



**HAL**  
open science

## [Role of P/Q calcium channel in familial hemiplegic migraine]

Norbert Weiss, Elisabeth Tournier-Lasserre, Michel de Waard

► **To cite this version:**

Norbert Weiss, Elisabeth Tournier-Lasserre, Michel de Waard. [Role of P/Q calcium channel in familial hemiplegic migraine]. Médecine/Sciences, 2007, 23 (1), pp.53-63. inserm-00378047

**HAL Id: inserm-00378047**

**<https://inserm.hal.science/inserm-00378047>**

Submitted on 5 May 2009

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **Rôle du canal calcique P/Q dans la migraine hémiplégique familiale**

Norbert Weiss<sup>1</sup>, Elisabeth Tournier-Lasserre<sup>2</sup> et Michel De Waard<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Canaux Calciques, Fonctions et Pathologies, Inserm U607, DRDC, Bâtiment C3, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 09, France ; CEA, Grenoble ; Université Joseph Fourier, Grenoble.

<sup>2</sup> Inserm U740, Faculté de Médecine Lariboisière, 10 avenue de Verdun, 75010 Paris AP-HP, laboratoire de génétique, Hôpital Lariboisière, 2 rue A. Paré, Paris 75010

\* Correspondance à MDW :

Tél. : (33) 4 38 78 68 13

Télécopie : (33) 4 38 78 50 41

Mail : [mdewaard@cea.fr](mailto:mdewaard@cea.fr)

## Chapô

Les canaux calciques dépendants du voltage participent à de nombreuses fonctions cellulaires, où ils jouent un rôle essentiel au niveau du système nerveux central en contrôlant l'excitabilité neuronale et la transmission synaptique. Ces canaux, de part leurs fonctions essentielles, sont à l'origine de nombreuses canalopathies résultant de mutations dans les gènes codant pour leurs différentes sous-unités. Des études génétiques ont ainsi démontré l'implication du gène *CACNA1A* dans la migraine hémiplegique familiale de type 1. Ce gène code pour la sous-unité  $Ca_v2.1$  des canaux calciques de type P/Q, et est le siège de nombreuses mutations. Mais comment différentes mutations ponctuelles conduisent-elles à un phénotype migraineux? La caractérisation fonctionnelle de ces mutations dans différents systèmes d'expression hétérologue, ainsi que *in vivo* chez l'animal, a permis d'apporter une réponse, débouchant sur un modèle moléculaire de physiopathologie de la migraine hémiplegique familiale dans lequel, neurones, astrocytes et circulation sanguine agissent de concert.

## **Abstract**

### **Role of P/Q calcium channel in familial hemiplegic migraine**

Voltage-dependent calcium channels constitute one of the main pathways of calcium entry into neurons. They are the principal actors of synaptic transmission by controlling the release of neurotransmitters. They also contribute to numerous other cell functions, such as gene expression or synaptogenesis. These channels, by their essential cell functions, are at the origin of numerous channelopathies resulting from mutations of the genes encoding their different subunits. Familial Hemiplegic Migraine (FHM) represents one such example of these channelopathies. In this human disease, genetic studies have demonstrated the implication of the *CACNA1A* gene in a type 1 form of FHM. This gene encodes for the Ca<sub>v</sub>2.1 subunit of P/Q calcium channels, and is the target of numerous mutations affecting the properties of channel activity. The question on how discrete mutations of this gene are able to alter the activity of the channel and contribute to the physiopathology of FHM remains an open question. The functional characterization of mutated channels in various heterologous expression systems, as well as *in vivo* in an animal model, provides a molecular model of the physiopathology of FHM in which, neurons, astrocytes and blood circulation act in concert.

La migraine est une affection fréquente dont la prévalence est estimée à environ 10-15%. Cette affection touche plus souvent les femmes que les hommes et débute généralement dans l'enfance ou l'adolescence. Les critères de l'International Headache Society (IHS) distinguent deux formes de migraine, i) la migraine sans aura et ii) la migraine avec aura, l'aura étant définie par les troubles neurologiques, le plus souvent visuels, qui précèdent la céphalée migraineuse. Le déterminisme et les mécanismes physiopathologiques de cette affection sont encore mal compris et font probablement intervenir des facteurs environnementaux et génétiques [1]. La migraine avec et sans aura est considérée comme une affection polygénique multifactorielle. Il existe cependant une forme rare de migraine avec aura, la migraine hémiplésique familiale (MHF), dont le mode de transmission est monogénique, autosomique dominant. Une approche de génétique inverse a permis l'identification des gènes impliqués dans cette forme de migraine. Ainsi, les canaux calciques dépendants du voltage (CCDV) de type P/Q sont apparus être les protagonistes de la MHF de type 1 (MHF-1). Si la recherche et la caractérisation de mutations affectant ce canal ont rapidement fait l'objet de nombreux travaux, ce n'est que récemment que leur implication moléculaire dans un schéma intégré de physiopathologie a réellement émergé. Après avoir fait le point sur la clinique de la MHF, cette synthèse présente l'implication des canaux P/Q dans cette pathologie, depuis l'étude clinique et génétique de familles atteintes de MHF et la mise en évidence du gène codant pour la sous-unité  $Ca_v2.1$  à la caractérisation fonctionnelle de mutations affectant ce canal, débouchant sur un modèle moléculaire à la base de la physiopathologie de cette forme de migraine.

### **Caractéristiques cliniques de la MHF**

La MHF est définie selon les critères de l'IHS comme une forme de migraine avec aura dans laquelle l'aura comporte un certain degré de déficit moteur, ceci chez au moins deux apparentés du premier degré. Le mode de transmission est, dans la plupart des familles, compatible avec un mode autosomique dominant, sans toutefois que ce critère fasse partie des critères de définition de l'IHS (Figure 1). Cette affection débute en général dans l'enfance, et affecte autant les filles que les garçons. La fréquence des crises varie beaucoup d'un patient à l'autre et au cours de la vie chez un même patient. La symptomatologie peut varier d'une crise à l'autre. Les crises sont caractérisées par la présence d'un déficit moteur isolé ou associé à d'autres symptômes de l'aura, hémianopsie, paresthésies et/ou dysphasie. Ces symptômes durent en général de 30 à 60 minutes et sont suivis d'une céphalée de type migraineux qui dure généralement plusieurs heures. Le déficit moteur est toujours réversible en totalité.

