

# Dystrophine : La Famille

## Introduction

Découverte en 1987, ([première identification](#)), la Dystrophine, protéine du cytosquelette qui a un poids moléculaire de 427 kDa a été intensivement étudiée dès sa découverte. Le locus du gène de la Dystrophine [Xp21.2](#), mesurant 2.4 Mb, est ensuite étudié en détails. Ce gène totalise 79 exons mais il existe au sein de ce locus de nombreux intron plus ou moins long dont l'étude va révéler diverses découvertes. On va par ailleurs identifier de nombreux épissages alternatifs qui sont à l'origine de multiples isoformes. Comme indiqué dans le feuillet sur la partie concernant la Dystrophine et le chapitre « **Découverte** », une nouvelle notion va être associée à cette grande protéine, la notion de « **la famille des Dystrophines** ».

## La famille des Dystrophines

Ce chapitre est le résumé d'une accumulation de découvertes successives qui montrent que pour un même locus Xp21 du gène codant pour la Dystrophine, le concept autrefois acquis de **l'existence d'un gène = une protéine** trouve ici encore une preuve pour démontrer qu'il est faux. Il se cachait de multiples promoteurs qui vont être successivement découverts générant des Dystrophines de taille variables, des dites longues et des courtes. Chacune d'entre elles va successivement être rapportée dans la suite de cette présentation. Pour plus de détails une analyse des formes de Dystrophine dites longues est proposée ci-dessous et les formes courtes seront analysées ensuite..

## Les Dystrophines « formes longues»

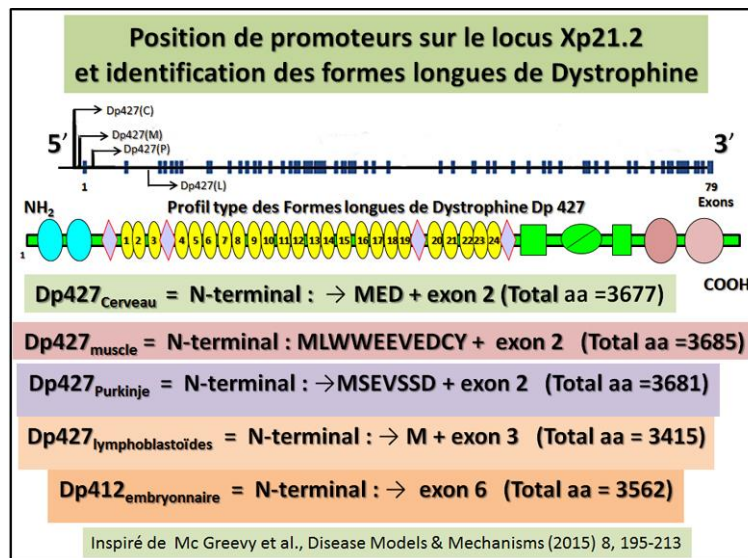
Comme indiqué dans ce chapitre il existe des isoformes longues (c'est-à-dire complètes qui seront identifiées comme des Dp (Dystrophin product = produit de la dystrophine) avec le poids moléculaire correspondant à une séquence complète soit **Dp 427** et les particularités de chacune sont résumées ci-dessous. Des transcrits résultants d'épissages alternatifs qui concernent plus spécifiquement l'extrémité C-terminale au niveau de 3 sites majeurs :

L'[exon 78](#) du gène DMD ; Les [exons 71 à 74](#) et les conséquences sur la pathologie ; L'[exon 68](#) qui est absent dans un transcrit exprimé dans le muscle lisse. Mais il existe aussi des épissages de la région 5' qui ont également été rapportés. Les 77 exons codant pour la Dystrophine sont actuellement décrits et caractérisés comme appartenant à 5 groupes différents en fonction de paramètres d'épissages bien établis (voir arbre décisionnel proposé dans [la référence indiquée](#)).

- **De fait la forme longue de la Dystrophine ne va pas être unique :**

Il existe à l'extrémité 5' du gène DMD au moins 3 promoteurs différents qui génèrent ainsi 3 exons N°1 spécifiques ce qui donne une séquence N-terminale unique avec ensuite une structure identique avec l'exon N°2 puis les exons suivants étant similaires. On a ainsi 3 séquences uniques pour ces 3 isoformes longues qui sont initialement référencées comme suit : [Dp427 Cérébrale](#) ; [Dp427 Musculaire](#) ; [Dp427 Cellule de Purkinje](#) . Cependant l'existence d'un quatrième promoteur situé plus de 750 kb en amont du promoteur de muscle a aussi été

déecté comme actif dans les cellules lymphoblastoïdes et sera annoté comme [Dp427 Lympho](#).



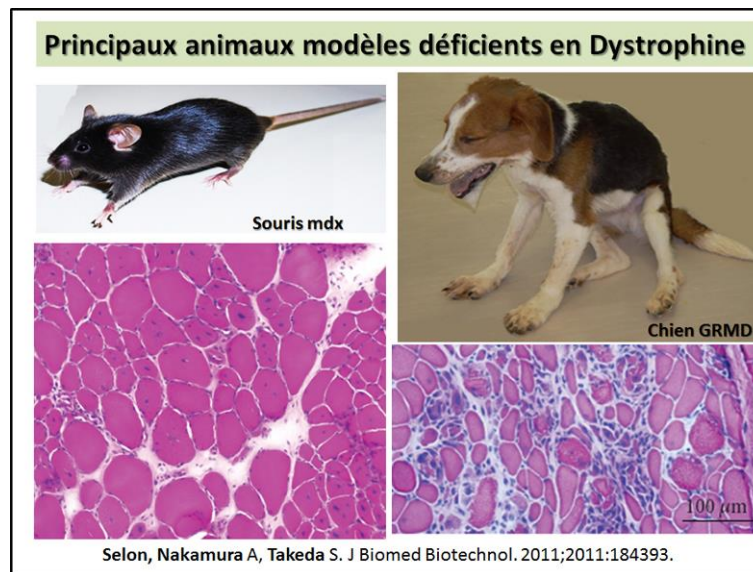
Un schéma récapitulatif permet de résumer sur le locus du gène codant pour les Dystrophine la position des 3 séquences promotrices qui vont donner naissance à une Dystrophine spécifique comme l'indique l'identification des promoteurs B (Brain), M (Muscle) et P (Purkinje) et la forme L (lymphoblastoïdes). Ces diverses versions se caractérisent en partie par une séquence N-terminale qui lui est propre un épissage avec un premier exon spécifique.

- Notons par ailleurs l'existence d'une [forme embryonnaire longue](#) qui ne possède pas les 13 derniers résidus des formes longues ici décrites (**P R T P G K P M R E D T M**) mais possède en remplacement 31 nouveau résidus comme suit : (**H N V G S L F H M A D D L G R A M E S L V S V M T D E E G A E**) et dont les **12 derniers** résidus seront retrouvé dans une forme courte de Dystrophine la Dp71 qui sera présentée plus bas. (= **L V S V M T D E E G A E**).
- En 2015 notons de plus que la version **Dp412e** est une [nouvelle isoforme humaine de la Dystrophine induite par BMP4](#) dans le stade du début de différenciation des cellules. Cette nouvelle isoforme de la Dystrophine décrit dans cet article est une forme traduite à partir de l'exon 6 et se trouve ci-après dénommé « Dp412e » (« e » pour embryonnaire). La nouvelle protéine de Dystrophine correspond à un poids moléculaire de 412 kilodaltons (kDa), elle est caractérisé par a un premier exon spécifique non traduit qui est conservée seulement dans un sous-groupe des anthropoïdes y compris l'homme, et va donner comme résultat une protéine ayant son domaine de liaison à l'actine tronqué en position N-terminale( voir illustration ou la forme Dp412eest incluse).

Depuis [les travaux pionniers](#), sur l'identification du « complexe des **glycoprotéines associées** à la Dystrophine », rapidement suivis par des [travaux complémentaires](#), ont permis de mieux identifier et déterminer l'ensemble des partenaires de ce complexe macromoléculaire situé à la membrane de la fibre musculaire. Ainsi [l'organisation de ce complexe](#) fut impliquée, comme on le verra dans le détail sur chacune des protéines associées, en particulier le rôle de chacun dans la maintenance de l'intégrité membranaire avec un lien allant du réseau d'actine sous-membranaire vers la matrice extracellulaire. Puis ce complexe de glycoprotéines fut également impliqué dans [le processus de signalisation](#)

[membranaire](#), en particulier pour la distribution des récepteurs à l'acétylcholine au niveau de la membrane post-synaptique. La mise à jour de la [biologie du complexe Dystrophine](#) explique désormais mieux les rôles de cet ensemble de protéines membranaires et ouvre de nouvelles perspectives de thérapies. Le **rôle du complexe Dystrophine-glycoprotéines** ne se limite pas au **muscle** mais concerne également le système nerveux central SNC et toutes ces données sont résumées dans une étude de la [Neurobiologie d'un tel complexe](#). En fait l'étude de la pathologie dite « Duchenne Muscular Dystrophy » (DMD) va se développer surtout par l'étude d'animaux modèles dont le chapitre suivant fait une courte parenthèse par rapport à la présentation de l'ensemble de la **famille des Dystrophines**.

## Les animaux modèles



Ce chapitre résume d'une part l'identification des **animaux modèles** et les méthodes de **dépistages de la Dystrophine altérée et ou manquante** chez ces animaux. En grande majorité les études sur la déficience en Dystrophine dans un muscle sont actuellement réalisées sur 2 modèles animaux **la souris mdx** et le **chien GRMD**, comme cela est illustré sur le schéma suivant avec [l'allure général des muscles correspondants](#) ou la fibrose est largement évidente. Une telle orientation dans la recherche sur la déficience en Dystrophine et les animaux modèles **montre que les approches qui se diversifient** en développant de nouveaux animaux modèles, ce qui implique des recherches sur des « [grands animaux modèles](#) », par opposition aux « petits » animaux modèles type souris). Pour autant si depuis le début des recherches sur la Déficience en Dystrophine la souris [mdx est bien le modèle officiel de la pathologie](#), on possède actuellement sur cet animal le [bilan protéomique de la déficience en Dystrophine au niveau du diaphragme](#), seul muscle vraiment modèle de la pathologie humaine DMD. Cependant des travaux plus récents prendront d'autres lignée de souris comme animal [la souris mdx \(5cv\)](#) qui présente une dystrophie encore plus sévère. De plus, un article **souligne en 2012** qu'il existe **un paradoxe** pour les muscles déficients en Dystrophine chez la souris, **quant à leur hypertrophie** (réelle en qualité musculaire). Cela pourrait aider à mieux comprendre une exagération de [l'instabilité posturale et le fait que cela provoque des contractures articulaires](#) chez les patients. Comme cité et illustré plus haut, on dispose également du chien dystrophique le [labrador déficient en Dystrophine GRMD](#). Il existe un bilan [protéomique sur cet animal](#). Les modèles canins de la Dystrophie Musculaire de Duchenne sont bien répertoriés depuis 2012 et leurs utilisations pour **diverses approches en thérapie** figurent dans [l'article en référence](#). Une revue **datant de 2015** fait

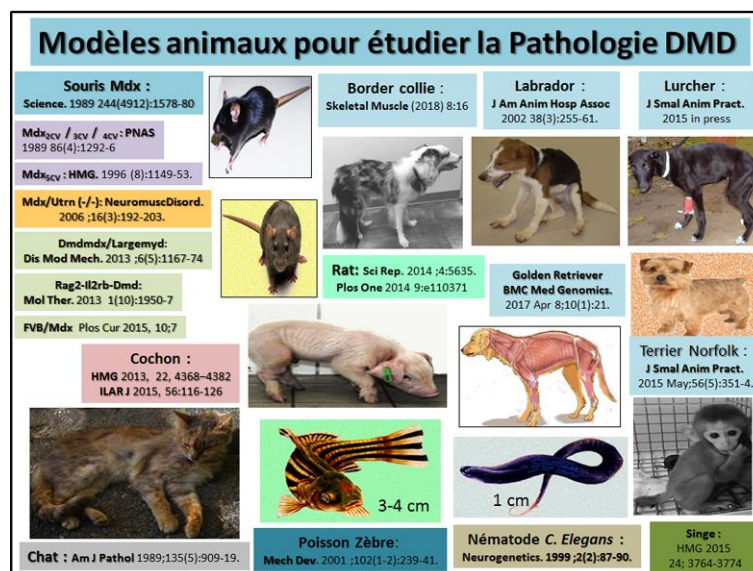
un bilan précis sur les [études relatives à ce modèle animal](#). Un intérêt spécial sera porté sur le travail en référence chez le chine Dystrophique, qui indique simplement que dans **un cas particulier le vie sans Dystrophine est possible**. Cela indique clairement comme le souligne un court commentaire que les nouvelles études suggèrent fortement que la pathologie DMD est en fait une maladie très complexe et multiforme. Cela met en évidence la nécessité d'une combinaison de différentes stratégies thérapeutiques qui ciblent certes la population générale des patients, mais dans certains cas il **faudra aussi une approche individualisée** basée sur des informations phénotypique, génétique et épigénétique spécifiques.

