



**Département Biologie des Organismes**

**Faculté SNV**

**Université Batna 2**



***Cours d'endocrinologie  
Moléculaire et Pathologies***

**Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Biologie et Pathologie Cellulaire**

**Niveau : Master 1**

**Préparée par : Dr. BENBIA Souhila**



# **Chapitre I**

## **Généralité sur les récepteurs nucléaires**

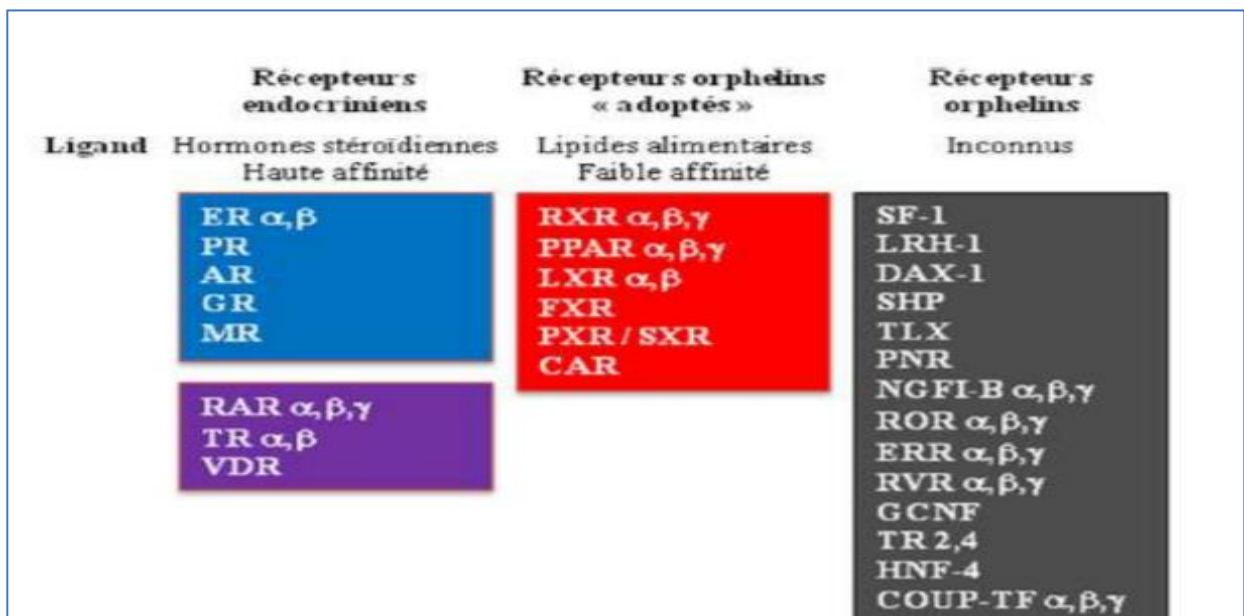
**I.1. Historique**

La première notion de récepteurs intracellulaires a été introduite par Jensen et al. en 1962 qui ont observé que l'œstradiol est retenu au sein des cellules cibles, évoquant la présence d'un récepteur intracellulaire spécifique. Des expériences similaires ont permis 20 ans plus tard de confirmer que les hormones liposolubles ont pour récepteurs des protéines intracellulaires, nommés récepteurs nucléaires. Ainsi, le premier récepteur nucléaire cloné fut le récepteur humain aux glucocorticoïdes et le second le récepteur aux œstrogènes. Rapidement, de nombreux récepteurs ont pu être identifiés à partir de banques d'ADN complémentaire. Ces récepteurs sont retrouvés dans l'ensemble du règne animal [McKenna *et al.*, 2009].

**I.2. Classification fonctionnelle des récepteurs nucléaires**

**I.2.1. Classification de Mangelsdorf**

Les RN sont une famille de protéines dont la fonction principale est la régulation de l'expression géniques. Cette superfamille contient au moins une cinquantaine de membres. Ils se lient à la région promotrice des gènes soit pour augmenter soit réprimer leur transcription en ARN messagers, ils peuvent donc être considérés comme des facteurs de transcription. Ils partagent de nombreuses caractéristiques communes et une organisation assez superposable en domaines fonctionnels. Les récepteurs nucléaires ont été initialement classifiés en 4 classes selon leurs propriétés de dimérisation et de fixation à l'ADN [Mangelsdorf *et al.*, 1995].



**Figure 1.** Classification fonctionnelle des RNs d'après [Mangelsdorf *et al.*, 1995].

**I.2.2. Classification phylogénétique**

Le Comité de Nomenclature des Récepteurs Nucléaires a proposé en 1999 une nouvelle nomenclature officielle avec 6 classes de récepteurs nucléaires [Nuclear Receptor Nomenclature Committee, 1999].

**Tableau 1.** Classification phylogénétique des récepteurs nucléaires.

Classe	Nom de récepteur	Abréviation
<b>Classe I</b>	Thyroid Hormone Recepto	TR
	Retinoic Acid Receptor	RAR
	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor	PPAR
	Reverse erbA	Rev-erb
	RAR-Related Orphan Receptor	ROR
	Liver X Receptor	LXR
	Farnesoid X Receptor	FXR
	Vitamin D Receptor	VDR
	Pregnane X Receptor	PXR
	Constitutive Androstane Receptor	CAR
	Human Nuclear Factor 4	HNF4
	Retinoid X Factor	RXR
<b>Classe II</b>	Testis Receptor	TR
	Tailless	TLL
	Photoreceptor-specific Nuclear Receptor	PNR
	Chicken Ovoalbumin Upstream Promoter Transcription Factor	COUP-TF
<b>Classe III</b>	ErbA2-Related-Gene-2	EAR
	Oestrogen Receptor	ER
	Oestrogen Receptor-Related Receptor	ERR
	Glucocorticoid Receptor	GR
	Mineralocorticoid Receptor	MR
	Progesteron Receptor	PR
<b>Classe IV</b>	Androgen Receptor	AR
	NGF-Induced Factor B	NGFIB
	Nur-Related Factor 1	NURR1
<b>Classe V</b>	Neuron-Derived Orphan Receptor 1	NOR1
	Steroidogenic Factor 1	SF1

	Liver Receptor Homologous Protein 1	LRH-1
<b>Classe VI</b>	Germ Cell Nuclear Factor	GCNF
	DSS-AHC critical region on the chromosome, gene 1	DAX1
	Short Heterodimeric Partner	SHP

**I.2.3. Classification physiologique**

Plus récemment, une nouvelle classification a été proposée, basée sur le profil d’expression et la fonction des récepteurs nucléaires [McKenna *et al.*, 2009].

**Tableau 2.** Classification physiologique des RNs

<b>Classe</b>	<b>Sous classe</b>	<b>Fonctions</b>
<b>I</b>	<b>IA</b>	Différenciation sexuelle et la stéroïdogénèse
	<b>IB</b>	La reproduction et le développement
	<b>IC</b>	La régulation du métabolisme basal et sous le contrôle de l’horloge circadienne
<b>II</b>	<b>IIA</b>	Le métabolisme des acides biliaires et de xénobiotiques et régulent l’absorption des nutriments
	<b>IIB</b>	Régulation de métabolisme lipidique et l’homéostasie énergétique
	<b>IIIC</b>	Régulation de stockage des lipidique et le métabolisme du cholestérol et du glucose

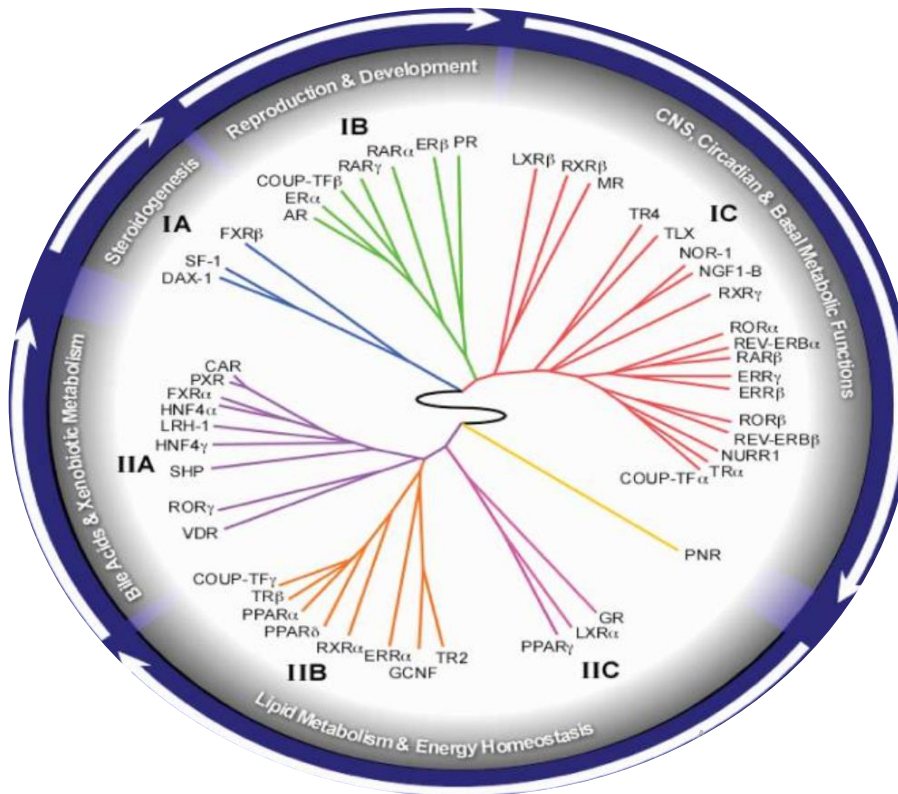


Figure 2. Cercle de la classification physiologique des RNs [McKenna et al. 2009].

### I.3. Structure des récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires possèdent une structure typique constituée de différents domaines fonctionnels (Fig. 3). Ils comprennent généralement quatre domaines fonctionnels notés de A à E. Un cinquième domaine (F) peut être décrit pour certains récepteurs nucléaires [McKenna et al., 2009].

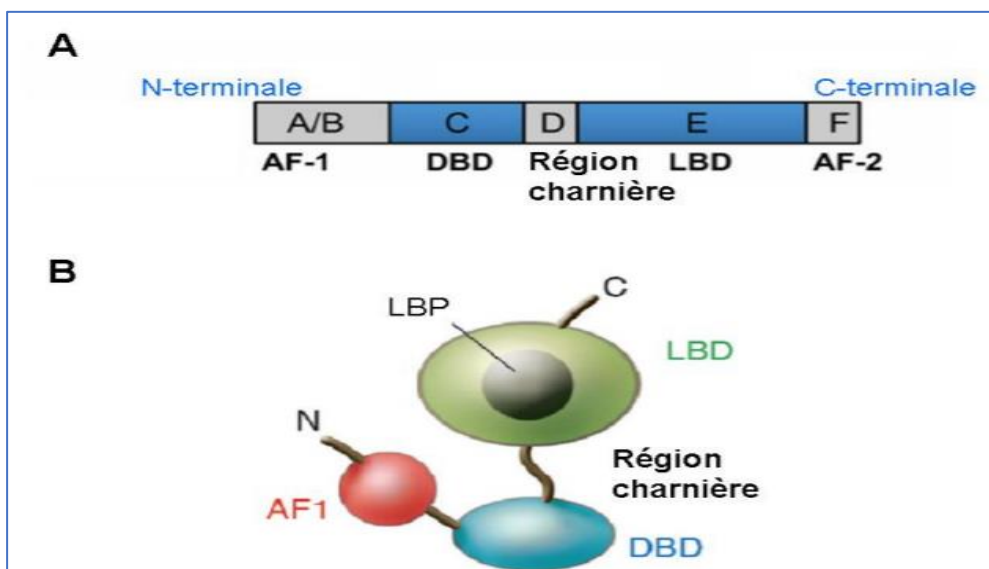


Figure 3 : La structure en domaines des RNs. Panel A : Schéma représentant la structure primaire d'un RN. Panel B : Schéma représentant la structure tertiaire d'un RN. AF : Activation function (sous-domaine d'activation), DBD : DNA Binding Domain

(domaine de fixation à l'ADN), LBD : Ligand Binding Domain (domaine de fixation au ligand), LBP : Ligand Binding Pocket (cavité du ligand). (d'après (Zou et al., 2015) et (Glass, 2006)).

**I.3.1. Domaine N-terminal (domaine A/B)**

Ce domaine, également appelé domaine modulateur, est le plus variable dans la superfamille des RNs aussi bien en longueur qu'en séquence. Ce domaine porte une fonction activatrice AF1 qui est considéré ligand-indépendant. Une certaine forme de coopération existe entre les domaines AF-1 et AF-2. Certains cofacteurs liés au domaine AF-2 peuvent participer à l'activité du domaine AF-1. Elle constitue un site d'interaction pour différents cofacteurs.

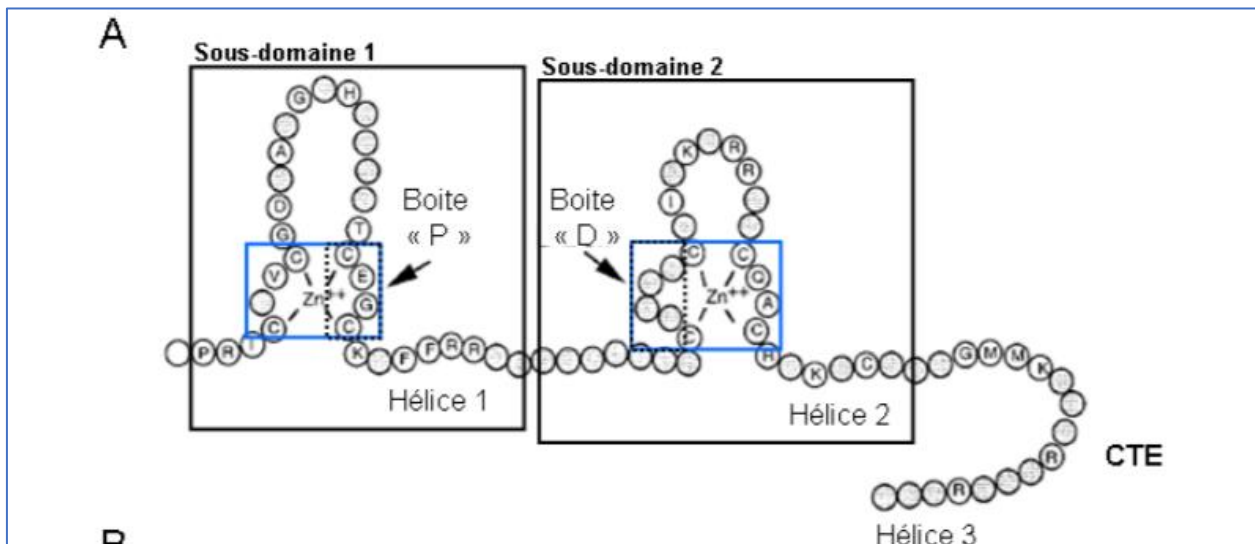
L'association au domaine AF-1 ne requiert pas la participation du motif LXXLL des cofacteurs impliqués, mais plutôt des séquences riches en glutamines. Cette région peut être soumise à des modifications post-transcriptionnelles. La phosphorylation de résidus sérine/thréonine dans la portion N-terminale des récepteurs constituerait un mécanisme de recrutement de cofacteurs. Ainsi plusieurs voies kinases s'avèrent liées à l'activité des récepteurs nucléaires [Bertherat., 2007].

**I.3.2. Domaine de liaison à l'ADN (domaine C)**

Ce domaine, également appelé domaine DBD, qui confère la possibilité aux RNs de reconnaître leurs séquences spécifiques cibles sur l'ADN, présente une homologie de séquence dans la superfamille. Il possède une taille de 66 à 70 acides aminés. Ce domaine est formé de deux *doigts de zinc* type C2C2 (Fig 4).

On retrouve dans ces séquences deux motifs, *une boîte P*, dans le premier doigt de zinc et une *boîte D* dans le second. La première boîte est impliquée dans la reconnaissance du demi-site de l'élément de réponse, dont la séquence canonique est AGA/GTCA. Pour les récepteurs monomériques, le demi-site est flanqué de séquences riches en A/T en 5'. Elle est composée de trois acides aminés (EGCKG). Cependant le sous-domaine D définit l'écartement entre les deux demi-sites de l'élément de réponse sur l'ADN. Cette partie du DBD définit aussi le caractère homodimérique ou hétérodimérique du récepteur nucléaire. Cette boîte D n'est donc impliquée que dans la fixation sur des éléments de réponse de type palindromiques (IR) plutôt que pour des éléments de type répétition directe (RD) (Une description régulièrement actualisée peut être consultée sur [www.nursa.org](http://www.nursa.org)).





**Figure 4.** Schéma représentant la structure générale du DBD et les motifs importants d’après [Weikum *et al.*, 2018].

Le domaine DBD contient une troisième portion, l’*extension C-terminale* (Carboxy Terminal Extension [CTE]) du second doigt de zinc. Cette extension est composée d’environ 25 acides aminés incluant les boîtes T et A, elle permet la reconnaissance et à la dimérisation. Toutefois, tous les récepteurs nucléaires ne possèdent pas cette extension C-terminale.

### I.3.3. Domaine charnière (hinge / domaine D)

Ce domaine est variable aussi bien en longueur qu’en séquence. Elle permettrait une rotation de 180° du LBD pour permettre la fixation du récepteurs sur l’ADN, elle procure donc une flexibilité à la protéine. Ce domaine peut comprendre des signaux de localisation nucléaire. Le rôle principal de ce charnière est la Transrépression du RN.

### I.3.4. Domaine de liaison du ligand (LBD/ domaine E)

Cette région, multifonctionnelle, possède une structure canonique constituée de 11-13 hélices- $\alpha$ . Outre les séquences essentielles à l’interaction du ligand, on y retrouve le domaine d’activation de la transcription ligand-dépendant (AF2), les séquences d’interaction avec les protéines de choc thermique, le domaine de dimérisation ainsi que des séquences de localisation nucléaire. L’organisation structurale du LBD définit ainsi une poche hydrophobe dans laquelle le ligand de nature lipophile peut venir se fixer. La taille cette poche varie selon les récepteurs et détermine la spécificité de reconnaissance du ligand. L’association au domaine AF-2 requiert la participation du motif LXXLL des cofacteurs impliqués.

En l’absence de ligand, l’hélice 12 est orientée vers l’extérieur du LBD. La liaison de l’hormone permet le réarrangement des hélices 10 et 11 en une hélice unique, ce qui a pour conséquence de

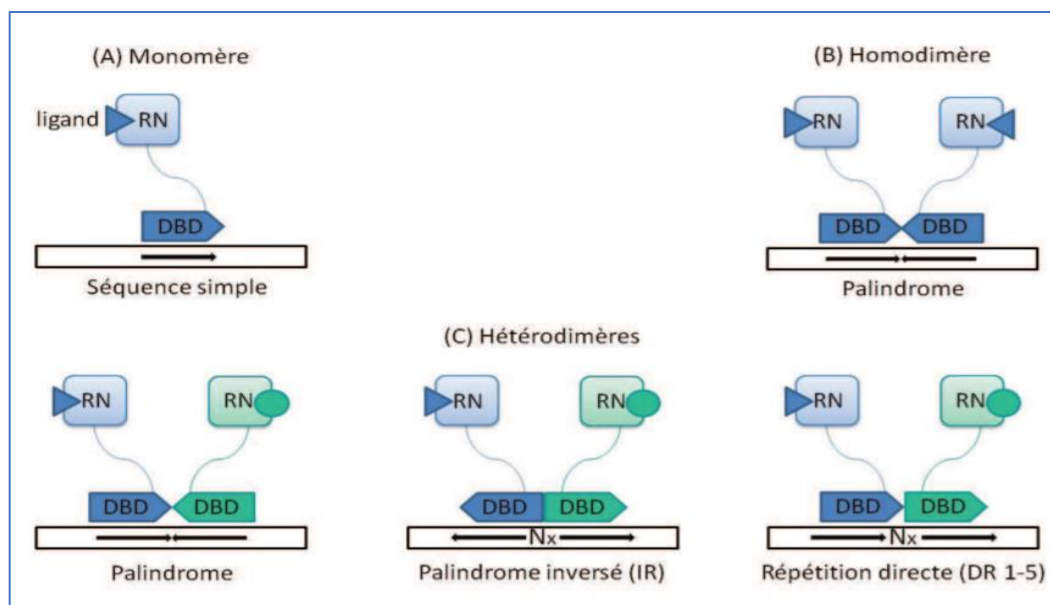
libérer l'hélice 12 de son contact avec la boucle  $\Omega$  (entre les hélices 2 et 3). L'hélice 12 se réaligne ainsi contre la poche hydrophobe de liaison du ligand, agissant ainsi comme un « couvercle » qui scelle la poche en renforçant les interactions entre le ligand et le LBD. Ce modèle est décrit comme le modèle « mouse trap » (modèle du piège à souris) [McKenna *et al.* 2009].

## I.4. Fonctionnement des récepteurs nucléaires

### I.4.1. Eléments de réponse des NRs (HRE)

Les récepteurs nucléaires régulent l'expression de gènes cibles en se liant à l'ADN au niveau de séquences nucléotidiques spécifiques, les éléments de réponse aux hormones (HREs) (Fig. 2). Ces courtes séquences se situent habituellement dans la région promotrice de gènes cibles. Elles sont des éléments bipartites composés de deux séquences hexamériques appelées demi-sites. Ces séquences forment des répétitions directes (DR), indirectes (IR, ou palindromes) ou inversées (ER) qui sont deux demi-sites séparés par une courte séquence nucléotidique variable (figure 3). La spécificité de reconnaissance est déterminée par trois facteurs : 1) la séquence des deux motifs, 2) leur orientation, 3) le nombre de bases les séparant.

Les récepteurs nucléaires se lient aux éléments de réponse sous forme de monomères, d'homodimères ou d'hétérodimères (Fig. 5).



**Figure 5.** Mode de liaison des récepteurs nucléaires à l'ADN [Weikum *et al.*, 2018].

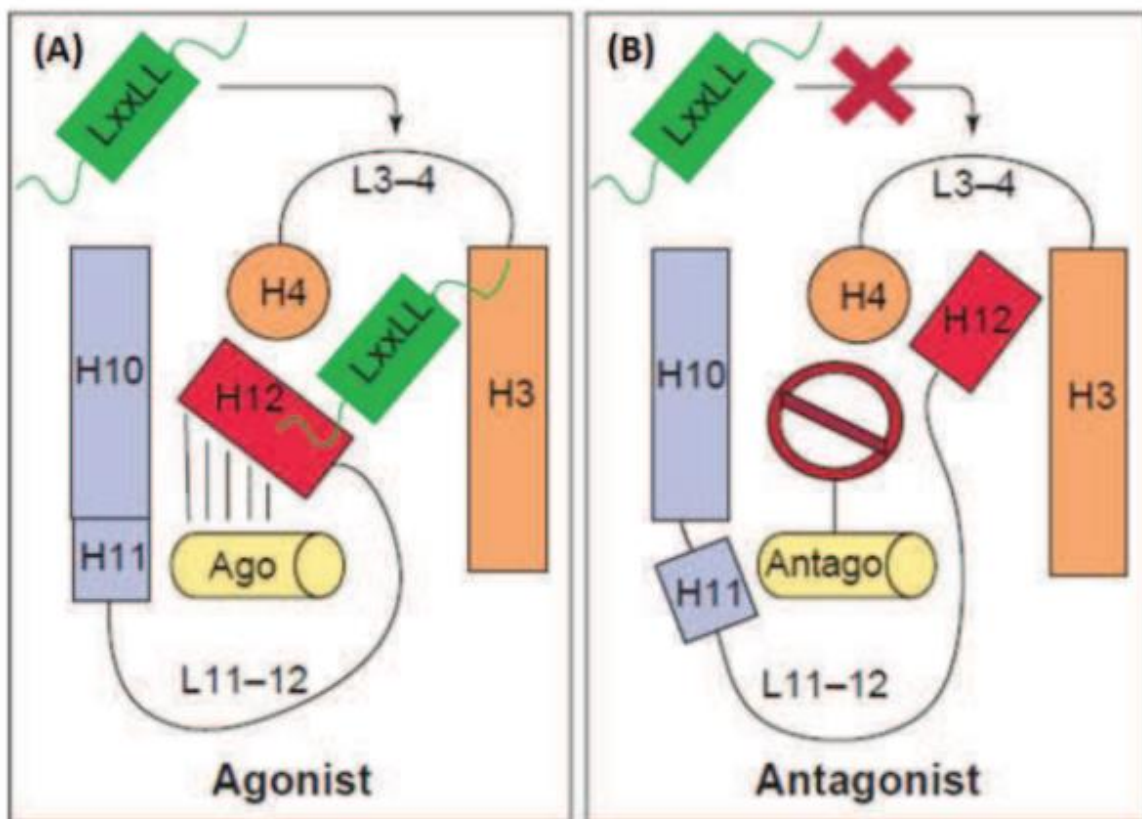
### I.4.2. Ligands des récepteurs nucléaires

Par définition, un ligand est une molécule qui se fixe à un récepteur donné de manière spécifique, réversible et saturable. Les ligands des récepteurs nucléaires comprennent notamment les stéroïdes, les hormones thyroïdiennes, la vitamine D et l'acide rétinoïque. Ces ligands

correspondent aux produits finaux de multiples voies métaboliques qui utilisent comme substrat principal un ou plusieurs nutriments issus de l'alimentation (tyrosine et iode pour les hormones thyroïdiennes, cholestérol pour les hormones stéroïdes, vitamine A pour l'acide rétinoïque...). Il existe quatre catégories de ligands aux récepteurs nucléaires :

➤ **Agonistes** : ils se lient au niveau de l'hélice  $\alpha$  H12 du ligand et induisent un changement de conformation permettant le recrutement de co-activateurs nécessaires à l'activation de la transcription. Ils augmentent l'activité transcriptionnelle basale (Fig 6).

