

Chapitre II : Les effets de quelques hormones sur les différentes voies métaboliques

1. Les hormones couplées à la production intracellulaire d'AMPc

Beaucoup d'hormones telles que les catécholamines (adrénaline et noradrénaline), glucagon, ACTH (AdrenoCorticoTropic Hormone) se fixent sur des récepteurs couplés à l'adénylate cyclase, via des protéines G trimériques par stimulation de la sous-unité α . La fixation de ces hormones sur leur récepteur conduit à une augmentation transitoire de la concentration intracellulaire en AMPc (**Figure 1**). L'augmentation du taux d'AMPc va provoquer l'activation d'une protéine kinase appelée PKA.

Les effets physiologiques peuvent être très variés, et selon les cellules cibles, on observe des effets sur les sécrétions électrolytiques, la perméabilité à l'eau ou le transport membranaire ou encore des effets métaboliques.

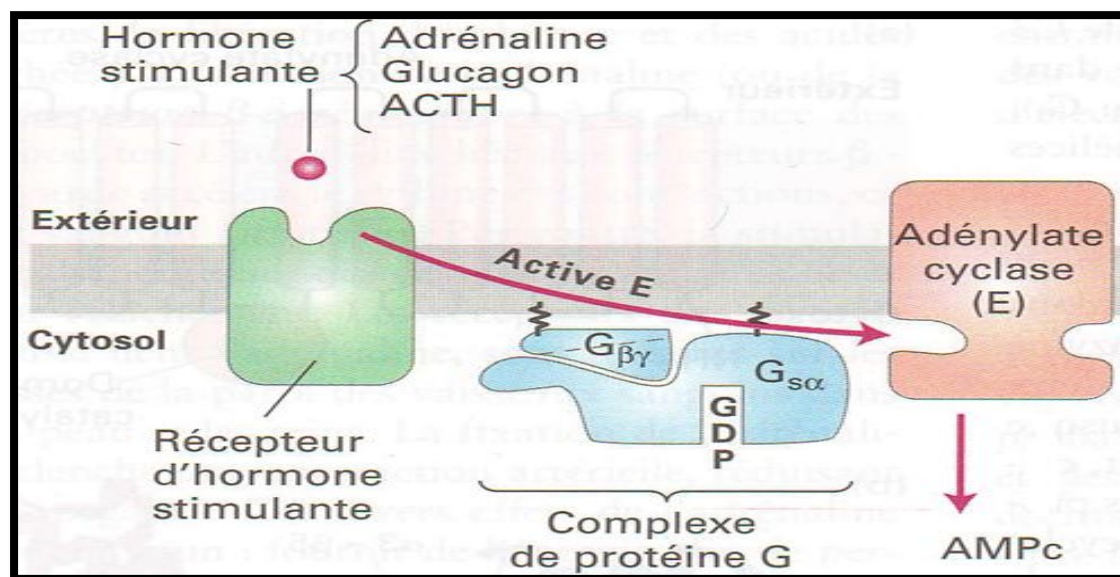


Figure 1

1.1. Les effets métaboliques

1.1.1. Effets sur le métabolisme du glycogène

Le glucagon ou les catécholamines provoquent une activation de la glycogénolyse et une inhibition de la glycogénogenèse.

L'activation de la PKA par l'AMPc permet la stimulation de la glycogénolyse et l'inhibition de la glycogénogenèse. Cette stimulation est liée à l'activation par phosphorylation de la glycogène phosphorylase kinase (1). Cette dernière permet l'activation par phosphorylation de la glycogène phosphorylase (GP).

L'inhibition de la glycogénogenèse est due à l'inactivation par phosphorylation de la glycogène synthase : GS. L'inactivation de la phosphoprotéine phosphatase (PP1-G) est, quant à elle liée à la phosphorylation des deux sites de la sous-unité G et à la liaison de la sous-unité catalytique (PPI) avec l'inhibiteur des phosphatases (IP), lui aussi activé par phosphorylation (**Figure 2**).