Citons par ailleurs quelques travaux sur la déficience en Dystrophine, qui vont également concerner les [félins tels le chat déficient en Dystrophine](#), mais aussi le modèle *Caenorhabditis elegans*, et l'existence d'un gène codant pour [une protéine dite Dystrophine-like](#) qui donne un phénotype similaire chez le Nématode qu'une mutation sur la Dystrobrevine, de même que d'autres études qui privilégieront des travaux sur le [poisson Zèbre](#) surtout pour son développement rapide et pour lequel la **Dystrophine est bien identifiée** Une nouvelle description existe pour une Dystrophie musculaire avec déficience en Dystrophine chez [des jeunes chiens males Lurcher](#). La souris double mutante dystrophine/Utrophine est sévèrement atteinte d'une cardiomyopathie et cela en fait [un animal modèle de choix pour étudier cette pathologie](#). Un [nouveau modèle de souris](#) « immunodéficientes » et déficiente en Dystrophine, est actuellement disponible. L'étude de cette souris nommée « NSG-Mdx4cv », apporte la preuve que il y a bien une amélioration fonctionnelle significative si une greffe allogénique de cellules satellite est réalisée chez cet animal modèle. Un [autre modèle animal chez la souris pour mieux étudier](#) les dystrophies musculaires de type *Dmdmdx/Largemyd* (*Voir l'article en référence*). Un nouvel animal modèle, [un rat](#), déficient en Dystrophine. La souris double mutante Dystrophine/Utrophine est sévèrement atteinte d'une cardiomyopathie et cela en fait aussi [un animal modèle de choix pour étudier cette pathologie](#). Un [bilan exhaustif semble indiquer que le double mutant pour « Dystrophine et Utrophine »](#), obtenu chez la souris dko (dystrophin-utrophin double knockout), permet de mimer au plus près l'évolution de la Dystrophie Musculaire de Duchenne que l'on observe chez l'homme. Cependant, nous citons aussi ici une revue ancienne (parmi de nombreuses autres) qui permet d'avoir une image des **apports de chaque modèle sur la pathologie DMD**, la plus [récente revue étant celle déjà citée](#) dont sont issues les illustrations ci-contre présentées. Il n'en demeure pas moins que **fabriquer une nouvelle souris transgénique peut aider à démontrer qu'un** autre espoir existe. En effet, chez la souris mdx transgénique, où Utrophine a été surexprimée dans le muscle squelettique et le diaphragme, mais pas dans le cœur, [une recherche fondamentale démontre que](#) la fonction cardiaque a été restaurée à des niveaux comparables à ceux de la souris de type sauvage. Plus particulièrement ce travail relate que la fraction d'éjection à droite et à gauche du ventricule mesurée en utilisant la technique de l'IRM *in vivo*, semble totalement retrouvée. Ce nouveau traitement des muscles respiratoires pour prévenir la Cardiomyopathie est réalisé chez la souris Dystrophique et nécessite cependant une investigation rapide et plus poussée pour envisager de traiter directement le cœur dans la DMD. Par ailleurs un modèle de stratégie pour étudier une Dystrophie musculaire chez la souris [est proposé dans l'article en référence](#) En particulier des schémas se trouvent dans cet article dont le dernier récapitule un plan possible pour les études à réaliser chez l'animal modèle atteint d'une dystrophie musculaire. On y trouve également de nombreux tableaux avec des références importantes pour mieux interpréter les potentiels résultats obtenus.

**En 2013**, un autre modèle animal proche de l'homme, le cochon. ([voir détail dans l'article en référence](#), avec en particulier plusieurs vidéos ou sur l'une d'entre elles on peut voir le

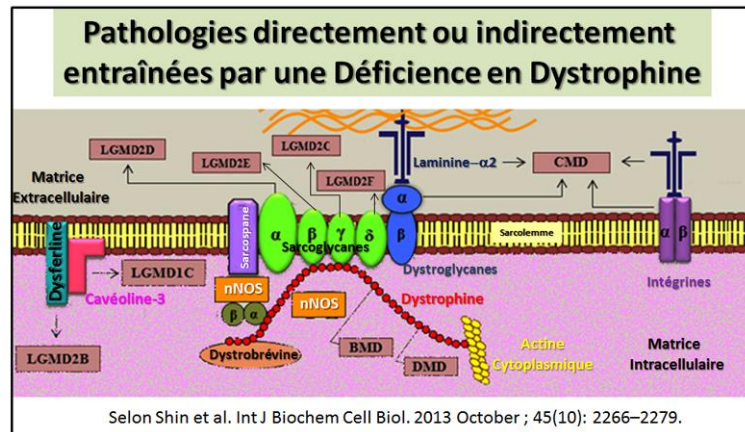
cochon DMD qui ne peut pas franchir une marche). Ainsi **en 2014**, une étude indique qu'une pathologie classée comme myopathie de type BMD semble impliquer l'apparition d'une Dystrophinopathie chez les porcs. Cette analyse représente un premier rapport d'un [cas naturel de myopathie associée à des anomalies dystrophine chez le cochon](#). Un [autre modèle de souris déficiente en Dystrophine](#) (baptisée =Rag2-II2rb-Dmd- mouse), pour mieux étudier les éventuels avantages d'une thérapie de la DMD. Une avancée sur la connaissance dans le domaine de l'évolution de la pathologie chez le [chien Labrador déficient en Dystrophine](#). Son profil ressemble à la pathologie chez l'homme dite de « Becker. » Des compléments d'informations sur la [pathologie de Duchenne chez le chat](#). De nouvelles données en relation avec les divers [animaux modèles de la déficience en Dystrophine](#) (voir un bilan sur l'immunoprotéasome). Un autre travail sur l'évolution de l'absence de Dystrophine au [niveau du muscle lisse du chien](#) (animal modèle). Les diverses souris modèles (plus de 30) pour les Dystrophies musculaires ([regard sur le rôle et la fonction du DAPC et de ces divers composants, revue](#)). Caractérisation d'un nouveau modèle animal pour la maladie de Duchenne : [Le rat](#).

Enfin **en 2015**, Déficience en Dystrophine [chez le chien](#) « Terrier Norfolk ». Un bilan sur [le modèle de la souris mdx](#) de la dystrophie musculaire de Duchenne et sa contribution à notre meilleure compréhension de cette maladie. Avec Un bilan sur la **thérapie de la DMD** en prenant comme [modèle animal le chien](#). Un nouvel article fait le répertoire **des animaux modèles** pour la [Dystrophie musculaire de Duchenne](#). (Article à voir **nombreuses illustrations** parfois pertinentes). Analyse d'un nouvel animal modèle, le singe Rhésus avec déficit en Dystrophine (Voir détails [dans l'article en référence](#)). Chez une [famille de chiens Labrador Retriever](#), dans des situations exceptionnelles, les **muscles sans Dystrophine peuvent être fonctionnels**. Aussi le challenge maintenant est de percer les secrets qui protègent les muscles de ces chiens contre une myopathie clinique grave et **cela représente un grand défi et un soutien à l'hypothèse que la vie sans Dystrophine est possible**. Les futurs travaux dans ce domaine pourraient avoir des implications importantes pour le traitement futur des dystrophies musculaires humaines.

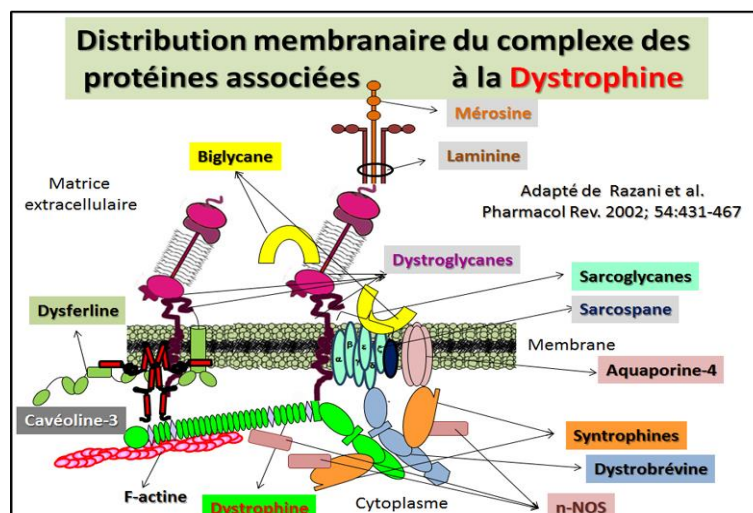


Au début des années 1970, un groupe de souris à la huitième génération consanguine de HSFS / N ont été trouvés porteuse de l'allèle  $FvI^b$  responsable de la sensibilité à la souche B du virus de la leucémie. Les Souris homozygotes ont ensuite par consanguinité fondées la souche FVB, sans autre sélection pour la sensibilité à l'histamine ( [Taketo et al 1991](#) ). Une

nouvelle étude, menée en 2015, montre que cette souche croisée avec des souris mdx (FVB/MDX) donne des animaux qui possèdent un phénotype relativement semblable à celui de la lignée mdx. Ce modèle est ainsi proposé comme nouveau modèle animal pour suivre l'évolution de la Dystrophie musculaire de Duchenne Une avancée sur les animaux modèle pour étudier la pathologie DMD la souris double mutante (mdx:utrophine+/-). Cette illustration ci-contre regroupe les principaux animaux modèles actuellement connus pour une étude sur la pathologie DMD. En complément en 2015, une revue tente le bilan sur les connaissances acquises sur la Dystrophine à partir des études avec la souris mdx. En Mai 2015, une nouvelle revue fait le point sur le modèle animal : » Le Cochon » pour étudier la pathologie DMD.

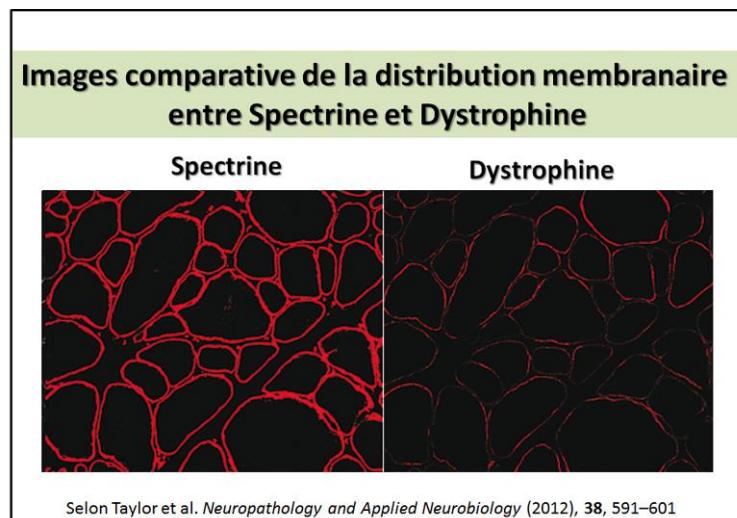


Pour autant les études chez l'homme furent engagées très tôt après la découverte de la Dystrophine et dès que des outils, sous forme principalement au début d'anticorps spécifiques, et il était clair qu'en l'absence de Dystrophine, il existe une contrainte mécanique associée à une contraction musculaire qui va induire des dommages membranaires et des nécroses de fibres musculaires. Cependant des études menées sur les muscles chez des modèles animaux et chez l'homme ont montrées que la perte partielle ou totale des protéines normalement associées à la Dystrophine avait pour résultat une activation de plusieurs cascades pathologiques qui s'aggravent au cours de la progression de la maladie, une illustration simplifiée, qui est présentée ci-contre, donne une idée des pathologies directement et indirectement provoquées par la déficience en Dystrophine au niveau de la membrane musculaire.



