



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **8 décembre 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **FUSTER Clarisse**

Titre de la thèse : « Caractérisation fonctionnelle de formes mutées du récepteur des dihydropyridines responsables de Paralysie Périodique Hypokaliémique de type 1 »



Résumé

La Paralysie Périodique Hypokaliémique de type 1 (HypoPP1) est une myopathie d'origine génétique, autosomique dominante, caractérisées par des épisodes de paralysies musculaires récurrentes pouvant durer quelques heures à quelques jours. Ces crises de paralysies sont accompagnées d'une hypokaliémie responsable d'arythmies cardiaques entraînant la mort dans les cas les plus graves. Les crises peuvent être déclenchées par un stress, une alimentation riche en glucides ou encore suite à un exercice physique intense. L'HypoPP1 est liée à une mutation dans le gène CACNA1S codant la sous-unité principale du canal calcique musculaire (Cav1.1). A l'exception d'une, toutes les mutations HypoPP1 conduisent au remplacement d'une des arginines les plus externes d'un des segments détecteurs de potentiel du canal, nommés S4, par un acide aminé neutre. Des études réalisées dans des modèles d'expression hétérologue de canaux potassiques ou sodiques, dont les structures sont très proches du Cav1.1, ont montré que des mutations similaires à l'HypoPP1 conduisaient à la création d'une voie de passage ionique dite "accessoire" au travers du domaine détecteur de potentiel générant un courant cationique entrant au potentiel de repos. Si une telle voie de passage ionique existe à travers Cav1.1 dans les cellules musculaires des patients souffrant d'HypoPP1, elle pourrait ainsi induire une dépolarisation des cellules musculaires au point de les rendre inexcitables, conduisant ainsi à la paralysie.

Mon travail a consisté à étudier les formes R1239H et V876E du Cav1.1 responsables d'HypoPP1 afin de déterminer si une telle voie de passage accessoire est présente dans les canaux calciques mutés. La mutation R1239H correspond à la substitution d'une histidine à la seconde arginine dans le segment S4 du domaine IV tandis que la mutation V876E présente la particularité de ne pas affecter un S4 mais un segment S3 dans le domaine III. Ce travail s'appuie sur l'expression *in vivo* du gène codant le Cav1.1 humain sain (WT) ou muté R1239H ou V876E dans les muscles des pattes arrière de souris puis sur l'analyse des mouvements ioniques en combinant des techniques d'électrophysiologie et de mesure des concentrations intracellulaires de H⁺ ou de Na⁺ par fluorescence sur fibre musculaire isolée. L'étude de la mutation R1239H a montré qu'un influx de protons générant un courant entrant significativement plus important se développait au potentiel de repos dans les fibres exprimant la mutation en comparaison des cellules exprimant la forme WT. L'étude de la deuxième mutation V876E, sur laquelle aucune donnée fonctionnelle n'était disponible à ce jour, a révélé que cette mutation était elle aussi responsable d'un courant ionique accessoire mais dans ce cas-là porté par les ions Na⁺. Ce résultat est

important car il montre que la formation d'un pore ionique accessoire constitue un mécanisme physiopathologique commun à différentes formes d'HypoPP affectant le canal calcique musculaire, y compris lorsque la mutation n'affecte pas directement un segment S4.

Mots-clés : Muscle squelettique, Cav1.1, Paralysie Périodique Hypokaliémique, pore accessoire