

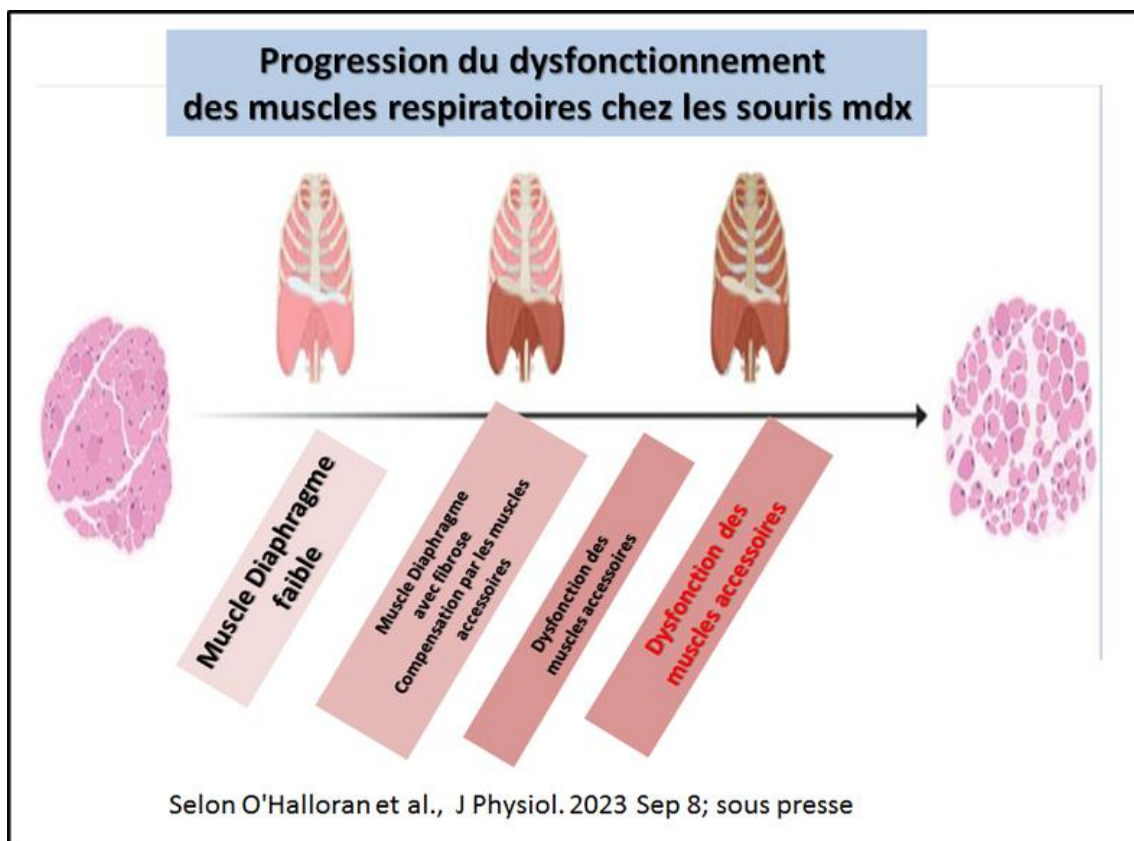
# Les plus récentes avancées depuis Septembre 2023

Il est question dans ce travail [des biomarqueurs de la progression de la dystrophie musculaire de Duchenne : impact de l'âge dans le muscle épargné de la langue mdx](#). Les résultats indiquent que : L'analyse histologique de la langue du ventre moyen n'a montré aucune différence entre les groupes. Aucune différence n'a été trouvée entre les concentrations de métabolites provenant de langues entières de type sauvage ou mdx du même âge. Les métabolites alanine, méthionine et 3-méthylhistidine étaient plus élevés, et la taurine et le glycérol étaient plus faibles dans les jeunes langues de type sauvage et mdx ( $p < 0,001$ ). Les métabolites glycine ( $p < 0,001$ ) et acide glutamique ( $p = 0,0018$ ) n'étaient différents que dans les groupes mdx, étant plus élevés chez les jeunes souris mdx. L'acide acétique, la phosphocréatine, l'isoleucine, l'acide succinique, la créatine et les protéines TNF- $\alpha$  et TGF- $\beta$  ne présentaient aucune différence dans l'analyse entre les groupes ( $p > 0,05$ ). Les conclusions sont les suivantes : **De manière surprenante, l'analyse histologique, des métabolites et des protéines révèle que la langue des vieux mdx reste partiellement épargnée par la myonécrose sévère observée dans les autres muscles.** Les métabolites alanine, méthionine, 3-méthylhistidine, taurine et glycérol peuvent être efficaces pour des évaluations spécifiques, bien que leur utilisation pour le suivi de la progression de la maladie doive être prudente en raison des changements liés à l'âge dans le muscle de la langue. L'acide acétique, la phosphocréatine, l'isoleucine, le succinate, la créatine, le TNF- $\alpha$  et le TGF- $\beta$  ne varient pas avec le vieillissement et restent constants dans les muscles épargnés, ce qui suggère leur potentiel en tant que biomarqueurs spécifiques de la progression de la DMD indépendamment du vieillissement.

Le sujet de cet article est [la cartographie T1 native du myocarde et la quantification du volume extracellulaire chez des femmes asymptomatiques porteuses de mutations génétiques de la dystrophie musculaire de Duchenne](#). Les résultats sont les suivants: Il y avait 38 DMD-FC (âge moyen  $39,1 \pm 8,8$  ans) et 22 volontaires sains (âge moyen  $39,9 \pm 12,6$  ans) imaginés par CMR. Le temps de relaxation T1 natif global moyen était similaire pour les DMD-FC et les CG ( $1005,1 \pm 26,3$  ms vs.  $1003,5 \pm 25,0$  ms ; valeur  $p = 0,81$ ). De même, la valeur moyenne du VCE global était également similaire entre les groupes ( $27,92 \pm 2,02$  % contre  $27,10 \pm 2,89$  % ;  $p$ -value = 0,20). L'analyse segmentaire des valeurs moyennes de la VCE selon la classification de l'American Heart Association n'a pas montré de différences entre les groupes DMD-FC et CG. Il y avait une tendance non significative vers des valeurs moyennes de VCE plus élevées dans les segments inférieurs et inféro-latéraux du myocarde (valeur  $p = 0,075$  et  $0,070$  respectivement). **En conclusion : Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives dans les temps de relaxation T1 natifs moyens globaux et segmentaires et dans les valeurs ECV moyennes globales ou segmentaires.** Il y avait une tendance à des valeurs moyennes segmentaires de VCE plus élevées pour le DMD-FC dans les parois inférieures et inféro-latérales du myocarde.

