

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Date de la soutenance : **18 mars 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame DUCREUX Sylvie**

Titre des travaux : « *Etude de partenaires de l'homéostasie calcique dans des pathologies cardiovasculaires & musculaires* »

Résumé



Depuis mon recrutement, mes travaux de recherche se déclinent en 2 thématiques principales.

Rôle des canaux TRPV1 dans les hyperthermies déclenchées

L'hyperthermie maligne (HM) et le coup de chaleur à l'effort (=hyperthermie d'effort ; HE) représentent les 2 principales hyperthermies déclenchées, une classe de pathologies définies par une élévation anormale de la température corporelle à la suite d'un stimulus spécifique. Les deux troubles partagent plusieurs caractéristiques cliniques, parmi lesquelles une dérégulation de la contraction musculaire, une participation à l'élévation de la température corporelle et un risque de défaillance multi-viscérale. Les crises aiguës d'HM et d'HE sont des urgences médicales mortelles si elles ne sont pas traitées. Bien qu'elles soient difficiles à diagnostiquer, elles ne présentent aucun symptôme en dehors de la crise. HM est un trouble pharmacogénétique du muscle squelettique, avec une prévalence estimée à 1/10000, qui présente une réponse hyper métabolique aux anesthésiques volatils. HE partage une réponse hyper métabolique similaire du muscle squelettique chez les patients exposés à des activités sportives épuisantes telles que le marathon ou des exercices militaires, avec une incidence estimée à 1 pour 500 coureurs. Au cours des trois dernières décennies, HM a été principalement associée à des mutations du gène *RYR1* qui code pour le canal calcique du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique¹⁻⁴, le récepteur à la ryanodine de type 1, RyR1. Néanmoins, aucune étude, malgré les nombreuses tentatives, n'a jamais mis en évidence le fait que RyR1 puisse être directement activé par les anesthésiques volatils et ainsi provoquer l'HM. Il est donc clair qu'un autre acteur doit intervenir et faire le lien entre le déclenchement de l'HM au cours des anesthésies et la présence de RyR1 muté. Notre candidat a été le canal ionique **TRPV1, Transient Receptor Potential Vanilloid 1**.

TRPV1 est un récepteur sensoriel activable par des températures supérieures à 42°C ou par une acidose. Dans les travaux que nous avons publiés⁵, nous montrons que le canal ionique TRPV1 est le candidat idéal, à savoir : (a) canal ionique perméable aux ions Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique ; (b) localisation proche des RyR1; (c) canal fonctionnel sous activation pharmacologique et physiologique; (d) capacité à activer RyR1 par un pseudo-mécanisme de « Ca²⁺ induced Ca²⁺ release ». Grâce à nos collaborateurs grenoblois, nous avons ensuite identifié

des variants de TRPV1 chez des patients ayant souffert d'une crise HM^{6,7}. Nos données montrent que l'inhibition pharmacologique du canal TRPV1 peut réduire la réponse hyper métabolique musculaire, soulignant le rôle potentiel de TRPV1 en tant que cible thérapeutique exploitable pour la prévention de la pathologie.

Parallèlement, avec la plateforme Therassay de Nantes, nous avons réalisé l'exploration fonctionnelle de la fonction motrice des animaux TRPV1^{-/-}. Dans cette étude, nous avons établi une comparaison entre 3 facteurs: le génotype des animaux (WT versus TRPV1^{-/-}), le genre, mais également l'exercice. Nous avons démontré que l'absence d'un canal TRPV1 fonctionnel affecte plus particulièrement les muscles à contraction lente et que certaines modifications de la fonction contractile sont plus marquées lorsque le génotype TRPV1^{-/-} est associé soit avec le sexe féminin, soit avec l'exercice, soit avec la combinaison de ces 2 facteurs⁸.

Plus récemment, nous avons identifié des variants TRPV1 dans une cohorte de patients ayant développé une hyperthermie à l'effort⁹. Un modèle KI-TRPV1, reproduisant une des mutations identifiées en lien avec l'HE, vient d'être généré pour poursuivre cet axe et fait l'objet de 2 demandes de financement en cours (AAP INSERM Impulsion Climat et Santé / AAP ANR 2024 déposé).

Rôles des canaux de fuite calcique dans l'infarctus du myocarde

Les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de mortalité dans le monde, dont une majorité est due aux cardiopathies ischémiques. L'accumulation cytosolique de Ca²⁺, additionnée au transfert de Ca²⁺ du réticulum aux mitochondries dans la pathophysiologie de la mort cellulaire pendant l'ischémie/reperfusion (I/R), est la cause principale de la surcharge calcique mitochondriale, conduisant à l'ouverture du pore de transition de perméabilité dans la membrane interne de la mitochondrie, suivie de la mort cellulaire. La compréhension du mécanisme de ce transfert autant que sa modulation peuvent être la clé pour trouver de nouvelles cibles pharmacologiques pour le conditionnement cardiaque^{10,11}. Malheureusement, la plupart des études pharmacologiques (y compris de notre laboratoire) dans le domaine de la cardioprotection face aux lésions d'I/R ayant comme cible la mitochondrie ont été décevantes après transposition chez l'homme, d'où la nécessité de développer de nouvelles pistes thérapeutiques. Notre attention s'est portée sur 2 canaux de fuite calcique, TRPV1 et le translocon.