➤ **Antagonistes purs** : ils empêchent le recrutement de co-régulateurs et s'opposent à la transcription des gènes cibles, mais n'affectent pas l'activité basale des récepteurs. Ils peuvent être classés selon deux sous-types : Les antagonistes compétitifs : ces molécules vont se fixer au récepteur sur le même site que l'agoniste. Les antagonistes non compétitifs : dans ce cas, ces molécules vont se fixer sur le récepteur sur un site différent de l'agoniste. Elles agissent en entraînant un changement de conformation du récepteur réduisant son affinité pour l'agoniste.



**Figure 6. Représentation schématique de l'organisation des récepteurs nucléaires sous 2 conformations.** (A) *Conformation agoniste*, le RN est lié à un ligand agoniste entraînant le recrutement d'un co-activateur (LxxLL), résultant en l'activation de la transcription. (B) *Conformation antagoniste*, le RN est lié à un corépresseur entraînant un repositionnement de l'hélice H12 qui empêche la fixation du co-activateur résultant en l'inhibition de la transcription [Bourguet et al., 2000].

➤ **Agonistes inverses** : ils diminuent l'activité basale des récepteurs en favorisant le recrutement de co-répresseurs. Ce type d'agoniste a essentiellement été développé afin de réprimer l'activité de RNs constitutivement actifs. Tels que les RNs ERRs (Estrogen Related Receptor) ou CAR (Constitutive Androstane Receptor).

➤ **Agonistes/antagonistes partiels** : ils possèdent une efficacité réduite par rapport aux agonistes et antagonistes purs. Leurs effets dépendent du type cellulaire, du contexte intracellulaire et de la présence de co-régulateurs. Il s'agit notamment des modulateurs sélectifs des récepteurs nucléaires (SNUReMs, Selective Nuclear Receptor Modulators): SREMs (Selective estrogen REceptor Modulators), les modulateurs de des récepteurs PPAR et AR. Ces molécules ont donc des actions partielles. Les mécanismes permettant d'expliquer ces réponses gènes et tissus spécifiques n'ont toujours pas été complètement identifiés.

**NB** : un ligand est caractérisé par deux facteurs (Lambert, 2004):

\***Puissance** « dose réponse », est représentée par son EC-50 (la concentration de ligand qui permet d'induire 50% de la réponse maximale).

\***Affinité** : ce facteur est déterminé en analysant l'équilibre de dissociation (K-D). Cette valeur correspond à la concentration permettant au ligand de se fixer à 50% de ses récepteurs.

### I.4.3. Localisation cellulaire des récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires peuvent être présents dans le cytoplasme (cas du récepteur aux glucocorticoïdes) ou dans le noyau des cellules sous forme liée ou non à l'ADN. Le ratio entre la forme cytoplasmique et nucléaire dépend du récepteur et de la nature du ligand. De nombreuses études ont permis de mettre en évidence la mobilité des récepteurs au sein du noyau et la nature dynamique de leur liaison à l'ADN .

Ainsi, au niveau cytoplasmique, la liaison du ligand module l'interaction du récepteur avec différents facteurs cytoplasmiques comme les protéines chaperonnes de choc thermique (Hsp, Heat Shock Protein) et permet la translocation du récepteur vers le noyau. A l'inverse, en l'absence de ligand, certains récepteurs sont directement liés aux éléments de réponse de leur gène cible et exercent un effet répresseur sur l'expression basale.

### I.4.4. Corégulateurs des récepteurs nucléaires

Les facteurs de transcription, dont les récepteurs nucléaires, peuvent moduler l'assemblage du complexe de pré initiation de la transcription, au niveau d'un promoteur, par une interaction directe ou indirecte avec les composantes basales de la machinerie transcriptionnelle. Les interactions

indirectes sont créées par l'action de certaines protéines qui servent à faire le pont, les cofacteurs (coactivateurs/corépresseurs) ou facteurs de transcription intermédiaires (TIFs).

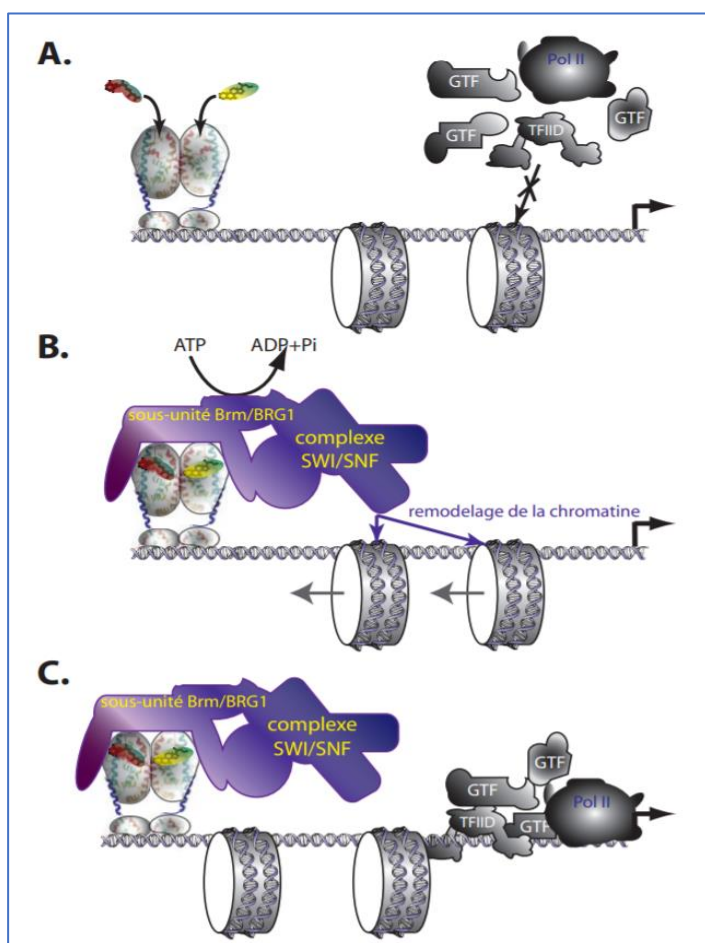
Ils forment des complexes protéiques qui s'associent aux récepteurs nucléaires au niveau du domaine de liaison du ligand et modulent leur activité transcriptionnelle. Plusieurs cofacteurs interagissent avec les mêmes récepteurs nucléaires et sont exprimés dans une variété de tissus.

**I.4.4.1. Co-activateurs des récepteurs nucléaires**

Il existe un grand nombre de co-activateurs connus à ce jour. L'interaction de ces co-activateurs avec les RNs se fait au niveau de motifs appelé NR Box, dont la séquence est LXXLL (où L = Leucine et X = n'importe quel acide aminé). Il est intéressant de noter que la séquence protéique de la NR Box est très proche de celle de la CoRNR des co-répresseurs.

Globalement, les co-activateurs sont répartis en quatre groupes principaux :

➤ **Facteurs remodelant la chromatine dépendants de l'ATP** : Parmi ces facteurs, la famille la plus connue est SWI/SNF (mating type switching/sucrose nonfermenting) et les complexes RSC (Remodeling the Structure of Chromatin).



**Figure 7. Représentation schématique du fonctionnement des corégulateurs agissant par remodelage de la chromatine.**

**A.** L'accès des facteurs généraux de la transcription (GTF, TFIID, Pol II) à l'ADN est limité par sa compaction assurée par les histones. Un hétérodimère de RNs est représenté sur la gauche, fixé à leur élément de réponse et exposé à leurs ligands respectifs.

**B.** La fixation des ligands permet de générer des surfaces d'interaction avec des corégulateurs (voir leur description dans le texte) qui provoquent un remodelage des histones grâce à l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. Le "glissement" des nucléosomes représenté ici n'est qu'une des possibilités de remodelage de la chromatine et la formation, la destruction ou la modification de la conformation d'un nucléosome peuvent également se produire selon les cas.

**C.** Ce remodelage des histones autorise l'accès des facteurs généraux de la transcription à l'ADN. Le complexe de pré-initiation peut ainsi s'assembler et initier la transcription. GTF : General Transcription Factor, TFIID : Transcription Factor II D (contient TBP), Pol II : ARN polymérase II. [voir [www.nursa.org](http://www.nursa.org)]

- **Coactivateurs modifiant les histones** : permettent la décondensation de la chromatine
- Histone acétyltransférases : 1 / Famille des protéines p160 (SRC-1, 2 et 3 (Steroid Receptor Coactivator-1, 2 et 3). 2 / Famille des protéines p300 ou CBP (cAMP response element-Binding Protein) et 3/ Famille des protéines P/CAF (P300/CBP-Associated Factor).
  - Histone Arginine métyltransférase : CARM1 (CoactivatorAssociated aRginine Methyltransferase 1), PRMT1 (Protein aRginine Methyltransferase 1) et BRG1 (Brahma-related gene 1).
  - *Le complexe TRAP/DRIP* (Thyroid Receptor-Associated Protein / Vitamin D Receptor Interacting Protein) .

### I.4.4.2. Co-répresseurs des récepteurs nucléaires

Ils interagissent soit avec les récepteurs nucléaires liés de façon constitutive à l'ADN (notamment les récepteurs TR et RAR) exerçant ainsi un effet répresseur, soit avec les récepteurs liés à des antagonistes ou agonistes partiels qui, du fait de la nature de leur ligand, adoptent une configuration propice à la liaison des co-répresseurs.

Les co-répresseurs les plus documentés sont N-CoR (Nuclear Receptor Co-Repressor) et SMRT (Silencing Mediator for RAR and TR). Ces deux protéines partagent 43 % d'identité en acides aminés. L'interaction de ces co-répresseurs avec les NRs se fait au niveau de motifs « CoRNR » ou ID (Interacting Domain) situés en position C-terminale du co-répresseur, dont la séquence consensus est : I/LXXI/VI. Par des motifs situés en position N-terminale, le co-répresseur contacte à la fois directement et indirectement des histones déacétylases (HDAC) via des protéines de type Sin3. Les activités HDAC maintiennent la chromatine dans un état de condensation non permissif pour la transcription génique.

## I.5. Mécanismes de signalisation de récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires peuvent exercer différents effets sur la transcription de leurs gènes cibles

### I.5.1. Activation de la transcription

#### I.5.1.1. Voie classique ligand- dépendante

C'est le mode d'action typique. En absence de ligand, le récepteur nucléaire est maintenu sous forme inactive adopte une conformation bien particulière, notamment concernant l'hélice  $\alpha$  H12 qui reste libre (Figure ci dessous). La liaison du ligand induit un changement conformationnel du récepteur. C'est ainsi que l'hélice  $\alpha$  H12 se repositionne définissant ainsi une surface d'interaction des récepteurs nucléaires pour les coactivateurs permettant l'acétylation des histones ce qui

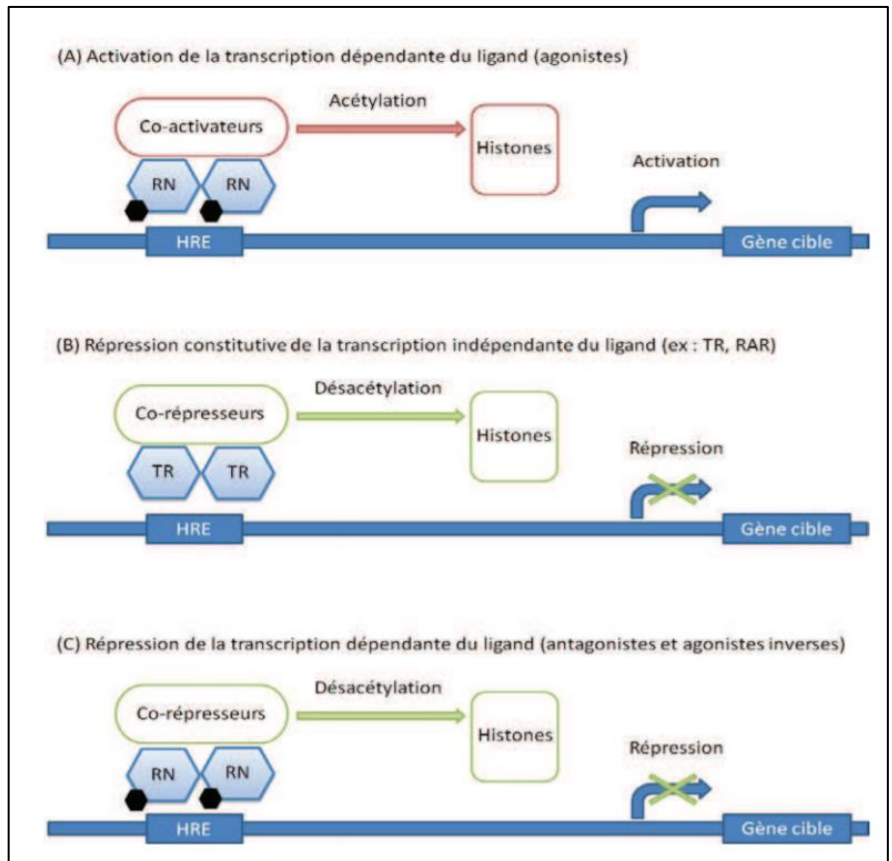
prépare les promoteurs des gènes cibles pour la transactivation par décondensation de la chromatine correspondante. (figure ci dessous) .

### I.5.2. Répression de la transcription

#### I.5.2.1. Constitutive indépendante du ligand

Lorsqu'aucun ligand n'est présent au niveau du LBD, l'hétérodimère est constitutivement fixé sur ses éléments de réponse.

Ainsi, à l'état inactif les RNs agissent-ils comme des répresseurs de la transcription génique par le recrutement de co-répresseurs. Par des motifs situés en position N-terminale, le co-répresseur contacte à la fois directement et indirectement des histones déacétylases (HDAC) via des protéines de type Sin3. Les activités HDAC maintiennent la chromatine dans un état de condensation non permissif pour la transcription génique.



Lorsqu'il n'y a pas de ligand, la présence constitutive sur les éléments de réponse des complexes RXR/partenaire-Corépresseur-HDAC agit comme un répresseur basal de l'expression génique.

#### I.5.2.2. Dépendante du ligand

La fixation d'un **antagoniste / agoniste inverse** a pour effet de déplacer l'hélice H12 dans une position masquant le site d'interaction des coactivateurs (LxxLL). Ainsi, certains ligands portent des chaînes latérales plus ou moins encombrantes qui vont déborder ou non de la poche hydrophobe de fixation de l'hormone et pointer vers l'hélice H12, provoquant une contrainte stérique et limitant ainsi la formation d'une surface suffisante pour le recrutement de co-facteurs.

#### I.5.2.3. Liaison indirecte a L'ADN / ERH indépendante

Le complexe ligand récepteur peut interagir avec d'autres facteurs de transcription tels que SP-1 ou AP-1, liés sur des séquences ADN qui leur sont spécifiques.

## **Chapitre II**

# **Résistance aux glucocorticoïdes**



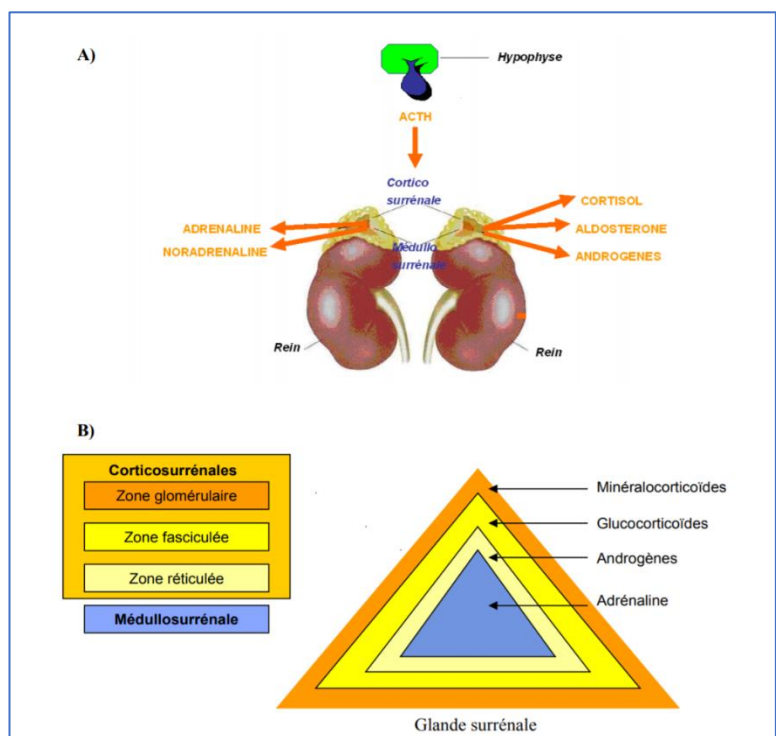
Les glucocorticoïdes, aux multiples propriétés pharmacologiques, exercent leurs actions au niveau nucléaire par des mécanismes génomiques d'activation de transcription (transactivation), grâce à des facteurs de transcription incluant leur récepteur (GR) activé et par des mécanismes de répression d'expression de gènes (transrépression). Ces modes d'action concourent aussi bien à des effets thérapeutiques puissants sur les pathologies inflammatoires et immunitaires qu'à des effets indésirables qui peuvent s'avérer très délétères sur des fonctions physiologiques vitales (cardiovasculaire, hydroélectrolytique, endocrinienne. . .).

Des mécanismes non génomiques, à effets thérapeutiques plus rapides, ont également été explorés, impliquant également le GR dans différents sites, membranaires et cytosoliques. Tout aussi complexes, les mécanismes de résistance aux glucocorticoïdes impliquent, entre autres, l'expression des GR, la fixation des glucocorticoïdes aux GR, les capacités d'apoptose cellulaire, l'expression de protéines participant à l'action génomique des glucocorticoïdes. Des régulateurs de l'activité du GR participeraient également, y compris l'isoforme du GR. Cette résistance peut être acquise au cours de l'évolution d'une inflammation ou d'une infection. Enfin, parmi les axes de recherche visant à réduire les effets indésirables au cours des traitements anti-inflammatoires ou immunosuppresseurs, des protéines médiatrices de l'activité des glucocorticoïdes seraient de potentielles cibles thérapeutiques.

**II.1. Présentation des glandes surrénales**

Les glandes surrénales sont divisées en deux parties, la médullosurrénale et la corticosurrénale.

La corticosurrénale sécrète, elle, différentes hormones stéroïdiennes. Elle est divisée en trois zones que l'on peut distinguer par leur aspect histologique : la zone glomérulée, la zone fasciculée et la zone réticulée. La première zone est la plus superficielle. Cette zone sécrète essentiellement des minéralocorticoïdes, dont le chef de file est l'aldostérone, elle a donc un rôle dans le maintien de l'équilibre hydroélectrolytique. Les zones fasciculée et réticulée sont

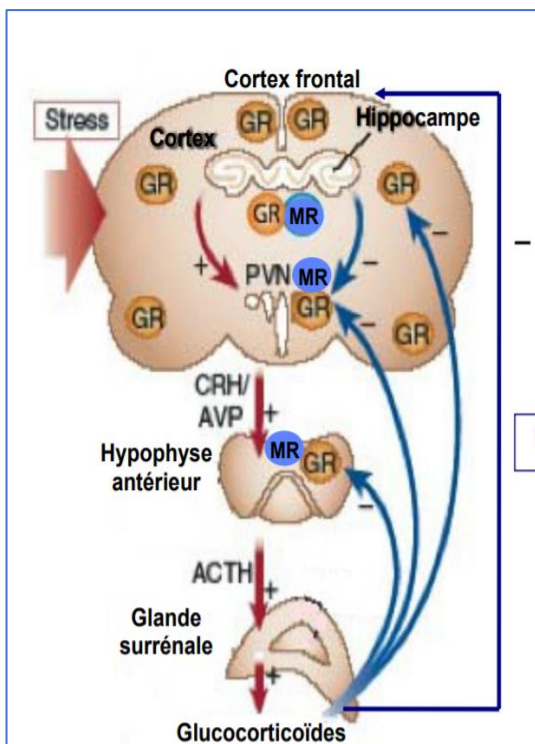


celles qui sécrètent des glucocorticoïdes, et en particulier le cortisol et la dernière *zone réticulée* sécrète aussi en quantité plus modérée des hormones sexuelles (androgènes et œstrogènes).

Les hormones stéroïdiennes sont des hormones lipophiles. Nous pouvons distinguer celles d'origine sexuelle, comme les androgènes, œstrogène, progestérone, de celles d'origine corticosurrénalienne, comme les glucocorticoïdes et les minéralocorticoïdes, qui nous intéressent actuellement. Elles sont toutes formées à partir du cholestérol. Il peut être exogène : apporté par l'alimentation via la circulation sanguine, ou endogène par synthèse à partir de l'acétyl Co A.

Dans les cellules stéroïdoïdogènes, le cholestérol est estérifié grâce à l'enzyme ACAT (AcylCoA-cholestérol-acyltransférase) et stocké dans le cytoplasme sous forme de gouttelettes lipidiques. Son utilisation nécessite l'action d'une estérase pour libérer le cholestérol dans le cytoplasme et lui permettre l'accès aux mitochondries (Rodwell et al., 2015). A partir ces molécules, différentes hormones stéroïdiennes sont synthétisées, en fonction de l'action de différentes enzymes dont celles de la famille des Cytochromes P450 (CYP), une superfamille de protéines à noyau hème, responsable de la majeure partie du métabolisme oxydatif des médicaments ; et la 3β-Hydroxystéroïde déshydrogénase (3βHSD), qui vont déterminer leur devenir [Pillon , 2011].

II.2. Axe corticotrope et les glucocorticoïdes



L'axe corticotrope ou axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien constitue un axe endocrinien majeur dans la régulation des glucocorticoïdes. (Fig. 8). Une grande diversité de stimuli (rythme circadien, prise alimentaire, stimuli homéostatiques ou externes) peut être à l'origine de l'activation de cet axe. Cette activation conduit à la libération, dans la circulation sanguine des hormones glucocorticoïdes, responsables de la plupart des effets physiologiques. Dans la circulation sanguine, une large majorité du cortisol est liée à la transcortine.

Figure 9. Organisation de l'axe corticotrope (selon Akil, 2005, Lupien et al, 2009).

NPV : noyau parventriculaire ; AVP : arginine vasopressine ; CRH : corticolibérine ; ACTH : hormone adrénocorticotrope ; GR : récepteur aux glucocorticoïdes ; MR : récepteur aux minéralocorticoïdes.

