

MUSCLE DYSFUNCTIONS IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS

CONTEXT

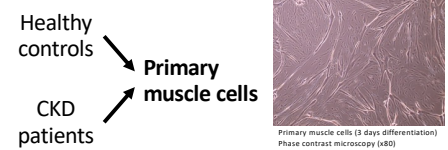
Loss of mass and dysfunction of skeletal muscles are common comorbidities in Chronic Kidney Disease (CKD) patients. They are associated with an increased risk of mortality, lead to reduced physical activity, and impact quality of life.

Previous studies have highlighted in skeletal muscle of CKD patients an activation of atrophy pathways, a fiber type transition from type I (slow) to type II (fast), an alteration in mitochondrial structure, as well as activation of autophagy and mitophagy. However, the mechanisms involved are still poorly understood. In particular, data are still lacking concerning the potential alterations of skeletal muscle cells from patients undergoing hemodialysis.

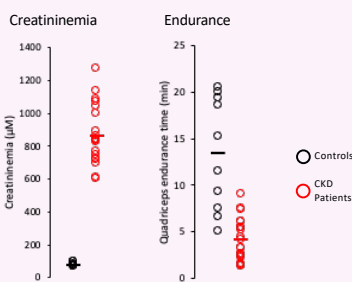
OBJECTIVES

The primary objective of this project is to study whether primary muscle cells from CKD patients display altered function or capacities. The second objective is the development of a standardized study protocol for primary muscle cells, combining recording of calcium response and contractile response to electric and chemical stimuli.

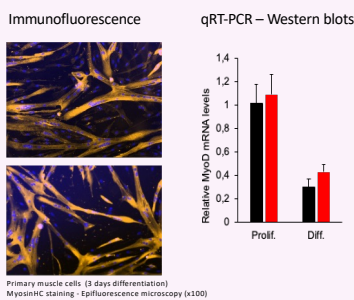
Experimental model:



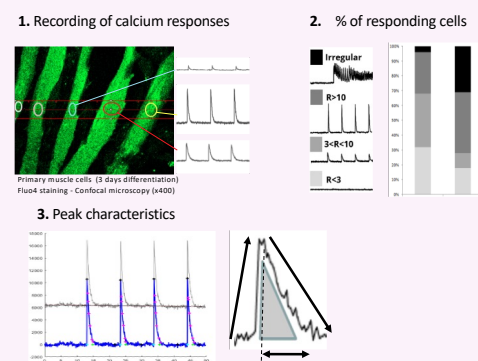
A. Clinical characteristics



B. Primary cells morphological and biochemical phenotyping



C. Primary cells functional phenotyping -> Calcium response



- Characterize primary muscle **cell differentiation** in presence and in absence of various treatments
- Study **myokines** gene expression and secretion
- Characterize primary muscle cell **calcium response** and **contractile response**
- Set up a reproducible protocol enabling characterization of **primary muscle cell contractile capacities**

PREREQUISITES

- ✓ Interest in working with cellular models
- ✓ Skills in biochemistry and microscopy will be appreciated
- ✓ Candidate should be curious, precise, organised, autonomous

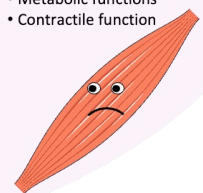
CHRONIC KIDNEY DISEASE



- Hemodialysis
- Uremic toxins
- Inflammation
- Protein energy wasting
- Denutrition
- Deregulation of myokine secretion

MUSCLE DYSFUNCTIONS

- Regeneration
- Metabolic functions
- Contractile function



MASTER IDIL
Parcours SH2

Projet de recherche– 2024-2025

Titre du projet

Etude *in vitro* des dysfonctions des muscles squelettiques chez les patients en Insuffisance Rénale Chronique – Développement de méthodes d'étude *in vitro* des capacités contractiles

Encadrement

Dr Pascal Seyer (MCU UM) – email : pascal.seyer@umontpellier.fr

Unité de recherche

PhyMedExp – Physiologie et Médecine Expérimentale du Cœur et des Muscles

Equipe

Equipe 2 – Myopathies Acquises chez le Patient en Déficience d'Organes

Mots-clés

insuffisance rénale chronique - dialyse - muscle squelettique - recherche translationnelle

Résumé du projet

La perte de masse et le dysfonctionnement des muscles squelettiques sont des caractéristiques communes observées chez les personnes souffrant d'insuffisance rénale chronique (IRC). Chez les patients en insuffisance rénale terminale traités par hémodialyse, la faiblesse musculaire est associée à un risque accru de mortalité, entraîne une diminution de l'activité physique et impacte la qualité de vie.