L'étude suivante indique [comment il est possible que le sauvetage nutritionnel du tissu musculaire dérivé de cellules satellites en début de maturation et en cours de détérioration](#). Cette étude rapporte que notre technique d'ingénierie tissulaire permet de découvrir les caractéristiques uniques des cellules satellites musculaires humaines en tant que source

cellulaire pour nos tissus musculaires. Les tissus fabriqués à partir de cellules satellites ont atteint leur maturité fonctionnelle en quelques jours, ce qui est plus rapide que ceux créés à partir de myoblastes. D'autre part, les tissus musculaires dérivés de cellules satellites n'ont pas pu conserver leur capacité contractile, alors que les tissus dérivés de myoblastes ont montré des contractions musculaires pendant plusieurs semaines. Les structures des sarcomères et les structures membranaires de la laminine et de la dystrophine ont été perdues en même temps qu'une détérioration fonctionnelle précoce. Partant de l'hypothèse qu'une insuffisance de nutriments était à l'origine de la réduction de la durée de vie, il a été ajouté 10 % de sérum au milieu de culture des tissus musculaires dérivés de cellules satellites, bien qu'un milieu à plus faible teneur en sérum soit couramment utilisé pour produire des tissus musculaires. **Combiné à l'inhibiteur du récepteur TGF- $\beta$ 1, le SB431542, la capacité contractile des tissus musculaires a été remarquablement augmentée et les microstructures des tissus ont été maintenues à plus long terme tout en conservant la fonctionnalisation précoce et les conditions de culture enrichies ont empêché la détérioration précoce.** Ces résultats ont renforcé notre compréhension de la biologie des myoblastes et des cellules satellites dans la formation des tissus musculaires et ont fourni de nouvelles idées sur les applications de l'ingénierie des tissus musculaires.

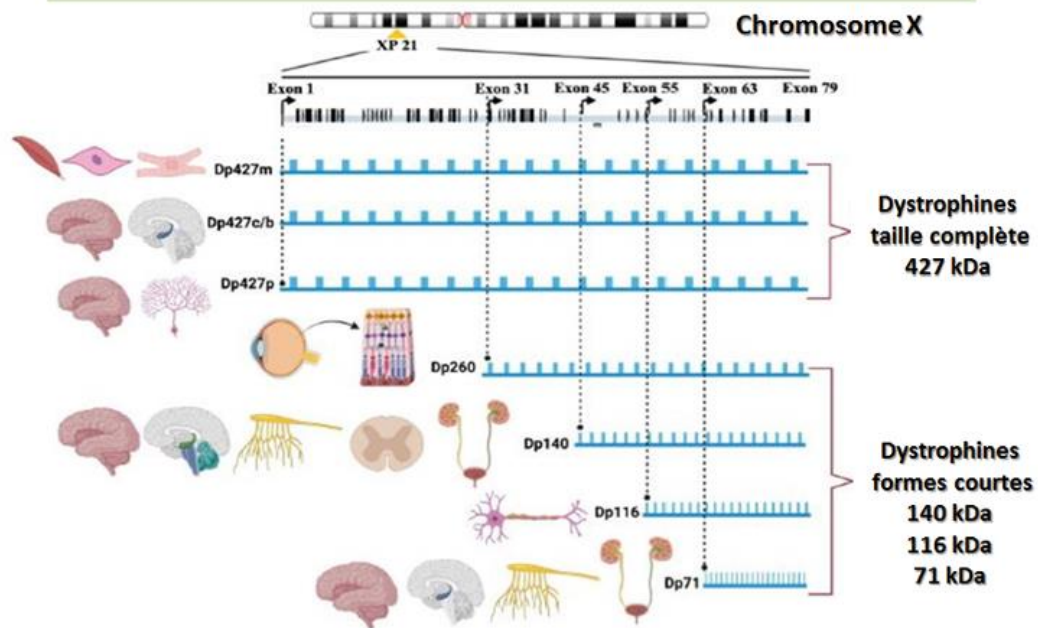


Ce travail porte sur [la perte de la compensation offerte par les muscles accessoires de la respiration conduit à un compromis du système respiratoire dans le modèle de souris mdx de la dystrophie musculaire de Duchenne.](#) Malgré la faiblesse du diaphragme, la performance inspiratoire maximale est préservée chez les jeunes souris mdx déficientes en dystrophine, ce qui révèle une compensation adéquate par les muscles extra-diaphragmatiques. **Les activités EMG des muscles obligatoires (diaphragme, intercostal externe et intercostal parasternal) sont plus faibles chez les souris mdx, apparaissant tôt dans la maladie dystrophique, avant le déclin temporel de la performance maximale.** Les activités EMG

maximales de certains muscles accessoires sont plus faibles, tandis que d'autres sont préservées. Le recrutement du muscle trapèze est plus important chez les souris mdx lors de l'activation maximale du système. Chez les souris phrénicotomisées présentant une paralysie confirmée du diaphragme, la contribution des muscles extra-diaphragmatiques à la pression inspiratoire maximale est plus importante chez les souris mdx que chez les souris de type sauvage. La lésion chirurgicale des muscles accessoires (y compris abdominaux) affecte négativement la génération du pic de pression chez les souris mdx. Le remodelage du diaphragme conduisant à sa rigidification procure un avantage mécanique à la génération du pic de pression via l'action facilitée des muscles extra-diaphragmatiques dans les premiers stades de la maladie dystrophique. Les activités EMG accessoires de pointe sont plus faibles chez les souris mdx âgées de 12 mois que chez les souris de type sauvage. La pression inspiratoire maximale diminue chez les souris mdx à un stade avancé de la maladie. En conclusion il apparaît que la compensation offerte par les muscles accessoires de la respiration diminue dans la maladie dystrophique avancée, précipitant l'émergence d'un dysfonctionnement du système respiratoire. Un schéma récapitule tout le processus

