

Une avalanche de nouveaux résultats sur les G-protéines

Après le temps du code génétique, celui des codes de la communication cellulaire (voir l'éditorial de Claude Kordon, *m/s* n° 3, vol. 3, p. 126), les informations pleuvent sur les G-protéines, ces intermédiaires universels de la transmission des messages de l'extérieur vers l'intérieur des cellules (*m/s* n° 10, vol. 2, p. 583).

La transduction du signal olfactif. Tout d'abord, la confirmation qu'un dogme est mort (« les nucléotides cycliques n'agissent, chez les eucaryotes, que comme des activateurs de protéines kinases ») et que le système bien étudié de la transduction visuelle dans les bâtonnets est un merveilleux modèle des mécanismes impliqués dans la perception et la transmission du signal, puis dans son amplification et sa transformation dans la cellule. Lorsqu'en 1985, Fesenko *et al.* démontraient que le GMP cyclique agissait directement sur le canal sodium du segment externe des bâtonnets [1,2], c'était la première fois qu'était décrit un tel effet d'un nucléotide cyclique chez les eucaryotes, effet indépendant de toute modification de réactions de phosphorylation des protéines. Le système de l'olfaction apparaît maintenant construit sur un modèle voisin. Le récepteur olfactif est couplé, via une protéine G_s , à l'adénylate-cyclase, sa stimulation aboutissant donc à une augmentation de la concentration intracellulaire en AMPc. L'AMPc se fixerait alors sur le canal sodium des cils olfactifs, ouvrant le canal et provoquant un courant de dépolarisation transformé en influx nerveux (*figure 1 A*) [3]. Les autres nucléotides cycliques pourraient provoquer la même ouverture du canal sodium des cils olfactifs, mais leur intervention physiologique est plus douteuse.

Une fonction pour G_o . Il existe

dans le cerveau de grandes quantités d'une G-protéine particulière, dite G_o , dont la fonction n'était jusqu'alors pas connue. Les peptides opioïdes et les opiacés inhibent l'ouverture des canaux calciques qui survient lors de la transmission d'un influx nerveux et est indispensable à la libération de neurotransmetteurs. Cette action des substances opioïdes est bloquée par la toxine de *Bordetella pertussis* dont on sait qu'elle peut fixer des résidus ADP-riboses (dérivés de molécules du coenzyme des déshydrogénases, le NAD^+) sur les G-protéines et, ce faisant, les activer ou les inactiver. L'introduction de G_o dans des cellules ainsi prétraitées par la toxine rétablit la modulation des canaux calciques par les opioïdes. C'est la sous-unité α de la G-protéine qui est active, et non ses deux autres sous-unités β et γ [4]. Une autre action des opioïdes est d'inhiber l'adénylate-cyclase, via une G-protéine G_i (de formule $\alpha_i \beta \gamma$, parfois notée $\alpha_{41} \beta \gamma$ car le poids moléculaire d' α_i est 41 000 ; α_o , pour la même raison, est parfois appelée α_{39}). Le récepteur des peptides opioïdes pourrait donc être couplé à deux G-protéines, G_o inhibant l'ouverture des canaux calciques et G_i inhibant l'adénylate-cyclase.

Une même G-protéine, probablement G_i , couple plusieurs récepteurs au canal à potassium. Le canal à potassium est ouvert dans différents tissus en réponse à la stimulation par divers hormones et neurotransmetteurs : la sérotonine et le GABA dans l'hippocampe [5], la dopamine, l'histamine et les agonistes muscariniques de l'acétylcholine dans des neurones d'*Aplysie* (un mollusque marin) et, au moins pour l'acétylcholine, le muscle cardiaque..., etc. La démonstration qu'une G-protéine est impliquée dans ce couplage repose sur trois types

d'expérience : (a) la toxine de *Bordetella pertussis* bloque l'action des hormones et neurotransmetteurs, de même que, (b) le GDP- αS , un ligand irréversible des sous-unités α des G-protéines, analogue du GDP ; (c) enfin, le GTP- γS , analogue non hydrolysable du GTP qui maintient par conséquent activée la sous-unité α qui le lie, entraîne une ouverture irréversible des canaux. Ici, et dans les différents exemples cités, une même G-protéine de type G_i semble assurer le couplage entre les différents récepteurs et le canal à potassium.

