

CHAPITRE V. TRANSDUCTION DU SIGNAL ET REGULATION DE LA FONCTION CELLULAIRE

Les cellules communiquent entre elles et avec le milieu environnant, ce mécanisme est appelé signalisation cellulaire ou communication cellulaire, afin de contrôler leur métabolisme et leurs besoins.

La signalisation cellulaire représente le système de communication des cellules des organismes multicellulaires. Elle repose en partie sur la sécrétion de signaux chimiques (ligand) pouvant être des hormones, des neurotransmetteurs, des facteurs de croissance...etc. Selon le type de signal, les conséquences au niveau cellulaire seront : survie, prolifération et/ou différenciation cellulaire. L'absence de signaux conduit à la mort cellulaire. La communication est donc assurée par de nombreuses molécules informatives.

Les modes de communication cellulaires peuvent être classés en fonction de la distance qui sépare la cellule émettrice du signal de la cellule cible. On trouve quatre types :

- **Signalisation endocrine** : Sécrétion par une cellule endocrine dans le courant sanguin (grande dispersion). Action sur une cellule cible à grande distance possédant un récepteur spécifique. Exemple de médiateurs : Hormones (polypeptidique ou stéroïde).
- **Signalisation paracrine** : Le signal est libéré dans la matrice extracellulaire et agit sur les cellules voisines. Elle concerne les médiateurs locaux tels que les facteurs de croissance et les médiateurs de l'inflammation.
- **Signalisation autocrine** : la cellule répond au signal qu'elle a elle-même sécrété. Exemple de médiateurs : les facteurs de croissance et les cytokines.
- **Synaptique chimique** : pas de dispersion du signal et l'action est très rapide. Le signal est libéré par la cellule présynaptique et agit seulement sur la cellule post-synaptique d'une jonction spécialisée voisine. Elle concerne les neurotransmetteurs (acétylcholine, glutamate, noradrénaline, ...etc).

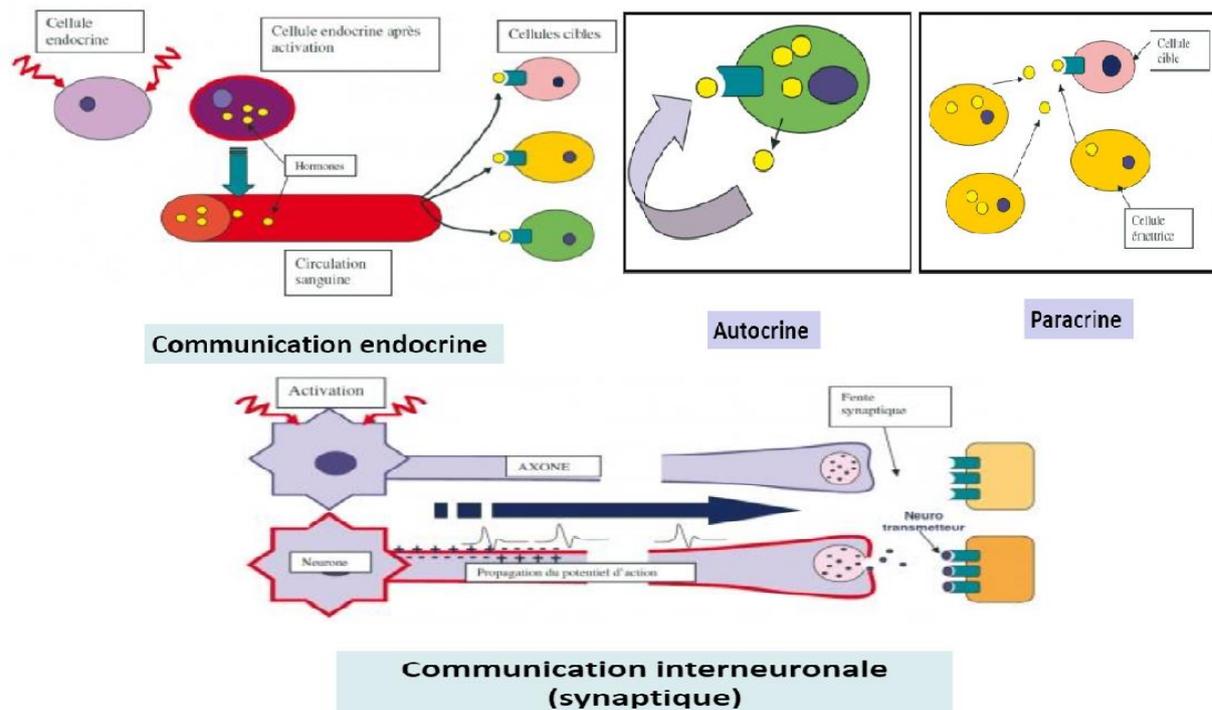


Figure V.1. Les différents modes de signalisation cellulaire [1].

I. Récepteurs et ligands

La signalisation requiert une molécule de signalisation, appelée ligand, et une molécule sur laquelle le ligand se fixe, appelée protéine réceptrice. Lorsqu'un ligand entre en contact avec un récepteur protéique de forme complémentaire, les deux se lient en un complexe. La liaison entraîne un changement de conformation de la protéine réceptrice qui, à son tour, induit une réponse dans la cellule via une voie de transduction de signal.

I.1. Les récepteurs

Ce sont des macromolécules qui existent en nombre limité dans quelques cellules dites cellules cibles, capables de reconnaître spécifiquement une molécule et d'induire à la suite de cette interaction une réponse. Ils possèdent plusieurs caractéristiques :

- Ils sont spécifiques : ils fixent un type de ligand donné. Mais peuvent accepter différents ligands en cas de structure presque identique. La spécificité n'est pas absolue.
- Ils ont une certaine affinité pour leur ligand : ils fixent leur ligand à faible (voire très faible) concentration, c'est la sensibilité.
- Ils sont saturables : le nombre de molécule de récepteur dans une cellule est fini, le nombre de ligand pouvant s'y fixer est donc également limité.

- Ils sont réversibles : la liaison entre le ligand et le récepteur est non covalente donc c'est une faible énergie qui les lie, le complexe peut alors se dissocier lorsque la concentration du ligand diminue. Leur association est donc réversible.
- Il faut qu'il y ait un système de couplage ligand-récepteur pour que ce qui se passe au niveau plasmique soit relayé dans la cellule par des protéines spécifiques.

Il y a deux grandes classes de récepteurs selon leur localisation :

- Les récepteurs nucléaires
- Les récepteurs membranaires :
 - Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) ;
 - Récepteurs canaux ioniques ;
 - Récepteurs enzymes.

I.1.1. Récepteurs nucléaires

Ces récepteurs sont des protéines monocaténares (formées d'une seule chaîne peptidique). Ils comportent 5 domaines fonctionnels :

- A/B : peu conservé (de faible homologie d'un récepteur à l'autre), c'est le domaine d'activation de la transcription. Il est situé en N-Term (5').
- C : bien conservé, c'est le domaine de liaison à l'ADN (= DLA, liaison de faible énergie). Il est également impliqué dans la dimérisation du récepteur (ex : récepteurs stéroïdiens).
- D : c'est un domaine de jonction entre les autres domaines et qui porte une séquence d'adressage au noyau (séquence peptidique spécifique) lorsqu'il s'agit d'un récepteur cytosolique qui transloque dans le noyau.
- E : c'est le domaine de liaison au ligand (= DLL), il est également impliqué dans la dimérisation pour certains types de récepteurs. Il peut également agir avec des co-régulateurs : co-répresseurs ou co-activateurs.
- F : c'est le domaine C-Term (3'). Il est variable.