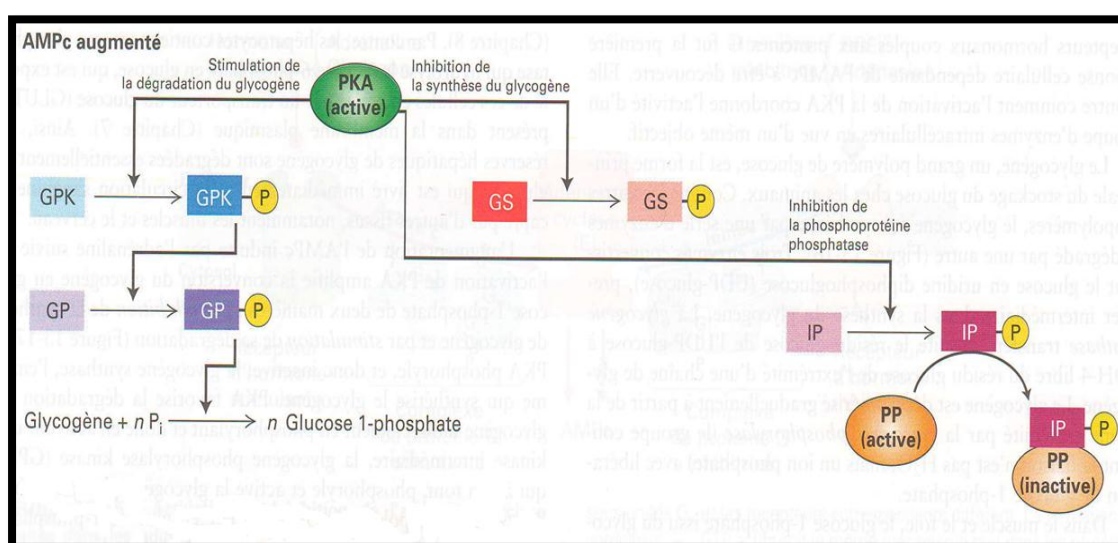


Figure 2

1.1.2. Effets sur le métabolisme du glucose

Le glucagon, comme les catécholamines, provoque une activation de la gluconéogenèse hépatique. Le point d'impact de la PKA sur le métabolisme du glucose est double et consiste à orienter dans le sens anabolique deux des trois cycles futiles qui contrôlent le métabolisme du glucose.

1. Pour le cycle: fructose 6-phosphate/fructose 1,6,diphosphate, c'est l'enzyme bifonctionnelle phosphofructokinase-2/fructose diphosphatase-2 qui est régulée par la PKA. Sous forme phosphorylée, le flux métabolique du cycle fructose 6-phosphate/fructose 1,6,diphosphate est alors dirigé dans le sens de la glycolyse.

Après déphosphorylation par l'effet indirect de la PKA, la concentration en fructose 2,6-diphosphate diminue et le cycle fructose 6-phosphate/fructose 1,6-diphosphate est alors dirigé dans le sens de la gluconéogenèse.

2. Pour le cycle futile : phosphoénolpyruvate/pyruvate/oxaloacétate, la régulation par la PKA porte sur la pyruvate kinase (PK). L'isoforme hépatique de cette enzyme (L-PK) est directement inactivée par phosphorylation.

L'inactivation de la pyruvate kinase permet d'éviter que le phosphoénol pyruvate, provenant des substrats glucogéniques comme les acides aminés ne soit retransformé en pyruvate (**Figure 3**).