Parfois, certaines crises plus sévères peuvent s'accompagner de fièvre, d'une confusion voire même d'un coma. L'imagerie cérébrale à distance de la crise reste quant à elle normale.

Dans certaines familles atteintes de MHF, les patients souffrant de crises de migraine hémiplegique peuvent présenter d'autres troubles cliniques. Dans 20% d'entre elles, les sujets atteints présentent un nystagmus et/ou une ataxie permanente de type cérébelleux. D'autres troubles, paroxystiques ou permanents, ont également été observés tels que crises d'épilepsie, retard mental ou rétinite pigmentaire.

### **Génétique moléculaire de la MHF**

La migraine hémiplegique familiale est une affection autosomique dominante hétérogène génétiquement. Le caractère mendélien (monogénique) de la MHF a permis, grâce à l'utilisation des méthodes de la génétique inverse de localiser puis d'identifier trois des gènes impliqués dans cette affection, *CACNA1A*, *ATP1A2* et *SCN1A* [2-5].

Le premier de ces gènes, *CACNA1A*, localisé sur le chromosome 19, code pour la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 des CCDV de type P/Q. La moitié environ des familles atteintes de MHF à cas multiples sont liées à ce locus ainsi que la totalité des familles dans lesquelles certains patients présentent, en sus de leur phénotype MH, un nystagmus et/ou une ataxie cérébelleuse [6]. A ce jour, 17 mutations dans le gène *CACNA1A* ont été rapportées dont certaines sont récurrentes dans les familles de migraines hémiplegiques (MH) avec ataxie cérébelleuse [1] (Tableau I, Figure 2). Jusqu'à présent, toutes les mutations détectées sont des mutations faux sens, changeant un des acides aminés de la protéine. Aucun autre type de mutation du gène *CACNA1A* n'a été rapporté dans les familles atteintes de MHF.

L'analyse clinique détaillée de plus d'une centaine de sujets porteurs d'une mutation dans le gène *CACNA1A* appartenant à 21 familles non apparentées a permis de mettre en évidence certaines corrélations entre phénotype et nature de la mutation au sein du gène [7]. Les mutations observées dans les familles avec MH isolée sont différentes de celles observées dans les familles de MH associée à une ataxie cérébelleuse. A titre d'exemple, la mutation T666M est associée à une pénétrance plus élevée du phénotype MH et une plus grande fréquence de crises sévères.

### ***CACNA1A*, migraine sans et avec aura et autres affections neurologiques**

Plusieurs études ont été conduites visant à déterminer si le locus ou le gène *CACNA1A* étaient impliqués dans les formes fréquentes de migraine avec ou sans aura. Les résultats de ces études ne sont pas en faveur d'une implication de ce gène. Un criblage de tous les exons

codants du gène *CACNA1A* réalisé récemment chez 25 patients atteints de migraine sans aura et 18 patients atteints de migraine avec aura n'a détecté aucune mutation de ce gène [8]. Il existe donc peu ou pas d'arguments à ce jour en faveur d'une implication du gène *CACNA1A* dans les autres formes de migraine.

En revanche, des mutations de la sous-unité  $Ca_v2.1$ , d'une nature différente de celles observées dans la MHF, ont été détectées dans deux autres affections neurologiques différentes sur le plan clinique, soulevant d'intéressantes questions de physiopathologie [9]. L'ataxie épisodique de type 2 (EA2) est en effet liée essentiellement à des mutations tronquantes de la sous-unité  $Ca_v2.1$  et l'ataxie spinocérébelleuse SCA6 à une amplification du triplet CAG situé dans la partie 3' du gène *CACNA1A* [3, 10].

### **Le canal calcique de type P/Q: de sa fonction à sa structure**

Le canal calcique de type P/Q ( $Ca_v2.1$ ) constitue un membre de la grande famille des CCDV, représentée également par les canaux de type L ( $Ca_v1.1$  à  $Ca_v1.4$ ), N ( $Ca_v2.2$ ), R ( $Ca_v2.3$ ) et T ( $Ca_v3.1$  à  $Ca_v3.3$ ), et dont l'activation fait suite à une modification du potentiel de membrane de la cellule [11]. Bien que très largement présents au niveau du cervelet [12, 13], l'expression des canaux P/Q s'étend également au reste des structures cérébrales incluant celles impliquées dans la physiopathologie de la migraine, à savoir le cortex cérébral, le ganglion trijumeau et le tronc cérébral. De par leur localisation subcellulaire au niveau des terminaisons présynaptiques, les canaux P/Q, en régulant finement l'entrée de calcium dans la cellule nerveuse, jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la libération des neuromédiateurs [14]. Ils représentent une étape clef dans la conversion du message électrique en message chimique, se présentant ainsi comme des acteurs essentiels dans les processus de transmissions synaptiques. Ces canaux sont également présents au niveau somato-dendritique où ils participent à de nombreuses autres fonctions cellulaires telles que l'excitabilité neuronale, l'expression génique ou encore la synaptogénèse. Enfin, ces canaux jouent également un rôle important au niveau des jonctions neuromusculaires en contrôlant la libération d'acétylcholine [15]. Leur implication a été confirmée chez des patients atteints du syndrome de Lambert-Eaton, une maladie auto-immune où la présence élevée d'anticorps dirigés contre les canaux P/Q altère la libération d'acétylcholine, conduisant progressivement à une myopathie [16].

D'un point de vue structural, le canal P/Q se présente sous la forme d'un hétéro-complexe, composé d'une sous-unité principale  $Ca_v2.1$  comportant le pore ionique, centrée autour de sous-unités auxiliaires  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\alpha_2\delta$  [17]. Dans le but de mieux appréhender les effets fonctionnels des mutations MHF-1 affectant les canaux P/Q que nous décrivons par la suite, il

