



Société canadienne d'hypertension artérielle/Nouveau chercheur Biovail 2008

# Le rôle des kinases de récepteurs couplés aux protéines G dans l'hypertension artérielle

Par Robert Gros

L'hypertension est la maladie cardiovasculaire la plus courante et demeure un facteur de risque important d'infarctus du myocarde, d'accident vasculaire cérébral (AVC) et d'insuffisance rénale. Il a été estimé que 95 % de tous les Canadiens développeront une hypertension artérielle s'ils atteignent une durée de vie moyenne. Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans le développement et/ou le maintien de l'hypertension sera essentielle pour mieux se représenter la pathologie et peut-être permettre le développement de nouvelles stratégies de traitements.

Dans l'hypertension, l'anomalie hémodynamique de base est une résistance périphérique accrue, qui reflète une combinaison de facteurs structuraux et fonctionnels. Au niveau fonctionnel, la résistance périphérique est un équilibre fragile entre les facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs. Dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLVs), un mécanisme important qui transmet la vasodilatation est l'activation de l'adénylate cyclase liée aux récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) par les protéines-Gs (aussi connue comme la protéine-G

et les récepteurs de l'angiotensine (et d'autres) sont liés à l'activation de la phospholipase C et/ou l'inhibition de l'adénylate cyclase via l'activation de protéines-Gq et/ou protéines-Gi dans les CMLVs.

## Anomalies de la vasodilatation induite par les récepteurs couplés aux protéines G dans l'hypertension

L'anomalie vasculaire la plus fréquente concernant les RCPG tant chez les humains que dans les modèles animaux d'hypertension est une altération des réponses à l'activation de RCPG liés aux protéines-Gs, entraînant une vasodilatation atténuée. Bien que des activations accrues de RCPG liés aux protéines -Gq et/ou -Gi (qui induisent une vasoconstriction) ont été observées dans des modèles animaux d'hypertension, plusieurs chercheurs ont mis l'accent sur le complexe RCPG/protéine-Gs/adénylate cyclase pour expliquer cette anomalie de vasodilatation transmise par le récepteur durant une période hypertensive. L'altération de la vasodilatation induite par le RCPG semble se trouver au niveau du récepteur, puisque les vasodilatateurs à action

## Activation et désensibilisation des récepteurs couplés aux protéines-G

L'activation de RCPG à la suite de la liaison d'un agoniste induit un changement de conformation qui entraîne l'échange de GDP pour du GTP sur la sous-unité  $G_{\alpha}$  et permet la dissociation des sous-unités  $G_{\alpha}$  et  $G_{\beta\gamma}$  (voir figure). Subséquemment, ces sous-unités de protéines-G interagissent et réguleront l'activité de nombreuses autres molécules effectrices, comme l'adénylate cyclase, la phospholipase C, les canaux ioniques, les tyrosines kinases et plusieurs autres. Ce changement de conformation permet également aux RCPG de lier une (ou plusieurs) GRKs (voir figure). La liaison de GRK au récepteur occupé par un agoniste entraîne la phosphorylation et la désensibilisation du RCPG, ce qui provoque la liaison de protéines cytosoliques nommées  $\beta$ -arrestines au récepteur. Cela mène à un découplage supplémentaire des RCPG et de leurs protéines-G (voir figure).

## Famille des kinases de récepteurs couplés aux protéines-G

Jusqu'à présent, sept gènes de mammifères codant des kinases de récepteurs couplés aux protéines-G (GRK1-7) ont été clonés. Toutes les GRKs ont un poids moléculaire similaire d'environ ~60-80 kDa et ont des ressemblances fonctionnelles et structurales, incluant un domaine catalytique de localisation centrale hautement conservé, un domaine amino-terminal incluant la région d'homologie aux régulateurs de protéines de signalisation de protéines-G (domaine RGS-like) et un domaine carboxy-terminal de longueur variable qui joue un rôle important dans la localisation cellulaire et/ou la translocation des GRKs. Basée sur les similarités séquentielles et fonctionnelles, la famille de GRK a été divisée en trois sous-familles : (a) la sous-famille de la kinase rhodopsine (GRK1 et GRK7), (b) la sous-famille de la kinase du récepteur bêta-adrénergique (GRK2 et GRK3) et (c) la sous-famille de GRK4 (GRK4, GRK5 et GRK6). Cinq des sept GRKs (GRK1, 4, 5, 6 et 7) sont localisées à la membrane et près des RCPG activés, alors que GRK2 et GRK3 sont localisées de façon prédominante au cytosol et subissent une translocation et un recrutement à la membrane à la suite de

