



HAL
open science

Quel avenir pour la Dystrophine?

Francois Rivier, Dominique Mornet

► **To cite this version:**

Francois Rivier, Dominique Mornet. Quel avenir pour la Dystrophine?. Les Cahiers de Myologie, 2017, 15, pp.17-21. 10.1051/myolog/201715004 . hal-01833360

HAL Id: hal-01833360

<https://hal.umontpellier.fr/hal-01833360>

Submitted on 15 Apr 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

«Quel futur pour la dystrophine?»

” What future for dystrophin?”

François Rivier^{a,b} et Dominique Mornet^{b*}

^a Service de Neuropédiatrie, hôpital Gui-de-Chauliac, 80, avenue Augustin-Fliche, 34295 Montpellier cedex 5, France; Inserm U1046, université Montpellier 1, université Montpellier 2, 34000 Montpellier, France.

^b PhyMedExp, Université de Montpellier, Inserm U1046, CNRS, UMR 9214, 34295 Montpellier Cedex 5, France.

*Contact : domimornet@gmail.com

INTRODUCTION

Depuis 1868, Duchenne de Boulogne décrivait cliniquement une maladie évolutive responsable d'une dystrophie musculaire qui porte aujourd'hui son nom, sans pour autant en comprendre l'origine. Des travaux de recherches menés par une équipe dirigée par le professeur LM. Kunkel sur cette dystrophie musculaire permettait d'identifier le gène DMD seulement en 1987. La protéine résultante était alors baptisée : la dystrophine. Depuis les revues de mise à jour des connaissances acquises ont été très nombreuses sur ce sujet. Où en est-on maintenant en 2017, soit 30 ans depuis cette découverte ? Cet article propose de faire le point sur la dystrophine et son environnement musculaire, les pathologies qui résultent d'une altération directe et/ou indirecte de la dystrophine ainsi que sur les perspectives expérimentales du traitement d'un déficit en dystrophine. Le but étant de montrer qu'il est possible d'envisager aujourd'hui un avenir avec une bonne qualité de vie même sans dystrophine à la naissance.

La dystrophine et son environnement musculaire

Dès 1987 date de sa découverte [1] et durant environ 2 décennies la dystrophine voyait presque chaque année autour d'elle apparaître de nouveaux partenaires aussi bien ancrés dans la membrane musculaire que distribués dans le cytoplasme environnant et formant ainsi un large complexe macromoléculaire [2-21]. On va ainsi identifier une protéine apparentée à la dystrophine comme la dystrobrevine avec 2 versions différentes (α et β) et 7 à 8 isoformes respectivement. Ensuite on va baptiser des protéines comme les 2 dystroglycans (α et β), progressivement jusqu'à 6 sarcoglycans (α , β , γ , δ , ϵ , ζ) puis 5 syntrophines différentes (α , β 1, β 2 et γ 1, γ 2). Des recherches sur les protéines associées permettront de découvrir la syncoïline, la desmusline (=synémine β) et la dysbindine. Les études sur la structure et la fonction de ces protéines allait offrir aux chercheurs de multiples axes d'investigations. Ces protéines en interaction avec la dystrophine sont alors classées comme des glycoprotéines et/ou simplement des protéines associées. Un récent bilan actualisé pour mieux saisir la complexité de l'arrangement architectural autour de la membrane et du complexe entre dystrophine et ses multiples partenaires figure maintenant dans la récente étude citée en référence avec les principales voies de signalisation impliquées au sein du muscle cardiaque [22]. C'est cependant dans le muscle squelettique plus particulièrement au niveau des costamères [23] que l'on situe plusieurs types de connexions avec les laminines de la matrice extracellulaire. Parmi celles-ci figure une relation entre cavéoline-3 et dysferline

d'une part [24] et cavéoline-3 et dystroglycane d'autre part [25] mais aussi un autre lien qui implique les intégrines. [26] avec les laminines et le réseau d'actine sous-membranaire. Toutes ces protéines associées à la dystrophine sont indiquées dans le schéma présenté Fig.1. Pour autant il fut rapidement évident que l'ensemble de ces protéines ne se trouvaient pas toutes dans un même organe ni dans un même compartiment cellulaire. Cela est illustré par exemple dans un travail original sur les syntrophines qui forment divers types de complexes macromoléculaires autour de la dystrophine selon que une analyse du muscle squelettique versus la jonction neuro-musculaire, le système nerveux central et/ou la rétine [27].