L'activation de l'axe corticotrope est initiée par l'hypothalamus qui reçoit des informations du système limbique (hippocampe, amygdale). Le noyau paraventriculaire sécrète en réponse le CRH et l'AVP, stimulant la libération d'ACTH par l'antéhypophyse. Cette hormone stimule à son tour la sécrétion des glucocorticoïdes par les surrénales. L'augmentation des GCs cible des sites impliqués dans le rétrocontrôle négatif (l'hypophyse antérieure, l'hippocampe, l'hypothalamus et le cortex frontal) en activant des récepteurs MR et GR, limitant ainsi l'activité de l'axe corticotrope et la sécrétion des GCs.

**II.3. Classification des corticoïdes**

**II.3.1. Glucocorticoïdes naturels**

Les glucocorticoïdes naturels (cortisone ou hydrocortisone) sont utilisés essentiellement dans l'hormonothérapie substitutive des insuffisances surrénales. L'hémi succinate d'hydrocortisone a, quant à lui, un effet très rapide et doit donc être réservé aux urgences.

**II.3.2. Glucocorticoïdes de synthèse**

Les glu corticoïdes de synthèse ont une activité majorée afin de permettre une meilleure action anti-inflammatoire et leurs effets minéralocorticoïdes sont réduits (voir tableau 1). Ils sont utilisés dans les autres indications thérapeutiques (anti-inflammatoires, immunosuppressives, anti-allergiques) et sont définis en :

**Tableau 3.** Activités des glucocorticoïdes

Molécule	Équivalent de dose (à 20 mg de cortisone)	Effet anti-inflammatoire	Effet minéralo-corticoïde	Demi-vie
Bétaméthasone	0,75 mg	30	0	36-54 heures
Cortisone	25 mg	1	0,8	8-12 heures
Cortivazol	–	60	0	–
Dexaméthasone	0,75 mg	30	0	> 60 heures
Méthylprednisolone	4 mg	5	0,5	36-54 heures
Prednisolone	5 mg	4	0,8	18-36 heures
Prednisone	5 mg	4	0,8	18-36 heures
Triamcinolone	4 mg	5	0	36-54 heures

- **Corticoïdes courts terme** : (prednisone, prednisolone, méthylprednisolone), de pouvoir anti-inflammatoire 4 à 5 fois supérieur à celui du cortisol ;
- **Corticoïdes à terme intermédiaires** : (triamcinolone, paraméthasone), de pouvoir anti-inflammatoire 5 à 10 fois supérieur à celui du cortisol ;
- **Corticoïdes à long terme** (bêtaméthasone, dexaméthasone, cortivazol), de pouvoir anti-inflammatoire 25 à 30 fois supérieur à celui du cortisol (jusqu'à 60 fois pour le cortivazol).

**II.4. Propriétés pharmacocinétique des glucocorticoïdes**

L'absorption digestive des corticoïdes est de 80 %. La prednisolone est moins bien absorbée que la prednisone. La fixation protéique des corticoïdes est variable, de 70 à 90 % selon les molécules. Les corticoïdes sont transportés par l'albumine (forte capacité mais faible affinité) et la transcortine (faible capacité mais forte affinité). La prednisone est transformée en prednisolone au niveau hépatique par 11--hydroxylation. Le métabolisme est mal connu, mais dépendant du cytochrome CYP3A4 au niveau hépatique. La méthylprednisolone est très sensible aux inducteurs et inhibiteurs enzymatiques. Le budésonide subit un effet de premier passage important expliquant son action locale dans les entéocolites inflammatoires.

**II.5. Propriétés métaboliques des glucocorticoïdes**

Les effets métaboliques s'exercent à différents niveaux (voir tableau)

**Tableau 4.** Propriétés métaboliques des glucocorticoïdes

Types de métabolisme	Effets
<b>Protéique</b>	Augmentent le catabolisme et diminuent l'anabolisme
<b>Glucidique</b>	Stimulent la néoglycogénèse et la glycogénolyse, et diminuent l'utilisation périphérique du glucose responsable d'une hyperglycémie
<b>Lipidique</b>	Redistribution facio-tronculaire des masses lipidiques
<b>L'eau et des électrolytes</b>	Rétention sodique et fuite potassique du fait des effets minéralo-corticoïdes.

**II.6. Effets secondaires des glucocorticoïdes**

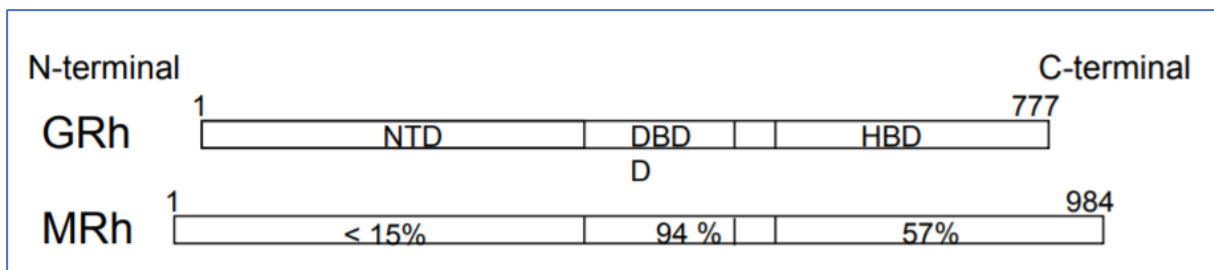
Les effets secondaires des glucocorticoïdes sont semblables aux manifestations de Hypercorticisme.

- Intolérance au glucose et diabète sucré ;
- Rétention hydrosodée ;
- Obésité facio-tronculaire (en augmentant l'appétit) ;

- Effets secondaires digestifs, cutané, oculaire ;
- Amyotrophie et la myopathie cortisonique (traitements prolongés) ;
- Ostéoporose et ostéonécrose aseptique ;
- Retard de croissance (l'enfant et de l'adolescent) ;
- Infections

**II.7. Mode d'action des glucocorticoïdes**

Les actions des glucocorticoïdes sur les cellules cibles sont médiées par des récepteurs de deux types : les MR (type 1) et les GR (type 2). Ces deux récepteurs appartiennent à la même famille de récepteurs, ils sont étroitement liés et montrent une similitude dans leur structure génique. Les MR et GR partagent 57 % d'acides aminées du LBD et 94 % des gènes du DBD (Roumestan, 2004) expliquant leur capacité de liaison aux glucocorticoïdes (Fig.9).



**Figure 9.** Structure et homologie des récepteurs stéroïdiens.

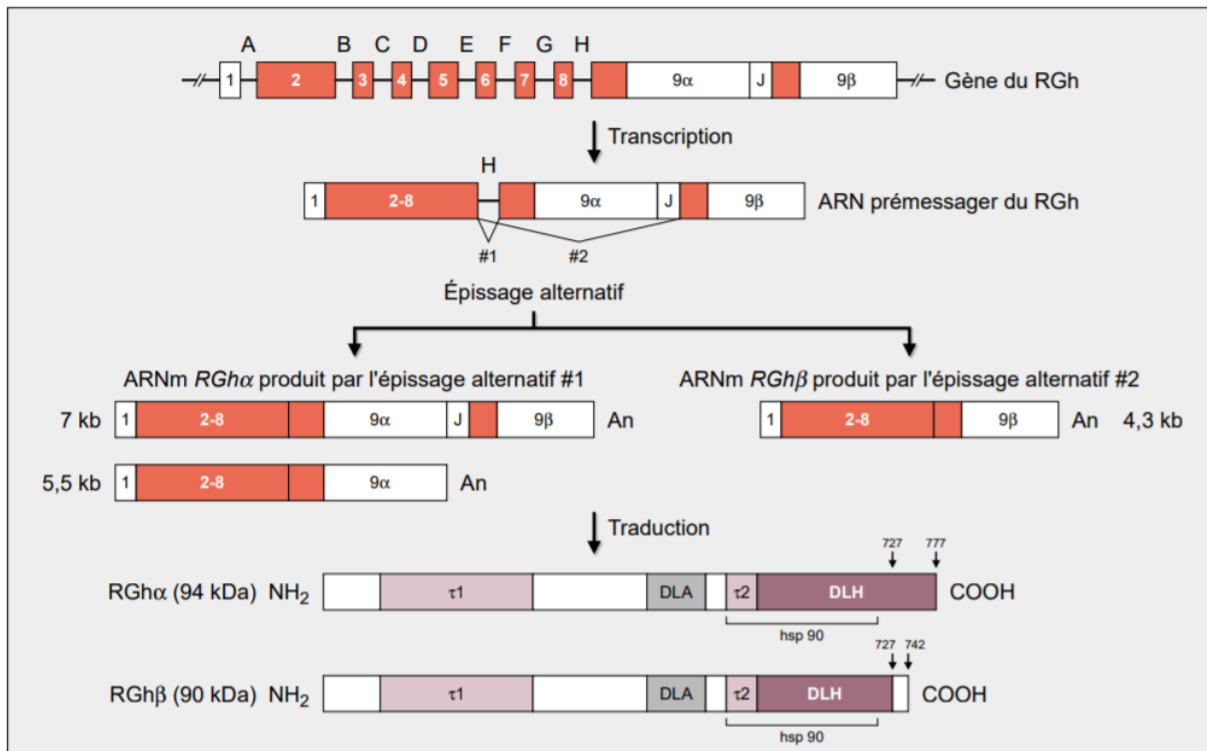
Cependant, l'affinité de ces deux récepteurs à leur ligand est différente. Le MR lie le cortisol (ou la corticostérone) et l'aldostérone avec une *forte affinité* (constante de dissociation  $K_d = 0,5$  nM) alors que le GR présente une *forte affinité* pour les *glucocorticoïdes de synthèse* (dexaméthasone). Il lie les corticostéroïdes avec une affinité *dix fois moins forte* que celle des MR ( $K_d = 5$  nM). En condition normale, du fait des affinités différentes du MR et du GR, les *glucocorticoïdes sont liés aux MR*.

**NB :** La saturation des GR ne peut avoir lieu qu'en cas d'hypersécrétion de glucocorticoïdes.

**II.7.1. Gène du GR et caractéristiques du GR**

Les GRs, fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires, est codé par un seul gène situé sur le chromosome 5 chez l'homme. Ce gène est formé de 10 exons, et seul l'exon 1 n'est pas transcrit. La transcription du gène du GR donne naissance, par épissage alternatif, à trois isoformes d'ARNm (Fig. 10) : une isoforme d'environ 7kb qui est constituée de l'ensemble des exons et de l'intron J, une isoforme d'environ 5,5kb qui est constituée des 8 premiers exons et de l'exon 9 $\alpha$  et une isoforme d'environ 4,3kb qui est constituée des 8 premiers exons et de l'exon 9 $\beta$ .

La traduction de ces différents ARNm produit deux isoformes du GRh : les ARNm 7 kb et 5,5 kb génèrent l'isoforme  $\alpha$  (GRh $\alpha$ , de 94 kDa), l'ARNm 4,3kb engendrerait l'isoforme  $\beta$  (GRh $\beta$ , de 90kDa) . la forme inactive (GRh $\beta$ ) diffère de GRh $\alpha$  dans le *domaine de liaison des glucocorticoïdes* par une séquence spécifique de 15 acides aminés (acides aminés 727- 742), qui remplacent les 50 derniers acides aminés , cela la rend incapable de lier les glucocorticoïdes.



**Figure 10. Structure du gène du GRh.** Les exons sont représentés par des rectangles et les introns par des lignes. Les portions codantes sont colorées en rouge.

## II.7.2. Mécanisme d'action des GRs

### II.7.2.1. Voie génomique

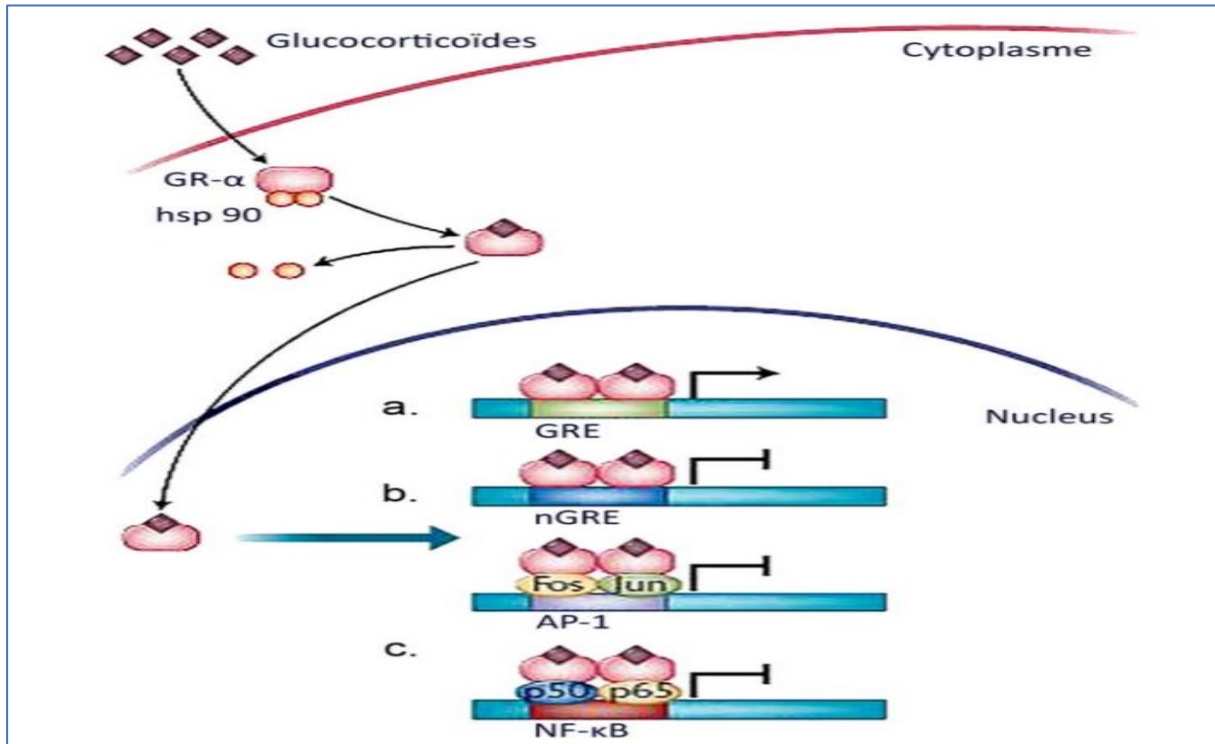
Les effets génomiques des glucocorticoïdes, puisqu'ils nécessitent la synthèse protéique, ne sont visibles qu'à partir d'un certain délai, de l'ordre de quelques heures.

#### a. Liaison au GR et translocation nucléaire

Après avoir diffusé à travers la membrane cellulaire de manière passive, les glucocorticoïdes se lient à l'isoforme active GR- $\alpha$ , qui est associée aux protéines chaperonnes (hsp90). S'en suit la dissociation de ces dernières et la translocation nucléaire du GR et de son ligand. Le GR- $\alpha$ , sous forme d'homodimère va alors interagir avec l'ADN de 3 façons possibles (Fig. 11) [Pujols, *et al.*, 2007].

**b. Mécanismes de transactivation**

Le dimère peut se lier à des GRE dans la région promotrice des gènes ciblés et active ainsi la transcription génique comme par-exemple: l'induction de la cytokine anti-inflammatoire IL-10, de l'annexin-1, du MKP1 (inhibiteur du p38 MAPK, stabilisateur des protéines inflammatoires), de l'I $\kappa$ B- $\alpha$  (inhibiteur du NF- $\kappa$ B), mais également de la glutamine synthétase [Barnes, 2006].



**Figure 11.** Effets géniques des glucocorticoïdes. *a. Activation de la transcription génique; b. Inhibition de la transcription génique; c. Interaction protéine-protéine* [Adaptée par Pujols *et al.*, 2007].

**c. Mécanismes de Trans répression**

➤ **nGRE dépendant**

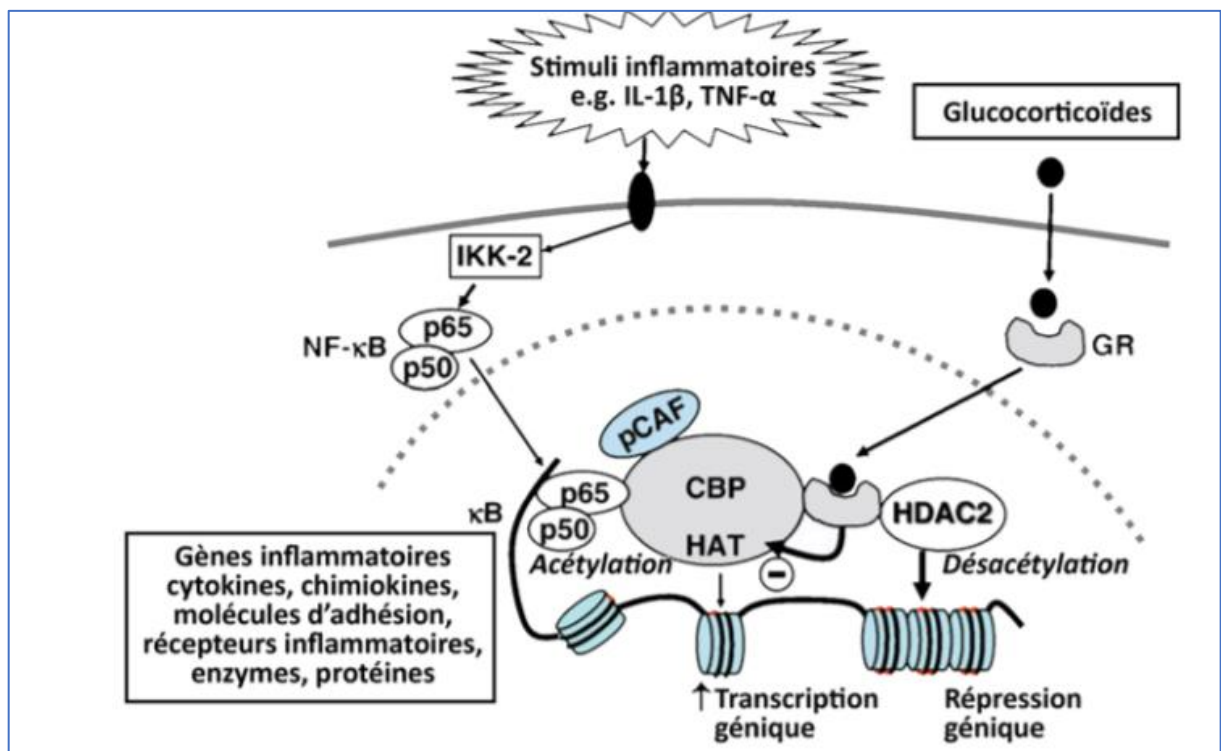
Le principe est le même que pour l'activation génique sauf qu'il implique les nGRE. S'en suit alors une inhibition de la transcription génique. Citons par exemple, l'ostéocalcine Ce mécanisme n'est pas le plus souvent rencontré.

➤ **Interaction protéine-protéine**

Ce mécanisme est majeur et le plus souvent décrit. Le GR une fois dans le noyau, interagit avec des molécules co-activatrices, comme la CREB-binding protéine (CBP) activée habituellement par des facteurs transcriptionnels comme le NF- $\kappa$ B. Cette interaction avec le GR inhibe l'expression des gènes activés par ces facteurs transcriptionnels. De nombreuses études ont démontré que les glucocorticoïdes une fois lié au GR inhibaient les effets des facteurs post-transcriptionnels pro-

inflammatoires comme AP-1 et NF- $\kappa$ B , régulant ainsi l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires comme l'IL6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ou des molécules d'adhésion comme les ICAM-1 [Barnes, 2006].

L'expression des gènes inflammatoires est déclenchée par différents stimuli inflammatoires comme l'IL-1 $\beta$  ou le TNF- $\alpha$ , résultant en l'activation du NF- $\kappa$ B. Ce dernier interagit avec l'ADN du gène ciblé mais également avec des co-activateurs comme le CBP ou le p300/CBP-activating factor (pCAF). Ceci provoque l'acétylation des histones, et donc l'activation de l'expression de nombreux gènes inflammatoires. Le GR formant un complexe avec son ligand est capable de se lier également au CBP, d'inhiber son activité HAT et de recruter des histones déacétylase-2 (HDAC2), menant ainsi à la suppression de l'expression des gènes pro-inflammatoires (Barnes, 2006) (Fig.12)



**Figure 12.** Suppression de l'activité des gènes pro-inflammatoires [adapté par Barnes, 2006].

### II.7.2.2. Voie non génique (membranaire)

La voie non génique d'action des glucocorticoïdes peut se définir ainsi [Losel *et al.*, 2003] :

- Les effets sont observés dans un délai de temps très court de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes,



- Le profil pharmacologique est différent de la voie génique car les effets observés sont insensibles aux inhibiteurs transcriptionnels ou de synthèse protéique comme la cycloheximidine ou l'actinomycine D,
- Les effets peuvent être observés sur des cellules anucléées comme les érythrocytes, les plaquettes ou encore les spermatozoïdes.

Trois principaux mécanismes ont été décrits concernant l'action non génique des glucocorticoïdes (Fig. 13).

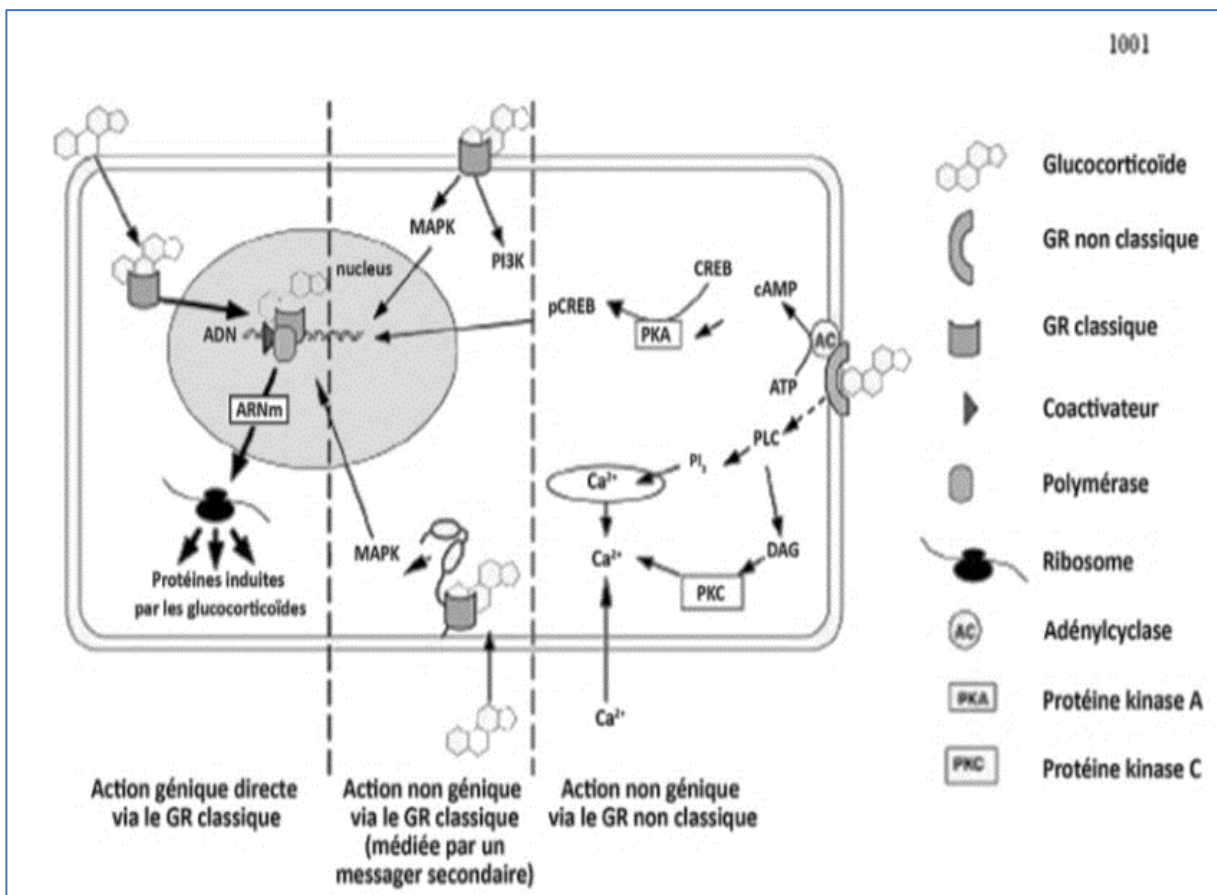


Figure 13. Effets non géniques des glucocorticoïdes [Adaptée par Losel *et al.*, 2003].

