



HAL
open science

The impact of hypoxia on the ion channels in cystic fibrosis bronchial epithelial cells

K. Pascarel, J. Colas, S. Mirval, F. Becq, C. Vandebrouck

► To cite this version:

K. Pascarel, J. Colas, S. Mirval, F. Becq, C. Vandebrouck. The impact of hypoxia on the ion channels in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Revue des Maladies Respiratoires*, 2023, 40 (3), pp.230-233. <10.1016/j.rmr.2023.01.014>. <hal-04040380>

HAL Id: hal-04040380

<https://hal.science/hal-04040380v1>

Submitted on 31 Mar 2025

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.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC 4.0 - Attribution - Non-commercial use - International License

**Impact de l'hypoxie sur les canaux ioniques dans des cellules épithéliales bronchiques
mucoviscidosiques**

The impact of hypoxia on the ion channels in cystic fibrosis bronchial epithelial cells

K. Pascarel, J. Colas, S. Mirval, F. Becq, C. Vandebrouck

Université de Poitiers, PRÉTI, Poitiers, France

Auteur correspondant

K. Pascarel

Université de Poitiers, PRÉTI, Poitiers, France

khilian.pascarel@univ-poitiers.fr

Reçu le: 05.01.2023

Accepté le: 06.01.2023

Déclaration des liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts

Résumé

La mucoviscidose est une pathologie provoquée par une mutation sur le gène *CFTR* codant pour un canal chlorure. La mutation prépondérante F508del, entraîne l'absence à la surface des cellules épithéliales de la protéine CFTR et par la suite une accumulation du mucus visqueux au niveau des voies aériennes. Dans les stades avancés de cette maladie, une insuffisance respiratoire s'accompagne d'une hypoxie au niveau cellulaire. Notre projet vise à caractériser l'impact de l'hypoxie sur les canaux ioniques ainsi que les voies de signalisation sous-jacentes impliquées mais aussi de tester l'efficacité des traitements actuels de la mucoviscidose dans de telles conditions.

Mots Clés : hypoxie, mucoviscidose, canaux ioniques, calcium, CFTR

The impact of hypoxia on the ion channels in cystic fibrosis bronchial epithelial cells

Abstract

Cystic fibrosis is a disease caused by a mutation on the CFTR gene coding for a chloride channel. The dominant mutation F508del eliminates the CFTR protein at the surface of epithelial cells, causing an accumulation of viscous mucus in the airways. In advanced stages of the disease, respiratory failure is associated with cellular hypoxia. Our project aims not only to describe the impact of hypoxia on ion channels and to highlight the underlying signaling pathways involved, but also to test the effectiveness of current CF treatments under the above-mentioned conditions.

Mots Clés : hypoxia, cystic fibrosis, ion channel, calcium, CFTR

L'hypoxie dans la mucoviscidose

La raison d'être de notre système respiratoire est de fournir à l'organisme l'oxygène (O_2) dont il a besoin pour assurer le métabolisme aérobie de tous les organes du corps, et d'évacuer le dioxyde de carbone (CO_2) généré par ce même métabolisme au niveau des tissus. L'insuffisance respiratoire est l'incapacité du poumon à réaliser l'hématose nécessaire au métabolisme aérobie des tissus (hypoxie). Dans la grande majorité des maladies respiratoires chroniques suffisamment avancées pour provoquer une insuffisance respiratoire, les mécanismes physiopathologiques sous-jacents sont multiples et intriqués.

Plus précisément, dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, des mutations du gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) engendrent une augmentation de la viscosité et une hypersécrétion du mucus, affectant la clairance mucociliaire. Cette altération va engendrer une accumulation du mucus au niveau des bronches, rendant ainsi les échanges gazeux des cellules bronchiques bien moins efficaces. Deux problèmes respiratoires chez les patients atteints de mucoviscidose sont une hypoxie régionale dans la lumière des voies respiratoires due au colmatage obstructif du mucus [1] et une augmentation de la consommation épithéliale d'oxygène très probablement due à une activité élevée des Na^+/K^+ ATPases impliquées dans l'augmentation de l'absorption de Na^+ médiée par le canal ENaC [2,3]. Les deux anomalies peuvent mener à l'hypoxie cellulaire et à la nécrose des cellules épithéliales des voies respiratoires déjà vulnérables [4]. La réponse transcriptionnelle à l'hypoxie a également été largement étudiée *in vivo* et *in vitro*. Le facteur inductible par l'hypoxie (HIF)-1 α joue un rôle essentiel dans la réponse à l'hypoxie, induisant la transcription des protéines (VEGF, i-NOS, HO-1, transferrine...) pour augmenter la disponibilité de l' O_2 . Dans la mucoviscidose, l'absence de la protéine CFTR ou son dysfonctionnement affecte la stabilisation de HIF-1 α (Figure 1).

