



HAL
open science

La biomécanique cellulaire au service de la santé : Application à la Dystrophie Musculaire de Duchenne

Sophie Féréol, Nassim Anis Ahmine, Valentina Taglietti, Frédéric Relaix,
Redouane Fodil

► To cite this version:

Sophie Féréol, Nassim Anis Ahmine, Valentina Taglietti, Frédéric Relaix, Redouane Fodil. La biomécanique cellulaire au service de la santé : Application à la Dystrophie Musculaire de Duchenne. CN-RIUT 2023 Saint Pierre - La Réunion, IUT de Saint Pierre, Jun 2023, Saint Pierre (La Réunion), La Réunion. hal-04326682

HAL Id: hal-04326682

<https://hal.science/hal-04326682>

Submitted on 6 Dec 2023

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.

La biomécanique cellulaire au service de la santé :

Application à la Dystrophie Musculaire de Duchenne

Nassim Anis Ahmine¹

Valentina Taglietti¹

Frédéric Relaix¹

Sophie Féréol^{1,2}

Redouane Fodil¹

nassim-anis.ahmine@u-pec.fr, valentina.taglietti@inserm.fr, frederic.relaix@inserm.fr, ,
sophie.fereol@u-pec.fr, redouane.fodil@u-pec.fr

¹ Faculté de Santé, Université Paris-Est Créteil
Institut Mondor de Recherche Biomédicale, UMR U955
8 rue du Général Sarrail, 94010 Créteil

² IUT, Créteil-Vitry, Université Paris-Est Créteil
61 Av. du Général de Gaulle, 94010 Créteil

Thèmes – *Biomécanique cellulaire - Mécanique - Santé*

Résumé – *La Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie génétique neuromusculaire grave, progressive et incurable qui induit chez les patients DMD une perte de mobilité et des complications cardio-respiratoires conduisant à leur décès prématuré. Dans cette présente étude, nous proposons de caractériser l'atteinte de cette maladie en évaluant les propriétés mécanique et structurelle des cellules et fibres musculaires ainsi que du muscle squelettique dans un modèle préclinique de rat DMD développé spécifiquement au laboratoire. Pour cela nous utilisons la microscopie à force atomique (AFM), l'élastographie ultrasonore (UE) et la microscopie à fluorescence (FM) afin de caractériser et comparer les propriétés mécaniques (AFM, UE), topographiques (AFM) et structurelles (FM) à différentes échelles en conditions in-vitro et in-vivo à partir des modèles de rats de type sauvage (WT) et DMD. Nos résultats montrent une différence significative des valeurs des propriétés mécaniques à toutes les échelles entre les cohortes de rats WT et DMD. Nos données démontrent que les propriétés mécaniques sont des biomarqueurs robustes et pertinents pour caractériser l'état de santé des cellules et des tissus.*

Mots-Clés – *Myopathie Musculaire de Duchenne, Modèle de rat, Module d'élasticité, Microscopie à Force Atomique.*

1 Introduction

Pour comprendre la démarche scientifique dans laquelle s'inscrit notre projet de recherche, commençons par rappeler ce qu'est la Biomécanique cellulaire.

La cellule, plus petite entité structurale qui constitue tout organisme vivant est considérée comme un matériau actif capable de générer et de supporter des forces provenant de son microenvironnement. Tout comme les propriétés biochimiques (facteurs solubles, matrice extracellulaire), les propriétés biophysiques (topographique, élasticité, structure, charge mécanique) du microenvironnement influent sur le comportement et le devenir des cellules. Grâce à leurs capteurs moléculaires, les cellules détectent ces différents stimuli et y répondent en modifiant notamment la dynamique et la structure de leur cytosquelette ainsi que leur système d'adhésion [1]. L'ensemble des processus de détection des signaux mécaniques et de leur conversion en une réponse biochimique et/ou changements dans l'expression des gènes, est appelé mécano-transduction. Ce phénomène est intimement lié aux propriétés mécaniques de la cellule et de ses composants. Les propriétés mécaniques, considérées comme un reflet des changements du cytosquelette, représentent aujourd'hui un biomarqueur de l'état de santé des cellules [2]. Ainsi, faire le lien entre la mécano-sensibilité des cellules, les forces générées par les cellules, leurs propriétés structurelle et mécanique, ainsi que les mécanismes moléculaires sous-jacent (adhésion, etc.) est un des enjeux majeurs de la mécanique cellulaire [3]. Concrètement, la mécanique cellulaire, considérée comme un sous-ensemble de la mécanique consiste à évaluer ces paramètres et à les modéliser en appliquant les lois de la mécanique pour caractériser le comportement des structures biologiques à l'échelle cellulaire voire subcellulaire [4]. Pour ce faire, différentes techniques de micromanipulation illustrées sur la Figure 1 (Microscopie à force atomique (AFM), l'étirement uniaxial, etc.) ont été développées et sont classiquement utilisées en mécanique cellulaire. Le choix de la technique de micromanipulation dépend de l'échelle de temps du processus étudié et de l'échelle des longueurs de l'échantillon étudié. Associés à ces techniques de micromanipulation, un grand nombre de modèles mécaniques ont été proposés pour décrire le comportement mécanique des cellules (Figure 1).

