

NEUROSCIENCES

comportements

M/S n° 12, vol. 19, décembre 2003

Prix Nobel de Chimie 2003

> Ces prix Nobel récompensent, au travers de la distinction accordée à Peter Agre et Roderick MacKinnon, des avancées décisives dans la connaissance de la structure et du fonctionnement de protéines membranaires, les canaux hydriques et ioniques, essentiels à la communication entre les cellules et leur environnement. <

Canaux hydriques et ioniques

Daniel G. Bichet, Lucie Parent, Rémy Sauvé

D.G. Bichet : Groupe d'étude des protéines membranaires, Université de Montréal, Chaire de recherche du Canada en génétique des maladies rénales, Service Néphrologie-Génétique, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, 5400, boulevard Gouin ouest, Montréal, Québec, H4J 1C5, Canada. d-binette@crhsc.umontreal.ca

L. Parent, R. Sauvé : Groupe de recherche en transport membranaire, Département de Physiologie, Université de Montréal, CP 6128, Succursale Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada.

LA DECOUVERTE DES AQUAPORINES

Peter Agre a 54 ans, c'est un médecin hématologue à l'université Johns Hopkins de Baltimore où il est professeur de chimie biologique et de médecine. Il a découvert «par hasard», comme il se plaît à le dire, les aquaporines. Ces protéines, insérées dans la double couche lipidique de nombreuses membranes cellulaires, confèrent à la membrane où elles sont insérées une perméabilité considérable à l'eau: 3 milliards de molécules d'eau par seconde, et par monomère d'aquaporine. Le passage d'eau y est sélectif: l'eau passe, mais pas les protons. Pour les néphrologues, l'insertion ou non de canaux hydriques dans les différents épithéliums du tubule rénal explique leur perméabilité ou leur imperméabilité à l'eau. Ainsi, la branche descendante de l'anse de Henle est très perméable, car l'aquaporine1 y est insérée. La branche ascendante de l'anse de Henle, imperméable à l'eau et très perméable aux solutés, n'exprime aucune aquaporine.

À la fin des années 1980, Peter Agre ne cherchait pas des aquaporines mais travaillait à l'identification des déterminants moléculaires du groupe Rhésus des globules rouges. À partir de grandes quantités de globules rouges, il isola une fraction membranaire présente en abondance, à partir de laquelle il réussit un séquençage peptidique partiel. Celui-ci permit la construction de sondes génomiques suffisantes pour cribler une banque érythrocytaire et isoler un gène codant pour une protéine membranaire n'appartenant à aucune famille connue. L'expression de cette protéine dans des œufs de xénope révéla une perméabilité à l'eau significativement accrue. Les canaux à eau, dont l'existence était suggérée depuis de très nombreuses années, étaient ainsi identifiés. La famille de ces canaux allait vite s'agrandir avec plus de dix variétés, des canaux à eau «purs», ne transportant que de l'eau, puis des canaux moins orthodoxes, transportant du glycérol ou d'autres petites molécules. Ces canaux à eau sont présents dans tous les épithéliums perméables de tous les organes et de nombreuses espèces animales et végétales. Leur perte de fonction est responsable de quelques syndromes héréditaires rares (diabète insipide néphrogénique autosomique dominant et récessifs - AQP2, cataracte congénitale - AQP0). Peter Agre a soulevé les pierres de la connaissance dans un ruisseau limpide, l'eau passe dans les membranes modélisées de Bert de Groot. Si vous êtes un chercheur enthousiaste, il y a d'autres pierres à retourner sur des ruisseaux ou des chemins qui conduisent à Stockholm (http://www.mpibpc.gwdg.de/abteilungen/071/bgroot/presentations/aqp1_dyn/aqp1_system_movie.html).

