

Caractérisation des propriétés du courant calcique et de la conductance de fuite dans des fibres musculaires squelettiques de souris exprimant le canal calcique voltage-dépendant muté V876E responsable de la paralysie périodique hypokaliémique de type 1

Clarisse Fuster, Jimmy Perrot, Christine Berthier, Vincent Jacquemond, Bruno Allard

La Paralysie Périodique Hypokaliémique de type 1 (HypoPP1) est une maladie neuromusculaire caractérisée par des crises de paralysies musculaires transitoires pouvant durer de quelques heures à quelques jours et associées à une hypokaliémie. Ces paralysies peuvent être déclenchées suite à un exercice intense, une consommation importante d'hydrates de carbone, une exposition au froid ou un stress [1].

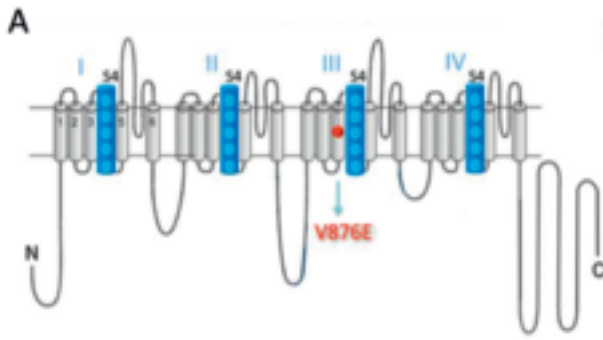
L'HypoPP1 est une maladie génétique induite par des mutations faux-sens dans le gène codant la sous-unité principale ($\alpha 1S$) du canal Ca^{2+} voltage-dépendant (Cav1.1) du muscle squelettique [2-5]. La sous-unité $\alpha 1S$ est composée de quatre domaines transmembranaires (I à IV), eux-mêmes constitués de six segments transmembranaires (S1 à S6) (Figure 1A). Les mutations HypoPP1 conduisent pour la plupart à la substitution d'un résidu histidine à un résidu arginine localisé dans la partie la plus externe d'un des segments S4 de la sous-unité $\alpha 1S$. Les expériences menées à partir de biopsies de patients souffrant d'HypoPP1, de souris transgéniques portant l'une de ces mutations ou encore de modèles d'expression hétérologue des canaux voltage-dépendants Na^+ ou K^+ de structure proche du canal Ca^{2+} et mutés sur les mêmes segments S4, suggèrent que, dans les fibres musculaires squelettiques, la mutation conduirait à la formation d'une voie de passage cationique accessoire, appelée *gating pore*, générant un courant entrant responsable d'une dépolarisation de la membrane et finalement de l'inexcitabilité des cellules musculaires. Cependant, l'une des mutations HypoPP1 récemment identifiée et induisant des symptômes cliniques comparables aux autres mutations HypoPP1 s'est avérée affecter non plus un segment S4 mais un

segment S3 du canal calcique [6]. Les modifications fonctionnelles induites par cette mutation n'ayant jamais été étudiées, la question se pose de savoir si la mutation V876E (Val876Glu) conduit à la formation d'un *gating pore* en dépit du fait qu'elle n'affecte pas un segment S4.

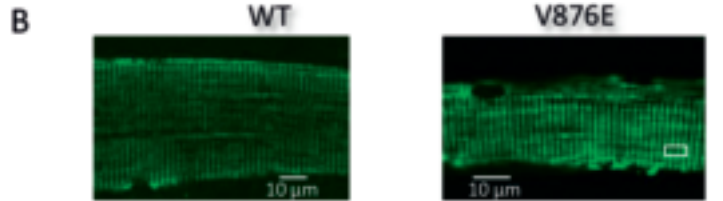
Nous avons transféré l'ADN codant le gène de la sous-unité $\alpha 1S$ du canal Ca^{2+} humain sauvage ou mutée HypoPP1 V876E étiqueté à la turbo-GFP dans les muscles des pattes arrière de souris. Les profils d'expression des canaux sauvage ou V876E ont indiqué une localisation telle qu'attendue au niveau de la membrane des tubules transverses (Figure 1B). La mesure des courants Ca^{2+} voltage-dépendants en condition de voltage-clamp n'a montré aucune différence significative entre les courants enregistrés dans les fibres exprimant la forme mutée V876E et la forme sauvage (Figure 1C). L'application de rampes hyperpolarisantes en présence d'une solution externe dépourvue de Na^+ , de K^+ et faible en Cl^- a permis de révéler une conductance de fuite mesurée entre -80 et -120 mV significativement plus importante dans les fibres exprimant la mutation V876E (Figure 1D) et potentialisée par une acidification du milieu externe (Figure 1E). Ces données suggèrent d'une part que la mutation V876E induirait un courant entrant de *gating pore*