De plus, lorsque la quantité d'oxygène délivrée aux tissus est insuffisante cela peut conduire à une hypoxémie, induisant la synthèse d'érythropoïétine (EPO) qui augmente la production d'érythrocytes. Cependant, les patients atteints de mucoviscidose souffrent d'anémie et d'hypoxie chronique et ne compensent pas l'état d'hypoxémie par la classique réponse adaptative menant à la synthèse d'EPO. Toutes ces données pathologiques laissent supposer que la protéine CFTR, dont les mutations du gène provoquent la maladie, pourrait être impliquée dans la réponse adaptative à l'hypoxie. Des expériences *in vitro* montrent une expression plus faible de HIF-1 α dans les cellules épithéliales des voies respiratoires hypoxiques par rapport à des témoins sains [5].

Depuis peu, des traitements innovants révolutionnent la vie des patients atteints de la mucoviscidose. Ces médicaments visent à réparer la protéine F508del-CFTR, produit du gène muté, par une combinaison de correcteurs associés à un activateur de cette protéine. Kaftrio[®] (laboratoire Vertex Pharmaceuticals) constitue une véritable révolution thérapeutique par son action spectaculaire et durable pour les patients éligibles (par leurs mutations génétiques), et un bon profil de tolérance. Dans le contexte actuel de disponibilité de ces médicaments, il est nécessaire d'explorer les voies de signalisation impliquées dans l'hypoxie dans des cellules épithéliales mucoviscidosiques traitées avec Kaftrio[®].

Les canaux ioniques des cellules épithéliales mucoviscidosiques et l'hypoxie

L'hypoxie contribue à la diminution de la quantité de CFTR à la surface cellulaire en diminuant la quantité de son ARN_m à l'état d'équilibre et altère donc le transport transépithélial de Cl⁻ [6]. Il a été montré que l'administration d'un traitement pharmacologique (diméthylaloxalylglycine : DMOG ou chlorure de cobalt :CoCl₂) mimant l'hypoxie en accumulant HIF-1 α , ou une culture cellulaire dans une atmosphère ne contenant que 1% d'O₂, induisent une diminution de la quantité d'ARN_m CFTR dans des cellules coliques et pulmonaires [6]. Cette diminution est également observée dans les voies

respiratoires, le système gastro-intestinal et le foie de souris maintenues pendant 7 jours dans un milieu hypoxique. La quantité d'ARN_m CFTR est également diminuée dans les trachées de patients CF avant transplantation, contrairement aux donneurs. Enfin, un stress hypoxique entraîne la fixation du facteur HIF-1 au niveau du promoteur du gène *CFTR*, réprimant ainsi la transcription de ce gène [7].

D'autre part, la protéine CFTR fait partie de complexes protéiques incluant des acteurs de la signalisation calcique. Parmi ces acteurs on trouve les canaux ioniques de la famille des Transient Receptor Potential (TRPs), canaux membranaires aux propriétés diverses (mécanosensibles, implications dans la réponse inflammatoire, sensibilité au froid et à l'oxygène...), eux même impliqués dans une multitude de pathologies respiratoires telles que l'asthme, l'apnée du sommeil ou encore les maladies pulmonaires obstructives chroniques (COPD) [8].

Le calcium est l'un des grands messagers secondaires de nos cellules. Il est impliqué au niveau pulmonaire dans la régulation de multiples processus respiratoires et inflammatoires via la modification de sa concentration intracellulaire. Il existe au sein de la famille des canaux TRPs, plusieurs canaux impliqués directement dans ces processus dont TRPA1 (Transient Receptor Potential Ankyrin 1), particulièrement sensible aux variations tissulaires et du milieu extérieur [9]. Il possède la double propriété d'être à la fois intrinsèquement sensible au taux d'oxygène, qui va réguler sa dégradation et sa localisation cellulaire [10] mais également d'être un gène cible du facteur HIF-1 α qui a la possibilité de se fixer au niveau de son promoteur via les éléments de réponse à l'hypoxie (HRE) [12]. Il est aussi intéressant de noter que TRPA1 et HIF-1 α possèdent dans leurs voies de régulations des acteurs communs tels que le facteur von Hippel-Lindau (VHL) dans un contexte où l'apport en oxygène reste dans des valeurs physiologiques normales. Cela fait de TRPA1 un parfait candidat à suivre d'autant que sa caractérisation au niveau pulmonaire n'est pas encore

parfaitement établie, de surcroît dans le contexte de la mucoviscidose. En effet, il a déjà été montré que la signalisation calcique dans les cellules des patients mucoviscidosiques était dérégulée et que certains des membres de la famille TRP étaient impliqués dans cette modification [12].