LA STRUCTURE DES CANAUX POTASSIQUES

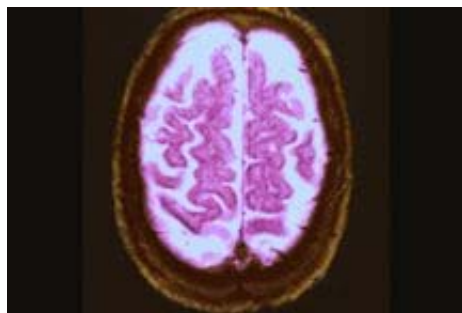
Roderick MacKinnon, 47ans, obtint un doctorat en médecine en 1982 à la *Tufts Medical School* de Boston (MA, USA). Il est professeur de neurobiologie moléculaire et de biophysique à la *Rockefeller University* à New York (NY, USA). L'attribution du prix Nobel vient couronner des découvertes majeures sur la structure des canaux ioniques spécialisés dans le transport passif des ions. Les canaux ioniques jouent un rôle essentiel, principalement dans le bon fonctionnement des cellules du système nerveux et des muscles squelettiques ou cardiaques. Ce qu'on appelle le potentiel d'action des cellules nerveuses et musculaires apparaît quand un canal ionique situé à la surface de ces cellules est ouvert par un signal chimique envoyé par un neurone adjacent; une impulsion électrique se propage alors grâce à l'ouverture et à la fermeture d'une série de canaux ioniques distincts, cela en l'espace de quelques millisecondes. Structure et fonction des canaux ioniques sont demeurées longtemps méconnues, en raison de leur faible densité et du fait que ce sont des protéines membranaires intrinsèques se prêtant mal à la purification. L'identification des ces protéines a débuté par les travaux de A.L. Hodgkin et A.F. Huxley (prix Nobel de physiologie/médecine, 1963) qui publiaient en 1952 la première caractérisation des mécanismes ioniques de l'excitation des cellules neuronales. En effet, même si le rôle des ions Na^+ , Ca^{2+} et K^+ dans les propriétés électriques des cellules eucaryotes était connu depuis le début du XX^e siècle, il manquait les outils biophysiques et électrophysiologiques par lesquels il est possible de contrôler le potentiel membranaire pour mesurer les courants ioniques produits par chacun de ces ions à travers les membranes cellulaires. Après avoir affiné la méthode du potentiel imposé, Hodgkin et Huxley ont élaboré un modèle de conduction dans l'axone du calmar géant qui prévoyait des chemins de conductance séparés pour les ions Na^+ et K^+ . Il fallut cependant attendre plus de 30 ans, avec l'arrivée de la méthode du *patch clamp* mise au point par l'équipe de Bert Sakmann et Erwin Neher (Prix Nobel de physiologie/médecine, 1991), pour confirmer que les courants ioniques dans les cellules excitables sont produits lors de l'ouverture et de la fermeture de protéines-pores qui laissent spécifiquement passer des ions. Avec le déploiement spectaculaire des techniques de clonage et de biologie moléculaire dans les années 1990, les structures primaires de nombreux canaux ioniques ont été identifiées grâce aux

travaux pionniers des groupes de Shosaku Numa au Japon et Lily Jan aux États-Unis. À l'époque, on se limitait à estimer les structures secondaires de ces protéines à partir d'algorithmes dérivés des méthodes de chimie théorique; car la structure tridimensionnelle de ces protéines membranaires semblait alors inaccessible. Seules les structures de quelques portions cytoplasmiques des canaux ioniques ont été obtenues par résonance magnétique nucléaire (RMN). Roderick MacKinnon provoqua donc la surprise dans l'ensemble de la communauté scientifique lorsqu'il réussit, avec son équipe de recherche, à déterminer la structure spatiale d'un canal sélectif aux ions potassiques en 1998. Grâce à sa contribution, nous pouvons aujourd'hui «voir» des ions passer par les canaux qui s'ouvrent et se referment en réponse à des signaux cellulaires. Ces travaux ont permis d'expliquer pour la première fois, à l'échelle atomique, pourquoi les canaux K^+ peuvent si bien discriminer les ions K^+ des autres ions et distinguer les processus de diffusion des ions dans un canal.