Le **translocon**, est un canal ubiquitaire présent sur la membrane du réticulum et a comme rôle le passage et la maturation des protéines néosynthétisées à travers son pore aqueux qui couvre complètement la bicouche lipidique du réticulum endoplasmique (RE). Nous avons récemment établi que le translocon est fonctionnel et présent au sein du RE de cardiomyocytes adultes murins, et que son activation pharmacologique en amont d'un épisode d'I/R diminue la mortalité cellulaire¹².

TRPV1, décrit précédemment, a déjà été utilisé positivement comme cible cardioprotectrice. Néanmoins les données dont nous disposons actuellement nous renseignent sur le rôle de TRPV1 au niveau périphérique et rien n'est clairement établi dans le muscle cardiaque *per se*. Nos travaux montrent que l'absence d'un canal TRPV1 fonctionnel n'affecte pas le phénotype du muscle cardiaque chez les souris mâles adultes (article en préparation). En parallèle, un second travail mené sur une lignée cellulaire de cardiomyoblastes de rats, nous a permis d'établir que TRPV1 est présent dans les MAMs, sa modulation pharmacologique modifie les interactions réticulum-mitochondrie (**MAM: Mitochondria-Associated ER Membrane**) et conditionne ainsi la survie cellulaire lors d'un épisode d'I/R¹³.

Enfin, nous venons de débiter une approche sur des cellules mononuclées du sang de patients humains¹⁴ afin de mieux comprendre les processus inflammatoires concomitants à un infarctus. Plus précisément, mon nouveau

projet de recherche s'intéresse au rôle des **lymphocytes B** (Financement FFC Dotation 2023 et thèse en cours). Les objectifs principaux de ce projet sont de déterminer : (i) si l'activation des lymphocytes B est associée à une augmentation du couplage calcique réticulum-mitochondrie et (ii) si l'altération de ce couplage dans les lymphocytes B constitue une signature de l'évolution post-infarctus.

Bibliographie

1. Treves, S. *et al.* Ryanodine receptor 1 mutations, dysregulation of calcium homeostasis and neuromuscular disorders. *Neuromuscular Disorders* **15**, 577–587 (2005).
2. Ducreux, S. *et al.* Effect of ryanodine receptor mutations on interleukin-6 release and intracellular calcium homeostasis in human myotubes from malignant hyperthermia-susceptible individuals and patients affected by central core disease. *J Biol Chem* **279**, 43838–43846 (2004).
3. Ducreux, S. *et al.* Functional properties of ryanodine receptors carrying three amino acid substitutions identified in patients affected by multi-minicore disease and central core disease, expressed in immortalized lymphocytes. *Biochem J* **395**, 259–266 (2006).
4. Bracci, L. *et al.* Ca²⁺ signaling through ryanodine receptor 1 enhances maturation and activation of human dendritic cells. *Journal of Cell Science* **120**, 2232–2240 (2007).
5. Lotteau, S., Ducreux, S., Romestaing, C., Legrand, C. & Coppenolle, F. V. Characterization of Functional TRPV1 Channels in the Sarcoplasmic Reticulum of Mouse Skeletal Muscle. *PLOS ONE* **8**, e58673 (2013).
6. F, V. A. *et al.* TRPV1 variants impair intracellular Ca(2+) signaling and may confer susceptibility to malignant hyperthermia. *Genet Med* **21**, 441–50 (2019).
7. Tessier, N., Ducrozet, M., Ducreux, S., Faure, J. & Coppenolle, F. V. Pathophysiological Role of Trpv1 In Malignant Hyperthermia: Identification of New Variants. *BJSTR* **12**, 001–003 (2018).
8. Lafoux, A., Lotteau, S., Huchet, C. & Ducreux, S. The Contractile Phenotype of Skeletal Muscle in TRPV1 Knockout Mice Is Gender-Specific and Exercise-Dependent. *Life* **10**, 233 (2020).
9. Bosson, C. *et al.* Variations in the TRPV1 gene are associated to exertional heat stroke. *J Sci Med Sport* **23**, 1021–7 (2020).
10. Gomez, L. *et al.* The SR/ER-mitochondria calcium crosstalk is regulated by GSK3 β during reperfusion injury. *Cell Death Differ* **23**, 313–322 (2016).
11. Dia, M. *et al.* Reduced reticulum-mitochondria Ca(2+) transfer is an early and reversible trigger of mitochondrial dysfunctions in diabetic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol* **115**, 74 (2020).
12. Al-Mawla, R. *et al.* Acute Induction of Translocon-Mediated Ca²⁺ Leak Protects Cardiomyocytes Against Ischemia/Reperfusion Injury. *Cells* **9**, 1319 (2020).
13. Tessier, N. *et al.* TRPV1 Channels Are New Players in the Reticulum–Mitochondria Ca²⁺ Coupling in a Rat Cardiomyoblast Cell Line. *Cells* **12**, 2322 (2023).
14. Brun, C. *et al.* A bibliometric analysis: Ca²⁺ fluxes and inflammatory phenotyping by flow cytometry in peripheral blood mononuclear cells. *Frontiers in Immunology* **14**, (2023).