

## 1) Récepteurs nucléaires (suite)

### RECEPTEURS INTRA CELLULAIRES

#### Les PPAR : mécanisme d'action (Peroxisome Prolirator-Activated Receptors)

- Récepteurs activé par les proliférateurs du péroxisome (pas spécifique, nom donné car découvert à partir du péroxisome = organe intra-cellulaire, phénomène de détoxification présent également dans d'autres structures cellulaires)
- Activés par les ligands (agonistes car stimulation, mettent en fonction) qui sont essentiellement :
  - Les acides gras circulants
  - Fibrates (hypolipémiant, utilisé pour traiter les dyslipidémies)
  - Glitazones (antidiabétique : psychose de la surveillance médicamenteuse, OSEF)

Ils ont un mécanisme d'action assez similaire aux récepteurs intracellulaires : ce sont des structures qui sont à l'intérieur de la cellule et qui vont agir comme des modificateurs de la transcription, qui vont donc agir sur des séquences d'ADN par l'intermédiaire de groupements dimériques (homodimère, hétérodimère) qui sont des protéines de famille modulateur de la transcription : FOX, STAT ... et qui selon mode d'action auront des effets qui agissent en :

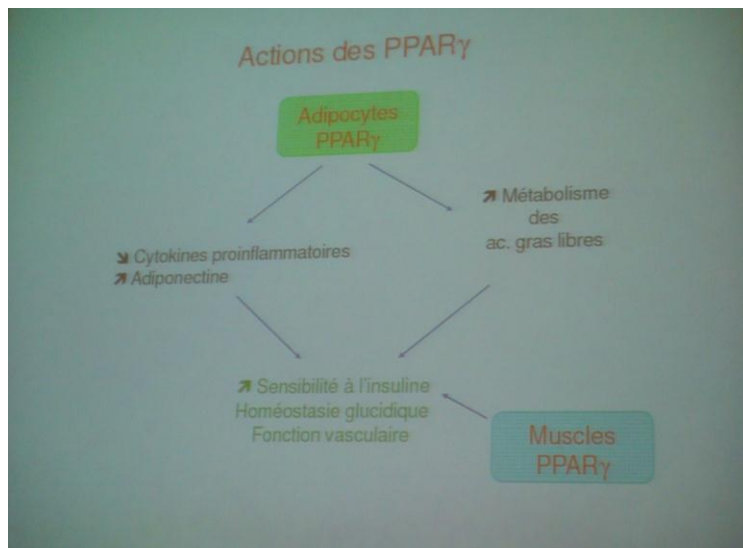
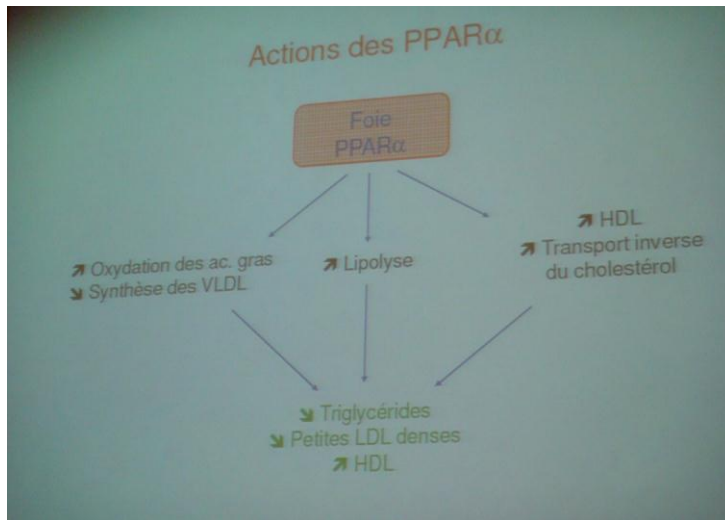
- Trans-répression : blocage de la transcription comme les anti-inflammatoires, ( trans = situation par rapport à la lecture de l'ADN) et maintient homéostasie : lipides, glucides, glucose.
- Trans-activation : activation de la transcription.

#### **a) Les sous-types de PPAR : degré d'homologie**

Comme les récepteurs nucléaires, schéma de fonctionnement très proche : homologie conservée, zone de fixation à l'ADN, à son ligand, zones régulatrices : □ Basé sur fixation de l'ADN donc modifie la transcription

Ligands des PPAR

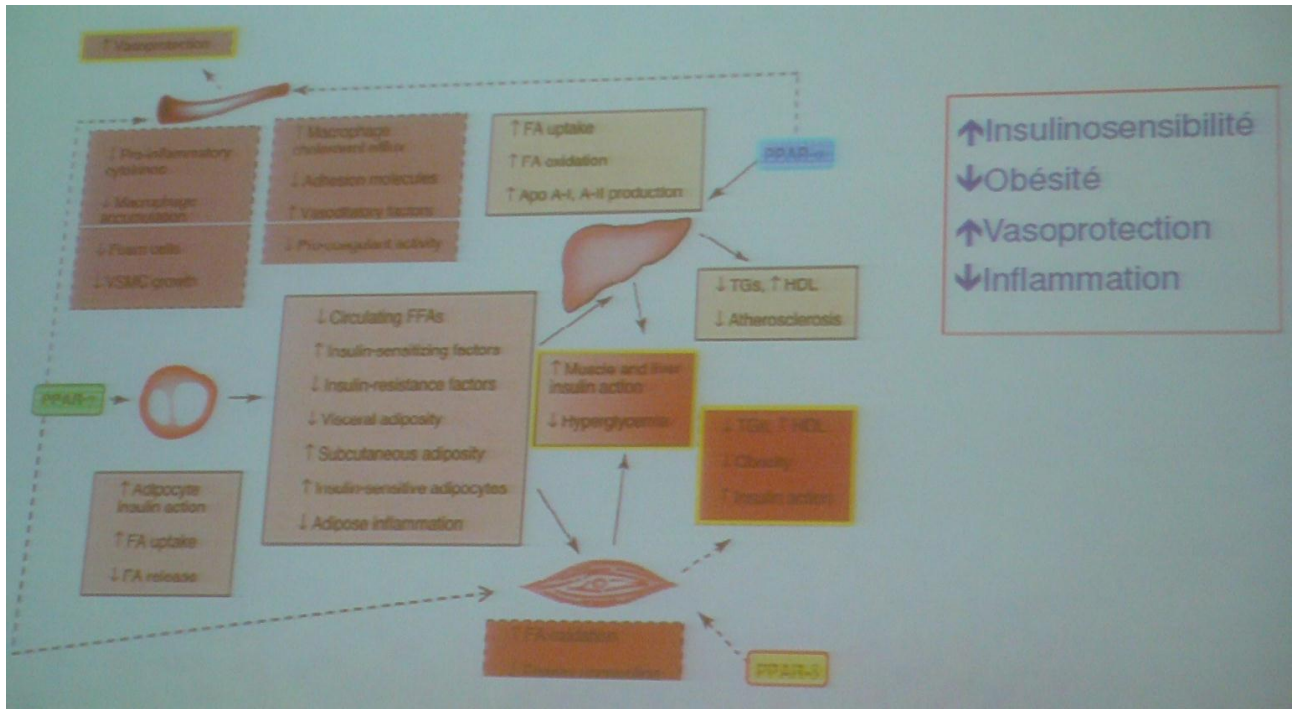
- PPAR  $\alpha$  :
  - Acides gras polyinsaturés et dérivés oxydés
  - Fibrates (hypocholestérolémiant synthétiques)
- PPAR  $\beta/\delta$ 
  - Acides gras polyinsaturés
  - Prostaglandines (dérivé d'acide)
- PPAR  $\gamma$ 
  - Dérivés des acides gras : acides hydroxyoctadécadiénoïques (HODE)
  - Prostaglandines
  - LDL oxydés
  - Glitazones/thiazolidinediones (insulino-sensibilisants synthétiques)