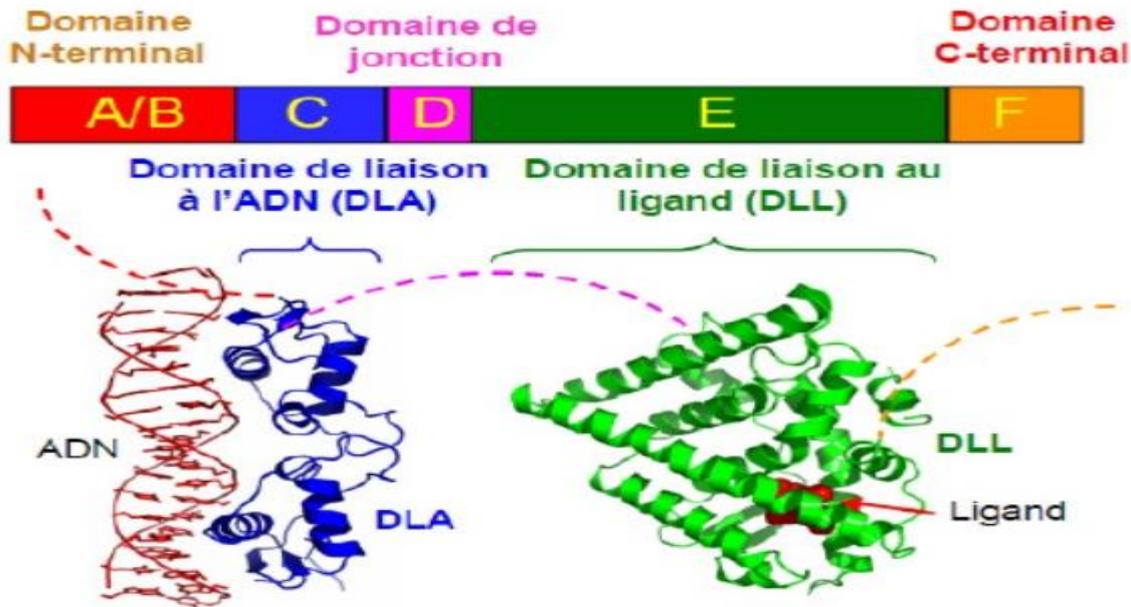


Figure V.2. Représentation schématique d'un récepteur nucléaire [2].

I.1.2. Récepteurs membranaires

Protéines membranaires glycosylées à 3 grands domaines :

- **Extracellulaire** (site de reconnaissance et fixation spécifique du ligand) ;
- **Transmembranaire** ;
- **Intracellulaire** (domaine fonctionnel du récepteur associé à la transduction du signal).

a. Récepteurs canaux ioniques

Les récepteurs canaux sont des perméases qui forment des pores aqueux au travers la bicouche lipidique de la membrane plasmique. Ils réalisent le transport passif des ions selon leur gradient électrochimique, à des vitesses au moins 100 fois supérieure à celle d'un transport actif avec perméase. Les canaux ioniques s'ouvrent rapidement et de façon transitoire suite à des perturbations spécifiques de la membrane plasmique tel que :

- Une variation de potentiel de la membrane ;
- La liaison d'un neurotransmetteur.

Exemple : Récepteurs de l'acétylcholine

Le récepteur muscarinique musculaire de l'acétylcholine est un récepteur canal ligand dépendant c'est-à-dire dont le fonctionnement est régulé par la fixation d'un neurotransmetteur. Ce récepteur est une protéine allostérique pentamérique de 300 kDa formés de deux 2 sous unités α portant le site de fixation du ligand et de trois sous unités β , ϵ et δ ou γ , ces 5 sous unités

délimitent le canal ionique. Chaque sou unité est formé de 4 domaines transmembranaires de M1 à M4 dont M2 porte le canal ionique.

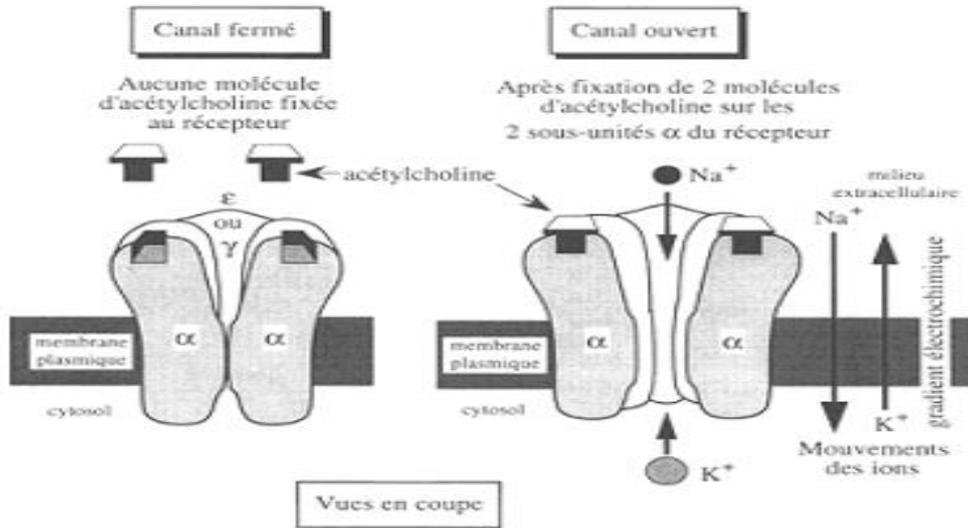


Figure V.3. Principe de fonctionnement d'un récepteur canal ionique (Exemple : récepteur nicotinique à l'acétylcholine) [3].

b. Récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPG)

Ils représentent la plus grande famille de récepteurs membranaires. Ils interviennent dans la reconnaissance des hormones, des neurotransmetteurs et de la perception sensorielle. La taille de ces protéines est très variable (de 200 à 1 500 acides aminés).

Le récepteur est constitué d'une seule chaîne polypeptidique avec un domaine N-Terminal glycosylé en extracellulaire, un domaine médian de 7 hélices α transmembranaires hydrophobes liées entre elles par de courtes boucles et un domaine C- Terminal intracellulaire qui porte des cycles de phosphorylation.

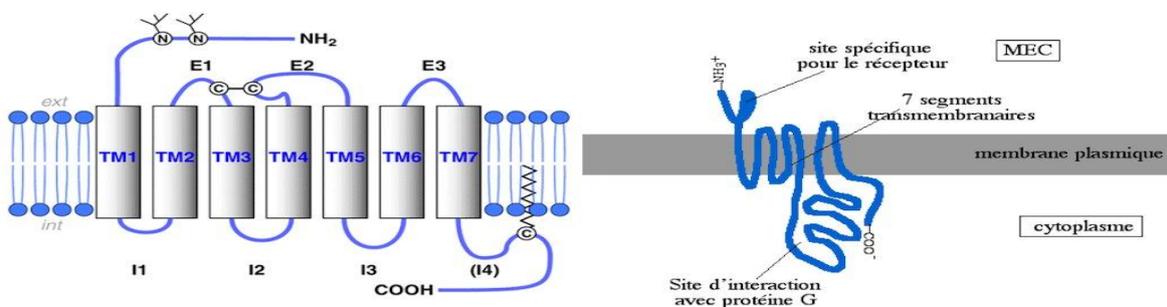


Figure V.4. Structure schématique générale des récepteurs couplés aux protéines G [4].