est important de bien comprendre la structure de la sous-unité  $Ca_v2.1$ , ainsi que les déterminants moléculaires majeurs gouvernant ses propriétés biophysiques. Il s'agit d'une protéine membranaire d'environ 2400 acides aminés, pour un poids moléculaire compris entre 250 et 275 KDa (variable suivant les variants d'épissage). En l'absence de donnée cristallographique relative à cette protéine, la topologie membranaire de la sous-unité  $Ca_v2.1$  repose sur les données structurales disponibles pour les canaux potassiques dépendants du voltage [18] dont les comparaisons de séquences suggèrent une grande homologie avec les CCDV. La sous-unité  $Ca_v2.1$  pourrait ainsi s'organiser sous la forme de quatre domaines membranaires, chacun constitués de six segments transmembranaires ou sous-membranaires (S1 à S6). Ces quatre domaines sont liés entre eux par des boucles cytoplasmiques (Figure 2). Les segments S4 sous-membranaires, de par leur composition riche en résidus basiques (positivement chargés) arginines et lysines, constituent le senseur de voltage et seraient à l'origine de la détection des modifications du potentiel de membrane de la cellule à l'origine de l'ouverture du canal. Les boucles extracellulaires et transmembranaires reliant les segments S5 et S6 (boucles P) s'organisent pour former le pore ionique à proprement parler, et déterminent également la sélectivité ionique [19]. Enfin, les boucles cytoplasmiques I-II et III-IV reliant respectivement les domaines I et II et les domaines III et IV constituent quelques uns des éléments importants dans les processus d'inactivation du canal [20, 21]. Ces structures étant impliquées dans le contrôle des propriétés biophysiques du canal, des mutations au sein de l'ensemble de ces déterminants structuraux seraient susceptibles de conduire à une altération de son activité. Ainsi, la recherche et la caractérisation de mutations dans le gène *CACNA1A* représente une étape clef dans la compréhension des mécanismes moléculaires conduisant au développement de la MHF-1.

### **A la recherche de mutations...**

Depuis l'identification en 1996 du gène *CACNA1A* comme premier gène responsable de la MHF [3], 17 mutations portées par ce gène ont été identifiées (Tableau I). Ces mutations se répartissent sur l'ensemble des quatre domaines membranaires de la sous-unité  $Ca_v2.1$ , certaines affectant des structures importantes comme le senseur de voltage ou le pore ionique (Figure 2). Il s'agit exclusivement de mutations ponctuelles faux sens, conduisant à la substitution d'un acide aminé par un autre. La comparaison des séquences protéiques des sous-unités  $Ca_v$  des différents CCDV et des sous-unités  $Na_v$  des canaux sodiques neuronaux dépendants du voltage ( $Na_v1.1$ ,  $Na_v1.2$ ,  $Na_v1.3$ ,  $Na_v1.6$ ) [22] révèle que ces mutations affectent des acides aminés hautement conservés au niveau de leur identité ou de leur



homologie, suggérant que ces acides aminés représentent des éléments déterminants nécessaires au bon fonctionnement des canaux ioniques (Figure 3). Dans l'espoir de mieux comprendre les conséquences fonctionnelles de ces mutations, onze d'entre elles ont été caractérisées au niveau fonctionnel par réexpression des sous-unités  $Ca_v2.1$  porteuses des mutations MHF-1 dans différents systèmes d'expression hétérologue, tel que l'ovocyte de Xénope, la lignée cellulaire de mammifère HEK293 (Figure 4) ou encore dans des neurones granulaires du cervelet ou d'hippocampe de souris  $Ca_v2.1^{-/-}$  [23-29]. Un certain nombre de caractéristiques biophysiques du canal ont ainsi été étudiés aussi bien au niveau de la cellule entière (voltage dépendance d'activation / inactivation, cinétiques d'activation / inactivation, ...) que du canal unitaire (probabilité d'ouverture et conductance unitaire) (Tableau II). D'une manière générale, la presque totalité de ces mutations (dix des onze caractérisées) confère au canal un déplacement de sa voltage dépendance d'activation vers des potentiels moins dépolarisants, c'est-à-dire une diminution de son seuil d'activation, conduisant à une ouverture facilitée du canal au niveau unitaire, et une augmentation de l'entrée calcique à des potentiels pour lesquels les canaux P/Q sauvages ne sont normalement pas activés. A titre d'exemple, la sous-unité  $Ca_v2.1$  porteuse de la mutation S218L dans la boucle reliant les segments S4 et S5 du premier domaine membranaire, présente un seuil d'activation aux alentours de -50 mV / -60 mV dans les neurones granulaires du cervelet de souris  $Ca_v2.1^{-/-}$ , seuil proche du potentiel de repos de la cellule nerveuse [27]. Cependant, l'explication moléculaire du déplacement de la voltage dépendance d'activation du canal reste difficile à établir. Il est en effet classiquement admis que la sensibilité au voltage des CCDV est conférée par les segments S4. Or, parmi les dix mutations MHF-1 affectant la voltage dépendance d'activation du canal, six d'entre elles ne se situent pas dans les segments S4 ou proche des segments S4 (boucles S3-S4 et boucles S4-S5) (Tableau I, Figure 2). De plus, parmi les quatre mutations localisées dans l'environnement des segments S4 et conduisant à un déplacement de la voltage dépendance d'activation du canal, la mutation R583Q conduit à une perte de charge positive, la mutation K1336E conduit au gain d'une charge négative et la mutation S218L n'entraîne pas de modification de charge. Ainsi, l'effet fonctionnel de ces mutations se révèle être à l'opposé de ce que l'on pourrait attendre d'un point de vue purement théorique. Inversement, la mutation R192Q, portée par le segment S4 du premier domaine membranaire, conduit à une perte de charge positive sans pour autant altérer la voltage dépendance d'activation du canal étudiée dans l'ovocyte de Xénope (Tableau II). Ces données suggèrent que les effets fonctionnels de certaines mutations MHF-1 ne passent pas directement par une altération de la sous-unité  $Ca_v2.1$  elle-même, mais peut être par une altération de sa régulation par d'autres partenaires

moléculaires. En revanche, les mutations T666M et V1457L, portées par les boucles P des second et troisième domaines membranaires, confèrent au canal un déplacement du potentiel d'inversion du calcium témoignant d'une altération de la sélectivité ionique dont elles sont responsables (Tableau II).