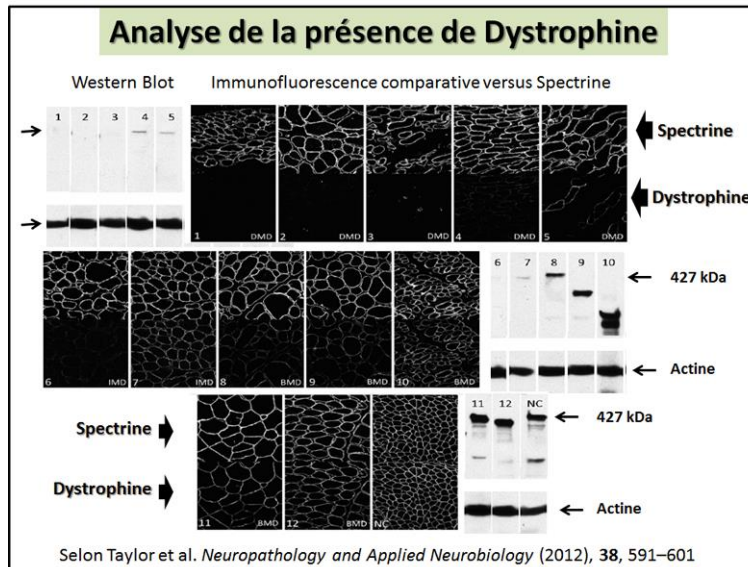
Dans un muscle sain, où il y a de la Dystrophine, le bilan observé demeure le lien avec la matrice extracellulaire et le rôle dans la signalisation membranaire du complexe macromoléculaire autour de la Dystrophine comme dans l'illustration ci-contre, Des détails sur chaque partenaire du complexe Dystrophine-protéines associées seront décrits en détail dans les chapitres correspondant à chacune d'elles.

Dans le muscle squelettique sain on localise la Dystrophine au niveau de la membrane de chaque fibre musculaire en utilisant un anticorps primaire spécifique dirigé contre la Dystrophine. Cela donne un marquage que l'on visualise sur coupe musculaire grâce à l'utilisation d'un anticorps secondaire [couplé à la fluorescence](#) (ici sur l'illustration, la fluorescence est Le fluorophore [Alexa Fluor® 568 goat antirabbitIgG \(A11036, Molecular Probes\)](#))



On remarquera sur cette figure que le marquage membranaire est similaire à celui obtenu en utilisant comme anticorps primaire un anticorps dirigé contre [la Spectrine](#) connue comme localisée à la périphérie de la fibre musculaire. Son utilisation systématique en fera un contrôle de la présence d'une membrane intacte dans les cas de déficience en Dystrophine.

Pour une information complète sur la taille et la quantité de Dystrophine présente dans un muscle squelettique on réalise des extraits protéiques dont on sépare les protéines sur un gel de polyacrylamide adapté et on utilise alors la technique du [Western blot](#) avec des anticorps dirigés contre la Dystrophine ce qui permettra si elle est présente intacte de détecter une protéine de taille 427 kDa. Un standard interne sera pris pour équilibrer la quantité de protéine analysée (ici l'[actine musculaire](#)). On pourra faire ensuite une corrélation entre, l'absence de marquage et l'absence de protéine détectable avec la technique du Western Blot, cas d'une Dystrophie de Duchenne DMD. De plus, la présence d'un marquage membranaire et une taille de protéine détectée plus courte, sera signature d'un cas de dystrophie dite de Becker. Des [quantifications précises permettront d'affiner](#) ces résultats comme cela est décrit en détails dans l'article en référence dont les résultats sont présentés dans l'illustration ci-contre.



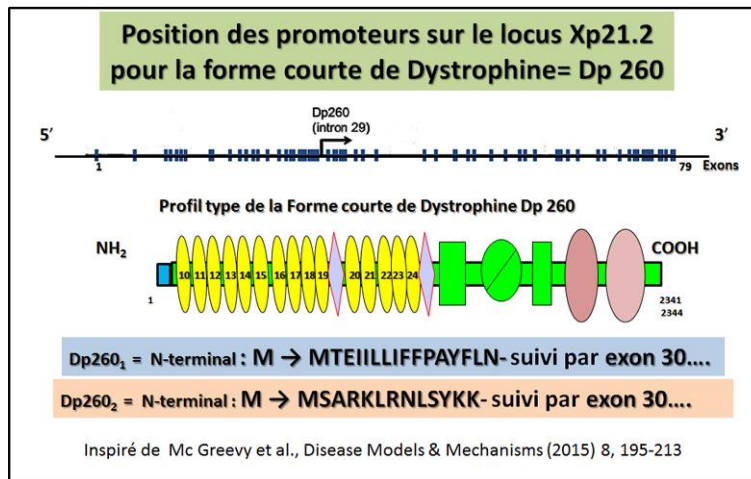
Dans un premier temps on va utiliser des anticorps commerciaux dit [Dys3](#), [Dys1](#) et [Dys2](#) (Actuellement de [nombreux autres anticorps spécifiques](#) sont disponibles et ils sont dirigés contre 25 régions différentes de La Dystrophine ), qui permettent de tester la présence d'une Dystrophine de 427 kDa du N-terminal au C-terminal, ce qui permet de s'assurer que la protéine est intacte et/ou de visualiser que la protéine est tronquée avec une partie manquante (Cas de BMD).

## Les Dystrophines « formes courtes »

Des formes de Dystrophine **plus courtes** apparaissent progressivement dans la littérature sans domaine N-terminal et avec un domaine central plus ou moins réduit et dont l'identification mentionne le terme « Apo Dystrophine » avec un chiffre indiquant chronologiquement sa découverte (1, 2, 3..). Pour simplifier la présentation l'ordre ne sera pas chronologique mais en fonction de la taille des isoformes identifiées en commençant par la plus longue. On a cependant au total identifié 4 promoteurs, chacun spécifique de types cellulaires particuliers, et donc d'un type de transcript spécifique ce qui indique la complexité des différentes fonctions que doivent jouer ces isoformes.

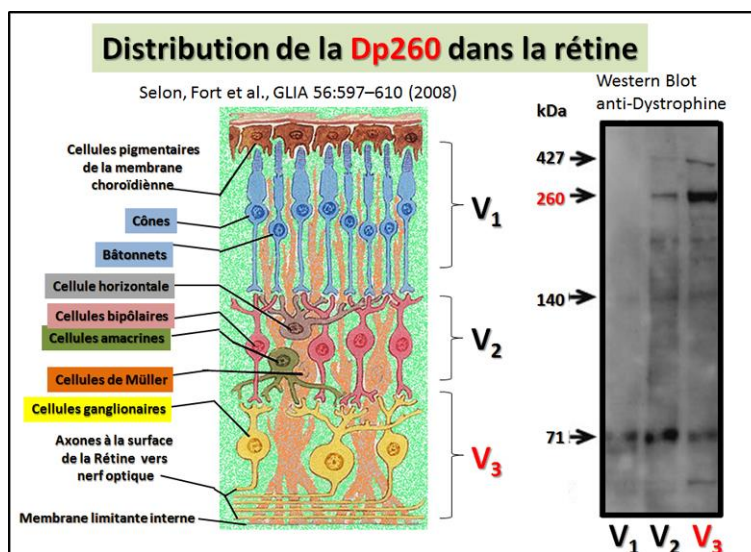
- **La forme dite Dp260**





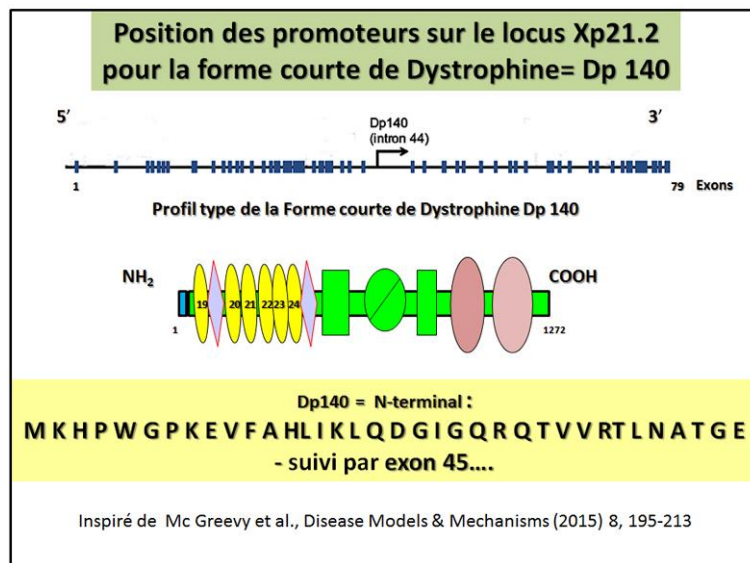
Cette protéine est la plus long des **Dps courts**. Elle est exprimée principalement au niveau de la [couche plexiforme externe de la rétine](#) (mais on la trouve également dans le cerveau et dans le cœur). Ce transcrite possède une séquence N-terminale unique de 13 nouveaux acides aminés en phase avec l'exon 30 de la Dystrophine et possède ainsi les motifs répétés R10 à R24 et la totalité des 2 derniers domaines C-terminaux de la Dystrophine longue. On va en particulier étudier cette isoforme au niveau de la rétine et elle sera nommée dite [Dp260 rétine](#). Un schéma récapitulatif montre son portrait-robot

De nombreux travaux ont permis de mieux définir les protéines associées avec un tel transcrite court et on trouvera des [informations complémentaires](#) dans de nombreux travaux dirigé par le Dr [Alvaro Rendon](#). De nombreux travaux ont permis de mieux définir les protéines associées avec un tel transcrite court et on trouvera des [informations complémentaires](#) dans de nombreux travaux dirigé par le Dr [Alvaro Rendon](#). En particulier une étude selon diverses fractions protéiques issues de la rétine et indiquées comme V1, V2 et V3 permettent de mieux connaître la distribution des diverses formes de Dystrophines selon les cellules présentes dans les couches de la rétine étudiées et un schéma récapitulatif cible en particulier [la plus forte présence de la Dp260 au niveau de la fraction V3](#), riche en photorécepteurs et contenant une partie du corps des cellules de Müller.



Une [récente revue \(Juin 2012\)](#) présente en détail **le complexe macromoléculaire autour de la Dystrophine dans la rétine** il convient de savoir que l'on doit distinguer trois domaines membranaires fonctionnels au niveau des cellules gliales constitutives. On parle ainsi au niveau de la rétine, en relation avec leur arrangement moléculaire typique de :1) **Le domaine** qui s'affiche spécifiquement comme le domaine, dit « **endfoot** » avec le complexe de la **Dp71 + Dystrobrevine et -protéines associées**, avec l'**Aquaporine-4** et le Canal de Potassium dit **Kir4.1** ; 2) **Le domaine des microvillosités** commun aux cellules gliales et aux cellules de Müller avec la présence de l'**Ezrine** ; 3) **Le domaine spécifique de la cellule Müller** en relation avec des processus gliaux périphériques liés à un sous-type spécifique de la synapse.

- **La forme dite Dp140**



La protéine courte de Dystrophine dite Dp140 ne possède que les 5 derniers motifs répétitifs du domaine central et la totalité de la séquence C-terminale de la Dystrophine longue. Comme précédemment le N-terminal est une courte séquence de 36 résidus dont 5 identique à l'exon 45 suivi de la séquence codante donnant la région R19 et un schéma récapitulatif est présenté pour en illustrer le portrait-robot.