Hypothèses de l'impact de l'hypoxie sur les canaux ioniques

Dans le contexte de la mucoviscidose, notre objectif est donc d'explorer les conséquences de l'hypoxie sur la présence et l'activité des canaux CFTR et TRPA1 des cellules épithéliales bronchiques saines et mucoviscidosiques.

Ainsi, nous proposons de mettre en place un modèle de culture cellulaire hypoxique sur lequel nous allons pouvoir identifier les canaux ioniques dont l'activité est modulée ainsi que les voies de signalisation associées à ces modifications. Ces informations pourront nous conduire vers de nouvelles cibles thérapeutiques. D'autres part, nous pourrons tester les effets du médicament Kaftrio[®], modulateurs actuels du CFTR muté, sur les cellules épithéliales cultivées dans un environnement hypoxique. Ceci nous permettra d'évaluer leur efficacité dans ce contexte hypoxique car il reflétera mieux la situation physiopathologique des patients atteints de la mucoviscidose. L'ensemble de ces expérimentations devrait nous permettre de mieux comprendre le fonctionnement des canaux ioniques des cellules épithéliales mucoviscidosiques des voies aériennes dans un contexte d'hypoxie et de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques qu'il faudra moduler en synergie avec les médicaments actuels de la pathologie.

Perspectives

Bien que la prise en charge des personnes atteintes de maladies respiratoires obstructives se soit considérablement améliorée ces dernières années, les protocoles thérapeutiques peuvent

encore être améliorés. En effet, si nous pouvons évaluer les traitements sur un modèle cellulaire *in vitro* qui reflète mieux l'environnement hypoxique des cellules bronchiques des patients, il sera sans doute plus facile d'ajuster les doses des molécules composant le Kaftrio®. De plus, pour la communauté scientifique, l'identification et la caractérisation de canaux ioniques et leur régulation en condition hypoxique vont permettre d'augmenter nos connaissances dans ce domaine. Ainsi nous pouvons identifier de futures cibles potentielles pour améliorer encore la prise en charge des patients.

Enfin pour les entreprises et laboratoires qui développent des molécules thérapeutiques innovantes, le test des nouvelles thérapeutiques sur un modèle de culture de cellules épithéliales bronchiques hypoxiques *in vitro* permettra de déterminer avec plus de précision l'efficacité de ces molécules.

Références

1. Sly PD, Gangell CL, Chen L, Ware RS, Ranganathan S, Mott LS, et al. Risk Factors for Bronchiectasis in Children with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med* 2013;368: 1963–70.
2. Boucher RC, Stutts MJ, Knowles MR, Cantley L, Gatzky JT. Na⁺ transport in cystic fibrosis respiratory epithelia. Abnormal basal rate and response to adenylate cyclase activation. *J Clin Invest* 1986;78: 1245–1252.
3. Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O’Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice. *Nat Med* 2004;10: 487–493.
4. Fritzsche B, Zhou-Suckow Z, Trojanek JB, Schubert SC, Schatterny J, Hirtz S, et al. Hypoxic Epithelial Necrosis Triggers Neutrophilic Inflammation via IL-1 Receptor Signaling in Cystic Fibrosis Lung Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;191: 902–13.
5. Legendre C, Mooij MJ, Adams C, O’Gara F. Impaired expression of hypoxia-inducible factor-1 α in cystic fibrosis airway epithelial cells – A role for HIF-1 in the pathophysiology of CF? *J Cyst Fibros* 2011;10: 286–90.
6. Guimbellot JS, Fortenberry JA, Siegal GP, Moore B, Wen H, Venglarik C, et al. Role of Oxygen Availability in CFTR Expression and Function. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008;39: 514–521.
7. Zheng W, Kuhlicke J, Jäckel K, Eltzschig HK, Singh A, Sjöblöm M, et al. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)-mediated repression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in the intestinal epithelium. *FASEB J* 2009;23: 204–13.
8. Banner KH, Igney F, Poll C. TRP channels: Emerging targets for respiratory disease. *Pharmacol Ther* 2011;130: 371–84.
9. Talavera K, Startek JB, Alvarez-Collazo J, Boonen B, Alpizar YA, Sanchez A, et al. Mammalian Transient Receptor Potential TRPA1 Channels: From Structure to Disease. *Physiol Rev* 2020;100: 725–803.
10. Uchiyama M, Nakao A, Kurita Y, Fukushi I, Takeda K, Numata T, et al. O₂-Dependent Protein Internalization Underlies Astrocytic Sensing of Acute Hypoxia by Restricting Multimodal TRPA1 Channel Responses. *Curr Biol CB* 2020;30: 3378-3396.e7.
11. Hatano N, Itoh Y, Suzuki H, Muraki Y, Hayashi H, Onozaki K, et al. Hypoxia-inducible Factor-1 α (HIF1 α) Switches on Transient Receptor Potential Ankyrin Repeat 1 (TRPA1) Gene Expression via a Hypoxia Response Element-like Motif to Modulate Cytokine Release. *J Biol Chem* 2012;287: 31962–31972.
12. Grebert C, Becq F, Vandebrouck C. Focus on TRP channels in cystic fibrosis. *Cell Calcium* 2019;81: 29–37.