Clarisse Fuster
Jimmy Perrot
Christine Berthier
Vincent Jacquemond
Bruno Allard
Institut NeuroMyoGène,
UMR CNRS 5310, Inserm
U1217, Université
Lyon 1, Villeurbanne,
France

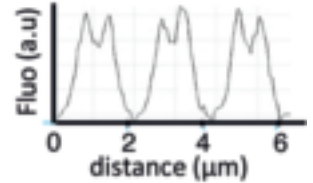
INFOS



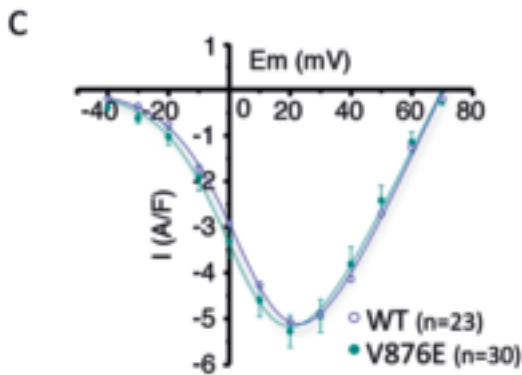
Localisation de la mutation HypoPP1 V876E dans la sous-unité $\alpha 1$ du canal Ca^{2+}



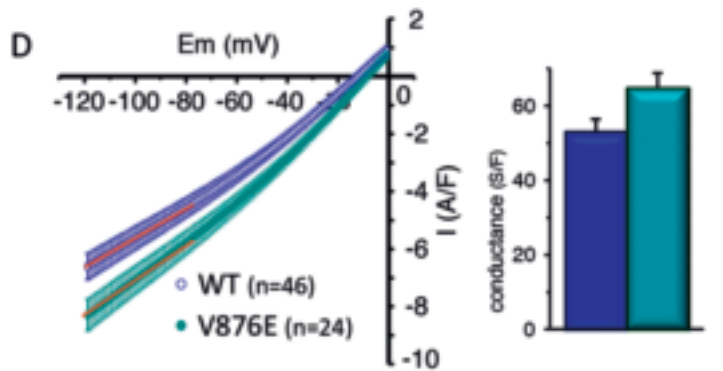
Images de microscopie confocale à fluorescence de fibres transfectées avec l'ADN codant les sous unités $\alpha 1$ humaine sauvage (WT) et V876E



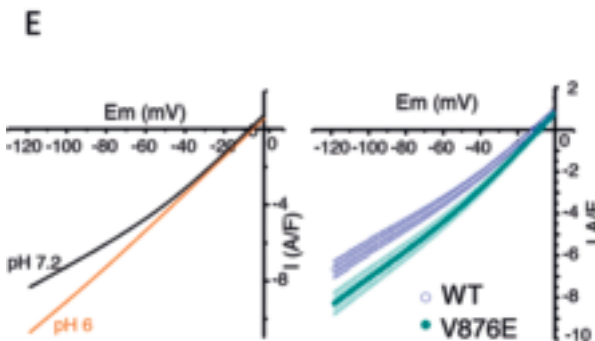
couplées à la GFP et profil d'expression de la forme V876E



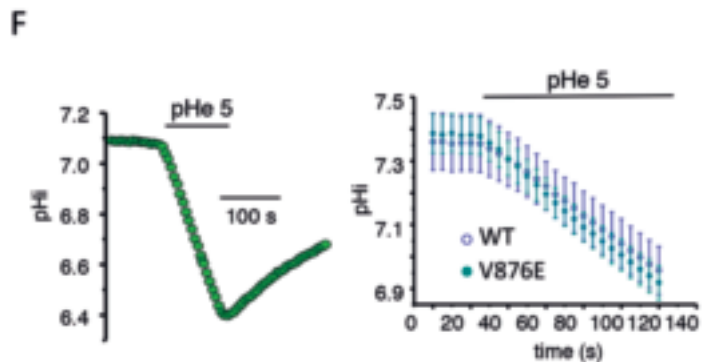
Amplitudes des pics de courants Ca^{2+} développés par les fibres WT et V876E en fonction du potentiel



