



Universiteit
Leiden

The Netherlands

The neurological and behavioral consequences of dystrophin deficiency in Duchenne muscular dystrophy: insights from mouse models

Verhaeg, M.A.T.

Citation

Verhaeg, M. A. T. (2025, September 3). *The neurological and behavioral consequences of dystrophin deficiency in Duchenne muscular dystrophy: insights from mouse models*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4259673>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4259673>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Duchenne spierdystrofie (DMD) is een ernstige progressieve aandoening die zowel de spieren als het brein aantast. De ziekte treft ongeveer 1 op de 5,000 pasgeboren jongens en wordt voornamelijk gekenmerkt door ernstige spieraafbraak, wat uiteindelijk leidt tot hart- en ademhalingsfalen. Een deel van de patiënten heeft ook last van brein gerelateerde comorbiditeiten, zoals autismespectrumstoornis, aandachtsdeficiëntie-/hyperactiviteitsstoornis, obsessief-compulsieve stoornis, angst, depressie, dyslexie, dyscalculie en epilepsie. DMD wordt veroorzaakt door mutaties in het *DMD* gen, waardoor de productie van dystrofine eiwitten verstoord wordt. Gezonde individuen hebben meerdere dystrofine isovormen die tot expressie komen in verschillende weefsels en elk unieke functies hebben. Van deze isovormen zijn Dp427, Dp140, Dp71 en Dp40 aanwezig in het centraal zenuwstelsel. Afhankelijk van de locatie van de mutatie kunnen één of meerdere van deze dystrofine isovormen ontbreken. Er zijn correlaties gevonden tussen het aantal ontbrekende brein isovormen en de mate en ernst van cognitieve en gedragsproblemen. De exacte functie van de dystrofine isovormen en de gevolgen van het ontbreken hiervan zijn echter onbekend.

Er zijn veel diermodellen ontwikkeld om DMD te bestuderen. Deze modellen hebben bijgedragen aan het begrijpen van de ziekte en aan de ontwikkeling van interventies tegen spierdegeneratie. Echter, bij veel van deze modellen, met name modellen die meerdere brein dystrofine isovormen missen, zijn de cognitieve stoornissen nog niet grondig onderzocht. Bovendien beperkt het gebrek aan directe vergelijkingen tussen modellen met verschillende ontbrekende dystrofine isovormen ons begrip over de precieze gevolgen van het ontbreken van de kortere dystrofine isovormen.

Na een algemene introductie over DMD, het dystrofine eiwit en zijn functies in **hoofdstuk 1**, ging dit proefschrift in **hoofdstuk 2** verder met een overzicht van de huidige kennis over cognitieve en gedragsstoornissen bij zowel DMD patiënten als verschillende DMD muismodellen. Hier onderscheidden we verschillende gedragsdomeinen, waaronder emotionele reactiviteit, leren en geheugen, en sociale interacties, en vergeleken we de bekende gegevens van muismodellen waarin verschillende dystrofine isovormen ontbreken. Vervolgens beschreven we de breinpathologie in deze modellen en sloten we af met een samenvatting over de huidige preklinische studies die zich richten op de behandeling van het DMD brein via exon skipping strategieën om expressie van Dp427 en/of Dp140 te herstellen. Hoewel de eerste resultaten veelbelovend zijn, blijven er veel uitdagingen voordat het humane DMD brein succesvol behandeld zou kunnen worden.

In **hoofdstuk 3** werd het gedrag van twee DMD muismodellen gekarakteriseerd en met elkaar vergeleken. Hier werden *mdx* (gebrek aan Dp427) en *mdx^{4cv}* (gebrek aan Dp427 en Dp140) muizen onderworpen aan gedragstesten om verschillende vormen van leren, geheugen en spontaan gedrag te beoordelen. Daarnaast werd



de bloed-breinbarrière onderzocht met behulp van MRI en immunofluorescentie kleuringen. De tekorten in werkgeheugen, bewegingspatronen en integriteit van de bloed-breinbarrière die werden gevonden bij *mdx* muizen, waren ook aanwezig bij de *mdx*^{4cv} muizen. De *mdx*^{4cv} muizen vertoonden geen andere afwijkingen in gedrag. Geen van beide modellen vertoonde veranderingen in ruimtelijk leren of geheugen, leerflexibiliteit, stress of andere vormen van spontaan gedrag. Ook was de expressie van aquaporine 4 of gliaal fibrillair zuur eiwit (eiwitten die betrokken zijn bij de bloed-breinbarrière) niet aangetast in deze modellen. Over het algemeen bevestigden deze resultaten de betrokkenheid van Dp427 bij werkgeheugen en bloed-breinbarrière-integriteit, zoals eerder in de literatuur is aangetoond. Deze studie laat verder zien dat het ontbreken van Dp140 geen significante impact lijkt te hebben op deze processen.