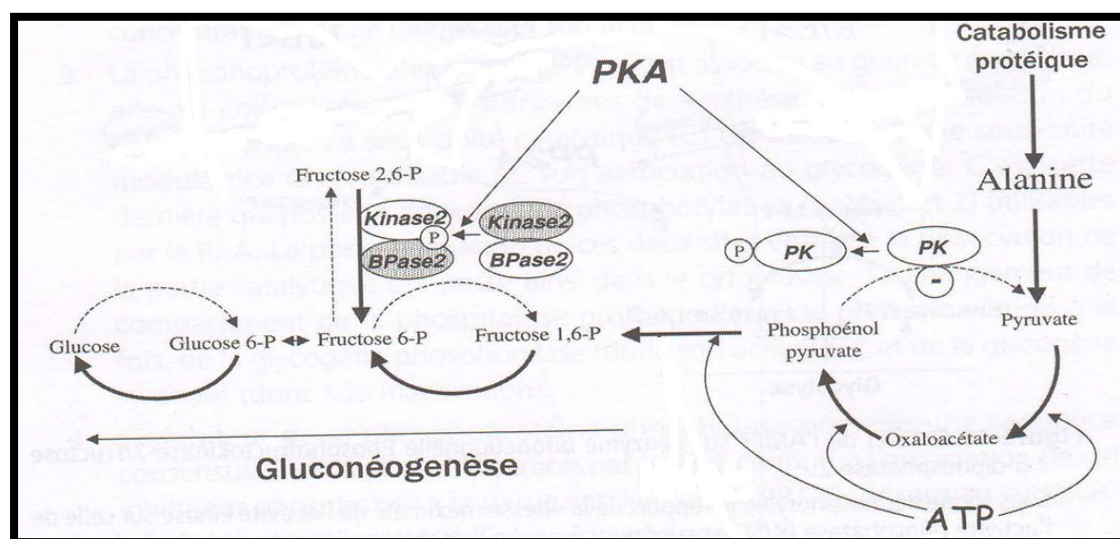


Figure 3

1.1.3. Effets sur le métabolisme lipidique

La triglycéride lipase adipocytaire est hormonosensible. La lipolyse est ainsi activée par des hormones qui augmentent la concentration intracellulaire en AMPc : les catécholamines, le glucagon et l'hormone corticotrope (ACTH) par exemple. Cette stimulation est liée à la présence sur l'enzyme d'une séquence consensus reconnue par la PKA. Mais ce mécanisme est soumis à une boucle d'autocontrôle courte (**Figure 4**), en effet, la PKA phosphoryle en même temps la phosphodiesterase (PDE) qui hydrolyse l'AMPc en AMP.

Ces hormones dépendantes de l'AMPc, s'opposent à l'action de l'insuline qui, chez les mammifères, est la seule hormone qui a un effet antilipolytique. Cet effet passe

également par la phosphorylation de la phosphodiesterase mais sur d'autres sites de phosphorylation que ceux utilisés par la PKA. La voie de signalisation de l'insuline n'est active, sur la phosphodiesterase, que si celle-ci a été préalablement phosphorylée par la PKA. Ceci indique que l'action antilipolytique de l'insuline ne s'exerce que si les adipocytes ont été préalablement stimulés par des hormones lipolytiques.