Ce sont des hétérotrimères $\alpha\beta\gamma$ (β et γ voisines). Elles sont ancrées à la membrane plasmique par différents types de chaînes hydrophobes. Elles se distinguent par la nature de la sous-unité α , il y a donc plusieurs types de protéines G hétérotrimériques. La sous-unité α peut lier le nucléotide guanylique (GTP ou GDP) et possède une activité GTPase car elle peut hydrolyser le GTP en GDP + Pi (Phosphate inorganique). L'ancrage à la MP est assuré par des groupements hydrophobes :

- Groupement myristyl pour la sous-unité α . Il provient d'un AG saturé (acide myristique, 14C) qui est fixé sur le résidu glycine de l'extrémité NH₂ de la protéine par une liaison amide.
- Groupement farnésyl pour la sous-unité γ . Il provient du farnésyle diphosphate (terpène, 15C) qui se fixe sur le S de la cystéine en C-terminal par une liaison thioéther.

La protéine G hétérotrimérique est liée au récepteur au niveau de la zone C-Terminal du récepteur (face cytoplasmique). A l'état non stimulé, la sous-unité α a son GDP lié à la protéine G et l'ensemble est inactif. Lorsqu'elle est stimulée par le récepteur qui est activé la fixation d'un ligand (changement de conformation), elle relargue le GDP et se lie à une molécule de GTP. L'autre complexe qui reste, le complexe $\beta\gamma$, est également activé : il y a dissociation du trimère en un monomère α et un dimère $\beta\gamma$. La sous-unité α peut alors interagir avec des protéines cibles, les effecteurs (enzymes ou canaux ioniques). Ils transmettent ensuite le signal par une autre cascade de signalisation. Une fois que le signal est transmis, l'activité catalytique de la sous-unité α entre en jeu : le GTP est hydrolysé et les trois sous-unités se rassemblent pour former à nouveau un complexe trimérique inactif. Il y a un recyclage de la protéine G.

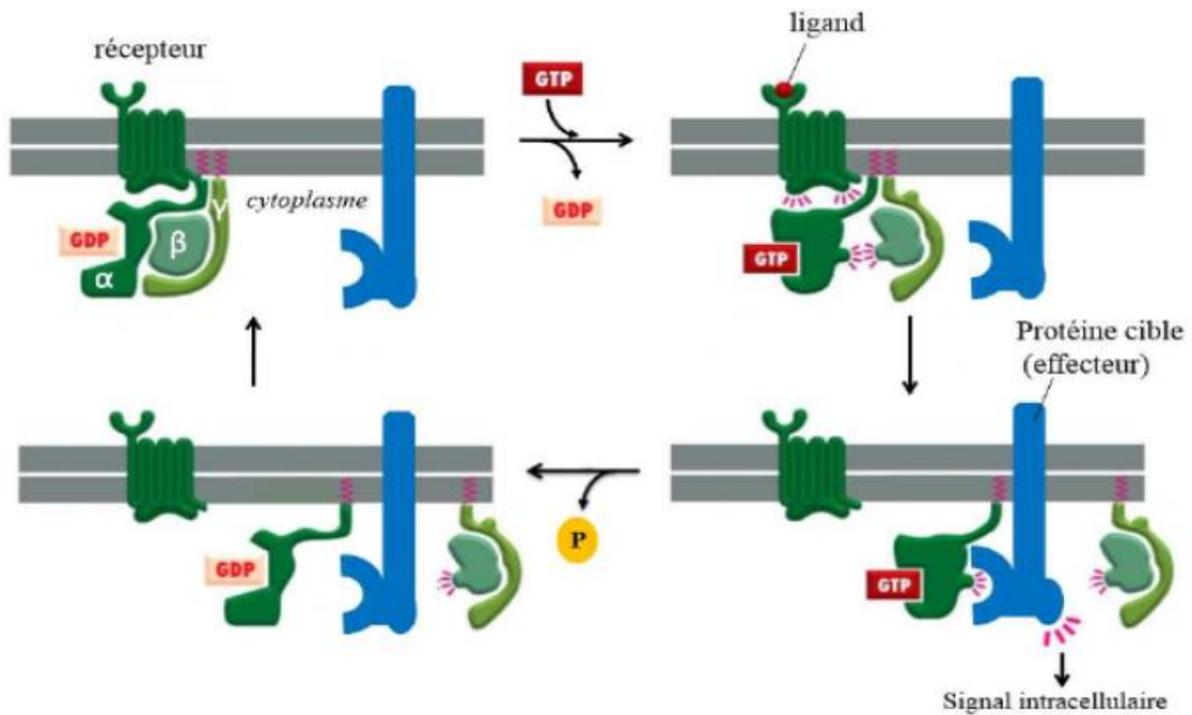


Figure V.5. Cycle d'activation/désactivation de récepteurs membranaires couplés aux protéines G [2].

c. Récepteurs enzymes

Ils possèdent :

- Un seul domaine transmembranaire ;
- Un domaine extracellulaire N-terminal glycosylé qui fixe le ligand ;
- Une extrémité cytoplasmique C-terminale qui porte l'activité enzymatique intrinsèque ou est directement associée à une enzyme.

Leurs caractéristiques :

- Ils sont inactifs à l'état de monomère et agissent pour la plupart sous forme de dimère ;
- Il existe plusieurs classes de récepteurs enzymes.
- Les plus répandus sont les récepteurs à activité tyrosine-kinase.
- Ils jouent un rôle déterminant dans l'action des facteurs de croissance (PDGF : Platelet-Derived Growth Factor, EGF : Epidermal Growth Factor...etc) et de l'insuline.

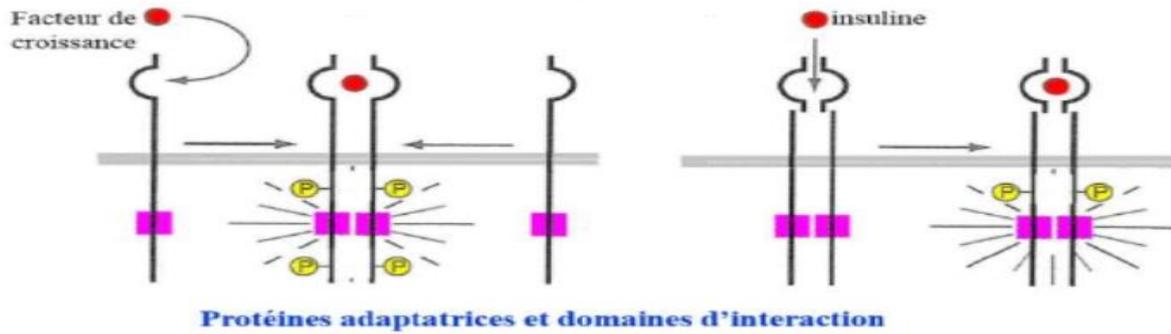


Figure V.6. Activation de récepteur enzyme [2].