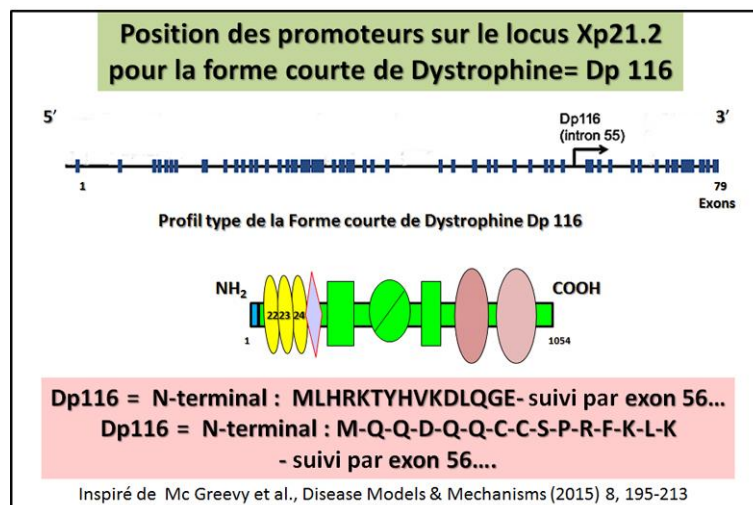
Sa distribution semble se localiser dans [les cellules gliales du cerveau](#) et dans le cerveau et [dans les reins](#) avec des épissages particuliers à ces divers tissus en particulier [chez les rongeurs](#). Chez le patient DMD, aucune simple relation entre les mutations trouvées sur la Dystrophine et le fonctionnement cognitif n'a pu être détectée. Toutefois, [dans le travail en référence](#), les résultats révèlent que les patients qui n'ont pas l'isoforme de la Dystrophine dite Dp140 présentent significativement le plus de problèmes cognitifs. On retrouve ainsi une corrélation chez les DMD mais aussi chez les BMD [d'un déficit d'apprentissage](#) avec la perte de la Dp140. En 2014, la distribution post-synaptique de l'isoforme courte de Dystrophine et rôle de type excitateur et somatodentritique = la Dp40 [dans les neurones de l'hippocampe](#). Il est observé un [déficit en matière grise et une altération de la matière blanche](#) dans le cerveau chez les DMD en corrélation avec la Dp140.

**Un bilan effectué en 2015 donne le** Profil cognitif et les effets neurocomportementaux chez les garçons atteints dystrophie musculaire de Duchenne en effectuant un rapport précis en fonction des transcrit courts de [comme les formes Dp260 et Dp140](#). Dans le cas particulier

d'un [différentiel de distribution cellulaire de la Dp40](#), ce travail rapporte l'implication spécifique et l'importance **du domaine EF** de cette protéine

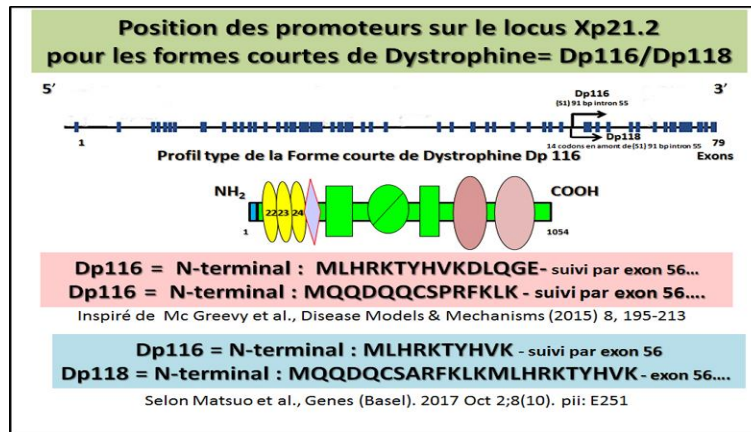
En 2023, cette analyse permet d'identifier [la Dp140 et la  \$\alpha\$ 1-syntrophine comme nouveaux interacteurs moléculaires du canal CaV2.1 neuronal](#). L'analyse protéomique de l'ensemble du cerveau des rongeurs a mis en évidence le rôle de certains composants du complexe glycoprotéique associé à la dystrophine (DGC) en tant que protéines potentielles interagissant avec les canaux Ca<sup>2+</sup> voltage-gated de la sous-famille CaV2. L'interaction de CaV2 avec des protéines de signalisation et d'échafaudage, telles que les composants du DGC, peut influencer leur fonction, leur stabilité et leur localisation dans les neurones. Ce travail vise à étudier l'interaction entre la dystrophine et le CaV2.1. Nos données d'immunoprécipitation ont montré la présence d'un complexe formé par CaV2.1, CaV $\alpha$ 2 $\delta$ -1, CaV $\beta$ 4e, Dp140, et  $\alpha$ 1-syntrophine dans le cerveau. En outre, les essais de ligature de proximité (PLA) ont montré que CaV2.1 et CaV $\alpha$ 2 $\delta$ -1 interagissent avec la dystrophine dans l'hippocampe et le cervelet. Notamment, Dp140 et  $\alpha$ 1-syntrophine augmentent la stabilité de la protéine CaV2.1, sa demi-vie, sa permanence dans la membrane plasmique et la densité du courant à travers les canaux CaV2.1 recombinants. **Il a donc été identifié la Dp140 et l' $\alpha$ 1-syntrophine comme de nouveaux partenaires d'interaction des canaux CaV2.1 dans le cerveau des mammifères.** En accord avec les résultats précédents, notre travail fournit des preuves du rôle du DGC dans l'ancrage et le regroupement des canaux CaV dans un complexe macromoléculaire.

- **La forme dite Dp116**



Un promoteur spécifique situé entre les exons 55 et 56 est à l'origine d'un premier exon en phase avec l'exon 56 du gène DMD. Ceci génère 15 résidus uniques pour le N-terminal de la Dp116. Cette protéine ne possède donc que la partie répétée à partir du motif R22 ainsi que et la totalité des 2 derniers domaines C-terminaux de la Dystrophine longue. Une illustration schématise le portrait-robot de la forme courte de Dystrophine Dp116. Cependant une version différente du N-terminal figure dans le travail suivant [avec les 15 nouveaux résidus indiqués](#) dans la représentation ci-contre. On la rencontre principalement dans le **nerf périphérique** comme étant plus spécifiquement située au niveau de la **membrane externe des cellules de Schwann**. Cette protéine a été étudiée quant au complexe de protéines associées qu'elle réalise au niveau du nerf périphérique chez le singe ( [article en référence](#) ).

Sa présence existe en faible quantité au niveau des densités post-synaptiques dans le [cortex cérébral et le cervelet](#) mais également au niveau des [cellules ciliées de la cochlée](#). Une [nouvelle étude](#) démontre dans le nerf périphérique l'importance de la présence d'une bêta-Dystroglycane intacte pour le bon ancrage à la membrane de la cellule de Schwann du Dp116. L'expression de la Dp116 dans un muscle déficient en Dystrophine et en Utrophine va permettre de [bien préserver la masse musculaire](#) et préserve le muscle squelettique contre une dégénérescence rapide.



De plus cette protéine Dp116 possède tout au long de sa séquence [de nombreux sites de phosphorylation](#) qui sont répertoriés comme étant : S327, T342, Y620, T622, S690, S744, T809, S810, S813, S876, S882, S884 et S885. Selon cette étude il apparaît que la phosphorylation du résidu Sérine S327 entraîne une modulation de l'interaction entre le Bêta-Dystroglycane et l' Alpha-Dystrobrevine.

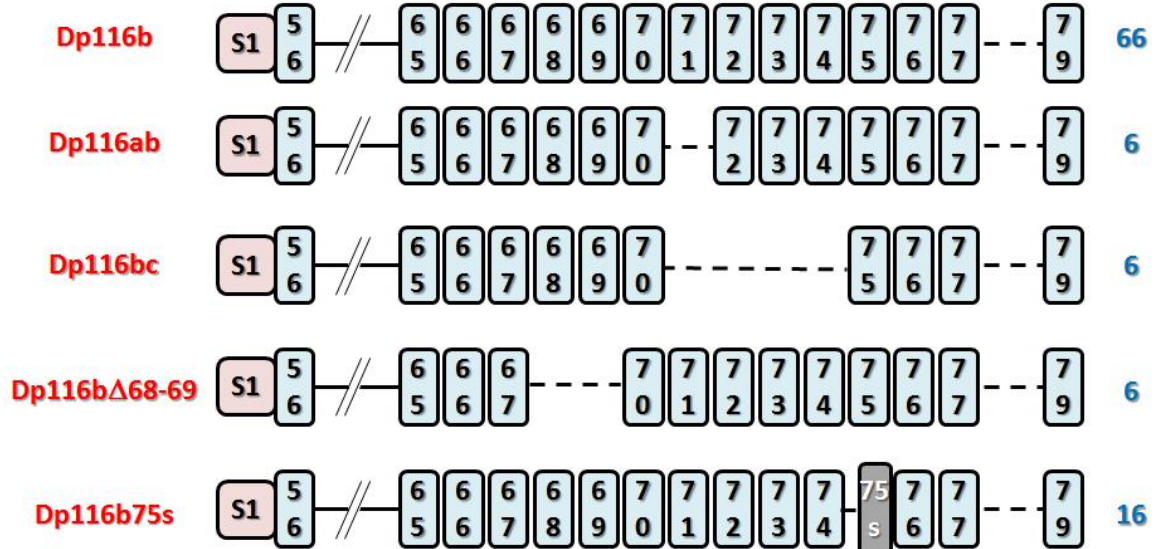
Durant la fin de l'année 2017, une [étude présente une mise à jour des données](#) concernant l'origine du produit court du gène de la Dystrophine référencé comme la Dp116 (version Dp118 incluse dont l'expression chez l'homme reste à confirmer).

## Identification et fréquence de divers variants de Dp116

**Isoformes**

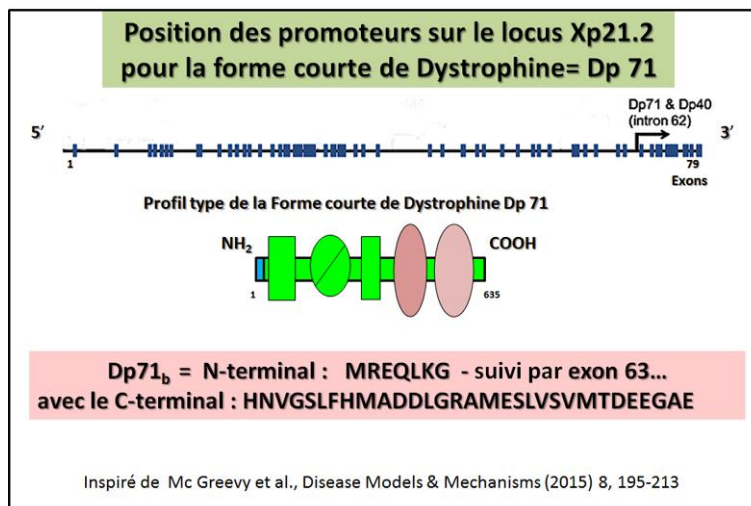
Selon Mahyoob Rani et al.,  
Biochem Biophys Rep. 2019 Nov 10;20:100703