Figure 1 : Schéma récapitulatif complexe autour de la dystrophine

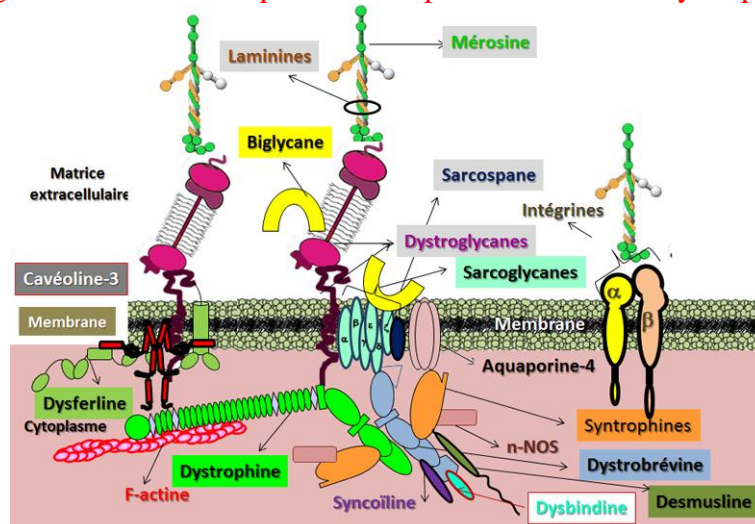


Figure 1 : Schématique diagramme permettant une vue d'ensemble du complexe macromoléculaire autour de la dystrophine et de ses partenaires directs et indirects. Au sein de la membrane du muscle squelettique s'ancrent le bêta-dystroglycane, la dysferline et les intégrines. Dans la matrice extracellulaire existe un réseau qui connecte entre elles ces protéines via l'alpha dystroglycane et/ou diverses laminines. Dans le cytoplasme on trouve des associations avec le réseau d'actine sous-membranaire via la dystrophine et diverses protéines associées. Ainsi dans ces 3 compartiments, matrice extracellulaire, cytoplasme et membrane, est présent un enchevêtrement complexe de protéines dont pour la plupart la découverte est en relation avec la dystrophine il y a d 30 ans.

Cependant les connaissances acquises ne vont pas se limiter à la découverte de nouveaux partenaires mais aussi à la dystrophine elle-même. Ainsi une représentation récente de l'épissage séquentiel du gène DMD indique que la longueur totale de l'ADNc est de 11,3 kb avec 79 exons. [28]. Rapidement il fut constaté que l'analyse du gène codant pour la dystrophine allait donner naissance à une grande famille de protéines dérivées [29]. Puis cette famille de protéines sera progressivement complétée par la découverte d'une protéine homologue et ubiquitaire l'utrophine [30] et ses nombreuses isoformes [31-32]. D'autres protéines apparentées viendront enrichir le tableau comme les dystrobrevines (plusieurs isoformes α et β), la DRP2 et la dystrotéline. [33-35]. Cet ensemble finira par former non seulement «la super famille des dystrophines» [36] mais un large éventail de protéines relativement homologues avec un arbre phylogénétique complet comme le montre l'illustration présentée dans le travail original suivant [37]. Par ailleurs au cours de ces 30 années de recherche dans le domaine de la dystrophine, c'est l'environnement de ce complexe macromoléculaire qui sera mieux décrit comme le montre l'article de synthèse suivant [38]. On va en particulier indiquer les relations entre le complexe dystrophine d'une part avec les canaux ioniques PMCA, Nav1.5, TRPC1/4, mais aussi la cavéoline-3, la protéine

nNOS, et d'autre part une abondante cascade de voies de signalisations comme cela est illustré dans ce document de synthèse de 2014 [38]. De plus des particularités sur les relations entre dystrophine et l'enveloppe nucléaire par exemple [39], mais aussi les myofibrilles cytoplasmiques dans le muscle avec la participation de la myosine spécifique de type Myo18A [40] sont à prendre en compte et présentent cette organisation autour de la dystrophine comme ayant une architecture relativement complexe que l'on ne cesse de mieux comprendre.

Conséquences d'une altération de la dystrophine

Que cela soit une totale absence et/ou une partielle déficience en cas de dystrophine non présente ou tronquée respectivement, les conséquences se révèlent de plusieurs façons. Pour les muscles squelettiques il y a perte de l'intégrité membranaire, et une progressive faiblesse musculaire allant jusqu'à l'infiltration fibreuse et lipidique puis la nécrose. Un tel bilan est ainsi relaté dans l'analyse générale des dystrophies musculaires comme l'indique la revue en référence [41-42]. Cela est valable également pour le muscle cardiaque qui par ailleurs dans certains cas se traduit par une cardiomyopathie associée [43-44]. Dans une moindre mesure les muscles lisses déficients en dystrophine entraînent des problèmes vasculaires et digestifs [45-47] ce que l'on retrouve en partie chez les patients [48]. Par ailleurs on a établi une corrélation associant un déficit cognitif [49] et une altération visuelle [50] avec l'absence de dystrophine dans le système nerveux central (cerveau, rétine).

Ces défauts directement liés à une altération sur la séquence de la dystrophine (allant de l'absence à une perte partielle de séquence interne), va conduire à un écroulement plus ou moins grave de l'organisation des partenaires formant normalement le complexe macromoléculaire, au sens large, autour de la dystrophine. Pour envisager une thérapie efficace il est donc important de dresser dans le détail l'état des connaissances sur la dystrophine et les pathologies associées.

Pathologies associées au complexe membranaire autour de la dystrophine

Comme présenté maintenant dans une revue sur le sujet, il est important de bien connaître la séquence codante dont résulte la dystrophine avec en particulier une schématisation claire et simple des 79 exons. Par exemple, dans la représentation schématique proposée dans l'article en référence [51], seule une forme triangulaire pointue indique que l'exon se termine à la fin d'un triplet, tandis que des lignes pleines ou des lignes pointillées entre deux exons matérialisent un épissage séquentiel et/ou non séquentiel respectivement [51]. Par ailleurs depuis 2010 un bilan de synthèse résume dans une seule illustration les points de mutations existants à cette date sur le gène DMD [52]. Ce tableau continue à s'enrichir en particulier par des études souvent menées chez des patients étrangers. Il faudra ainsi y ajouter quelques

découvertes plus récentes comme par exemple de nouvelles mutations détectées chez des individus provenant d'une étude sur des patients Duchenne et Becker d'origine iranienne [53-54]. De même on note un épissage aberrant de l'ARN musculaire pour la dystrophine avec comme conséquence une altération cognitive notable chez un jeune patient canadien, ce qui est présenté en détail dans l'analyse en référence [55] tandis que la simple absence du résidu Histidine 1690, provoque un profil DMD chez de jeunes patients grecs [56]. Ainsi l'identification de nouveaux sites de mutations au long de la longue séquence de la dystrophine est-elle en évolution permanente avec au cours de chaque année son lot de cibles jusqu'alors inconnues.