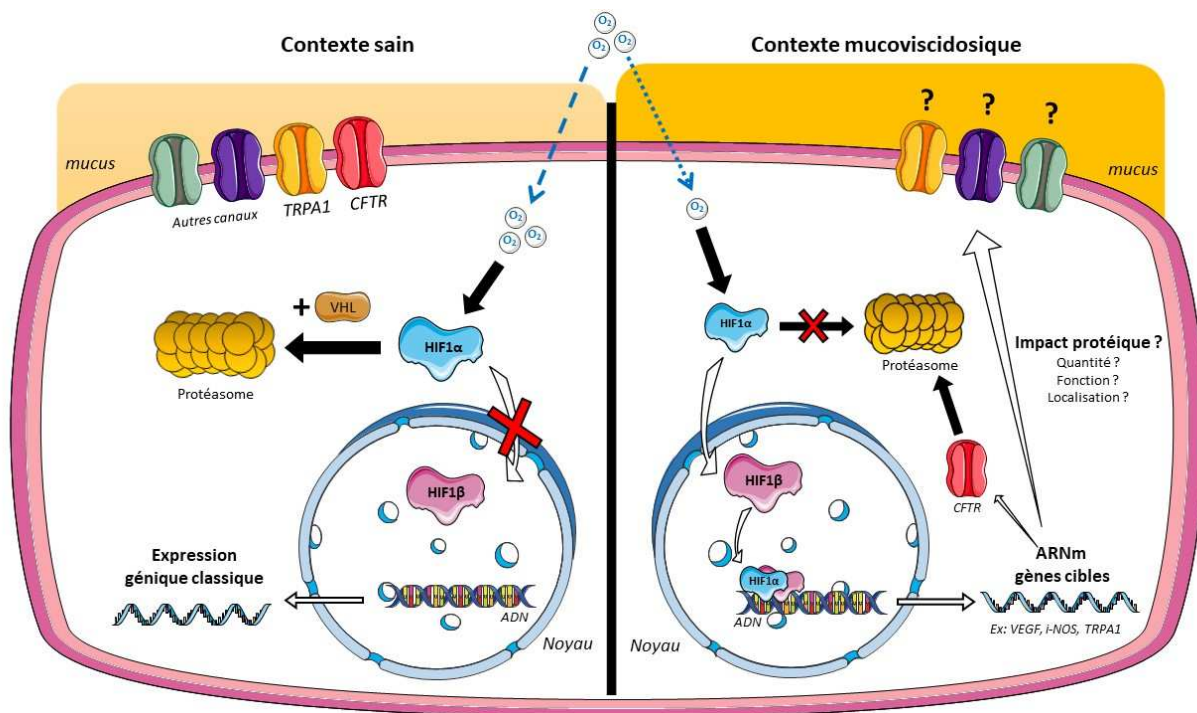


Figure 1 : Impact de la réponse cellulaire à l'hypoxie sur les canaux ioniques des cellules épithéliales pulmonaires.

Dans nos poumons, les cellules de l'épithélium sont protégées par du mucus, qui permet de limiter l'intrusion de pathogènes dans l'organisme sans perturber pour autant les échanges gazeux nécessaire au métabolisme. Sa fluidité et sa composition sont régulées par les canaux ioniques présents à la surface des cellules. L'apport constant d'oxygène au niveau cellulaire entraîne la dégradation protéique en continue d'HIF-1 α , par la voie impliquant le facteur von Hippel-Lindau (VHL) et le protéasome. Celui-ci ne peut donc pas franchir la membrane nucléaire et activer ses gènes cibles. L'expression génique n'est pas modifiée.

Chez les patients atteints par la mucoviscidose, le canal CFTR muté est absent à la membrane plasmique, la composition ionique du mucus est ainsi modifiée, celui-ci devient plus visqueux et difficile à évacuer. La pression partielle en oxygène s'abaisse, et bien que la proportion d'HIF-1 α dans cette situation pathologique soit moindre, il n'est plus soumis à la dégradation. Il est alors libre de s'associer au niveau nucléaire avec HIF-1 β . Ce dimère va cibler les éléments de réponse à l'hypoxie (HRE) situés sur le promoteur de certains gènes et provoquer leurs transcriptions. La cellule va donc répondre au stimulus hypoxique par l'augmentation de la transcription de gènes impliqués dans le métabolisme par exemple.