Bien que l'ensemble des mutations fonctionnellement caractérisées altèrent au moins une des caractéristiques biophysiques du canal, force est de constater que ces altérations dépendent de la mutation considérée, du type cellulaire dans lequel la caractérisation est réalisée, mais également des différentes sous-unités régulatrices du canal présentes. Ainsi, l'expression fonctionnelle de certaines mutations semble dépendre très largement de l'isoforme de la sous-unité  $\beta$ . A titre d'exemple, l'altération de la cinétique d'inactivation du canal engendrée par la mutation V1696I (Tableau II) portée par le segment S5 du quatrième domaine membranaire, se manifeste uniquement en présence des sous-unités  $\beta_1$  ou  $\beta_3$ , mais pas en présence de la sous-unité  $\beta_4$  [28]. Sachant que la sous-unité  $\beta_4$  est la sous-unité  $\beta$  préférentiellement associée aux canaux P/Q, du moins *in vivo* dans le cervelet [30], il est important de considérer avec prudence le phénotype engendré par ces mutations caractérisées *in vitro* en système d'expression hétérologue. Une alternative consiste à réintroduire *in vivo* chez l'animal le gène *CACNA1A* porteur de mutations MHF-1 (Knock In). Cette technique, bien que nécessitant un travail considérable, présente l'avantage indéniable de replacer la sous-unité  $Ca_v2.1$  mutée dans un environnement intact, en présence de l'ensemble de ses partenaires moléculaires. Ce travail a été réalisé très récemment chez la souris avec le Knock In de la mutation R192Q portée par le segment S4 du premier domaine membranaire [31]. Ces animaux présentent un gain de fonction, caractérisé par i) une augmentation de la densité de courant portée par les canaux P/Q dans les cellules granulaires du cervelet, ii) une augmentation de la neurotransmission au niveau des jonctions neuromusculaires, iii) un déplacement de la voltage dépendance d'activation des canaux P/Q vers des potentiels moins dépolarisants à l'origine d'une diminution du seuil d'excitabilité des neurones corticaux. A noter que cette mutation, initialement caractérisée *in vitro* en système d'expression hétérologue en présence des sous-unités régulatrices  $\beta_{1b}$  et  $\alpha_2\delta$ , n'altère pas la voltage dépendance d'activation du canal, confirmant l'idée que l'expression fonctionnelle des mutations MHF-1 passe très probablement par une altération des régulations de la sous-unité  $Ca_v2.1$ , plus que par une altération intrinsèque du canal calcique lui-même.

Une des régulations majeures des canaux P/Q au niveau présynaptique met en jeu l'activation de récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques [32]. Cette régulation mobilise le

dimère  $G_{\beta\gamma}$  dont la fixation directe sur la sous-unité  $Ca_v2.1$  est à l'origine d'une inhibition du courant calcique porté par ces canaux, permettant ainsi de diminuer l'activité synaptique. Ainsi, la mutation R192Q semble s'opposer à l'inhibition des canaux P/Q par les protéines G [33]. L'inhibition des CCDV par les protéines G étant levée par le décrochage du dimère  $G_{\beta\gamma}$  en réponse à l'ouverture du canal, l'augmentation de la probabilité d'ouverture du canal engendrée la mutation R192Q (Tableau I) est très certainement à l'origine de l'altération de cette régulation. La majorité des mutations MHF-1 modifiant la voltage dépendance de l'activation des canaux P/Q, leur caractérisation systématique dans le contexte de leur régulation par les protéines G hétérotrimériques devrait apporter des informations importantes dans la compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine de la MHF.

### **Des mutations à la compréhension de la physiopathologie de la MHF**

Bien que la recherche systématique de mutations et leur caractérisation fonctionnelle constituent des informations importantes pour la compréhension des mécanismes moléculaires conduisant aux symptômes migraineux, force est de constater que pour l'heure, l'origine de la maladie reste mal comprise. S'il est maintenant admis que la crise migraineuse résulte d'un dysfonctionnement d'une région du cerveau conduisant à l'activation des voies nociceptives trigéminales (pour une revue relative à la douleur trigéminal voir [34]), l'une des questions majeures en suspens est de comprendre la nature des mécanismes moléculaires à la base de l'activation du système trigéminal. La théorie de la dépression corticale (CSD de l'anglais Cortical Spreading Depression) est pour l'heure l'explication la plus rationnelle. Il s'agit d'un phénomène électrophysiologique observé pour la première fois dans le cortex cérébral de lapin par Leao dans les années quarante. Il se caractérise par une phase d'hyperactivité neuronale se propageant lentement à la surface du cortex cérébral (2 à 6 mm/min), suivie d'une longue phase de silence électrique (dépression) des neurones impliqués, ces deux événements étant associés respectivement à une augmentation puis une diminution locale du flux sanguin cérébral [35]. Sur la base de perturbations similaires du flux sanguin cérébral observées chez des patients souffrant de migraine avec aura, la théorie de la dépression corticale a été proposée comme étant à l'origine des migraines avec aura. De plus, des perturbations de l'activité électrique neuronale observées chez l'homme et consistantes avec la théorie CSD [36], ainsi que l'étude de modèles animaux, ont définitivement confirmé l'idée que la dépression corticale était capable d'activer le système trigéminal, pouvant ainsi être à l'origine du déclenchement des symptômes migraineux [37]. Dans ce contexte, les altérations biophysiques des canaux P/Q engendrées par les mutations MHF-1 prennent toute leur

importance. En effet, ces mutations, en diminuant le seuil d'activation des canaux P/Q, conduisent à une diminution du seuil d'excitabilité cellulaire pouvant être à l'origine de l'initiation du phénomène CSD et de la phase d'hyperactivité neuronale (Figure 5).

De plus, bien que les canaux P/Q représentent les canaux caractéristiques de la MHF-1, ils ne sont pas les seuls canaux ioniques associés aux MHF. Des mutations ont également été identifiées dans le gène *ATPIA2* codant pour la sous-unité  $\alpha_2$  de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase et sont caractéristiques de la MHF de type 2. A l'âge adulte, cette pompe est exprimée de manière constitutive par les cellules astrocytaires où elle est à l'origine du gradient électrochimique  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  par hydrolyse de l'ATP. Les mutations relevées dans le gène *ATPIA2* sont également des mutations faux sens (très rarement des mutations non sens), mais contrairement aux mutations relevées dans le gène *CACNA1A*, ces mutations conduisent à une perte de fonction de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. L'implication moléculaire de cette protéine dans la CSD a également été proposée sur la base d'un modèle de coopérativité entre cellule neuronale, cellule astrocytaire et circulation sanguine [38]. Le glutamate (neuromédiateur excitateur) libéré par les neurones présynaptiques des synapses excitatrices du système nerveux central est recapté par la cellule astrocytaire environnante, contribuant d'une part à la terminaison du signal, et d'autre part au recyclage du glutamate qui sera redistribué au neurone présynaptique afin de recharger les vésicules en neuromédiateurs. La recapture du glutamate par la cellule astrocytaire étant tributaire du gradient électrochimique de  $\text{Na}^+$ . Ainsi, toute perturbation de ce gradient conduit inévitablement à une altération de la recapture du neuromédiateur. Les mutations MHF-2, à l'origine d'une perte d'activité de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, altèrent le gradient électrochimique de  $\text{Na}^+$  et aboutissent par voie de conséquence à une diminution de la recapture du glutamate. Les terminaisons présynaptiques se trouvent alors déplétées en glutamate conduisant à une phase d'inactivité neuronale observée dans le phénomène de CSD (Figure 5).