Figure 2 : Récapitulatif des pathologies LGMDs de type 2 en 2017

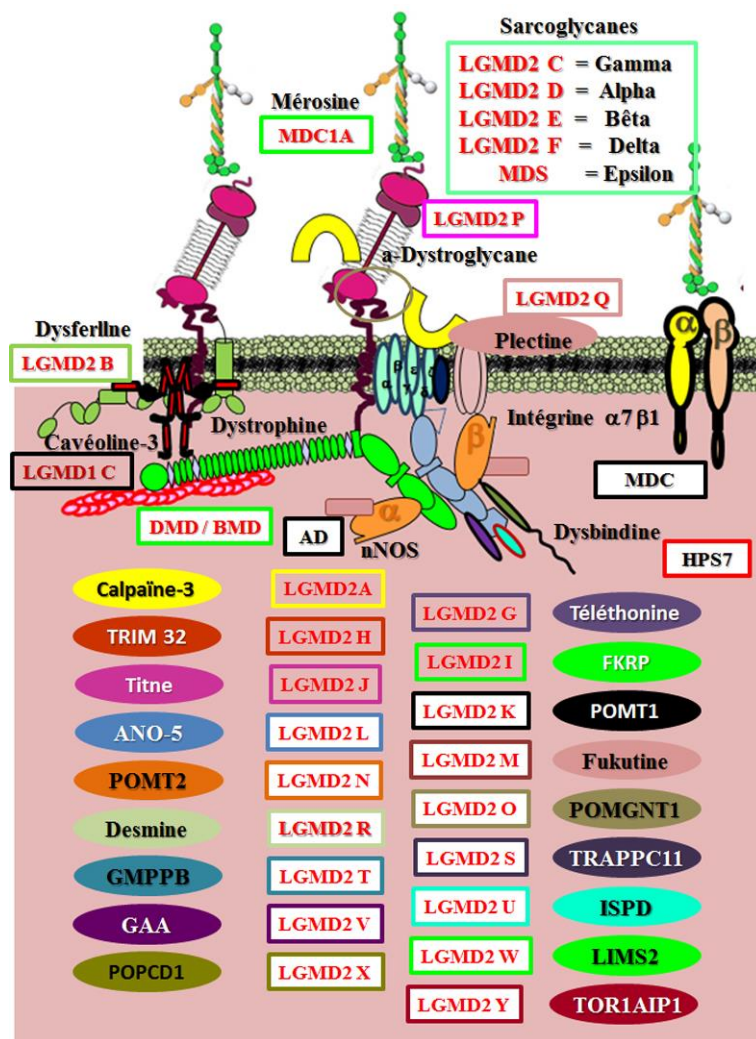


Figure 2 : Spectre actuel des pathologies musculaires associées autour du complexe macromoléculaire entre la dystrophine et ses nombreux partenaires au sens large. Cliniquement si l'on avait déjà répertorié divers types de dystrophies musculaires, CMD, DMD, LGMD, peu de notions sur la protéine responsable il y a encore 30 ans. Actuellement, et cela ne cesse d'évoluer en particulier dans le domaine des LGMD de type 2, une identification précise existe pour la plupart d'entre elles comme tente de le résumer dans le domaine du muscle squelettique en associant schématiquement le sigle d'une pathologie avec le nom de la protéine altérée responsable.

Cependant un travail relativement important présenté à la fin de l'année 2015, permet une mise à jour des altérations potentielles provoquées par une absence de la dystrophine. Largement disponible et illustrée par de nombreux schémas, cette revue résume les diverses données acquises par la recherche dans ce domaine. En particulier le schéma du portrait-robot de la dystrophine est repris pour y indiquer diverses relations majeures de voisinages avec les protéines environnantes [57]. Cependant si l'on cible la dystrophine il existe actuellement de nouvelles méthodes disponibles pour toujours mieux évaluer la quantité réelle présente dans un muscle malade, et suivre leur évolution chez le patient âgé [58-59].

Les protéines que l'on trouve en interaction directe et/ou indirecte autour de la dystrophine représentent un large complexe macromoléculaire et c'est seulement durant les 30 années qui viennent de s'écouler que notre connaissance sur diverses dystrophies musculaires progressivement s'affine. Cela concerne bien sûr l'association directe de l'altération de la dystrophine avec les pathologies de Duchenne et de Becker (DMD / BMD) mais bien au delà. On identifie certains types de dystrophies dites congénitales (CMD) avec des altérations de la Mérosine et/ou de l'intégrine alpha7-bêta1 dans un muscle mais il existe aussi un large éventail de dystrophies des ceintures référencées comme les LGMDs de type autosomales dont la forme récessive dite de type 2 est la plus fréquente. Un bilan actuel, inspiré par la revue proposée par Wicklund et Kissel [60], qui ne cesse de s'enrichir comme le montre une récente étude [61], conduit à illustrer l'état des lieux par un schéma récapitulatif présenté en Fig.2. Cela permet de généraliser sur une représentation unique le spectre actuel des pathologies musculaires associées autour du complexe macromoléculaire que représente autour de la dystrophine l'ensemble dit des protéines partenaires au sens large.

Par ailleurs, il faut noter qu'il existe des cardiomyopathies provoquées par l'absence de dystrophine aussi bien chez la patient DMD et/ou BMD que chez les femmes porteuses de ces pathologies. Une autre revue fait le point sur cette altération particulière qui touche le muscle cardiaque. Cela est illustré dans un tableau sur la pathogénicité due à une déficience en dystrophine. On y trouve un répertoire sur les principaux axes de thérapies existants de manière courante mais aussi moins courante. Cela permet d'indiquer quelques axes de thérapies actuellement émergents [62].