**%**

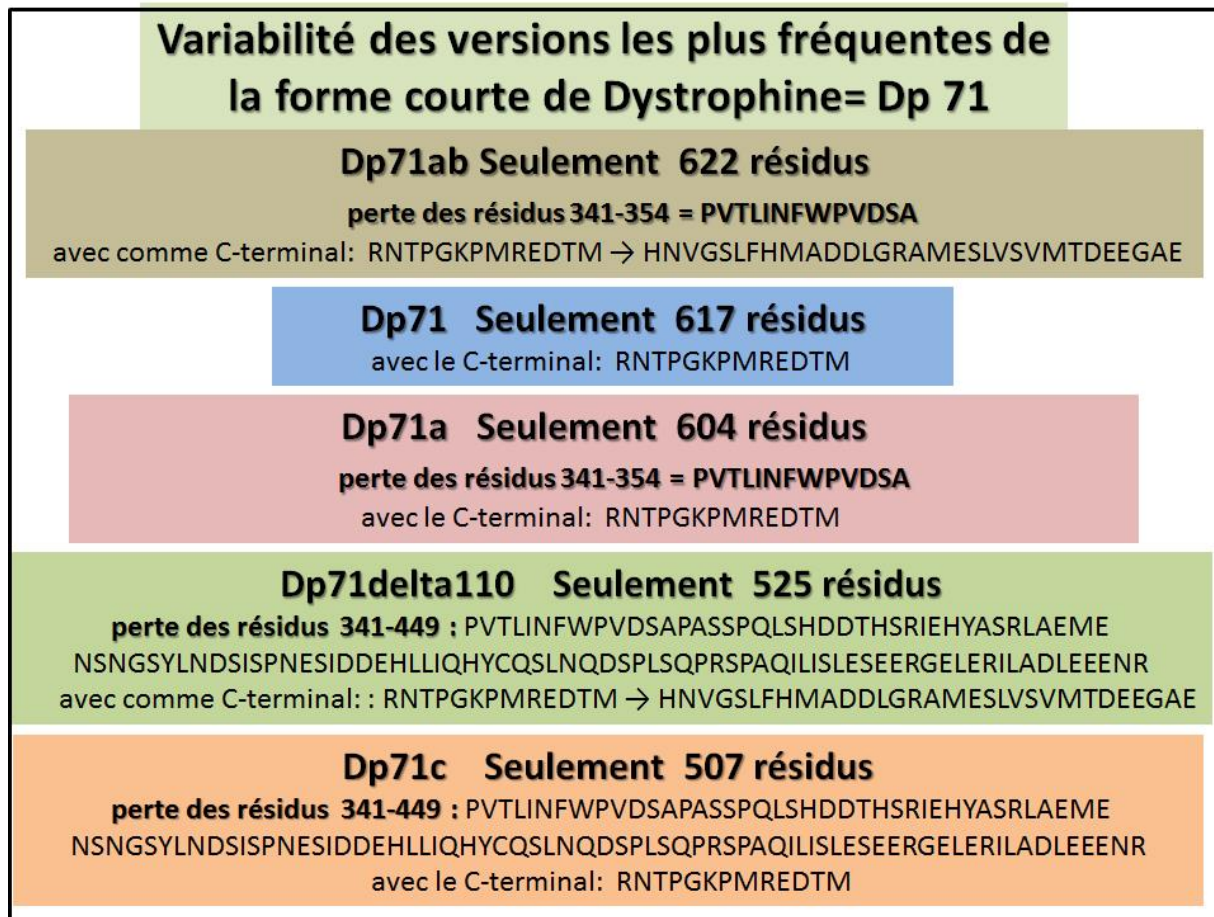


Dans ce travail de l'année 2019, l'étude porte [sur le Dp116, un transcrit court de la dystrophine qui est spécifique aux cellules de Schwann](#) et qui se trouve exprimé dans les cellules de glioblastome, révélant deux nouveaux schémas d'épissage du gène DMD. Il existe en fait diverses séquences variantes d'épissage du Dp116 que l'on a identifiées comme 5 isoformes. Le séquençage du produit amplifié dans plusieurs clones a révélé des clones **Dp116b**, **Dp116ab** et **Dp116bc**, **Dp116bΔ68-69** et **Dp116b75s**. Leurs structures sont illustrées schématiquement. Les exons et les numéros des exons sont indiqués. On peut consulter pour plus de détails l'article original en référence.

- **La forme dite Dp71**



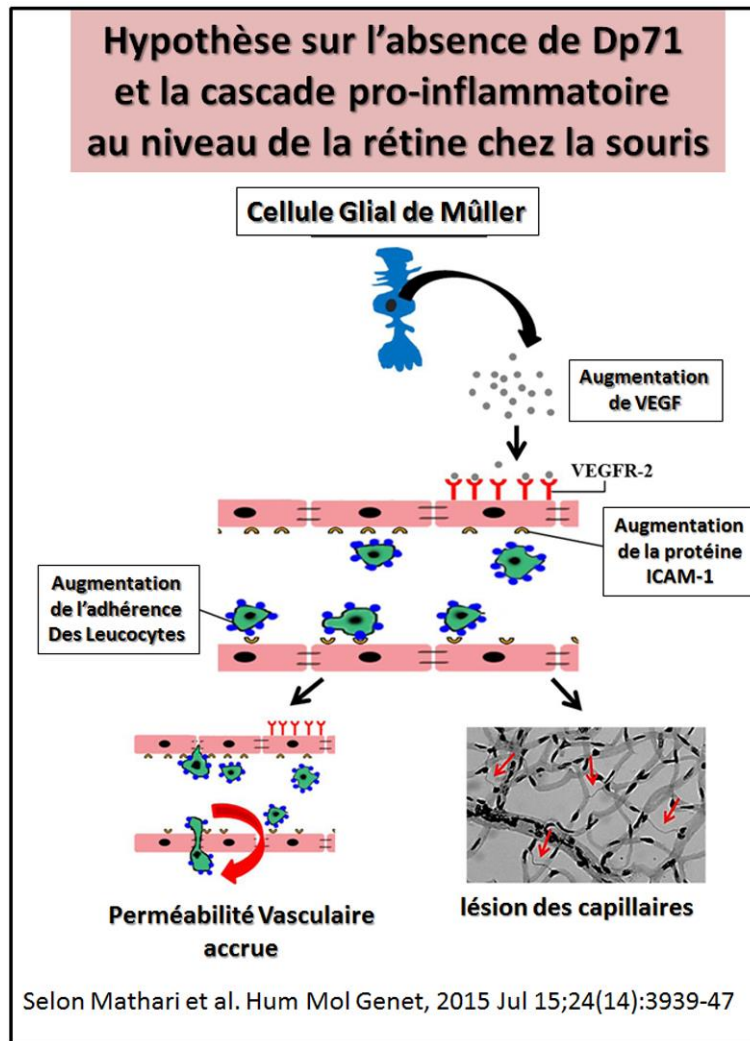
Ce transcrit court de la Dystrophine possède 7 acides aminés spécifiques en phase avec l'exon 63. De plus un épissage original change dans certaine version l'extrémité C-terminale constituée de 13 acides aminés par 31 résidus particulièrement hydrophobes comme cela est reporté dans la [première publication](#). Une illustration présente le portrait robot de la première version courte de Dp71 connue. Cette protéine Dp71 est relativement ubiquitaire et [possède plusieurs versions](#). C'est cependant le **produit majeur de la famille des Dystrophine dans le cerveau**. Elle fut également dans un premier temps identifiée comme la [G-Dystrophine](#). Elle fut également trouvée dans [les cellules de Schwann](#).



De nombreux épissages alternatifs donnent des versions [différentes du Dp71](#). La variabilité des formes les plus fréquentes est reprise sur un schéma récapitulatif présenté ci-contre avec les premières versions de Dp71 répertoriées. Bien qu'absente du muscle adulte **le Dp71 se trouve largement exprimé durant le développement**. Le complexe des protéines associées et sa présence dans des cultures de cellules PC12 a permis d'en mieux comprendre la distribution comme le démontre les nombreux travaux réalisés en collaboration avec [divers groupes de recherches](#). De nombreux travaux rapportent l'existence de [différentes voies d'activation du promoteur de la Dp71](#) durant la différenciation neuronale.

Si la Dystrophine-71 (Dp71) est bien la plus petite des protéines produites par le gène de la dystrophie musculaire de Duchenne, un [travail dirigé par Alvaro Rendon](#) montre que des souris génétiquement invalidées pour la Dp71 présentent des perturbations de la régulation osmotique et une rupture de la barrière hémato-rétinienne très importantes. Sans présence de Dp71 ([provoquée artificiellement](#)) la cellule référencée PC12 se trouve particulièrement désorganisée ce qui handicape particulièrement le cycle de la division cellulaire. **De plus**, une

nouvelle version du Dp71 est actuellement décrite (fin 2011) comme impliquée dans la différenciation des cellules PC12. C'est en fait un produit court de la Dystrophine **Dp71, pour lequel les exons 78 et 79 sont manquants**. Mais si les précédents Dp71s étant les versions : **Dp71d**, avec le C-terminal de la Dystrophine, et **Dp71f** (founder : version fondatrice correspondant à la première version décrite) avec les 31 nouveaux résidus C-terminaux, en fin 2011 il va être décrit une nouvelle version de Dp71. C'est au niveau des cellules PC12, comme dans les lignées de cellule humaine, que l'on trouve ce nouveau transcrit court de la Dystrophine, identifié comme la version **Dp71e et qui ne possède que 10 aa C-terminaux**. Tous ces travaux montrent que cette sous-famille des Dystrophines les transcrits dit Dp71 sont multiples et variés dans leurs nomenclature et leurs séquences respectives. Certes La protéine « **Dp71** », est **un transcrit court mais il possède de nombreuses fonctions** au sein de la cellule (voir publication de 2012, qui fait le point sur ce transcrit court). **Ainsi de** nouvelles données révèlent **l'importance de la Dp71** pour la constitution d'un complexe **DAPC fonctionnelle dans l'hypothalamus**. Les conséquences d'une telle désorganisation DAPC sont analysées dans l'article en référence. **En 2014** commencent des **avancées en thérapie génique** sur la souris chez laquelle la Dp71 est absente et les conséquences sur la barrière hématopoïétique sont analysées en détails. Cette même année l'approche thérapeutique avance dans l'utilisation de diverses constructions recombinantes et une telle approche semble importante à considérer plus particulièrement pour la **thérapie génique médiée par AAV** au niveau du traitement de la pathologie rétinienne observée chez les DMD. **Puis progressivement** une étude sur le transcrit **Dp71d** qui selon la nomenclature adoptée possède le même C-terminal que la Dystrophine dépend, pour son passage du noyau au cytoplasme cellulaire vers la membrane, de la protéine baptisée « **Importine  $\alpha / \beta$**  », mais aussi des transporteurs nucléaires **CRM1** et de la **Dynéine**. (Voir en particulier le périple du Dp71d sur le **diagramme de la figure 11** dans l'article indiqué). La souris déficiente en transcrit court **Dp 71**, présente une **légère altération de son électrorétinogramme**. Une étude minutieuse sur le Dp71 chez la souris permet de mettre en évidence plus particulièrement que son absence va jouer un rôle important dans la formation d'une **cataracte progressive** due à la perte de l'organisation cellulaire des fibres. Le transit du **produit court de la dystrophie musculaire de Duchenne le gène dit Dp71d** dépend, pour son passage du noyau au cytoplasme cellulaire vers la membrane, de la protéine dite « **Importine  $\alpha / \beta$**  », des transporteurs nucléaires **CRM1** et de la **Dynéine**. (Voir en particulier le périple du Dp71d sur le **diagramme de la figure 11** dans l'article indiqué).



Par ailleurs, en 2015 une protéine nommée «Heat shock factor 1 (**HSF1**) » et ses relation dans [la régulation de la transcription](#) du transcrit court de la Dystrophine Dp71 sont rapportées en détails dans l'article en référence. Par la suite, la Dp71 est largement étudiée au niveau de la rétine des résultats précis démontrent son rôle dans les mécanismes visant à maintenir l'intégrité du système vasculaire rétinien. En particulier son absence conduit à l'inflammation vasculaire rétinienne. La preuve est apportée par ce travail, pour mettre en évidence que la carence de Dp71 favorise l'inflammation vasculaire rétinienne et que la dégénérescence y est considérablement exacerbé au niveau des capillaires Ainsi il est proposé que la Dp71 pourrait également jouer un rôle dans les mécanismes de réparation de la rétine qui sont activés en réponse à une blessure. En effet, , les dommages de la rétine et la mort des cellules neuronales sont significativement plus élevés chez les [souris totalement déficientes en Dp71](#). L'ensemble de ces constats sont résumés dans une [illustration directement traduit de l'article original](#) et présentée ci-contre. Cela rend la Dp71 un candidat de choix dont l'expression serait à stimuler pour induire une meilleure intégrité vasculaire au sein d'une rétine malade.

Découverte de nouveaux [complexes de protéines nucléaires associant les isoformes de Dystrophines courtes](#) Dp71s dans la culture de neurones GABAergique et glutamatergique provenant de l'hippocampe chez le Rat.

Une surexpression d'une version mutée de la forme transcript court de la Dystrophine , [le Dp71 \(Incr. 78-79\)](#) permet de stimuler la prolifération cellulaire. Programmer l'[absence de](#)



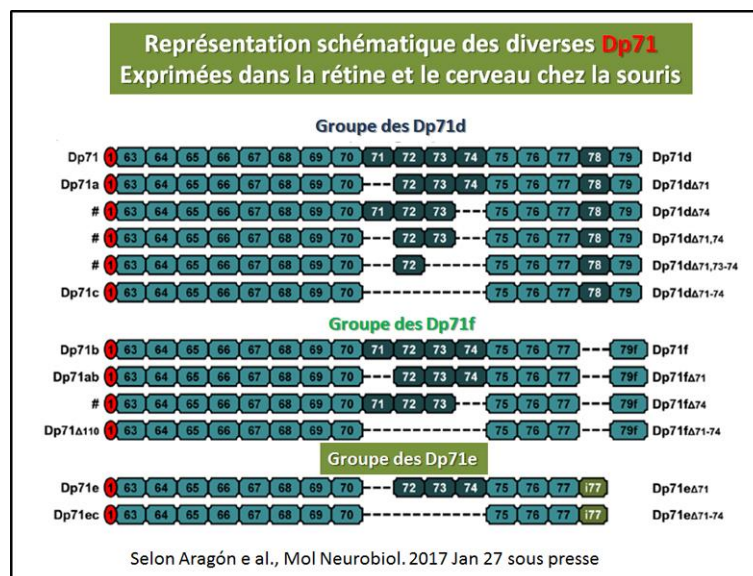
[l'expression de la Dp71](#) dans les cellules A549 (lignée cellulaire contenant un plasmide stable pour un siARN du Dp71) permet de réduire sa malignité in vivo et in vitro.