Notre travail et d'autres études ont mis notamment en évidence dans les muscles des patients en IRC une activation des voies de l'atrophie, une transition de type de fibre du type I (lent) vers le type II (rapide), une altération de la structure des mitochondries, ainsi qu'une activation de l'autophagie et de la mitophagie. Cependant les mécanismes impliqués sont encore mal compris et d'autres études sont nécessaires.

Ce projet de master vise à poursuivre une étude translationnelle utilisant des cellules primaires musculaires dérivées de biopsies de patients hémodialysés. Ce type de modèle reste à ce jour très peu étudié pour cette pathologie en raison de la difficulté d'obtenir des biopsies provenant de patients hémodialysés. L'objectif est d'étudier si des cellules musculaires primaires issues de patients ont un fonctionnement ou des capacités altérées. L'étudiant utilisera pour cela des approches d'immunofluorescence et de biochimie (Western blot, qRT-PCR, mesure d'activités enzymatiques...) pour caractériser les cellules musculaires de patients et étudier leur réponse à différents types de stress.

Enfin, l'étudiant utilisera également des approches en microscopie confocale permettant l'étude de la fonction contractile *in vitro*. Celles-ci permettront d'étudier si les cellules musculaires de patients dialysés présentent des altérations de la réponse calcique à un stimulus électrique ou chimique, ou des altérations de leur réponse contractile. Un deuxième objectif est le développement d'un protocole d'étude standardisé pouvant être appliqué sur des cellules provenant d'autres types de patients, ou exposées à différents traitements. Cette partie du projet s'inscrit au sein d'un axe développé par notre équipe et combinant plusieurs approches complémentaires : mesure de la réponse calcique, culture sur support microstructuré, mesure de la force musculaire sur support 3D, marquage des sarcomères par une protéine rapporteur fluorescente...

Ces expériences constitueront une première étape vers l'identification de cibles thérapeutiques ou de biomarqueurs dans une optique d'amélioration de la fonction musculaire chez les patients dialysés, qui pourront par exemple être utilisés en combinaison avec des protocoles d'activité physique adaptés.

Project title

in vitro study of muscle dysfunctions in Chronic Kidney Disease patients – Setup of a method to study contractile function *in vitro*

Keywords

chronic kidney disease - dialysis - skeletal muscle - translational research

Project abstract

Loss of mass and dysfunction of skeletal muscles are common characteristics observed in individuals suffering from Chronic Kidney Disease (CKD). In end-stage renal disease patients treated with hemodialysis, muscle weakness is associated with an increased risk of mortality, leads to reduced physical activity, and impacts quality of life.

Our work and other studies have notably highlighted in skeletal muscle of CKD patients an activation of atrophy pathways, a fiber type transition from type I (slow) to type II (fast), an alteration in mitochondrial structure, as well as activation of autophagy and mitophagy. However, the mechanisms involved are still poorly understood and further studies are necessary.

This project aims to pursue a translational study using primary muscle cells derived from biopsies of hemodialysis patients. This type of model remains very little studied for this pathology due to the difficulty of obtaining biopsies from hemodialysis patients. The objective is to study whether primary muscle cells from CKD patients display altered function or capacities. The student will use immunofluorescence and biochemical approaches (Western blot, qRT-PCR, measurement of enzymatic activities, etc.) to characterize the patients' muscle cells and study their response to different types of stress.

Finally, the student will also use confocal microscopy approaches to study *in vitro* contractile function. These will allow the investigation of whether muscle cells from dialysis patients exhibit alterations in calcium response to an electrical or chemical stimulus, or alterations in their contractile response. A second objective is the development of a standardized study protocol that can be applied to cells from other types of patients or cells exposed to different treatments. This part of the project is part of an axis developed by our team, combining several complementary approaches: measurement of calcium response, culture on microstructured support, measurement of muscle strength on 3D support, marking of sarcomeres with a fluorescent reporter protein...

These experiments will be a first step to identify therapeutic targets or biomarkers with a view to improving muscle function in dialysis patients, which could, for example, be used in combination with adapted physical activity protocols.