Axes de thérapies géniques

Comme indiqué plus haut, en ce qui concerne les cardiomyopathies dites liées au chromosome X, plusieurs voies de thérapies sont actuellement développées pour traiter la déficience du muscle cardiaque en dystrophine. Parmi celles-ci, citons les découvertes sur la thérapie génique qui impliquent principalement 2 stratégies différentes. D'une part il s'agit de la capacité de moduler un gène en réponse à des facteurs de stress environnementaux et/ou d'autres stimuli via des ARN non codants (en anglais = ncRNA) tels que les micros ARN (miARN). Une étude récente concerne ces ncRNAs qui jouent un rôle dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). De tels ARN non codants sont différentiellement exprimés chez les patients DMD et peuvent s'avérer utiles comme biomarqueurs de la maladie. C'est le cas par exemple de ce travail qui démontre une régulation spécifique au niveau de l'oreillette

par le RNA dénommé «miR-31» chez l'homme. Ainsi une surexpression de «miR-31» va induire un mécanisme clé provoquant un épuisement de nNOS et de la dystrophine auriculaire qui à son tour contribue à un phénotype auriculaire engendrant une arythmie. Ce travail met en avant la cible «miR-31» pourrait être considérée comme une cible thérapeutique potentielle dans le cas d'une fibrillation auriculaire [63]. Par ailleurs pour un cas ciblé sur le «mir206» le bénéfice pour restaurer la dystrophine chez la souris apparaît également au rendez-vous [64]. Cependant, leurs utilisations systématiques comme cibles thérapeutiques dans la DMD restent incertaines. Une compilation chez l'homme mais également chez les races canine, bovine et murine permet sur un schéma récapitulatif de mettre à jour leurs identifications respectives [65].

D'autre part, une autre méthode originale est maintenant mise au point pour obtenir plus de facilité dans une stratégie de transfert de gène. Il s'agit de permettre une expression synchrone et stœchiométrique de différents RGNs (RNA-guided nucleases) générés à partir du système CRISPR/Cas9. Ce travail montre que deux vecteurs de type AdVs (Adénovirus) codant pour ces RGNs peuvent corriger plus de 10% de cible au sein du gène DMD. De plus, il est rapporté que l'édition de gènes basée sur le type de vecteur AdV peut être adaptée pour éliminer des mutations situées dans le «hotspot», site mutationnel majeur du gène DMD de plus de 500 kb. Par conséquent, cela représente une stratégie d'édition performante pour obtenir un gène DMD corrigé, et cela peut ainsi en principe permettre de s'attaquer à un large spectre de mutations présentes chez une plus large population, c. à d. plus de 60% des patients atteints de la dystrophie de Duchenne [66-67]. De plus, la stratégie CRISPR/Cas9 ne se limite pas à la DMD mais se révèle applicable à d'autres cas de dystrophies musculaires comme le montre l'étude en référence pour la FSHD [68].

Une stratégie générale de thérapie génique qui cherche à corriger un gène DMD défectueux par trans-épissage avec la modification selon différents protocoles sur le gène DMD va finalement induire un nouveau type d'épissage alternatif. Comme le montre une stratégie ciblée sur les exons 44 à 56 et comme cela est didactiquement illustré dans le travail en référence, il existe bien aujourd'hui en développement plusieurs perspectives prometteuses basées sur la thérapie génique pour restaurer l'expression de la dystrophine [69]. Pour appuyer cette stratégie, certes chez l'animal modèle de cette pathologie DMD (la souris mdx), le mécanisme qui provoque la chute de force observée suite à l'allongement des contractions du muscle déficient en dystrophine est clairement démontrée. En effet ce n'est pas l'échec de la transmission neuromusculaire, mais l'absence de la dystrophine qui est directement responsable de la faiblesse musculaire constatée. Cela prouve qu'une thérapie de restauration de la dystrophine est nécessaire pour permettre d'améliorer à la fois la diminution de l'excitabilité et la chute de la force d'un muscle déficient en dystrophine [70].

Pour avoir un tableau relativement complet des stratégies actuellement disponibles pour restaurer la dystrophine le document cité en référence donne un résumé des progrès les plus récents sur les approches thérapeutiques novatrices applicables à la dystrophie musculaire de Duchenne, de sa découverte aux essais cliniques [71].

Perspectives alternatives

Juste après la découverte de la dystrophine, une autre découverte fut celle d'une protéine homologue l'utrophine. Du fait de sa localisation à la membrane du muscle durant les premiers stades du développement elle fut alors proposée il y a plus de dix ans déjà comme un candidat de choix pour figurer comme remplaçante [72]. C'est ainsi qu'à côté de la stratégie qui cherche à remplacer la dystrophine manquante par une construction plus ou moins complète du gène DMD [73], il est toujours envisagé de stimuler l'expression de l'utrophine, car même si elle ne conserve pas toutes les propriétés de la dystrophine manquante, elle possède l'avantage d'être déjà naturellement présente et donc moins susceptible d'être rejetée par le patient ainsi traité [74].