Enfin, très récemment, une mutation dans le gène *SCN1A* a été relevée dans trois familles présentant des cas de MHF [5]. Ce gène code pour la sous-unité  $\text{Na}_v1.1$  des canaux sodiques neuronaux dépendants du voltage dont la structure membranaire est similaire à celle des CCDV. Il s'agit d'une mutation faux sens (Q1489K) dans la boucle cytoplasmique reliant les domaines membranaires III et IV. Bien que l'activité du canal sodique ne semble être que très faiblement affectée en système d'expression hétérologue, il n'est pas exclu que cette mutation puisse modifier les propriétés biophysiques du canal dans d'autres environnements moléculaires. Les canaux sodiques dépendants du voltage, en étant à l'origine de l'excitabilité

membranaire et de la propagation du message nerveux, pourraient donc également participer au phénomène de CSD, leur implication directe restant à être démontrée.

### **Conclusion**

Pour l'heure, différentes mutations ont été identifiées dans les gènes *CACNA1A* et *ATP1A2* et associées à des formes familiales de migraine hémiplégique. La caractérisation fonctionnelle de ces mutations *in vitro* et *in vivo* chez l'animal a définitivement fait de la MHF une canalopathie d'origine synaptique. Ainsi, la diminution du seuil d'activation des canaux P/Q ainsi que l'altération de l'activité de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase engendrée par ces mutations apparaissent être les éléments moléculaires à l'origine de l'initiation du phénomène de CSD. Ceci permet de proposer un schéma séduisant de physiopathologie de la migraine hémiplégique familiale. En revanche, à ce jour, aucune mutation dans le gène *CACNA1A* ni dans le gène *ATP1A2* n'a été détectée dans les formes fréquentes de migraine non hémiplégique. Les gènes impliqués dans ces formes fréquentes de migraine avec et sans aura restent pour l'instant inconnus. Bien qu'une dizaine de loci ait été rapportée dans des études pan-génomique ou ciblées, aucun n'a été confirmé pour l'instant.

## Légendes des figures

**Figure 1.** *Arbre généalogique d'une famille atteinte de migraine hémiplégique familiale.* Les hommes sont représentés par des carrés, les femmes par des cercles. Les sujets malades sont indiqués par des symboles pleins, les sujets sains par des symboles vides. Le mode de transmission observé est typiquement autosomique dominant.

**Figure 2.** *Topologie membranaire présumée de la sous-unité  $Ca_v2.1$  des canaux P/Q et ses mutations MHF-1 associées.* Sur la base des données cristallographiques relatives à la structure des canaux potassiques dépendants du voltage [18], la sous-unité  $Ca_v2.1$  des canaux P/Q pourrait se présenter sous la forme de quatre domaines membranaires chacun constitués de six segments transmembranaires ou sous membranaires (S1 à S6). Ces quatre domaines sont reliés entre eux par des boucles cytoplasmiques I-II, II-III et III-IV reliant respectivement les domaines I et II, II et III, et III et IV. Les boucles cytoplasmiques extracellulaires et transmembranaires reliant les segments S5 et S6 (boucles P, en violet) s'organisent pour former le pore ionique tout en étant responsables de la sélectivité pour le calcium. Les segments S4, de par leur composition riche en acides aminés basiques arginine et lysine, forment le senseur de voltage conférant au canal ses propriétés de voltage dépendance. Le domaine AID (de l'anglais Alpha Interaction Domain) localisé sur la boucle cytoplasmique I-II (bleu) constitue un des sites majeurs d'interaction avec la sous-unité  $\beta$  régulatrice. Sont également représentés les différents sites d'interaction du dimère  $G_{\beta\gamma}$  (en rouge). Ces sites sont au nombre de cinq et sont localisés dans la partie N-terminale (Nt), au sein de la boucle I-II (QXXER et GID) ainsi que dans la partie C-terminale du canal (Ct). Enfin sont localisées les différentes mutations humaines (GenBank  $\mathcal{N}^{\circ}$  X99897) associées à la MHF-1. Les cercles rouges représentent les mutations donnant lieu à un phénotype purement MH, alors que les cercles jaunes représentent les mutations donnant lieu à un phénotype MH associé à des signes d'ataxie cérébelleuse.

Abréviations: AID, Alpha Interaction Domain; GID, G-protein Interaction Domain; MP, membrane plasmique;  $NH_2$ , extrémité amino-terminale ;  $COOH$ , extrémité carboxy-terminale; A, alanine; C, cystéine; D, acide aspartique; E, acide glutamique; I, isoleucine; K, lysine; L, leucine; M, méthionine; P, proline; Q, glutamine; R, arginine; S, sérine; T, thréonine; V, valine; W, tryptophane; Y, tyrosine.

**Figure 3.** Analyse comparative des séquences protéiques des canaux calciques et sodiques des régions affectées par les mutations MHF-1. Comparaison de la séquence protéique humaine de la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 (canaux P/Q) des régions porteuses des mutations MHF-1 avec les séquences protéiques humaines des autres canaux calciques dépendants du voltage à haut seuil d'activation (HVA) Ca<sub>v</sub>2.2 (canaux N), Ca<sub>v</sub>2.3 (canaux R) et Ca<sub>v</sub>1.1 à Ca<sub>v</sub>1.4 (canaux L) et à bas seuil d'activation (LVA) Ca<sub>v</sub>3.1 à Ca<sub>v</sub>3.3 (canaux T), ainsi qu'avec les séquences protéiques humaines des canaux sodiques neuronaux voltages dépendants Na<sub>v</sub>1.1, Na<sub>v</sub>1.2, Na<sub>v</sub>1.3 et Na<sub>v</sub>1.6. Les acides aminés mutés dans la MHF-1 sont indiqués en rouge sur la séquence de la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1. Le sur-lignage rouge sur les séquences comparatives indique une conservation d'identité de l'acide aminé, le sur-lignage violet indiquant une conservation d'homologie. Séquences GenBank relatives: Ca<sub>v</sub>2.2 (M94172), Ca<sub>v</sub>2.3 (NM000721), Ca<sub>v</sub>1.1 (NM000069), Ca<sub>v</sub>1.2 (NM000719), Ca<sub>v</sub>1.3 (NM000720), Ca<sub>v</sub>1.4 (AF201304), Ca<sub>v</sub>3.1 (AF134986), Ca<sub>v</sub>3.2 (AF051946), Ca<sub>v</sub>3.3 (AF129133), Na<sub>v</sub>1.1 (AF225985), Na<sub>v</sub>1.2 (NM021007), Na<sub>v</sub>1.3 (NM006922), Na<sub>v</sub>1.6 (AF225988).