II. Transducteurs et Facteurs de couplage

II.1. Cycle d'activation des protéines G

II.1.1. Les petites protéines G

Les petites protéines G représentent une super-famille de protéines (environ 100 protéines) classées en 5 familles principales : RAS, RAB, RHO, RAN et ARF chacune constituée par des sous-familles. Elles sont impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux et divers, comme la différenciation et la prolifération cellulaire, l'organisation et la dynamique du cytosquelette, et les transports intracellulaires.

Ces protéines fixent alternativement les nucléotides GDP et GTP et adoptent ainsi deux conformations : une forme de repos, associée au GDP, et une forme active, associée au GTP. Cette dernière peut interagir avec des protéines cibles appelées « effecteurs » et ainsi moduler leur activité.

Il existe différentes protéines G :

- des protéines G monomériques, comme les protéines Ras, Rho, qui sont impliquées dans la prolifération cellulaire. Les mutations de Ras sont associées à des cancers. Les protéines Ras et Rho sont de petites GTPases,
- des protéines G hétérotrimériques, associées aux membranes, qui possèdent trois sous-unités appelées $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$. La sous-unité $G\alpha$ fixe le GTP grâce à une poche de liaison. Les sous-unités $G\beta$ et $G\gamma$ interagissent avec des molécules effectrices. Les protéines G trimériques sont couplées à des récepteurs possédant sept domaines transmembranaires : les récepteurs couplés aux protéines G.

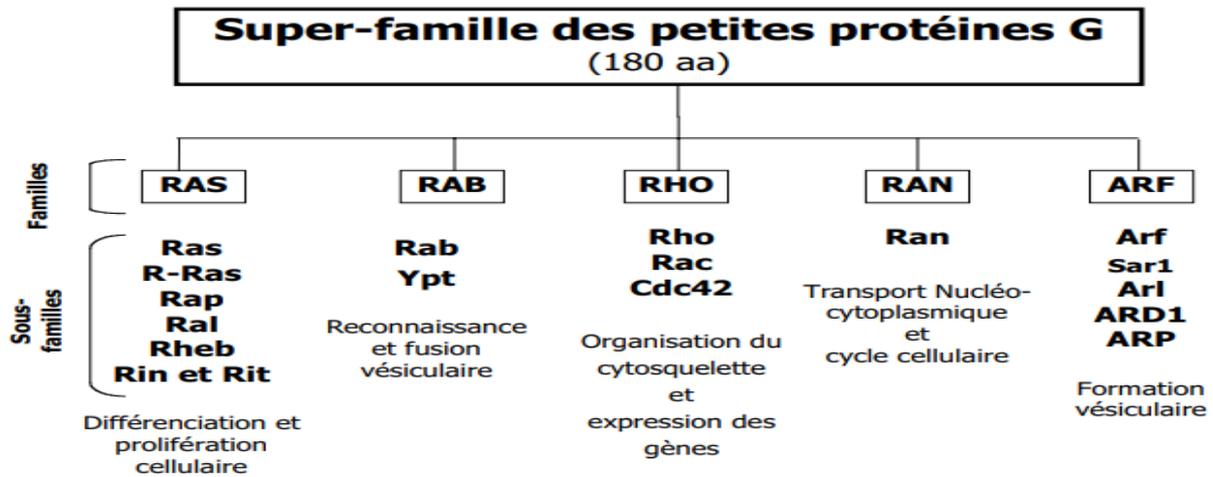


Figure V.7. Arbre de la superfamille des petites protéines G [5].

II.1.2. Activation et inactivation des petites protéines G

Trois groupes de protéines participent au cycle d'activation des petites protéines G :

- Les *GTPase dissociation inhibitors* (GDI) qui maintiennent la protéine liée au GDP dans une conformation inactive. Deux GDI sont connues : Rab GDI et Rho GDI ;
- Les *GTPase activating proteins* (GAP) qui catalysent l'activité GTPasique intrinsèque de la protéine G et donc participent à l'inactivation de la protéine G.
- Les *guanine nucléotides exchange factor proteins* (GEF) qui catalysent l'échange du GDP par un GTP et donc entraînent l'activation de la protéine G.

L'activité des petites protéines G est contrôlée par le nucléotide qui lui est associé. La forme liant le GDP est inactive et n'induit aucun signal cellulaire. L'échange du GDP contre du GTP active la protéine en induisant des changements de conformation (réarrangements structuraux) qui lui permettent d'interagir avec des effecteurs (partenaires cellulaires de la forme GTP). Les signaux induits par la forme active sont interrompus par l'hydrolyse du GTP en GDP + phosphate inorganique. La petite protéine G est alors désactivée, elle fixe le GDP et relâche le phosphate inorganique. Les petites protéines G possèdent une faible activité d'échange GDP/GTP intrinsèque et une faible activité GTPasique intrinsèque qui ne leur permettent pas d'être fonctionnelles. C'est pourquoi le cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G est régulé par un facteur d'échange GDP/GTP (GEF, Guanine nucleotide Exchange Factor) qui catalyse l'étape d'activation, et une protéine activatrice de la GTPase (GAP, GTPase Activating Protein) qui catalyse l'étape d'inactivation (figure V.7).

D'autres régulateurs peuvent intervenir au cours du cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G. Les protéines inhibitrices de la dissociation du nucléotide (GDI, Guanine Dissociation Inhibitor) participent à la régulation du cycle GDP/GTP des protéines de la famille RHO et RAB. Elles inhibent la dissociation du GDP et permettent aux protéines RHO et RAB de se dissocier des membranes. De plus, il a été montré que certains effecteurs de petite protéine G pouvaient participer à la régulation du cycle GDP/GTP en augmentant l'activité GTPase de la GAP.

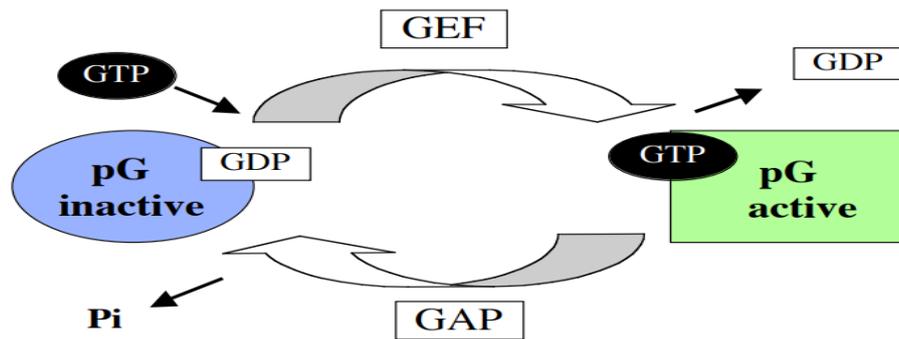


Figure V.8. Cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G [5].

