

L'Atlas du Muscle : une banque d'images de biopsies musculaires

Norma B. Romero, Bruno Cadot

L'analyse des biopsies musculaires constitue un outil essentiel dans le domaine de la recherche et pour le diagnostic. La biopsie musculaire est régulièrement utilisée dans le diagnostic et l'évaluation de nombreuses maladies neuromusculaires survenant chez l'enfant ou chez l'adulte, ainsi que dans l'étude des modèles animaux correspondants. Nous décrivons ici l'Atlas du Muscle, une banque d'images de biopsies musculaires saines et pathologiques, dont les objectifs sont de documenter les données morphologiques d'une myopathie donnée bien caractérisée, de faciliter le diagnostic des différentes myopathies, et de fournir du matériel pour des approches faisant appel à l'intelligence artificielle (IA).

Principe

Le corps humain contient plus de 600 muscles différents avec, pour chacun, des fonctions spécifiques telles que la locomotion, la respiration, le maintien de la posture verticale, ou la circulation sanguine. Même si leur structure globale est assez similaire, il existe de nombreuses différences au niveau cellulaire qui permettent, selon leur spécificité fonctionnelle, de les distinguer les uns des autres. Les différents types de colorations/techniques utilisées lors de l'étude d'une biopsie musculaire constituent une étape-clé car elle permet une appréciation visuelle des modifications morphologiques et structurelles des fibres musculaires. Ces modifications peuvent être très variées, concernant la taille des fibres musculaires, la localisation des organites (noyau, mitochondries), le sous-type de cellules musculaires concernées (rapides ou lentes), l'activité métabolique ou enzymatique, et l'ultrastructure (microscopie électronique).

Au sein de l'Unité de Morphologie Neuromusculaire (sise dans le bâtiment Risler de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière) sont réalisées des études spécialisées de biopsies d'adultes et d'enfants. Cette activité dédiée au diagnostic et à la recherche des myopathies avait été initiée il y a près de cinquante ans, au début des années 1970, par les professeurs Michel Fardeau et Fernando Tomé. Les travaux de ces derniers ont contribué à la connaissance et à la consolidation de cette discipline en France et à l'international.

Aujourd'hui, avec cet Atlas du Muscle, nous visons la valorisation et la pérennisation de ces inestimables travaux réalisés dans le domaine de la myologie. De plus, nous relevons le défi de faire évoluer la diffusion des connaissances grâce aux nouvelles

technologies, et ainsi, de faire bénéficier les professionnels de santé et les chercheurs de notre solide expérience dans le champ de la pathologie neuromusculaire.

Nous avons décidé de partager plus de 4 500 images de biopsies musculaires humaines, mais aussi d'origine murine et canine, collectées depuis plusieurs années dans l'Unité de Morphologie Neuromusculaire et le Centre de Recherche en Myologie. Ces deux structures font partie de l'Institut de Myologie de Paris. C'est à ce jour le plus grand nombre des cohortes d'images de biopsies musculaires génétiquement déterminées, réparties en 16 groupes de différents types de maladies, 72 gènes impliqués, 57 types de colorations et regroupe 27 types de muscles issus de biopsies humaines ou de modèles animaux.

L'Atlas du Muscle est financé par l'Institut de Myologie grâce au projet Accélérateur. C'est la première ressource complète et très bien documentée disponible pour aider les chercheurs et les médecins à établir un diagnostic et déterminer les caractéristiques morphologiques précises d'un grand nombre de maladies neuromusculaires, domaine dans lequel il existe une importante hétérogénéité morphologique et génétique. Toutes les images des biopsies humaines sont associées à un diagnostic définitif confirmé par analyse génétique, et à une référence bibliographique si l'observation a été publiée.

L'Atlas du Muscle est en accès libre mais les images ne sont pas destinées à être téléchargées. Cette base de données propose ainsi des images de référence pour différentes maladies bien caractérisées, dans un but de recherche ou d'enseignement. Cet outil

Norma B. Romero
Unité de Morphologie Neuromusculaire, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
Sorbonne Université, Inserm, Institut de Myologie, Centre de Recherche en Myologie, Paris, France
Bruno Cadot
Sorbonne Université, Inserm, Institut de Myologie, Centre de Recherche en Myologie, Paris, France

Contacts
b.cadot@institut-myologie.org
nb.romero@institut-myologie.org

fournit également du matériel aux développeurs d'IA pour la création d'algorithmes permettant de détecter automatiquement des caractéristiques particulières dans les biopsies musculaires. L'idéal serait ainsi de n'avoir besoin d'aucun marquage, ou a minima un seul, pour être capable d'extrapoler les caractéristiques nécessaires au diagnostic.

Origine des biopsies

Les biopsies humaines ont généralement été obtenues lors du parcours de soins habituel des patients, ou dans le cadre de projets de recherche de l'Institut de Myologie se déroulant dans l'Unité de Morphologie Neuromusculaire ou dans le Centre de Recherche en Myologie. Environ 65 % des échantillons musculaires analysés proviennent de patients adultes des services de neuromyologie, de médecine interne, de neurologie et maladies métaboliques, ou de médecine interne du CHU de la Pitié-Salpêtrière. Les 35 % autres proviennent d'hôpitaux d'enfants ou d'adultes français ou étrangers.

