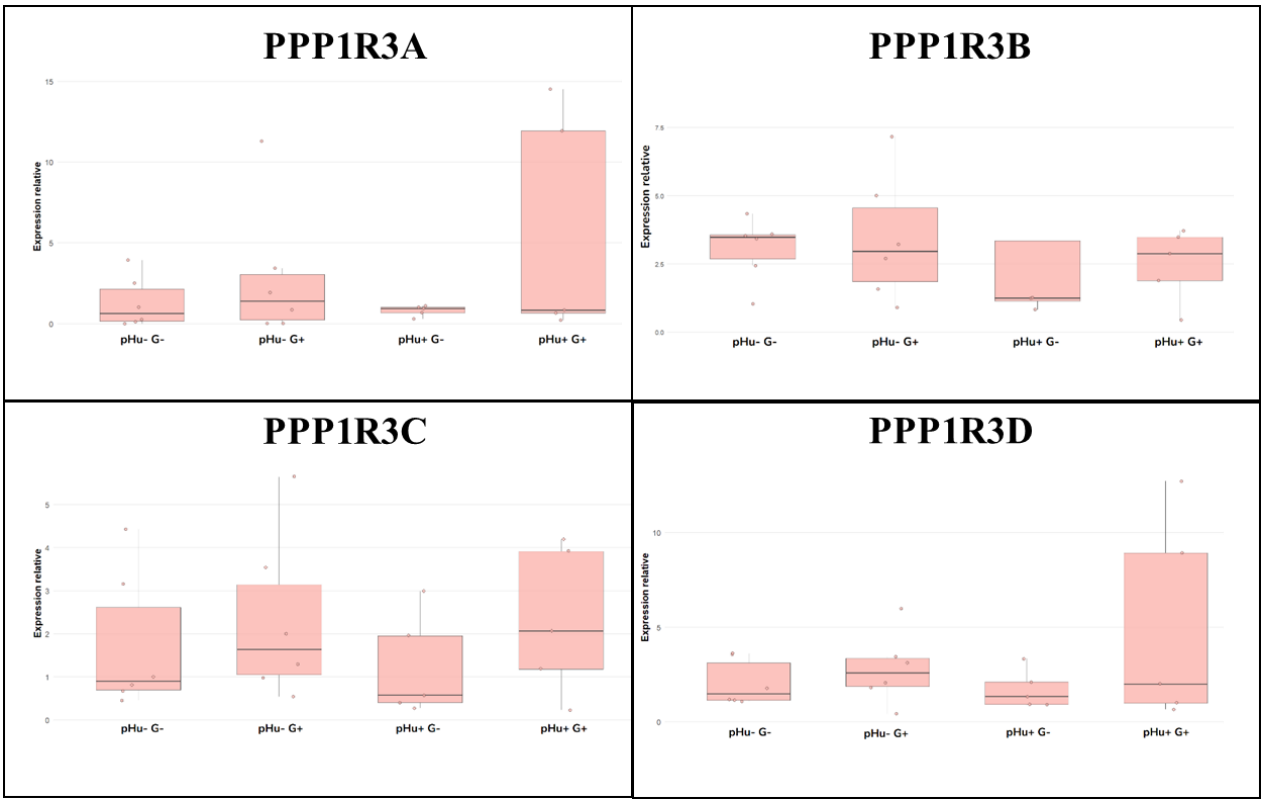


Figure 42 : Expression relative des gènes en fonction des groupes (lignée et concentration en glucose)

Ce test n'est qu'une ébauche pour démontrer un effet du statut alimentaire *in vitro*. Il est perfectible d'autant plus qu'ici, seulement la concentration en glucose est différentielle alors qu'il existe de nombreux autres acteurs jouant sur le statut alimentaire. Cette démarche a été effectuée dans le but d'établir une première approche sur la question.

VI. Conclusion du modèle expérimental

Ce travail s'est inscrit dans la continuité des études conduites dans le laboratoire MOQA à l'INRAE visant à mieux comprendre la régulation du métabolisme du glycogène chez le poulet et d'en évaluer les conséquences sur la physiologie de l'animal, sa robustesse et la qualité de sa viande. Le modèle expérimental s'est appuyé sur un modèle de lignées divergentes de poulet sur la teneur en glycogène du muscle *Pectoralis major*, les lignées pHu+ et pHu-. Des approches sans *a priori* avaient montré une différence très précoce de l'orientation métabolique des animaux (Beauclercq et al., 2017; Métayer-Coustard et al., 2021). De ces études, un candidat fonctionnel et positionnel a été identifié comme différentiel entre les lignées pHu+ et pHu-, le gène PPP1R3A, qui code une sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase 1 (PP1). Cette différence en faveur d'une surexpression de PPP1R3A dans la lignée pHu- a été plus récemment confirmée par RNAseq sur du muscle *Pectoralis major* d'animaux de 28 jours, nourris (Bochereau et al., 2025). Cette étude expérimentale avait pour but de mesurer l'expression des différentes sous-unités régulatrices de la protéine PP1 (PPP1R3A, B, C et D) dans le muscle *Pectoralis major* de poussins de lignées pHu+ et pHu− en fonction du statut alimentaire des animaux, comparer les régulations des acteurs clés du métabolisme du glycogène entre les deux lignées et en fonction du statut alimentaire, et développer et valider un modèle de culture *in vitro* de myoblastes issus des lignées pHu+ et pHu- afin de valider, ou non, le rôle de PPP1R3A dans le métabolisme du glycogène chez le poulet et, de ce fait, établir un modèle animal pour les glycogénoses musculaires.

Les données *in vivo* ont montré que l'isoforme PPP1R3A est significativement plus exprimée chez les poulets à jeun, en particulier dans la lignée pHu-, pouvant traduire un mécanisme de restauration et de préservation des réserves en glycogène dans un contexte de déficit énergétique. Ce mécanisme est cohérent avec le rôle connu de PPP1R3A dans la régulation de la synthèse de glycogène via l'activation de la glycogène synthase et l'inhibition de la glycogène phosphorylase (Beauclercq et al., 2017). Aucun effet du sexe sur l'expression des gènes n'a été observé, ce qui permet de suggérer que cette expression n'est pas régulée par des facteurs génétiques sexuels, permettant de s'affranchir de ce facteur pour la suite des études. Cependant au niveau protéique, les protéines PPP1R3A et PP1 ne sont pas différentielles entre les lignées. La capacité de synthèse du glycogène évaluée par le ratio pGS/GS n'est pas non plus différente entre les lignées. Seuls des acteurs intervenant dans la dégradation du glycogène et la production d'énergie s'avèrent différentiels et supérieurs chez les pHu+, ce qui

est cohérent avec leur stock de glycogène plus faible au niveau musculaire (Alnahhas et al., 2015). Par ce mécanisme, la lignée pHu+ serait en mesure de mobiliser fortement le glycogène à des fins énergétiques, contribuant *in fine*, à une faiblesse musculaire. D'autres formes de protéines régulatrices de la PP1 (PPP1R3C et D) sont exprimées également au niveau du muscle. Bien que non différentiellement exprimée entre les pHu+ et les pHu-, l'expression de PPP1R3C est régulée par le statut nutritionnel des animaux. En effet, PPP1R3C est surexprimée chez les poulets nourris tandis que PPP1R3A l'est chez les animaux à jeun. Cette opposition est décrite dans l'article de Montori-Grau et al. (2007) démontrant qu'en absence de PPP1R3A, et donc avec une diminution de l'activité de la GS, PPP1R3C active partiellement la GS pour atténuer la perte de glycogène sans pour autant restaurer les niveaux physiologiques.

Les résultats obtenus *in vitro* sont plus difficiles à interpréter. Les cultures cellulaires présentent un faible taux de différenciation (inférieur à 30%), ce qui compromet la capacité du modèle à refléter l'état physiologique du muscle *Pectoralis major*. De plus, la protéine MF20, marqueur des myotubes, n'est que faiblement exprimée, et ce, de manière variable. Ces observations induisent de fortes variabilités des résultats et peu d'entre eux ressortent significatifs et discutables. Cependant, la lignée pHu+ semble avoir une meilleure capacité de différenciation que la lignée pHu-, résultats rejoignant les expériences effectuées en 2021 sur une autre génération de poulets, qui plus est, d'âges différents (Métayer-Coustard et al., 2021). La capacité de différenciation des myotubes de la lignée pHu+ est donc confirmée. Dans nos conditions de cultures cellulaires, les mesures d'expression de gènes ont montré que les isoformes PPP1R3A, C et D sont faiblement exprimées *in vitro* par les myoblastes différenciés. Seule PPP1R3D présente une expression différentielle selon la lignée (plus exprimée chez les pHu+). Chez les pHu+, PPP1R3A étant moins exprimée, PPP1R3D pourrait compenser l'activité de régulation du glycogène, illustrant un effet compensatoire comme décrit pour l'isoforme PPP1R3C dans l'article de Delibegovic *et al.*(2003). Cependant, cette hypothèse devra être vérifiée par invalidation fonctionnelle via l'inhibition spécifique de PPP1R3A et l'inhibition conjointe de PPP1R3A et PPP1R3D.