**a. Action non génique n'impliquant pas de récepteurs (non spécifique)**

Ces effets peuvent être médiés par une altération des propriétés physicochimiques de la membrane cellulaire et sans implication du GR. Les glucocorticoïdes, molécules lipophiles, diffusent très bien à travers les membranes cellulaires. Ils peuvent alors interagir, avec les composants de ces dernières comme les canaux ioniques ou leurs récepteurs. Ainsi, la *dexaméthasone* peut induire une diminution de la concentration en *calcium intracellulaire* ou encore stabiliser les membranes lysosomales indépendamment de sa liaison au GR [Losel *et al.*, 2003]. Puisque la majorité des effets n'impliquant pas de récepteurs spécifiques ont été décrits in

in vitro et à des concentrations en glucocorticoïdes dépassant le seuil physiologique ( $>10^{-5}$  M), leur existence in vivo reste controversée.

### **b. Action non génique via le récepteur intracellulaire classique**

Certains effets des glucocorticoïdes sont caractérisés par une insensibilité aux inhibiteurs transcriptionnels ou de synthèse protéique mais peuvent être renversés par l'antagoniste des glucocorticoïdes, la mifépristone (ou RU486). Ainsi ces effets sont donc médiés par le GR classique. Citons comme exemple l'activation de l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) possédant un effet cardiovasculaire protecteur ou encore l'inhibition de la synthèse de radicaux libres par les neutrophiles équinaux [Lecoq, Vincent, Lavoie-Lamoureux et Lavoie, 2009].

### **c. Action non génique via des récepteurs non classiques**

Des études ont suggéré l'existence des récepteurs membranaires, différents du GR classique. Ce mécanisme impliquerait la présence d'un messenger secondaire comme des protéines kinases ou l'AMPc [Mitre-Aguilar *et al.*, 2015].

## **II.8. Syndrome de résistance aux glucocorticoïdes (SRG)**

Bien que les glucocorticoïdes soient très efficaces dans le traitement de la plupart des maladies inflammatoires et à médiation immunes chez l'Homme, un pourcentage non négligeable de patients est peu sensible à la corticothérapie même à doses élevées. C'est le cas, par exemple, lors d'asthme sévère.

### **II.8.1. Définition de SRG**

C'est une maladie sporadique ou héréditaire, définie comme *maladie de Cushing* biologique sans signes cliniques.

### **II.8.2. Symptômes**

- Hyperandrogénie
- Augmentation du taux de l'ACTH
- Elevation de taux du cortisol libre urinaire
- HTA avec hypocaliémie

### **II.8.3. Etiologie**

De multiples facteurs contribuant à la résistance aux glucocorticoïdes ont été identifiés et font toujours l'objet d'études. Quelques-uns ont plus particulièrement été décrits récemment. Une

mutation dans le domaine C-terminal du GR le rendrait déficient, cela a été montré chez des patients souffrant d'une leucémie aiguë lymphoblastique, résistants au traitement ou en rechute .

Une diminution du nombre de GR est également retrouvée, le taux d'expression du GR apparaîtrait étroitement corrélé avec l'ampleur de la réponse aux glucocorticoïdes. Les taux de GR, variables dans les cellules, sont régulés de manière spécifique par les concentrations de ligands environnants. Le mécanisme de cette régulation a été attribué à une réduction de transcription du gène GR aussi bien qu'à une diminution de la stabilité de l'ARNm et des protéines du GR .

Le complexe GR et protéines chaperonnes peut-être altéré ainsi que les étapes de translocation vers le noyau. En effet, une expression anormale de HSP90 et 70 a été retrouvée dans des cellules leucémiques. Dans ces cellules, les glucocorticoïdes permettent la production, via les mitochondries, d'espèces oxygénées réactives (ROS) intervenant dans l'apoptose cellulaire induite. Une anomalie de cette production par les mitochondries expliquerait la résistance de cellules de lymphome aux glucocorticoïdes.

Les cellules malignes deviennent alors incapables d'initier le programme d'apoptose en réponse à l'agoniste du GR : la résistance est alors corrélée positivement à un mauvais pronostic. De plus, les cellules tumorales présentant une augmentation des taux de catalase et de glutathion peroxydase, protégées des ROS induisant l'apoptose, seraient résistantes à l'action des glucocorticoïdes

Dans l'asthme résistant et dans la bronchopneumopathie chronique obstructive, même de fortes doses de glucocorticoïdes ont peu d'impact sur l'aggravation progressive de la maladie : il y aurait entre autres, une réduction de la fixation des glucocorticoïdes aux GR, une réduction de l'expression des GR, une inhibition de l'expression de l'histone désacétylase , une déficience de l'activité co-répressive.

Par ailleurs, chez les patients asthmatiques, dont la réponse physiologique aux glucocorticoïdes est normale, la résistance serait acquise dans les cellules immunitaires (et plus probablement les cellules T et les monocytes/macrophages), résultant de l'inflammation locale [36]. Le facteur de transcription AP-1 contribue à l'expression des cytokines impliquées dans l'asthme, or il est inductible par des cytokines, par des facteurs de croissance et par le stress oxydatif.

Des études ont montré une *augmentation de l'expression de l'isoforme  $\beta$  du GR* chez des patients résistants à la corticothérapie dans des maladies comme l'asthme sévère ou encore la spondylarthrite ankylosant. Le GR- $\beta$  agit comme inhibiteur dominant négatif, sous forme

d'hétérodimère GR $\alpha$ /GR $\beta$ , par *compétition* avec l'isoforme active  $\alpha$  pour la liaison au GRE . L'expression du GR- $\beta$  s'est révélée augmentée de manière constitutive chez les neutrophiles humains par rapport à son isoforme active  $\alpha$  étayant alors l'hypothèse d'une résistance intrinsèque de cette population cellulaire par rapport aux cellules mononucléaires [Kino *et al.*, 2009].

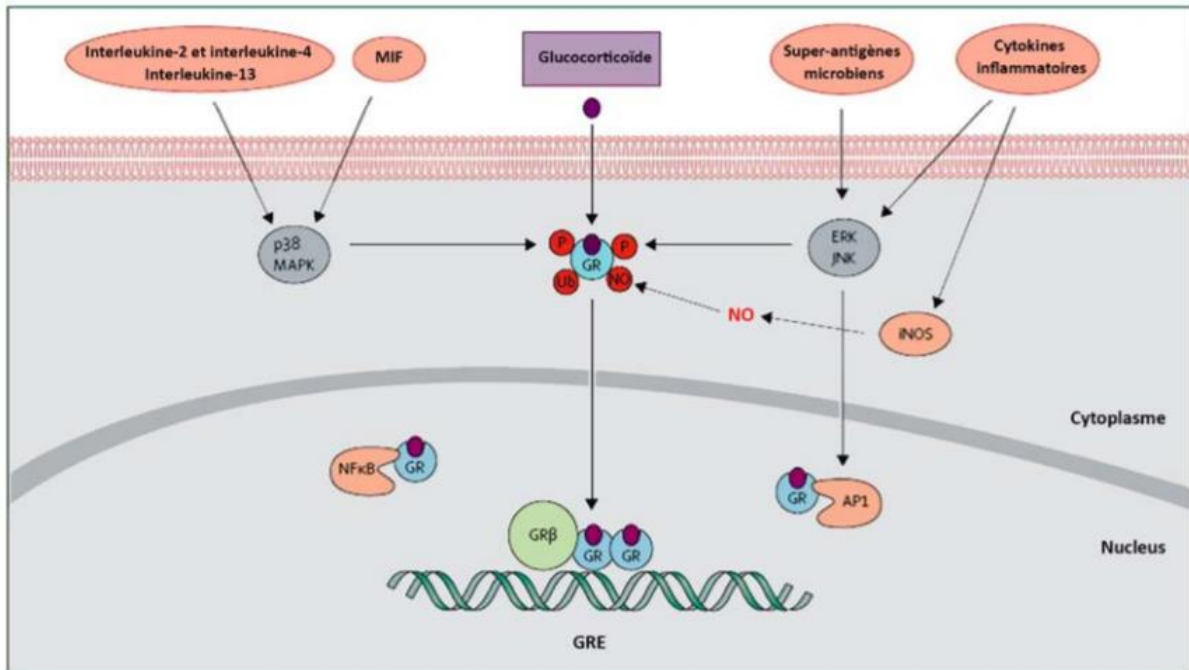


Figure 14. Mécanismes de résistance aux glucocorticoïdes. [Adaptée par Barnes and Adcock, 2009].

Dans les pathologies inflammatoires intestinales (maladie de Crohn, colite ulcéreuse) le mécanisme moléculaire, peu clair, impliquerait l'hétérocomplexe du GR, des médiateurs pro-inflammatoires et des protéines impliquées dans l'extrusion et le métabolisme des glucocorticoïdes. En particulier, l'ARNm du GR serait significativement *moins exprimé* dans les cellules de la muqueuse intestinale des patients ayant une colite ulcéreuse résistante aux glucocorticoïdes. Toutefois, la base génétique des résistances aux glucocorticoïdes fait l'objet de travaux qui ne sont pas encore probants [corticoid pol]

# **Chapitre III**

## **TRs : implications en physiologie et pathologies**



La découverte des récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR) sous la forme de sites de liaison spécifiques des hormones thyroïdiennes (HT) dans le foie et le rein date de 1972. Leurs gènes ont été identifiés en 1986. Depuis, les TR ont été impliqués comme des acteurs essentiels de la voie d'action des HT, médiateurs obligatoires du contrôle qu'elles exercent sur la transcription de leurs gènes cibles. En 1989, la caractérisation d'anomalies dans la séquence de l'un des gènes codant les TR dans le syndrome de résistance aux HT a encore renforcé l'intérêt que l'on pouvait leur porter. Les avancées techniques permises par la mise au point de modèles murins d'inactivation (knock-out) ou de surexpression génique (transgénèse) ont rendu ensuite possible l'identification des spécificités fonctionnelles des différentes isoformes de TR .

### III.1. Rappels anatomo-histologiques de la glande thyroïde

La thyroïde est une glande endocrine située dans la région cervicale médiane basse, formée de deux lobes reliés par un isthme, pesant entre 15 et 30 g (figure ). Elle sécrète des hormones thyroïdiennes (HT) sous l'action d'une hormone hypophysaire : la thyroïdostimuline (TSH). En arrière des lobes thyroïdiens se situent de minuscules glandes, les parathyroïdes, qui sécrètent parathormone.

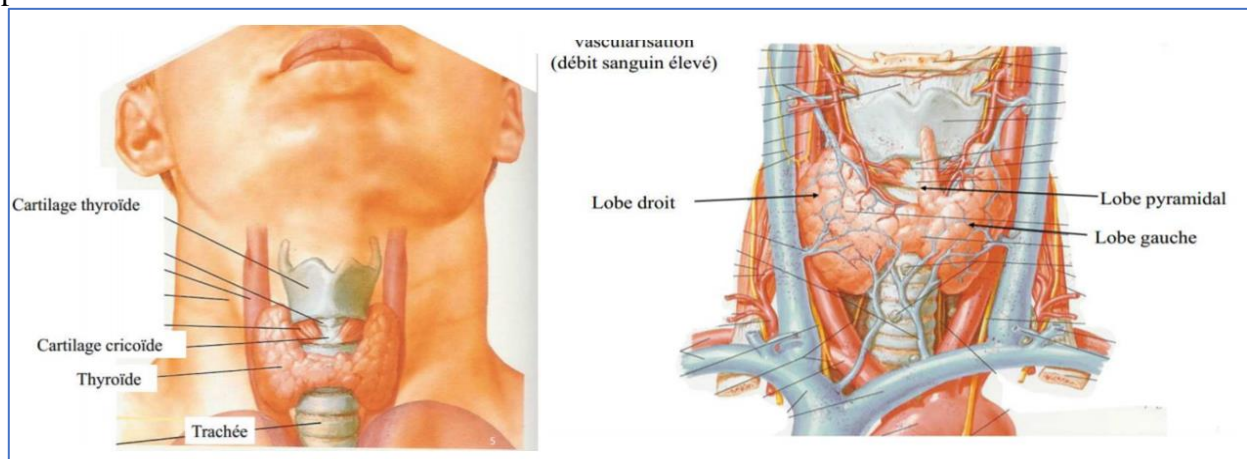


Figure 15 . Situation anatomie de la glande thyroïde .

Sur le plan histologique, cette glande est organisée en follicules d'un diamètre moyen de l'ordre de 200 micromètres. Les follicules sont formés par un épithélium simple de cellules folliculaires appelées : thyrocytes, représentant plus de 99 % des cellules de la glande. Ces cellules délimitent une cavité - l'espace folliculaire - contenant la substance colloïde. Les thyrocytes, ont rôle unique est celui de la synthèse des HT.

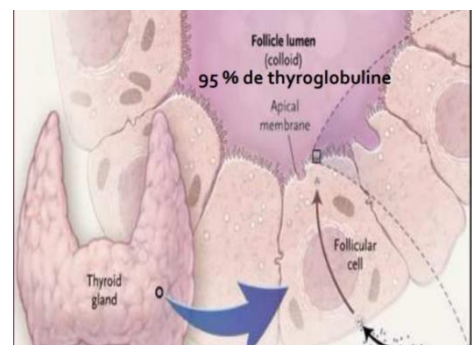
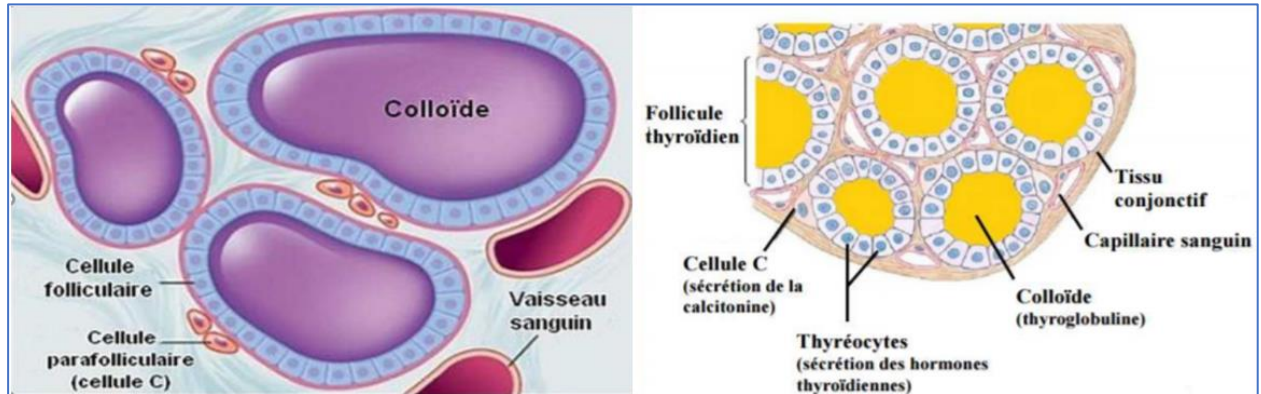


Figure 16. Représentation de l'histologie de follicule.

Les thyrocytes sont des de cellules bipolaires (2 pôles) : pôle basal et pôle apical à double fonctionnement : Exocrine vers la cavité folliculaire et Endocrine vers la circulation sanguine. La thyroïde comporte par ailleurs des cellules claires ou parafolliculaires Cellule C responsables de la synthèse de thyrocalcitonine : : 1% de la glande.



**Figure 17.** Structure d'un follicule thyroïdien.

### III.2. Thyrocalcitonine

C'est une hormone peptidique de 32 AA. Synthétisée par les cellules C ( cellules parafolliculaires) de la thyroïde. Elle est probablement sécrétée aussi par des cellules ectopiques (extra thyroïdiennes) : dans le cas chez les thyroïdectomies totale, il reste toujours une sécrétion résiduelle de calcitonine n'est pas par la TSH mais par la calcémie

#### III.2.1. Rôle de la thyrocalcitonine

- Action sur le métabolisme du calcium : rôle antagoniste de la parathormone (hypocalcémie et hypercalciurie) ;
- Action sur le métabolisme du phosphore : Hypophosphorémiant Non régulé par la TSH mais par la calcémie.

### III.3. Métabolisme des hormones thyroïdiennes

#### III.3.1. Etapes de Synthèse des hormones thyroïdiennes (voire Fig. 18)

La synthèse des hormones thyroïdiennes comporte plusieurs étapes [Šimundić *et al.*, 2009]:

##### a. Captation de l'iode sous forme d'iodure : capté préférentiellement par la thyroïde :

Cette capture est fait grâce une pompe à iode (NIS : natrium Iodide Symporter) située au niveau du pole basale des thyrocytes. Elle est stimulée par TSH et inhibée par brome thiocyanate perchlorate .



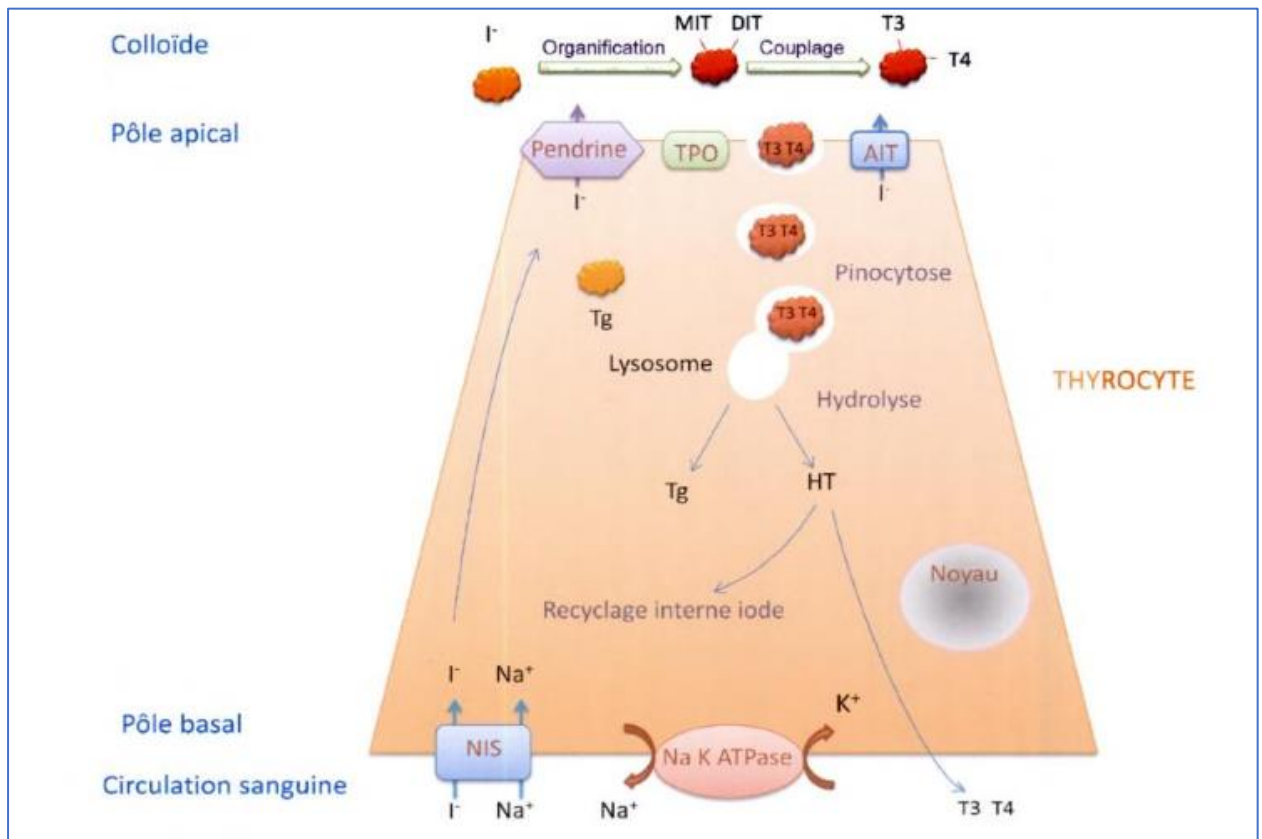


Figure 18. Etapes de biosynthèse des hormones thyroïdiennes [Wémeaux, 2010].

**b. Oxydation et organification de l'iode:**

Transformation de l'iode minérale apporté par l'alimentation en iode organique utilisable par la thyroïde par l'intermédiaire de TPO (thyroperoxydase.). Cette étape est accélérée par la TSH.

**c. Fixation de l'iode (iodation) sur les groupes tyrosyl de la thyroglobuline ;**

**d. Couplage des résidu de monoiodotyrosine et un résidu de diiodotyrosine :**

Un résidu de MIT et un résidu de DIT se combinent pour former la T3, et deux résidus de DIT pour former la T4 ( thyroxine). Cette réactionest catalysée par TPO .

**e. Stockage :**

L'ensemble thyroglobuline avec ses molécules T3, T4, MIT et DIT, est stocké dans la colloïde ;

**f. Libération des HT:**

Après son passage par microendocytose de la colloïde dans la cellule épithéliale, la thyroglobuline est hydrolysée par des enzymes protéolytiques ( des cathepsines lysosomiques)

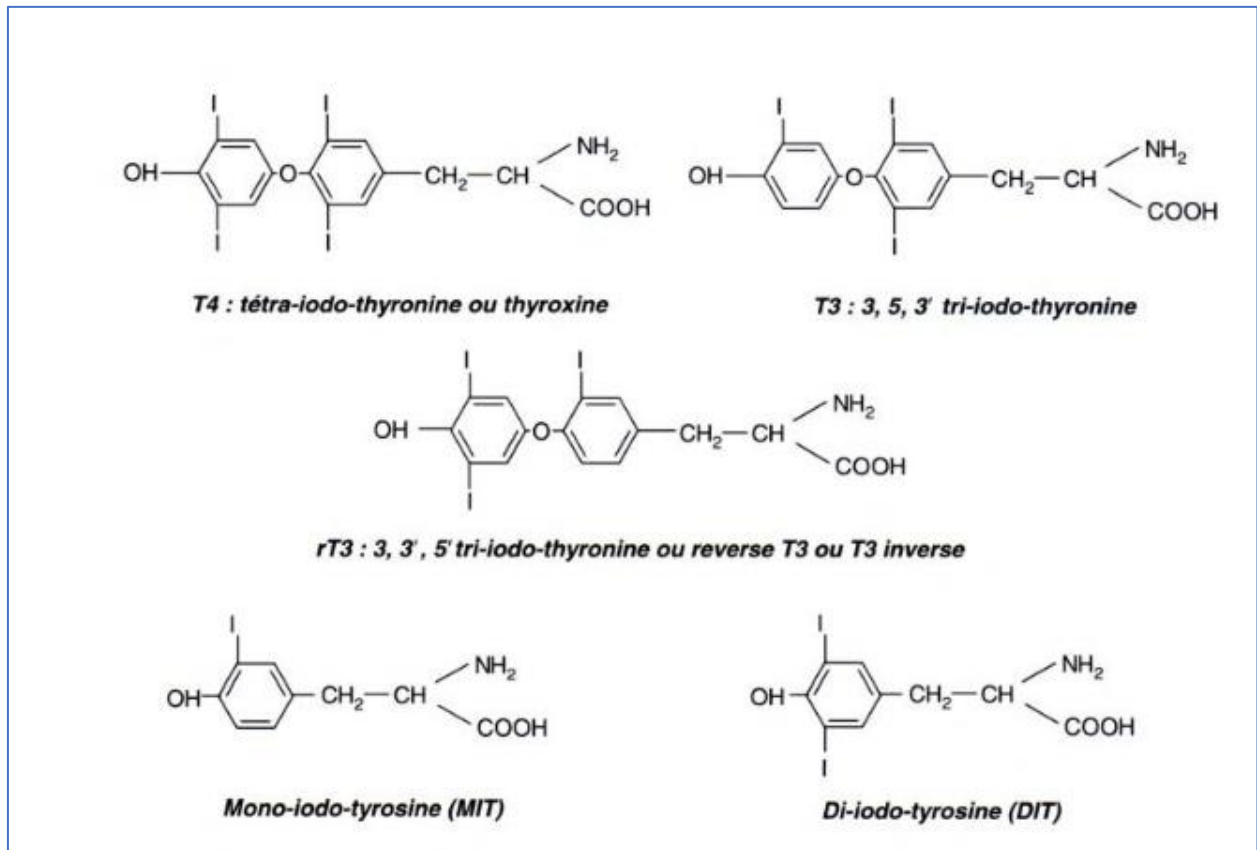


Figure 19. Structure des hormones thyroïdiennes [Wémeaux, 2010].

activées par la TSH libérant ainsi les hormones thyroïdiennes T3 et T4 qui sont ensuite sécrétées dans le plasma.