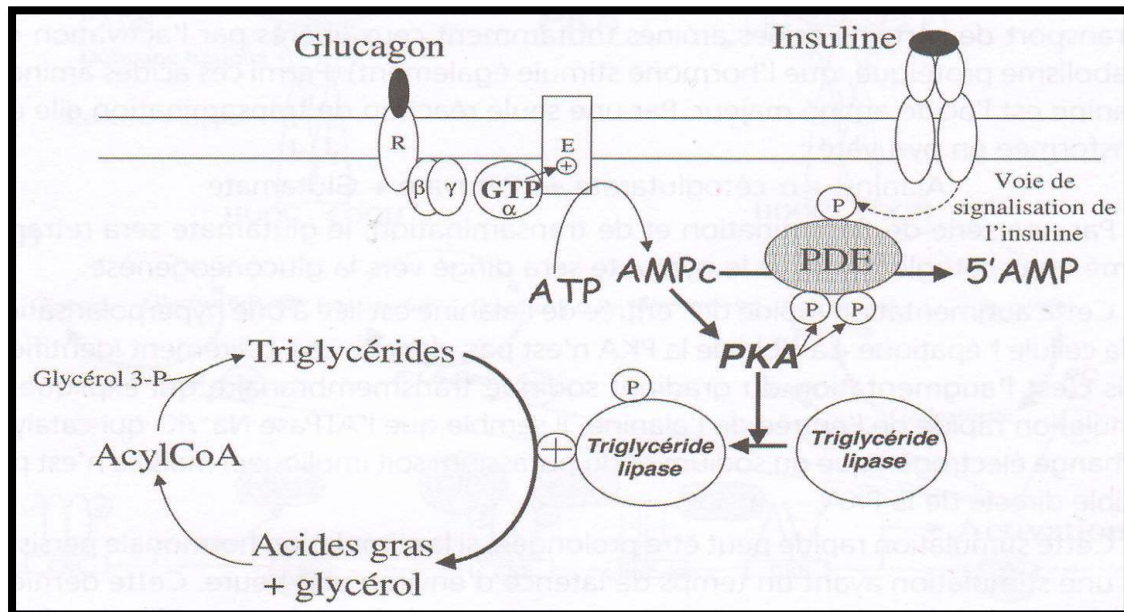
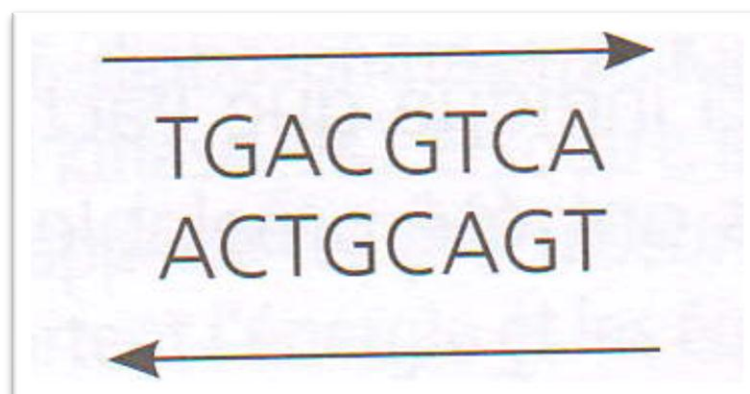


Figure 4

1.2. Les effets transcriptionnels

On connaît, à proximité des promoteurs de certains gènes, des éléments appelés CRE (Cyclic AMP Responsive Element). Ce sont des éléments palindromiques (séquence répétées inversées) :



Ces séquences sont occupées par des protéines qui, en se dimérisant, se lient sur ces séquences : les protéines CREB (CRE Binding protein). La phosphorylation de CREB permet l'activation de la transcription du coactivateur PGC-1 (1)-(Figure 5) qui en se liant sur des récepteurs nucléaires spécifiques (GRE, HNF-4 α), stimule la transcription des gènes induits par l'AMPc (2)-(Fig.5). CREB phosphorylée peut également recruter une histone acétylase : CBP permettant une décondensation de l'ADN de la région transcrite, ainsi que le coactivateur TORC2. Ces effets permettent une augmentation de l'activité des gènes spécifiques de la gluconéogenèse : la pyruvate carboxylase (PC), la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), le fructose 1,6-bisphosphatase-1 (F 1,6-Pase) et la glucose 6-phosphatase (G 6-Pase). La transcription de ce coactivateur est inhibée par l'insuline. En liant l'effet du cortisol, du glucagon et de l'insuline, le PGC-1 est donc un modulateur clé de la gluconéogenèse hépatique (Figure 5).