Il apparaît avec [ce travail que Le séquençage du génome entier permet d'identifier de nouvelles variations structurelles du gène DMD à l'origine de la dystrophie musculaire de Duchenne chez deux filles.](#) Il est analysé deux jeunes filles présentant une faiblesse musculaire sévère, des dystrophies musculaires et des taux de créatine kinase (CK) supérieurs à 10 000 U/L. Dans les tissus musculaires squelettiques, la réaction de coloration de la dystrophine a révélé un mosaïcisme. L'inactivation X presque entièrement asymétrique dans les deux cas a confirmé la possibilité d'une dystrophinopathie. Malgré les diagnostics moléculaires standards (y compris l'amplification multiplex par sonde dépendante de la ligature (MLPA) et le séquençage du panel de gènes par séquençage de nouvelle génération (NGS)), la cause génétique de l'état des jeunes filles est restée inconnue. Cependant, le séquençage du génome entier a révélé deux translocations réciproques entre leurs chromosomes X et les chromosomes 5 et 19, respectivement. **Dans les deux cas, les points de rupture sur les chromosomes X étaient situés directement dans le gène DMD (dans les introns 54 et 7, respectivement) et étaient responsables des phénotypes des patientes.** Des techniques supplémentaires telles que le séquençage Sanger, le caryotypage conventionnel et l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ont confirmé la perturbation du gène DMD chez les deux patients par le biais de translocations. Ces résultats soulignent l'importance de données cliniques précises combinées à une analyse histopathologique pour déterminer avec précision la maladie génétique sous-jacente présumée. En outre, cette étude illustre la viabilité du séquençage du génome entier en tant que méthode rapide et très efficace pour identifier les facteurs génétiques responsables de constellations génétiques complexes dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD).

## Les isoformes DMD et leurs cibles d'expression



Selon Wijekoon et al., J Clin Med. 2023 Aug 29;12(17):5637.

L'étude ci-dessous [analyse la dystrophie musculaire de Duchenne, du cerveau au muscle : le rôle des isoformes de la dystrophine cérébrale dans les fonctions motrices](#). La présente étude a exploré comment la perte cumulative d'isoformes de dystrophine, l'âge et un traitement aux corticostéroïdes affectent les résultats moteurs de la DMD. Au total, 133 patients sri-lankais atteints de DMD et confirmés génétiquement ont été divisés en deux groupes en fonction de l'atteinte des isoformes de dystrophine les plus courtes (Dp140, Dp116 et Dp71) : Le groupe 1, composé de patients dont les Dp140, Dp116 et Dp71 étaient affectés (n = 98), et le groupe 2, composé de patients non affectés (n = 35). Un sous-ensemble de 52 patients (groupe 1, n = 38 ; groupe 2, n = 14) a été suivi jusqu'à trois fois à des intervalles moyens de 28 mois. L'effet de la perte cumulative des isoformes de dystrophine les plus courtes sur l'histoire naturelle de la DMD a été analysé. Au total, 74/133 (56 %) patients ont présenté des retards de développement, 66/74 (89 %) appartenant au groupe 1 et 8/74 (11 %) au groupe 2 (p < 0,001). Les retards de développement moteur étaient prédominants. La force musculaire de la hanche et du genou, selon l'échelle du Medical Research Council (MRC) et les activités du North Star Ambulatory Assessment (NSAA), "se tenir sur une jambe à droite", "se tenir sur une jambe à gauche" et "marcher", a diminué rapidement dans le groupe 1 (p < 0,001). Dans l'analyse de suivi, les patients du groupe 1 se sont retrouvés en fauteuil roulant à un âge plus jeune que ceux du groupe 2 (p = 0,004). **Le dysfonctionnement moteur de la DMD est lié à des mutations de la DMD qui affectent des isoformes plus courtes de la dystrophine.** Lors de la stratification des individus pour les essais cliniques, il est crucial de prendre en compte le site de la mutation DMD et son impact sur une isoforme plus courte de la dystrophine. Une illustration résume la distribution selon les organes des diverses formes de dystrophines.

Cette analyse porte sur [le décodage du transcriptome de la dystrophie musculaire de Duchenne au niveau du noyau unique révèle des corrélations cliniques-génétiques](#). Les conséquences cellulaires et moléculaires de l'absence de dystrophine chez l'homme ne sont

que partiellement connues, ce qui est crucial pour le développement de nouvelles thérapies visant à ralentir ou arrêter la progression de la maladie. Il est analysé des biopsies musculaires du quadriceps de sept patients atteints de DMD âgés de 2 à 4 ans et de cinq témoins appariés selon l'âge et le sexe en utilisant le séquençage de l'ARN du noyau unique (snRNAseq) et les résultats obtenus sont corrélés avec les données cliniques. Le snRNAseq a permis d'identifier des différences significatives dans la proportion de la population cellulaire présente dans les échantillons musculaires, notamment une augmentation du nombre de fibres régénératives, de cellules satellites et de cellules progénitrices fibro-adipogènes (FAP) et une diminution du nombre de fibres lentes et de cellules musculaires lisses. Les échantillons de muscles Dans le cas des FAP, Il est observé la régulation de gènes impliqués dans la régénération de la matrice extracellulaire, mais aussi dans plusieurs voies de signalisation. **En effet, une analyse plus poussée du profil potentiel de communication intercellulaire a montré une dysrégulation du profil de communication dans les échantillons de DMD, identifiant les FAPs comme un régulateur clé de la signalisation cellulaire dans les échantillons de muscle DMD des jeunes patients présentant une faiblesse légère et stable étaient caractérisés par une augmentation des fibres régénératives, tandis que les patients plus âgés présentant une faiblesse modérée et progressive étaient caractérisés par une perte de fibres musculaires et une augmentation des cellules progénitrices fibro-adipogènes.** Une analyse du profil d'expression génique dans les fibres musculaires a permis d'identifier une forte signature régénérative dans les échantillons de DMD, caractérisée par l'augmentation des gènes impliqués dans la myogenèse et l'hypertrophie musculaire. En conclusion, cette étude a identifié des différences significatives aux niveaux cellulaire et moléculaire dans les différentes populations de cellules présentes dans les échantillons de muscles squelettiques de patients atteints de DMD par rapport aux témoins.