II.2. Adaptateurs et protéines d'échafaudage (Scaffolds)

II.2.1. Protéine adaptatrice

Une protéine adaptatrice a été initialement définie comme une protéine composée uniquement de domaines d'interaction de type SH2 et SH3 séparés ou non par des régions interdomaines, ayant pour fonction principale d'assurer la formation de complexes signalétiques en promouvant les interactions protéine-protéine. Ces protéines se distinguent des protéines d'échafaudage ou d'arrimage principalement par l'absence d'activité catalytique et l'absence de séquences spécifiques dans des régions désordonnées telles des séquences de ciblage à la membrane. Leur fonction principale consiste à, suite à l'activation d'un récepteur donné, lier et rassembler des effecteurs cytoplasmiques proximaux fondamentalement requis dans la mise en place de la réponse cellulaire au niveau du récepteur activé. La première partie de cette fonction est assurée par leur domaine SH2 spécialisé dans la reconnaissance des tyrosines phosphorylées (pY), par exemple celles présentes sur un récepteur activé. Deuxièmement, grâce à leurs domaines SH3 capables de lier des motifs poly-proline (PxxP) ou proline-arginine (PxxR) présents dans un grand nombre de protéines cytoplasmiques, les protéines adaptatrices permettent le recrutement des effecteurs requis au niveau du récepteur activé. Ainsi, les

protéines adaptatrices assurent le couplage entre effecteurs cytoplasmiques et récepteur activé permettant la conversion efficace et régulée d'un signal de phosphorylation issu de l'activation d'un récepteur en signal afférent spécifique.

II.2.2. Les protéines d'échafaudage ou (Scaffolds)

De façon générale, les protéines d'échafaudage servent de plates-formes pour l'assemblage de complexes multiprotéiques en liant simultanément plusieurs protéines, facilitant ainsi la transmission d'un signal. Les protéines d'échafaudage se distinguent des protéines adaptatrices par leur taille plus importante ainsi que par la diversité de domaines pouvant les composer. Celles-ci peuvent présenter ou non une activité catalytique et constituent des plateformes d'assemblage en aval d'un récepteur activé

Les protéines d'échafaudage participent à la formation des complexes mais peuvent également être impliquées dans la spécificité de la signalisation cellulaire en favorisant la transduction du signal au niveau des protéines auxquelles elles peuvent s'associer. De plus, la phosphorylation de ces protéines peut modifier leur affinité pour les protéines associées et ainsi moduler la spécificité, la durée ou l'amplitude du signal.

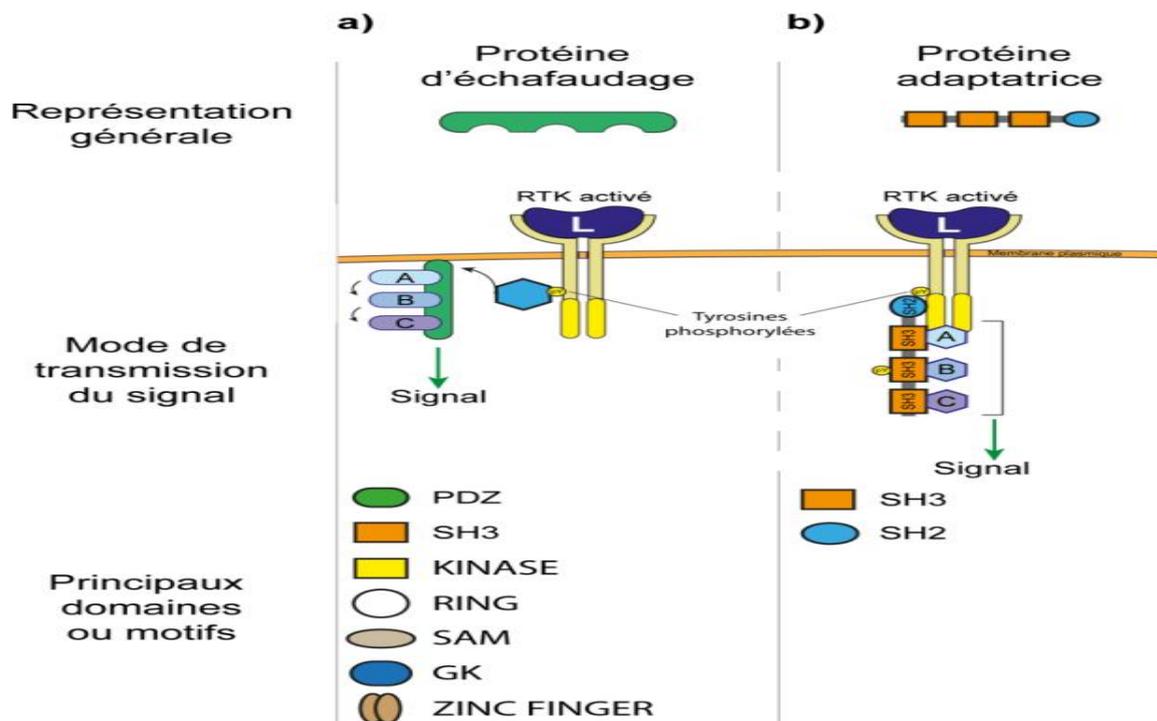


Figure V.9. L'organisation de réseaux de signalisation repose sur deux types de protéines aux propriétés différentes : les protéines adaptatrices, les protéines d'échafaudage [6].

III. Amplification du signal via les seconds messagers

Les seconds messagers sont des molécules qui relaient les signaux reçus au niveau des récepteurs à la surface des cellules comme l'arrivée d'hormones protéiques, de facteurs de croissance, ...etc. Pour cibler des molécules dans le cytosol et/ou le noyau. Mais en plus de leur fonction de molécules relais, les seconds messagers servent grandement à amplifier la force du signal. La liaison d'un ligand à un récepteur unique à la surface cellulaire peut finir par provoquer des changements massifs dans les activités biochimiques au sein de la cellule. Il existe 3 grandes classes de seconds messagers :

- nucléotides cycliques (par exemple, camp et cGMP) ;
- triphosphate d'inositol (IP₃) et le diacylglycérol (DAG) ;
- ions calcium (Ca²⁺).

Un second messenger a les caractéristiques suivantes :

- C'est une petite molécule diffusible dans la membrane plasmique si elle est hydrophobe et dans le cytosol si elle est hydrophile.
- Il agit comme un ligand intracellulaire, activant le plus souvent des protéines kinases, mais aussi des canaux ioniques ou interagissant avec d'autres protéines.
- Son taux, résultant de sa synthèse et son catabolisme est finement régulé.

III.1. Cascade phospholipases C et D/DAG/IP₃/Ca²⁺

Les protéines effectrices activées par une protéine G produisent le plus souvent un second messenger. Les protéines effectrices les plus fréquentes sont en nombre de deux, il s'agit en effet de l'adénylate cyclase productrice d'AMPc et la phospholipase C productrice d'IP₃ (inositol triphosphate) et DAG (diacyl glycérol).

Les phospholipases sont des enzymes hydrolysant les liaisons esters des phospholipides. La phospholipase C est l'une d'entre elles. Elle catalyse l'hydrolyse du phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate membranaire (PIP₂), un composant du feuillet interne de la membrane plasmique. L'hydrolyse produit du DAG (DiAcyl Glycérol), qui reste dans la membrane, et d'IP₃ (Inositol Tri Phosphate), petite molécule soluble.

L'IP₃ quitte la membrane pour aller se fixer sur son récepteur, situé sur la membrane du REL. Ce récepteur est un canal Ca²⁺ qui s'ouvre et permet la libération de Ca²⁺ dans le cytoplasme. Les ions Ca²⁺ se fixent et activent la calmoduline, une protéine cytosolique constituée de 148 acides aminés et comprenant quatre sites de fixation du Ca²⁺. Celle-ci devient alors capable d'activer d'autres protéines, donnant lieu à diverses réponses.