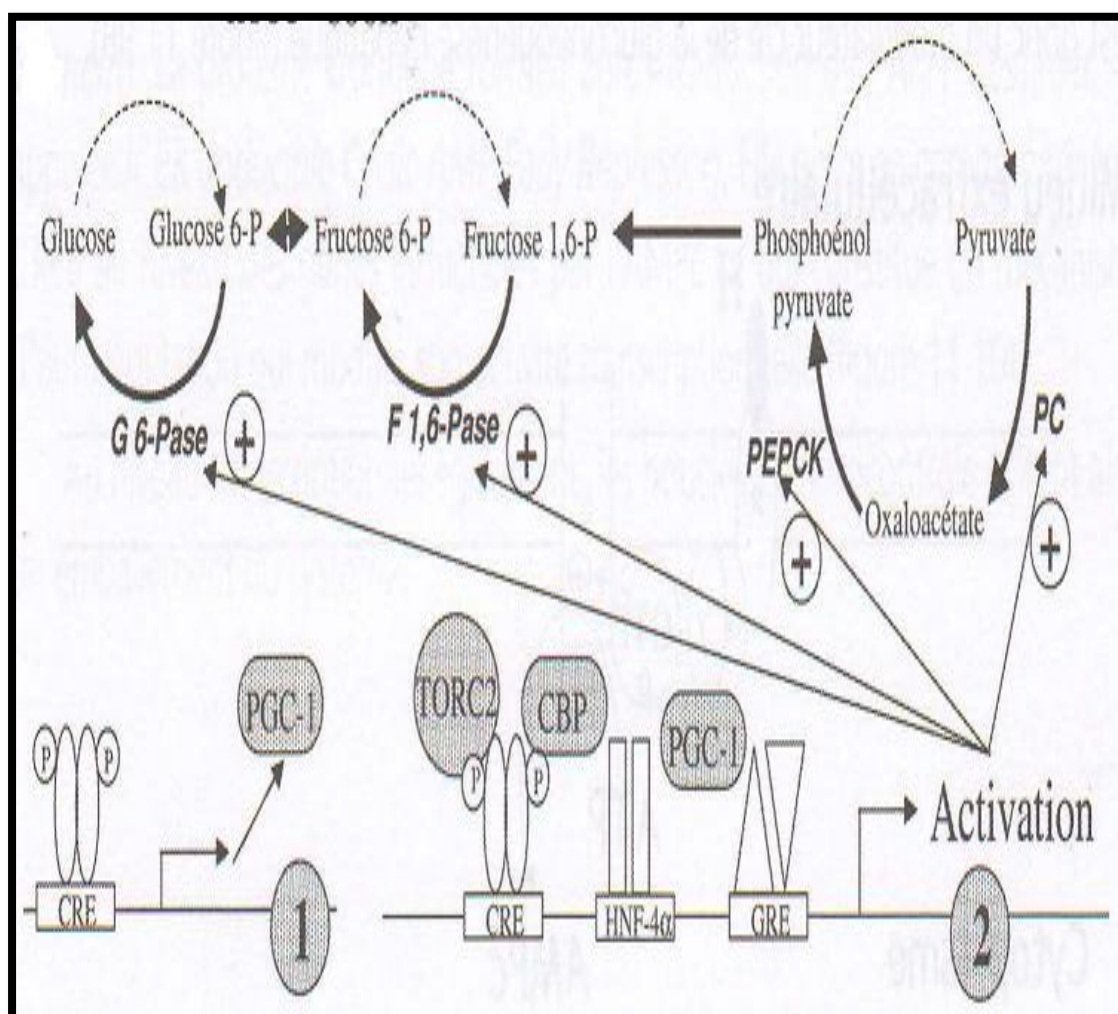


Figure 5

2. L'insuline

2.1. Effets métaboliques

L'insuline est une hormone qui favorise le stockage. Elle agit sur le métabolisme des glucides, lipides et protides. Cet effet est visible au niveau de trois types de cellules cibles : les hépatocytes, les adipocytes et les muscles squelettiques (**Figure 6**).