Une nouvelle étude démontre que la **morphologie des astrocytes est altérée** comme l'est le **développement vasculaire** dont l'expression de la version courte de Dystrophine la [Dp71 a été programmée absente](#) pour une étude chez la souris.

En 2016, ce nouveau travail identifie [une stimulation de la croissance des neurites](#) dans des cellules différenciées PC12 par l'intermédiaire de la régulation positive et la phosphorylation de HSPB1 dans des conditions spécifique ou on va favoriser la surexpression du Dp71 dans sa version dite « **Dp71Δ78-79** ». Puis un autre travail identifiait la **Dp 71 avec un épissage correspondant à la forme dite « Dp71ab »** comme se trouvant exprimée dans les cellules de la lignée HEK293 avec une distribution [bien spécifique plus particulièrement dans le noyau](#).

Plusieurs techniques permettent de démontrer que **divers facteurs de transcriptions** comme **YY1, Sp1 et Sp3**, sont susceptible de **se lier au promoteur du produit court de la Dystrophine le Dp71** au niveau [des cellules hépatiques pour en moduler l'expression](#).

Les résultats présentés dans cette étude élégante suggèrent fortement que [la restauration par un transcrit court Dp71](#) normal est en mesure d'atténuer les symptômes liés à une absence et/ou altération de la protéine Dp71 en dépit du fait que l'intervention a été faite après le développement. Ces thérapies qui visent à refournir à la cellule une protéine normale pour remplacer une protéine manquante et/ou défectueuse, via une thérapie génique impliquant un vecteur AAV, représentent donc des pistes prometteuses pour traiter des maladies en relation avec l'altération de la barrière hémato-rétinienne (BRB=Blood Retinal Barrier). Avec la présence d'un Dp71 natif, il y a alors restauration de cette BRB et possible réabsorption d'un œdème.



En 2017, les **isoformes de la forme courte de Dystrophine, la Dp71**, sont [différentiellement exprimées dans le cerveau et la rétine de la souris](#). Cela est démontré dans cet élégant travail par un rapport sur l'existence d'un nouvel épissage alternatif. Par conséquent cette étude propose une **nouvelle nomenclature pour classer de manière simple toutes les isoformes de la Dp71** en illustrant ce propos par un schéma complet de chaque isoforme chez la souris comme cela est présenté ci-contre.

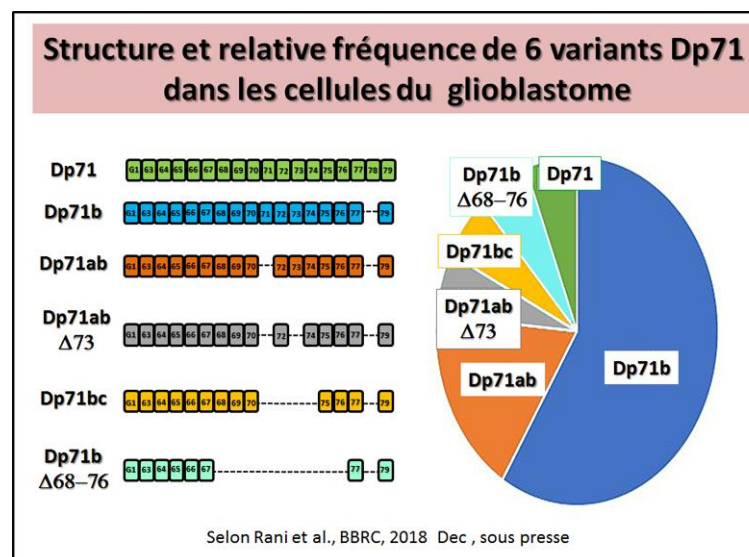
Le produit court de la dystrophine, le **Dp71** est régulé par une [phosphorylation et implique le système ubiquitine-protéasome](#) dans les cellules neuronales, telles sont les nouvelles données qui sont relatées dans l'article en référence en date de Sep 2017.

**En 2018**, le transcrite court de la dystrophine, le [Dp 71 et la syntrophine de type alpha jouent un rôle dans la plasticité morpho-fonctionnelle des noyaux supraoptiques](#) chez le rat. Cette conclusion résulte de l'effet de la surcharge saline et de l'hydratation réversible normale.

Cette étude concerne une [meilleure définition du rôle de l'isoforme de la dystrophine Dp71e](#) qui est impliquée dans l'excroissance des neurites et la différenciation neuronale des cellules PC12. La comparaison entre 3 versions différentes de Dp71 est indiquée par les identifications suivantes : la Dp71 d avec le C-ter de la dystrophine, la Dp71f avec un exon de 31 résidus supplémentaire remplaçant l'exon 79 et la version Dp71e résultant d'une identification avec un épissage intronique au niveau de l'exon 77 (séquence spécifique de 10 résidus, comme cela est indiqué dans cet article).

Cette analyse indique que la [détection de la dystrophine Dp71](#) dans un muscle squelettique humain est possible à l'aide d'un système capillaire automatisé de dosage de type Western.

Une étude élégante permet de mieux définir les [propriétés des synapses cérébelleuses chez les souris Dp71-null](#). Il est ainsi mieux connu aussi bien les performances motrices que celles non motrices en corrélation avec le cervelet.



Cette analyse soignée permet [de déterminer que la carence en Dp71](#) une version courte de la dystrophine, est bien responsable d'une **modification de l'équilibre d'excitation-inhibition du cortex préfrontal et des fonctions exécutives**.

Ce travail original fait le bilan d'une [nouvelle identification du variant d'épissage du transcrite le plus court du Dp71](#), ainsi que de cinq variants connus, dans des cellules du glioblastome. Une compilation des diverses illustrations incluses dans l'article en référence permet de donner une présentation de 6 variants du Dp71 que l'on trouve dans les cellules du glioblastome ainsi que leur fréquences respectives dans ce tissu.

**Ici en 2019**, dans ce travail se trouve [décrit une altération du Dp71 et de la SERCA2](#) dans **les neurones humains** d'un patient atteint de dystrophie musculaire de Duchenne.

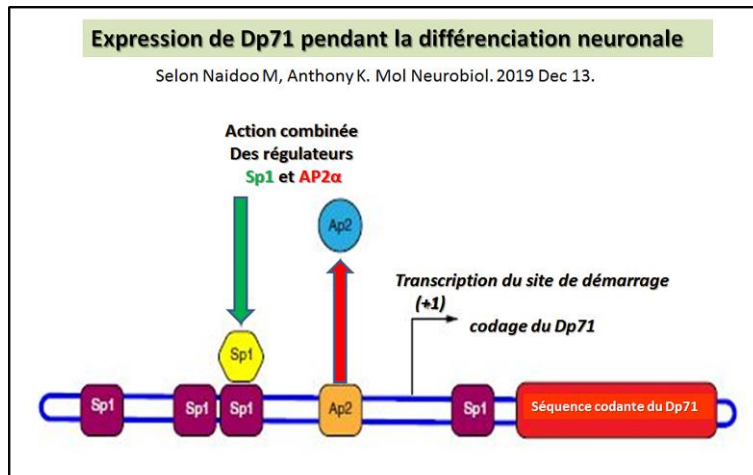
Dans ce récent travail il est mieux indiqué quel sont les [effets du déficit en Dp71 sur l'axe hypothalamique de l'ocytocine](#) dans la fonction d'osmorégulation chez la souris. Il est connu que le produit court de la dystrophine baptisé le Dp71, est la forme majeure de transcrits de la dystrophine (Dp) qui est présent dans le noyau supra-optique (SON) et dans le lobe neural de l'hypophyse

(NL / HP). Les souris déficientes pour le Dp71 présentent un statut hypo-osmolaire attribué à une osmosensibilité modifiée du SON et à un axe vasopressinergique perturbé. L'ocytocine (OT) étant impliquée dans l'osmorégulation via la natriurèse, cette étude a exploré l'axe ocytocinergique chez des souris Dp71-nul après chargement en sel (SL). L'ensemble des données présentées dans ce travail ont confirmé l'importance de Dp71 pour la fonctionnalité SON dans l'osmorégulation. La localisation du produit Dp71 à l'interface gliale-vasculaire pourrait être associée à l'osmosensibilité du SON, conduisant à une synthèse d'OT adéquate dans le SON avec libération de la NL / HP après hyperosmolalité plasmatique.

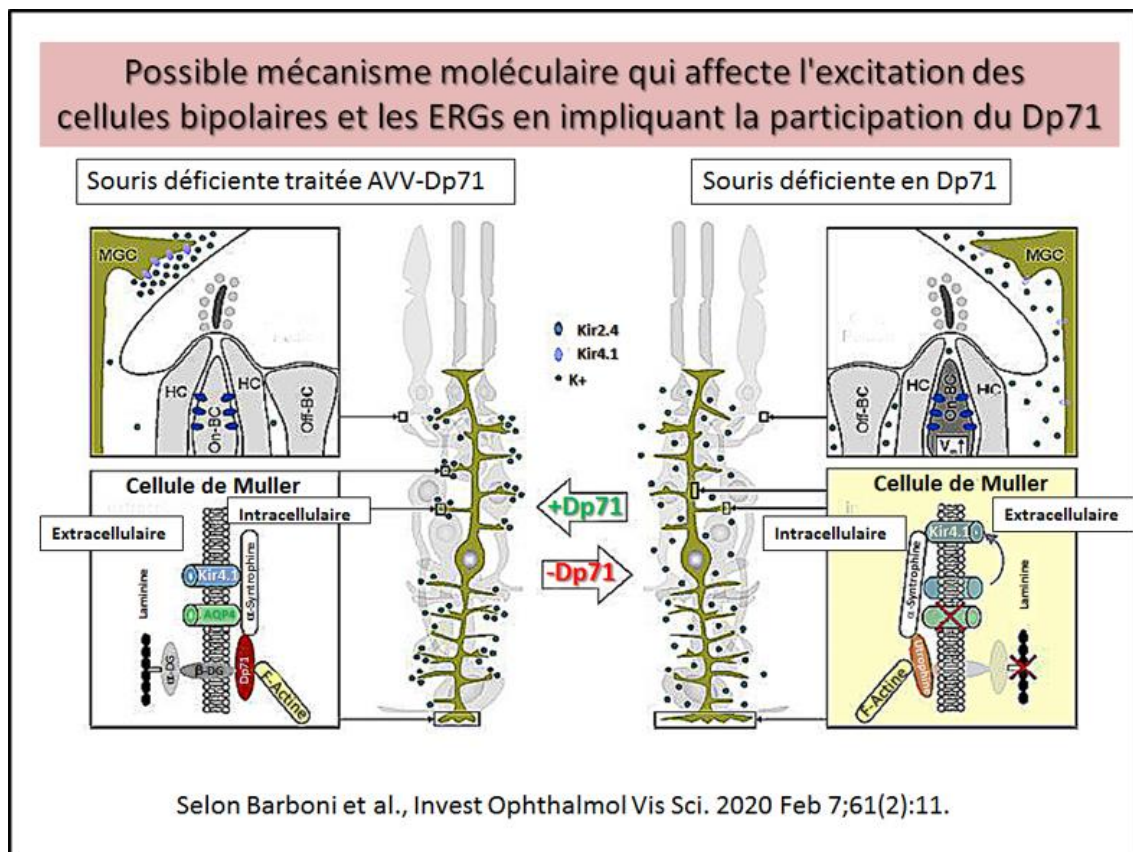
Cet article rapporte l'existence de nouvelles délétions récurrentes au niveau du gène DMD qui [soulignent le rôle spécifique de l'isoforme Dp71](#) dans les sarcomes des tissus mous.