Le DAG active une PKC (Protéine Kinase Calcium-dépendante). Elle phosphoryle de nombreux substrats qui relaient le message, en particulier des facteurs de transcription.

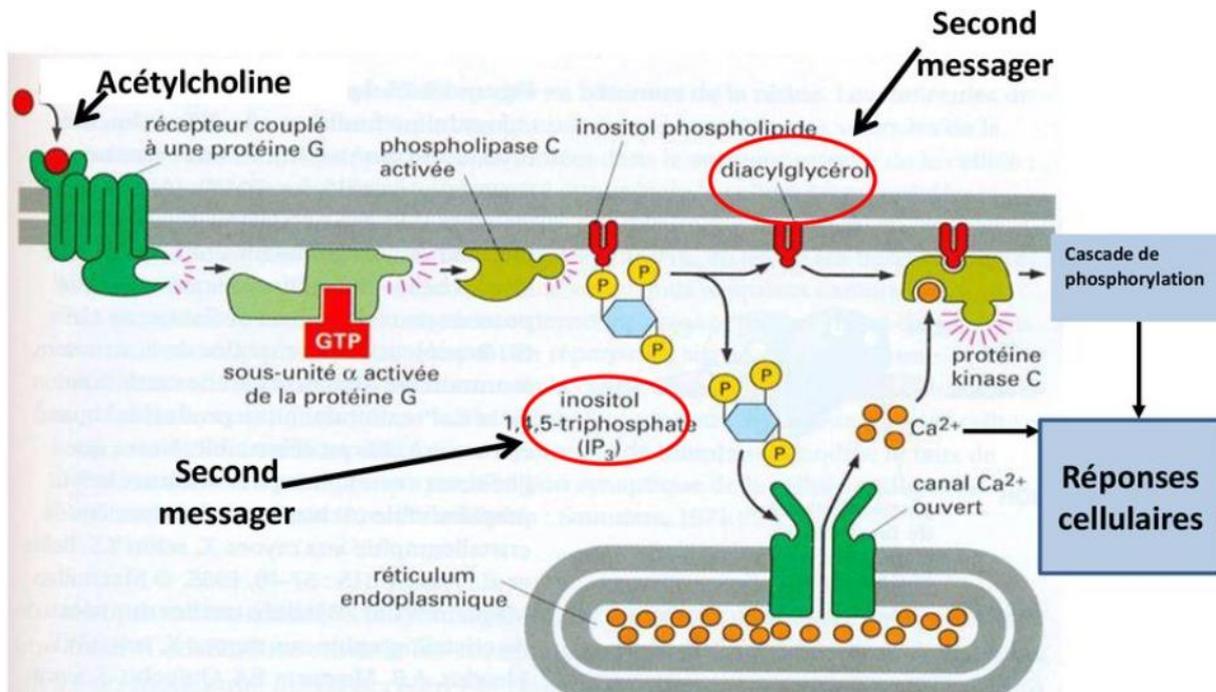


Figure V.10. Voie de signalisation par la phospholipase C [7].

III.2. Cascade phospholipase A2/ Eicosanoïdes

Les phospholipases A2 (PLA2) sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de phospholipides en position sn-2 afin de libérer un acide gras et un lysophospholipide. In vivo, les phospholipides ont fréquemment un acide gras polyinsaturé, l'acide arachidonique, en position sn-2 qui une fois libéré pourra être transformé en divers eicosanoïdes. Le lysophospholipide formé peut également avoir des rôles importants dans de nombreux processus biologiques.

Un eicosanoïde est un composé lipidique synthétisé au niveau de la membrane plasmique par toutes les cellules à partir de l'acide arachidonique. Les eicosanoïdes remplissent des fonctions étendues en tant que médiateurs du système nerveux central, des événements inflammatoires et de la réponse immunitaire chez les vertébrés et les invertébrés. Tous les eicosanoïdes sont des molécules de 20 atomes de carbone et sont regroupés en prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes et certains hydroxyacides précurseurs des leucotriènes. On trouve les eicosanoïdes dans tous les organes et dans tous les tissus, où elles exercent une fonction de régulation, un rôle de médiateur dans l'activité des cellules au cours de nombreux processus

comme la contraction des muscles lisses, l'agrégation plaquettaire et la sécrétion gastrique. Elles sont donc considérées comme des hormones.

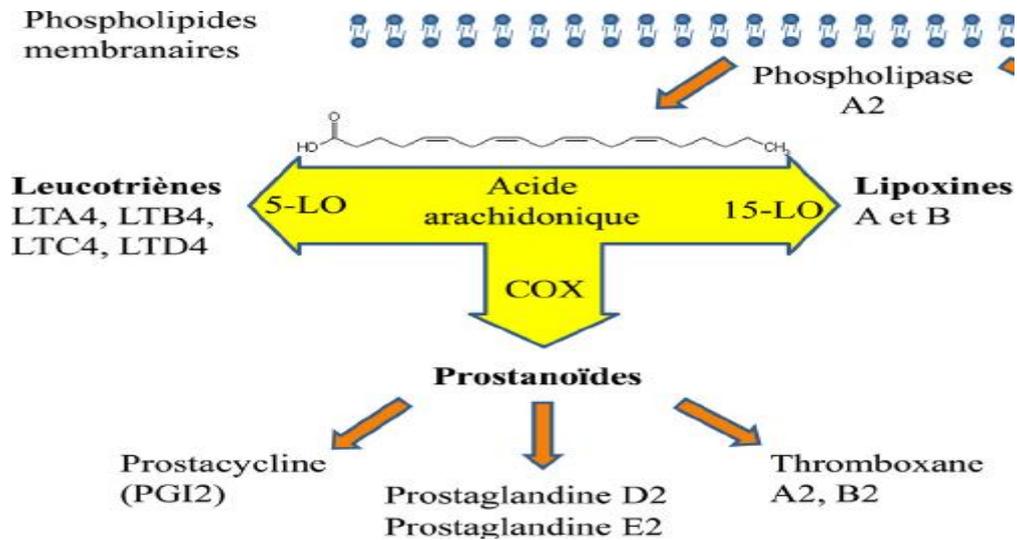


Figure V.11. Représentation simplifiée de voie de biosynthèse des éicosanoïdes [8].

L'acide arachidonique dérivé à partir des phospholipides membranaires sous l'action de la phospholipase A2 peut emprunter une des trois voies majeures, conduisant respectivement aux leucotriènes, aux prostanoides (prostaglandines et thromboxanes) et aux lipoxines. COX : cyclo-oxygénase (COX-1 : enzyme constitutive ; COX-2 : enzyme inducible par le TNF α et autres médiateurs pro-inflammatoires); LO ; lipo-oxygénase

➤ Mode d'action des éicosanoïdes

Les éicosanoïdes sont les principales hormones liposolubles dont les récepteurs siègent à la surface de la cellule. Ces hormones s'attachent à des récepteurs ancrés à la surface cellulaire et enclenchent soit un accroissement, soit un abaissement du taux cytosolique de messager second (AMPc ou Ca⁺⁺), l'activation d'une protéine kinase, ou une modification du potentiel membranaire.