### b) Récepteurs présents dans différents organes :

- Foie : augmentation lipolyse donc modification du taux de tryglycérides
- Muscle adipocytes, macrophages (type PPAR bêta delta) : augmentation des acides gras, et diminution masse adipeuse et corporelle □ lutte contre l'obésité, augmentation sensibilité à l'insuline et augmentation du taux de lipides circulants de haute densité (HDL) : action métabolique de régulation.
- Adipocytes (PPAR gamma) : action sur l'inflammation (lien avec l'obésité ! Recherches en cours), augmentation sensibilité à l'insuline et donc meilleure régulation des glucides au niveau des adipocytes et des muscles.

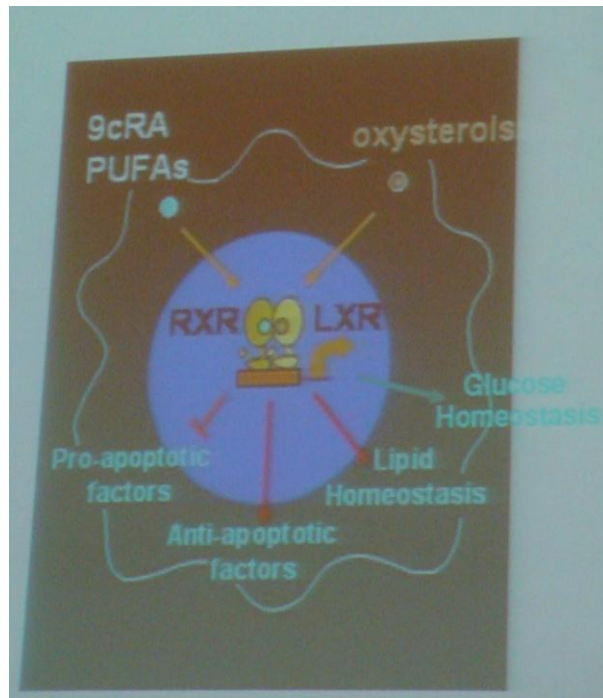
➔ Importance +++ de ces récepteurs dans les dyslipidémies, et le diabète



**c) LXR : récepteur hépatique activé (liver activated receptor) :**

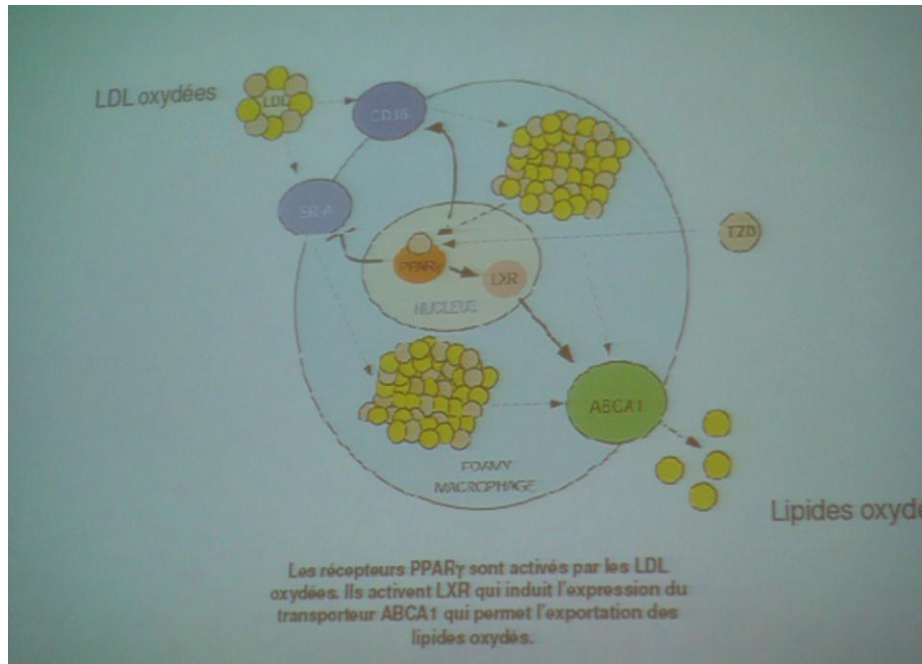
Un « nouveau récepteur » activé :

- effet anti apoptotique (protection cellulaire)
- modification de la sensibilité au glucose
- contrôle de la concentration des liquides circulants



### Interactions :

- Interaction entre PPAR $\gamma$  et LXR  $\rightarrow$  Homéostasie
- Stimulation des PPAR  $\alpha$  et  $\gamma$  sur LXR : lutte contre l'athérosclérose
- Interaction entre PPAR $\gamma$  et LXR dans le transport des lipides dans les macrophages.



## RÉCÉPTEURS MEMBRANAIRES

Molécules lipophiles agissent directement à l'intérieur de la cellule, les autres doivent passer par un récepteur de surface = récepteur membranaire, pour répondre aux stimulations de ces molécules.

Il existe 2 familles de récepteurs protéines transmembranaires :

- 7 traversées membranaires :
  - sans activité enzymatique directe
  - = RCPG, Canaux ioniques ...
  - Boucles de protéines qui traversent plusieurs fois la membrane (extrémités N terminales à l'extérieur, C terminale à l'intérieur)
- 1 traversée membranaire :
  - à activité enzymatique
  - = RTK, RTP ...
  - Une partie intérieure et une partie extérieure

### A - Propriétés générales

- Protéines transmembranaires comprenant un site de liaison = LE RECEPTEUR pour un messager extracellulaire (ligand) ainsi que généralement des sites de liaison pour des protéines intracellulaires (modification liée au ligand transmise aux protéines intracellulaires qui vont transmettre l'information)

- Possèdent ou non une activité catalytique
  - + : kinases, phosphatases, guanylate cyclases, ...
  - : RCPG, récepteurs intracellulaires, récepteurs canaux, ou du cytosquelette : intégrines, cadhérines

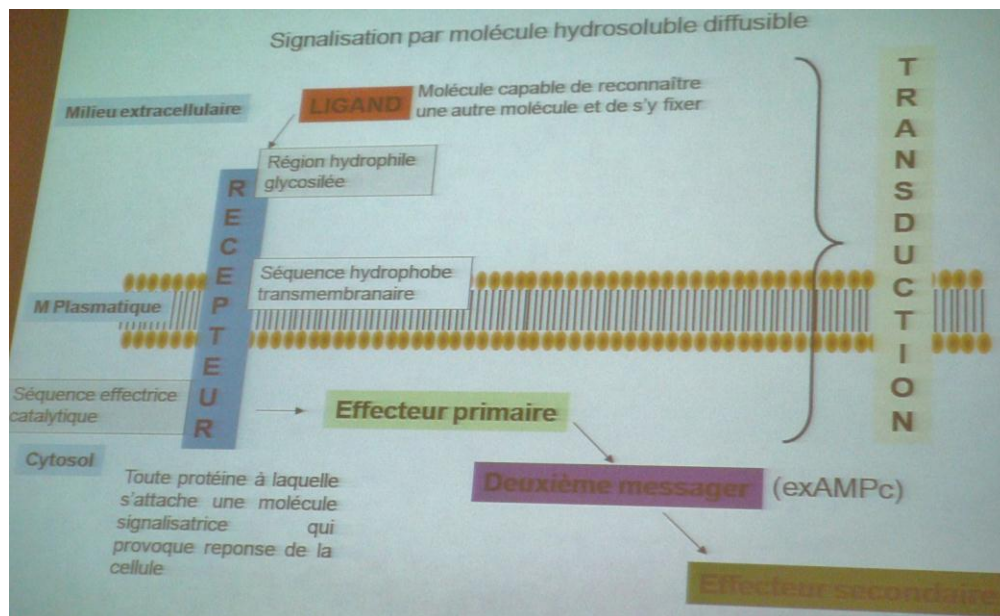
Ehrlich 1910 : « Pour qu'une substance puisse agir, elle doit se fixer »