Le fait que l'expression du gène PPP1R3B ne soit pas quantifiable dans le muscle *in vivo*, alors qu'il est, même faiblement, exprimé *in vitro* souligne l'importance du contexte tissulaire dans l'étude des voies métaboliques et l'importance des régulations hormonales induites par des apports alimentaires. Cela renforce également la nécessité de s'assurer de la spécificité

tissulaire des sous-unités avant toute extrapolation fonctionnelle. D'après la littérature, l'activité principale de PPP1R3B se situe dans le foie, contribuant au métabolisme du glycogène hépatique (Mehta et al., 2017). En outre, il n'existe pas de preuve que PPP1R3B joue un rôle métabolique important en dehors du foie. *In vitro* dans les cellules musculaires, PPP1R3B peut avoir une expression basale faible, mais une fois dans l'environnement complet du muscle *in vivo*, ne s'exprime plus, n'étant pas soumis à des régulations effectrices.

Dans les cellules cultivées dans un milieu de culture riche en sérum et en glucose, la voie de signalisation du glycogène n'a pas été activée différentiellement entre les pHu+ et les pHu-. Cela peut s'expliquer par le fait que les cellules ne sont pas en conditions physiologiques optimales (faible différenciation), mais également avec l'absence de régulation (absence de stimuli hormonaux ou métaboliques). L'approche *in vitro* a permis de poser les bases d'un modèle cellulaire exploratoire, bien que perfectible. L'absence de réponse à la simulation de « statut alimentaire » dans le modèle *in vitro* suggère que le microenvironnement cellulaire est déterminant pour une régulation des voies métaboliques. Il est probable que des stimuli hormonaux, tels que l'insuline, absents dans notre étude, soient nécessaires et indispensables pour activer, par exemple, les cascades de signalisation (Métayer-Coustard et al., 2021).

Plusieurs limites doivent être soulignées pour l'ensemble de ce travail. Les études *in vivo* n'ont pas permis de mesurer avec exactitude l'expression des protéines d'intérêt. Les anticorps de poulet n'existant pas sur le marché, des anticorps humains ont été utilisés, dont l'homologie avec ceux du poulet n'est pas totale. D'autre part, la variabilité entre échantillons, notamment *in vitro*, réduit la puissance statistique et le faible taux de myotubes empêche une extrapolation directe des résultats cellulaires à la physiologie musculaire. De plus, l'étude s'est essentiellement concentrée sur l'expression des gènes et des protéines. Tant que la variabilité des cultures ne sera pas maitrisée, il sera impossible avec ce modèle *in vitro* d'envisager des études mécanistes de régulation ou encore d'invalidation des différentes formes des protéines régulatrices de la PP1. En revanche, pour perfectionner la compréhension de ces protéines, des travaux pourraient être envisagés sur les lignées immortalisées aviaires de cellules, les lignées QT6 et QM7. Il s'agit de modèles beaucoup moins variables qui ont déjà permis des études mécanistes de régulation de voies métaboliques majeures (Métayer-Coustard et al., 2010; Tesseraud et al., 2003, 2007). Cela invite à optimiser les cultures, en variant les nutriments comme les acides aminés ou la

concentration en glucose, mais aussi à explorer des modèles plus complexes comme les organoïdes ou autres modèles 3D mimant plus fidèlement l'environnement musculaire (Shin et al., 2022).

Ce travail a permis de renforcer la compréhension des mécanismes régulant le métabolisme du glycogène dans le muscle squelettique du poulet, en s'appuyant sur un modèle original de lignées divergentes (pHu+ et pHu-). L'analyse conjointe des données d'expression de gènes et de protéines, obtenues à la fois *in vivo* et *in vitro*, a mis en évidence la complexité des régulations du métabolisme du glycogène. L'unité BOA mène actuellement d'autres travaux concernant PPP1R3A, montrant qu'il existe de nombreux variants de cette protéine. Ce travail ouvre la voie à plusieurs perspectives de recherche, notamment l'étude fonctionnelle ciblée des isoformes régulatrices de PP1 par CRISPR/Cas9 ou par surexpression par l'utilisation de plasmides, mais dans des systèmes de culture présentant moins de variabilité. Il a également permis d'invalider le modèle *in vitro*, tel qu'il est actuellement, comme modèle pertinent pour explorer les voies de régulation du métabolisme du glycogène. Ces recherches ont pu apporter des réponses et des outils dans l'étude des pathologies humaines métaboliques, les glycogénoses musculaires, où PP1 et ses régulateurs sont également impliqués.

VII. Discussion générale

Ce travail s'est inscrit d'une part dans la continuité des études conduites dans le laboratoire MOQA à l'INRAE visant à mieux comprendre la régulation du métabolisme du glycogène chez le poulet et d'en évaluer les conséquences sur la physiologie de l'animal, sa robustesse et la qualité de sa viande. D'autre part, il s'inscrit dans une approche translationnelle, visant à étudier, par transposition, l'intérêt du poulet dans la compréhension des glycogénoses musculaires chez l'humain et son potentiel en tant que modèle animal.

Les principaux objectifs de cette thèse étaient de présenter les bases biochimiques et physiologiques chez l'humain ainsi que les mécanismes physiopathologiques des glycogénoses musculaires humaines et les traitements actuels, de caractériser le métabolisme glycogénique du poulet et le comparer à celui de l'humain, d'appliquer ce modèle expérimental en étudiant les acteurs du métabolisme glycogénique chez le poulet de chair pour analyser la pertinence de cet animal dans l'étude des glycogénoses, tant sur le plan des mécanismes que sur l'aspect thérapeutique et enfin d'explorer des perspectives de recherche, incluant le développement de modèles *in vitro*.

1. Contexte scientifique

Ce travail a permis dans un premier temps de revoir les acteurs principaux de la voie du métabolisme du glycogène et l'équilibre entre glycogénogénèse et glycogénolyse. Nous avons pu rappeler le rôle des enzymes et notamment celui principal de la glycogène synthase et de la glycogène phosphorylase. A partir de ces bases, les déficits enzymatiques impliqués dans chacune des glycogénoses musculaires semblent plus évidents et leurs conséquences sont plus éclairées. Bien que les différents types de glycogénoses musculaires se rassemblent en des caractéristiques communes comme la faiblesse musculaire ou l'intolérance à l'effort, elles sont toutes physiologiquement différentes. En effet, chaque glycogénose concerne une enzyme différente impliquée dans la voie du métabolisme du glycogène. Ces pathologies, en tant que maladies rares, sont difficiles à étudier, notamment en raison du nombre limité de patients, du manque de modèles adaptés et d'un retour sur investissement faible pour l'industrie pharmaceutique. Bien que la plupart d'entre elle soit aujourd'hui décrites et disposent d'un modèle animal, cinq glycogénoses musculaires (types X, XII, XIII, XIV, XV) ne disposent toujours pas de modèle expérimental, soulignant la nécessité de développer des approches alternatives ou complémentaires.

2. Pertinence du poulet comme modèle des glycogénoses musculaires

L'étude génétique du poulet (*Gallus gallus domesticus*) a révélé que presque l'ensemble des gènes impliqués dans les glycogénoses était présent chez le poulet. Seulement les gènes PGAM2 et ENO3, dont la mutation induit respectivement les GSD X et XIII, sont absents du génome aviaire. Dans une perspective de développement de modèles animaux par modification génétique CRISPR-Cas9 pour des glycogénoses ne disposant pas encore de modèle, le poulet apparait particulièrement intéressant pour les GSD XII et XIV. Par ailleurs, pour les glycogénoses musculaires déjà modélisées chez d'autres espèces, le poulet pourrait constituer un modèle complémentaire pertinent, tant sur le plan physiopathologique que thérapeutique ou diététique.

Au-delà de son intérêt en physiologie et en biologie du développement, le poulet représente aujourd'hui un modèle animal pertinent pour l'étude de plusieurs glycogénoses musculaires, notamment les types V, VII, XII, XIV et XV. Sur le plan expérimental, le poulet, et notamment celui de chair issu des lignées pHu représenterait plusieurs avantages par rapport aux modèles murins classiques.

3. Apports spécifiques du modèle poulet

Ainsi, le poulet apparait comme un modèle préclinique pertinent et encore sous-exploité pour l'étude mécanistique et thérapeutique des glycogénoses musculaires. Ses muscles rapides sont riches en fibres glycolytiques, ce qui est particulièrement pertinent pour l'étude de maladies du métabolisme comme les glycogénoses musculaires. De plus, la génomique aviaire est aujourd'hui bien caractérisée et les outils de génétique fonctionnelle et de manipulation génomique comme CRISPR-Cas9 sont disponibles, facilitant de ce fait la création de modèles transgéniques ciblés. La taille de l'animal permet également des prélèvements musculaires répétés et des études métabolomiques *in vivo* qui sont difficiles à réaliser chez les petits rongeurs. La lignée pHu+, ayant une faible quantité de glycogène, représenterait les patients ayant un déficit de synthèse du glycogène ou un déficit de mobilisation du glycogène, affaiblissant ainsi les muscles. A contrario, la lignée pHu-, ayant une plus grande quantité de glycogène musculaire, représenterait les patients avec une accumulation de glycogène (*Tableau IX*).