Mais si on souhaite une régénération musculaire ce processus implique aussi une activation des cellules satellites. Alors le nouveau rôle récemment décrit pour la dystrophine dans les cellules souches du muscle squelettique revêt un intérêt majeur [75]. Dans la balance entre division symétrique et non-symétrique des cellules satellites, il existe chez le patient DMD une perte de polarité [76]. Ces cellules souches sont actuellement mises en avant et l'identification du facteur de croissance Pax3 est maintenant clairement démontrée comme un acteur central pour induire la promotion de l'expansion ex-vivo des cellules souches en favorisant leurs propriétés de régénération [77]. Si l'on tient compte des données précédentes une nouvelle technologie semble pouvoir apporter une approche originale de thérapie à appliquer le plus précocement possible. Il s'agit du développement de technologies d'édition corrigée du génome au sein des cellules souches pluripotentes humaines induites (iPSC) provenant du patient lui-même [78]. Une très récente publication montre qu'il est possible selon le protocole décrit dans cette étude d'obtenir des iPSCs capables de générer la totalité du gène DMD [79], avec une efficacité de reprogrammation des plus satisfaisantes dans des cardiomyocytes [80], mais aussi dans le muscle squelettique [81].

Notons par ailleurs que récemment de nouvelles tentatives existent aussi pour aider à la régénération d'un muscle déficient en dystrophine en programmant une transplantation de myoblastes normaux et en planifiant également une promotion de leurs implantations dans le muscle malade par la présence concomitante de laminine. Cela semble apporter en effet un bénéfice net de l'implantation des myoblastes injectés dans un muscle malade ce qui était un point faible de cette technique. Mais actuellement cela a été réalisé uniquement chez le modèle animal de la DMD [82].

Conclusion

Aujourd'hui le bilan pour l'absence de la dystrophine à la naissance se traduit par une perturbation de la signalisation musculaire squelettique avec un rôle néfaste des ions calcium, des espèces d'oxygène réactif (ROS) et de l'oxyde nitrique (NO) qui contribuent chacun au développement de la dystrophie musculaire [83]. Dans cette revue on trouve un historique complet sur la dystrophine, ses partenaires et les conséquences que va entraîner non seulement son absence mais aussi la perte de l'organisation cellulaire que sa présence stabilisait. Mais il y apparaît aussi qu'à côté des nombreuses perspectives de thérapies envisageables, celles qui sont aujourd'hui les plus réalisables semblent être les thérapies non-géniques [84]. On a ainsi répertorié de nombreux compléments alimentaires qui sont susceptibles de fournir actuellement une meilleure qualité de vie pour le patient DMD. Cette étude compile les produits, tels la créatine, le coenzyme Q10, l'acide adélinosuccinique, la glutamine, l'arginine, le resvératrol, la quercétine, l'épigallocatechine gallate (EGCG), la taurine, les protéines isolées du petit-lait, l'allopurinol, les sucres (ribose). Un tableau récapitulatif mentionne pour chacun d'eux la quantité utilisée, et les bénéfices obtenus.

Une autre étude montre par exemple que chez la souris déficiente en dystrophine, appliquer un régime enrichi en quercétine améliore la fonction cardiaque et augmente les mitochondries tout en favorisant une bonne formation d'un complexe des glycoprotéines susceptibles d'associer l'utrophine à la membrane d'un muscle déficient en dystrophine. Les analyses histologiques indiquent une atténuation dans le remodelage cardiaque pathologique et démontrent que les bénéfices à long terme de la consommation de quercétine plus particulièrement pour un cœur dystrophique sont bien présents [85]. De plus une nouvelle étude à long terme toujours chez la souris démontre un effet positif pour une protection partielle du muscle squelettique dystrophique [86]. De tels travaux sur la quercétine, prise ici en exemple, ne font que renforcer le potentiel bénéfique d'une supplémentation alimentaire pour une plus large application comme thérapie médicamenteuse chez l'homme.

Il faut bien sûr associer à la panoplie de suppléments alimentaires déjà référencés [84], un autre travail qui donne un état des lieux sur le muscle déficient en dystrophine, en résumant le mécanisme hypothétique du trop-plein de calcium dans les muscles DMD. Il propose une vue d'ensemble du mécanisme inflammatoire dans ces muscles et indique les potentiels d'autres médicaments ciblés sur les facteurs circulants au sein des fibres musculaires squelettiques [87].

Par ailleurs pour une meilleure prévention et prise en charge de la cardiomyopathie chez le patient souffrant d'une dystrophie musculaire de Duchenne, une revue systématique énumère un répertoire des différentes pharmacologies engagées de nos jours avec en particulier la liste des médicaments déjà utilisés, (par ordre alphabétique: Aténolol, Bisoprolol, Énalapril, Éplérénone, Captopril, Carvédilol, Cilazapril, Lisinopril, Losartan, Métoprolol, Périndopril), ainsi que les résultats obtenus suite à leur utilisation [88].

Donc, comme le montre les plus récents travaux il y a aujourd'hui de nouvelles perspectives à envisager quant à l'éventail de la pharmacopée disponible pour traiter la dystrophie musculaire de Duchenne chez l'homme. Un répertoire des travaux engagés chez le patient DMD indique l'état des lieux des stratégies actuellement tentées. Il en fait de plus le bilan [89]. On va ainsi trouver une large variété de ces nouveaux médicaments, pour agir sur le codon stop (amoglycosides, gentamicine, ataluren, arbécacine); changer le cadre de lecture et la facilitation d'un saut d'exon (drogues comme le drisapersen, eteplirsen) ; favoriser et/ou moduler l'expression de l'utrophine pour remplacer la dystrophine dans les myocytes (Ezukromide). Il y est aussi indiqué des produits pour induire les stratégies nouvelles qui visent à prévenir ou réparer les dommages musculaires (metformine, L-arginine, L-citruline, prednisone, et autres corticoïdes comme le déflazacourt, créatine, glutamine, héparine) et/ou une combinaison de ces produits. Une stratégie appliquée à l'homme est référencée pour augmenter le flot sanguin dans le muscle (via l'inhibiteur PDE-5), pour réduire l'inflammation (idébnone, vamordone =VBP15), pour accélérer la réparation (Inhibiteurs de la Myostatine ou de l'histone déacétylase, le Myo-029, le GCSF) et/ou pour bloquer la fibrose (FG-3019) du muscle. Le but de cet examen est de fournir une liste mise à jour sur les médicaments qui aujourd'hui ont été et sont l'objet d'une étude chez le patient DMD [89], sans finalement fournir actuellement le protocole idéal.