**Figure 4.** Exemple des altérations biophysiques de la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 engendrées par la mutation S218L. A. Représentation schématique du protocole expérimental permettant la caractérisation fonctionnelle des mutations MHF-1. L'ADN complémentaire (ADNc) codant pour la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 et portant la mutation à étudier est co-transfecté dans des cellules de mammifères HEK293 (ne présentant pas de CCDV endogène) en présence des ADNc codants pour les sous-unités régulatrices β et α<sub>2</sub>δ, la protéine fluorescente verte GFP (de l'anglais Green Fluorescent Protein) servant de marqueur de transfection. Les courants calciques sont ensuite enregistrés trois jours après la transfection par la technique du patch clamp en configuration "cellule entière" permettant d'enregistrer l'activité de l'ensemble des canaux calciques présents à la surface de la cellule. B.a) Exemple de traces de courants obtenues par dépolarisation de la membrane de -50 mV à +70 mV à partir d'un potentiel de repos de -90 mV. A noter l'altération des cinétiques d'inactivation due à la présence de la mutation S218L. B.b) Représentation graphique normalisée du courant maximum obtenu en fonction de la dépolarisation appliquée (courbe I-V), témoignant du déplacement de la voltage dépendance d'activation engendrée par la mutation S218L.

**Figure 5.** Modèle intégré de l'implication des mutations MHF-1 et MHF-2 à l'origine du phénomène de CSD. La sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 (en vert) des canaux calciques de type P/Q (MHF-1) ainsi que la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (MHF-2) (en bleu) sont exprimés respectivement par

les terminaisons présynaptiques des synapses excitatrices glutamatergiques du système nerveux central et par les cellules astrocytaires. L'ouverture des canaux P/Q en réponse à la dépolarisation membranaire engendrée par l'arrivée d'un potentiel d'action permet l'entrée de calcium dans la terminaison présynaptique conduisant à la fusion des vésicules synaptiques et la libération de glutamate dans l'espace synaptique. Le glutamate permet alors la transmission de l'influx nerveux au neurone postsynaptique via l'activation des récepteurs NMDA (en gris) présents à sa surface. La terminaison du signal s'opère en partie par la recapture du glutamate présent dans l'espace synaptique par la cellule astrocytaire via un transporteur de glutamate (en orange) mettant en jeu le gradient de sodium. Ce gradient est maintenu par la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase qui extrude trois ions sodium du milieu cytoplasmique en échange de deux ions potassium. Le glutamate ainsi recapté est ensuite métabolisé et recyclé vers le neurone présynaptique où il servira à réapprovisionner les vésicules de neuromédiateurs. Par ailleurs, la cellule astrocytaire représente un intermédiaire entre la circulation sanguine cérébrale et la cellule nerveuse, permettant ainsi son approvisionnement énergétique. Les mutations "gain de fonction" affectant la sous-unité  $\text{Ca}_v2.1$ , en diminuant le seuil d'activation des canaux P/Q, conduisent à une hyperexcitabilité neuronale à l'origine d'une augmentation de la sécrétion de glutamate et d'une hyperactivité synaptique. De plus, les mutations "perte de fonction" affectant la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase conduisent à une diminution de l'activité de cette pompe et du gradient électrochimique de sodium, à l'origine d'une diminution de la recapture du glutamate par la cellule astrocytaire et de son recyclage. Dans ces conditions, suite à une période d'hyperactivité synaptique où les besoins énergétiques du neurone sont accrus, suit une période d'inactivité (dépression) par épuisement des vésicules présynaptiques en glutamate à l'origine du phénomène de dépression corticale (CSD). Adapté de [38].

Abréviations: PA, potentiel d'action; Glu, glutamate; Gln, glutamine; NMDA, N-Méthyl-D-Aspartate; PPS, potentiel postsynaptique.



## Glossaire

**Densité de courant max. (% ctr):** La densité de courant maximale représente le courant total maximal enregistrable sur une cellule. Elle dépend de différents facteurs tels que le nombre de canaux fonctionnels présents à la membrane plasmique ou de la probabilité d'ouverture du canal, et de ce fait ne représente qu'un indice de la quantité de calcium capable d'entrer dans la cellule en réponse à une dépolarisation membranaire. Elle est exprimée ici en pourcentage de la densité maximale de courant enregistrée pour la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 sauvage.

**Shift V<sub>1/2</sub> activ.:** Le potentiel de demi-activation représente le potentiel de membrane pour lequel la moitié des canaux présents sont activés. Un déplacement de ce potentiel vers des valeurs plus dépolarisantes ou moins dépolarisantes témoigne respectivement d'une diminution ou d'une augmentation de la sensibilité du canal au voltage. Il est exprimé ici en mV par rapport à la valeur mesurée pour la sous-unité Ca<sub>v</sub>2.1 sauvage.

**τ activ.:** La constante de temps d'activation d'un canal ionique représente la cinétique suivant laquelle un canal va passer de son état fermé (non conducteur mais activable) à son état ouvert (conducteur).

**Shift E:** E représente le potentiel d'inversion d'un ion donné, c'est-à-dire le potentiel de membrane (en mV) pour lequel le flux ionique net est nul. Un déplacement (shift) de ce potentiel est le signe d'une altération de la sélectivité ionique du canal pour cet ion.

**τ inac.:** La constante de temps d'inactivation d'un canal ionique représente la cinétique suivant laquelle un canal va passer de son état ouvert (conducteur) à un état inactivé (non conducteur et non activable).

**Inac. à 1Hz:** L'inactivation à 1Hz représente un index de l'inactivation des canaux en réponse à un train de dépolarisation membranaire de type potentiels d'action.

**τ dé-inac.:** La constante de temps de dé-inactivation d'un canal ionique représente la cinétique suivant laquelle un canal va passer d'un état inactivé (non conducteur et non activable) à son état fermé (non conducteur mais activable).