Il existe huit types de récepteurs aux éicosanoïdes :

- Récepteur DP : Prostaglandines D
- Récepteurs EP1 : Prostaglandines E1
- Récepteurs EP2 : Prostaglandines E2
- Récepteurs EP3 : Prostaglandines E3
- Récepteurs EP4 : Prostaglandines E4
- Récepteurs FP : Prostaglandines F
- Récepteurs IP : Prostacyclines
- Récepteurs TP : Thromboxanes

➤ **Effets des différents récepteurs**

- Dans les vaisseaux sanguins, la prostacycline (PGI₂) sur un récepteur IP provoque un relâchement des muscles (agonistes utilisés : Cicaprost, Iloprost).
- Les Thromboxanes sur les récepteurs TP provoquent la contraction des artères pulmonaires humaines, la contraction des muscles lisses bronchiques.
- Les Prostaglandines E₃ sur les récepteurs EP₃ provoquent la vasoconstriction des artères pulmonaires.
- Les Prostaglandines E₂ et les prostacyclines, respectivement sur les récepteurs EP₂ et IP, provoquent la relaxation des bronches humaines isolées.

III.3. Cascade AMPc/PKA/CREB

III.3.1. Adénosine monophosphate cyclique (AMPc)

L'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) est le premier second messager découvert, qui joue un rôle central dans la signalisation cellulaire et régule de nombreux processus physiologiques et pathologiques. L'AMPc peut réguler la transcription de divers gènes cibles, principalement par l'intermédiaire de la protéine kinase A (PKA) et de ses effecteurs en aval tels que la protéine de liaison à l'élément sensible à l'AMPc (CREB). De plus, la PKA peut phosphoryler de nombreuses kinases telles que Raf, GSK3 et FAK. La signalisation aberrante de l'AMPc-PKA est impliquée dans divers types de tumeurs humaines. En particulier, la signalisation de l'AMPc peut avoir à la fois des rôles suppresseurs de tumeurs et promoteurs de tumeurs en fonction des types de tumeurs et du contexte. La signalisation AMP-PKA peut réguler la croissance, la migration, l'invasion et le métabolisme des cellules cancéreuses.

De plus, l'AMPc formé stimule différentes protéines et, en particulier, la protéine kinase A (PKA). La protéine kinase A phosphoryle un grand nombre de protéines, ce qui a pour conséquences majeures :

1. d'induire l'activation de la phosphorylase b (enzyme impliquée dans le métabolisme énergétique) ;
2. de stimuler le calcium ATPase du réticulum (stimulation du repompage du calcium) ;
3. d'induire l'ouverture de canaux ioniques membranaires sensibles au voltage (K⁺, Ca²⁺) ;

- de moduler la synthèse protéique *via* son action sur la MAPK (mitogen activated protein kinase).

III.3.2. La génération et la dégradation de l'AMPc

L'AMPc existe abondamment dans les cellules. De nombreuses hormones, neurotransmetteurs et autres molécules de signalisation l'utilisent comme second messenger intracellulaire. Par conséquent, l'AMPc peut réguler directement divers processus biologiques ou comportements des cellules, notamment le métabolisme cellulaire, l'activation des canaux ioniques, l'expression des gènes, la croissance cellulaire, la différenciation et l'apoptose. La génération d'AMPc est régulée de manière dépendante de la protéine G ou indépendante de la protéine G. Après que les ligands extracellulaires, tels que les agonistes des récepteurs PGE2, GLP-1 et β_2 , se lient aux récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), les sous-unités $G\alpha$ sont séparées des sous-unités $G\beta$ et $G\gamma$, puis activent les adénylyl cyclases (AC), conduisant à la conversion de l'ATP en AMPc (figure V.11). De plus, le bicarbonate (HCO_3^-) et les ions calcium (Ca^{2+}) induisent la synthèse d'AMPc en activant l'adénylyl cyclase soluble (sAC) indépendamment des protéines G. En revanche, les phosphodiésterases (PDE) sont responsables de la dégradation de l'AMPc. Jusqu'à présent, au moins 22 PDE ont été identifiées. La concentration d'AMPc intracellulaire dépend de l'équilibre relatif entre les adénylyl cyclases et les phosphodiésterases.

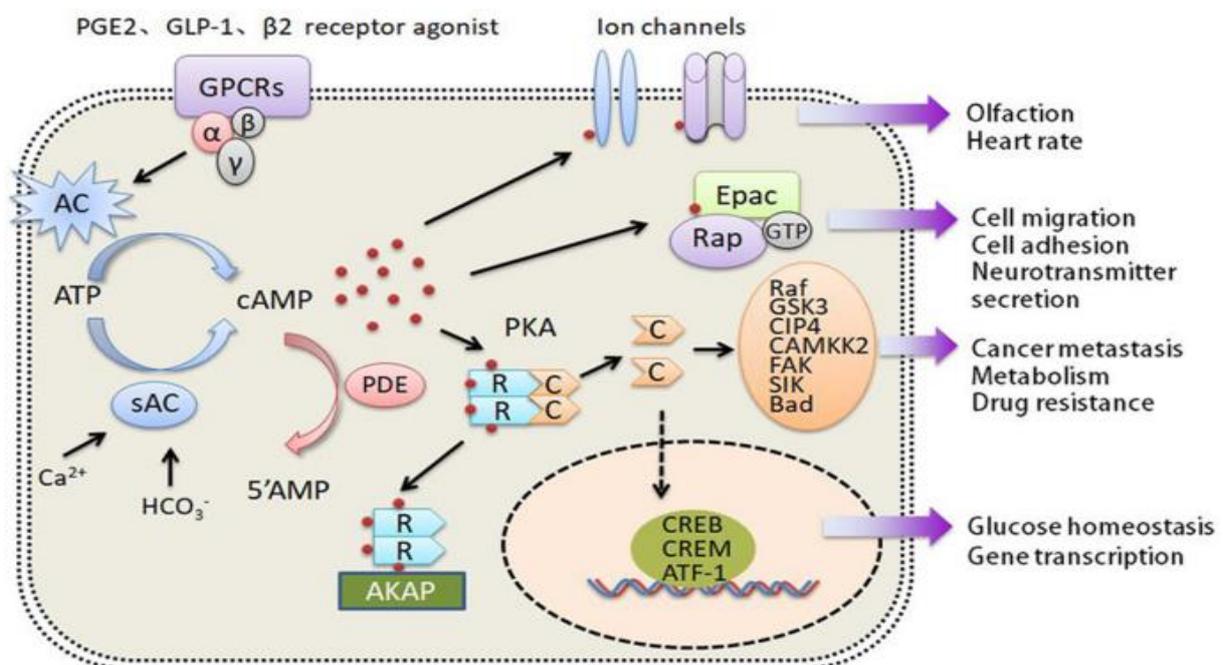


Figure V.12. Voie de signalisation de l'AMPc [9].

III.4. Cascade NO/GMPc

GMPc, abréviation de Guanosine Monophosphate cyclique (un des nucléotides cycliques), second messenger intracellulaire produit par l'enzyme Guanylate cyclase à partir de la Guanosine TriPhosphate (GTP).

Les effets du GMPc sont portés par trois catégories de protéines. Tout d'abord, l'essentiel de son action passe par l'activation des protéines kinases dépendantes du GMPc (PKG). Certaines phosphodiésterases des nucléotides cycliques (PDE) sont également des cibles du nucléotide, tandis que d'autres mettent fin à son action par hydrolyse. Enfin, des canaux cationiques peuvent être régulés directement par les taux de GMPc.