Les récepteurs membranaires sont des protéines membranaires intrinsèques reconnaissant des molécules hydrophiles (peptides, protéines...)

- 3 domaines :
  - Extracellulaire: Hydrophile (glycosilé) ; Site de reconnaissance porte des branches de type « sucre », reconnaissance passe donc par molécule type glycosilée et fixation spécifique du ligand
  - Transmembranaire : Séquence(s) hydrophobe(s)
  - Intracellulaire : Domaine fonctionnel (Transduction), encore hydrophile, de type multimère ou monomère.

Signalisation par molécules hydrosolubles diffusibles agissent comme un ligand, se fixent et est mise en rapport avec l'intérieur de la cellule par la séquence lipophile : cascades d'effecteurs, rôles de transport de l'information arrivé par le ligand qui vont modifier la vie de la cellule

→ Transduction du signal (Transport + traduction du signal)

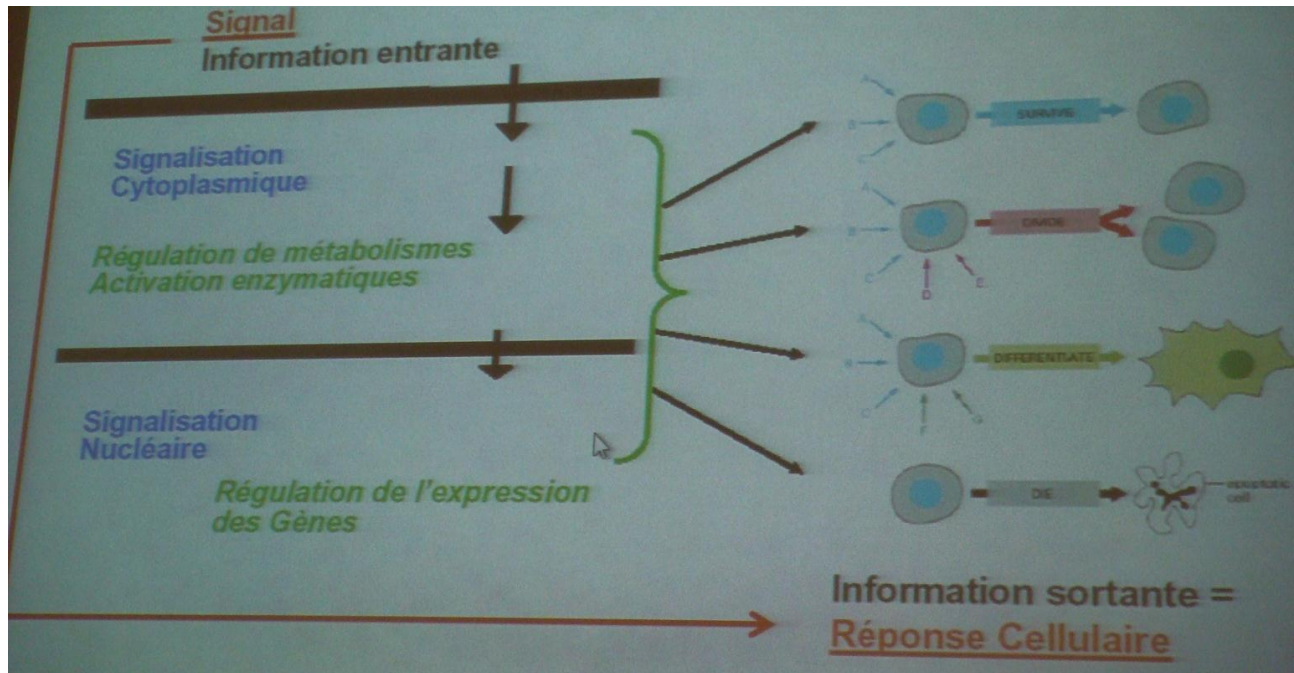


- La liaison ligand – récepteur : interactions
  - Liaison de faible énergie car réversible : ligand vient se fixer et libère vite la place.
  - Hydrogène, de Van der Waals, ioniques, hydrophobiques. Activation du récepteur va être fonction du nombre de stimulation.
  - Sensibilité à l'environnement (PH, ions ...)
  - Caractéristiques :
    - Réversibilité :  $L + R \rightleftharpoons L \cdot R$
    - Sensibilité à l'environnement (PH, ions)
    - Haute affinité :  $K_d = \frac{[L][R]}{[L \cdot R]} \leq 10^{-8} M$  □ ordre nanomolaire
    - Spécificité

- Capacité limitée (oui, car réversibles)

### 1) Comment le signal extracellulaire est converti en signal intracellulaire ?

- Signalisation et fonctionnement cellulaire



- premier degré d'activation se trouve dans le cytosol : modification activité enzymatique et régulation métabolique

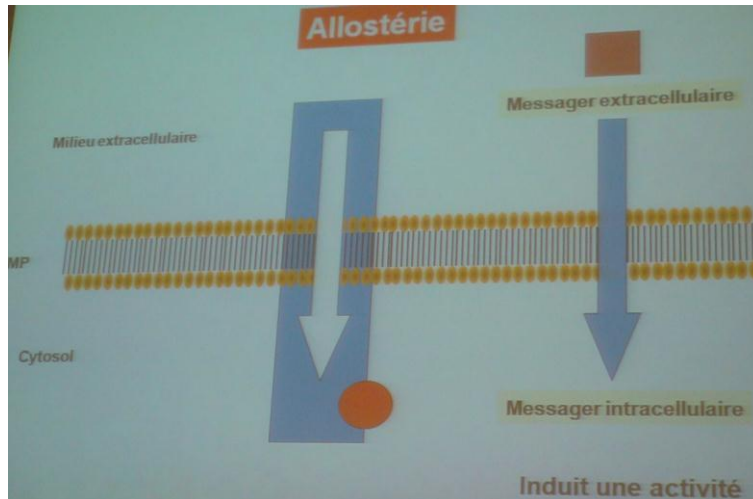
- second degré : il peut y avoir modification de la transcription par cascade, donc régulation d'expression des gènes et action de modulateur.

On a donc signal → information → réponse cellulaire

Réponse cellulaire = survie, division, différenciation, mort et est fonction de la sommation des signaux et cascades qui se déroulent dans la cellule.

