

Un système génétique et pathologique complexe : le système phosphorylase-phosphorylase kinase

L'ensemble phosphorylase-phosphorylase kinase est responsable du premier temps de la dégradation du glycogène. Celle-ci utilise la voie de la phosphorylase : le dernier glucose des chaînes latérales du glycogène est détaché sous forme de glucose-1-phosphate. Les molécules de glucose sont enlevées une à une sous l'action de la phosphorylase ; quand l'enzyme vient buter sur un point de branchement, celui-ci est scindé par une enzyme débranchante et le processus peut recommencer. Des données récentes ont redonné une actualité nouvelle à la physiologie et à la pathologie de cette phase initiale de la glycogénolyse.

La phosphorylase (Ph) existe sous deux formes : une forme inactive b et une forme active a , dérivant de la première par phosphorylation. La phosphorylase kinase (PhK) est l'enzyme qui catalyse cette phosphorylation. C'est dire que le couple Ph-PhK est fonctionnellement indissociable. On comprend que la symptomatologie des déficits pose parfois des problèmes cliniques difficiles. En revanche, les mécanismes génétiques sont très différents pour les deux types de déficit.

Phosphorylase. La molécule de Ph est homogène, c'est-à-dire que les sous-unités qui la composent (deux, parfois quatre) sont identiques. Elle possède trois isozymes génétiquement différents. La Ph musculaire est connue depuis plus de 50 ans (C et GT Cori). La séquence des 843 acides aminés de l'enzyme de lapin a été analysée dès 1977 ; son mécanisme d'activation requiert la phosphorylation d'une sérine en position 14. Son gène a été cloné en

1985 et localisé chez l'homme sur le chromosome 11 [1]. Le déficit en Ph musculaire est responsable de la maladie de McArdle ou glycogénose de type V. Cette affection, à hérédité autosomique dominante, se manifeste typiquement par des crampes à l'effort, aboutissant à une myolyse parfois révélée par une myoglobinurie ; dans le muscle, indispensable au diagnostic puisqu'il est le seul tissu atteint, on ne trouve le plus souvent pas de protéine immunoréactive. Chez les huit malades dont l'ARN messager musculaire a été examiné, celui-ci était indétectable dans cinq cas, diminué en quantité mais de taille normale chez les trois autres. A notre connaissance, la lésion de l'ADN n'a pas encore été élucidée [2]. La Ph hépatique a été beaucoup plus difficile à préparer que la forme musculaire. La séquence de ses acides aminés a été déduite de son ADNc. Chez l'homme, elle compte 845 acides aminés, avec une homologie de 80 % vis-à-vis de celle du muscle. Le gène de la Ph du foie a été localisée sur le chromosome 14 [3]. Le déficit en phosphorylase hépatique (glycogénose de type VI), marqué par une hépatomégalie de l'enfance assez bien tolérée, avec absence de réponse glycogénolytique au glucagon, est authentique mais rare, le déficit en PhK hépatique qui le simule étant beaucoup plus fréquent. La Ph cérébrale est de connaissance plus récente ; outre le cerveau, elle est présente dans la plupart des tissus fœtaux. Le clonage récent de son ADNc, à partir d'une lignée d'astrocytome humain, a permis d'obtenir la séquence d'une protéine de 862 acides aminés, plus longue que celle des autres isozymes du

fait d'une extension C-terminale. La comparaison avec les autres séquences la montre plus proche de la Ph musculaire que de la Ph hépatique. Le gène de la Ph cérébrale a été localisé sur le chromosome 20, mais une homologie, due peut-être à un pseudogène, a été trouvée sur le chromosome 10 [4]. Aucun déficit en Ph cérébrale n'a été décrit, mais il est probable qu'aucune recherche n'a été dirigée dans cette voie.

Phosphorylase kinase. La PhK forme un système beaucoup plus complexe que la Ph. Cette complexité est double. On connaît en effet des isozymes susceptibles de varier selon les tissus — et le dénombrement n'en est certainement pas achevé —, mais il existe surtout un échafaudage de quatre sous-unités différentes, dont le gène peut être porté par le chromosome X ou par un autosome ; le déficit en une seule de ces sous-unités suffit à entraîner un déficit de l'ensemble par impossibilité de construire une molécule stable.

- *L'édifice de la PhK.* La PhK est formée de quatre sous-unités α , β , γ , δ , sous forme $(\alpha\beta\gamma\delta)^4$, donnant une masse moléculaire totale de $1,3 \times 10^6$ (Tableau I). La sous-unité δ est identique à la calmoduline, protéine ubiquitaire fixatrice du calcium. La sous-unité γ porte l'activité catalytique, tandis que α et β exercent des fonctions régulatrices à travers un système complexe de phosphorylations-déphosphorylations. Chacune des sous-unités a pu voir son gène localisé chez l'homme, tout au moins dans le cas de la PhK musculaire (Tableau I).