Ce sont les sous-unités $\beta \gamma$ et non α des G-protéines qui activent l'ouverture des canaux à potassium. Quoique récent, le dogme selon lequel le couplage entre le récepteur et l'effecteur était la propriété exclusive des sous-unités α semblait bien établi. Il avait été démontré directement dans le cas des sous-unités α , (stimulant l'adénylate-cyclase), α_i (inhibant l'adénylate-cyclase), et α_o (inhibant l'ouverture du canal calcique). Il est également certain que c'est la sous-unité α liée au GTP de la transducine qui active la phosphodiesterase spécifique du GMP cyclique. Les sous-unités α sont celles qui possèdent le site de liaison au GDP (forme inactive) et au GTP (forme active) et qui sont dotées probablement de l'activité GTP-asiqne responsable de l'hydrolyse du GTP en GDP, hydrolyse permettant d'inactiver α et donc d'interrompre l'effet du signal sur les systèmes effecteurs ; ce sont elles aussi qui sont la cible des toxines de *Bordetella pertussis* et de *Vibrio cholerae* qui catalysent leur ADP-ribosylation et, selon les cas, les activent ou inactivent, étant ainsi des réactifs très utilisés pour mettre en évidence des G-protéines. Les sous-unités $\beta \gamma$ étaient jusqu'à présent cantonnées