- Allostérie

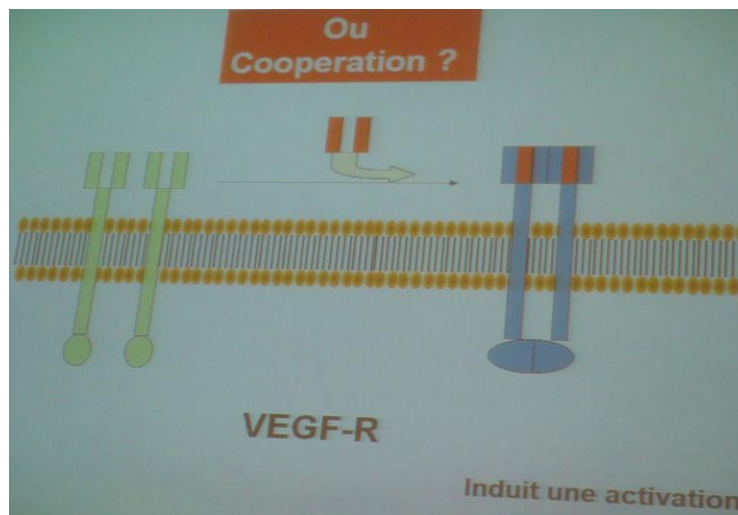
Changement de conformation, changement d'état, par la fixation du ligand sur le récepteur qui entraîne une modification de ce récepteur → modification des effets



- Ou Coopération

Fixation du ligand = dimérisation du récepteur → activation des effets enzymatiques du récepteur (ou désactivation, « activation » employé dans un sens très large)

Au moins deux molécules sont mises en coopération : la fixation du ligand entraîne la dimérisation.

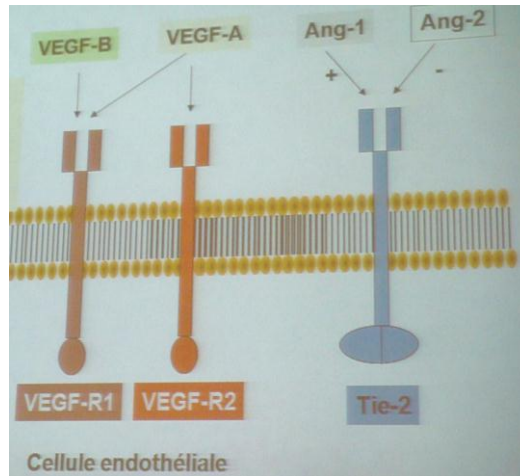
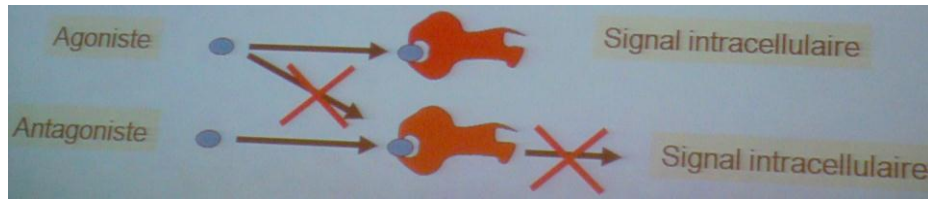


## 2) Ligands/Agonistes/Antagonistes

- Agonistes
- Antagonistes :
  - Compétitifs : le plus concentré agit
  - ou non compétitifs

« Agents qui se lie à un récepteur spécifique en induisant son activation »

« Substance qui se lie à un récepteur sans provoquer son activation mais qui peut bloquer l'action d'un médiateur agoniste »

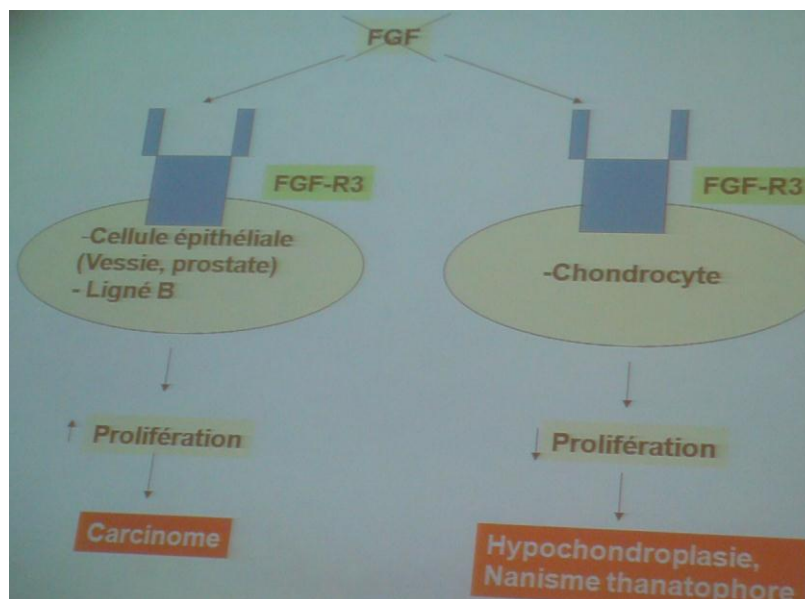


- 1 ligand → 1 récepteur
- 1 ligand → n récepteurs
- N ligand → 1 récepteur

On peut donc obtenir le même effet ou plusieurs effets, sachant que l'effet cellulaire = F(récepteur, ligand, type de cellule, tissu).

Sans oublier les Interaction entre les voies de signalisation...

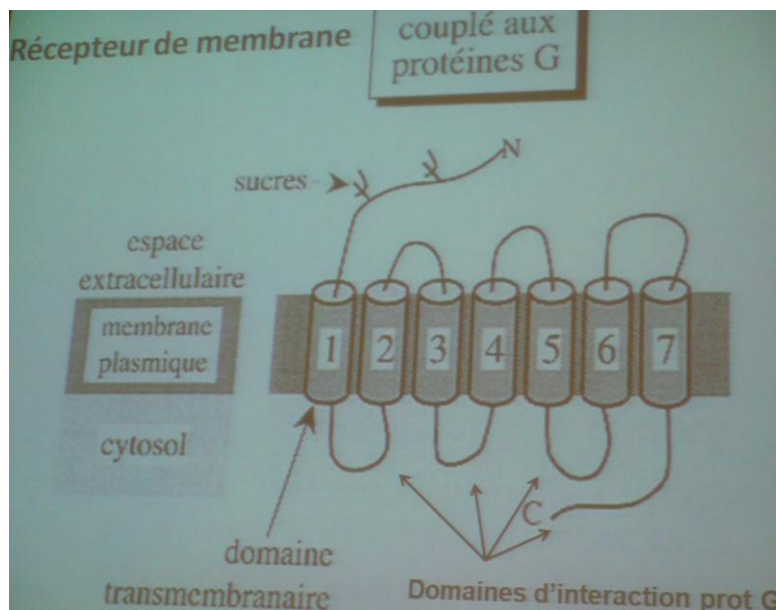
La réponse cellulaire est encore une fois une sommation de tout ça.



L'effet diffère totalement selon le type cellulaire !