Il est présenté [dans cette analyse un ré-examen de la prise en charge thérapeutique des dystrophies musculaires à l'aide d'une approche centrée sur le muscle lisse vasculaire.](#) Contrairement à l'accent mis depuis longtemps sur la physiopathologie des muscles squelettiques dans la recherche d'un remède à la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), nous pensons que le dysfonctionnement de la dystrophine produite par les muscles lisses vasculaires est un facteur majeur de la pathologie de la maladie. Nous pensons qu'un glucane modificateur de la réponse biologique (BRMG), dont les études cliniques sur la DMD ont montré qu'il stimulait l'expression de la dystrophine du muscle lisse vasculaire et qu'il avait des effets anti-fibrotiques et anti-inflammatoires, pourrait jouer un rôle clé dans la réduction de la pathogenèse de la DMD. D'après l'évaluation des biomarqueurs, ce BRMG, qui est sûr et sans effets secondaires, réduit la pathogenèse de la DMD. **Il est décrit l'ensemble des mécanismes d'action possibles par lesquels ce BRMG contribue à atténuer les symptômes de la DMD en ciblant la dystrophine du muscle lisse, ainsi que ses avantages par rapport à d'autres modalités thérapeutiques, et comment il peut servir d'adjuvant précieux aux thérapies existantes.** Il est suggéré que l'utilisation d'adjuvants BRMG ciblant la dystrophine des muscles lisses serait une approche thérapeutique potentielle permettant de prolonger la durée de vie et d'allonger la durée de la déambulation dès l'apparition de la DMD. D'autres études sont nécessaires pour valider cette hypothèse. Consulter le tableau de la figure N°1 pour une vue d'ensemble.

Ce travail indique [l'expression et la fonction de quatre constructions à base d'AAV pour la restauration de la dystrophine dans le modèle de souris mdx de la dystrophie musculaire de Duchenne.](#) L'expression robuste de la dystrophine raccourcie et fonctionnelle a incité à développer des constructions basées sur le virus adéno-associé (AAV) pour une application clinique. Étant donné que plusieurs cassettes sont testées dans le cadre d'essais cliniques, cette

étude a comparé l'efficacité des quatre combinaisons suivantes de promoteurs de la dystrophine raccourcie, avec les implications que cela implique pour les résultats des essais cliniques : Promoteur MHCK7 ou MCK avec un transgène de dystrophine raccourci contenant l'extrémité N-terminale et les répétitions de spectrine R1, R2, R3 et R24 (rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine et rAAVrh74.MCK. micro-dystrophine, respectivement) ; une construction de dystrophine raccourcie contenant le site de liaison de l'oxyde nitrique neuronal (nNOS) (rAAVrh74.MHCK7.DV.mini-dystrophine) ; et une dystrophine raccourcie contenant l'extrémité C-terminale (rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine.Cterm). **Les bénéfices fonctionnels et histologiques ont été examinés 4 semaines après l'administration intramusculaire chez des souris mdx. La rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine a fourni l'expression transgénique la plus robuste et a augmenté de manière significative la force de sortie spécifique dans le muscle tibialis anterior.** L'environnement musculaire a été normalisé (réduction de la nucléation centrale), ce qui indique les avantages fonctionnels et histologiques de la rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine. Ainsi, le choix du promoteur et la conception du transgène sont essentiels pour une expression/distribution optimale de la dystrophine en vue d'une amélioration fonctionnelle maximale.

Cet article porte [sur l'efficacité des oligonucléotides antisens DMD pour le saut d'exon est en corrélation avec le temps de rétention de l'intron flanquant et la position de la cible dans l'exon.](#) Les mutations du gène DMD sont responsables de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Le saut d'exon à l'aide d'oligonucléotides antisens (AON) pour restaurer le cadre de lecture perturbé de la dystrophine est une approche thérapeutique qui permet la production d'une protéine plus courte mais fonctionnelle. Comme les mutations responsables de la DMD peuvent affecter la plupart des 79 exons codant pour la dystrophine, une grande variété d'AON est nécessaire pour traiter la population de patients. La conception des AONs est largement guidée par des essais et des erreurs, et ce qui définit la possibilité de sauter un exon n'est pas encore clair. Il est utilisé ici une bibliothèque d'oligomères morpholino phosphorodiamidés (PMO) ayant des propriétés physiques similaires pour tester la possibilité de sauter un grand nombre d'exons de la DMD. Le transcrit de la DMD est épissé de manière non séquentielle, ce qui signifie que certains introns sont retenus plus longtemps dans le transcrit que les introns situés en aval. Il a été vérifié si le temps de rétention relatif des introns avait un effet significatif sur l'efficacité de l'AON et nous avons constaté que le ciblage d'un exon hors cadre flanqué à son extrémité 5' par un intron qui est retenu plus longtemps dans le transcrit (intron "lent") conduit à une efficacité de saut d'exon globalement plus élevée que lorsque l'intron flanquant à l'extrémité 5' est "rapide". **Indépendamment de la vitesse d'épissage des introns flanquants, il est constaté que le positionnement d'un AON plus près de l'extrémité 5' de l'exon cible conduit à une plus grande efficacité de saut d'exon que le ciblage de l'extrémité 3' d'un exon.** Les données présentées ici peuvent servir à orienter la sélection future des cibles et des sites de liaison préférentiels des AON pour la DMD et d'autres maladies pouvant faire l'objet de thérapies par saut d'exon.

Il est question dans [cet article d'un essai quantitatif très sensible pour la protéine dystrophine en utilisant la technologie de comptage de molécules uniques.](#) L'expression de la protéine dystrophine est un biomarqueur utilisé pour évaluer les traitements qui restaurent les niveaux de dystrophine des patients. Actuellement, un test semi-quantitatif utilisant le western blotting, qui normalise l'expression de la dystrophine par rapport à celle d'une population de contrôle, est utilisé pour le classement réglementaire. Cependant, les méthodes actuelles sont

limitées en termes de sensibilité, de quantification et de reproductibilité. **Pour y remédier, un essai immunitaire sandwich quantitatif et très sensible utilisant la technologie de comptage de molécules uniques a été mis au point, avec la protéine recombinante de dystrophine comme calibreur.** Les anticorps de capture et de détection ont été sélectionnés pour détecter la dystrophine de pleine longueur. En utilisant ce test optimisé, les niveaux de dystrophine dans les échantillons musculaires de sujets atteints de dystrophie myotonique (n = 9) et de DMD (n = 8) étaient respectivement de  $93,2 \pm 31,9$  (fourchette : 49,4-145,3) et de  $14,5 \pm 6,8$  (fourchette : 6,18-22,6) fmol/mg de protéines totales. La plus faible concentration de dystrophine mesurée dans les échantillons de DMD était 5 fois supérieure à celle de la limite inférieure de quantification, un niveau non détecté par western blotting. Ces données indiquent que ce test mesure de manière précise et sensible la protéine dystrophine et peut être utile dans les essais cliniques évaluant la restauration de la dystrophine