Cette nouvelle étude porte sur l'existence du produit court de la dystrophine, le Dp71 et son expression dans le glioblastome humain. Il est ainsi rapporté que l'isoforme Dp71 s'exprime dans les lignées cellulaires d'astrocytes humains normaux (NHA) et se trouve diminué dans les lignées cellulaires de glioblastomes et dans les cellules isolées à partir d'échantillons bioptiques de glioblastome humain. Finalement on trouve la démonstration que la diminution de cette [protéine Dp71 dans les cellules isolées à partir de spécimens bioptiques humains était inversement corrélée à l'indice de prolifération tumorale Ki-67](#). En conclusion, il y a une **diminution de l'expression de Dp71** qui est associée à une prolifération du cancer et à un dépistage d'un mauvais pronostic dans les glioblastomes. Ainsi, ces données suggèrent que **l'expression plus faible de Dp71 est corrélée à la progression tumorale dans le glioblastome multiforme** et qu'un tel dosage est corrélé avec l'index de prolifération tumorale Ki-67.

Cet excellent travail permet d'apporter [la preuve de l'implication de la dystrophine Dp71](#) dans l'angiogenèse cornéenne. (travaux en particulier qui concerne la souris déficiente en Dp71).



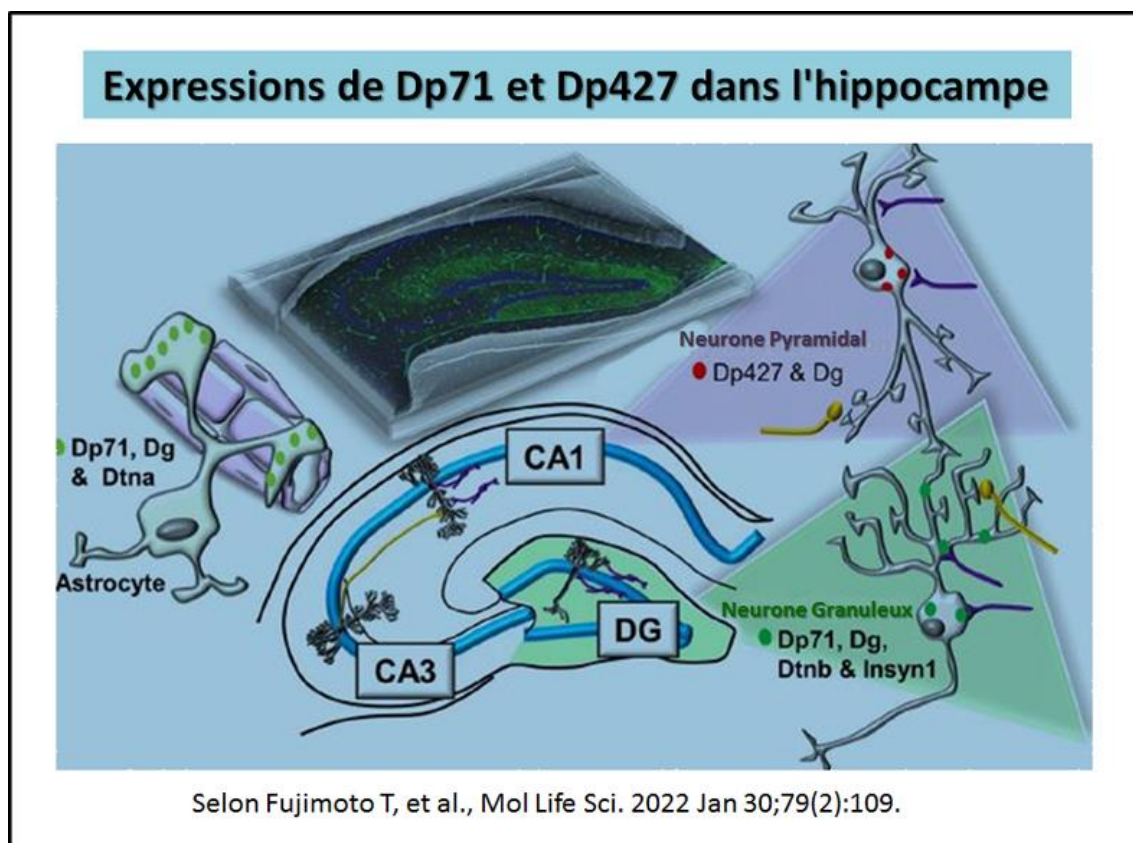
Dans ce bilan complet au jour d'aujourd'hui, il est question du [rapport entre la dystrophine Dp71 et la neuropathophysiologie de la dystrophie musculaire de Duchenne](#). On y trouve de nombreux schéma récapitulatifs sur la complexité des diverses version du Dp71 en résumant des données déjà présentées dans d'autres revues. Il est proposé un nouveau portrait-robot du Dp71 avec l'ensemble des domaines et interactions de ces derniers avec différentes entités comme cela est présenté ci-contre avec de nombreux détails supplémentaires dans l'article en référence.



En 2020, ce travail original retrace les étapes pour obtenir [un sauvetage de réponses électrorétinographiques défectueuses chez des souris déficientes en Dp71](#) avec une

réexpression qui implique l'utilisation d'un vecteur de type AAV permettant l'expression de la protéine correspondant au Dp71. Une figure didactique issue de l'article en référence permet de résumer la situation comme cela est présenté ci-contre.

**En 2021**, on va trouver dans cette étude une [histoire naturelle d'un modèle de souris surexprimant l'isoforme Dp71 de la dystrophine](#). Ici, il a été utilisé des souris del52;WT pour comprendre comment la surexpression de Dp71 affecte les phénotypes des muscles squelettiques et cardiaques. Outre le gène Dmd de la souris, les souris del52;WT sont hétérozygotes pour un transgène humain DMD complet, dont l'exon 52 a été supprimé, ce qui devrait permettre l'expression de Dp71 uniquement dans le muscle. Ainsi, les souris del52;WT surexpriment la Dp71 par le biais des gènes de la dystrophine humaine et murine. Il a été observé une protéine Dp71 élevée chez les souris del52;WT, significativement plus élevée que celle du type sauvage dans le cœur mais pas dans le tibialis anterior. De plus, les souris del52;WT avaient un muscle squelettique généralement normal mais une fonction cardiaque altérée, présentant une dysfonction systolique significative dès l'âge de 3 mois. Aucune anomalie histologique n'a été trouvée dans le tibialis anterior et le cœur. Ces résultats suggèrent que la **surexpression de Dp71 peut avoir des effets plus néfastes sur le cœur que sur les muscles squelettiques**, ce qui permet de mieux comprendre le rôle de Dp71 dans la DMD.



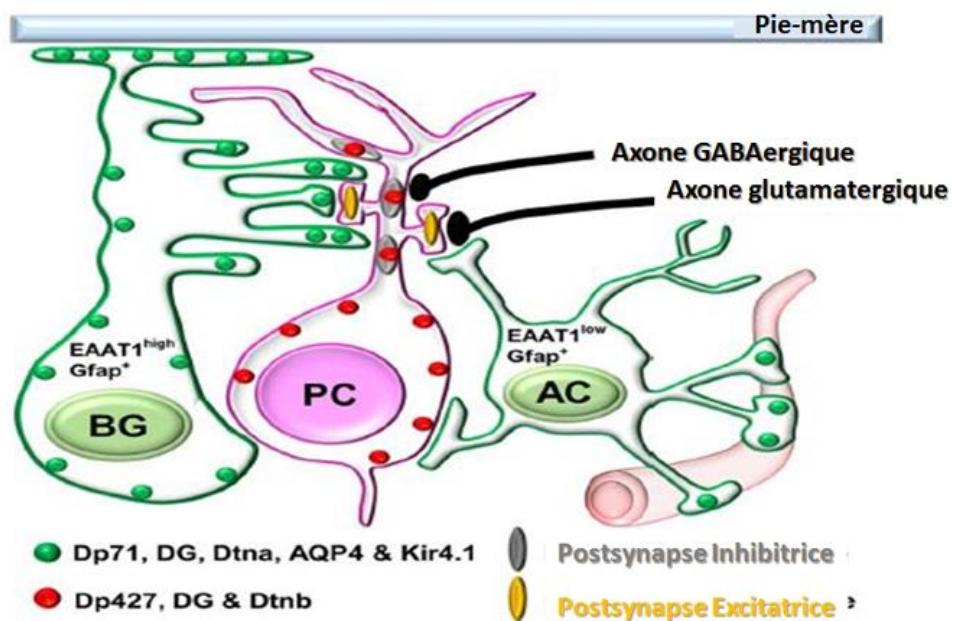
**En 2022**, il est présenté dans cette analyse la possibilité [d'obtenir une génération de souris à insertion de marqueurs spécifiques du produit court de la dystrophine](#). Plus particulièrement cela permet de localiser les complexes glycoprotéiques avec le Dp71 qui sont distincts au niveau de la jonction postsynapse inhibitrice et de la glie limitante. Un examen précis utilisant la culture primaire d'hippocampe a validé la localisation exclusive de Dp71 au niveau du compartiment postsynaptique inhibiteur mais pas au niveau de la synapse excitatrice dans les neurones. Il est également effectué

une analyse de l'interactome et constaté que la Dp71 formait des complexes moléculaires distincts, c'est-à-dire que la Dp71 associée à la synapse interagissait avec le dystroglycane (Dg) et la dystrobrevine $\beta$  (Dtnb), tandis que la Dp71 associée à la glie interagissait avec le Dg et la dystrobrevine $\alpha$  (Dtna). Ainsi, ces données indiquent que la Dp71 et ses partenaires de liaison sont pertinents pour la fonction postsynaptique inhibitrice des neurones granuleux de l'hippocampe et la nouvelle souris transgénique Dp71 fournit un outil précieux pour comprendre les expressions et fonctions physiologiques précises de la Dp71 et de ses protéines d'interaction in vivo et in vitro. Une illustration schématique montre les **expressions de Dp71 et Dp427 dépendantes du type de cellule dans l'hippocampe**. Dp71 et Dp427 sont exprimées dans les postsynapses inhibitrices des neurones granulaires du gyrus denté de l'hippocampe et des neurones pyramidaux CA1, respectivement. Le complexe glycoprotéique Dp71 associé à la synapse comprend Dtnb et Insyn1, tandis que le complexe glycoprotéique Dp71 associé à la glie comprend Dtna. Le violet représente les interneurons GABAergiques qui innervent les neurones granuleux ou les neurones pyramidaux et forment des synapses inhibitrices sur leurs somatos et leurs dendrites. Le jaune montre les interneurons glutamatergiques qui innervent les neurones granuleux ou pyramidaux et forment des synapses excitatrices **qui innervent les neurones granuleux ou pyramidaux et forment des synapses excitatrices**

**Toujours en 2022**, dans [cet article la dystrophine humaine Dp71ab apparait comme capable d'augmenter la prolifération des myoblastes dans toutes les espèces, mais pas celle des cellules nonmyoblastes humaines](#). Il a précédemment été rapporté que Dp71ab augmentait la prolifération des myoblastes humains. Ici, nous avons caractérisé davantage Dp71ab, en se concentrant sur l'activation de la prolifération cellulaire. La Dp71ab augmente la prolifération des myoblastes humains immortalisés de manière dose-dépendante. En revanche, la Dp71 supprime la prolifération de manière dose-dépendante. Conformément à ces effets opposés, la Dp71ab étiquetée eGFP et la Dp71 étiquetée mCherry ont montré des distributions cellulaires différentes, la Dp71ab se trouvant principalement dans le noyau. Notamment, la Dp71ab humaine a augmenté la prolifération des myoblastes de rat et de souris. Malgré ces résultats, la Dp71ab humaine n'a pas augmenté la prolifération des cellules humaines non myoblastes, y compris les cellules de rhabdomyosarcome. **Il en est conclu que Dp71ab est un activateur de prolifération spécifique aux myoblastes**. Dans des études ultérieures, le Dp71ab sera utilisé pour l'expansion des myoblastes en milieu clinique.

**En 2023**, il est présenté dans ce travail comment [le produit court de la dystrophine, Dp71, interagit avec les canaux AQP4 et Kir4.1 dans les cellules gliales cérébelleuses de la souris, contrairement à Dp427 dans les postsynapses inhibitrices des neurones de Purkinje](#). L'existence des différents complexes moléculaires de la dystrophine est connue depuis un quart de siècle. Il est donc nécessaire d'établir des profils d'expression précis des complexes moléculaires dans le cerveau pour élucider le mécanisme des symptômes cognitifs chez les patients atteints de DMD/BMD. Afin d'étudier le profil d'expression de la Dp71 dans le cervelet, il est utilisé des souris à insertion de marqueurs spécifiques de la Dp71, ce qui a permis la détection spécifique de la Dp71 endogène dans l'analyse immunohistochimique et a révélé son expression dans les cellules gliales, les cellules gliales de Bergmann (BG) et les astrocytes, tandis que la Dp427 était exclusivement exprimée dans les postsynapses inhibitrices au sein des cellules de Purkinje du cervelet (PCs). Il est intéressant de noter que nous avons trouvé différents complexes moléculaires de dystrophine dépendant du type de cellule, c'est-à-dire que la Dp71 associée à la glie était co-exprimée avec la dystroglycane (DG) et la dystrobrevin $\alpha$ , alors que la Dp427 associée à la synapse était co-exprimée avec la DG et la dystrobrevin $\beta$ .