## **B- Les récepteurs couplé aux protéines G**

- Pas d'activité catalytique
- Transmettent le signal par l'intermédiaire d'une protéine régulatrice (pG) = protéine associée au récepteur
- Ces pG activent des enzymes (effecteurs), dont l'activation produit ou mobilise un second messenger, eux même permettant de réguler l'activité d'autres enzymes ou canaux déclenchant des réponses cellulaires.
- Mécanisme de signalisation basé sur la formation d'un complexe H-R-G-E (Hormone Récepteur Protéine G Effecteur)
- Structure
  - 7 domaines transmembranaires = 6 boucles extérieures
  - 6 boucles intracellulaires et extracellulaires
  - 1 domaine Nt extracellulaire : extrémité glycosilée
  - 1 domaine Ct intracellulaire
- Domaine de liaison du ligand
  - spécifique
  - extracellulaire (très certainement) ou intra-membranaire (exceptionnellement)
- Domaine d'interaction avec les pG
  - boucles intracellulaires : peuvent être sur la première boucle, sur l'extrémité C terminale... familles de ligand et activités différentes
- Absence d'activation catalytique

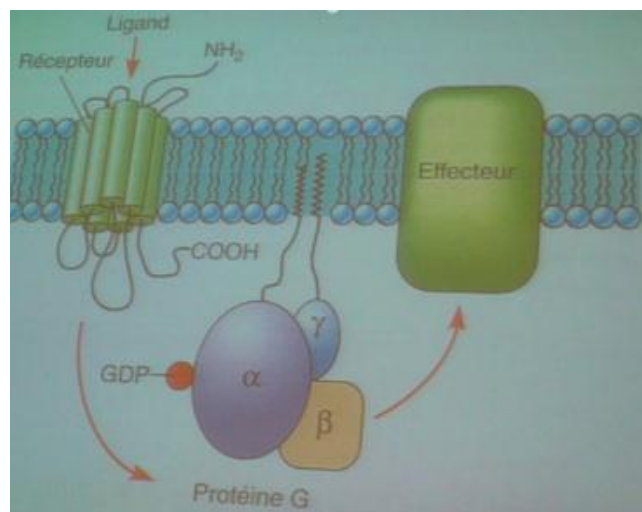


## Ⓐ Découverte des protéines G

- Un mutant d'une lignée cellulaire de lymphome de souris (S49<sup>unc</sup>: uncoupled) :
  - Exprime des récepteurs adrénérgiques
  - Réponse = activité des AC = adénylate cyclase
  - Mais l'adrénaline n'exprime pas l'AC : Il manque une protéine nécessaire au couplage récepteur
  - AC
- Si l'on rajoute des protéines membranaires solubilisées de S49 normales aux membranes de S49<sup>unc</sup>, on restaure l'activité de l'AC par l'adrénaline en présence de GTP → il existe bien une protéine membranaire qui permet de lier adrénaline et l'activation de l'AC : le GTP indispensable à l'activation de l'AC par le récepteur
- En utilisant ce système, il a été possible par purifications successives d'isoler la protéine liant le GTP et de la cloner.
- Propriétés
  - Lie le GTP et le GDP
  - Hydrolyse le GTP en GDP □ Activité GTPase (d'où le nom = protéine G)
  - Activée par le GTP mais PAS LE GDP !

## Ⓑ Structure des protéines G

- Les protéines G sont hétérotrimériques :
  - Composées de 3 sous unités différentes :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$
- $\alpha$ 
  - lient le GTP et le GDP
  - activité GTPase
  - interagit de façon spécifique avec les effecteurs (transmet le signal à distance)
- $\beta$  et  $\gamma$ 
  - forment un complexe de très haute affinité pour la protéine G
  - lient  $\alpha$  sous sa forme inactive (= liée au GDP) : lient complexe  $\alpha$ GDP (alors que le complexe  $\alpha$ GTP en est dissocié)
  - peuvent également interagir avec certains effecteurs
  - sont ancrées à la membrane plasmique = protéine cytosolique ancrée à la membrane plasmique.



- La pG a un rôle de navette entre le récepteur et un effecteur enzymatique.

### © Mise en évidence des mécanismes de signalisation des RCPG

- Découverte de l'AMPc cyclique et théorie du « second messenger » (1959)
  - A partir de l'étude des mécanismes de la glycogénolyse (l'AMPc activé activait un certain nombre d'enzymes)
  - hépatocytes en présence d'adrénaline fait apparaître du glucose :  
glycogène  $\rightarrow$  glucose-1-PO<sub>4</sub>  $\rightarrow$  glucose-1-6-PO<sub>4</sub>  $\rightarrow$  glucose
  - adrénaline augmentent l'activité de la glycogène phosphorylase dans les hépatocytes intacts
  - adrénaline n'augmente pas la glycogène phosphorylase purifiée (pas par contact direct)  $\rightarrow$  il faut donc un facteur intermédiaire
  - Membranes d'hépatocytes + adrénaline + ATP  $\rightarrow$  facteur capable d'activer la phosphorylase
  - Ce facteur est l'AMPc = 3',5' AMP cyclique (AMPc), qui a valu le prix Nobel à Sutherland en 1965 (DINGUE). Mécanisme universel, intermédiaire indispensable.
  - Comment apparaît l'AMPc ?  
Active une enzyme : adénylcyclase (AC), transforme l'ATP en AMPc.  
AMPc détruit par l'AMPc phosphodiesterase  
 $\rightarrow$  Cycle

### ① Séparation des récepteurs et de l'AC par chromatographie d'affinité (1979)

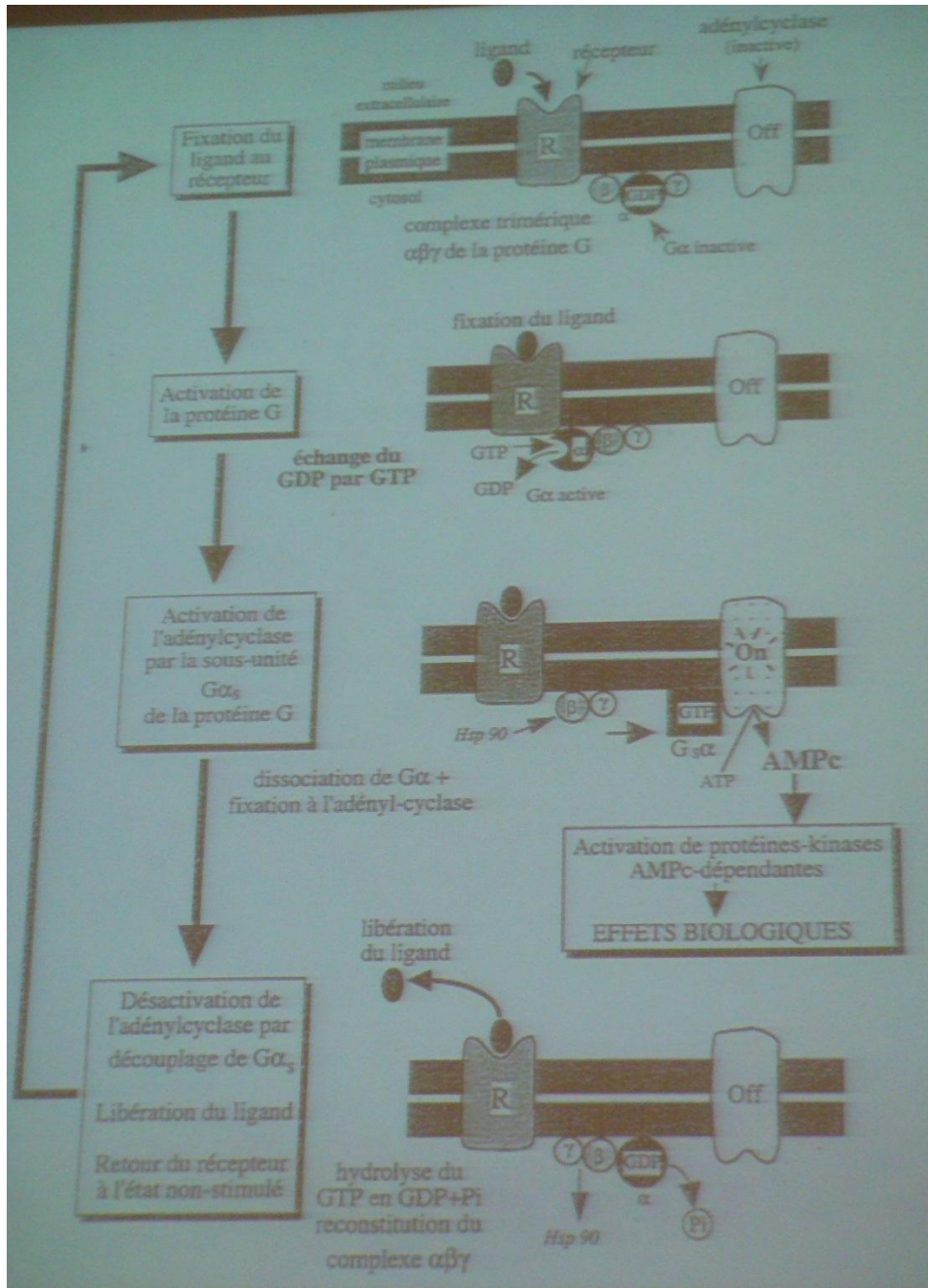
- Chromatographie d'affinité des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques :
  - un analogue synthétique stable de l'adrénaline ( $\beta$ -bloquant : alprenolol) est couplé à une matrice (billes d'agarose)
  - des membranes de cellules répondant à l'adrénaline (fabriquant donc de l'AMPc) sont solubilisées (détergent) et exposées à cette matrice
  - lors du lavage on récupère de l'AC mais pas de molécules capables de lier l'adrénaline. On ne récupère donc pas le récepteur mais l'effecteur.
  - l'éluion de la matrice avec de l'adrénaline permet de récupérer des protéines liant l'adrénaline  $\rightarrow$  L'AC et le récepteur sont deux molécules distinctes