[Biomarkers for Duchenne muscular dystrophy progression: impact of age in the mdx tongue spared muscle.](#)

Lorena MDSV, Santos EKD, Ferretti R, Nagana Gowda GA, Odom GL, Chamberlain JS, Matsumura CY. *Skelet Muscle*. 2023 Sep 13;13(1):16. doi: 10.1186/s13395-023-00325-z. PMID: 37705069

Il est question dans ce travail des biomarqueurs de la progression de la dystrophie musculaire de Duchenne : impact de l'âge dans le muscle épargné de la langue mdx. Les résultats indiquent que : L'analyse histologique de la langue du ventre moyen n'a montré aucune différence entre les groupes. Aucune différence n'a été trouvée entre les concentrations de métabolites provenant de langues entières de type sauvage ou mdx du même âge. Les métabolites alanine, méthionine et 3-méthylhistidine étaient plus élevés, et la taurine et le glycérol étaient plus faibles dans les jeunes langues de type sauvage et mdx ( $p < 0,001$ ). Les métabolites glycine ( $p < 0,001$ ) et acide glutamique ( $p = 0,0018$ ) n'étaient différents que dans les groupes mdx, étant plus élevés chez les jeunes souris mdx. L'acide acétique, la phosphocréatine, l'isoleucine, l'acide succinique, la créatine et les protéines TNF- $\alpha$  et TGF- $\beta$  ne présentaient aucune différence dans l'analyse entre les groupes ( $p > 0,05$ ).

Les conclusions sont les suivantes : **De manière surprenante, l'analyse histologique, des métabolites et des protéines révèle que la langue des vieux mdx reste partiellement épargnée par la myonécrose sévère observée dans les autres muscles.** Les métabolites alanine, méthionine, 3-méthylhistidine, taurine et glycérol peuvent être efficaces pour des évaluations spécifiques, bien que leur utilisation pour le suivi de la progression de la maladie doive être prudente en raison des changements liés à l'âge dans le muscle de la langue. L'acide acétique, la phosphocréatine, l'isoleucine, le succinate, la créatine, le TNF- $\alpha$  et le TGF- $\beta$  ne varient pas avec le vieillissement et restent constants dans les muscles épargnés, ce qui suggère leur potentiel en tant que biomarqueurs spécifiques de la progression de la DMD indépendamment du vieillissement.

[Myocardial native T<sub>1</sub> mapping and extracellular volume quantification in asymptomatic female carriers of Duchenne muscular dystrophy gene mutations.](#)

Lucia M, Roman P, Martin P, Luz MM, Tomáš H, Vladimír K, Lenka J, Jan M, Lukáš O, Věra F, Orphanet J Rare Dis. 2023 Sep 11;18(1):283. doi: 10.1186/s13023-023-02899-9. PMID: 37697356 Free PMC article.

Le sujet de cet article est la cartographie T1 native du myocarde et la quantification du volume extracellulaire chez des femmes asymptomatiques porteuses de mutations génétiques de la dystrophie musculaire de Duchenne. Les résultats sont les suivants: Il y avait 38 DMD-FC (âge moyen  $39,1 \pm 8,8$  ans) et 22 volontaires sains (âge moyen  $39,9 \pm 12,6$  ans) imaginés par CMR. Le temps de relaxation T1 natif global moyen était similaire pour les DMD-FC et les CG ( $1005,1 \pm 26,3$  ms vs.  $1003,5 \pm 25,0$  ms ; valeur  $p = 0,81$ ). De même, la valeur moyenne du VCE global était également similaire entre les groupes ( $27,92 \pm 2,02$  % contre  $27,10 \pm 2,89$  % ;  $p$ -value = 0,20). L'analyse segmentaire des valeurs moyennes de la VCE selon la classification de l'American Heart Association n'a pas montré de différences entre les groupes DMD-FC et CG. Il y avait une tendance non significative vers des valeurs moyennes de VCE plus élevées dans les segments inférieurs et inféro-latéraux du myocarde (valeur  $p = 0,075$  et  $0,070$  respectivement). **En conclusion : Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives dans les temps de relaxation T1 natifs moyens globaux et segmentaires et dans les valeurs ECV moyennes globales ou segmentaires.** Il y avait une tendance à des valeurs moyennes segmentaires de VCE plus élevées pour le DMD-FC dans les parois inférieures et inféro-latérales du myocarde.

[Nutrient rescue of early maturing and deteriorating satellite cell-derived engineered muscle tissue.](#)

Takahashi H, Ishiyama K, Takeda N, Shimizu T. Tissue Eng Part A. 2023 Sep 11. doi: 10.1089/ten.TEA.2023.0007. Online ahead of print. PMID: 37694582

L'étude suivante indique comment il est possible que le sauvetage nutritionnel du tissu musculaire dérivé de cellules satellites en début de maturation et en cours de détérioration. Cette étude rapporte que notre technique d'ingénierie tissulaire permet de découvrir les caractéristiques uniques des cellules satellites musculaires humaines en tant que source cellulaire pour nos tissus musculaires. Les tissus fabriqués à partir de cellules satellites ont atteint leur maturité fonctionnelle en quelques jours, ce qui est plus rapide que ceux créés à partir de myoblastes. D'autre part, les tissus musculaires dérivés de cellules satellites n'ont pas pu conserver leur capacité contractile, alors que les tissus dérivés de myoblastes ont montré des contractions musculaires pendant plusieurs semaines. Les structures des sarcomères et les structures membranaires de la laminine et de la dystrophine ont été perdues en même temps qu'une détérioration fonctionnelle précoce. Partant de l'hypothèse qu'une insuffisance de nutriments était à l'origine de la réduction de la durée de vie, il a été ajouté 10 % de sérum au milieu de culture des tissus musculaires dérivés de cellules satellites, bien qu'un milieu à plus faible teneur en sérum soit couramment utilisé pour produire des tissus musculaires. **Combiné à l'inhibiteur du récepteur TGF- $\beta$ 1, le SB431542, la capacité contractile des tissus musculaires a été remarquablement augmentée et les microstructures des tissus ont été maintenues à plus long terme tout en conservant la fonctionnalisation précoce et les conditions de culture enrichies ont empêché la détérioration précoce.** Ces résultats ont renforcé notre compréhension de la biologie des myoblastes et des cellules satellites dans la formation des tissus musculaires et ont fourni de nouvelles idées sur les applications de l'ingénierie des tissus musculaires.