- *Les isozymes de la PhK. Génétique et pathologie.* L'existence d'iso-

zymes de la PhK est certaine, bien qu'il reste difficile de les caractériser. Toute une série d'arguments, biochimiques et pathologiques, le suggèrent.

Arguments biochimiques d'abord : les PhK musculaire et hépatique présentent des différences notables dans leurs propriétés cinétiques. Lorsqu'on analyse les sous-unités en fonction de leur localisation tissulaire, la seule donnée certaine porte sur la sous-unité catalytique γ : l'ADNc cloné à partir du muscle strié s'hybride à un messenger correspondant présent dans le muscle et le cœur mais non dans le foie [5]; le gène de la chaîne γ du foie est donc particulier et n'a pas encore été identifié. La chaîne α se présente dans le cœur sous une forme α' légèrement plus petite, mais on ignore si cette différence signifie qu'il existe ou non deux gènes différents. Enfin, récemment a été réalisé le clonage des ADNc des deux grandes sous-unités α et β ; il a permis de localiser les gènes correspondants [6] mais non, jusqu'à présent, de confirmer l'existence de plusieurs isozymes de ces sous-unités que suggèrent les données de la pathologie. Un fait impor-

tant, sur lequel nous reviendrons, est qu'une de ces sous-unités, α , a son gène porté par le chromosome X.

En effet, de nombreuses maladies semblent relever du déficit en PhK et sont difficiles à raccorder entre elles. Chez l'homme, on peut distinguer trois et même peut-être quatre types. Le plus connu est le déficit en PhK hépatique responsable de la glycogénose de type VIII, de gravité modérée; impossible à distinguer cliniquement du déficit en Ph hépatique (type VI), elle est beaucoup plus fréquente. Le diagnostic peut se faire sur les cellules sanguines qui sont atteintes, mais le muscle est presque toujours indemne. Cette forme est transmise comme un caractère récessif lié au sexe. Une forme plus rare, à hérédité récessive autosomique, et qui touche à la fois muscle et foie, a été décrite en 1981, et une autre, purement musculaire, en 1980. Enfin, plus surprenant encore, un type purement cardiaque, comme l'a montré une élévation du glycogène exclusivement localisée au cœur, a fait l'objet de trois publications indépendantes.

Les modèles animaux ne sont pas moins déconcertants : le mieux

connu est le mutant de la souche I, décrit en 1963 par Lyon et Porter. C'est une maladie récessive liée au sexe qui supprime à peu près complètement (< 0,2 %) l'expression de la PhK du muscle sans affecter le foie; le taux dans le cœur est abaissé mais non nul. Le déficit n'est qu'incomplet à la naissance et se complète au cours du premier mois, ce qui suggère que la forme purement cardiaque diffère de la forme musculaire et pourrait être identique à une forme foétale [7]. Tout permet de penser que l'anomalie siège au niveau de la sous-unité α , la seule dont le gène soit sur le chromosome X, mais rien n'a encore été publié à ce sujet. On sait seulement que le messenger de γ est présent, mais ne peut donner naissance à une protéine stable. Curieusement, ces souris déficientes sont cliniquement presque normales. Une autre mutation de la souris, la souche V, et transmise comme un caractère dominant lié à l'X, affecte tous les tissus et comporte la production d'une protéine anormale. Enfin un déficit localisé au foie, à hérédité autosomique récessive, a été décrit chez le rat.

On peut tenter, pour conclure, d'har-

Tableau I

NOMBRE D'ACIDES AMINÉS DES SOUS-UNITÉS ET LOCALISATION DES GÈNES DE Ph ET DE PhK

	Nombre d'acides aminés de la sous-unité	Espèce étudiée	Localisation chromosomique du gène	
			Homme	Souris
<i>Phosphorylase</i>				
Muscle	841	Homme	11q11-q24	19
Foie	845	Homme	14q12-q132	12
Cerveau	862	Homme	20 (homologie sur 10)	2
<i>Ph kinase</i>				
α	1 237	Lapin	Xq12-q13	X
β	1 092	Lapin	16q12-q13	
γ	386	Lapin	7 (homologie sur 11)	
δ	148	Lapin	7 et 14 (calmoduline)	

Les localisations des gènes humains sont tirées de « Human Gene Mapping 10 » [8], celles de la souris sont tirées de [9].