Pour les biopsies musculaires de souris, l'âge auquel ces dernières ont été euthanasiées est toujours indiqué. Les échantillons de muscle de chiens, quant à eux, ont été obtenus dans le cadre d'une étude préclinique, mise au point par le laboratoire *Atlantic Gene Therapies* de Nantes et ayant pour but la

délivrance d'un rAAV8-U7snRNA destiné à restaurer par saut d'exon la phase d'un ARNm de la dystrophine.

Exemples de colorations/techniques appliquées

Pour les procédures d'immunofluorescence, des coupes de tissus murins ou humains ont été réalisées à l'aide d'un cryostat. Elles sont fixées et perméabilisées, puis les épitopes non-spécifiques sont masqués. Les sections ont été incubées avec un anticorps primaire spécifique puis des anticorps secondaires appropriés.

Les échantillons de muscle des patients pour les études de microscopie électronique, réalisées à l'Institut de Myologie, ont été fixés avec du glutaraldéhyde (2,5 %, pH 7,4), post-fixés avec du tétroxyde d'osmium (2 %), déshydratés et incorporés dans de la résine (EMBed-812, Electron Microscopy Sciences, USA). Des coupes ultrafines ont été colorées avec de l'acétate d'uranyle et du citrate de plomb (*Tableau I*). Les grilles ont été observées à l'aide d'un microscope électronique Philips CM120 (80 kV ; Philips Electronics NV, Eindhoven, Pays-Bas) et ont été photo-documentées à l'aide d'une caméra Morada (*Soft Imaging System*, France).

Colorations	Abréviations	Structures visibles
Hématoxyline & Éosine	H&E	Cytoplasme, noyaux
Rouge Sirius (Sirius red)	SR	Collagènes fibrillaires
Trichrome de Gomori	TG	Collagènes, inclusions cytoplasmiques
Cytochrome C Oxydase	COX	Activité enzymatique des mitochondries
ATPases à pH 9,40, 4,63 et 4,35	ATP	Typage de fibres
Nicotinamide adenine dinucléotide tétrazolium réductase	NADH-TR / DPNH	Typage de fibres, maille du réseau intermyofibrillaire, activité enzymatique
Cytochrome C Oxydase + Succinate déshydrogénase	(COX + SDH)	Activité enzymatique et prolifération des mitochondries
Acide Périodique de Schiff	PAS	Glycogène
Oil Red O	ORO	Gouttelettes lipidiques
Alpha-glycérophosphate déshydrogénase	Menadione	Inclusions
Desmine (IHC)	Desmine	Organisation de la cellule
Myotiline (IHC)	Myotiline	Organisation de la cellule
α -actinine (IHC)	α -actinine	Tiges de Némaline

Tableau I
Principales colorations utilisées et les structures détectées correspondantes (liste non exhaustive).

La base de données

Les images totalement anonymisées ainsi que leurs informations spécifiques ont été téléchargées sur la solution Web fournie par Zegami® (Université d'Oxford), et hébergées sur le site Web de l'Institut de Myologie (<https://www.institut-myologie.org/en/recherche-2/laboratoire-dhistopathologie-dr-norma-bronero/muscle-atlas/>). Chaque image est associée aux informations suivantes : organisme, muscle biopsié, groupe/type de maladies neuromusculaires et nom précis de la myopathie, gène muté et mutation, traitement le cas échéant, genre, âge, méthode de coloration, référence anticorps le cas échéant, numéro

OMIM, et publication dans laquelle les images ont été utilisées. Le filtrage en utilisant l'un de ces paramètres ou une combinaison de ceux-ci est possible pour affiner un sous-ensemble d'images (Figure 1). L'objectif de cette banque est d'atteindre un nombre très important (plusieurs milliers) d'images dans les quatre prochaines années. Plusieurs maladies ne sont pas encore référencées comme, par exemple, les maladies musculaires infectieuses, tropicales ou non, dont les parasitoses musculaires rares, et certaines myopathies non déterminées génétiquement. Un nombre plus conséquent de muscles d'individus sains serait nécessaire pour enrichir la base.