[Translated with DeepL](#)

This study reports that our tissue engineering technique allowed us to discover unique characteristics of human muscle satellite cells as a cell source for our muscle sheet tissue. The



tissues engineered from satellite cells functionally matured within several days, which is earlier than those created from myoblasts. On the other hand, satellite cell-derived muscle sheet tissues were unable to maintain the contractile ability, whereas the myoblast-derived tissues showed muscle contractions for several weeks. The sarcomere structures and membrane-like structures of laminin and dystrophin were lost along with early functional deterioration. Based on a hypothesis that an insufficiency of nutrients caused a shortened lifetime, we supplemented the culture medium for the satellite cell-derived muscle sheet tissues with 10% serum; although a lower serum medium is commonly used to produce muscle tissues. Further combined with the TGF- $\beta$ 1 receptor inhibitor, SB431542, the contractile ability of the muscle tissues was increased remarkably and the tissue microstructures were maintained for a longer term while retaining the early functionalization and the enriched culture conditions prevented early deterioration. These results strengthened our understanding of the biology of myoblasts and satellite cells in muscle tissue formation and provided new insights into the applications of muscle tissue engineering.

[Loss of compensation afforded by accessory muscles of breathing leads to respiratory system compromise in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy.](#)

O'Halloran KD, Maxwell MN, Marullo AL, Hamilton CP, Ó Murchú SC, Burns DP, Mahony CM, Slyne AD, Drummond SE. *J Physiol.* 2023 Sep 8. doi: 10.1113/JP285203. Online ahead of print. PMID: 37688347

Ce travail porte sur la perte de la compensation offerte par les muscles accessoires de la respiration conduit à un compromis du système respiratoire dans le modèle de souris mdx de la dystrophie musculaire de Duchenne. Malgré la faiblesse du diaphragme, la performance inspiratoire maximale est préservée chez les jeunes souris mdx déficientes en dystrophine, ce qui révèle une compensation adéquate par les muscles extra-diaphragmatiques. **Les activités EMG des muscles obligatoires (diaphragme, intercostal externe et intercostal parasternal) sont plus faibles chez les souris mdx, apparaissant tôt dans la maladie dystrophique, avant le déclin temporel de la performance maximale.** Les activités EMG maximales de certains muscles accessoires sont plus faibles, tandis que d'autres sont préservées. Le recrutement du muscle trapèze est plus important chez les souris mdx lors de l'activation maximale du système. Chez les souris phrénicotomisées présentant une paralysie confirmée du diaphragme, la contribution des muscles extra-diaphragmatiques à la pression inspiratoire maximale est plus importante chez les souris mdx que chez les souris de type sauvage. La lésion chirurgicale des muscles accessoires (y compris abdominaux) affecte négativement la génération du pic de pression chez les souris mdx. Le remodelage du diaphragme conduisant à sa rigidification procure un avantage mécanique à la génération du pic de pression via l'action facilitée des muscles extra-diaphragmatiques dans les premiers stades de la maladie dystrophique. Les activités EMG accessoires de pointe sont plus faibles chez les souris mdx âgées de 12 mois que chez les souris de type sauvage. La pression inspiratoire maximale diminue chez les souris mdx à un stade avancé de la maladie. En conclusion il apparaît que la compensation offerte par les muscles accessoires de la respiration diminue dans la maladie dystrophique avancée, précipitant l'émergence d'un dysfonctionnement du système respiratoire.

[Whole-Genome Sequencing Identified New Structural Variations in the DMD Gene That Cause Duchenne Muscular Dystrophy in Two Girls.](#)

Pluta N, von Moers A, Pechmann A, Stenzel W, Goebel HH, Atlan D, Wolf B, Nanda I, Zaum AK, Rost S. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 1;24(17):13567. doi: 10.3390/ijms241713567. PMID: 37686372 Free PMC article.

Il apparaît avec ce travail que Le séquençage du génome entier permet d'identifier de nouvelles variations structurales du gène DMD à l'origine de la dystrophie musculaire de Duchenne chez deux filles. Il est analysé deux jeunes filles présentant une faiblesse musculaire sévère, des dystrophies musculaires et des taux de créatine kinase (CK) supérieurs à 10 000 U/L. Dans les tissus musculaires squelettiques, la réaction de coloration de la dystrophine a révélé un mosaïcisme. L'inactivation X presque entièrement asymétrique dans les deux cas a confirmé la possibilité d'une dystrophinopathie. Malgré les diagnostics moléculaires standards (y compris l'amplification multiplex par sonde dépendante de la ligation (MLPA) et le séquençage du panel de gènes par séquençage de nouvelle génération (NGS)), la cause génétique de l'état des jeunes filles est restée inconnue. Cependant, le séquençage du génome entier a révélé deux translocations réciproques entre leurs chromosomes X et les chromosomes 5 et 19, respectivement. **Dans les deux cas, les points de rupture sur les chromosomes X étaient situés directement dans le gène DMD (dans les introns 54 et 7, respectivement) et étaient responsables des phénotypes des patientes.** Des techniques supplémentaires telles que le séquençage Sanger, le caryotypage conventionnel et l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ont confirmé la perturbation du gène DMD chez les deux patients par le biais de translocations. Ces résultats soulignent l'importance de données cliniques précises combinées à une analyse histopathologique pour déterminer avec précision la maladie génétique sous-jacente présumée. En outre, cette étude illustre la viabilité du séquençage du génome entier en tant que méthode rapide et très efficace pour identifier les facteurs génétiques responsables de constellations génétiques complexes dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD).

#### [Duchenne Muscular Dystrophy from Brain to Muscle: The Role of Brain Dystrophin Isoforms in Motor Functions.](#)

Wijekoon N, Gonawala L, Ratnayake P, Amaratunga D, Hathout Y, Mohan C, Steinbusch HWM, Dalal A, Hoffman EP, de Silva KRD. J Clin Med. 2023 Aug 29;12(17):5637. doi: 10.3390/jcm12175637. PMID: 37685704 Free PMC article.