**Différents complexes moléculaires de dystrophine exprimés dans les cellules gliales et les neurones de Purkinje du cortex cérébelleux adulte.**



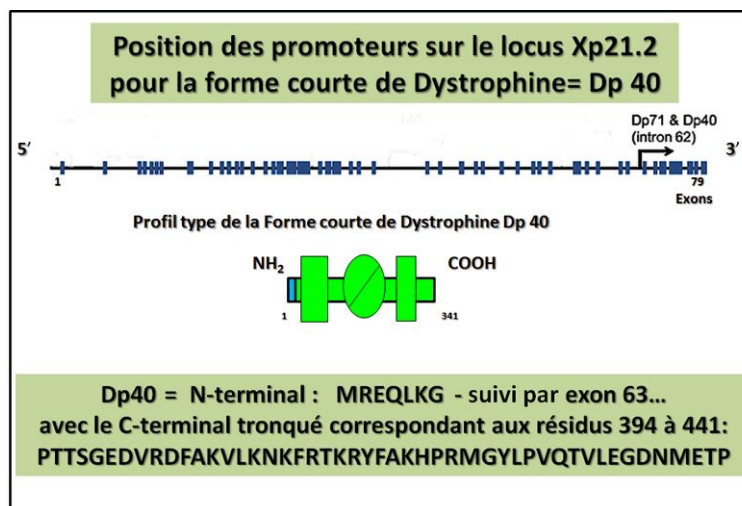
Selon Fujimoto T, et al., Mol Neurobiol. 2023 Mar 15. sous presse

En outre, il a été étudié la relation moléculaire de la Dp71 avec le canal aqueux AQP4 et le canal potassique Kir4.1, et il est trouvé des associations biochimiques de la Dp71 avec AQP4 et Kir4.1 à la fois dans le cervelet et dans le cerveau. Les études immunohistochimiques et cytochimiques ont révélé une colocalisation partielle de la Dp71 avec l'AQP4 et le Kir4.1 dans les cellules gliales, ce qui indique des interactions de la Dp71 avec les canaux dans les cellules BG et les astrocytes. Dans l'ensemble, différents types de cellules, les cellules gliales et les neurones de Purkinje, dans le cervelet expriment différents complexes moléculaires de dystrophine, qui peuvent contribuer à des processus pathologiques et physiologiques par la régulation du canal eau/ion et des postsynapses inhibitrices. Figure ci-contre **une illustration schématique montrant différents complexes moléculaires de dystrophine exprimés dans les cellules gliales et le neurone de Purkinje du cortex cérébelleux adulte**. La cellule gliale de Bergmann (BG) étend son processus jusqu'à la pia mater et s'associe au neurone de Purkinje (PC). L'axone GABAergique et l'axone glutamatergique des autres neurones innervent et forment des synapses inhibitrices et excitatrices avec le PC, respectivement. Il est suggéré que le BG est impliqué dans la régulation homéostatique de l'eau et des ions au niveau des synapses via les fonctions AQP4/Kir4.1. Les astrocytes (AC) étendent leurs processus et leurs pattes d'extrémité autour des vaisseaux sanguins, qui fonctionnent comme la barrière hémato-encéphalique qui fournit la nutrition et régule également l'homéostasie eau/ion dans le parenchyme cérébral. La Dp71 est exprimée dans le BG et l'AC et fonctionne avec DG, Dtna, AQP4 et Kir4.1. En revanche, Dp427 fonctionne avec DG et Dtnb au niveau des postsynapses inhibitrices dans les PCs.

**En 2024**, cette étude porte sur la [Restauration de la Dystrophine-Dp71 par AAV dans le cerveau de souris Dp71-Null : résultats moléculaires, cellulaires et comportementaux](#). Les progrès récents de la recherche préclinique ont permis de compenser les dysfonctionnements musculaires et cérébraux associés à la DMD, notamment grâce à des stratégies de saut d'exon. Toutefois, cette approche n'a pas été étudiée pour les mutations distales du gène DMD entraînant la perte de la protéine Dp71. Dans cette étude, il est recherché une restauration de l'expression cérébrale de Dp71 chez la souris

transgénique Dp71-null en utilisant un virus adéno-associé (AAV) administré soit par des injections intracardiaques à P4 (ICP4), soit par des injections intracérébroventriculaires bilatérales (ICV) chez l'adulte. L'administration par ICP4 du vecteur AAV9-Dp71 a permis l'expression de 2 à 14% de la Dp71 dans le cerveau, tandis que l'administration par ICV a permis la surexpression de la Dp71 dans l'hippocampe et le cortex de souris adultes, avec une expression anecdotique dans le cervelet. **La restauration de la Dp71 était principalement localisée dans les « endfeets » gliaux qui entourent les capillaires, et elle était associée à une localisation partielle des protéines associées à la Dp71, de l' $\alpha$ 1-syntrophine et des canaux à eau AQP4, ce qui suggère une restauration correcte d'un échafaudage de protéines impliquées dans la fonction de la barrière hémato-encéphalique et l'homéostasie de l'eau.** Cependant, cela ne s'est pas traduit par des améliorations significatives des troubles comportementaux affichés par les souris Dp71-null. Le potentiel et les limites de cette stratégie médiée par AAV sont discutés. Cette étude de preuve de concept identifie des marqueurs moléculaires clés pour estimer l'efficacité des stratégies de sauvetage de la Dp71 et ouvre de nouvelles voies pour améliorer la thérapie génique ciblant les troubles cognitifs associés à un sous-groupe de patients DMD sévèrement atteints.

## La forme dite Dp40



Ce produit court de la Dystrophine, d'abord reconnue comme le Dp45 (en fait référencée dans un premier temps comme [Apo-dystrophine 3](#) tandis que les Dp71 et Dp116 étaient respectivement les [Apo-dystrophine 1](#) et [Apo-dystrophine 2](#)) possède les mêmes 7 premiers acides aminés que la version du produit court Dp 71 en phase avec le domaine riche en cystéines et seulement les 48 premiers résidus du domaine C-terminal de la Dystrophine longue. Il lui manque donc par rapport à la version longue de la Dystrophine les résidus 3409 à 3685. Le Dp45 apparaît uniquement dans les cellules embryonnaires pluripotentes de la



souris. Un schéma récapitulatif présente le portrait-robot de cette Dp45 qui est maintenant référencée comme Dp40.

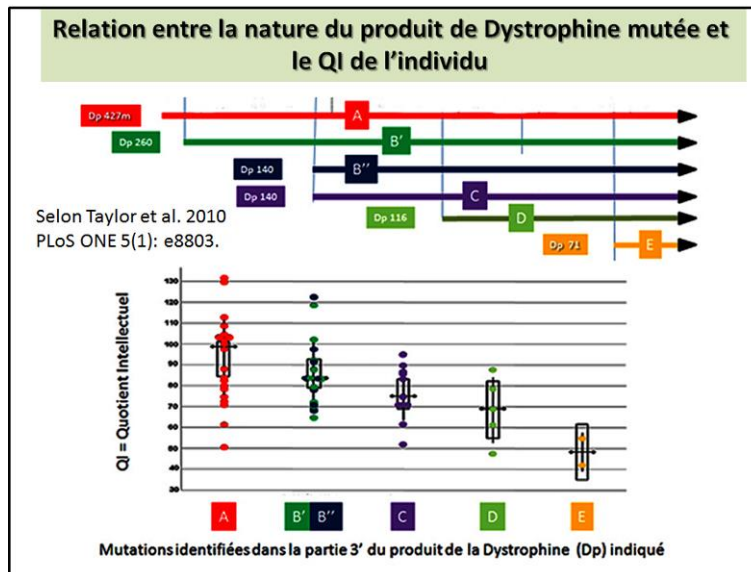
En effet, pour ce qui concerne cette version la plus courte de la Dystrophine, [un nouvel article mentionne cette dernière comme étant la protéine Dp40](#) et lui attribue un rôle non négligeable dans le cerveau de la souris. Des études complémentaires sont cependant nécessaires sur ces aspects de la fonction de cette Dp40 mais elles pourraient fournir une explication plus claire dans les mécanismes moléculaires qui conduisent à la déficience cognitive chez les patients atteints de DMD. La protéine Dp40 semble impliquée dans des fonctions dendritiques et elle est localisée dans le [compartiment postsynaptique excitateur du neurone hippocampique](#) en culture. Une telle localisation que l'on a retrouvé par ailleurs pour la distribution du Dp71 semble indiquer que ces formes courtes de Dystrophine pourraient être des candidats pour une thérapie chez les patients DMD avec déficits cognitifs.

En 2015, la **Dp40** possède des [séquences correspondants à des motifs EF](#) pour le calcium et des [nouvelles analyses « in Silico »](#) permettent une modélisation de sa structure. La distribution cellulaire de la Dp40 lui confère un rôle de signalisation dans les exportations nucléaires.

**En 2022**, une étude intéressante montre [la possibilité d'une surexpression des dystrophines Dp40 et Dp40\(L170P\) susceptible de modifier la croissance des neurites et le profil d'expression des protéines des cellules PC12](#). Une analyse par électrophorèse sur gel bidimensionnelle a montré que le profil d'expression des protéines était modifié dans les cellules PC12-Dp40L170P différenciées par le facteur de croissance des nerfs par rapport à celui des cellules témoins (PC12 Tet-On). Les protéines  $\alpha$ -internexine et S100a6, impliquées dans la structure du cytosquelette, étaient régulées à la hausse. L'expression des protéines membranaires associées aux vésicules a augmenté dans les cellules PC12-Dp40 différenciées, contrairement aux cellules PC12-Dp40L170P, tandis que la chaîne légère du neurofilament a diminué dans les deux cellules différenciées. Ces résultats suggèrent que **Dp40 joue un rôle important dans la différenciation neuronale des cellules PC12 par la régulation des protéines impliquées dans les neurofilaments et l'exocytose des vésicules synaptiques**, fonctions qui pourraient être affectées dans les cellules PC12-Dp40L170P.

## **En conclusion**

En ce qui concerne les **Dystrophinopathies**, (les patients déficients en Dystrophine), il existe depuis fin 2009 un répertoire complet des principales mutations classées par types (voir Fig :1) ainsi que des solutions possibles selon l'exon défectueux concerné pour réaliser des sauts d'exons (Voir Fig :3) Tout cela est . [disponible sur le lien ici indiqué](#).



Depuis 2010, Il existe par ailleurs [un répertoire pour avoir une corrélation entre l'emplacement d'une mutation](#) sur le gène de la Dystrophine et un éventuel risque de troubles cognitifs (évalué sous forme de [QI](#)) dans la dystrophie musculaire de Duchenne. Ainsi, Un schéma récapitulatif est présenté ci-dessous en référence avec le [travail ici cité](#) dans lequel on pourra trouver des détails sur l'évaluation totale du **quotient intellectuel corrélé** avec le **dépistage des mutations** localisée sur l'extrémité 3' du gène de la Dystrophine en relation avec divers produits plus ou moins long. . **En 2015** un article publié donne une nouvelle [analyse du profil cognitif](#) et des processus comportementaux chez les garçons atteints dystrophie musculaire de Duchenne. Une autre revue reprend une [évaluation de la capacité intellectuelle](#) du patient Duchenne en fonction de l'emplacement de la mutation sur le gène de la Dystrophine. Selon cette dernière étude, les mutations affectant plus particulièrement les produits de la famille des Dystrophines, Dp140 et Dp71 / Dp40 sont trouvés associés de manière plus fréquentes avec les troubles cognitifs les plus sévères. Les bases des approches thérapeutiques nouvelles s'appuient actuellement sur l'[ensemble des connaissances acquises](#) sur la grande famille des Dystrophines et les modèle de constructions courtes de Dystrophine recombinantes qui seront utilisée chez des animaux modèles dans un premier temps sont certainement des investigations porteuses de nouveaux progrès dans ce domaine.