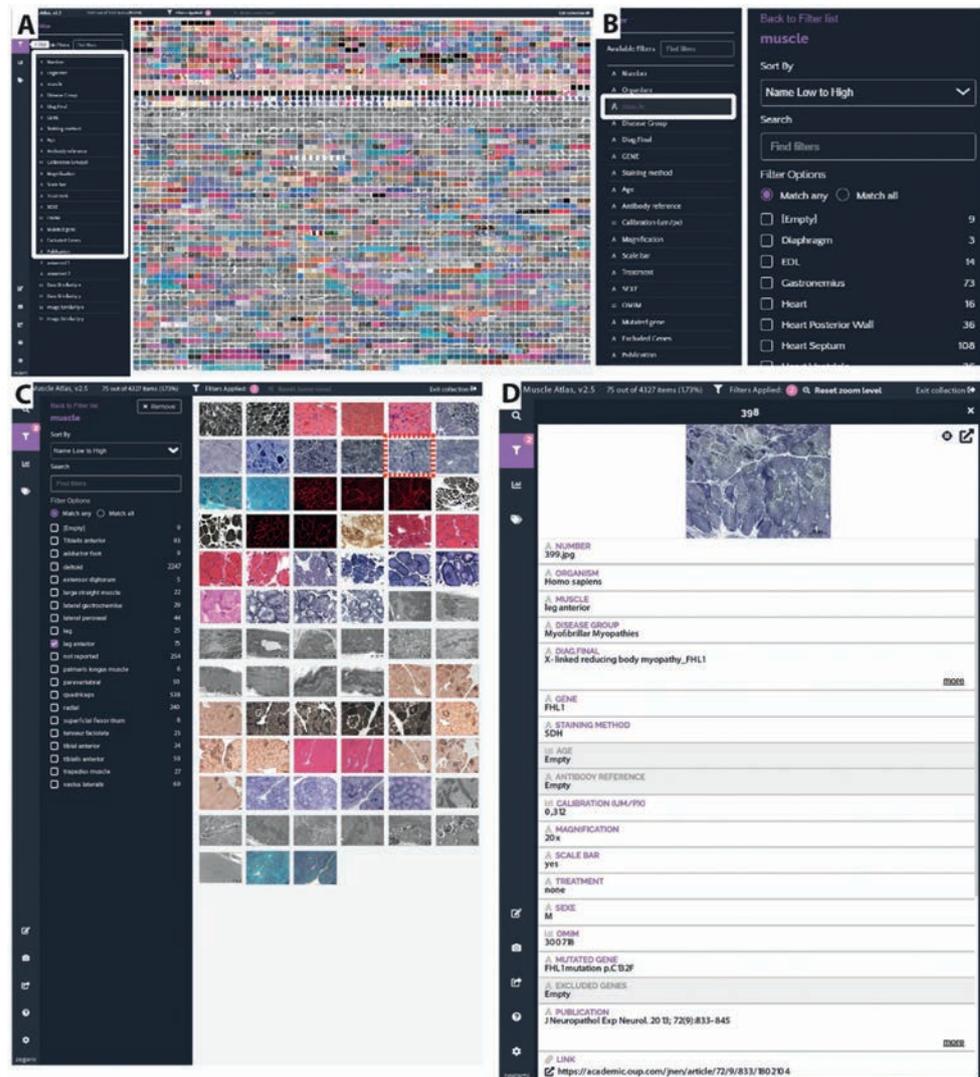


Figure 1

Visuel de la base de données sous sa forme actuelle.

A : Vue d'ensemble de la base de données Muscle Atlas. Il est possible de zoomer sur les images avec la molette de la souris. B : Encart de A. Filtres disponibles afin de restreindre le nombre d'images. À droite, pour chaque paramètre, il est possible de restreindre encore en choisissant un deuxième niveau (ici pour les types de muscles). C : Exemple de sélection (75 images) en utilisant les filtres *Homo Sapiens* (Organisme) et *Leg Anterior* (Muscles). D : En cliquant sur une image (encart rouge dans C), toutes les informations reliées à cette image sont visibles.

Nombre de cas de biopsies humaines incorporés à ce jour : 200 cas

Nombre de maladies représentées : Myopathies liées à 72 gènes

Nombre de photos de myopathies chez l'homme déjà disponibles sur le serveur : 4 516 photos (2 976 images d'histo-enzymologie et 1540 de microscopie électronique)

Nombre de photos de muscle de souris : 467

Autres : 4

Remerciements

Le travail de sélection de photos destinées à être incorporées dans l'Atlas du Muscle a été rendu possible grâce à la précieuse participation d'Emmanuelle Lacène et de Clémence Labasse.

Dans un futur proche, nous espérons enrichir la banque d'images à des maladies neuromusculaires rares non encore étudiées dans notre Institut. Dans le but d'atteindre le nombre critique d'images nécessaires au développement d'approches basées sur l'intelligence artificielle (algorithmes automatiques

d'analyse d'images), nous nous proposons d'étendre à d'autres Instituts travaillant sur le muscle la possibilité de rejoindre cette base de données. Ce dépôt se fera au travers des curateurs et les images devront respecter certains standards de haute qualité, être associées à des métadonnées claires et être impliquées dans un article révisé/publié.

The Muscle Atlas: a databank of muscle biopsies' images

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

LE BILLET DU LUNDI



Un nouveau service
de la Filière de Santé FILNEMUS
est disponible depuis début 2020

Une info-lettre hebdomadaire gratuite vous tient
informés :

- de l'actualité de la filière
- des publications du domaine
- des webinars programmés
- des appels à collaboration en cours
- et d'un agenda événementiel régulièrement mis à jour

Pour l'obtenir, et si ce n'est pas déjà fait, inscrivez-vous sur le site Filnemus
<http://www.filnemus.fr/>