Le terme mécanobiologie, introduit pour la première fois dans la littérature scientifique en 1998, désigne un sous-domaine de la biologie situé à l'interface de la biologie, de la physique et des bio-ingénieries, qui s'attache à étudier de façon quantitative l'influence des propriétés biophysiques du microenvironnement sur la réponse biologique cellulaire [5].

Le présent projet s'inscrit dans cette démarche et consiste à caractériser par la biomécanique cellulaire et à

différentes échelles un modèle de rat modèle pour la Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD).

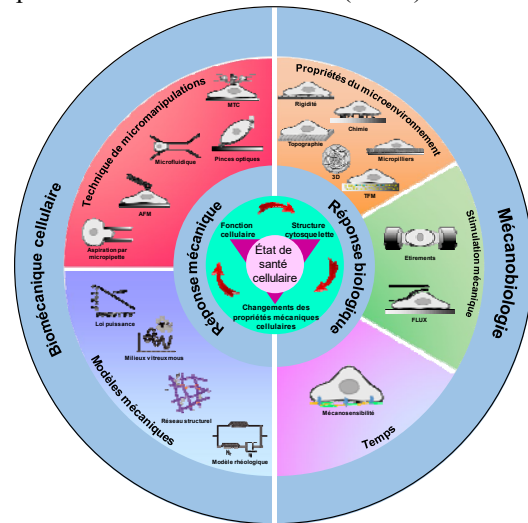


Figure 1 – Illustration de la définition de la biomécanique cellulaire (inspiré de [2]).

La DMD est une maladie génétique neuromusculaire grave, progressive et incurable qui touche environ 1/5000 garçon nouveau-nés. Les patients atteints de DMD présentent une perte progressive de leur masse musculaire et une atteinte cardio-respiratoires progressives conduisant à leur décès prématuré (entre 20 et 40 ans). Cette maladie est due à des mutations du plus grand gène du génome, DMD, qui est localisé sur le chromosome X et qui code pour la protéine DYSTROPHIN. Ces altérations génétiques, localisées principalement entre les exons 45 et 55, empêchent la production de la DYSTROPHIN fonctionnelle dans le muscle ce qui induit une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme remplacés progressivement par des tissus fibreux ou adipeux.

Pour développer des approches thérapeutiques de la DMD, l'équipe dirigée par F. Relaix (INSERM IMRB U955 UPEC) a généré un modèle de rat préclinique noté « R-DMDel52 » qui porte une délétion au niveau de l'exon 52 conduisant à une absence totale d'expression de la dystrophine [7]. Ce modèle présente un ensemble de phénotypes sévère semblable à ceux observé chez les patients DMD.

Dans cette étude, nous proposons d'utiliser les propriétés mécaniques, notamment le module d'élasticité, comme biomarqueurs pour caractériser l'atteinte de la DMD.

Ainsi, nous proposons d'utiliser l'AFM, l'élastographie ultrasonore (UE) et la microscopie à fluorescence (FM) pour caractériser et comparer les propriétés mécaniques (AFM, UE), topographiques (AFM) et structurelles (FM) au niveau du myoblaste (cellule musculaire isolée), du myotube (fusion de plusieurs myoblastes), de la fibre musculaire en conditions *in vitro* et du muscle en

conditions *in vivo* à partir des modèles de rats de type sauvage (WT) et DMD.

2 Méthodes

Les cellules satellites, cellules souches du muscle qui après une lésion du muscle, s'activent soit pour suivre le programme d'auto-renouvellement et reformer le stock des cellules satellites soit pour s'engager dans le programme de différenciation myogénique et former de nouvelles myofibrilles, ont été extraites des muscles des pattes arrière de rats âgés de six mois (WT et DMD) et triées par cytométrie en flux. Les myoblastes qui dérivent de l'activation des cellules satellite du muscle et les myotubes (cellules musculaires différenciées et obtenues par fusion des myoblastes) ont été obtenus respectivement après 1 jour et 4 jours de culture. Les fibres musculaires ont été isolées mécaniquement du muscle lors de la dissection et placées dans du milieu de culture (DMEM).