L'iode : besoins µg / jour	I 'iode dans l 'alimentation µg / 100 g
• Nouveau-né 35	• Algues 4500
• 1 à 10 ans 60-100	• Sel iodé 1500
• Adulte 100-150	• Morue fraîche 500
• Grossesse, allaitement 150-200	• Oeufs 50
Retard mental chez les enfants nés de mères carencées en iode : jusqu'à 10 points de QI en moins	• Crustacés 30
	• Haricots verts 30
	• Laitages 20
	• Viande 5
	• Eau (régions normales) 2-15
	• Eau (régions à goitres) 0,1-1
	<b>Le sel de cuisine est iodé à 5 mg/kg.</b>

III.3.2. Desiodation des hormones thyroïdiennes

La glande thyroïde produit une hormone, la thyroxine ou T4. Cette hormone est transportée par le sang jusqu'au foie et aux organes périphériques, où elle est déiodinée par les T4 5'-déiodinases de types I (dans le foie, rein et thyroïde) et type II (SNC, hypophyse et thyroïde) en T3 active. Tandis que, le T4 5-déiodinases transforme T4 en T3 reverse (T3r) inactive (Figure 10B).

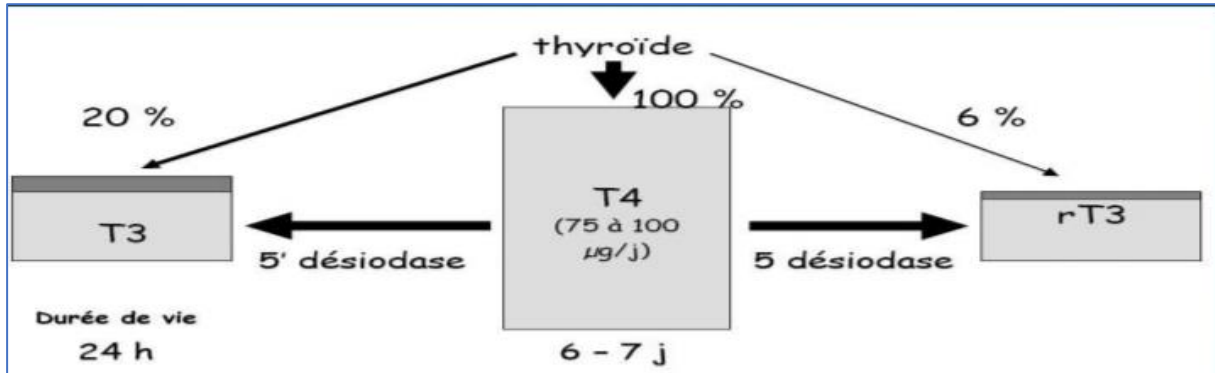


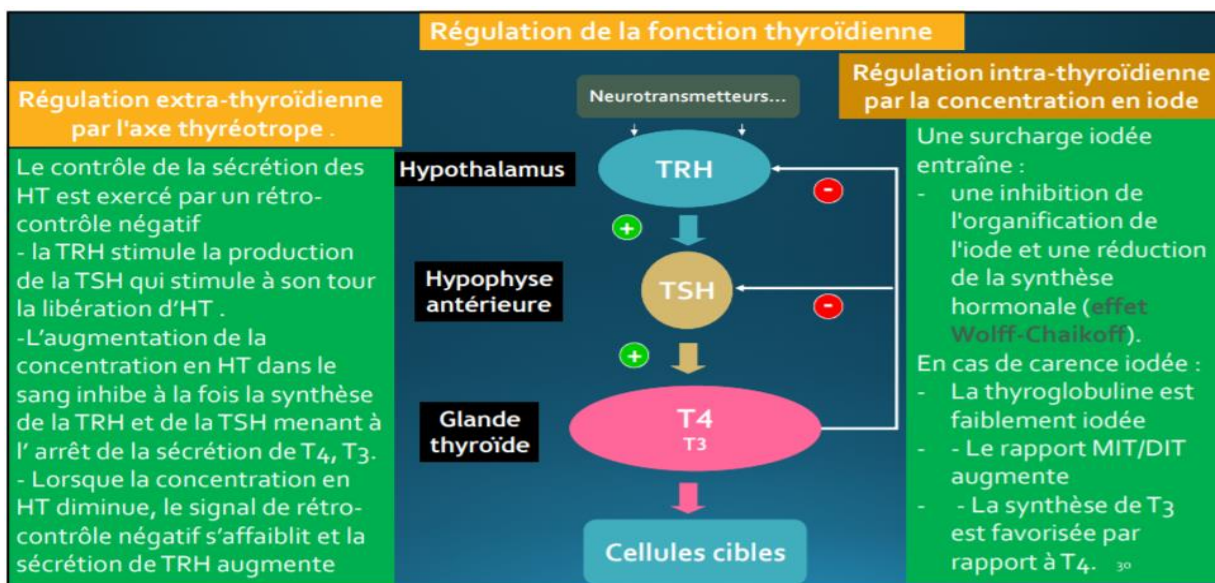
Figure 20. Origine et de durée de vie des hormones thyroïdiennes [PÉREZ-MARTIN, 2007].

III.3.3. Transport de Hormones Thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont hydrophobes et se lient à des protéines de transport ( $\geq 0,02\%$  de T4 et  $\geq 0,3\%$  de T3 restent libre), les principaux transporteurs sont : TBG - Thyroxin Binding Globulin (pour environ 60 à 75 %). Les deux autres : préalbumine ou transthyrétine (TTR) et l'albumine.

La totalité de la T4 circulante provient de la production thyroïdienne, tandis que la plus grande partie de la T3 est issue de la conversion périphérique de T4 en T3 (voire figure ci dessus).

III.4. Régulation de la biosynthèse



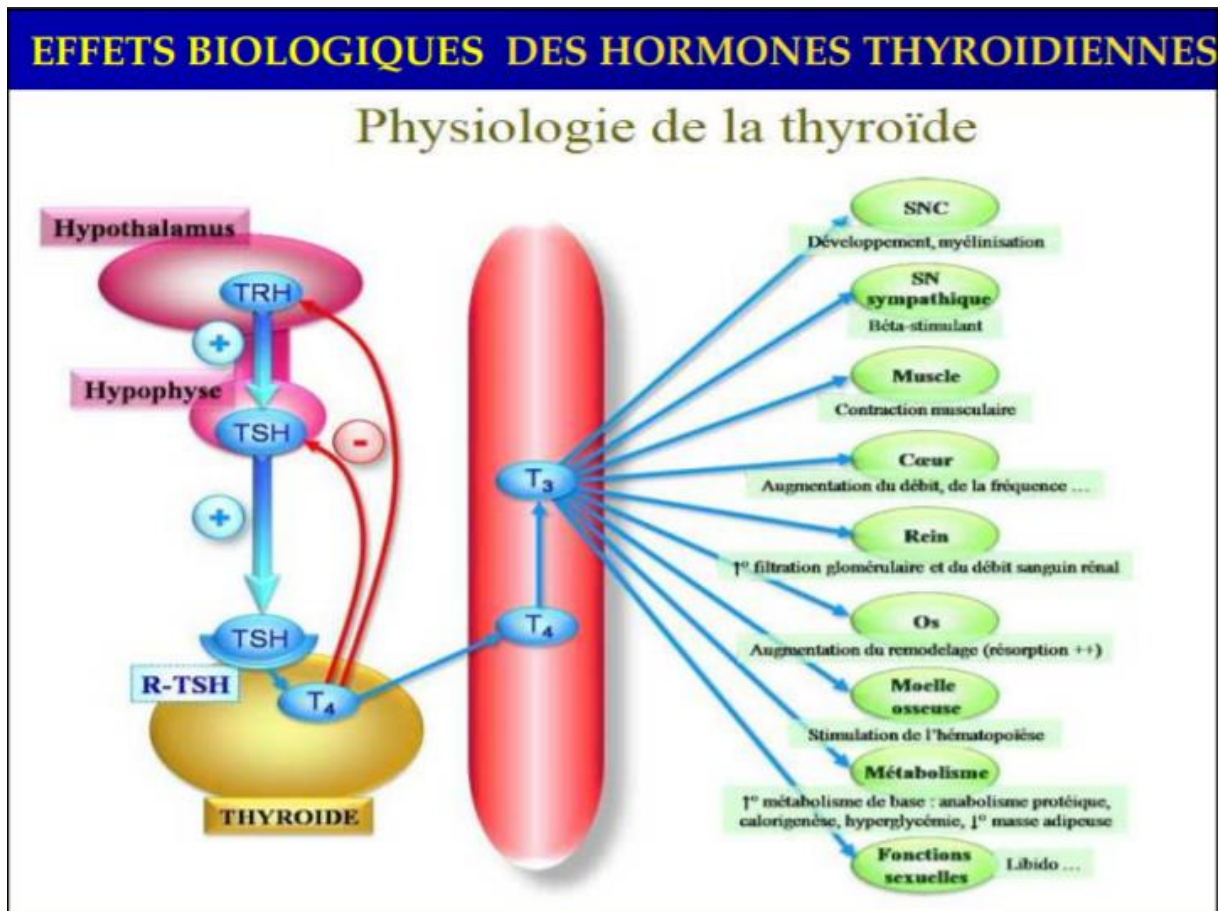
III.5. Effets biologiques des HT [ Šimundić *et al.*, 2009]

Figure 21. Effets biologiques des HT.

## III.6. Mécanismes d'action des HT

Bien que les HT exercent un effet non nucléaire sur différentes cibles cellulaires leur implication majeure se situe au niveau de la régulation de la transcription de gènes cibles. C'est essentiellement sous la forme T<sub>4</sub> que les HT entrent dans la cellule qui, convertie en T<sub>3</sub>, progresse jusqu'au noyau pour exercer son action. Bien qu'elles soient lipophiles, ce qui leur permet un passage par diffusion simple, les HT sont transportées de façon active à travers la membrane plasmique et nucléaire.

## III.6.1. Gènes codés des TRs

Il existe deux types de récepteurs des hormones thyroïdiennes codés par des gènes distincts mais de grande homologie : les gènes TR $\alpha$  (ou c-erbA $\alpha$ ) et TR $\beta$  (c-erbA $\beta$ ). Localisés respectivement sur les chromosomes 17 et 3, ils produisent plusieurs variants par épissage alternatif et/ou utilisation alternative de promoteurs (figure 1).

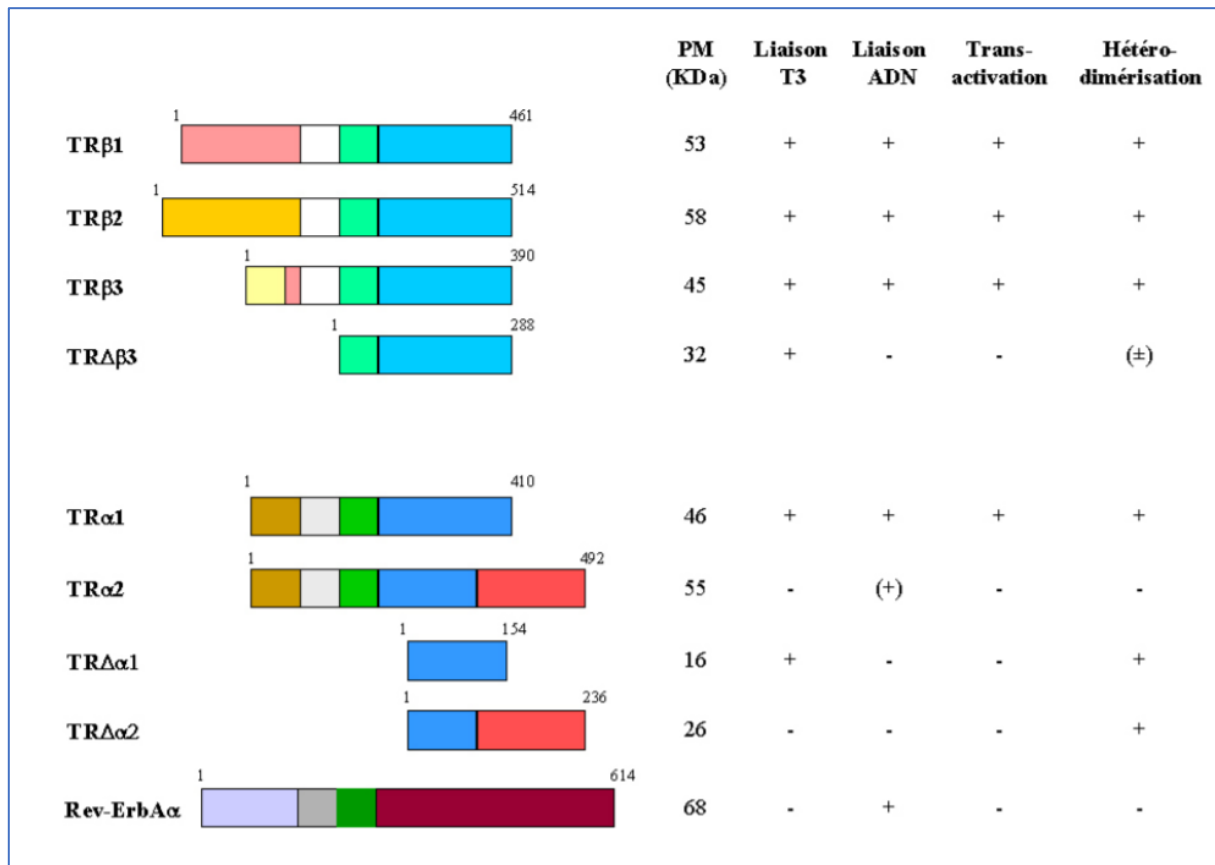


Figure 22 : Les différents produits d'épissage des gènes TRα et Trβchez le rat.

### III.6.2. Structure de TR

Chaque récepteur peut être décomposé de la façon suivante : un domaine A/B N-terminal, un domaine central de liaison à l'ADN, un domaine charnière de localisation nucléaire et un domaine de liaison à l'hormone (Fig.22).

### III.6.3. Mode d'action des RTs

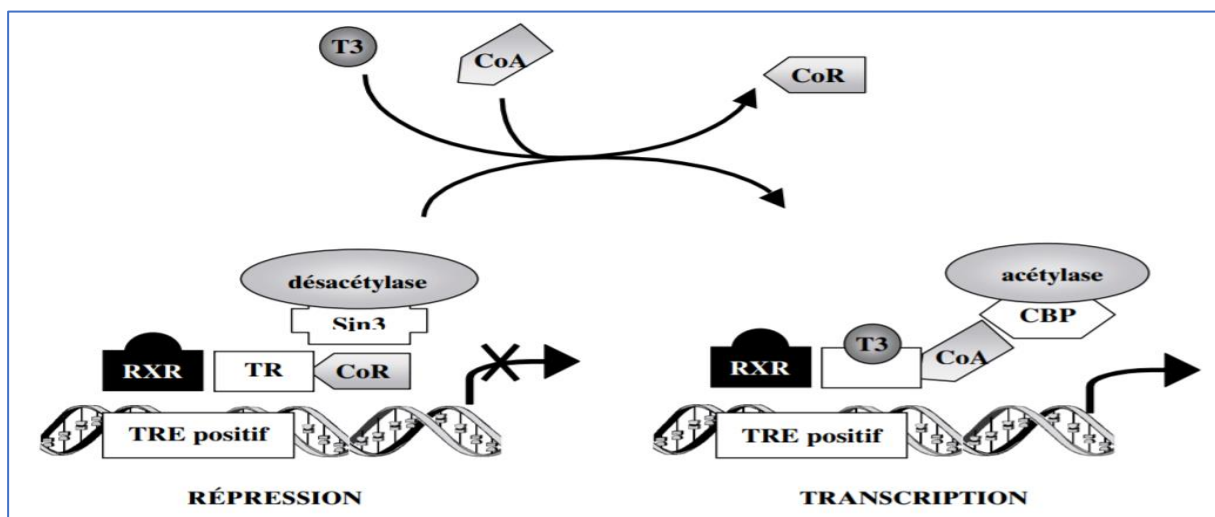
#### III.6.3.1. Voie génomique

Plusieurs raisons désignent la forme hétérodimère comme forme active des RT in vivo ;

- L'hétérodimérisation augmente la capacité de liaison des RT sur l'ADN et aussi la transcription T3-dépendante ;
- La fixation de l'homodimère ou du monomère sur l'ADN est rompue par la T3 alors que la liaison de l'hétérodimère est renforcée ;
- La forme homodimère est quasi inexistante, seules les formes monomère et hétérodimère coexistent dans les noyaux cellulaires ;

- Bien qu'ils s'hétérodimérisent avec d'autres récepteurs nucléaires comme RAR, PPAR, COUP-TF ou VDR, leur partenaire principal est RXR, où les RXR sont les récepteurs de l'acide rétinoïque.

En l'absence de ligand (répression de la transcription) le récepteur nucléaire recrute des corépresseurs (principalement NcoR) et un complexe de protéines à activité histone désacétylase (Sin3, HDAC) qui maintiennent la chromatine de l'ADN en conformation fermée et inhibent la transcription des gènes cibles. En présence du ligand (transactivation T3-dépendante), l'hétérodimère recrute des coactivateurs (SRC-1, CBP/p300, pCAF), dont certains possèdent une activité histone acétylase. L'acétylation des histones (Ac) ouvre la chromatine et favorise la liaison des multiples facteurs de la machinerie transcriptionnelle de base (exemples : TBP ou TATA binding protein, TAF ou TBP associated factors, RNA polymérase II).



**Figure 23.** Mode d'action des récepteurs thyroïdiens.

### III.6.3.2. Voie non génomique (membranaire)

La plupart de ces activités résultent d'une action directe des hormones thyroïdiennes sur des cibles protéiques situées sur la membrane cellulaire ou sur l'une des organelles intracellulaires (protéines du cytosquelette, canaux ioniques, enzymes de la membrane cellulaire ou de la membrane du réticulum endoplasmique, etc.). Certaines de ces activités semblent toutefois véhiculées par des récepteurs thyroïdiens spécifiques. C'est le cas de certaines actions des hormones thyroïdiennes sur la mitochondrie ou sur les voies intracellulaires de transduction des signaux [Vlaeminck-Guillem et Wémeau ; 2002].

La transduction intracellulaire des signaux véhiculés par les récepteurs membranaires utilise des voies multiples caractérisées par une cascade de phosphorylation : lorsqu'un signal est

intercepté par un récepteur membranaire, des kinases sont activées et activent, successivement, par phosphorylation, d'autres enzymes, qui à leur tour se comportent comme des kinases activatrices. À la fin de la chaîne, un facteur transcriptionnel nucléaire est activé et contrôle l'expression de gènes cibles.

**III.7. Expression des isoformes de TR**

Les trois isoformes fonctionnelles des TR, TR $\alpha$ 1, TR $\beta$ 1 et TR $\beta$ 2, présentent de nombreuses homologies structurales, et les études réalisées in vitro n'ont pas montré de différences marquantes entre elles ; le tableau ci-dessous présente les principales localisations tissulaires de ces récepteurs.

**Tableau 5.** Expression tissulaire des isoformes des récepteurs thyroïdiens chez les rongeurs [Vlaeminck-Guillem et Wémeau ; 2002].

Isoformes	Expression tissulaire
TR $\alpha$ 1 et TR $\alpha$ 2	<b>Expression ubiquitaire et similaire des deux isoformes. En particulier :</b> – expression diffuse et intense dans le cerveau fœtal et adulte – expression cochléaire et vestibulaire dans l'oreille interne – prédominance dans le foie fœtal – prédominance dans le muscle strié, le myocarde et l'intestin – expression moindre dans le tissu osseux
TR $\Delta\alpha$ 1 et TR $\Delta\alpha$ 2	<b>Expression restreinte :</b> – poumon – intestin – cerveau
TR $\beta$ 1	<b>Expression ubiquitaire. En particulier :</b> – expression diffuse et modérée dans le cerveau fœtal et adulte – expression restreinte à la cochlée dans l'oreille interne – prédominance dans le foie adulte et l'os – expression moindre dans le muscle strié, le myocarde et l'intestin
TR $\beta$ 2	<b>Expression restreinte :</b> – expression dans le cerveau adulte restreinte à l'hypophyse et aux noyaux impliqués dans l'audition – prédominance dans la neurorétine – expression moindre dans le muscle strié, le myocarde et l'intestin
TR $\beta$ 3	<b>Expression majoritaire dans :</b> – le rein – le foie – les poumons
TR $\Delta\beta$ 3	<b>Identification dans :</b> – la rate – les poumons

**III.8. Syndrome de la résistance aux hormones thyroïdiennes (RHT)**

Le syndrome de RHT est défini comme une situation où une concentration élevée de thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3) ne provoque pas les effets attendus. On observe donc une élévation de la T4 et de la T3 libres avec une TSH le plus souvent normale, rarement élevée, en tous cas

inadaptée. La définition du syndrome est donc purement biologique. Le syndrome de RHT constitue, avec l'adénome thyroïdienne, le groupe des sécrétions inappropriées de TSH.

Les symptômes cliniques, une résistance variable selon l'organe, associés au syndrome de RHT sont divers. Parmi les plus fréquents on note le goitre thyroïdien, la tachycardie (d'effort notamment), les passages en fibrillation auriculaire, l'hypoacousie, le retard de maturation osseuse et l'hyperactivité chez l'enfant. Le patient peut également être parfaitement asymptomatique.

**III.8.1. Etiologie**

Dans 85% des cas, une mutation hétérozygote du récepteur aux hormones thyroïdiennes b (TRb) est mise en évidence. Ces mutations s'expriment à l'état hétérozygote grâce à un effet dominant négatif : la copie « mutante » du récepteur empêche le fonctionnement de la copie normale. Le type de transmission observé est donc généralement autosomique dominant.

**III.8.2. Classification de RHT**

**Tableau 6.** Critères de classification de RHT

	<b>RHT par mutation du récepteur β</b>	<b>RHT par mutation du récepteur α</b>
<b>Incidence</b>	La majorité des cas	<b>Rare</b>
<b>TSH</b>	Normale et rarement élevée	Normale ou légèrement abaissée
<b>T3, T4 libres</b>	<b>Elevée</b>	Normale ou légèrement abaissée, rT3 abaissée
<b>Diagnostic différentiel</b>	Adénome thyroïdienne	
<b>Phénotype clinique</b>	Goitre (parfois nodulaire) Cardiovasculaires Système nerveux (- Difficultés émotionnelles, Retard mental, Trouble de l'audition Retard de croissance et développement (age osseux) Infections ORL récidivantes Fausses couches spontanées	Retard de croissance et développement Macrosomie Troubles de la coordination Anomalies osseuses (Macrocéphalie, Thorax allongé, Agénésie osseuse...) Dysmorphie (Hypertélorisme, Front large, Nez court et plat...)



<b>IRM hypophysaire</b>	Normale	
<b>Traitement</b>	Le plus souvent asymptomatique, la RHT ne nécessite habituellement aucun traitement. L'objectif est d'être le moins agressif possible afin de ne pas perturber l'équilibre hormonal.	Il n'existe pas de stratégie de traitement pour ces patients

**III.8.3. Mécanismes moléculaires de la résistance**

Les mutations retrouvées, aussi bien pour TR $\beta$  que pour TR $\alpha$ , sont des mutations perte de fonction hétéro zygotés. Malgré la présence d'un allèle normal, il existe une résistance qui s'explique par l'inter action (dimérisation) délétère entre le récepteur muté (inactif) et le récepteur sauvage (actif), dont l'action est bloquée. C'est ce qu'on appelle l'effet dominant négatif, qui explique la transmission autosomique dominante du syndrome [Frédéric *et al.*, 2016].