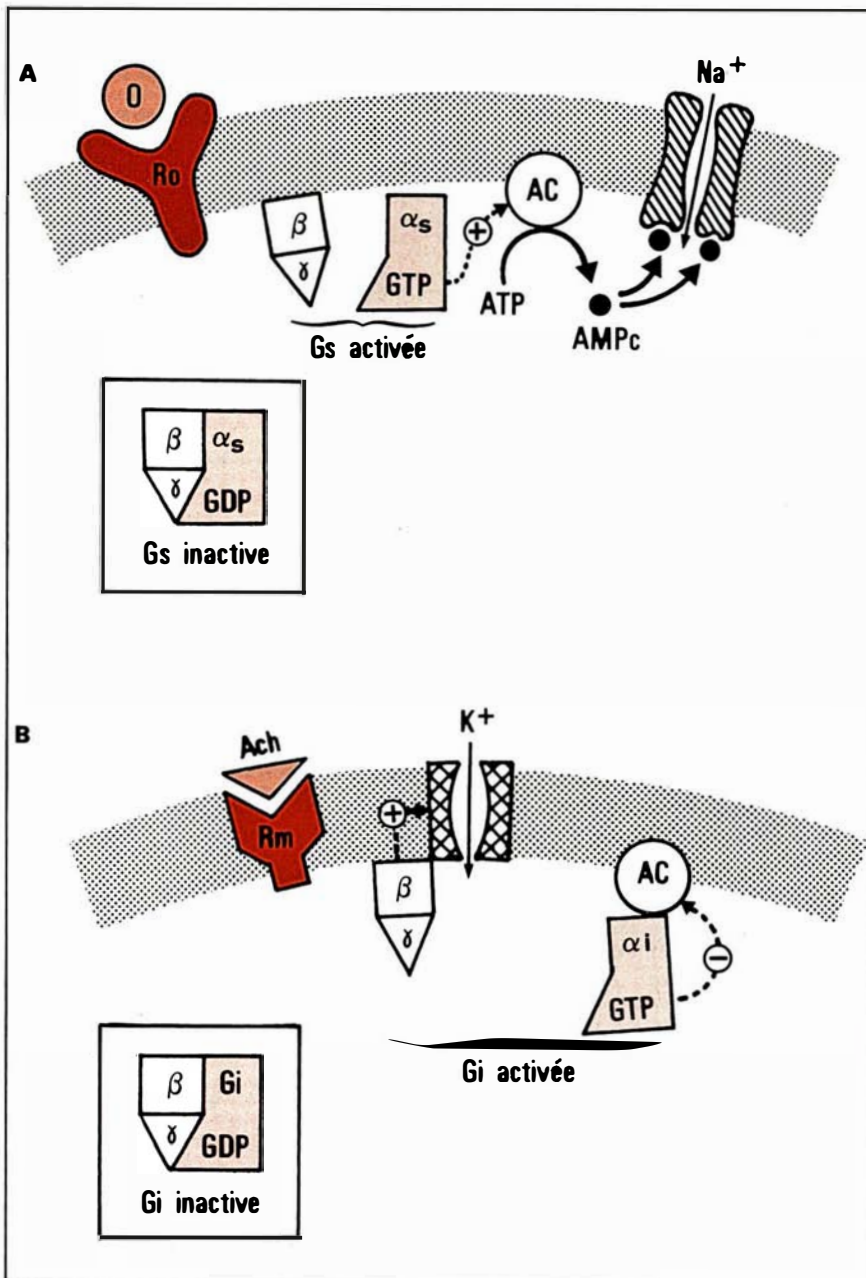


Figure 1. **Deux modèles d'actions de G-protéines sur des canaux ioniques.** O = molécule odorante ; R = récepteur ; Ach = acétylcholine ; m = muscarinique ; AC = adénylate cyclase. Dans les deux cas, on peut se représenter l'enchaînement des réactions de la manière suivante : un ligand se fixe à un récepteur qui est activé et qui fixe alors une G-protéine sous sa forme liée au GDP. L'activation du récepteur entraîne, par un mécanisme inconnu, l'échange du GDP par du GTP. La G-protéine se dissocie alors en un dimère $\beta\gamma$ et la sous-unité α -GTP, activée. **A** : exemple du récepteur olfactif : α_s -GTP va stimuler l'adénylate-cyclase, l'AMP cyclique alors synthétisé va se fixer sur le canal à sodium du cil olfactif et l'ouvrir, provoquant une entrée de sodium et un courant de dépolarisation. **B** : exemple du récepteur muscarinique de l'acétylcholine : $\beta\gamma$ dissocié va « activer » le canal à potassium alors qu' α_i -GTP ira inactiver l'adénylate cyclase. Dans tous les cas, l'hydrolyse du GTP inactive α qui, sous la forme α -GDP, se réassocie à $\beta\gamma$, interrompant la transmission du signal.

m/s n° 4 vol. 3, avril 87

dans le rôle moins noble de points d'ancrage au récepteur ou à la membrane [7]. Or, dans un modèle acellulaire de vésicules formées par l'inversion de membranes de cellules cardiaques (dans ces vésicules les constituants normalement situés sur la face interne des membranes se retrouvent à la face externe), une équipe américano-japonaise vient de montrer que les sous-unités α_{41} (= α_i), α_{39} (= α_o), qu'elles soient liées au GDP ou au GTP, étaient inactives sur le canal à potassium qui, en revanche, était ouvert par les sous-unités $\beta\gamma$ seules [8]. La liaison de l'acétylcholine au récepteur muscarinique pourrait donc entraîner le remplacement du GDP de la sous-unité α_i par du GTP, puis la dissociation entre α_i -GTP et $\beta\gamma$ qui irait activer, c'est-à-dire ouvrir, le canal à potassium ; α_i -GTP pourrait quant à elle inactiver l'adénylate-cyclase, permettant à une même G-protéine de moduler deux systèmes effecteurs différents. L'hydrolyse du GTP et donc la transition α_i -GTP \rightarrow α_i -GDP serait enfin responsable de la cessation de l'effet sur l'adénylate-cyclase, de la réassociation entre α_i -GDP et $\beta\gamma$, et donc de la fermeture du canal à potassium (figure 1 B).

Une G-protéine pour l'interleukine 2. L'interleukine 2, ou IL 2, est un facteur de croissance des lymphocytes T dont la fixation à son récepteur inhibe l'activité de l'adénylate-cyclase..., probablement par l'intermédiaire d'une G-protéine de type Gi [9]. Il est bien probable qu'un tel mécanisme d'action sera étendu aux autres lymphokines et cytokines !

Ainsi, de cette mise au point il faut retenir cinq notions importantes : (a) les G-protéines sont bien des éléments ubiquitaires des systèmes de transmission des signaux au travers des membranes cellulaires ; (b) plusieurs récepteurs distincts peuvent être couplés à une même G-protéine ; (c) un même récepteur peut être

S
E
T
E
L
E
S
M
O
U
V
E
L
L
E
S

couplé à plusieurs G-protéines ; (d) une seule G-protéine peut moduler plusieurs effecteurs par l'intermédiaire de sa sous-unités α activée (α -GTP) d'une part... et du dimère $\beta\gamma$ libéré d'autre part ; (e) enfin, les nucléotides cycliques, GMPc ou AMPc peuvent réguler directement des effecteurs, ici des canaux ioniques, sans passer par l'intermédiaire de protéines kinases.

A.K.

1. Fesenko EE, Kolesnikov SS, Lyubarsky AL. Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature* 1985 ; 313 : 310-3.
2. Plouët J, Dorey C. La transduction visuelle. *médecine-sciences* 1987 ; 3 : 192-7.
3. Nakamura T, Gold GH. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature* 1987 ; 325 : 442-4.
4. Hescheler J, Rosenthal W, Trautwein W, Schults G. The GTP-Binding protein, Go, regulates neuronal calcium channels. *Nature* 1987 ; 325 : 445-7.
5. Andrade RC, Malenka RC, Nicoll RA. A G-protein couples serotonin and GABA receptors to the same channels in hippocampus. *Science* 1986 ; 1261-5.