La Guanylate cyclase dégrade la GTP en GMP cyclique ou GMPc. Il existe deux formes de Guanylate cyclase :

- Une forme membranaire ;
- Une forme cytosolique, dite soluble.

L'un des principaux mécanismes par lesquels les effets de l'oxyde nitrique sont médiés par la production du deuxième messenger cyclique GMP (GMPc). L'oxyde nitrique peut stimuler la production de GMPc en interagissant avec le groupe hème de l'enzyme guanylate cyclase (GCsoluble). Cette interaction permet à GC de convertir le GTP en GMPc.

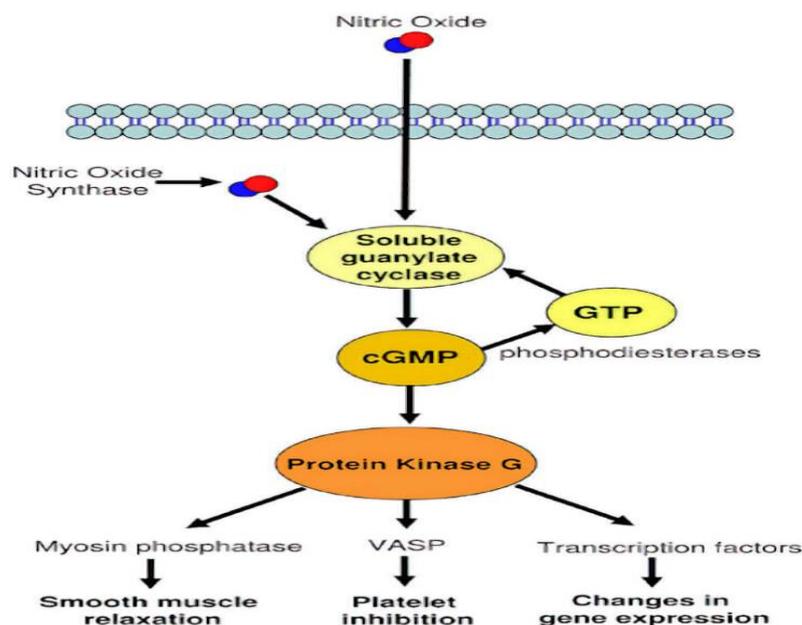


Figure V.13. Schéma de la production du deuxième messenger GMPc [10].

IV. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases

IV.1. Protéines kinases (A, B/Akt, C, CAM, MAP)

Enzyme catalysant la phosphorylation d'une protéine par l'ATP. De nombreuses protéines kinases transfèrent le radical phosphorique sur la fonction alcool d'une sérine ou d'une thréonine : c'est le cas de protéine-kinases dites AMPc-dépendantes qui ne sont actives qu'en présence d'AMP cyclique, répondant ainsi à des facteurs de régulation du métabolisme cellulaire comme les hormones agissant sur des récepteurs adrénergiques ; elles sont appelées protéine-kinases A ou PKA. D'autres phosphorylent la fonction phénol d'une tyrosine (protéine-tyrosine-kinases ou Y-kinases). D'autres protéine-kinases dépendent du diacylglycérol, répondant à d'autres facteurs agissant sur des récepteurs à phospho-inositides ; elles sont appelées protéine-kinases C ou PKC. D'autres sont activées par leur liaison avec la calmoduline et le calcium. Toutes les phosphoprotéines nécessitent pour leur biosynthèse des protéine-kinases plus ou moins spécifiques ; de nombreux enzymes du métabolisme ont une activité qui dépend de leur état de phosphorylation.

- **Protéine Kinase A**

La protéine kinase A (PKA) réfère à la famille d'enzymes dont l'activité nécessite la présence d'AMP cyclique (AMPc). La protéine kinase A a de nombreuses fonctions dans la cellule, en particulier elle régule les métabolismes du glycogène, du sucre et des lipides.

- **Protéine Kinase B**

L'Akt ou protéine kinase B (PKB) ; C'est une protéine essentielle dans la signalisation des cellules des mammifère. Akt1 est impliqué dans la voie de signalisation de la survie cellulaire, en inhibant l'apoptose. L'Akt1 est également capable d'induire la biosynthèse des protéines, et est de ce fait un élément clef dans les phénomènes cellulaires conduisant à l'hypertrophie des muscles squelettiques et la croissance des tissus en général. À partir du moment où l'Akt peut bloquer l'apoptose et par là favoriser la survie cellulaire, l'Akt2 est un facteur impliqué dans la signalisation cellulaire de l'insuline. Il est nécessaire au transport du glucose.

1.3. Protéine kinase C

Protéine kinase initialement décrite comme activée par le calcium, d'où son nom, et dont l'activité *in vivo* dépend d'une interaction avec un diacyl-glycerol (ou diglycéride) de la membrane cellulaire. Les protéines kinases C (PKC) sont des enzymes cytoplasmiques à activité sérine thréonine kinase dont l'implication dans l'oncogenèse s'avère d'analyse complexe. Des dérégulations d'expression de certaines PKC ont été rapportées dans différentes tumeurs, mais il existe une grande variabilité des rôles de ces enzymes selon l'isoforme considéré ou le type cellulaire étudié (action pro- ou antiproliférative).

1.4. Protéine kinase CAM

Les protéines kinases Ca^{2+} /calmoduline-dépendantes ou CAM kinases sont des kinases Sérine-Thréonine-dépendantes régulées par le complexe Ca^{2+} /calmoduline. La CaMKII est impliquée dans de nombreuses cascades de signalisation, et est un médiateur putatif important de l'apprentissage et de la mémoire. La CaMKII est aussi nécessaire pour l'homéostasie calcique, et la recapture du calcium dans les cardiomyocytes le transport d'ions chlore dans les épithéliums, la sélection positive des cellules T, et l'activation des cellules T CD8.

1.5. Protéine kinase MAP (MAPK)

L'une des protéines intracellulaires catalysant la phosphorylation des protéines MAP (Mitogen Activated Protein). Cette phosphorylation par l'ATP s'effectue sur une sérine ou une thréonine de la MAP. La MAP-kinase est elle-même activée par phosphorylation sous l'effet d'une cascade de kinases : MAP-kinase-kinase, MAP-kinase-kinase-kinase, cette dernière étant phosphorylée par une kinase membranaire, la raf-kinase, activée par les protéines Ras. Les MAP-kinases sont aussi appelées ERK (Extracellular signal Regulated Kinase). Les MAP-kinases phosphorylent non seulement des MAP intranucléaires, mais encore d'autres kinases cytoplasmiques telles que celle (S6 kinase) qui phosphoryle des protéines ribosomiques contrôlant la synthèse des protéines.

Les MAPK sont impliquées dans un certain nombre d'évènements de la vie de la cellule, comme la mitose, mais aussi très liées à des phénomènes apoptotiques, la différenciation ou encore la survie cellulaire. Ceci se fait en réponse à divers signaux externes : des facteurs mitogènes (le PDGF, par exemple), le stress osmotique cellulaire, le choc thermique ou encore un certain nombre de cytokines.

IV.2. Les récepteurs tyrosine-kinases (RTK)

Il existe près de 60 gènes codants pour les récepteurs à activité tyrosine kinase. Tous ces récepteurs ont une structure et des mécanismes d'activation assez similaires. C'est une famille