Tableau IX : Sélection des modèles animaux issus des lignées pHu selon les différents types de glycogénoses

Type de GSD	pHu-	pHu+
0b		
II		
III		
IV		
V		
VII		
XII		
XIV		
XV		

La GSD 0b est la seule impliquant un déficit du glycogène par un déficit de synthèse. Elle est de ce fait représentée dans la lignée pHu+. A noter que la GSD XIV induit des défauts à la fois dans la glycogénogénèse et la glycogénolyse, mais l'étude de PGM1 dans les lignées pHu a indiqué une plus faible quantité de cette enzyme dans la lignée pHu-, d'où sa représentation par cette lignée.

Ensuite, les différents modèles de poulet pourront être soumis à la modélisation de PPP1R3A. Sa surexpression pourra être testée dans un déficit en glycogène synthase (GSD 0b) pour surexprimer la glycogène synthase et rétablir potentiellement son activité. A contrario, son inhibition sera à tester pour déterminer si lever son action inhibitrice pourrait rétablir l'activité de PYG dans la GSD V.

4. Hypothèses de modèles de glycogénoses chez le poulet

A partir de l'ensemble des caractéristiques du poulet qui ont été recueillies, plusieurs hypothèses peuvent être formulées quant à la mise en place de modèles aviaires atteints de glycogénoses musculaires et issus des lignées pHu+ et pHu-.

Le poulet par sa masse musculaire prédominante est un bon modèle pour tester l'effet d'un déficit en GAA sur l'accumulation anormale de glycogène lysosomal dans la maladie de Pompe, avec une surcharge progressive des fibres musculaires, une faiblesse motrice et une atteinte cardiaque. De plus, cette masse musculaire mobilise intensément le glycogène

intramusculaire lors d'un effort court et intense, notamment lors du vol de l'oiseau ou sa fuite à un danger rendant le poulet pertinent pour l'étude de la GSD de type V où un déficit en PYGM se traduirait par une intolérance à l'effort court, un maintien anormal de glycogène dans les fibres et une lactatémie basse. Une inhibition de la PFKM chez le poulet empêcherait l'utilisation du glycogène, malgré sa mobilisation, reproduisant un blocage de la glycolyse musculaire observé dans la GSD de type VII avec une accumulation de glycogène, une lactatémie musculaire réduite, une intolérance à l'effort anaérobie et une utilisation compensatoire des lipides. Concernant la GSD de type XII dépourvue de modèle animal, un *knock-out* ou un *knock-down* du gène ALDOA permettrait d'étudier les conséquences d'une augmentation du stockage du glycogène par un ralentissement de la glycogénolyse. Enfin, pour la GSD de type XIV, impliquant le gène PGM1, un *knock-down* partiel semble plus approprié qu'un *knock-out*, ce dernier étant délétère dès l'embryogénèse.

Le poulet présente aussi des profils distincts de stockage du glycogène selon les muscles, reflétant la variabilité clinique des GSD musculaires et de leurs sous-types. Cette hétérogénéité intermusculaire pourrait constituer un atout pour étudier la diversité des phénotypes et la sévérité variable des affections cliniques. De plus, le poulet peut permettre d'étudier des symptômes sous-jacents des glycogénoses voire les effets secondaires de potentiels traitements en omettant les effets du stress oxydatif pouvant masquer une partie des complications musculaires chroniques observées dans les GSD humaines. En effet, malgré l'hyperglycémie basale et la mobilisation glycogénique, le poulet limite le stress oxydatif via des antioxydants endogènes (uricémie, SOD, catalase). Les modèles de GSD musculaires aviaires montreraient une altération énergétique avec moins de dommages oxydatifs que dans les modèles mammifères. Une étude sur plus long terme peut être alors envisagée. Enfin, grâce à l'étude sur la régulation protéique par le statut alimentaire dans les lignées pHu, des régimes spécifiques, comme des apports cétogéniques ou protéiques, et des conseils hygiéno-diététiques peuvent être élaborés dans les modèles aviaires pour les patients atteints de glycogénoses.

5. Perspectives de recherche et de modélisation dans les glycogénoses musculaires

Les avancées récentes en génétique, biologie cellulaire et biotechnologies ouvrent aujourd'hui des perspectives majeures dans le domaine des glycogénoses musculaires, tant sur le plan de la prise en charge thérapeutique et des modèles d'études précliniques que sur le diagnostic. Ainsi, de nouvelles approches thérapeutiques prometteuses émergent et s'orientent vers des stratégies personnalisées et ciblées. Néanmoins, l'amélioration des outils diagnostiques soulève la question de leur pertinence, de leur impact clinique et sur la santé mentale des patients. Dans le cas des glycogénoses musculaires, le diagnostic n'est généralement pas une priorité en l'absence de symptômes : lorsque ceux-ci apparaissent, des analyses sont effectuées et *in fine*, grâce à l'étude génétique, la glycogénose est diagnostiquée. En revanche, dans un contexte de dépistage précoce ou néonatal, recommandé ou rendu obligatoire, les patients peuvent être diagnostiqués sans développer pour autant des formes sévères voire en restant asymptomatiques. Dans ces situations, l'impact psychologique du diagnostic réduit nettement les bénéfices attendus.

Dans ce contexte, le développement de modèles d'études précliniques pertinents constitue un levier essentiel pour approfondir la compréhension des mécanismes des glycogénoses musculaires. Ainsi, dans ce travail, la pertinence du modèle aviaire pour étudier les glycogénoses musculaires chez l'homme a été abordée. Cependant, avant d'envisager la génération de modèles *knock-out* par CRISPR-Cas9, il sera nécessaire d'évaluer, pour chaque gène d'intérêt, la viabilité du poulet et les conséquences développementales induites. Le choix entre *knock-out* et *knock-down* devra être orienté par les données des études de la littérature, certaines suppressions géniques étant létales, comme cela a été observé pour PP1.

Dans des études parallèles, l'œuf a été étudié, apportant un panel d'informations grâce à ses 1392 protéines (Sarantidi et al., 2023). Il a été observé, dans les lignées pHu+ et pHu-, une différence phénotypique à l'éclosion, impliquant la présence du métabolisme du glycogène à la naissance du poussin. De plus, le potentiel glycolytique des poussins des deux lignées marque la différence, où les pHu+, faibles en glycogène ont une plus grande difficulté à éclore contrairement aux pHu-. Des études précoces, dès l'œuf, pourraient être envisagées.

Par ailleurs, afin de réduire les modèles animaux, de nouveaux modèles *in vitro* sont développés et ont déjà fait leurs preuves. Précédemment, dans l'étude du métabolisme du glycogène chez le poulet, nous avons conclu qu'un modèle *in vitro* simple (en 2D) n'était pas

suffisamment représentatif des régulations, notamment au niveau de la quantification des protéines, rendant difficilement exploitables les résultats des expériences.

Les modèles 3D, quant à eux, englobent différents modèles représentant l'organisme à une plus grande échelle que les modèles cellulaires en 2D. Au sein des modèles 3D, se trouvent les organes sur puces, les sphéroïdes et les organoïdes. Les organoïdes dérivés de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) permettent de reproduire *in vitro* des tissus musculaires porteurs de mutations spécifiques du patient, offrant un modèle personnalisé pour tester des stratégies thérapeutiques. Traditionnellement, un modèle *in vitro* est construit par expérimentation directe. Mais aujourd'hui, l'avancée de l'intelligence artificielle permet, couplée à des méthodes *in silico*, d'affiner et d'optimiser la conception des modèles. En effet, ces approches permettent d'anticiper les mécanismes biologiques grâce aux larges bases de données et de guider l'expérimentation *in vitro*. De plus, ces techniques de modélisation réduisent le temps de conception, les coûts et l'usage des animaux. Plus précisément, l'intelligence artificielle, en traitant les bases de données multi-échelles, comme la protéomique, les imageries cellulaires ou les criblages de CRISPR-Cas9, peut identifier les voies de signalisation pertinentes à l'étude de la pathologie ou les gènes principaux à modéliser, évitant ainsi des *knock-out* létaux. Au-delà de l'aide à la conception, l'intelligence artificielle peut prédire les conditions de culture cellulaire optimales ou l'organisation 3D la plus efficace. Enfin, grâce à l'expérimentation, les résultats alimentent l'intelligence artificielle qui peut moduler les prédictions et affiner les conditions optimales. Ce couplage entre l'intelligence artificielle et les techniques *in silico* peut être appliqué dans la modélisation des glycogénoses musculaires, en identifiant la meilleure mutation représentant la GSD voire, pour une GSD donnée, en identifiant le gène, chez le poulet, le plus viable pour apporter un modèle homologue aux patients atteints de cette pathologie. Après avoir conçu un modèle cohérent, l'intelligence artificielle peut avoir un intérêt en toxicologie. En effet, couplée à une expérimentation sur organe sur puce, elle peut modéliser les différents effets toxicologiques et les lier à sa base de données pour simuler la toxicité sur les différents organes simulés (hépatotoxicité, néphrotoxicité, etc.), anticipant les effets sur les animaux, pouvant réduire les tests si la prédiction s'avère trop nocive et pouvant prédire autant que possible les différences entre la toxicité chez l'animal et celle chez l'homme (Bai et al., 2024; Wang et al., 2024). Dans le cas des maladies rares où le coût est un facteur déterminant, l'intelligence artificielle peut

également être utilisée pour trouver d'autres indications aux médicaments déjà mis sur le marché (*Figure 43*) (Cortial et al., 2024).

