

## Résumé

### Etude de la régulation du canal CFTR, impliqué dans la mucoviscidose, par un analogue de la GnRH et le $Mg^{2+}$

La mucoviscidose est la maladie héréditaire autosomique récessive, rare, létale, la plus fréquente dans la population caucasienne. Cette maladie est causée par des mutations du gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) codant la protéine CFTR. Cette protéine est principalement un canal chlorure ( $Cl^-$ ) AMPc-dépendant localisé dans la membrane apicale des cellules épithéliales. La mutation F508del entraîne un défaut de maturation de la protéine qui est retenue dans le réticulum endoplasmique avant d'être dégradée. Cependant, une faible quantité de protéines malformées échappe à ce système de contrôle et parvient à la membrane plasmique.

Des travaux de notre équipe ont montré une augmentation des efflux ioniques dépendants du CFTR dans des lignées cellulaires épithéliales bronchiques (CFBE410), exprimant le CFTR sauvage ou le CFTR muté F508del, après un traitement par une hormone: la gonadolibérine (GnRH, *Gonadotropin releasing hormone*, 1h,  $10^{-9}M$ ). Cette augmentation est vraisemblablement due à un nombre plus important de canaux CFTR à la membrane plasmique.

L'objectif de cette thèse a été de tester un analogue de la GnRH comme modulateur de l'exportation membranaire et/ou de l'activité canal du CFTR muté, sur des cultures primaires de cellules épithéliales nasales humaines homozygotes pour la mutation F508del.

Dans un premier temps, nous avons vérifié la présence du récepteur à la GnRH (R-GnRH) dans notre modèle cellulaire. Puis, nous avons étudié l'effet de l'analogue sur la fonction du CFTR par des techniques d'électrophysiologie. Nous avons observé une augmentation des efflux d'ions  $Cl^-$  médiés par le canal CFTR après un traitement à l'analogue (2h,  $10^{-12}M$ ). Enfin, une étude protéomique nous a permis d'identifier des protéines différemment exprimées après traitement. Certaines protéines mises en évidence pourraient appartenir à des voies de signalisation intracellulaires ayant un rôle dans la régulation de la protéine CFTR et être des cibles thérapeutiques.

Par ailleurs, le canal CFTR est régulé par le  $Mg^{2+}$  intracellulaire ( $[Mg^{2+}]_i$ ). Le canal TRPM7 est le principal régulateur du  $[Mg^{2+}]_i$ . La  $[Mg^{2+}]_i$  a été mesurée et l'expression de TRPM7 vérifiée dans des cellules Hela transfectées avec le CFTR sauvage (wt) ou mutés (G551D et F508del). Nous avons étudié la localisation, la fonction et la régulation de TRPM7 dans nos modèles cellulaires avant de rechercher un possible lien fonctionnel entre le CFTR et TRPM7. Dans les modèles CF, l'expression, la fonction et la localisation du canal TRPM7 sont altérées. Il existerait un lien fonctionnel entre TRPM7 et le CFTR par l'intermédiaire de la diminution du  $[Mg^{2+}]_i$  impliquant TRPM7 dans la physiopathologie de la mucoviscidose.

**Mots clés :** CFTR, Mutation F508del, GnRH, cellules nasales humaines, analogue, R-GnRH,  $Mg^{2+}$ , TRPM7