

Poster P.02.14

REMODELING OF MITOCHONDRIAL FUNCTION AND GENE EXPRESSION IN CORE MYOPATHY PATIENTS

Suman M.^[1], Menegollo M.^[1], Muntoni F.^[2], Duchen M.^[3], Pegoraro E.^[4], Szabadkai G.^[1]

^[1]Department of Biomedical Sciences, University of Padua, 35131 Padua, Italy ~ Padova ~ Italy, ^[2]Institute of Child Health, University College London ~ London ~ United Kingdom, ^[3]University College London, Department of Cell and Developmental Biology ~ London ~ United Kingdom, ^[4]Neuromuscular Unit, Department of Neuroscience, University of Padua ~ Padova ~ Italy

Core myopathies are a group of muscle disorders caused by mutations of the ryanodine receptor (RyR1), the Ca²⁺ release channel of the sarcoplasmic reticulum. These mutations have previously been associated with elevated inositol trisphosphate receptor (IP3R) levels in skeletal muscle myotubes derived from patients. However, the functional relevance and the relationship of IP3R-mediated Ca²⁺ signalling with the pathophysiology of the disease is unclear. It has also been suggested that mitochondrial dysfunction underlies the development of central and diffuse multi-mini-cores, devoid of mitochondrial activity, which is a key pathological consequence of RyR1 mutations. Here we used muscle biopsies of central core and multi-mini-cores disease patients with RyR1 mutations, as well as cellular and in vivo mouse models of the disease to characterize global cellular and mitochondrial Ca²⁺ signalling, mitochondrial function and gene expression associated with the disease. We show that remodelling of Ca²⁺ signalling in response to RyR1 loss or dysfunction causes in patient myotubes compensatory upregulation of IP3Rs, which increases IP3 mediated signalling in the mitochondria and nuclear compartment. Moreover RyR1 loss of function induced by siRNA transfection in C2C12 mouse myotubes increases IP3R expression level, cytosolic and nuclear IP3-mediated Ca²⁺ responses and ATP-induced Ca²⁺ uptake in mitochondria. IP3R mediated altered Ca²⁺ signalling activates mitochondrial biogenesis in both patient and siRNA transfected C2C12 mouse myotubes at protein expression levels and this was reflected in increased mitochondrial DNA content in human biopsies. Finally, RyR1 loss or dysfunction leads in both human and mouse muscle tissues large-scale rearrangement of muscle gene expression, which involves both Ca²⁺ signalling pathways and mitochondrial biogenesis. Altogether, these data indicate that remodelling of skeletal muscle Ca²⁺ signalling following loss of functional RyR1 mediates bioenergetic adaptation (Suman et al., 2018). Further analysis of human samples suggest that the reciprocal regulation of RyR1 and IP3Rs is a wide-ranging phenomenon in core myopathy patients and associates with remodelling of mitochondrial biogenesis, confirming the potential clinical relevance of the data.

Rimodellamento della espressione genica e funzione mitocondriale nelle malattie 'central core' del muscolo scheletrico

La quantità di ioni calcio all'interno della fibra muscolare controlla la forza e la tempistica ottimale della contrazione del muscolo scheletrico. Pertanto, difetti genetici delle molecole che regolano il movimento di questi ioni, i canali ionici, portano alla perdita della funzione e della forza muscolare, sintomi principali di malattie chiamate miopatie. Noi studieremo i meccanismi patologici di base di due particolari miopatie, causate da mutazioni in due geni. Nella miopatia congenita central core, caratterizzata da debolezza muscolare del tronco, un canale chiamato Recettore della Rianodina è difettoso. L'altra patologia che studieremo è caratterizzata dalla mancanza di una proteina, chiamata MICU1, che regola l'apertura di un canale, causando difetti al sistema nervoso che portano ad un alterato controllo dei movimenti volontari (chiamata miopatia con segni extrapiramidali). Un importante indizio per capire come queste mutazioni causino queste patologie viene da nostre osservazioni che

dimostrano come in entrambi i casi l'organello che è la maggiore sorgente di energia per il movimento muscolare, chiamato mitocondrio, risulta difettoso. Infatti, la mancanza di una sorgente energetica corretta porta a ridotta forza muscolare, dolore ed eventualmente danno muscolare, accompagnato infine dalla morte delle cellule nervose.

Il nostro principale obiettivo è di capire i meccanismi attraverso cui difetti negli organelli che producono energia causino un alterato movimento di calcio nella fibra muscolare. Se capiremo questi meccanismi saremo in grado di applicare trattamenti farmacologici o modificazioni genetiche per combattere queste patologie.

Nel lavoro sperimentale utilizzeremo una grande quantità di risorse disponibili nel nostro laboratorio per applicare tecniche avanzate. Questo ci permetterà di studiare una grande gamma di aspetti della malattia, dal meccanismo attraverso cui le cellule si adattano al danno a come degenerano e muoiono. Per condurre i nostri esperimenti useremo sia animali geneticamente modificati sia modelli derivanti da cellule di pazienti su cui applicheremo tecniche di microscopia e biochimica.

Lo studio di questi meccanismi patologici ci aiuterà ad applicare e testare possibili farmaci e i loro bersagli per migliorare e possibilmente curare queste malattie.

1. Suman M, Sharpe JA, Bentham RB, et al. Inositol Trisphosphate Receptor Mediated Ca²⁺ Signalling Stimulates Mitochondrial Function and Gene Expression in Core Myopathy Patients. *Hum Mol Genet.* 2018;0(0):1-16. doi:10.1093/hmg/ddy149

Miopatia congenita central core

Coordinator: Gyorgy Szabadkai

Partner: Anna Raffaello

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2017

Telethon Project (nr):

GGP16026

Disease Name:

Central Core Disease

Keywords:

skeletal muscle, mitochondria, calcium