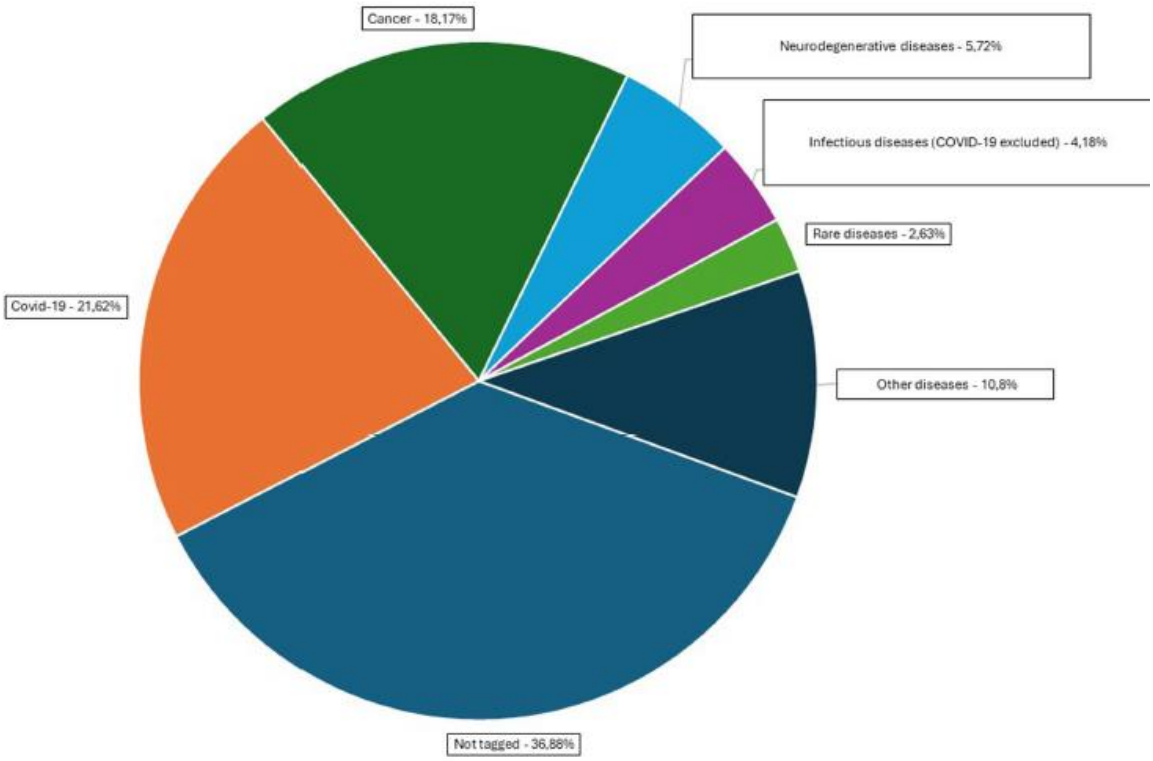


Figure 43 : Aperçu des maladies ciblées par les applications d'IA dans le domaine du repositionnement des médicaments. Maladies représentant plus de 2 % des références récupérées : COVID-19, cancer, maladies neurodégénératives, maladies infectieuses, maladies rares et autres maladies (maladies représentant moins de 2 % des références récupérées) et non répertoriées. Source Cortial et al., 2024

En somme, pour étudier les glycogénoses musculaires, il est adéquat de visualiser le poulet dans son entièreté, intégrant œuf, cellules, muscles et au-delà, avec l'intelligence artificielle. L'avenir de la recherche dans les glycogénoses musculaires repose sur une interdisciplinarité regroupant génétique, bio-informatique, biotechnologies et ingénierie cellulaire et tissulaire. Les modèles 3D couplés à l'intelligence artificielle pourraient constituer un tournant majeur dans le domaine des glycogénoses musculaires dans les années à venir (Chaudhary & Kumar, 2025).

En conclusion, ce travail met en évidence la pertinence du poulet comme modèle animal complémentaire pour l'étude des glycogénoses musculaires, tant sur le plan physiopathologique que thérapeutique. Les lignées pHu offrent des modèles naturels contrastés du métabolisme du glycogène, tandis que les outils de génétique moderne,

associés aux approches *in vitro* 3D et à l'intelligence artificielle, ouvrent de nouvelles perspectives pour la modélisation et la prise en charge de ces maladies rares.

Bibliographie

Adeva-Andany, M. M., González-Lucán, M., Donapetry-García, C., Fernández-Fernández, C., & Ameneiros-Rodríguez, E. (2016). Glycogen metabolism in humans. *BBA Clinical*, *5*, 85-100. https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2016.02.001

Almodóvar-Payá, A., Villarreal-Salazar, M., De Luna, N., Nogales-Gadea, G., Real-Martínez, A., Andreu, A. L., Martín, M. A., Arenas, J., Lucia, A., Vissing, J., Krag, T., & Pinós, T. (2020). Preclinical Research in Glycogen Storage Diseases : A Comprehensive Review of Current Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(24), 9621. https://doi.org/10.3390/ijms21249621

Alnahhas, N., Berri, C., Boulay, M., Baéza, E., Jégo, Y., Baumard, Y., Chabault, M., & Le Bihan-Duval, E. (2014). Selecting broiler chickens for ultimate pH of breast muscle : Analysis of divergent selection experiment and phenotypic consequences on meat quality, growth, and body composition traits1. *Journal of Animal Science*, *92*(9), 3816-3824. https://doi.org/10.2527/jas.2014-7597

Alnahhas, N., Berri, C., Chabault, M., Chartrin, P., Boulay, M., Bourin, M. C., & Le Bihan-Duval, E. (2016). Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. *BMC Genetics*, *17*(1), 61. https://doi.org/10.1186/s12863-016-0369-2

Alnahhas, N., Le Bihan-Duval, E., Baéza, E., Chabault, M., Chartrin, P., Bordeau, T., Cailleau-Audouin, E., Meteau, K., & Berri, C. (2015). Impact of divergent selection for ultimate pH of pectoralis major muscle on biochemical, histological, and sensorial attributes of broiler meat1. *Journal of Animal Science*, *93*(9), 4524-4531. https://doi.org/10.2527/jas.2015-9100

Alsina, K. M., Hulsurkar, M., Brandenburg, S., Kownatzki-Danger, D., Lenz, C., Urlaub, H., Abu-Taha, I., Kamler, M., Chiang, D. Y., Lahiri, S. K., Reynolds, J. O., Quick, A. P., Scott, L., Word, T. A., Gelves, M. D., Heck, A. J. R., Li, N., Dobrev, D., Lehnart, S. E., & Wehrens, X. H. T. (2019). Loss of Protein Phosphatase 1 Regulatory Subunit PPP1R3A Promotes Atrial Fibrillation. *Circulation*, *140*(8), 681-693. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039642

Altassan, R., Radenkovic, S., Edmondson, A. C., Barone, R., Brasil, S., Cechova, A., Coman, D., Donoghue, S., Falkenstein, K., Ferreira, V., Ferreira, C., Fiumara, A., Francisco, R., Freeze, H., Grunewald, S., Honzik, T., Jaeken, J., Krasnewich, D., Lam, C., ... Morava, E. (2021). International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG) : Diagnosis, follow-up, and management. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *44*(1), 148-163. https://doi.org/10.1002/jimd.12286

Annotation database. (2025). https://gega.sigenae.org/explore

Aschenbach, W. G., Suzuki, Y., Breeden, K., Prats, C., Hirshman, M. F., Dufresne, S. D., Sakamoto, K., Vilardo, P. G., Steele, M., Kim, J.-H., Jing, S., Goodyear, L. J., & DePaoli-

Roach, A. A. (2001). The Muscle-specific Protein Phosphatase PP1G/RGL(GM) Is Essential for Activation of Glycogen Synthase by Exercise. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(43), 39959-39967. https://doi.org/10.1074/jbc.M105518200