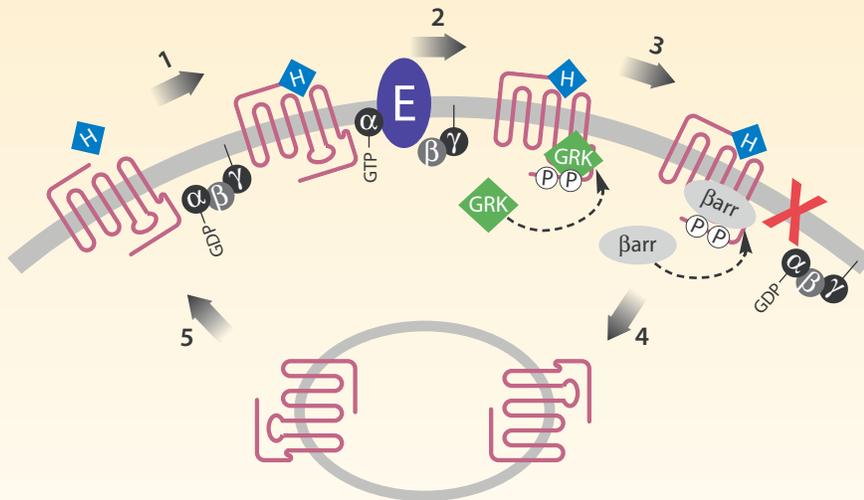
## *L'anomalie vasculaire la plus fréquente concernant les RCPG tant chez les humains que dans les modèles animaux d'hypertension est une altération des réponses à l'activation de RCPG liés aux protéines-Gs, entraînant une vasodilatation atténuée.*

stimulatrice). Le récepteur bêta-adrénergique représente le récepteur vasodilatateur prototype dans les CMLVs (bien que certaines vasodilatations induites par le récepteur bêta-adrénergique dépendent de l'endothélium). Cependant, de nombreux autres RCPG liés à l'activation de l'adénylate cyclase sont également exprimés dans les CMLVs incluant : les récepteurs de l'adénosine, du glucagon, de la bradykinine et autres. Dans les cellules endothéliales, les réponses vasodilatatrices liées aux RCPG apparaissent plus complexes et impliquent des RCPG liés à Gs (récepteurs  $\beta$ -adrénergiques), Gi (récepteurs muscariniques) et Gq (récepteurs de type B de l'endothéline). Du côté de la vasoconstriction, des RCPG tels que le récepteur de l'endothéline, le récepteur alpha-adrénergique

directe (ex : nitroglycérine ou nitroprusside) ou les vasodilatateurs agissant à distance du récepteur (ex : forskoline ou l'AMP cyclique dibutyryl) n'étaient pas affectés de façon comparable. Cela laisse supposer que l'altération de la vasodilatation induite par le RCPG est un découplage fonctionnel de ces RCPG et des protéines-Gs. L'efficacité avec laquelle les RCPG interagissent avec leurs protéines-G est en partie dépendante de l'état de phosphorylation du récepteur. La phosphorylation des RCPG est induite par différentes kinases, incluant les protéines kinases dépendantes du second messenger, comme la protéine kinase A et la protéine kinase C et les membres de la famille des kinases de récepteurs couplés aux protéines-G (GRKs).

Figure 1

## Schéma de l'activation et de la désensibilisation du récepteur couplé aux protéines-G (RCPG)



- 1) La liaison d'une hormone (H) au RCPG mène à un changement de conformation du RCPG, ce qui entraîne la libération du GDP de la sous-unité  $\alpha$  de la protéine-G et facilite la liaison au GTP. Cela permet ensuite la séparation des sous-unités (en  $\alpha$  et  $\beta\gamma$ ) qui sont par la suite en mesure d'interagir avec différentes molécules effectrices (E).
- 2) Les RCPG occupés par une hormone (agoniste) facilitent également la liaison de GRKs, qui, à leur tour, phosphorylent et désensibilisent les RCPG.
- 3) Les RCPG phosphorylés par GRK sont ensuite découplés davantage de leurs protéines-G par la liaison de  $\beta$ -arrestines ( $\beta$ arr)
- 4) À la suite de la liaison des  $\beta$ -arrestines, les RCPG sont soumis à une internalisation et déphosphorylation dans les endosomes, et
- 5) recyclés vers la membrane.

l'activation du RCPG. GRK2, 3, 5 et 6 démontrent une distribution plus ubiquitaire chez les mammifères, alors que GRK1, 4 et 7 ont un patron d'expression plus restreint : GRK1 dans la rétine et la glande pinéale; GRK4 principalement dans les testicules et le cerveau; GRK7 dans les cônes. Tant GRK2 que GRK5 ont été détectées dans les CMLVs au niveau protéique. Au contraire, GRK4 et GRK6 n'ont pas été détectées par RT-PCR dans les CMLVs.