De plus, en cristallisant des canaux ioniques sous deux états cinétiques distincts (ouvert ou fermé), R. MacKinnon parvint à mettre en évidence les changements de structure qui accompagnent l'ouverture des canaux ioniques. Plus tôt cette année, R. MacKinnon a finalement publié la structure cristalline d'un canal ionique plus complexe, qui s'ouvre en réponse aux changements de potentiel et a encore une fois étonné la communauté scientifique par l'audace des modèles d'activation des canaux ioniques qu'il propose. Le groupe de MacKinnon a aussi élucidé la structure tridimensionnelle des sous-unités auxiliaires β , ainsi que leurs sites d'ancrage sur les canaux potassiques. Avec toutes ces structures cristallines auxquelles s'ajoutent les structures des canaux K^+ activés par les protéines G et les canaux sélectifs aux anions, il est maintenant possible de déterminer à l'échelle atomique les sites d'interaction des médicaments, et par conséquent de dessiner avec plus de précision les stratégies thérapeutiques applicables à de nombreuses maladies telles que les arythmies cardiaques, le diabète ou l'épilepsie. Le prix Nobel de chimie de cette année illustre la façon dont la biochimie atteint l'échelle atomique et permet d'élucider des mécanismes subtils de la vie.

Alzheimer : des Français montrent que Tau protège l'ADN

L'équipe de Luc Buée (1) vient d'identifier un nouveau rôle dans la famille des protéines Tau : la protection de l'ADN. Cette découverte ouvre la voie à de nouvelles pistes de recherche thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer.



ON SAIT que Tau est une protéine essentielle à la stabilisation des cellules, notamment les neurones. Dans les Tauopathies, dont la plus connue est la maladie d'Alzheimer, les protéines Tau s'agrègent anormalement et seraient à l'origine de la dégénérescence neuronale. Le dysfonctionnement de la protéine Tau provient d'un excès de phosphorylation conduisant à l'agrégation des protéines.

L'équipe « Alzheimer et Tauopathies », dirigée par Luc Buée, révèle qu'une fraction de la protéine Tau sous sa forme déphosphorylée est capable, en condition de stress cellulaire, de se fixer à l'ADN pour le protéger.

Chez la souris, les chercheurs ont en effet observé, en condition de stress cellulaire (choc thermique), des dégâts de l'ADN des neurones déficients en protéine Tau (ce qui n'est pas le cas dans des neurones normaux). L'ajout de protéines Tau normales, c'est-à-dire déphosphorylées, dans ces neurones déficients a permis de les protéger à nouveau contre les lésions de l'ADN. Ce qui montre bien que la protéine Tau est l'élément protecteur.

L'équipe montre également que seules les protéines Tau déphosphorylées sont capables de passer dans le noyau des neurones pour protéger l'ADN. Ainsi, dans le cas de la maladie d'Alzheimer et de nombreuses Tauopathies où l'on observe d'importantes lésions de l'ADN, la phosphorylation anormale des protéines Tau empêcherait leur passage dans le noyau. Dès lors, Tau ne pourrait pas exercer son rôle protecteur, d'où des lésions accrues de l'ADN.

Ces travaux ouvrent la voie à de nouvelles pistes de recherche permettant de progresser plus rapidement dans la lutte contre l'Alzheimer et les pathologies apparentées, indique un communiqué. « *Nous cherchons aujourd'hui à identifier la région de Tau impliquée dans la liaison à l'ADN et proposons d'étudier les mécanismes du passage de Tau dans le noyau, explique Luc Buée dans ce communiqué. En effet, moduler la phosphorylation permettrait de restaurer l'ensemble des fonctions normales de Tau et de protéger à nouveau les neurones des malades.* »

› Dr EMMANUEL DE VIEL

Audrey Sultan et coll. « *The Journal of Biological Chemistry* », in press, février 2011.

(1) Directeur de recherche CNRS au sein de l'unité mixte 837 INSERM/Université Lille Nord de France/CHRU de Lille.

11/01/2011

Syndrome de l'X fragile : un espoir pour certains patients

Les résultats d'une étude menée chez 30 patients souffrant du syndrome de l'X fragile révèlent qu'un sous-groupe de patients aisément identifiables pourrait bénéficier d'un traitement réduisant l'activité d'un récepteur au glutamate dans le cerveau.