**Récepteurs FXRs**

**Et pathologies**

Le FXR (NR1H4) est un membre adopté de la superfamille des récepteurs nucléaires. Initialement cloné en 1995 comme étant un récepteur nucléaire orphelin interagissant avec le Retinoid-X-Receptor (RXR), cette protéine fut d'abord nommée RIP-14 pour: RXR interacting protein 14. Il fut d'abord classé dans la classe des récepteurs nucléaires orphelin puisqu'aucun ligand connu ne l'activait jusqu'à ce qu'on découvre que sa faible activation par le farnesol, un intermédiaire dans la voie de synthèse du mevalonate . En 1999, 3 groupes indépendants devaient identifier les acides biliaires comme les ligands endogènes de FXR [Modica *et al.*, 2010].

### IV.1. Isoformes de FXR

Chez l'Homme et chez la souris, il existe 2 gènes qui codent pour FXR : FXR $\alpha$  (NR1H4) et FXR $\beta$  (NR1H5). Chez l'homme, seulement FXR $\alpha$  produit une protéine puisque FXR $\beta$  est un pseudogène. FXR $\alpha$  code pour 4 isoformes différentes :  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  et  $\alpha 4$  qui résultent de 2 promoteurs différents, ainsi que d'un épissage alternatif au niveau de l'exon 5 (Fig. 24 ).

Le récepteur FXR est exprimé dans plusieurs tissus notamment dans le foie, l'intestin, les reins, les glandes surrénales, le tissu adipeux et le pancréas, où il existe un flux de l'acides biliaires important.

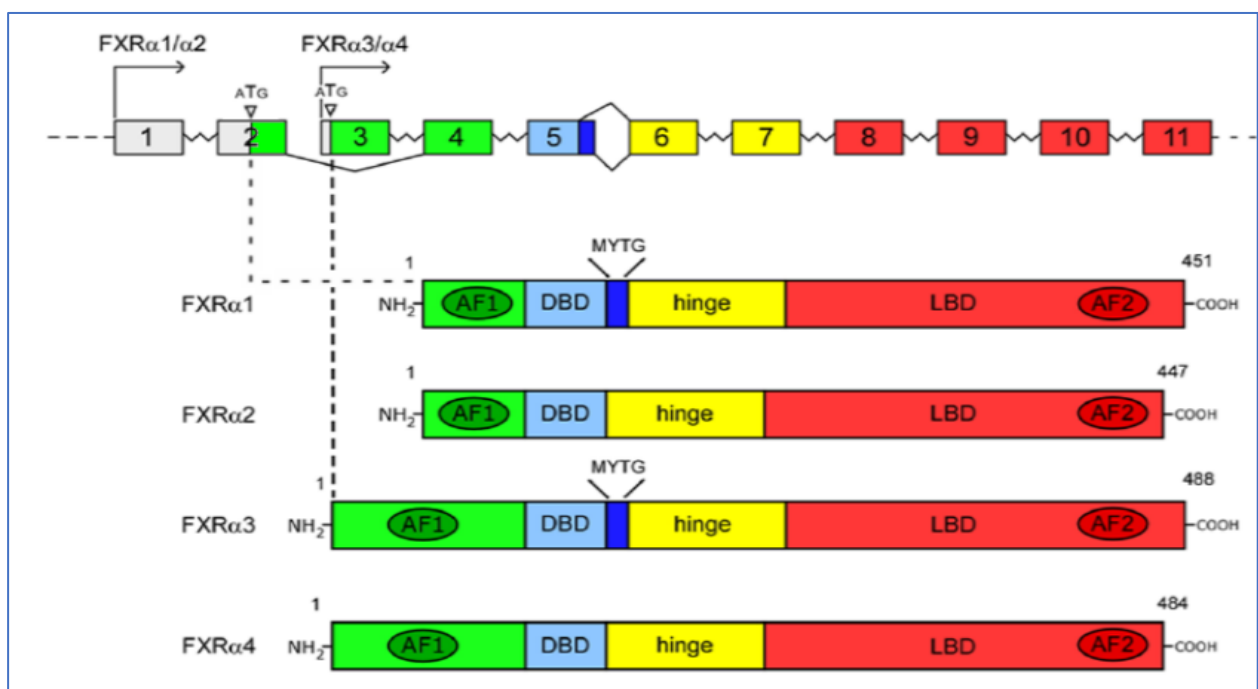


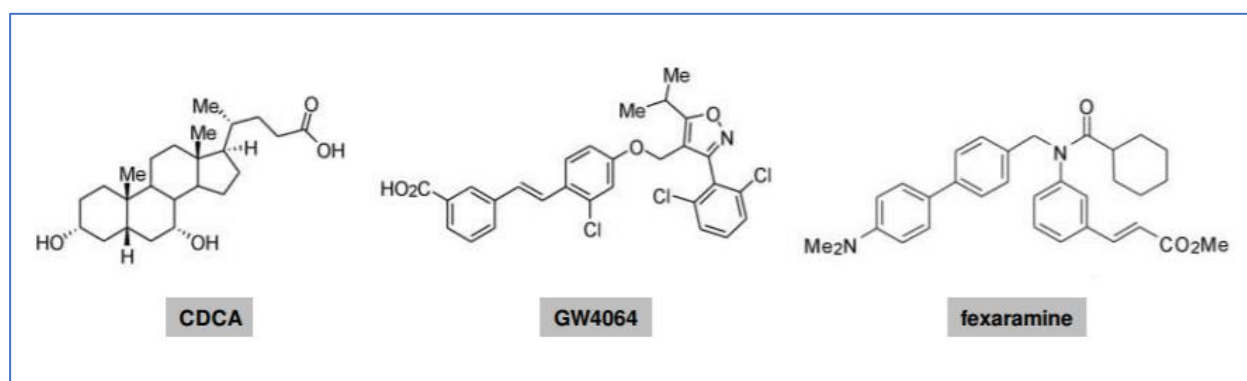
Figure 24. Organisation génomique (A) et protéique (B) des isoformes de FXR [Modica *et al.*, 2010].

### IV.2. Ligands de FXR

Plusieurs agonistes endogènes ont été identifiés, soit l'androstérone avec une activité très faible, puis les acides biliaires comme principal agoniste. Le tableau ci-dessous représente les principaux ligands de récepteur FXR.

**Tableau 7.** Ligands de FXR [Carotti *et al.*,2014]

Nature de ligands	Type	Nom
<b>Les ligands naturels</b>	<b>Agonistes</b>	Acide Chénodésoxycholique (CDCA)
		Acide lithocholique (LCA)
		Acide désoxycholique (DCA)
		Acide cholique (CA)
		Guggulstérone (Agoniste partiel)
	<b>Antagonistes</b>	Acide ursodésoxycholique (UDCA)
<b>Les ligands synthétiques</b>	<b>Agonistes</b>	3-(2-(6-dichlorophenyl)-4(3'-carboxy-2chlorostilben-yl)-oxymethyl-5-isopropyl-isoxazole( GW4064)
		Dérivé semi synthétique :6-éthyl-CDCA (INT-747)



**Figure 25.** Structure moléculaire de trois agonistes de FXR [Downes *et al.*, 2003].

**NB :** GW4064, un agoniste sélectif et efficace de FXR avec un EC50 de 90 nM, soit environ 1000 fois plus efficace que le CDCA .

### IV.3. Mécanisme d'action

Le FXR peut agir sous forme monomère ou d'un hétérodimère avec RXR.

#### IV.3.1. Mécanismes de transactivation

En présence de ligand, FXR peut induire la transcription de gènes cibles en se fixant sur le promoteur de ses gènes cibles via un élément de réponse spécifique (FXRE), de façon monomérique (UGT2B4) ou après hétérodimérisation avec le récepteur nucléaire RXR (PLTP).

IV.3.2. Mécanismes de Trans répression

Le FXR peut également réprimer directement l'expression des gènes, sous sa forme monomérique (Apo AI) ou hétérodimère (Apo CIII). FXR peut également être sujet à des modifications post-transcriptionnelles, comme l'acétylation par p300, opération qui permet l'induction du récepteur nucléaire atypique SHP (CYP7A1, SREBP-1c) et la répression indirecte de certains gènes cibles (figure).

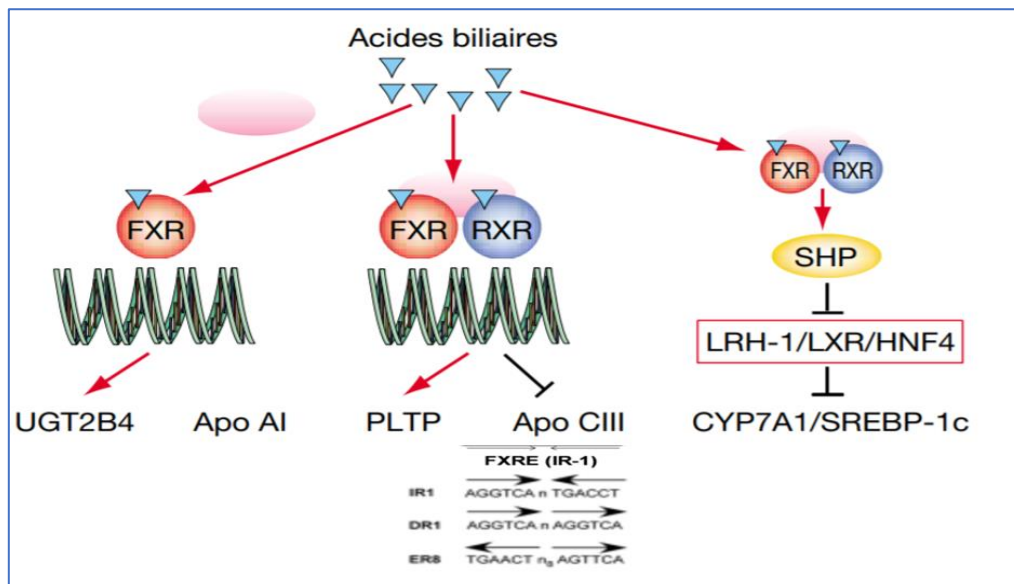


Figure 26. Mode de fonctionnement de FXR [Langhi, et cariou ; 2007].

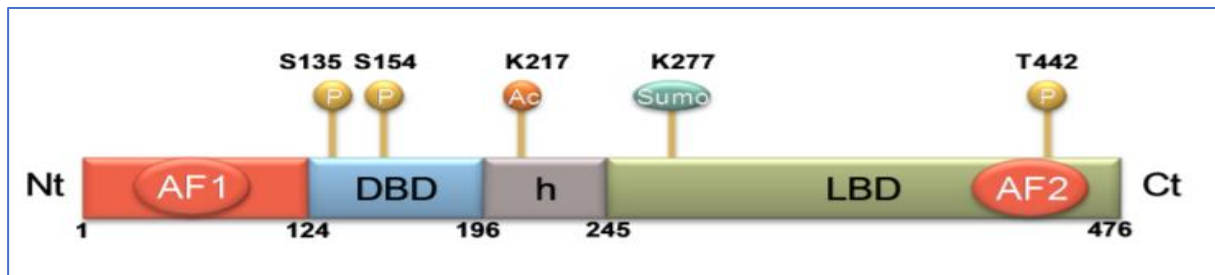
IV.3.3. Régulations post traductionnelles

L'activation des récepteurs nucléaires peut se faire également de façon indépendante du ligand, soit via les modifications post-transcriptionnelles. Celles-ci permettent l'intégration d'une panoplie de signaux extracellulaires et l'adaptation de la réponse transcriptionnelle des récepteurs nucléaires aux variations de conditions cellulaires. Peu de choses sont connues sur l'activité de FXR régulée par les modifications post-traductionnelles contrairement à d'autres récepteurs nucléaires tels que le récepteur des estrogènes (ER) ou PPAR. Seulement deux modifications, soit l'acétylation et la phosphorylation de FXR, ont été bien décrites dans la littérature.

➤ Acétylation

Cette modification augmente sa stabilité mais inhibe l'hétérodimérisation avec RXR, la liaison à l'ADN et la transactivation du récepteur. Il a été démontré que p300 est capable d'acétyler à la fois FXR et les histones au promoteur du petit partenaire d'hétérodimère (SHP), conduisant en une activation sélective de FXR sur l'expression de SHP. Ainsi, SIRT1, une désacétylase qui joue un rôle dans le métabolisme hépatique. Une diminution de SIRT1 cause des effets métaboliques

néfastes, tels que des niveaux circulants élevés de lipoprotéines de faible densité (LDL) et diminués de lipoprotéines de haute densité (HDL).



**Figure 27.** Sites de modifications post-traductionnelles de FXR d’après [Gineste *et al.*, 2008].

**IV.3.4. Régulation de l’expression de FXR**

**Tableaux 8.** Régulation de l’expression (génique ou protéique) de FXR.

Type de régulation	Nom de modérateur	Action
Directe	microARNs ( <i>miR-192</i> , <i>miR-421</i> , <i>miR-194</i> )	Réprimant l’expression de FXR
	Facteurs de transcription : • CDX2 (Caudal related homeobox 2) • <i>HNF1a</i> (Hepatocyte Nuclear Factor 1-alpha) :	Induit l’expression de FXR
	Récepteurs nucléaires : <i>HNF4a</i> (NR2A1) et <i>PPAR</i> ( NR1C3	Induit l’expression de FXR
Statut nutritionnel	<b>Homéostasie glucidique Et lipidiue</b>	<b>Glucose induit l’expression de FXR Diabète</b>
Contexte inflammatoire	<b>Cytokine</b> , (Interleukin 1	réponse inflammatoire aiguë réprime l’expression de récepteur

**IV.4. Propriétés métaboliques de FXR**

Initialement impliqué dans la régulation du métabolisme des acides biliaries, FXR a également été impliqué dans le contrôle du métabolisme lipidique et glucidique dans différents tissus

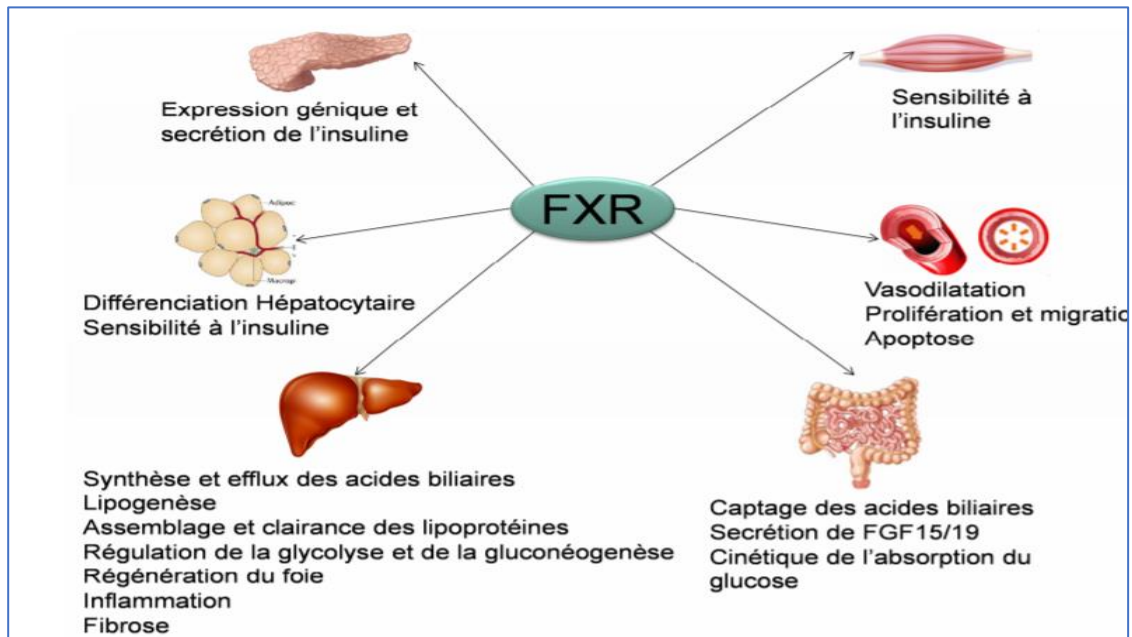


Figure 28 . Principaux rôles physiologiques de FXR [Lefebvre *et al.*, 2009].

#### IV.4.1. FXR et régulation du métabolisme des acides biliaires

Comme décrit à figure ci dessous1, la synthèse hépatique d'acides biliaires et la réabsorption intestinale doivent être régulées afin de maintenir une quantité d'acides biliaires constante, afin de prévenir notre organisme d'une intoxication par des concentrations élevées de Abs.

En effet, à partir d'une concentration de 100  $\mu\text{M}$ , les acides biliaires sont considéré comme toxiques pour l'organisme. Pour prévenir cela, l'organisme régule en permanence les flux d'acides biliaires dans l'intestin et le foie. A cet effet, en période post-prandiale, FXR protège le foie de l'afflux massif d'acides biliaires en induisant l'inhibition de leur synthèse hépatique et en augmentant leur sécrétion dans la bile. Tous ces différents phénomènes permettent au foie de vidanger son contenu en acides biliaires dans la période critique qu'est la prise d'un repas.

Les principaux rôles des récepteurs nucléaires FXR dans la régulation de différents aspects du métabolisme des acides biliaires sont résumé dans le tableau

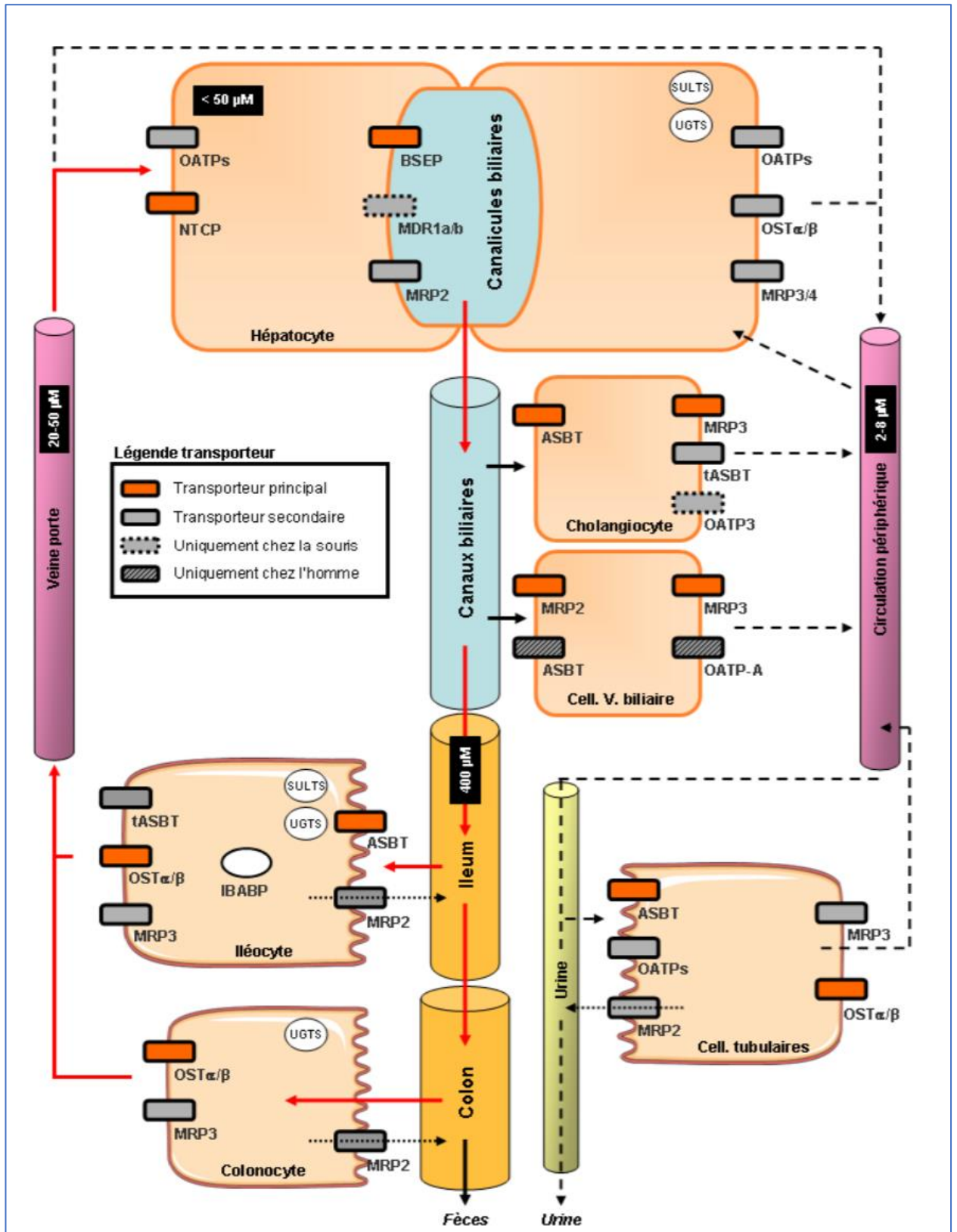


Figure 29. Vue d'ensemble du système de transport des ABs. *SULTs* : cellules exprimant les sulfotransférases. *UGTs* : cellules exprimant les UDP glucuronosyltransférases. **Flèches rouge** : cycle entéro-hépatique. **Flèches pointillées** : circulation périphérique des ABs. Encadré en noir : concentrations physiologiques en ABs mesurées dans les différents compartiments [Thomas et al., 2008] et [Fickert et Wagner, 2017].



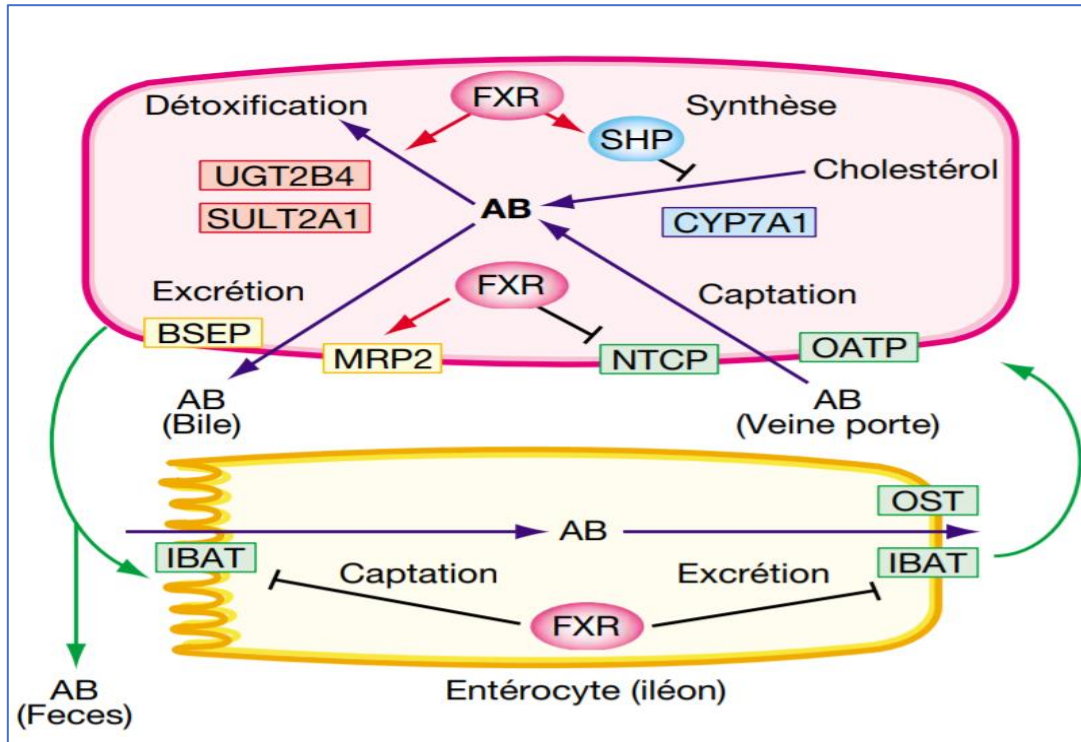


Figure 30. Rôle de FXR dans le contrôle du cycle entérohépatique des ABs [Langhi, et cariou ; 2007].

Des études récentes ont constaté que le niveau réduit de FXR associé à des mutations au niveau de la pompe BSEP, régulée par FXR, cause la forme héréditaire de cholestase (h cholestase épatiche de type 2). Des molécules ciblant FXR ont été proposées comme cible thérapeutique potentielle.

**La cholestase** est une maladie caractérisée par la réduction de l'écoulement de bile dans l'intestin, dû à un problème au niveau de l'hépatocyte ou à l'obstruction du conduit biliaire.