L'AC est une enzyme transmembranaire, formée de 2x6 traversées, de structure à 12 domaines intramembranaires. En présence d'ATP et lorsque qu'elle est activée par la pG, produit de l'AMPc.

### ② Comment le récepteur active t il l'AC ?

- membranes + adrénaline + atp  $\rightarrow$  AMPc
- membranes « lavées » (déprotéinisées) + adrénaline + ATP  $\rightarrow$  0  $\rightarrow$  il manque un facteur
- membrane « lavées » + adrénaline + ATP + GTP  $\rightarrow$  AMPc +++
- >>> Le GTP (guanosine triphosphate) est indispensable à l'activation de l'adényl cyclase
- Le GTP ne se lie ni au récepteur ni à l'AC >>> il doit exister une protéine liant le GTP et interagissant avec le récepteur et l'AC : la pG.

La pGαGTP (GTPase) + adénylcyclase ATP/ADP (ATPase) + récepteur βadrénergique.  
 Fixation du ligand entraîne des modifications allostérique qui fait que ce récepteur peut fixer la sous unité α de la pG = Liaison ligand/récepteur/pG  
 L'adénylcyclase fait qu'il se produit un échange GDP en GTP, le GDP va être exclu remplacé du GTP ce qui induit que l'affinité qu'avait la sous unité α pour ce récepteur diminue et par contre elle gagne en affinité pour l'adénylcyclase → adénylcyclase activé, acquiert son activité ATPasique pour fabriquer de l'AMPc. C'est un cycle.



Synthèse : 4 grandes étapes

- Fixation du ligand à son récepteur
- Activation de la pG
- Activation de l'adénylcyclase
- Désactivation du système

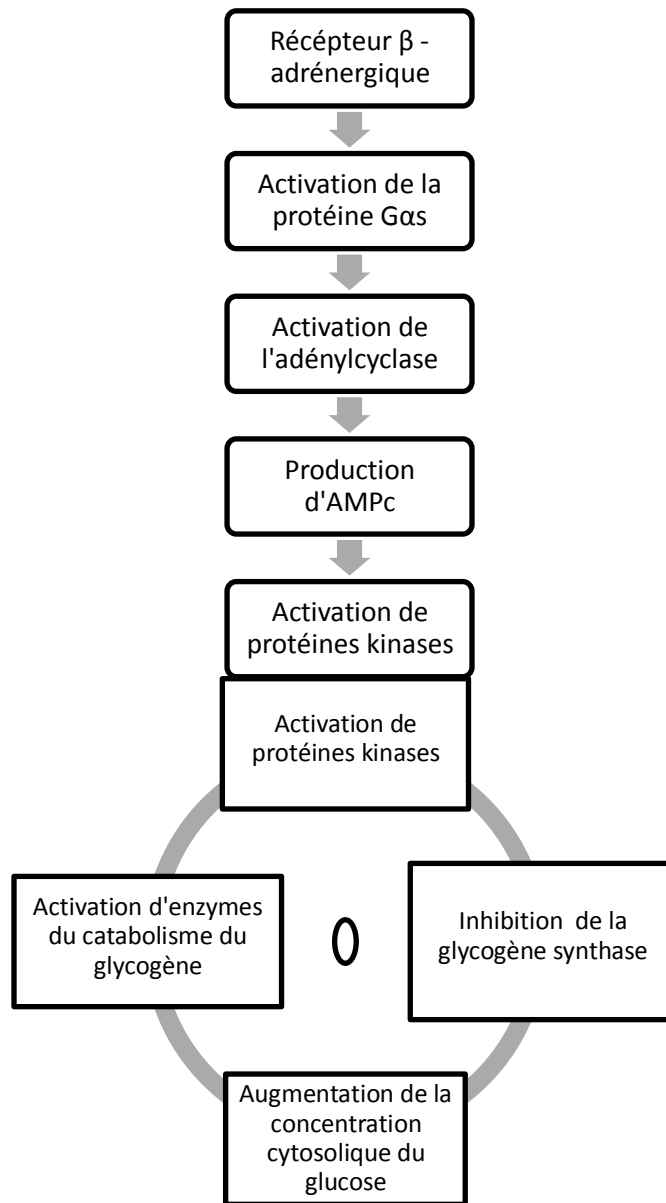


Schéma : AMP cyclique coloré en fonction de la concentration : plus il est concentré ++ = rouge ++.

**Mécanisme de déclenchement rapide**, synthèse AMPc déclenchée après quelques secondes. Adrénaline = hormone à action immédiate, dilation des bronches, augmentation du rythme cardiaque, selon les tissus il y a action différente mais la sommation des actions vont dans le même sens. Toujours la même hormone, le même récepteur.