Hoofdstuk 4 ging verder met de karakterisatie van het gedrag van DMD muismodellen, met behulp van de *mdx*^{5cv} (gebrek aan Dp427), *mdx52* (gebrek aan Dp427 en Dp140) en *DMD-null* (gebrek aan alle dystrofine isovormen) muismodellen. Een verscheidenheid aan gedragsdomeinen werd onderzocht, waaronder stress, angst, leren en geheugen, sociale interactie en spontaan gedrag. Net als bij het *mdx* muismodel leidde het ontbreken van Dp427 in *mdx*^{5cv} muizen tot een verhoogde stress en angstresponse. Het tevens ontbreken van Dp140 in *mdx52* muizen leek hierin een minimale rol te spelen, maar het ontbreken van Dp71/Dp40 (bovenop het ontbreken van Dp140 en Dp427) verergerde bij *DMD-null* muizen dit gedrag verder. *Mdx52* en *DMD-null* muizen vertoonden verder subtiele veranderingen in ruimtelijk geheugen tijdens zware motorische taken, wat niet werd gezien bij de *mdx*^{5cv} muizen. *Mdx52* muizen vertoonden subtiele veranderingen in spontaan gedrag, voornamelijk in habituatie. Spontaan gedrag was significant veranderd bij de *DMD-null* muizen, die rusteloos leken en veranderde activiteitspatronen vertoonden als reactie op het dag-/nachtritme in vergelijking met andere modellen. Geen van de modellen vertoonde afwijkingen in herkenningsgeheugen. Helaas konden er geen conclusies worden getrokken over sociale interacties, vanwege een gebrek aan sociale voorkeur in onze controlegroep. Al met al bevestigde deze studie de rol van Dp427 in emotionele reactiviteit en bracht het nieuwe afwijkingen aan het licht als gevolg van het ontbreken van Dp140 en/of Dp71/Dp40, wat wijst op het cumulatieve effect van ontbrekende dystrofine isovormen op gedrag.

In **hoofdstuk 5** onderzochten we de effecten van corticosteroïden op gedrag in DMD muismodellen. Hoewel corticosteroïden deel uitmaken van de standaardzorg voor DMD patiënten en deze geneesmiddelen de bloed-breinbarrière kunnen passeren, worden ze vaak niet meegenomen in translationeel onderzoek. We implanteerden subcutane pellets die gedurende 60 dagen langzaam prednisolon afgaven in *mdx* en *mdx*^{4cv} muizen. Echter, in de laatste fase van de studie bleek dat de pellets defect waren en dat de afgifte van prednisolon binnen 3 weken na implantatie was gestopt. Tijdens dit actieve afgiftevenster van 3 weken ondergingen de dieren testen voor stress, sociale interactie en ruimtelijk leren en geheugen. We vonden

een kleine afname in stress bij zowel *mdx* als *mdx^{4cv}* muizen die met prednisolon waren behandeld, vergeleken met placebo behandelde dieren. Er werden geen verschillen gevonden in sociale interactie of ruimtelijk leren en geheugen. Hoewel we de langetermijneffecten van corticosteroïde behandeling in DMD muismodellen niet konden bestuderen, toonden we aan dat kortetermijnbehandeling geen negatief effect heeft op stress, sociale interactie of ruimtelijk leren en geheugen.

Hoofdstuk 6 richtte zich op breinpathologie in DMD-muismodellen. Hier werden *mdx^{5cv}*, *mdx52* en *DMD-null* muizen gebruikt om brein- en regionale volumes, cerebrale perfusie, cerebrale diffusie en AQP4 expressie te beoordelen en te vergelijken. Muizen die alleen Dp427 misten lieten geen defecten zien in breinpathologie. Het ontbreken van Dp427 en Dp140 leidde tot een afname van het totale breinvolume, maar er werden geen significante verschillen gedetecteerd in regionale volumes. Tegen verwachting in, vertoonden muizen die alle dystrofine isovormen misten niet dezelfde afname van het breinvolume als muizen die Dp427 en Dp140 misten. Het gebrek van alle isovormen leidde echter wel tot verminderde cerebrale perfusie en een volledige verstoring van de AQP4 clustering. Het ontbreken van AQP4 clustering leek geen invloed te hebben op cerebrale diffusie, wat suggereert dat andere processen mogelijk gecompenseerd hebben voor de verstoringen in AQP4 expressie.

Hoofdstuk 7 bespreekt de implicaties van de bevindingen die in dit proefschrift zijn beschreven en de toekomstige richting van het veld. Ik beschrijf de huidige uitdagingen op het gebied van DMD wat betreft translatie en standaardisatie in dieronderzoek en benadruk de noodzaak voor het gebruik van corticosteroïden in preklinisch DMD brein onderzoek. Tot slot bespreek ik de mogelijkheden voor het behandelen van de DMD brein en benadruk de lange weg die nog moet worden afgelegd voordat het de DMD brein bij mensen zou kunnen worden behandeld.

DMD is een ziekte die veel verschillende processen omvat en daarom zouden zowel onderzoek als zorg multidisciplinair van aard moeten zijn. De grote impact van de cognitieve en gedragsstoornissen op de kwaliteit van leven van DMD patiënten en hun families benadrukt het belang van meer begrip van de betrokkenheid van het brein bij DMD en de noodzaak voor behandeling van het brein. Hoewel we nog een lange weg te gaan hebben voordat we mogelijk het DMD brein kunnen behandelen, bieden toenemend bewustzijn en lopend onderzoek hoop op toekomstige doorbraken die het leven van mensen met DMD zouden kunnen verbeteren.