### Altérations de l'expression/activité de kinase des récepteurs couplés aux protéines-G

L'augmentation de l'expression et/ou de l'activité a été décrite tant chez l'humain que dans des modèles animaux d'hypertension. Nous avons précédemment démontré que l'expression et l'activité de la protéine GRK2 étaient augmentées dans l'hypertension chez l'humain. Cette augmentation d'expression de GRK2 a été corrélée avec une réduction de l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par le récepteur bêta-adrénergique et une augmentation de la tension artérielle. De plus, nous avons démontré que l'expression de la protéine GRK2 était augmentée dans la vas-

culature de rats spontanément hypertendus (SHR) et de rats *Dahl-salt* nourris avec une diète élevée en sel. Cependant, ces études ont seulement démontré une association et non une relation de cause à effet entre l'expression de GRK2 et l'hypertension. Récemment, un lien plus direct entre l'augmentation de l'expression de la protéine GRK2 et la tension artérielle a été démontré dans un modèle de souris transgéniques avec une expression musculaire spécifique de GRK2. Ces souris présentaient une altération de la vasodilatation induite par le récepteur bêta-adrénergique, de l'accumulation d'AMPc et une augmentation modeste de la tension artérielle. En ce qui concerne GRK5, l'autre isoforme de GRK détectée dans les CMLVs, des études antérieures ont démontré une régulation à la hausse de GRK5 dans des aortes de rats, à la suite de l'induction de l'hypertension soit par l'angiotensine II ou la norépinéphrine. De plus, une étude récente a illustré une tension artérielle élevée chez des souris transgéniques surexprimant la GRK5 de façon spécifique au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires. Dans ce modèle d'hypertension, les réponses transmises par Gs- étaient réduites, alors que les réponses transmises par Gq et/ou Gi étaient

augmentées, ce qui est semblable aux observations obtenues dans d'autres modèles animaux d'hypertension. Ainsi, ces études démontrent un rôle potentiellement critique pour les GRKs dans la pathogénie et/ou le maintien de l'hypertension.

### Où va-t-on à partir d'ici ?

Bien que, tant GRK2 et GRK5 ont été impliquées dans la pathogénie et/ou le maintien de l'hypertension, des questions importantes demeurent. Pourquoi l'augmentation de l'expression de la protéine GRK affecte-t-elle préférentiellement les RCPG associés à la vasodilatation, tel qu'observé dans un état d'hypertension? Puisque les GRKs sont capables d'induire la phosphorylation de différents RCPG, incluant les RCPG liés tant à la vasodilatation qu'à la vasoconstriction. De plus, la contribution d'isoformes sélectives de GRK au développement et/ou au maintien du phénotype hypertendu n'est pas claire. Ainsi, des études en cours dans mon laboratoire étudient le(s) rôle(s) des GRKs dans la régulation de la fonction vasculaire par les RCPG dans des conditions physiologiques et hypertensives.

### Conclusion

Une meilleure compréhension de la régulation des RCPG et GRKs vasculaires permettra l'évaluation appropriée de nouvelles stratégies pour le traitement et/ou la prévention de l'hypertension et, potentiellement d'autres maladies cardiovasculaires reliées à une anomalie de la fonction des RCPG et de la régulation des GRKs.

### Lectures additionnelles :

1. Feldman RD, Gros R. Defective vasodilatory mechanisms in hypertension: a G-protein-coupled receptor perspective. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15(2):135-40.
2. Gros R, Benovic JL, Tan CM, et coll. G-protein-coupled receptor kinase activity is increased in hypertension. *J Clin Invest* 1997; 99(9):2087-93.
3. Gros R, Chorazyczewski J, Meek MD, et coll. G-Protein-coupled receptor kinase activity in hypertension: increased vascular and lymphocyte G-protein receptor kinase-2 protein expression. *Hypertension* 2000; 35(1 Pt 1):38-42.
4. Harris DM, Cohn HI, Pesant S, et coll. GPCR signalling in hypertension: role of GRKs. *Clin Sci (Lond)* 2008; 115(3):79-89.

*Robert Gros, nouveau chercheur, Fondation des maladies du coeur du Canada. Scientifique, Groupe de recherche sur la biologie vasculaire, Institut de Recherche Robarts. Professeur adjoint, Département de physiologie et de pharmacologie, École de Médecine et de Dentisterie Schulich, Université Western Ontario, London, Ontario.*