Tableau 9. Rôle de FXR dans le métabolisme des ABs

Site de régulation	Hépatique	Intestinale
<b>Role de FXR</b>		
<b>Régulation du transport des acides biliaries</b>	Augmente l'expression des transporteurs hépatobiliaires, MDR3, MRP2 et BSEP	Inhibe la capture des ABs en réprimant l'expression IBAT du pole apicale (ASBT)
	Inhibe l'expression des transporteurs de recapture des Abs dans l'hépatocyte : NTCP et OATP.	Augmente l'expression des transporteurs d'efflux basolatéral des ABs des entérocytes d'IBABP (IBAT)

		basolatérale) et l'hétérodimère Ostα/Ostβ
<b>Régulation de la synthèse des acides biliaires (AB)</b>	-Inhibe indirectement l'expression du gène CYP7A1 via l'activation de SHP  -Inhibe indirectement l'expression du gène CYP8B1 via l'activation de la transcription de FGF19/ FGF15.	
	La conjugaison des acides biliaires avec la taurine ou la glycine en induisant l'expression des enzymes BACS	
<b>Détoxification hépatique</b>	induit la transcription de UGT2B4 (UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B4), qui se charge de la conversion des acides biliaires en dérivés glucuronides plus hydrophiles, via un FXRE monomérique localisé sur le promoteur de ce gène	

**NB :** La majorité des acides biliaires sont réabsorbés (plus de 95%) et moins de 5% sont excrétés dans les fèces (53).

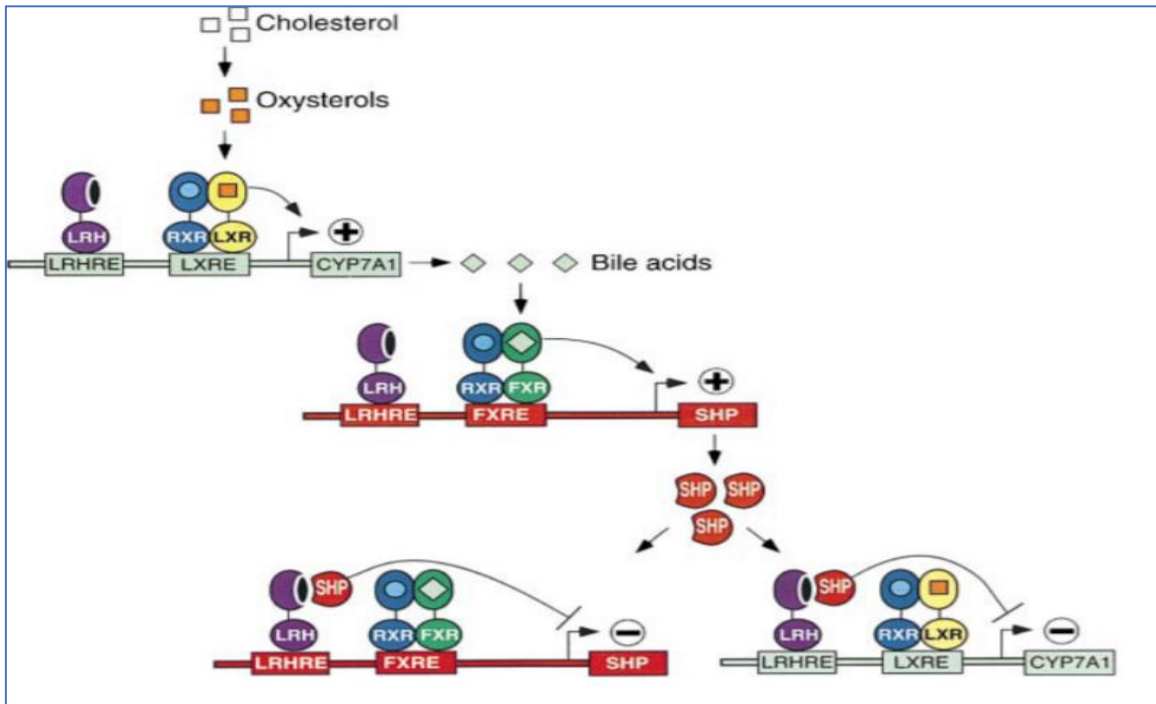


Figure 31. Mécanisme de rétroaction régulant l'homéostasie des acides biliaries par les récepteurs nucléaires e. Extrait de la référence d'après [Lu *et al.*,2000].

#### IV.4.2. FXR et le métabolisme des lipoprotéines

Le FXR régule l'expression des gènes impliqués dans la lipogénèse, l'assemblage des VLDL, les échanges des triglycérides entre VLDL et LDL et dans la clairance des VLDL par le foie.

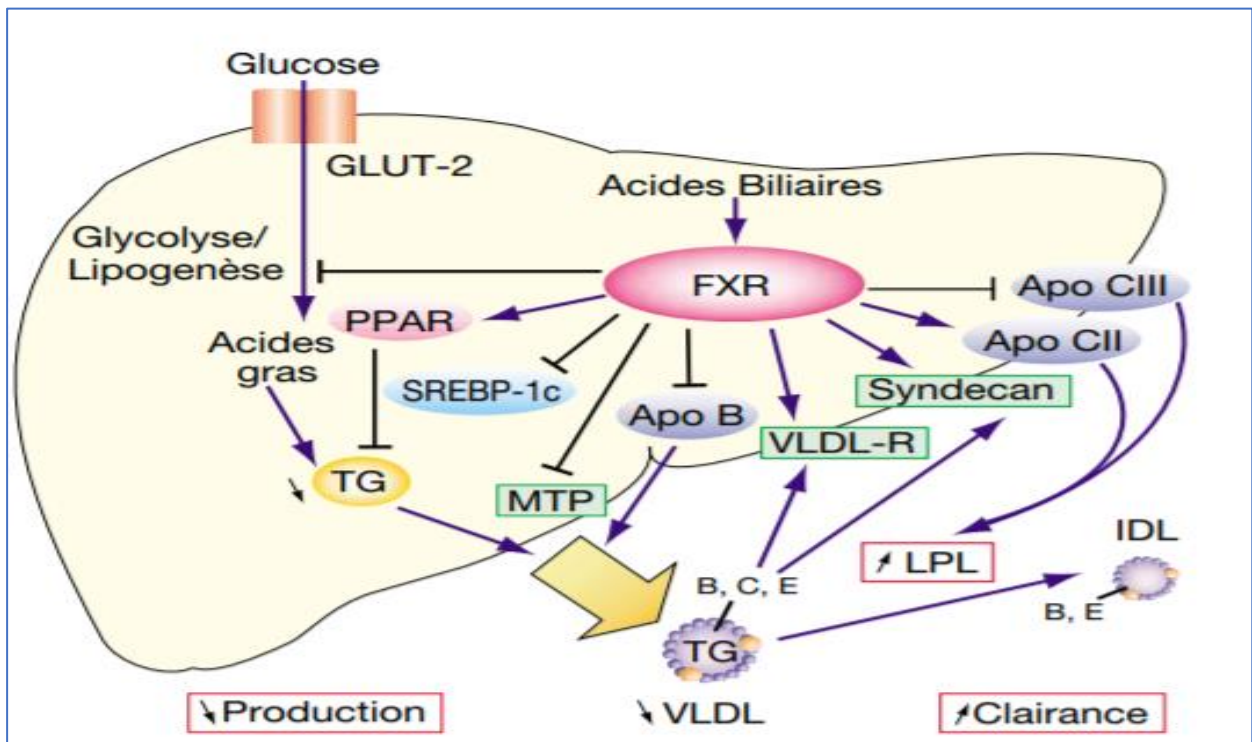


Figure32 . FXR et le métabolisme des lipoprotéines [Langhi, et cariou ; 2007].

Premièrement, l'activation de FXR réprime l'expression de la SREBP-1 (sterol regulatory-élément-binding-protein 1), l'enzyme qui active l'expression génique des enzymes lipogéniques. Ce faisant, on observe une diminution de la synthèse de triglycérides et d'acides gras via un mécanisme qui impliquerait SHP, comme pour CYP7A1.

- Le FXR inhibe l'expression de la protéine MTP via l'expression de SHP, et par conséquence l'inhibition de l'assemblage et la sécrétion des VLDL.
- L'activation de FXR augmente l'évacuation des triglycérides par l'induction de l'activité de la lipoprotéine lipase et par l'induction de l'apolipoprotéine C-II responsable de l'hydrolyse des triglycérides des VLDL. D'autre part, l'expression de l'ApoCIII et de l'angiopoïétine like 3 (ANGPTL3), inhibiteurs de la LPL, est inhibée par FXR
- FXR induit l'expression du récepteur aux VLDL (VLDLR) et de la syndecan-1 contrôle la clairance des triglycérides.
- FXR inhibe l'expression de l'ApoAI, apolipoprotéine majeure dans les via SHP ou en se fixant de façon monomérique, via un FXRE sur le promoteur de ce gène [Gadaleta *et al.*,2015].

#### IV.4.3. FXR et le métabolisme des glucides

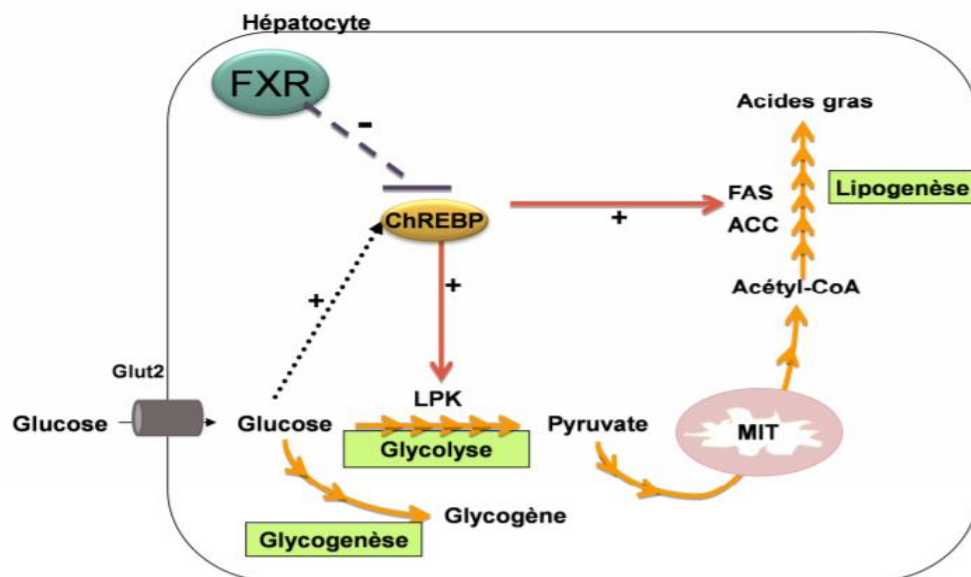
Le FXR a un important rôle dans le contrôle de l'homéostasie du glucose à plusieurs niveaux, autant de l'absorption, de l'emmagasinage et de la production de novo. Cette régulation est dépendante du contexte physiologique. En effet, en période post-prandiale, le FXR induit une répression des enzymes impliquées dans la néoglucogenèse hépatique en réprimant les gènes PEPCCK et G6Pase. Cependant, un effet inversé est constaté dans la période à jeun.

Il a été observé, que l'activation de FXR diminuait l'expression de presque tous les gènes de la glycolyse en interférant, en présence de glucose, avec la fixation de ChREBP sur leur promoteur. En ce qui concerne l'action répressive de FXR sur la néoglucogenèse, un des mécanismes proposé est qu'elle s'effectuerait via l'activation de son gène cible SHP ; Il a ainsi été démontré que SHP inhibait l'activation, dépendante de la PKA, de CREB au niveau des gènes codant pour Pck1 et G6pc.

L'action de FXR sur la régulation de la synthèse du glycogène ou sur la glycogénolyse a été peu étudiée ; L'administration de GW4064 dans le modèle de souris diabétique db/db induit la synthèse de glycogène augmentant son stockage hépatique par rapport aux souris contrôles.

Selon la voie d'administration, l'activation de FXR a des effets négatifs ou positifs sur la glycémie de souris dans un contexte physiopathologique d'obésité. Très récemment, il a été

suggère que l'effet négatif de l'activation de FXR sur l'homéostasie glucidique résulterait principalement d'une activation de FXR au niveau périphérique [Maheul *et al.*, 2018].



**Figure 33.** Régulation par FXR de la transition jeûne-réalimentation avec un régime riche en sucres [Duran-Sandoval *et al.*, 2005].

#### IV.4.4. Rôle de FXR dans le métabolisme des acides aminés

Une étude en protéomique a ainsi confirmé, *in vivo* chez la souris, que l'activation de FXR, au niveau hépatique, par un agoniste (6E-CDCA) était bien associée à une augmentation des expressions protéiques d'enzymes impliquées dans la dégradation des aminoacides et dans le cycle de l'urée. Les souris *Fxr*<sup>-/-</sup> présentent une hyperammonémie plasmatique associée à une diminution des expressions géniques des enzymes hépatiques régulant la détoxification de l'ammonium. Ces souris ont également un taux réduit d'urée sanguin corrélé à une synthèse hépatique de celle-ci diminuée par rapport aux souris contrôles [Massafra *et al.*, 2017]

#### IV.5. Régulation des xénobiotiques hépatiques

Classiquement, ce processus d'élimination des substances néfastes à l'organisme est divisé en trois grandes phases : la phase I permet l'hydroxylation du composé à détoxifier, la phase II la conjugaison de ce dernier avec une protéine. Ces deux étapes permettent de transformer un composé souvent très hydrophile en une molécule soluble plus facile à éliminer. La phase III consiste en un transport actif du composé afin qu'il soit évacué par les urines ou les fèces [Modica *et al.*, 2009]. FXR induit l'expression de l'enzyme CYP3A4 (Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A Member 4), Cyp3a11 chez la souris (Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 11), qui catalyse la première réaction de la phase I. Les expressions des enzymes de

type UGTs (UGT2B4), SULTs (Sulfotransférases, principalement SULT2A1) et GSTs (Glutathione S-transférases) de la phase II, sont également régulées par FXR.

#### **IV.6. FXR et régulation de l'inflammation**

C'est le cas de FXR qui de part son action sur les métabolismes énergétiques (acides aminés, lipides et glucose qui seront développés par la suite), a une action globale antiinflammatoire. De même, en évitant l'accumulation toxique des ABs l'activation de FXR permet indirectement de réduire l'inflammation associée à ce type de dommage [Liu *et al.*, 2018].

Par un mécanisme de trans-répression les FXRs réprime la transcription de de gènes pro-inflammatoires induit par le facteur NFkB. D'autre part il active l'expression de SOCS3 (suppressor of cytokine signaling 3) réprimant ainsi l'inflammation [Xu *et al.*, 2012].

#### **IV.7. Rôle de FXR dans la prolifération et la régénération hépatique**

L'activation de FXR protège le foie d'une accumulation excessive d'ABs, ce qui favorise la régénération hépatique. FXR peut également augmenter la prolifération cellulaire en induisant directement, au cours de la régénération hépatique, le gène Foxm1b (Forkhead box protein M1 isoform B), un élément clef de la régulation du cycle cellulaire. Un autre gène cible hépatique de FXR, FGF21 (Fibroblast Growth Factor 21) [Cyphert *et al.*, 2012]. Il été prouvé que le facteur de croissance FGF15/19, dont l'expression est induite par FXR au niveau intestinal, de part sa capacité à inhiber CYP7A1, a un rôle hépato-protecteur évident.

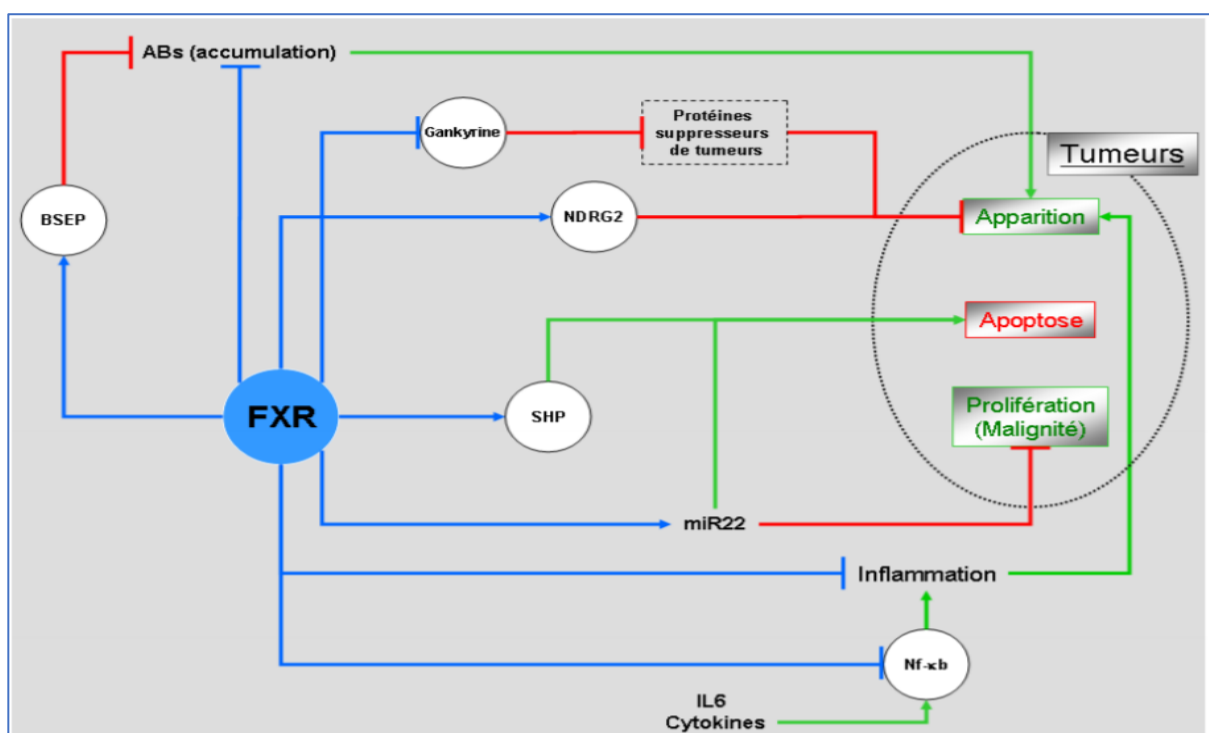
#### **IV.8. Implication de FXR dans le cancer hépatique**

Des multiples effets de l'activation de FXR ont été prouvé dans le corps, il devient alors possible de se questionner sur son impact potentiel sur le développement du cancer. il semble que le FXR serait bénéfique dans un organe et néfaste dans un second. En effet, un potentiel protecteur de FXR dans le cancer des intestins, le cancer du foie ainsi que dans le cancer des testicules été mis an évidence par plusieurs études [Modica *et al.*,2008]. D'un autre côté, le cancer du sein et le phénomène de l'œsophage de Barrett qui mène au développement d'un cancer de l'œsophage sont induits par l'activation de FXR. [Gadaleta *et al.*, 2015].

De part son action sur le contrôle du métabolisme des ABs, FXR protège le foie de leurs accumulations toxique. Lorsque l'action de FXR est dérégulée, l'élévation chronique en 124 ABs induit des dommages oxydatifs au niveau de l'ADN, de l'inflammation, une résistance à l'apoptose et une hyper prolifération des hépatocytes .

Des gènes cibles de FXR impliqués spécifiquement dans l'apparition de cancers ont été identifiés: un des premiers événements entrainant le développement d'hépto-carcinomes, est la répression de protéines qualifiées de « supresseurs de tumeurs ». Ainsi, *la gankyrine* a été identifiée comme déclenchant la dégradation de ce type de protéines. L'augmentation de son expression est associée à de nombreux types de cancer [D'Souza *et al.*, 2018].

Par un mécanisme de Trans répression, le FXR inhibe l'expression de la gankyrine en se fixant sur le promoteur de gene cette dernière [Valanejad *et al.*, 2017]. De même, FXR induit l'expression d'autre « supresseur de tumeur : NDRG2 (N-myc Downstream-Regulated Gene 2) [Langhi *et al.*, 2013], micro-ARN miR-122 [He *et al.*, 2015] .



**Figure 34: Actions anti-tumorales de FXR.** Flèches bleues : activation par action directe de FXR. Traits bleus : répression par action directe de FXR. Flèches vertes : activation. Traits rouges : répression, [Gadaleta *et al.*, 2015 ; Tsai *et al.*, 2012].

#### IV.9. Cible thérapeutique pour le diabète de type 2 et l'obésité

Chez des patients diabétiques de type 2, le profil des acides biliaires plasmatiques est perturbé. La résistance à l'insuline périphérique serait due à une augmentation de la production hépatique des acides gras et des triglycérides provoqués par la déficience pour FXR chez ces souris. Les acides gras libres pourraient alors inhiber les voies de signalisation activées par l'insuline et de ce fait, empêcher l'action de cette hormone.

Le rôle de FXR sur le développement de la résistance à l'insuline dans un contexte d'obésité génétique semble être différent. Ainsi, lorsque des souris obèses (ob/ob) présentent une déficience

pour FXR, une amélioration de la résistance à l'insuline est observée au niveau du tissu adipeux, mais pas au niveau hépatique.

Différentes molécules sont actuellement testées avec plus ou moins de succès pour moduler la voie des acides biliaires et ainsi soigner le diabète de type 2.

*a. Les séquestrants des acides biliaires* : sont des résines anioniques qui se fixent aux parties hydrophiles des acides biliaires empêchant leur absorption intestinale. Les séquestrant des acides biliaires sont des résines anioniques qui se fixent aux parties hydrophiles des acides biliaires empêchant leur absorption intestinale.

D'autre part ces molécules ont prouvé leurs effets sur l'amélioration de la glycémie par une inhibition hépatique de la glycogénolyse.

*b. Les prébiotiques* : sont des oligo- ou des polysaccharides à courte chaîne, ils promeuvent le développement d'une ou plusieurs espèces bactériennes dans le colon. ce prébiotique améliore la glycémie de souris obèses par un mécanisme de FXR - dépendant dans l'intestin, suite à un changement du ratio acides biliaires agonistes / acides biliaires antagonistes au profit des acides biliaires antagonistes [Li *et al.* 2013].



# **PPAR $\alpha$ et pathologies associées**

Les PPARs, découverts en 1990, sont des facteurs de transcription activés par un ligand appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires. Ils ont un rôle clé dans le métabolisme lipidique, dans l'homéostasie du glucose, dans la différenciation cellulaire et ils sont impliqués dans la réponse inflammatoire. Ils ont été nommés ainsi en raison de la prolifération des peroxyosomes qu'ils induisent dans le foie des rongeurs suite à leur activation. Ils sont classiquement décrits comme des récepteurs orphelins, car aucun ligand spécifique ne fut identifié lors de leur découverte au début des années 1990.

### V.1. Expression et régulation des PPAR (voir tableau ci-dessous)

La famille des PPAR comprend trois isotypes : PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta/\beta$  et PPAR $\gamma$ . Chez la souris, les gènes PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  et PPAR $\gamma$  sont situés respectivement sur les chromosomes 15, 17 et 6. Chez l'homme, ils sont localisés respectivement sur les chromosomes 22, 6 et 3. Seul le gène des PPAR $\gamma$  contient 3 promoteurs différents donc génère 3 transcrits différents : PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 et PPAR $\gamma$ 3

Ces trois isotypes présentent une structure similaire. Entre 78 et 86% d'homologie dans leur DBD et entre 63 et 71% dans leur LBD. Le niveau d'expression des récepteurs PPAR dans l'organisme adulte et au cours du développement a été très étudié, notamment car leurs profils d'expression tissulaire respectifs, en particulier pour PPAR $\alpha$  et PPAR $\gamma$ , reflètent dans une certaine mesure leurs fonctions biologiques (pour plus de détail consultez : [www.nursa.org](http://www.nursa.org)).

### V.2. Régulation de la transcription de PPAR $\alpha$

La Figure 35 résume le fonctionnement général de la voie PPAR $\alpha$ . Comme les RNs de classe II, les PPARs forment un hétérodimère avec le récepteur des rétinoïdes RXR [Patrick *et al.*, 2014].

#### V.2.1. Mécanisme de transactivation (PPRE dépendant)

Le PPAR $\alpha$ , quand ils sont inactifs, sont probablement sous forme de complexes avec des protéines co-répresseurs et peuvent, dans certains types cellulaires, avoir une localisation plutôt cytoplasmique que nucléaire. En présence d'un ligand, les PPAR $\alpha$  se dissocient de leurs corépresseurs et recrutent des co-activateurs. Ce récepteur peut subir des modifications post transcriptionnelles comme la phosphorylation de la région N terminal qui peuvent modifier ces activités.