Azpiazu, I., Manchester, J., Skurat, A. V., Roach, P. J., & Lawrence, J. C. (2000). Control of glycogen synthesis is shared between glucose transport and glycogen synthase in skeletal muscle fibers. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *278*(2), E234-E243. https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.2.E234

Bai, L., Wu, Y., Li, G., Zhang, W., Zhang, H., & Su, J. (2024). AI-enabled organoids : Construction, analysis, and application. *Bioactive Materials*, *31*, 525-548. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.09.005

Beauclercq, S., Hennequet-Antier, C., Praud, C., Godet, E., Collin, A., Tesseraud, S., Métayer-Coustard, S., Bourin, M., Moroldo, M., Martins, F., Lagarrigue, S., Bihan-Duval, E. L., & Berri, C. (2017). Muscle transcriptome analysis reveals molecular pathways and biomarkers involved in extreme ultimate pH and meat defect occurrence in chicken. *Scientific Reports*, *7*(1), 6447. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06511-6

Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Debut, M., Santé-Lhoutellier, V., Baéza, E., Gigaud, V., Jégo, Y., & Duclos, M. J. (2007). Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens1. *Journal of Animal Science*, *85*(8), 2005-2011. https://doi.org/10.2527/jas.2006-398

Bihan-Duval, E. L., Chabault, M., Boulay, M., Guardia, S., Jego, Y., Baeza, E., & Berri, C. (2013). *Sélection divergente sur le pH ultime du filet de poulet : Premier bilan après 4 générations*.

BNDMR. (2024). *Nombre de cas par maladie rare dans la BNDMR | Banque Nationale de Données Maladies Rares*. https://www.bndmr.fr/publications/nombre-de-cas-par-mr/

Bochereau, P., Maman Haddad, S., Le Bihan-Duval, E., & Berri, C. (2025). RNA-Seq data provide new insights into the molecular regulation of breast muscle glycogen reserves, a key factor in muscle function and meat quality in chickens. *Poultry Science*, *104*(6), 105136. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105136

Braun, E. J., & Sweazea, K. L. (2008). Glucose regulation in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, *151*(1), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.05.007

Centre de référence des Maladies héréditaires du métabolisme, 2021.

Chaudhary, A., & Kumar, V. (2025). Rare diseases: A comprehensive literature review and future directions. *Journal of Rare Diseases*, *4*(1), 33. https://doi.org/10.1007/s44162-025-00099-6

Chen, Y.-T., He, J.-K., Ding, J.-H., & Brownt, B. I. *Glycogen Debranching Enzym : Purification, Antibody Characterization, and Immunoblot AnalTses of Type III Glycogen Storage Disease*.

Comité de Protection des Personnes. (2006). L'accident de Londres. *Nature*, *440*(7086), 855-856. https://doi.org/10.1038/440855a

Cooper, M. D., Peterson, R. D. A., & Good, R. A. (1965). Delineation of the Thymic and Bursal Lymphoid Systems in the Chicken. *Nature*, *205*(4967), 143-146. https://doi.org/10.1038/205143a0

Cortial, L., Montero, V., Tourlet, S., Del Bano, J., & Blin, O. (2024). Artificial intelligence in drug repurposing for rare diseases: A mini-review. *Frontiers in Medicine*, *11*, 1404338. https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1404338

Daghlas, S. A., & Mohiuddin, S. S. (2025). Biochemistry, Glycogen. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539802/

Delibegovic, M., Armstrong, C. G., Dobbie, L., Watt, P. W., Smith, A. J. H., & Cohen, P. T. W. (2003). Disruption of the Striated Muscle Glycogen Targeting Subunit PPP1R3A of Protein Phosphatase 1 Leads to Increased Weight Gain, Fat Deposition, and Development of Insulin Resistance. *Diabetes*, *52*(3), 596-604. https://doi.org/10.2337/diabetes.52.3.596

DGOS ;DGS. (2025). *Autorisation d'accès précoce, autorisation d'accès compassionnel et cadre de prescription compassionnelle*. Ministère de la Santé, de la Famille, de l'Autonomie et des Personnes handicapées. https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/professionnels-de-sante/autorisation-de-mise-sur-le-marche/article/autorisation-d-acces-precoce-autorisation-d-acces-compassionnel-et-cadre-de

Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine. (s. d.). Consulté 22 septembre 2025, à l'adresse https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=glucose

Dimauro, S., Akman, O., & Hays, A. P. (s. d.). *Disorders of carbohydrate metabolism*.

Emmerson, D. (1997). Commercial approaches to genetic selection for growth and feed conversion in domestic poultry. *Poultry Science*, *76*(8), 1121-1125. https://doi.org/10.1093/ps/76.8.1121

Erensoy, K., Raynaud, E., Petit, A., Baumard, Y., Métayer-Coustard, S., & Le Bihan-Duval, E. (2022). Research Note : Divergent selection for breast muscle ultimate pH affects egg quality traits in broiler breeders. *Poultry Science*, *101*(11), 102142. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102142

Evm.health2media.com/#/detail-view/disorder/1/15. (s. d.). Consulté 27 septembre 2025, à l'adresse https://evm.health2media.com/#/detail-view/disorder/1/15

Ferrer, J. C., Favre, C., Gomis, R. R., Fernández-Novell, J. M., Garcıá-Rocha, M., De La Iglesia, N., Cid, E., & Guinovart, J. J. (2003). Control of glycogen deposition. *FEBS Letters*, *546*(1), 127-132. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00565-9

Fong, N. M., Jensen, T. C., Shah, A. S., Parekh, N. N., Saltiel, A. R., & Brady, M. J. (2000). Identification of Binding Sites on Protein Targeting to Glycogen for Enzymes of Glycogen Metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(45), 35034-35039. https://doi.org/10.1074/jbc.M005541200

Gilyazova, I., Korytina, G., Kochetova, O., Savelieva, O., Mikhaylova, E., Vershinina, Z., Chumakova, A., Markelov, V., Abdeeva, G., Karunas, A., Khusnutdinova, E., & Gusev, O. (2025). Advances in Genomics and Postgenomics in Poultry Science : Current

Achievements and Future Directions. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(17), 8285. https://doi.org/10.3390/ijms26178285

Gircor, L'équipe. (2024, mai 6). 🔍 Pourquoi 90% des médicaments testés avec succès sur des animaux et des modèles non-animaux (NAMs) ne sont finalement pas commercialisés ? *Gircor*. https://www.gircor.fr/pourquoi-90-des-medicaments-testes-avec-succes-sur-des-animaux-et-des-modeles-non-animaux-nams-ne-sont-finalement-pas-commercialises/

Gircor, L. (2025, avril 23). 📊 Infographie – Les utilisations d'animaux par la recherche française en 2023. *Gircor*. https://www.gircor.fr/infographie-les-utilisations-danimaux-par-la-recherche-francaise-en-2023/

Grand, T. S., Ren, S., Hall, J., Åström, D. O., Regnier, S., & Thokala, P. (2024). Issues, Challenges and Opportunities for Economic Evaluations of Orphan Drugs in Rare Diseases : An Umbrella Review. *PharmacoEconomics*, *42*(6), 619-631. https://doi.org/10.1007/s40273-024-01370-2

Groop, L., & Orho-Melander, M. (2008). New Insights into Impaired Muscle Glycogen Synthesis. *PLoS Medicine*, *5*(1), e25. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050025

Gümüş, E., & Özen, H. (2023). Glycogen storage diseases : An update. *World Journal of Gastroenterology*, *29*(25), 3932-3963. https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i25.3932

Gümüş et Özen—2023. (s. d.).

Hannah, W. B., Derks, T. G. J., Drumm, M. L., Grünert, S. C., Kishnani, P. S., & Vissing, J. (2023). Glycogen storage diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, *9*(1), 46. https://doi.org/10.1038/s41572-023-00456-z

Hansen, L., Hansen, T., Vestergaard, H., Bjørbæk, C., Echwald, S. M., Clausen, J. O., Chen, Y. H., Chen, M. X., Cohen, P. T. W., & Pedersen, O. (1995). A widespread amino acid polymorphism at codon 905 of the glycogen-associated regulatory subunit of protein phosphatase-1 is associated with insulin resistance and hypersecretion of insulin. *Human Molecular Genetics*, *4*(8), 1313-1320. https://doi.org/10.1093/hmg/4.8.1313

HAS. (2025a). *MYOZYME (alglucosidase alfa)*. Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/jcms/pprd_2983670/fr/myozyme-alglucosidase-alfa

HAS. (2025b). *NEXVIADYME (avalglucosidase alfa)—Maladie de Pompe*. Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3467298/fr/nexviadyme-avalglucosidase-alfa-maladie-de-pompe

Havenstein, G., Ferket, P., & Qureshi, M. (2003). Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, *82*(10), 1509-1518. https://doi.org/10.1093/ps/82.10.1509

Home—Gene—NCBI. (s. d.). Consulté 19 octobre 2025, à l'adresse https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/

Huff, W. E., & Hamilton, P. B. (1978). Decreased Glycogen Mobilization During Ochratoxicosis in Broiler Chickenst. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.*