Les mesures de spectroscopie AFM, courbes force-distance (Figure 2.A), ont été réalisées sur des myoblastes (n=3 rats), des myotubes (n=3 rats) et des fibres isolées (n=2 rats) avec respectivement 225, 504 et 4096 points de mesure par acquisition. Les modules d'élasticité ont été calculés à l'aide de la loi de Hertz donnée pour une sonde pyramidale régulière à 4 côtés (Figure 2.B et D) [8]. La topographie a été déterminée à partir des coordonnées des points de contact avec la sonde AFM (encadré sur la Figure 2.C) et la structure biologique a été caractérisée sur les myoblastes et les myotubes par FM.

Les mesures en UE ont été réalisées pour trois positions différentes de la patte arrière du rat sur une fenêtre d'acquisition de 12x6 cm.

3 Résultats

Les résultats en AFM montrent que les modules d'élasticité des myoblastes, des myotubes et des fibres isolées sont respectivement de 6.8 kPa \pm 3,2 kPa, 12.5 kPa \pm 5,1 kPa, 200 kPa \pm 5 kPa dans le cas des rats WT, soit significativement différents comparés au cas des rats DMD qui sont respectivement de 4.4 kPa \pm 1,8 kPa, 6.4 kPa \pm 4,2 kPa, 19 kPa \pm 11 kPa. (Pour chacun des résultats $p < 0,05$). Au niveau du muscle entier, les résultats en UE montrent que le module d'élasticité moyen est plus élevé (140 kPa \pm 35 kPa) dans le cas du rat DMD que dans le cas du rat WT (230 kPa \pm 60 kPa).

4 Conclusions

La différence significative des valeurs des propriétés mécaniques au niveau des myoblastes, des myotubes, des fibres et des muscles entre le rat de type sauvage et DMD, montre que les altérations fonctionnelles du muscle dues à une mutation génétique (suppression de l'exon 52) et donc un défaut d'expression de DYSTOPHIN, sont présentes à toutes les échelles. Par ailleurs, cette étude

illustre bien que les propriétés mécaniques sont des biomarqueurs robustes pour caractériser l'état de santé des cellules et des tissus. Nos données indiquent que l'utilisation des paramètres biophysiques pourrait également être utile pour évaluer la restauration thérapeutique dans le cadre de la mise au point de thérapies innovantes au laboratoire.

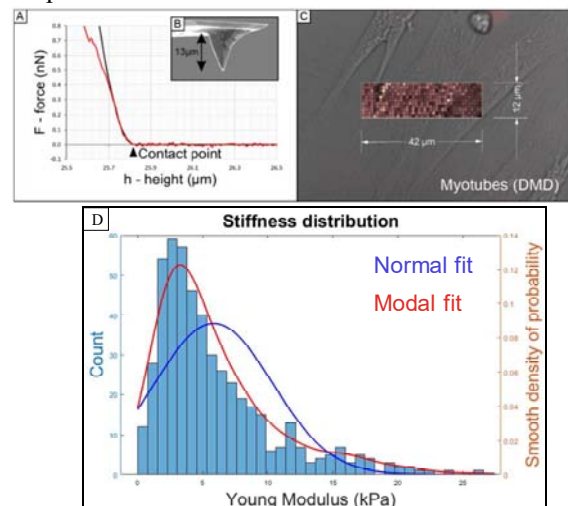


Figure 2 – (A) Exemple de courbe de force-distance AFM ; (B) Photographie d'une pointe AFM ; (C) Superposition de la topographie AFM avec une image d'un myotube (DMD) prise en microscopie à transmission ; (D) Distribution des modules d'élasticité évalué par AFM du même myotube montré en C.

5 Remerciements

Nous remercions l'Université Paris-Est Créteil pour le financement de l'AFM Brucker-JPK NanoWizard sence ainsi que la plateforme de microscopie de l'IMRB pour la mise à disposition de cet appareil.

Références

- [1] B. Ladoux et al., *Physically based principles of cell adhesion mechanosensitivity in tissues*, Rep Prog Phys. 2012, Nov;75(11):116601
- [2] D. Di Carlo, *A mechanical biomarker of cell state in medicine*, J Lab Autom 17(1), 2012, 32-42.
- [3] E. Moeendarbary, et al., *Medicine, Cell mechanics: principles, practices, and prospects*, Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. 2014 Sep-Oct;6(5):371-88.
- [4] Y. Sun, et al., *Integrative Mechanobiology: Micro-and Nano-Techniques in Cell Mechanobiology*, Cambridge University Press 2015.
- [6] J.D. Humphrey, et al., *Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis*, Nat Rev Mol Cell Biol . 2014 Dec;15(12):802-12
- [7] Taglietti V., *Duchenne muscular dystrophy trajectory in R-DMDdel52 preclinical rat model identifies COMP as biomarker of fibrosis*, Acta Neuropathol Commun, 10, 2022, 60-79
- [8] Bilodeau G.G., *Regular Pyramid Punch Problem*, Journal of Applied Mechanics, 59, 1992, 519-523