L'étude ci-dessous analyse la dystrophie musculaire de Duchenne, du cerveau au muscle : le rôle des isoformes de la dystrophine cérébrale dans les fonctions motrices. La présente étude a exploré comment la perte cumulative d'isoformes de dystrophine, l'âge et un traitement aux corticostéroïdes affectent les résultats moteurs de la DMD. Au total, 133 patients sri-lankais atteints de DMD et confirmés génétiquement ont été divisés en deux groupes en fonction de l'atteinte des isoformes de dystrophine les plus courtes (Dp140, Dp116 et Dp71) : Le groupe 1, composé de patients dont les Dp140, Dp116 et Dp71 étaient affectés (n = 98), et le groupe 2, composé de patients non affectés (n = 35). Un sous-ensemble de 52 patients (groupe 1, n = 38 ; groupe 2, n = 14) a été suivi jusqu'à trois fois à des intervalles moyens de 28 mois. L'effet de la perte cumulative des isoformes de dystrophine les plus courtes sur l'histoire naturelle de la DMD a été analysé. Au total, 74/133 (56 %) patients ont présenté des retards de développement, 66/74 (89 %) appartenant au groupe 1 et 8/74 (11 %) au groupe 2 (p < 0,001). Les retards de développement moteur étaient prédominants. La force musculaire de la hanche et du genou, selon l'échelle du Medical Research Council (MRC) et les activités du North Star Ambulatory Assessment (NSAA), "se tenir sur une jambe à droite", "se tenir sur une jambe à gauche" et "marcher", a diminué rapidement dans le groupe 1 (p < 0,001). Dans l'analyse de suivi, les patients du groupe 1 se sont retrouvés en fauteuil roulant à un âge plus jeune que ceux du groupe 2 (p = 0,004). **Le dysfonctionnement moteur de la DMD est lié à des mutations de la DMD qui affectent des isoformes plus courtes de la dystrophine.** Lors de

la stratification des individus pour les essais cliniques, il est crucial de prendre en compte le site de la mutation DMD et son impact sur une isoforme plus courte de la dystrophine.

[Decoding the transcriptome of Duchenne muscular dystrophy to the single nuclei level reveals clinical-genetic correlations.](#)

Suárez-Calvet X, Fernández-Simón E, Natera D, Jou C, Pinol-Jurado P, Villalobos E, Ortez C, Monceau A, Schiava M, Codina A, Verdu-Díaz J, Clark J, Laidler Z, Mehra P, Gokul-Nath R, Alonso-Perez J, Marini-Bettolo C, Tasca G, Straub V, Guglieri M, Nascimento A, Diaz-Manera J. Cell Death Dis. 2023 Sep 7;14(9):596. doi: 10.1038/s41419-023-06103-5. PMID: 37673877 Free PMC article.

Cette analyse porte sur le décodage du transcriptome de la dystrophie musculaire de Duchenne au niveau du noyau unique révèle des corrélations cliniques-génétiques. Les conséquences cellulaires et moléculaires de l'absence de dystrophine chez l'homme ne sont que partiellement connues, ce qui est crucial pour le développement de nouvelles thérapies visant à ralentir ou arrêter la progression de la maladie. Il est analysé des biopsies musculaires du quadriceps de sept patients atteints de DMD âgés de 2 à 4 ans et de cinq témoins appariés selon l'âge et le sexe en utilisant le séquençage de l'ARN du noyau unique (snRNAseq) et les résultats obtenus sont corrélés avec les données cliniques. Le snRNAseq a permis d'identifier des différences significatives dans la proportion de la population cellulaire présente dans les échantillons musculaires, notamment une augmentation du nombre de fibres régénératives, de cellules satellites et de cellules progénitrices fibro-adipogènes (FAP) et une diminution du nombre de fibres lentes et de cellules musculaires lisses. Les échantillons de muscles Dans le cas des FAP, Il est observé la régulation de gènes impliqués dans la régénération de la matrice extracellulaire, mais aussi dans plusieurs voies de signalisation. **En effet, une analyse plus poussée du profil potentiel de communication intercellulaire a montré une dysrégulation du profil de communication dans les échantillons de DMD, identifiant les FAPs comme un régulateur clé de la signalisation cellulaire dans les échantillons de muscle DMD des jeunes patients présentant une faiblesse légère et stable étaient caractérisés par une augmentation des fibres régénératives, tandis que les patients plus âgés présentant une faiblesse modérée et progressive étaient caractérisés par une perte de fibres musculaires et une augmentation des cellules progénitrices fibro-adipogènes.** Une analyse du profil d'expression génique dans les fibres musculaires a permis d'identifier une forte signature régénérative dans les échantillons de DMD, caractérisée par l'augmentation des gènes impliqués dans la myogenèse et l'hypertrophie musculaire. En conclusion, cette étude a identifié des différences significatives aux niveaux cellulaire et moléculaire dans les différentes populations de cellules présentes dans les échantillons de muscles squelettiques de patients atteints de DMD par rapport aux témoins.

[Re-examination of therapeutic management of muscular dystrophies using a vascular smooth muscle-centered approach.](#)

Preethy S, Yamamoto N, Osaza S, Raghavan K, Dedeepiya VD, Iwasaki M, Abraham SJ. J Smooth Muscle Res. 2023;59:67-80. doi: 10.1540/jsmr.59.67. PMID: 37673649 Free PMC

Il est présenté dans cette analyse un ré-examen de la prise en charge thérapeutique des dystrophies musculaires à l'aide d'une approche centrée sur le muscle lisse vasculaire. Contrairement à l'accent mis depuis longtemps sur la physiopathologie des muscles squelettiques dans la recherche d'un remède à la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), nous pensons que le dysfonctionnement de la dystrophine produite par les muscles lisses vasculaires est un facteur majeur de la pathologie de la maladie. Nous pensons qu'un glucane modificateur de la réponse biologique (BRMG), dont les études cliniques sur la DMD ont montré qu'il stimulait l'expression de la dystrophine du muscle lisse vasculaire et qu'il avait des effets anti-fibrotiques et anti-inflammatoires, pourrait jouer un rôle clé dans la réduction de la pathogenèse de la DMD. D'après l'évaluation des biomarqueurs, ce BRMG, qui est sûr et sans effets secondaires, réduit la pathogenèse de la DMD. **Il est décrit l'ensemble des mécanismes d'action possibles par lesquels ce BRMG contribue à atténuer les symptômes de la DMD en ciblant la dystrophine du muscle lisse, ainsi que ses avantages par rapport à d'autres modalités thérapeutiques, et comment il peut servir d'adjuvant précieux aux thérapies existantes.** Il est suggéré que l'utilisation d'adjuvants BRMG ciblant la dystrophine des muscles lisses serait une approche thérapeutique potentielle permettant de prolonger la durée de vie et d'allonger la durée de la déambulation dès l'apparition de la DMD. D'autres études sont nécessaires pour valider cette hypothèse.