CES RÉSULTATS doivent être confirmés et des études complémentaires sont en cours. Cela donnerait un espoir dans le syndrome de l'X fragile, qui constitue la cause la plus fréquente de retard intellectuel hérité et contre laquelle il n'y a pas de traitement à ce jour.

Le syndrome de l'X fragile est causé par une mutation affectant un seul gène qui a été nommé « fragile X mental retardation-1 » ou FMR1. La mutation dans cette maladie produit une expansion du gène par des répétitions d'un triplet CGG nucléotidique.

Le degré d'expansion du gène varie d'un individu à l'autre, jusqu'à la mutation complète qui supprime la traduction protéique. Les symptômes d'X fragile sont alors sévères, avec des anomalies du développement des connexions neuronales importantes pour l'apprentissage et la mémoire.

La fonction de la protéine FMR normale est de tenir en respect une autre protéine, qui est un récepteur du glutamate (mGluR5).

C'est la suractivation de mGluR5 qui est en fait à l'origine des symptômes, une fonction régulée de ce récepteur au glutamate étant indispensable au bon déroulement de nombreuses activités et connexions cérébrales.

Un consortium de chercheurs (Sébastien Jacquemont (Bâle, Suisse) dont une équipe française du Centre national de référence de l'X fragile aux Hospices Civils de Lyon) publie un essai de traitement avec un nouveau médicament qui réduit l'activité de mGluR5 dans le cerveau.

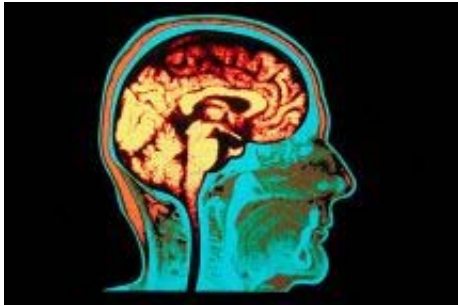
Il y a eu une amélioration, mais pas chez tous les patients. Elle porte principalement sur les tests comportementaux. L'analyse plus poussée révèle que ceux qui ont bénéficié du traitement sont ceux qui ont l'extinction la plus poussée du gène FMR1. Un groupe de patients qui sont aisément identifiables, pouvant potentiellement bénéficier d'un traitement.

› Dr BÉATRICE VUAILLE

« *Science Translational Medicine* », 5 janvier 2011, vol. 3, n° 64 64ra1.

Traiter la douleur neuropathique directement dans le cerveau

La douleur chronique figure parmi les trois problèmes de santé les plus fréquents au monde. Les anti-inflammatoires traitent convenablement les douleurs périphériques, mais la médecine est mal à l'aise devant la douleur neuropathique.



UNE ÉQUIPE canado-coréenne s'est attaquée à l'un des sièges de la douleur chronique dans le cerveau, le cortex cingulaire antérieur. Le signal douloureux entraîne une adaptation des circuits nerveux (LTP ou potentialisation à long terme). La LTP se traduit par un renforcement des synapses glutamatergiques, ce qui les rend plus efficaces, d'où l'hypersensibilité à la douleur ou allodynie. Après guérison, l'activité synaptique retourne à son état basal. Mais dans certains cas, elle demeure élevée.

Les inhibiteurs des récepteurs du glutamate ayant trop d'effets secondaires, Wang et coll. se sont focalisés sur une cible spécifique de la transduction glutamatergique dans le cortex cingulaire, l'adénylyl cyclase de type I (ACI).

Ils ont sélectionné *in silico* 7 molécules susceptibles d'inhiber l'ACI. L'une d'entre elles (NB001) inhibe fortement les mécanismes de LTP dépendants de l'ACI. Injectée en intrapéritonéal chez la souris, elle réduit considérablement l'allodynie, sans affecter la perception de la douleur aiguë.

Ces résultats ouvrent une voie prometteuse pour le traitement des douleurs neuropathiques.

ROLAND SALESSE

« *Sci Transl Med* » (12 janvier 2010) doi 10.126/scitranslmed.3001269.

14/01/2011