## Ⓕ Amplification du signal hormonal

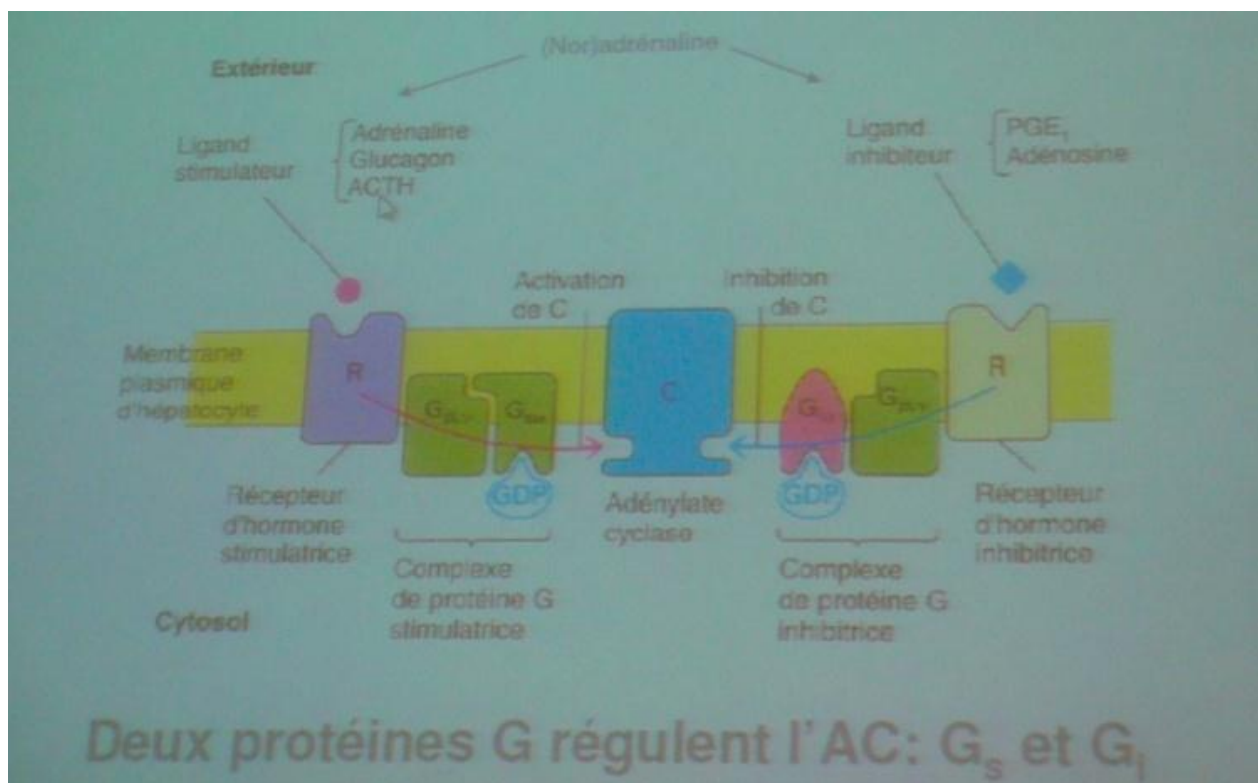
Chaque AC activé génère beaucoup d'AMPc = AMPLIFICATION ; chaque AMPc stimule une PKA, et chaque PKA phosphoryle plusieurs kinases = AMPLIFICATION ; enfin chaque kinase en phosphoryle encore plus, incluant d'autres kinases = AMPLIFICATION.

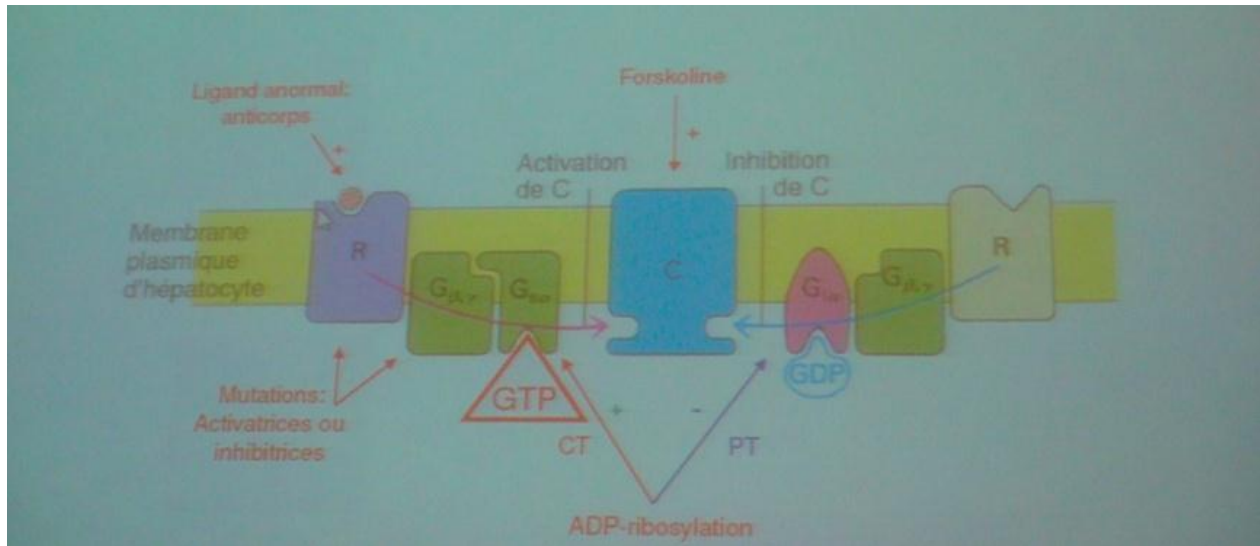
## Ⓖ Régulation de l'activité de l'AC : activation et inhibition

Ligands stimulateur ou inhibiteur : arrêt ou stimulation de la production d'AMPc.

Il existe deux types de protéine G régulant l'AC : **G<sub>s</sub>** et **G<sub>i</sub>**, qui permettent **Stimulation** ou **Inhibition**.

D'autres facteurs agissent sur l'activité, facteurs de l'environnement : anticorps (perturbant la disponibilité du récepteur en mimant le ligand), mutations génétiques pathologiques et physiologiques, ribosylation, régulateurs pharmacologiques.





Mécanisme d'activation par protéine G est considéré comme un facteur amplificateur :  
 1 molécule d'adrénaline → 1 récepteur βadrénergique → activation 1 pGas → activation 1 molécule d'adénylcyclase → 40 AMPc → ces molécules d'AMPc vont activer ou inhiber d'autres enzymes DONC sur **UNE** molécule adrénaline = **plus de 10000** protéines activées au final à l'intérieur du cytosol

- Amplification très importante !

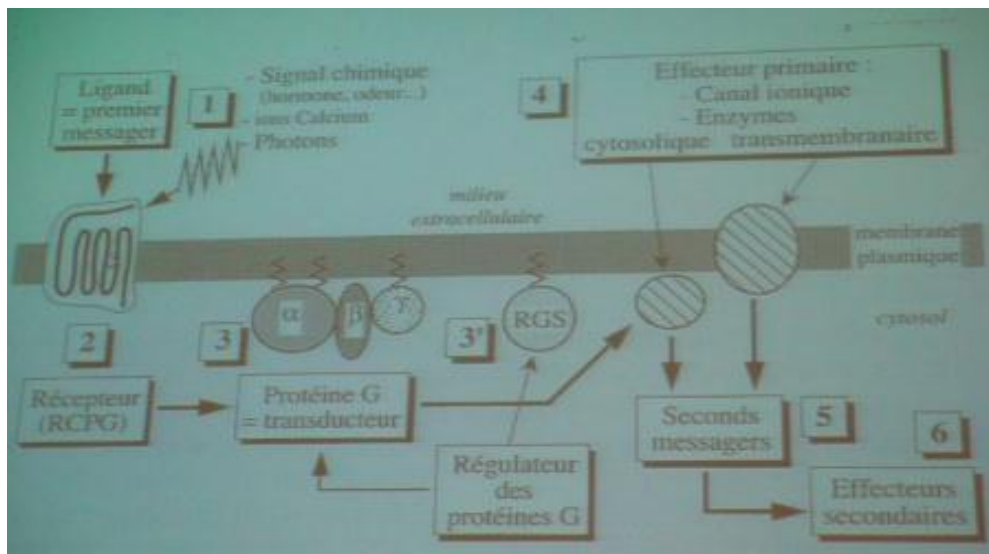
Donc les molécules signales ont besoin d'être en très faible concentration pour avoir un effet cellulaire rapide et majeur.