International Chicken Genome Sequencing Consortium. (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, *432*(7018), 695-716. https://doi.org/10.1038/nature03154

Israelian, L., Nitschke, S., Wang, P., Zhao, X., Perri, A. M., Lee, J. P. Y., Verhalen, B., Nitschke, F., & Minassian, B. A. (2021). *Ppp1r3d* deficiency preferentially inhibits neuronal and cardiac Lafora body formation in a mouse model of the fatal epilepsy Lafora disease. *Journal of Neurochemistry*, *157*(6), 1897-1910. https://doi.org/10.1111/jnc.15176

Kara, E., Kor, D., Bulut, F. D., Hergüner, Ö., Ceylaner, S., Köşeci, B., Burgaç, E., & Mungan, N. Ö. (2021). Glycogen storage disease type XII; an ultra rare cause of hemolytic anemia and rhabdomyolysis : One new case report. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, *34*(10), 1335-1339. https://doi.org/10.1515/jpem-2021-0258

Katz, A. (2023). The role of glycogen phosphorylase in glycogen biogenesis in skeletal muscle after exercise. *Sports Medicine and Health Science*, *5*(1), 29-33. https://doi.org/10.1016/j.smhs.2022.11.001

Kohler, L., Puertollano, R., & Raben, N. (2018). Pompe Disease : From Basic Science to Therapy. *Neurotherapeutics*, *15*(4), 928-942. https://doi.org/10.1007/s13311-018-0655-y

Lam, J. R., Anastasopoulou, C., Khattak, Z. E., & Ashraf, M. (2025). McArdle Disease (Glycogen Storage Disease Type 5). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560785/

Le Bihan-Duval, E., Debut, M., Berri, C. M., Sellier, N., Santé-Lhoutellier, V., Jégo, Y., & Beaumont, C. (2008). Chicken meat quality : Genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics. *BMC Genetics*, *9*(1), 53. https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-53

Liu, Z., Xin, B., Smith, I. N., Sency, V., Szekely, J., Alkelai, A., Shuldiner, A., Efthymiou, S., Rajabi, F., Coury, S., Brownstein, C. A., Rudnik-Schöneborn, S., Bruel, A.-L., Thevenon, J., Zeidler, S., Jayakar, P., Schmidt, A., Cremer, K., Engels, H., ... Wang, H. (2023). Hemizygous variants in protein phosphatase 1 regulatory subunit 3F (*PPP1R3F*) are associated with a neurodevelopmental disorder characterized by developmental delay, intellectual disability and autistic features. *Human Molecular Genetics*, *32*(20), 2981-2995. https://doi.org/10.1093/hmg/ddad124

Llauradó, A., Pinós, T., Codina-Solà, M., Martínez-Saez, E., Restrepo-Vera, J. L., Salvadó, M., Sanchez-Tejerina, D., Sotoca, J., Muñoz, P., Rovira-Moreno, E., Büyükdereli, L., Garcia-Arumi, E., Vidal-Taboada, J. M., Ovelleiro, D., & Juntas-Morales, R. (2025). Expanding the clinical phenotype and understanding the biochemical consequences of Muscle Glycogen Synthase Deficiency (GSD0B). *Molecular Genetics and Metabolism*, *145*(3), 109140. https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2025.109140

Llavero, F., Arrazola Sastre, A., Luque Montoro, M., Gálvez, P., Lacerda, H. M., Parada, L. A., & Zugaza, J. L. (2019). McArdle Disease : New Insights into Its Underlying Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(23), 5919. https://doi.org/10.3390/ijms20235919

Machıń, M., Simoyi, M. F., Blemings, K. P., & Klandorf, H. (2004). Increased dietary protein elevates plasma uric acid and is associated with decreased oxidative stress in rapidly-growing broilers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, *137*(3), 383-390. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.01.002

Meena, N. K., Ralston, E., Raben, N., & Puertollano, R. (2020). Enzyme Replacement Therapy Can Reverse Pathogenic Cascade in Pompe Disease. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development*, *18*, 199-214. https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.05.026

Mehta, M. B., Shewale, S. V., Sequeira, R. N., Millar, J. S., Hand, N. J., & Rader, D. J. (2017). Hepatic protein phosphatase 1 regulatory subunit 3B (Ppp1r3b) promotes hepatic glycogen synthesis and thereby regulates fasting energy homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, *292*(25), 10444-10454. https://doi.org/10.1074/jbc.M116.766329

Mellouk, N., Ramé, C., Barbe, A., Grandhaye, J., Froment, P., & Dupont, J. (2018). Chicken Is a Useful Model to Investigate the Role of Adipokines in Metabolic and Reproductive Diseases. *International Journal of Endocrinology*, *2018*, 1-19. https://doi.org/10.1155/2018/4579734

Métayer-Coustard, S., Mameri, H., Seiliez, I., Crochet, S., Crépieux, P., Mercier, Y., Geraert, P.-A., & Tesseraud, S. (2010). Methionine Deprivation Regulates the S6K1 Pathway and Protein Synthesis in Avian QM7 Myoblasts without Activating the GCN2/eIF2 alpha Cascade. *The Journal of Nutrition*, *140*(9), 1539-1545. https://doi.org/10.3945/jn.110.122663

Métayer-Coustard, S., Tesseraud, S., Praud, C., Royer, D., Bordeau, T., Coudert, E., Cailleau-Audouin, E., Godet, E., Delaveau, J., Le Bihan-Duval, E., & Berri, C. (2021). Early Growth and Protein-Energy Metabolism in Chicken Lines Divergently Selected on Ultimate pH. *Frontiers in Physiology*, *12*, 643580. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.643580

Montori-Grau, M., Guitart, M., García-Martínez, C., Orozco, A., & Gómez-Foix, A. (2011). Differential pattern of glycogen accumulation after protein phosphatase 1 glycogen-targeting subunit PPP1R6 overexpression, compared to PPP1R3C and PPP1R3A, in skeletal muscle cells. *BMC Biochemistry*, *12*(1), 57. https://doi.org/10.1186/1471-2091-12-57

Montori-Grau, M., Guitart, M., Lerin, C., Andreu, A. L., Newgard, C. B., García-Martínez, C., & Gómez-Foix, A. M. (2007). Expression and glycogenic effect of glycogen-targeting protein phosphatase 1 regulatory subunit GL in cultured human muscle. *Biochemical Journal*, *405*(1), 107-113. https://doi.org/10.1042/BJ20061572

Munro, S., Ceulemans, H., Bollen, M., Diplexcito, J., & Cohen, P. T. W. (2005). A novel glycogen-targeting subunit of protein phosphatase 1 that is regulated by insulin and shows differential tissue distribution in humans and rodents. *The FEBS Journal*, *272*(6), 1478-1489. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04585.x

Neoh, G. K. S., Tan, X., Chen, S., Roura, E., Dong, X., & Gilbert, R. G. (2024). Glycogen metabolism and structure : A review. *Carbohydrate Polymers*, *346*, 122631. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122631

Newgard, C. B., Brady, M. J., O'Doherty, R. M., & Saltiel, A. R. (2000). Organizing glucose disposal : Emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1. *Diabetes*, *49*(12), 1967-1977. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.12.1967

Nexviadyme-epar-product-information_en.

Niazi, R. K., Sun, J., Have, C. T., Hollensted, M., Linneberg, A., Pedersen, O., Nielsen, J. S., Rungby, J., Grarup, N., Hansen, T., & Gjesing, A. P. (2019). Increased frequency of rare missense PPP1R3B variants among Danish patients with type 2 diabetes. *PLOS ONE*, *14*(1), e0210114. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210114

Oishi, I., Yoshii, K., Miyahara, D., & Tagami, T. (2018). Efficient production of human interferon beta in the white of eggs from ovalbumin gene–targeted hens. *Scientific Reports*, *8*(1), 10203. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28438-2

Orphanet. (2024). http://www.orpha.net/fr

Orphanet, 2024.

Orphanet : PGM1-CDG. Consulté 2 décembre 2025, à l'adresse https://www.orpha.net/fr/disease/detail/319646

Papadopoulos, C., Svingou, M., Kekou, K., Vergnaud, S., Xirou, S., Niotakis, G., & Papadimas, G. K. (2021). Aldolase A deficiency : Report of new cases and literature review. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, *27*, 100730. https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2021.100730

Praud, C., Al Ahmadieh, S., Voldoire, E., Le Vern, Y., Godet, E., Couroussé, N., Graulet, B., Le Bihan Duval, E., Berri, C., & Duclos, M. J. (2017). Beta-carotene preferentially regulates chicken myoblast proliferation withdrawal and differentiation commitment via BCO1 activity and retinoic acid production. *Experimental Cell Research*, *358*(2), 140-146. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.06.011

Roach, P. J., Depaoli-Roach, A. A., Hurley, T. D., & Tagliabracci, V. S. (2012). Glycogen and its metabolism : Some new developments and old themes. *Biochemical Journal*, *441*(3), 763-787. https://doi.org/10.1042/BJ20111416

Rous_1911. (s. d.).