[Expression and function of Four AAV-based constructs for dystrophin restoration in the mdx mouse model of duchenne muscular dystrophy.](#)

Potter RA, Griffin DA, Heller KN, Mendell JR, Rodino-Klapac LR. Biol Open. 2023 Sep 5;bio.059797. doi: 10.1242/bio.059797. Online ahead of print. PMID: 37670674 Free article.

Ce travail indique l'expression et la fonction de quatre constructions à base d'AAV pour la restauration de la dystrophine dans le modèle de souris mdx de la dystrophie musculaire de Duchenne. L'expression robuste de la dystrophine raccourcie et fonctionnelle a incité à développer des constructions basées sur le virus adéno-associé (AAV) pour une application clinique. Étant donné que plusieurs cassettes sont testées dans le cadre d'essais cliniques, cette étude a comparé l'efficacité des quatre combinaisons suivantes de promoteurs de la dystrophine raccourcie, avec les implications que cela implique pour les résultats des essais cliniques : Promoteur MHCK7 ou MCK avec un transgène de dystrophine raccourci contenant l'extrémité N-terminale et les répétitions de spectrine R1, R2, R3 et R24 (rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine et rAAVrh74.MCK. micro-dystrophine, respectivement) ; une construction de dystrophine raccourcie contenant le site de liaison de l'oxyde nitrique neuronal (nNOS) (rAAVrh74.MHCK7.DV.mini-dystrophine) ; et une dystrophine raccourcie contenant l'extrémité C-terminale (rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine.Cterm). **Les bénéfices fonctionnels et histologiques ont été examinés 4 semaines après l'administration intramusculaire chez des souris mdx. La rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine a fourni l'expression transgénique la plus robuste et a augmenté de manière significative la force de sortie spécifique dans le muscle tibialis anterior.** L'environnement musculaire a été normalisé (réduction de la nucléation centrale), ce qui indique les avantages fonctionnels et histologiques de la rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophine. Ainsi, le choix du promoteur et la conception du

transgène sont essentiels pour une expression/distribution optimale de la dystrophine en vue d'une amélioration fonctionnelle maximale.

[DMD antisense oligonucleotide mediated exon skipping efficiency correlates with flanking intron retention time and target position within the exon.](#)

Goossens R, Verwey N, Ariyurek Y, Schnell F, Aartsma-Rus A. RNA Biol. 2023 Jan;20(1):693-702. doi: 10.1080/15476286.2023.2254041. PMID: 37667454 Free PMC article.

Cet article porte sur l'efficacité des oligonucléotides antisens DMD pour le saut d'exon est en corrélation avec le temps de rétention de l'intron flanquant et la position de la cible dans l'exon. Les mutations du gène DMD sont responsables de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Le saut d'exon à l'aide d'oligonucléotides antisens (AON) pour restaurer le cadre de lecture perturbé de la dystrophine est une approche thérapeutique qui permet la production d'une protéine plus courte mais fonctionnelle. Comme les mutations responsables de la DMD peuvent affecter la plupart des 79 exons codant pour la dystrophine, une grande variété d'AON est nécessaire pour traiter la population de patients. La conception des AONs est largement guidée par des essais et des erreurs, et ce qui définit la possibilité de sauter un exon n'est pas encore clair. Il est utilisé ici une bibliothèque d'oligomères morpholino phosphorodiamidés (PMO) ayant des propriétés physiques similaires pour tester la possibilité de sauter un grand nombre d'exons de la DMD. Le transcrit de la DMD est épissé de manière non séquentielle, ce qui signifie que certains introns sont retenus plus longtemps dans le transcrit que les introns situés en aval. Il a été vérifié si le temps de rétention relatif des introns avait un effet significatif sur l'efficacité de l'AON et nous avons constaté que le ciblage d'un exon hors cadre flanqué à son extrémité 5' par un intron qui est retenu plus longtemps dans le transcrit (intron "lent") conduit à une efficacité de saut d'exon globalement plus élevée que lorsque l'intron flanquant à l'extrémité 5' est "rapide". **Indépendamment de la vitesse d'épissage des introns flanquants, il est constaté que le positionnement d'un AON plus près de l'extrémité 5' de l'exon cible conduit à une plus grande efficacité de saut d'exon que le ciblage de l'extrémité 3' d'un exon.** Les données présentées ici peuvent servir à orienter la sélection future des cibles et des sites de liaison préférentiels des AON pour la DMD et d'autres maladies pouvant faire l'objet de thérapies par saut d'exon.

[A highly sensitive and quantitative assay for dystrophin protein using Single Molecule Count Technology.](#)

Il est question dans cet article d'un essai quantitatif très sensible pour la protéine dystrophine en utilisant la technologie de comptage de molécules uniques. L'expression de la protéine dystrophine est un biomarqueur utilisé pour évaluer les traitements qui restaurent les niveaux de dystrophine des patients. Actuellement, un test semi-quantitatif utilisant le western blotting, qui normalise l'expression de la dystrophine par rapport à celle d'une population de contrôle, est utilisé pour le classement réglementaire. Cependant, les méthodes actuelles sont limitées en termes de sensibilité, de quantification et de reproductibilité. **Pour y remédier, un essai immunitaire sandwich quantitatif et très sensible utilisant la technologie de comptage de molécules uniques a été mis au point, avec la protéine recombinante de dystrophine comme calibre.** Les anticorps de capture et de détection ont été sélectionnés pour détecter la dystrophine de pleine longueur. En utilisant ce test optimisé, les niveaux de dystrophine dans les échantillons musculaires de sujets atteints de dystrophie myotonique (n =

9) et de DMD (n = 8) étaient respectivement de  $93,2 \pm 31,9$  (fourchette : 49,4-145,3) et de  $14,5 \pm 6,8$  (fourchette : 6,18-22,6) fmol/mg de protéines totales. La plus faible concentration de dystrophine mesurée dans les échantillons de DMD était 5 fois supérieure à celle de la limite inférieure de quantification, un niveau non détecté par western blotting. Ces données indiquent que ce test mesure de manière précise et sensible la protéine dystrophine et peut être utile dans les essais cliniques évaluant la restauration de la dystrophine