Tableau II

LISTE DES DÉFICITS CONNUS EN PHOSPHORYLASE KINASE ;
ATTRIBUTION HYPOTHÉTIQUE DE L'ANOMALIE A UNE DES SOUS-UNITÉS

Espèce	Nom de la maladie	Organe(s) atteint(s)	Génétique	Sous-unité probablement en cause
Homme	① Glycogénose type VIII	Foie + cellules sanguines	Récessif lié au sexe	α foie
	②	Tous organes	Récessif autosomique	β
	③	Muscle	Récessif autosomique	γ muscle
	④	Cœur seulement	Récessif autosomique	Isozyme cardiaque spécifique ou forme fœtale ?
Souris				
Souche I		Muscle	Récessif lié au sexe	α muscle
Souche V		Muscle	Dominant lié au sexe	α muscle
Rat		Foie	Récessif autosomique	γ foie

moniser les données déjà recueillies, ce qui permettra de souligner les recherches qui restent à faire et de se heurter à certaines contradictions.

Laissant de côté la sous-unité δ , car la calmoduline est ubiquitaire et on n'en connaît pas de déficits, on sait maintenant que deux sous-unités, β et γ , sont portées par des autosomes, et une, α , par l'X; cette dernière donnée, d'acquisition récente, permet de laisser de côté l'hypothèse qui faisait intervenir un ou des gènes régulateurs. Ainsi s'explique, en effet, l'existence de formes liées au sexe, les plus fréquentes. Un problème cependant demeure; les formes liées au sexe atteignent le muscle et épargnent le foie chez la souris I, alors que c'est l'inverse chez l'homme. Il existe probablement un locus spécifique de la sous-unité α du foie et une tâche prioritaire serait de le découvrir. Les formes récessives doivent être dues, lorsqu'elles sont autosomiques, à un déficit en β ou γ . Comme nous l'avons vu, la sous-unité catalytique γ est différente dans le foie et le muscle, si bien que l'on peut légitimement faire l'hypothèse que si tous les tissus sont atteints, c'est β qui est en cause; si le foie seul

est atteint ou épargné, c'est probablement γ (Tableau II). Reste la question troublante des atteintes cardiaques isolées; on peut postuler l'existence d'un isozyme cardiaque, peut-être identique à une forme fœtale, encore faudrait-il le démontrer.

Les maladies dues à un déficit en phosphorylase ou en phosphorylase kinase ne sont le plus souvent pas d'une haute gravité; il est cependant important de les reconnaître car la surveillance des malades est nécessaire. Leur compréhension reste, dans bien des cas, un défi au biologiste, défi qui n'a encore été que partiellement relevé.

Jean-Claude Dreyfus

RÉFÉRENCES

1. Lebo RV, Gorin F, Fletterick R, *et al.* High resolution chromosome sorting and DNA spot-blot analysis assign McArdle's syndrome to chromosome II. *Science* 1984; 225: 57-9.
2. Gautron S, Daegelen D, Mennecier F, Dubocq D, Kahn A, Dreyfus JC. Molecular

mechanisms of McArdle's disease (muscle phosphorylase deficiency): RNA and DNA analysis. *J Clin Invest* 1987; 79: 275-81.

3. Newgard CB, Fletterick RJ, Anderson LA, Lebo RV. The polymorphic locus for glycogen storage disease VI (liver glycogen phosphorylase) maps to chromosome 14. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 351-64.

4. Newgard CB, Littman DR, Van Gendren C, Smith M, Fletterick RJ. Human brain phosphorylase. *J Biol Chem* 1988; 263: 3850-7.

5. Bender PK, Emerson Jr CP. Skeletal muscle phosphorylase kinase catalytic subunit mRNAs are expressed in heart but not in liver. *J Biol Chem* 1987; 262: 8799-805.

6. Francke U, Darras BT, Zander MF, Kili-mann MW. Assignment of human genes for phosphorylase kinase subunits (PHKA) to Xq12-q13 and (PHKB) to 16q12-q13. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 276-82.

7. Daegelen-Proux D, Alexandre Y, Dreyfus JC. Phosphorylase kinase isoenzymes in deficient ICR/IAM mice. *Eur J Biochem* 1978; 90: 369-75.

8. Human Gene Mapping 10. *Cytogen Cell Genet* 1989; 51.

9. Glaser T, Matthews KE, Hudson JW, *et al.* Localization of the muscle, liver and brain phosphorylase genes on linkage maps of mouse chromosomes 19, 12 and 2 respectively. *Genomics* 1989; 5: 510-21.