Sarantidi, E., Ainatzoglou, A., Papadimitriou, C., Stamoula, E., Maghiorou, K., Miflidi, A., Trichopoulou, A., Mountzouris, K. C., & Anagnostopoulos, A. K. (2023). Egg White and Yolk Protein Atlas : New Protein Insights of a Global Landmark Food. *Foods*, *12*(18), 3470. https://doi.org/10.3390/foods12183470

Savage, D. B., Zhai, L., Ravikumar, B., Choi, C. S., Snaar, J. E., McGuire, A. C., Wou, S.-E., Medina-Gomez, G., Kim, S., Bock, C. B., Segvich, D. M., Vidal-Puig, A., Wareham, N. J., Shulman, G. I., Karpe, F., Taylor, R., Pederson, B. A., Roach, P. J., O'Rahilly, S., & DePaoli-Roach, A. A. (2008a). A Prevalent Variant in PPP1R3A Impairs Glycogen Synthesis and Reduces Muscle Glycogen Content in Humans and Mice. *PLoS Medicine*, *5*(1), e27. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050027

Savage, D. B., Zhai, L., Ravikumar, B., Choi, C. S., Snaar, J. E., McGuire, A. C., Wou, S.-E., Medina-Gomez, G., Kim, S., Bock, C. B., Segvich, D. M., Vidal-Puig, A., Wareham, N. J., Shulman, G. I., Karpe, F., Taylor, R., Pederson, B. A., Roach, P. J., O'Rahilly, S., & DePaoli-Roach, A. A. (2008b). A Prevalent Variant in PPP1R3A Impairs Glycogen Synthesis and Reduces Muscle Glycogen Content in Humans and Mice. *PLoS Medicine*, *5*(1), e27. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050027

Schlienger, J.-L. (2020). La passion pour le sucre de Claude Bernard : Du foie lavé à la « piqûre-diabète ». *Médecine des Maladies Métaboliques*, *14*(5), 451-457. https://doi.org/10.1016/j.mmm.2020.01.018

Seki, Y., Sato, K., Kono, T., Abe, H., & Akiba, Y. (2003). Broiler chickens (Ross strain) lack insulin-responsive glucose transporter GLUT4 and have GLUT8 cDNA. *General and Comparative Endocrinology*, *133*(1), 80-87. https://doi.org/10.1016/S0016-6480(03)00145-X

Sentner, C. P., Caliskan, K., Vletter, W. B., & Smit, G. P. A. (2011). Heart Failure Due to Severe Hypertrophic Cardiomyopathy Reversed by Low Calorie, High Protein Dietary Adjustments in a Glycogen Storage Disease Type IIIa Patient. In SSIEM (Éd.), *JIMD Reports—Case and Research Reports, 2012/2* (Vol. 5, p. 13-16). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/8904_2011_111

Shin, M.-K., Bang, J. S., Lee, J. E., Tran, H.-D., Park, G., Lee, D. R., & Jo, J. (2022). Generation of Skeletal Muscle Organoids from Human Pluripotent Stem Cells to Model Myogenesis and Muscle Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(9), 5108. https://doi.org/10.3390/ijms23095108

Skurat, A. V., Dietrich, A. D., & Roach, P. J. (2006). Interaction between glycogenin and glycogen synthase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *456*(1), 93-97. https://doi.org/10.1016/j.abb.2006.09.024

Smythe, C., & Cohen, P. (1991). The discovery of glycogenin and the priming mechanism for glycogen biogenesis. *European Journal of Biochemistry*, *200*(3), 625-631. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb16225.x

Taverna, S., Cammarata, G., Colomba, P., Sciarrino, S., Zizzo, C., Francofonte, D., Zora, M., Scalia, S., Brando, C., Curto, A. L., Marsana, E. M., Olivieri, R., Vitale, S., & Duro, G. (2020). Pompe disease : Pathogenesis, molecular genetics and diagnosis. *Aging*, *12*(15), 15856-15874. https://doi.org/10.18632/aging.103794

Tesseraud, S., Bigot, K., & Taouis, M. (2003). Amino acid availability regulates S6K1 and protein synthesis in avian insulin-insensitive QM7 myoblasts. *FEBS Letters*, *540*(1-3), 176-180. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00260-6

Tesseraud, S., Métayer-Coustard, S., Boussaid, S., Crochet, S., Audouin, E., Derouet, M., & Seiliez, I. (2007). Insulin and amino acid availability regulate atrogin-1 in avian QT6 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *357*(1), 181-186. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.03.131

Thorens, U. B. (s. d.). *The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters*.

Tona, K., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V., Buyse, J., Onagbesan, O., & Decuypere, E. (2003). Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poultry Science*, *82*(5), 736-741. https://doi.org/10.1093/ps/82.5.736

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., & Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*, *3*(7), research0034.1. https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034

Wang, H., Li, X., You, X., & Zhao, G. (2024). Harnessing the power of artificial intelligence for human living organoid research. *Bioactive Materials*, *42*, 140-164. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.08.027

Warren', M. F., & Hamilton, P. B. (1980). *Inhibition of the Glycogen Phosphorylase System During Ochratoxicosis in Chickenst*. *40*.

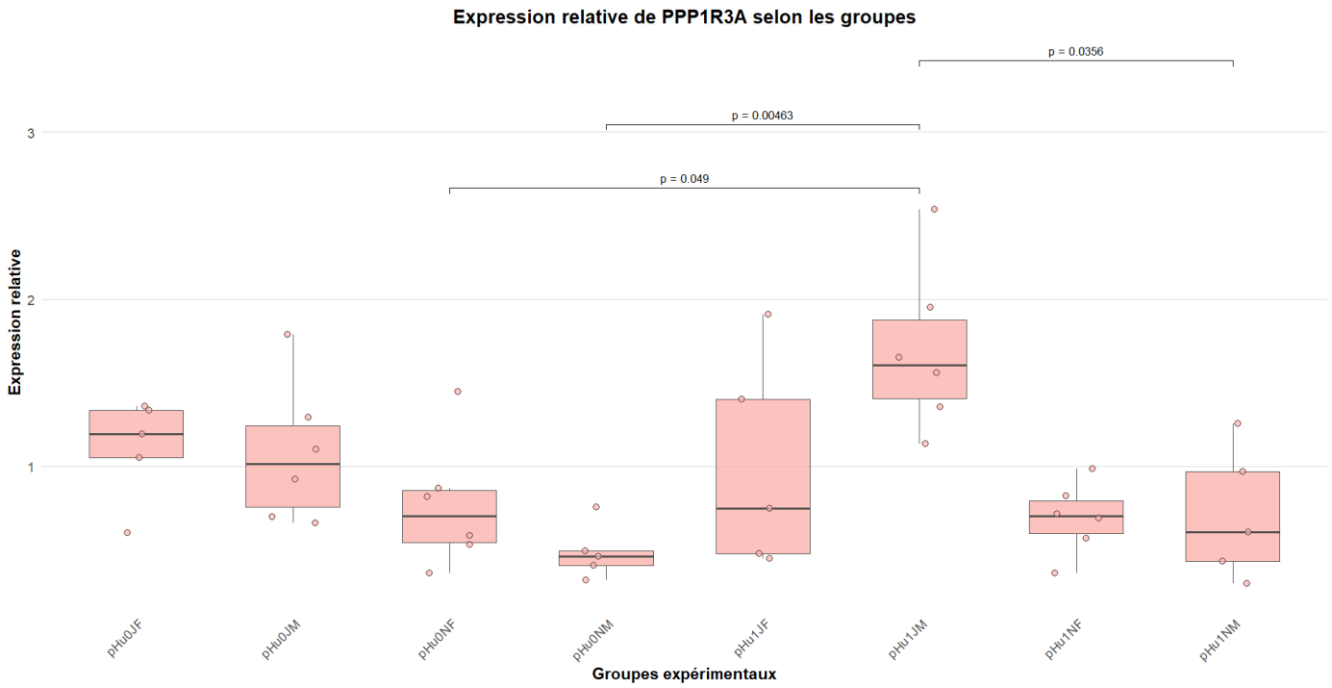
Warren, M. F., & Hamilton, P. B. (1981). Glycogen Storage Disease Type X Caused by Ochratoxin A in Broiler Chickens ,. *Poultry Science*, *60*(1), 120-123. https://doi.org/10.3382/ps.0600120