Afin de compléter et d'affiner une approche personnalisée de thérapie médicamenteuse un nouvel outil d'aide au diagnostic permet de mieux visualiser sur la dystrophine une éventuelle mutation et d'en prédire la sévérité clinique dans l'évolution de la pathologie DMD. Cet outil porte le nom de « DMDtoolkit ». Dans cette étude [90], ce nouveau logiciel informatique baptisé "DMDtoolkit", qui était basé sur le système "PERL " (Practical Extraction and Reporting Language) et l'environnement (R), est présenté comme susceptible de fournir une aide au diagnostic de la DMD. Avec ce logiciel sont intégrées d'autres caractéristiques moléculaires telles que la structure finale de la protéine mutée, la généalogie de la famille du

patient DMD, et la fréquence des mutations analysées. Le logiciel "DMDtoolkit" est alors disponible avec des fichiers supplémentaires si on s'enregistre préalablement avec l'un des liens suivants : <http://github.com/zhoujp111/DMDtoolkit> et/ou <http://www.dmd-registry.com>

Grâce à toutes les données présentées plus haut, une meilleure connaissance du statut du patient atteint de Dystrophinopathie et une large panoplie d'approches thérapeutiques, on peut proposer un traitement médicamenteux beaucoup plus personnalisé. Aujourd'hui une complémentation alimentaire ciblée apparaît comme le traitement le plus simple à mettre en œuvre rapidement pour assurer aux patients déficients en dystrophine à la naissance, une meilleure qualité de vie, même si un avenir pour la dystrophine, avec une éventuelle reprogrammation compensatrice possible chez l'homme, dans certain cas semble se rapprocher [91].

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, *et al.*, [Cell 1987](#); 50:509-17.
- [2] Campbell KP, Kahl SD. [Nature 1989](#); 338:259-62.
- [3] Carr C, Fischbach GD, Cohen JB. [J Cell Biol 1989](#); 109:1753-64.
- [4] Fisher LW, Termine JD, Young MF. [J Biol Chem 1989](#); 264:4571-6.
- [5] Ibraghimov-Beskrovnya O, Ervasti JM, Leveille CJ, *et al.*, [Nature 1992](#); 355 :696-702.
- [6] Fardeau M, Matsumura K, Tomé FM, *et al.*, [C R Acad Sci III. 1993](#); 316:799-804.
- [7] Gee SH, Blacher RW, Douville PJ, *et al.*, [J Biol Chem 1993](#) ;268:14972-80.
- [8] Yang B, Ibraghimov-Beskrovnya O, Moomaw CR, *et al.* [J Biol Chem. 1994](#) ;[269:6040-4.](#)
- [9] Peters MF, Kramarcy NR, Sealock R, Froehner SC, [Neuroreport 1994](#) ;[5:1577-80.](#)
- [10] Lim LE, Duclos F, Broux O, *et al.*, [Nat Genet 1995](#) ;[11:257-65.](#)
- [11] Song KS, Scherer PE, Tang Z, *et al.*, [J Biol Chem 1996](#) ;[271:15160-5.](#)
- [12] Jung D, Leturcq F, Sunada Y, *et al.*,[FEBS Lett. 1996](#) ;[381:15-20.](#)
- [13] Jung D, Duclos F, Apostol B, *et al.* [J Biol Chem. 1996](#) ;[271:32321-9.](#)
- [14] Straub V, Ettinger AJ, Durbeej M, *et al.*, [J Biol Chem 1999](#) ;[274:27989-96.](#)
- [15] Crosbie RH, Heighway J, Venzke DP, *et al.*, [J Biol Chem 1997](#) ;[272:31221-4.](#)
- [16] Piluso G, Mirabella M, Ricci E, *et al.*,[J Biol Chem 2000](#) ;[275:15851-60.](#)
- [17] Mizuno Y, Thompson TG, Guyon JR, *et al.*, [PNAS U S A 2001](#) ;[98:6156-61.](#)
- [18] Newey SE, Howman EV, Ponting CP, *et al.*, [J Biol Chem. 2001](#);[276:6645-55.](#)
- [19] Benson MA, Newey SE, Martin-Rendon E, *et al.*, [J Biol Chem. 2001](#);[276:24232-41.](#)
- [20] Wheeler MT, Zarnegar S, McNally EM. [Hum Mol Genet. 2002](#);[11:2147-54.](#)
- [21] Shiga K, Yoshioka H, Matsumiya T, *et al.*, [Exp Cell Res. 2006](#) ;[312:2083-92.](#)
- [22] Taghli-Lamallem O, Jagla K, Chamberlain JS, *et al.*, [Exp Gerontol. 2014](#) ;[49:26-34.](#)
- [23] Anastasi G, Cutroneo G, Santoro G, , [J Anat 2008](#) ;[213:284-95](#)
- [24] Matsuda C, Hayashi YK, Ogawa M,*et al.*,[Hum Mol Genet. 2001](#) ;[10:1761-6.](#)
- [25] Sotgia F, Lee JK, Das K, *et al.*, [J Biol Chem 2000](#) ;[275:38048-58.](#)
- [26] Paul AC, Sheard PW, Kaufman SJ, Duxson MJ. [Cell Tissue Res. 2002](#) ;[308:255-65.](#)
- [27] Pilgram GS, Potikanond S, Baines RA, *et al.*, [Mol Neurobiol. 2010](#) ;[41:1-21.](#)
- [28] Bougé AL, Murauer E, Beyne E, *et al.*, [Sci Rep 2017 Jan 3](#);[7:39094.](#)
- [29] Sadoulet-Puccio HM, Kunkel LM. [Brain Pathol 1996](#) ;[6:25-35.](#)
- [30] Khurana TS, Watkins SC, Kunkel LM. [J Cell Biol 1992](#) ;[119:357-66.](#)