### Ⓜ Actions multiples de l'AMPc

Il existe plusieurs effets cibles :

- fabrication microtubules
- activation des protéines kinases (phosphorylation autres enzymes = activations multiples cytosoliques et nucléaires)

Au final, beaucoup d'effecteurs en aval activés, liés à l'activation du second messenger.



### ① Production et dégradation de l'AMPC

Diapo. Complémentaire n°3

L'AMPC apparaît en jaune et rouge en fonction de sa concentration. Sa synthèse est déclenchée quelques secondes après exposition à la 5-HT. Il est dégradé au bout de quelques minutes par les phosphodiésterases (PDE) en 5'-AMP biologiquement inactif.

### ① Classement fonction du domaine d'activation du récepteur :

**Groupe I :** Les molécules d'activation sont multiples, on retrouve des hormones (adré, noradré), des neurotransmetteurs (dopamine, GABA, sérotonine, acétylcholine), des opiacés et deux choses particulières le rétinol ou les agents olfactifs : activation des bâtonnets par la rétine ; récepteurs olfactifs activés par des pG.

Ia	Ib	Ic
Adrénaline	TRH	TSH
Noradrénaline	Cytokines	LH
Acétylcholine	Substance P	FSH
Rétinal	Neuropeptide Y	CG
Séotonine	Neurotensine	
Dopamine	Cholécystokinine	
GABA	Vasopressine	
Adénosine	Angiotensine	
Opiacés	Somatostatine	
Agents olfactifs	Anandamide	

⇒ **Groupe II :** essentiellement des hormones

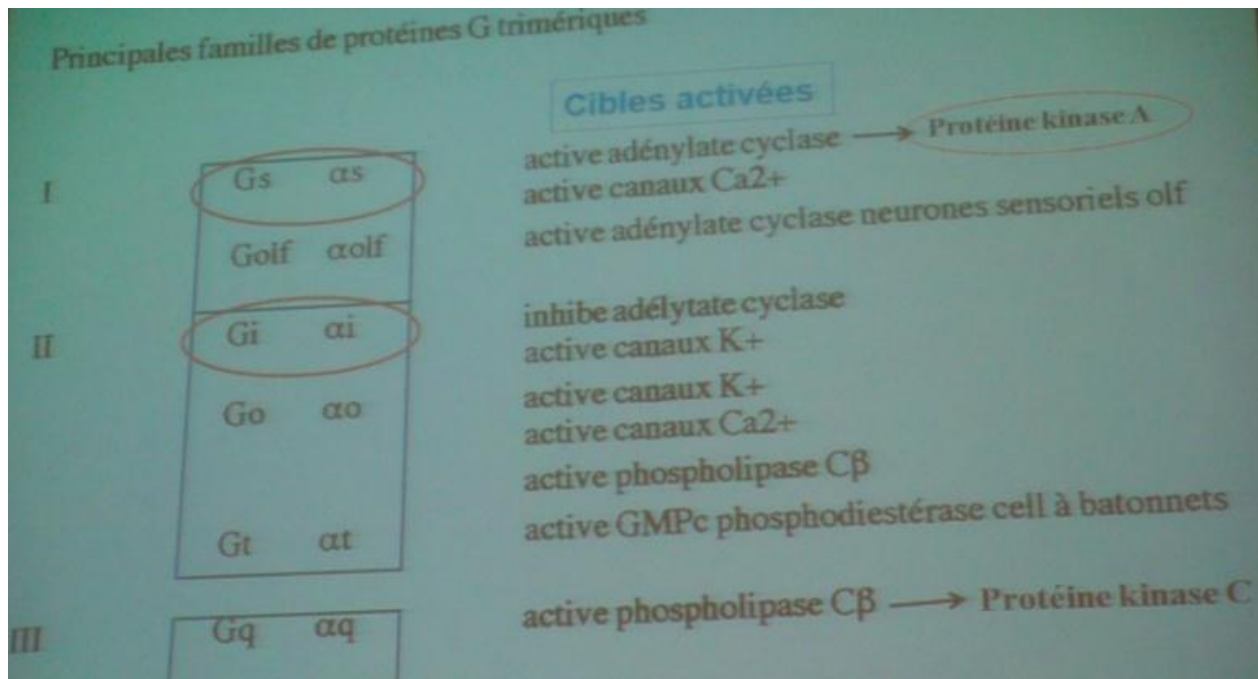
Calcitonine
Sécrétine
PACAP
Parathormone
VIP
CRH
GNRH

⇒ **Groupe III :**

Glutamate
Récepteurs calcium

Selon le type de molécule, le couplage à la protéine G diffère, boucle différente concernée mais pas de conséquence directe, seulement la connaissance de fonctionnement moléculaire.

Ⓚ Principales familles de protéines G trimériques, selon type de la sous unité alpha de la protéine G



Cibles activées :

- Gs :
  - activation de l'adénylate cyclase (effecteur secondaire)
  - activation de canaux calciques : ouverture d'un canal calcique. Le Ca est le second messenger, beaucoup de cellules sont sensibles à la concentration calcique.
- Protéine G olfactive : activation protéine adénylate cyclase ou canaux calciques dans les neurones sensoriels olfactifs → cible = protéine kinase A
- Gi (= le pendant inhibiteur de Gs) Go : inhibition adénylate cyclase et activation phosphodiesterase (destruction AMPc) et modification de la membrane (modifie fonctionnement des canaux calciques et potassiques)  
Gt (transducine) : spécifique de la rétine, dans les cellules à bâtonnets.
- Gq : agit sur phospholipase  $C\beta$  (activation) = modification des lipides de la membrane => activation protéine kinase C

Effecteurs principaux : canaux, adénylate cyclase, phospholipase etc.

### ① Principales hormones actives sur un R à PG $\alpha$ -s

Hormones	Organes	Action
H thyroïdote : TSH	Thyroïde	Thyroxine
H corticotrope : ACTH	Corticosurrénale Tissu adipeux	Corisol Catabolisme des triglycérides (TG)
LH	Ovaire	Progestérone
Adrénaline	Muscle squelettique Muscle cardiaque Tissu adipeux	Catabolisme du glycogène Aug fréquence cardiaque Catabolisme des TG
Glucagon	Foie Tissu adipeux	Dégradation du glycogène Catabolisme des TG
PTH	Os	Résorption osseuse
Vasopressine	Rein	Résorption d'eau

G $\alpha$ -s peut agir par activation d'un canal ionique : **récepteur muscarinique de l'acétylcholine**.  
Il s'agit d'un canal potassium dans la membrane ouvert grâce à l'activation par la pGs.

#### **Phosphorylation protéine kinase A (PK AMPc - dépendante)**

Diapo. Complémentaire n°1

Diapo. Complémentaire n°2