6. Sasaki K, Sato M. A single GTP-binding protein regulates K^+ -channels coupled with dopamine, histamine and acetylcholine receptors. *Nature* 1987 ; 325 : 259-62.
7. Bourne HR. « Wrong » subunit regulates cardiac potassium channels. *Nature* 1987 ; 325 : 296-7.
8. Logothetis DE, Kurachi Y, Galper J, Neer EJ, Clapham DE. The subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K^+ channel in heart. *Nature* 1987 ; 325 : 321-6.
9. Evans SW, Beckner SK, Farrar WL. Stimulation of specific GTP-binding and hydrolysis activities in lymphocyte membrane by interleukin-2. *Nature* 1987 ; 325 : 166-8.

Un antagoniste des effets cérébraux de l'alcool

Un médicament, découvert par la firme Hoffmann-La Roche, et qui est apparenté aux benzodiazépines, supprime les effets de l'alcool sur le comportement sans en modifier le métabolisme hépatique. On en conçoit aisément l'importance potentielle : de ses avantages prévisibles ou de ses dangers éventuels, lesquels l'emporteront ?

L'éthanol, à des concentrations voisines de celles qui sont considérées comme limite par la loi française (0,8 g par litre), stimule la capture de l'ion chlore par le cerveau in vivo comme dans des vésicules synaptiques cérébrales isolées, par un mécanisme de stimulation des récepteurs de l'acide gamma aminobutyrique (GABA). Ses effets sur les mouvements du chlore sont bloqués par la bicuculline, antagoniste des récepteurs du GABA, et par la picrotoxine, antagoniste du canal Cl^- . Le récepteur du GABA est complexe et contient plusieurs sites ; le récepteur des benzodiazépines occupe un de ces sites, celui des barbituriques en occupe un autre. Des chercheurs du NIH (Bethesda) ont étudié systématiquement de nombreux dérivés des benzodiazépines sur le système in vitro d'interaction éthanol-vésicules cérébrales. Un seul a montré des propriétés particulières. Dénommé Ro15-4513, c'est une imidazobenzodiazépine qui marque le récepteur par photo-

affinité ; il empêche sélectivement l'éthanol de stimuler la capture in vitro de l'ion Cl^- . Son action est spécifique de l'éthanol, il est sans effet sur la stimulation de la capture du chlore par les barbituriques. Cette spécificité suggère un nouveau type d'interaction avec le complexe du récepteur aux benzodiazépines.

L'effet du Ro15-4513 in vitro est donc bien établi. Il l'est également in vivo sur le rat. Il inhibe l'influence de l'alcool sur le comportement, ce que d'autres benzodiazépines ne font pas. Des rats soumis à une dose d'alcool telle qu'ils ont perdu connaissance recouvrent un « comportement de sobriété » deux minutes après l'administration du médicament. Par contre, le métabolisme général de l'éthanol n'est pas modifié, l'alcoolémie n'est pas abaissée, et les accidents généraux dus à une prise massive ne sont pas supprimés, probablement du fait d'altérations non spécifiques des membranes cellulaires dans lesquelles l'alcool peut se dissoudre.

On imagine les problèmes que soulève une utilisation éventuelle du Ro15-4513 chez l'homme. Ils sont illustrés par la référence évidente au samedi soir : après force libations, celui qui doit conduire prend son comprimé ; il a un accident, son alcoolémie est à 4 g par litre ; mais il a pris le médicament, il n'est pas ivre. De ce dilemme, difficile à trancher sur

le plan légal, on peut tirer des enseignements contradictoires. Contre le Ro15-4513, la notion qu'il suffit d'en prendre pour agir de façon normale, notamment au volant, ne peut qu'encourager l'alcoolisme, dont les conséquences, comme la cirrhose, ne sont nullement enravées. Si l'on s'avait de prendre le médicament avant de boire, les effets de l'alcool ne seraient pas ressentis et ce n'est pas ce que recherchent les alcooliques. A l'opposé, le nombre des accidents de la route diminuerait sans doute ; surtout la prise de Ro15-4513 pourrait être un adjuvant puissant d'une cure de désintoxication, suivant l'exemple des antagonistes du récepteur aux opiacés dans le traitement des drogués de l'héroïne.

On comprend donc les hésitations de la firme pour demander ou non la mise sur le marché du Ro15-4513. La recherche s'oriente actuellement vers la préparation de dérivés à action plus prolongée. Dans l'état actuel, cette recherche fournit déjà ample matière à réflexion.

J.-C.D.

1. Suzdak PD, Glowa JR, Crawley JN, Schwartz RD, Sholnick P, Paul SM. A selective imidazobenzodiazépine antagonist of ethanol in the rat. *Science* 1986 ; 234 : 1243-7.
2. Kolata G. New drug counters alcohol intoxication. *Science* 1986 ; 234 : 1198-9.