Courants générés par des rampes hyperpolarisantes entre 0 et -120 mV dans les 2 types de fibres et moyennes des conductances mesurées entre -80 et -120 mV



Courants générés par des rampes hyperpolarisantes en réponse à une acidification externe dans une fibre V876E et en moyenne dans les 2 types de fibres



Changement de pH interne en réponse à une acidification externe dans une fibre V876E et en moyenne dans les 2 types de fibres

au potentiel de repos tel qu'observé pour les autres mutations HypoPP1 et d'autre part que ce courant serait porté par des H⁺. Cependant, la mesure de l'acidification intracellulaire à l'aide d'un indicateur fluorescent sensible au pH en réponse à une acidification extracellulaire réalisée en présence d'un milieu externe physiologique n'a révélé aucune différence de vitesse d'entrée des H⁺ entre les fibres exprimant la forme mutée et la forme sauvage (Figure 1F). Ces données suggèrent que le *gating pore* transporterait des H⁺ lorsqu'aucun autre cation perméant n'est présent dans le milieu externe mais que le courant serait porté par un autre cation en conditions physiologiques. Des mesures préliminaires de Na⁺ intracellulaire indiquent que le *gating pore* généré par la mutation V876E transporterait principalement du Na⁺ dans les conditions physiologiques. Dans l'ensemble, ces expériences tendent à montrer que la formation d'un *gating pore* constitue un mécanisme physiopathologique commun à toutes les mutations HypoPP1 que celles-ci affectent les segments S4 ou un segment

S3 mais qu'en revanche l'ion transporté est susceptible d'être différent selon la mutation.

Investigation of calcium current properties and leak conductance in mouse muscle fibers expressing the type 1 Hypokalemic Periodic Paralysis V876E mutant calcium channel

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Cannon SC. Channelopathies of skeletal muscle excitability *Compr Physiol* 2015 ; 5 : 761-90.
2. Cannon SC. Voltage-sensor mutations in channelopathies of skeletal muscle. *J Physiol* 2010 ; 588 : 1887-95.
3. Matthews E, Hanna MG. Muscle channelopathies: does the predicted channel gating pore offer new treatment insights for hypokalaemic periodic paralysis? *J Physiol* 2010 ; 588 : 1879-86.
4. Jukat-Rott K, Groome J, Lehmann-Horn F. Pathophysiological role of omega pore current in channelopathies. *Front Pharmacol* 2012 ; 3 : 112.
5. Moreau A, Gosselin-Badaroudine P, Chahine M. Biophysics, pathophysiology, and pharmacology of ion channel gating pores. *Front Pharmacol* 2014 ; 5 : 53.
6. Ke T, Gomez CR, Mateus HE, et al. Novel CACNA1S mutation causes autosomal dominant hypokalemic periodic paralysis in a South American family. *J Hum Genet* 2009 ; 54 : 660-4.

A NOTER SUR VOS TABLETTES



**La filière nationale de Santé Neuromusculaire Filnemus
annonce la tenue
de sa 4^e Journée Annuelle
le mardi 7 novembre 2017
à l'Institut Imagine, à Paris (Hôpital Necker-Enfants Malades)
à partir de 9h30
(Renseignements et inscriptions sur www.filnemus.fr)**

Y seront notamment abordés les actualités de la Filière elle-même et du 3ème Plan National Maladies Rares, ainsi que les travaux des différentes commissions de Filnemus.

FILNEMUS est une des 23 Filières de Santé Maladies Rares (FSMR) retenues par le Ministère dans le cadre du second plan national maladies rares 2011-2016. Les affections relevant de la filière FILNEMUS incluent les maladies du muscle (myopathies), les maladies de la jonction neuromusculaire, les maladies rares du nerf périphérique et les amyotrophies spinales infantiles. A ce jour, on compte en France entre 40.000 et 50.000 personnes atteintes de pathologie neuromusculaire.