Après activation, le PPAR $\alpha$  s'hétérodimérise avec le récepteur des acide rétinoïdes (RXR), activés par l'agoniste endogène acide 9-cis rétinoïque, et se fixe sur les PPRE (PPAR response element) situées dans les régions promotrices des gènes cibles. Ces sites sont constitués de deux

séquences hexamérique AGGTCA directement répétées et séparées par un seul/ deux nucléotide (DR1,DR2) (Fig. 35. A).

**Tableau 10.** Expression tissulaire et sa régulation des PPARs

Type de RN	Expression tissulaire	Régulation de l'expression
PPAR $\alpha$ (NR1C1)	<b>Ubiquitaire</b> : +++ cœur, muscle squelettique, foie, muqueuse intestinale, reins.	rythme circadien (+++ foie, le tissu adipeux blanc) ; variation surtout de la corticostérone plasmatique ; le stress et le jeûne induit l'expression de PPAR $\alpha$ au niveau hépatique ; répression par hormone de croissance (GH) ; une exposition au froid se traduit par une réduction transitoire de l'expression de PPAR $\alpha$
PPAR $\beta$ (NR1C2)	Ubiquitaire : +++les reins, le long de la muqueuse intestinale, l'endomètre (au site d'implantation)	Le jeûne réduit fortement l'expression rénale et hépatique de PPAR $\beta$ ; L'exercice physique est un stimulateur important de l'expression musculaire de cet isoforme ; Rythme circadien ; une exposition au froid se traduit par une augmentation transitoire de l'expression de PPAR $\beta$
PPAR $\gamma$ (NR1C3)	+++les tissus adipeux blancs et bruns ; + la muqueuse intestinale du colon ; + /- la rétine, le muscle squelettique, le foie, l'os ou la peau.	le cycle circadien ; L'expression de PPAR $\gamma$ 1 et PPAR $\gamma$ 2 est réprimée par le jeûne et TNF- $\alpha$ ; glucocorticoïdes et diabète induit augmentent l'expression de PPAR $\gamma$

## V.2.2. Mécanismes de trans répressions

### V.2.2.1. PPRE dépendant

Le PPAR $\alpha$  réprimer la transcription de certains gènes en interférant négativement avec les voies de signalisation de NF- $\kappa$ B, STAT et AP-1. Les mécanismes impliqués regroupent entre autres des interactions protéine/protéine et la formation de complexes inactifs, la liaison aux cofacteurs de ces voies de signalisation qui deviennent alors inefficaces, ou l'induction d'I $\kappa$ B $\alpha$ ,

inhibiteur majeur de la voie de signalisation NF $\kappa$ B. On pense actuellement que cette trans-répression pourrait être le mécanisme de base des propriétés anti-inflammatoires des PPAR (Fig.35. B)

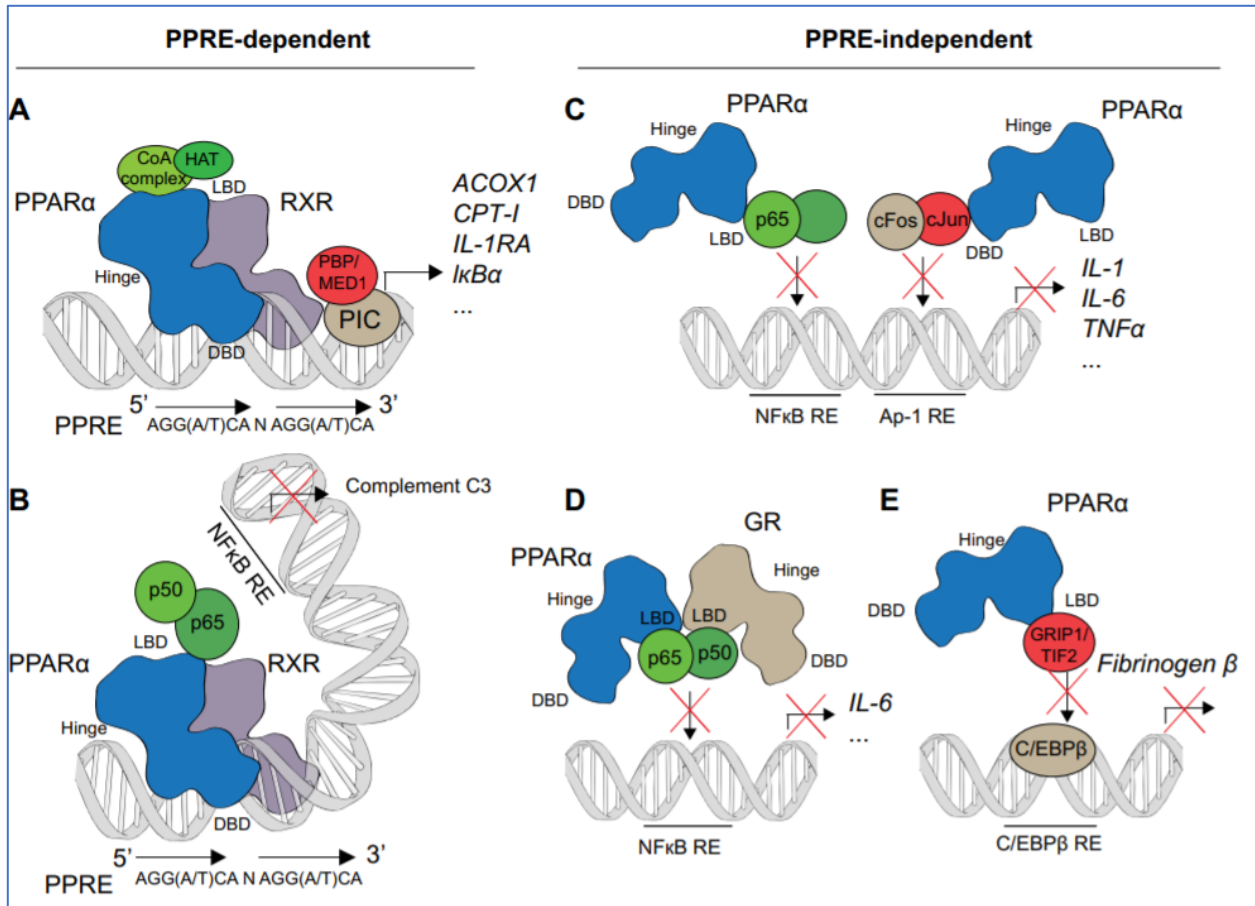


Figure 35. Régulation transcriptionnelle de PPAR $\alpha$  [Pawlak *et al.*, 2015].

### V.2.2.2. PPRE indépendant (réaction protéine / protéine)

Le PPAR $\alpha$  régule négativement les voies de signalisation pro-inflammatoires par l'interaction protéine-protéine, plusieurs mécanismes ont été décrites :

- Après la fixation du ligand, le PPAR $\alpha$  activé, réprime l'expression du gène IL-6 par interférence avec AP-1 et NF $\kappa$ B. Cette Trans répression crée interaction directe entre le PPAR $\alpha$ , cJNK et p65 pour AP1 et facteur NF $\kappa$ B respectivement (Fig. 35. C)
- Hétérodimère PPAR $\alpha$  -GR induit une trans répression synergique de l'expression du facteur NF $\kappa$ B par une interaction compétitive avec le dimère P65/P50 (Fig. 35. D).
- Sous sa forme monomérique, PPAR $\alpha$  induit une trans répression de fibrinogène B, après une interaction directe avec le dimère GRIP-1/TIF-2 (Fig. 35. E).

### V.3. Ligands de PPAR $\alpha$

Un large spectre de composés a été identifié comme ligands des PPARs.

### V.3.1. Ligands naturels

Les PPAR $\alpha$  peuvent être activés par une large variété endogène d'acides gras saturés et insaturés dont l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide palmitoléique, l'acide oléique, l'acide linoléique, l'acide arachidonique, et les dérivés des eicosanoïdes (dont 8(S)HETE est le plus puissant). La plupart de ces ligands agissent à des concentrations micromolaires voir nanomolaires, largement compatibles avec les concentrations circulantes, intracellulaires et intranucléaires estimées de ces acides gras [Alejandra *et al.*, 2013].

Le PPAR $\alpha$  semble avoir la meilleure affinité pour les acides gras polyinsaturés et parmi les acides gras, les acides gras saturés apparaissent comme des ligands de moindre affinité des PPAR. En ce qui concerne les PPAR, les premières études ont mis en évidence que le dimère pouvait être qualifié de « permissif » c'est à dire qu'il pouvait être activé aussi bien par des agonistes de PPAR que par des agonistes de RXR. Ces travaux ont conduit à démontrer que les agonistes de RXR pouvaient présenter, *in vivo*, une activité normolipémiant comparable aux activateurs de PPAR $\alpha$

### V.3.2. Ligands synthétiques

Les ligands synthétiques de PPAR $\alpha$  sont regroupés sous le terme de proliférateurs de peroxyosomes (PPs), en raison de leur capacité à induire, une prolifération des peroxyosomes au niveau du foie. Les peroxyosomes sont des organites intra-cellulaires particulièrement impliqués dans le métabolisme des lipides.

Parmi les PPs, *les fibrates* (Phenoxyisobutyrate) sont utilisés dans le traitement des hyperlipidémies, inflammation et athérosclérose. Cette famille de molécules comporte notamment le Wy14643, le gemfibrozil, le ciprofibrate, le clofibrate, le bezafibrate et le fenofibrate [Alejandra *et al.*, 2013].

## V.4. Rôles de PPAR $\alpha$

### V.4.1. Régulation du métabolisme des lipides et des lipoprotéines

Les agonistes des PPAR $\alpha$  exercent différents rôles physiologiques l'homéostasie des lipides sur [Daniel *et al.*, 2003] :

*a.* Jouent un rôle clé dans la régulation de la  $\beta$ -oxydation.

*b.* Ils stimulent aussi la capture cellulaire des acides gras en :

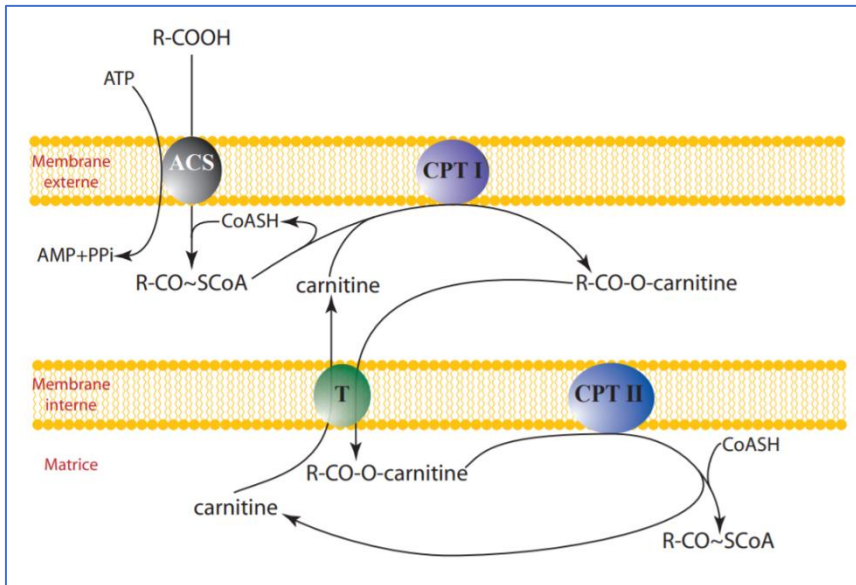
➤ Augmentant l'expression de la protéine de transport des acides gras FATP1 (fatty acid transport protein 1) et FAT/CD36 (fatty acid translocase), l'ACS (acyl-CoA synthétase) et de la CPT-I (carnitine palmitoyl acyl transférase-I) ;

**c. Baisse des taux plasmatiques des triglycérides (TG) en:**

- Stimulant l'expression de la LPL (Lipoprotéine Lipase) et la lipolyse des VLDL et l'apoA-V
- Inhibant l'expression de l'apo C-III hépatique.

**d. Augmente la concentration du cholestérol-HDL en :**

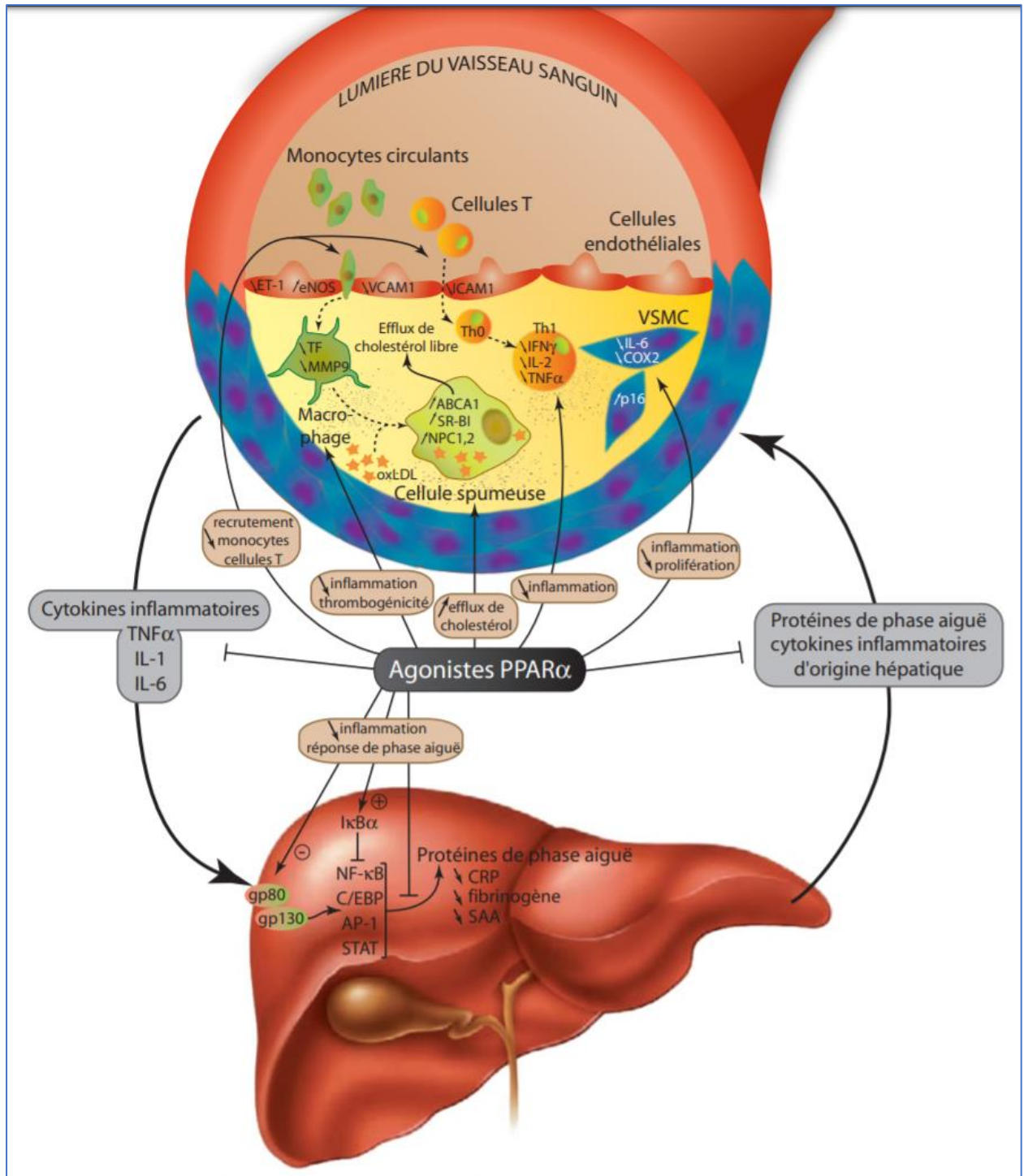
- Augmentant de l'expression de l'apoA-I et de l'apoA-II ;
- Augmentant de l'expression des transporteurs ABCA-1 (ATP-binding cassette transporter A-1) et SR-BI/CLA-1 (scavenger receptor-BI) dans les macrophages.



**Figure 36 :** Entrée dans la mitochondrie et activation des acides gras à longue chaîne  
 ACS : Acyl-CoA synthétase,  
 CPT : carnitine palmitoyltransférase, T : translocase

**V.4.2. Rôles dans la réponse inflammatoire et athérosclérose**

- Induisant l'inhibition de l'expression de VCAM-1 cytokine induite (Vascular Cell Adhesion Molécule 1) ;
- Augmentant l'expression de l'oxyde nitrique synthase endothéliale (prévention cardiovasculaire) ;
- Réduisent la concentration plasmatique de IL-6 et diminuent l'expression des COX2 dans les cellules musculaires lisses vasculaires ;
- Le fénofibrate diminuerait également la sécrétion de l'ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) ;
- Limiter le recrutement et la pénétration des lymphocytes T dans la paroi vasculaire ;
- Régule également le recrutement, l'adhésion, la prolifération et l'apoptose de divers types ; cellulaires impliqués dans la formation de plaques d'athérosclérose.



**Figure 37. Principaux effets de PPAR $\alpha$  sur l'inflammation.** La partie haute illustre les effets au niveau vasculaire et la partie basse les effets au niveau de la réponse de phase aiguë hépatique. Les principaux mécanismes d'inhibition de l'inflammation par PPAR $\alpha$  sont illustrés dans le foie uniquement [Adapté par Zanbergen et Plutzky, 2007].

**L'athérosclérose** est une pathologie cardiovasculaire majeure et le rôle de l'inflammation dans son apparition et son développement est largement reconnu. L'action de PPAR $\alpha$  sur l'inflammation s'exerce principalement par le biais d'interférences avec les voies de signalisation d'autres facteurs de transcription comme NK- $\kappa$ B, C/EBP, AP-1 (activator protein-1) ou STAT,

par exemple via des interactions protéine-protéine ou via des compétitions pour les corégulateurs (un phénomène parfois appelé squelching).

**V.4.3. Rôles de PPAR $\alpha$  dans l'inflammation au niveau hépatique**

- Les agonistes de PPAR $\alpha$  inhibent l'induction par l'IL-1 de l'expression de CRP .
- l'activation de PPAR $\alpha$  conduirait à une séquestration du coactivateur SRC-2 (ou TIF2/GRIP1) qui ne pourrait plus participer à l'induction du fibrinogène  $\beta$  par C/EBP $\beta$

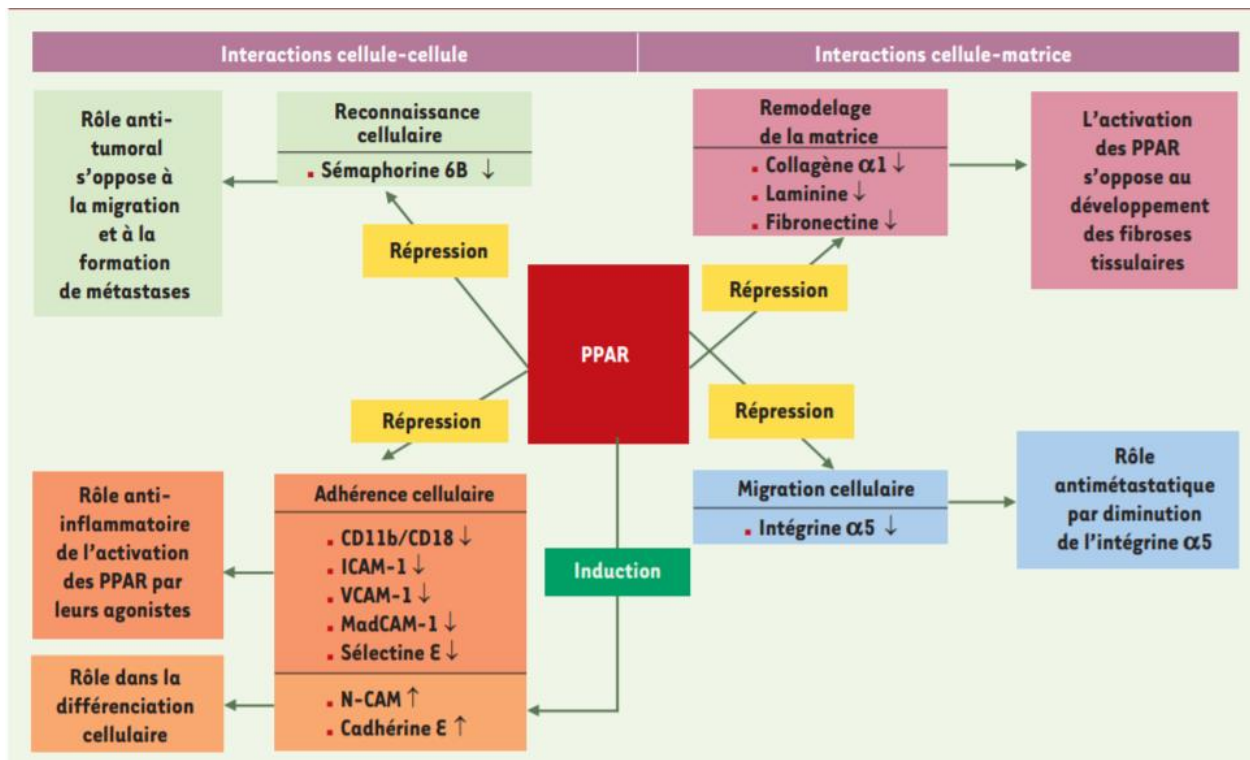


Figure 38. Rôles des PPAR dans l'inflammation [Hossam *et al.*,2007].

**V.4.4. Régulation du métabolisme des xénobiotiques par PPAR $\alpha$**

Les activateurs de PPAR $\alpha$ , comme nous l'avons déjà évoqué, régulent également l'expression d'enzymes de phase II et III. Chez l'homme et la souris, PPAR $\alpha$  régule positivement l'expression de l'UGT1A9 via un PPRE identifié. L'UGT1A9 catalyse la glucuronidation de nombreux xénobiotiques et notamment des fibrates ainsi que celle de molécules endogènes comme des éicosanoïdes, suggérant que PPAR $\alpha$  régulerait ainsi l'élimination de ses propres activateurs pharmacologiques et peut-être endogènes.



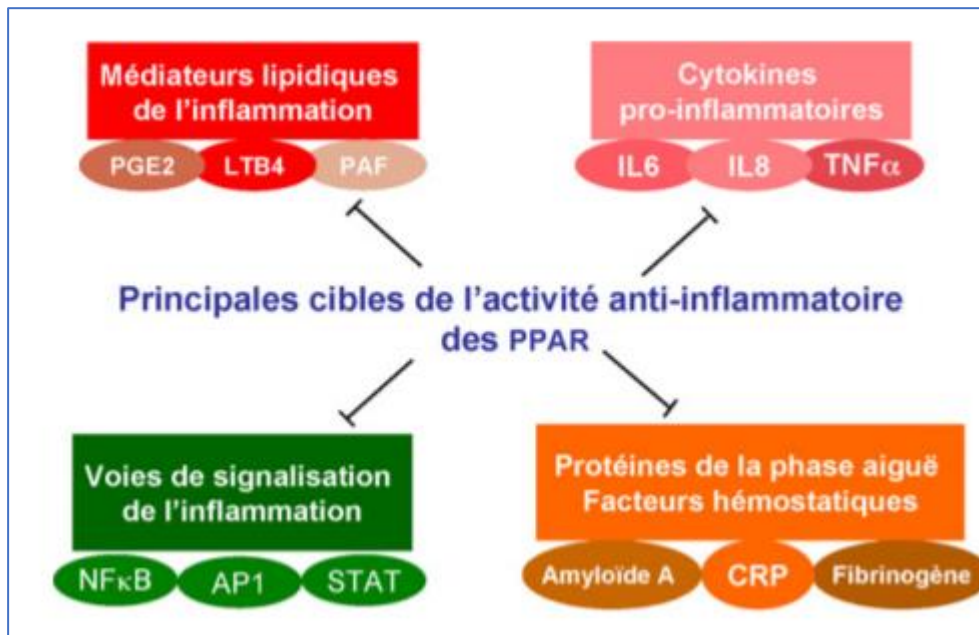


Figure 39. principales action anti-inflammatoire de PPAR [Dharancy *et al.*,2008].