**Conductance:** La conductance d'un canal ionique (exprimée en pico Siemens, pS) caractérise la facilité avec laquelle les ions traversent le pore aqueux de la protéine canal: c'est l'inverse de la résistance.

**Proba. ouverture:** La probabilité d'ouverture d'un canal ionique (entre 0 et 1) représente les chances de trouver le canal dans son état ouvert en réponse à une dépolarisation membranaire.

Elle est exprimée ici en pourcentage de la probabilité d'ouverture de la sous-unité  $Ca_v2.1$  sauvage.

## Bibliographie

1. Ducros A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. The genetics of migraine. *Lancet Neurol* 2002; 1: 285-93.
2. Joutel A, Bousser MG, Biousse V, et al. A gene for familial hemiplegic migraine maps to chromosome 19. *Nat Genet* 1993; 5: 40-5.
3. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996; 87: 543-52.
4. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 2003; 33: 192-6.
5. Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, et al. Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 2005; 366: 371-7.
6. Joutel A, Ducros A, Vahedi K, et al. Genetic heterogeneity of familial hemiplegic migraine. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 1166-72.
7. Ducros A, Denier C, Joutel A, et al. The clinical spectrum of familial hemiplegic migraine associated with mutations in a neuronal calcium channel. *N Engl J Med* 2001; 345: 17-24.
8. Jen JC, Kim GW, Dudding KA, Baloh RW. No mutations in CACNA1A and ATP1A2 in probands with common types of migraine. *Arch Neurol* 2004; 61: 926-8.
9. Pietrobon D. Function and dysfunction of synaptic calcium channels: insights from mouse models. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15: 257-65.
10. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997; 15: 62-9.
11. Ertel EA, Campbell KP, Harpold MM, et al. Nomenclature of voltage-gated calcium channels. *Neuron* 2000; 25: 533-5.
12. Mori Y, Friedrich T, Kim MS, et al. Primary structure and functional expression from complementary DNA of a brain calcium channel. *Nature* 1991; 350: 398-402.
13. Starr TV, Prystay W, Snutch TP. Primary structure of a calcium channel that is highly expressed in the rat cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 5621-5.
14. Meir A, Ginsburg S, Butkevich A, et al. Ion channels in presynaptic nerve terminals and control of transmitter release. *Physiol Rev* 1999; 79: 1019-88.
15. Sugiura Y, Woppmann A, Miljanich GP, Ko CP. A novel omega-conopeptide for the presynaptic localization of calcium channels at the mammalian neuromuscular junction. *J Neurocytol* 1995; 24: 15-27.
16. Lennon VA, Kryzer TJ, Griesmann GE, et al. Calcium-channel antibodies in the Lambert-Eaton syndrome and other paraneoplastic syndromes. *N Engl J Med* 1995; 332: 1467-74.
17. Walker D, De Waard M. Subunit interaction sites in voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels: role in channel function. *Trends Neurosci* 1998; 21: 148-54.
18. Jiang Y, Lee A, Chen J, et al. X-ray structure of a voltage-dependent K<sup>+</sup> channel. *Nature* 2003; 423: 33-41.
19. Heinemann SH, Terlau H, Stuhmer W, et al. Calcium channel characteristics conferred on the sodium channel by single mutations. *Nature* 1992; 356: 441-3.
20. Stotz SC, Zamponi GW. Structural determinants of fast inactivation of high voltage-activated Ca(2+) channels. *Trends Neurosci* 2001; 24: 176-81.

21. Sandoz G, Lopez-Gonzalez I, Stamboulian S, et al. Repositioning of charged I-II loop amino acid residues within the electric field by beta subunit as a novel working hypothesis for the control of fast P/Q calcium channel inactivation. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 1759-72.
22. Goldin AL, Barchi RL, Caldwell JH, et al. Nomenclature of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000; 28: 365-8.
23. Kraus RL, Sinnegger MJ, Glossmann H, et al. Familial hemiplegic migraine mutations change alpha1A Ca<sup>2+</sup> channel kinetics. *J Biol Chem* 1998; 273: 5586-90.
24. Kraus RL, Sinnegger MJ, Koschak A, et al. Three new familial hemiplegic migraine mutants affect P/Q-type Ca(2+) channel kinetics. *J Biol Chem* 2000; 275: 9239-43.
25. Hans M, Luvisetto S, Williams ME, et al. Functional consequences of mutations in the human alpha1A calcium channel subunit linked to familial hemiplegic migraine. *J Neurosci* 1999; 19: 1610-9.
26. Tottene A, Fellin T, Pagnutti S, et al. Familial hemiplegic migraine mutations increase Ca(2+) influx through single human CaV2.1 channels and decrease maximal CaV2.1 current density in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 13284-9.
27. Tottene A, Pivotto F, Fellin T, et al. Specific kinetic alterations of human CaV2.1 calcium channels produced by mutation S218L causing familial hemiplegic migraine and delayed cerebral edema and coma after minor head trauma. *J Biol Chem* 2005; 280: 17678-86.
28. Mullner C, Broos LA, van den Maagdenberg AM, Striessnig J. Familial hemiplegic migraine type 1 mutations K1336E, W1684R, and V1696I alter Cav2.1 Ca<sup>2+</sup> channel gating: evidence for beta-subunit isoform-specific effects. *J Biol Chem* 2004; 279: 51844-50.
29. Cao YQ, Tsien RW. Effects of familial hemiplegic migraine type 1 mutations on neuronal P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channel activity and inhibitory synaptic transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 2590-5.
30. Ludwig A, Flockerzi V, Hofmann F. Regional expression and cellular localization of the alpha1 and beta subunit of high voltage-activated calcium channels in rat brain. *J Neurosci* 1997; 17: 1339-49.
31. van den Maagdenberg AM, Pietrobon D, Pizzorusso T, et al. A Cacna1a knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron* 2004; 41: 701-10.
32. De Waard M, Hering J, Weiss N, Feltz A. How do G proteins directly control neuronal Ca(2+) channel function? *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 427-36.
33. Melliti K, Grabner M, Seabrook GR. The familial hemiplegic migraine mutation R192Q reduces G-protein-mediated inhibition of P/Q-type (Ca(V)2.1) calcium channels expressed in human embryonic kidney cells. *J Physiol* 2003; 546: 337-47.
34. Dallel R, Villanueva L, Woda A, Voisin D. [Neurobiology of trigeminal pain]. *Med Sci (Paris)* 2003; 19: 567-74.
35. Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain* 1994; 117 ( Pt 1): 199-210.
36. Strong AJ, Fabricius M, Boutelle MG, et al. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain. *Stroke* 2002; 33: 2738-43.
37. Parsons AA. Cortical spreading depression: its role in migraine pathogenesis and possible therapeutic intervention strategies. *Curr Pain Headache Rep* 2004; 8: 410-6.
38. Magistretti PJ, Pellerin L, Rothman DL, Shulman RG. Energy on demand. *Science* 1999; 283: 496-7.