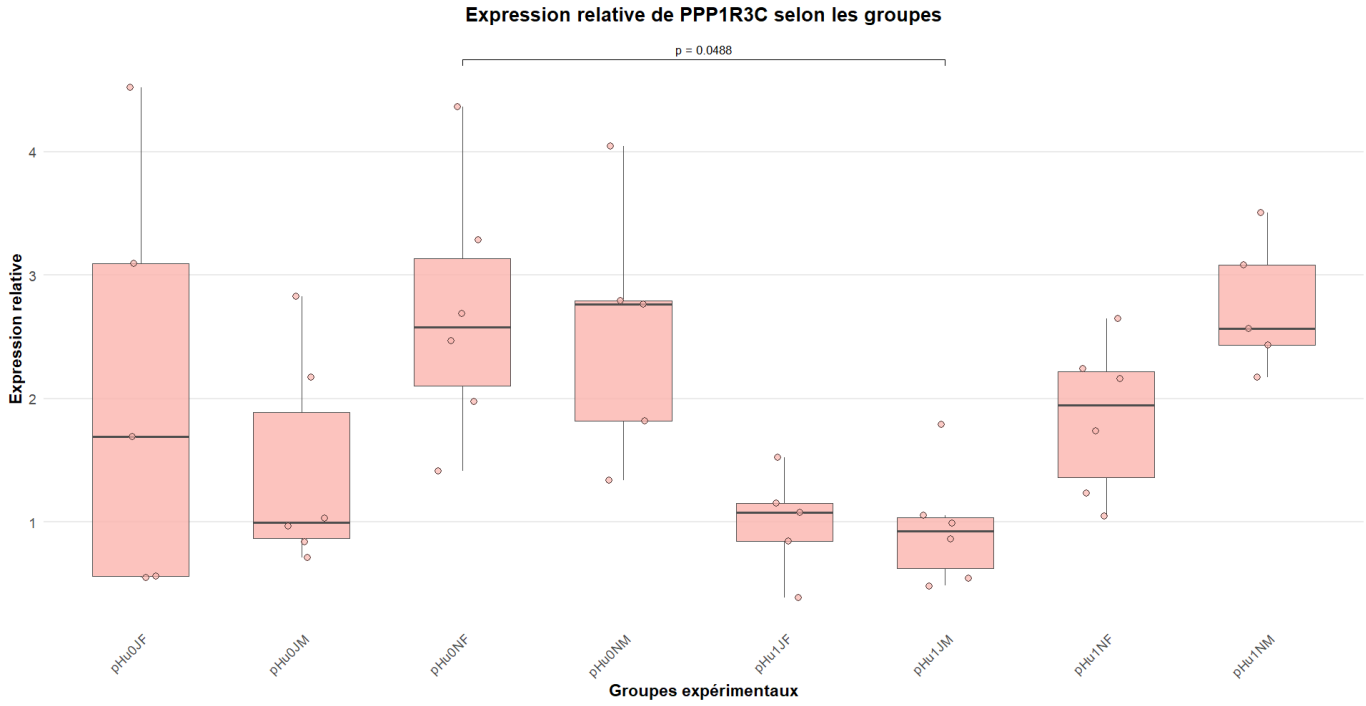
Welsh, 1996.

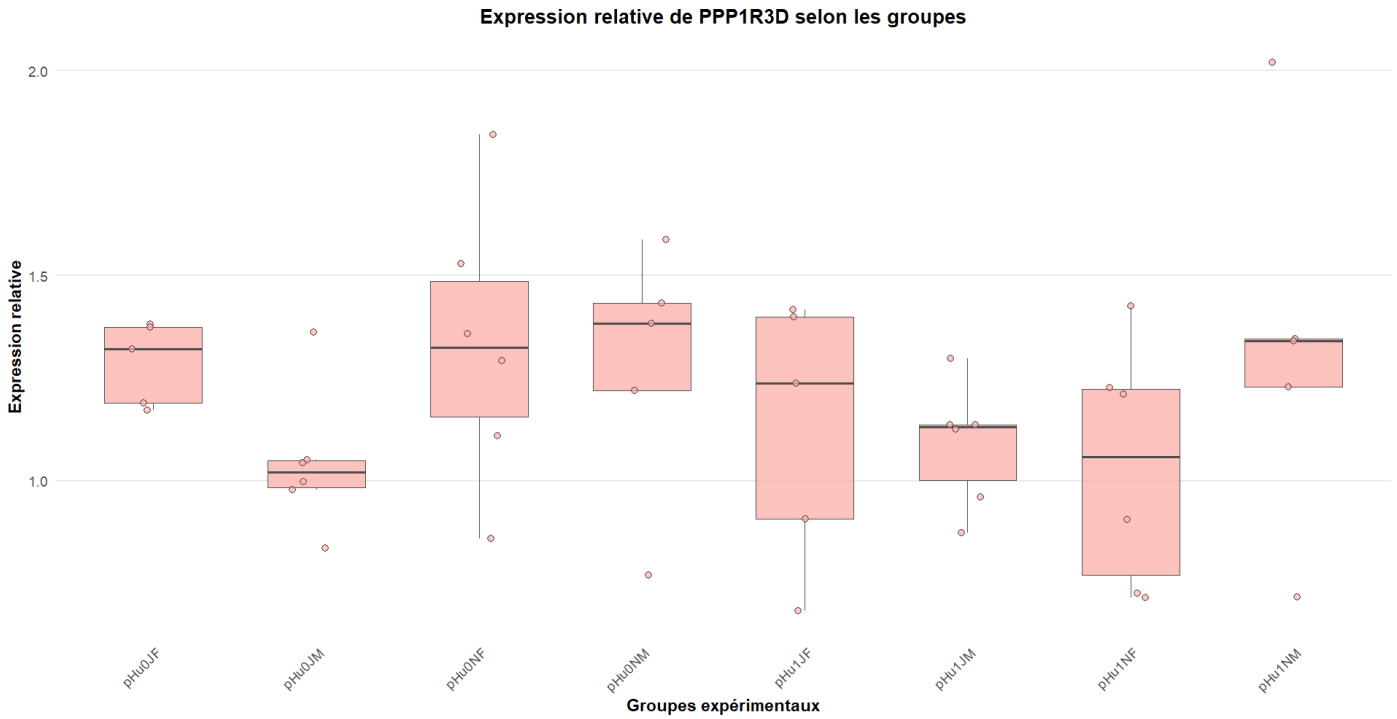
Zhang, Y., Xu, D., Huang, H., Chen, S., Wang, L., Zhu, L., Jiang, X., Ruan, X., Luo, X., Cao, P., Liu, W., Pan, Y., Wang, Z., & Chen, Y. (2014). Regulation of Glucose Homeostasis and Lipid Metabolism by PPP1R3G-mediated Hepatic Glycogenesis. *Molecular Endocrinology*, *28*(1), 116-126. https://doi.org/10.1210/me.2013-1268

Annexes

<u>Annexe I : Expression relative des gènes selon les groupes in vivo (lignée * sexe * statut alimentaire), pHu+ = pHu0 et pHu- = pHu1 ; F = femelle ; M = mâle</u>






Expression relative de PPP1R3D selon les groupes
2.0
1.5
1.0
Expression relative
pHu0JF
pHu0JM
pHu0NF
pHu0NM
pHu1JF
pHu1JM
pHu1NF
pHu1NM
Groupes expérimentaux

université de TOURS | Faculté de pharmacie Philippe-Maupas

SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° étudiant : 21703969 N° Thèse :

Nom et Prénom : Robineau Héloïse

Sujet : Le poulet comme modèle animal pour comprendre les glycogénoses musculaires chez l'homme

Tours, le :

La Directrice de Thèse :
Nom et signature

Vu et transmis :
Le Doyen

université de TOURS | Faculté de pharmacie Philippe-Maupas

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Héloïse ROBINEAU

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. *(Décret n°92-657 du 13 juillet 1992)*

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :

université de TOURS | Faculté de pharmacie Philippe-Maupas

ROBINEAU Héloïse	N°

Titre de la thèse

Le poulet comme modèle animal pour comprendre les glycogénoses musculaires chez l'homme

Résumé de la thèse

Les glycogénoses musculaires sont des maladies génétiques rares dues à des anomalies du métabolisme du glycogène liées à des déficits enzymatiques. Leur étude est encore délaissée au profit des maladies générant des médicaments blockbusters. Leur prise en charge reste essentiellement symptomatique, les options thérapeutiques sont limitées et la recherche de nouvelles stratégies se heurte à la rareté des patients ainsi qu'à l'hétérogénéité clinique. Dans ce contexte, il est nécessaire d'explorer de nouveaux modèles animaux, et notamment le poulet qui s'avère être un allié inattendu dans l'étude des glycogénoses musculaires humaines. Au-delà du modèle animal, les modèles *in vitro* sont également explorés afin de limiter l'utilisation des animaux en recherche.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Glycogénose ; Maladies rares ; Recherche ; Modèle animal ; Poulet

Jury

Présidence : Pr Karine Mahéo, Université de Tours, UFR de Pharmacie

Membres :

- Dr Audrey Oudin, Université de Tours, UFR de Pharmacie
- Pr Véronique Maupoil-David, Université de Tours, UFR de Pharmacie
- Dr Anna-Katia Vinikoff, Pharmacienne d'industrie, Sanofi

Date et lieu de soutenance : 23 janvier 2026, Salle des Actes, Faculté de Pharmacie de Tours