- [31] Jimenez-Mallebrera C, Davies K, Putt W, Edwards YH. [Mamm Gen 2003 ;14:47-60.](#)
- [32] Zuellig RA, Bornhauser BC, Knuesel I, *et al.*, [J Cell Biochem 2000 ;77:418-31.](#)
- [33] Roberts RG, Freeman TC, Kendall E, *et al.*, [Nat Genet 1996 ;13:223-6.](#)
- [34] Blake DJ, Nawrotzki R, Peters MF, *et al.*, [J Biol Chem 1996 ;271:7802-10.](#)
- [35] Böhm SV, Roberts RG. [Crit Rev Eukaryot Gene Expr 2009;19:89-108](#)
- [36] Fabbriozio E, Pons F, Robert A, *et al.*, [J Musc Res Cell Motil 1994 ;15:595-606.](#)
- [37] Jin H, Tan S, Hermanowski J, Böhm S, *et al.*, [BMC Genomics 2007 ;8:19.](#)
- [38] Constantin B. [Biochim Biophys Acta 2014 ;1838:635-42.](#)
- [39] Iyer SR, Shah SB, Valencia AP, *et al.*, [J Appl Physiol \(1985\). 2016 sous presse.](#)
- [40] Cao JM, Cheng XN, Li SQ, *et al.*, [Sci Rep 2016 ;6:36768.](#)
- [41] Rahimov F, Kunkel LM. [J Cell Biol 2013 ;201:499-510.](#)
- [42] Serrano AL, Muñoz-Cánoves P. [Semin Cell Dev Biol 2016, sous presse.](#)
- [43] Nakamura A. [Pharmaceuticals \(Basel\) 2015 ;8:303-20.](#)
- [44] Cripe LH, Tobias JD. [Paediatr Anaesth 2013 ;23:777-84.](#)
- [45] Rauch U, Shami A, Zhang F, *et al.*, [PLoS One 2012;7:e29904.](#)
- [46] Latroche C, Matot B, Martins-Bach A, *et al.*, [Am J Pathol 2015 ;185:2482-94.](#)
- [47] Manning J, Buckley MM, O'Halloran KD, O'Malley D. [Neurogastroenterol Motil 2016 ;28:1016-26.](#)
- [48] Lo Cascio CM, Goetze O, Latshang TD, *et al.*, [PLoS One 2016 ;11:e0163779.](#)
- [49] Anand A, Tyagi R, Mohanty M, *et al.*, [Ann Neurosci 2015 ;22:108-18.](#)
- [50] Barboni MT, Martins CM, Nagy BV, *et al.*, [IOVS 2016 ;57:3581-7.](#)
- [51] Gazzoli I, Pulyakhina I, Verwey NE, *et al.*, [RNA Biol 2016;13:290-305.](#)
- [52] Torella A, Trimarco A, Blanco Fdel V, *et al.*, [J Mol Diagn 2010 ;12:65-73.](#)
- [53] Zamani GR, Karami F, Mehdizadeh M, *et al.*, [Neurol Sci. 2015 ;36:2011-7.](#)
- [54] Haghshenas M, Akbari MT, Karizi SZ, *et al.*, [J Genet 2016 ;95:325-9.](#)
- [55] Banihani R, Baskin B, Halliday W, *et al.*, [J Dev Behav Pediatr 2016 ;37:239-44.](#)
- [56] Pons R, Kekou K, Gkika A, *et al.*, [Muscle Nerve 2017 ;55:46-50.](#)
- [57] Allen DG, Whitehead NP, Froehner SC. [Physiol Rev 2016 ;96:253-305.](#)
- [58] Buttgerit A, Weber C, Friedrich O. [Neuromuscul Disord 2014;24:596-603](#)
- [59] Buttgerit A, Weber C, Garbe CS, Friedrich O. [J Pathol 2013 ;229:477-85](#)
- [60] Wicklund MP, Kissel JT. [Neurol Clin 2014 ;32:729-49.](#)
- [61] Ghaoui R, Benavides T, Lek M, *et al.*, [Neuromuscul Disord 2016 ;26:500-3.](#)
- [62] Kamdar F, Garry DJ. [J Am Coll Cardiol 2016 ;67:2533-46.](#)
- [63] Reilly SN, Liu X, Carnicer R, *et al.*, [Sci Transl Med 2016 ;8:340ra74.](#)
- [64] Amirouche A, Jahnke VE, Lunde JA, *et al.*, [Am J Physiol Cell Physiol 2016, in press.](#)
- [65] Perry MM, Muntoni F. [Epigenomics 2016 ;8:1527-1537.](#)
- [66] Maggio I, Liu J, Janssen JM, *et al.*, [Sci Rep 2016 ;6:37051.](#)
- [67] Young CS, Hicks MR, Ermolova NV, *et al.*, [Cell Stem Cell. 2016 ;18:533-40.](#)
- [68] Himeda CL, Jones TI, Jones PL. [Trends Pharmacol Sci 2016 ;37:249-51](#)
- [69] Robinson-Hamm JN, Gersbach CA. [Hum Genet 2016 ;135:1029-40.](#)
- [70] Roy P, Rau F, Ochala J, *et al.*, [Skelet Muscle 2016 Jul 20;6:23.](#)
- [71] Shimizu-Motohashi Y, Miyatake S, Komaki H, *et al.*, [Am J Transl Res 2016 ;8:2471-89.](#)
- [72] Gillis JM. [Med Sci \(Paris\) 2004 ;20:442-7.](#)
- [73] Ramos J, Chamberlain JS. [Expert Opin Orphan Drugs 2015;3\(11\):1255-1266.](#)
- [74] Guiraud S, Squire SE, Edwards B, [Hum Mol Genet 2015 ;24:4212-24.](#)
- [75] Keefe AC, Kardon G. [Nat Med 2015 ;21:1391-3.](#)
- [76] Chang NC, Chevalier FP, Rudnicki MA. [Trends Mol Med. 2016 ;22:479-96.](#)
- [77] Filareto A, Rinaldi F, Arpke RW, [Skelet Muscle 2015 Oct 26;5:36](#)
- [78] Jang YY, Ye Z. [Hum Genet 2016 ;135:1041-58.](#)