39. Kors EE, Terwindt GM, Vermeulen FL, et al. Delayed cerebral edema and fatal coma after minor head trauma: role of the CACNA1A calcium channel subunit gene and relationship with familial hemiplegic migraine. *Ann Neurol* 2001; 49: 753-60.
40. Battistini S, Stenirri S, Piatti M, et al. A new CACNA1A gene mutation in acetazolamide-responsive familial hemiplegic migraine and ataxia. *Neurology* 1999; 53: 38-43.
41. Alonso I, Barros J, Tuna A, et al. A novel R1347Q mutation in the predicted voltage sensor segment of the P/Q-type calcium-channel alpha-subunit in a family with progressive cerebellar ataxia and hemiplegic migraine. *Clin Genet* 2004; 65: 70-2.
42. Vahedi K, Denier C, Ducros A, et al. CACNA1A gene de novo mutation causing hemiplegic migraine, coma, and cerebellar atrophy. *Neurology* 2000; 55: 1040-2.
43. Carrera P, Piatti M, Stenirri S, et al. Genetic heterogeneity in Italian families with familial hemiplegic migraine. *Neurology* 1999; 53: 26-33.
44. Kors EE, Melberg A, Vanmolkot KR, et al. Childhood epilepsy, familial hemiplegic migraine, cerebellar ataxia, and a new CACNA1A mutation. *Neurology* 2004; 63: 1136-7.

**Tableau I. Localisation et propriétés biochimiques des mutations MHF-1**

Mutation Nucléotides	Localisation sur		Propriété de l'acide aminé		Réf.
	<i>CACNA1A</i>	Ca <sub>v</sub> 2.1	Sauvage	Muté	
<b>R192Q</b> CGA→CAA	Exon 4	I S4	Basique	Polaire	[3]
<b>R195K</b> AGG→AAG	Exon 4	I S4	Basique	Basique	[7]
<b>S218L</b> TCG→TTG	Exon 5	I boucle S4-S5	Polaire	Apolaire (hydrophobe)	[39]
<b>R583Q</b> CGA→CAA	Exon 13	II S4	Basique	Polaire	[40]
<b>T666M</b> ACG→ATG	Exon 16	II boucle P	Polaire	Apolaire (hydrophobe)	[3, 7]
<b>V714A</b> GTG→GCG	Exon 17	II S6	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	[3]
<b>D715E</b> GAC→GAG	Exon 17	II S6	Acide	Acide	[7]
<b>K1336E</b> AAA→GAA	Exon 25	III boucle S3-S4	Basique	Acide	[7]
<b>R1347Q</b> CGA→CAA	Exon 25	III S4	Basique	Polaire	[41]
<b>Y1385C</b> TAC→TGC	Exon 26	III S5	Polaire	Polaire	[42]
<b>V1457L</b> GTG→TTG	Exon 27	III boucle P	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	[43]
<b>R1668W</b> CGG→TGG	Exon 32	IV S4	Basique	Apolaire (hydrophobe)	[7]
<b>L1683P</b> CTN→CCN	Exon 32	IV boucle S4-S5	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	
<b>W1684R</b> TGG→CGG	Exon 32	IV boucle S4-S5	Apolaire (hydrophobe)	Basique	[7]
<b>V1696I</b> GTC→ATC	Exon 33	IV S5	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	[7]
<b>I1710T</b> ATT→ACC	Exon 33	IV S5	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	[44]
<b>I1811L</b> ATC→CTC	Exon 36	IV S6	Apolaire (hydrophobe)	Apolaire (hydrophobe)	[3]

**Tableau II.** Propriétés biophysiques des canaux P/Q porteurs des mutations MHF-1

<b>Mutation MHF</b>	<b>Type cellulaire</b>	<b>Densité de courant max. (% ctr)</b>	<b>Shift <math>V_{1/2}</math> activ. (mV)</b>	<b><math>\tau</math> activ.</b>	<b>Shift E (mV)</b>	<b>Shift <math>V_{1/2}</math> inac (mV)</b>	<b><math>\tau</math> inac. (rapide/lent)</b>	<b>Inac. à 1Hz</b>	<b><math>\tau</math> dé-inac. (rapide/lent)</b>	<b>Conductance (pS)</b>	<b>Proba. ouverture (% ctr)</b>	<b>Réf.</b>
<b>R192Q</b>	Xénope HEK293	193%	=	=	=	=	= / =	=	= / =	=	134%	[23, 25]
<b>S218L</b>	HEK293 Neurones	60%	-10.7	ND	=	=	↓ / ↑	↓	↓	=	=	[27]
<b>R583Q</b>	Xénope	ND	-9.6	ND	=	-7.4	= / =	↑	↑	ND	ND	[24]
<b>T666M</b>	Xénope HEK293	21%	-5.6	=	-15	=	↓ / =	↑	↑ / =	↓	=	[23, 25, 26]
<b>V714A</b>	Xénope HEK293	25%	-9.5	=	=	=	↓ / =	↓	↓ / =	↓	251%	[23, 25]
<b>D715E</b>	Xénope	ND	-16.7	ND	=	-10.2	↓ / ↓	↑	=	ND	ND	[24]
<b>K1336E</b>	Xénope	ND	-7.5	ND	=	=	=	↑	= / =	ND	ND	[28]
<b>V1457L</b>	Xénope HEK293	32%	-12.6	ND	-15	=	= / ↑	=	↑	↓	ND	[24, 26]
<b>W1684R</b>	Xénope	ND	-8.6	ND	=	-7.4	=	↑	= / =	ND	ND	[28]
<b>V1696I</b>	Xénope	ND	-4.0	ND	=	=	↑	↑	↑ / ↑	ND	ND	[28]
<b>I1811L</b>	Xénope HEK293	29%	-5.6	=	=	=	= / =	↓	↓ / =	=	149%	[23, 25]