- [79] Farruggio AP, Bhakta MS, du Bois H, *et al.*, [Biotechnol J 2017 Jan 31, sous presse.](#)
- [80] Hashimoto A, Naito AT, Lee JK, *et al.*, [Int Heart J 2016;57:112-7.](#)
- [81] Meng J, Counsell JR, Reza M, *et al.*, [Sci Rep 2016 ;6:19750.](#)
- [82] Riederer I, Bonomo AC, Mouly V, [FEBS Lett 2015 ;589:3449-53.](#)
- [83] Allen DG, Whitehead NP, Froehner SC. [Physiol Rev 2016 ;96:253-305.](#)
- [84] Rybalka E, Timpani CA, Stathis CG, *et al.*, [Nutrients 2015 ;7:9734-67.](#)
- [85] Ballmann C, Denney TS, Beyers RJ, *et al.*, [Am J Physiol Heart Circ Physiol 2017 in press.](#)
- [86] Spaulding HR, Ballmann CG, Quindry JC, Selsby JT. [PLoS One. 2016 ;11:e0168293](#)
- [87] Miyatake S, Shimizu-Motohashi Y, Takeda S, Aoki Y. [Drug Des Devel Ther 2016 ;10:2745-58.](#)
- [88] El-Aloul B, Altamirano-Diaz L, Zapata-Aldana E, *et al.*, [Neuromuscul Disord 2017 ;27:4-14.](#)
- [89] Reinig AM, Mirzaei S, Berlau DJ. [Pharmacotherapy. 2017 Feb 2, in press.](#)
- [90] Zhou J, Xin J, Niu Y, Wu S. [BMC Bioinformatics 2017 ;18:87-97](#)
- [91] Goemans N, Tulinius M, Kroksmark AK, *et al.*, [Neuromuscul Disord 2016, in press.](#)

Interview en 6 questions du Pr Michel Koenig

1) À la « Gordon conférence » en 1987 vous présentiez, hors programme, le séquençage complet de la Dystrophine, quel souvenir en avez-vous ?

C'était en fait au congrès de l'American Society of Human Genetics en octobre 1987 à San Diego. Suite à ma présentation sur la découverte de la structure et des domaines de la dystrophine et des points chauds de délétion du gène DMD, j'ai eu le prix de présentation orale catégorie post-doctorant - recherche fondamentale.

2) Puis les partenaires de la Dystrophine devinrent de plus en plus nombreux durant les années suivantes, lequel fut pour vous le plus surprenant ?

Le plus symbolique a été la découverte du groupe de Kevin Campbell (chez qui mon étudiant Franck Duclos est allé bien plus tard) du complexe dystroglycane/sarcoglycane et l'association avec la laminine $\alpha 2$ et le collagène VI, tous directement ou indirectement impliqués dans des dystrophies musculaires.

3) Un total d'environ 2000 kb avec un grand gène, finalement une séquence de 11.3 kb du cDNA et 79 exons pour la partie codante correspondant à la Dystrophine mais aussi de très grands introns, pensez-vous qu'il s'y cache encore des surprises ?

Le mécanisme d'épissage de ces grands introns, le lien avec la présence des nombreux sites d'initiation de la transcription et les points chauds de délétion n'ont pas encore été élucidés. J'ai appris récemment (par Sylvie Tuffery) qu'il existe un exon 2a alternatif fréquemment utilisé dans le très grand intron 1, et dont le seul rôle apparent est d'être abortif! Curieux, non?

4) L'existence de nombreux promoteurs alternatifs fut-elle une surprise pour vous ?

Absolument, et c'est certainement aussi une part du mystère. Je suis en train de découvrir qu'il existe le même phénomène dans le gène SYNE1 (nesprine-1) de la même famille des spectrine-repeats et qui est muté dans une ataxie héréditaire (ma nouvelle vie). La spectrine beta 2 est aussi mutée dans une ataxie héréditaire.

5) Après la découverte de la Dystrophine, avez-vous soupçonné l'existence d'une protéine homologue l'Utrophine ?

Non, pas du tout. En fait, il y a 2 protéines homologues (DRP1=utrophine et DRP2) plus les nesprines, la dystonine, sans oublier les spectrines, les alpha-actinines, les filamines, ... une longue histoire.

6) Quel serait votre « préférence » pour traiter la dystrophie de Duchenne, restaurer la Dystrophine manquante ou favoriser la surexpression de l'Utrophine ?

Je vais citer (approximativement) une phrase du Pr Arnold Munnich, dans son dernier livre : « on voudrait prêter trop de pouvoir aux médecins ».