L'insuline favorise la glycogénogenèse et inhibe la glycogénolyse, elle favorise ainsi le stockage du glucose sous forme de glycogène. Mais elle favorise également la glycolyse et aussi la transformation du pyruvate en acétylCoA, en stimulant le complexe pyruvate déshydrogénase .

L'insuline stimule la lipogenèse, elle est en outre la seule hormone antilipolytique. Cet effet est couplé à l'augmentation de la glycolyse qui fournit en effet l'acétylCoA, précurseur des acides gras, et le glycérol 3-phosphate qui permettent la synthèse des triglycérides.

Enfin l'insuline favorise l'anabolisme protéique dans les cellules cibles. Cet effet est particulièrement important dans les muscles squelettiques.

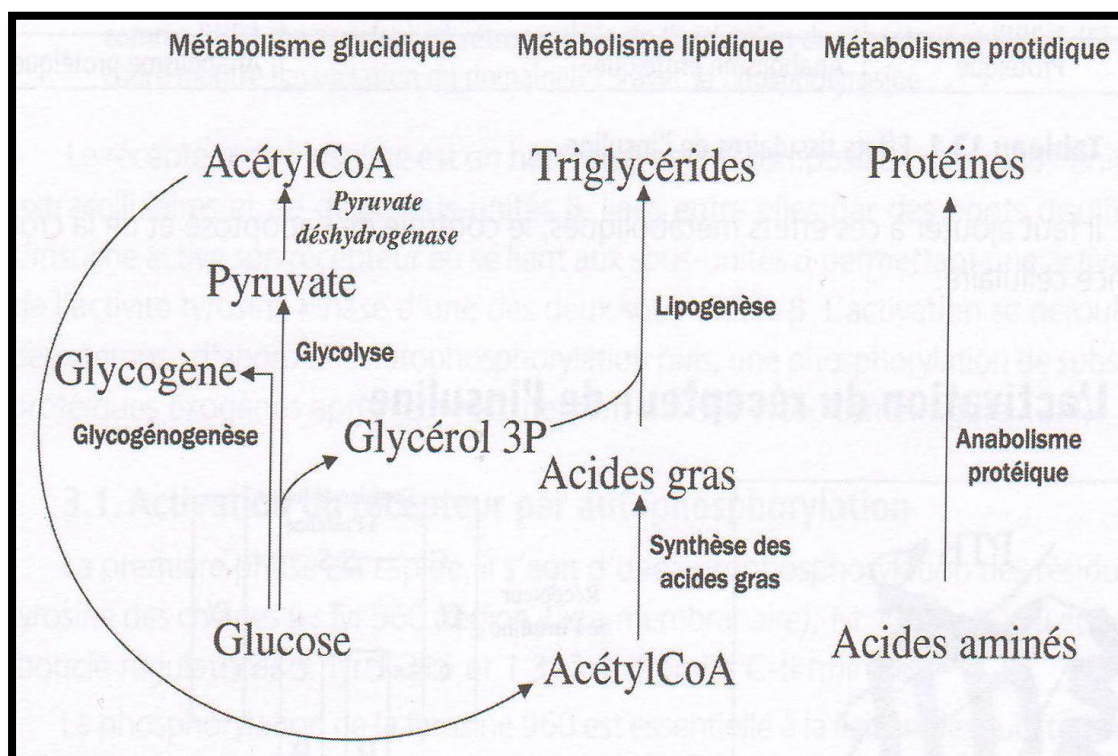


Figure 6

2.2. Effets transcriptionnels

On observe pour l'insuline des effets transcriptionnels à partir de deux voies parallèles :

2.2.1. La voie dépendante de la protéine kinase B

Les membres de la famille FoxO sont des facteurs de transcription. Ils contrôlent l'expression de gènes d'enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose, notamment la gluconéogenèse (phosphoénolpyruvate carboxykinase, glucose-6-phosphatase).

L'activation de la voie de signalisation insuline provoque la délocalisation de FoxO dans le cytoplasme et la diminution de l'expression de ses gènes cibles (**Figure 7**).

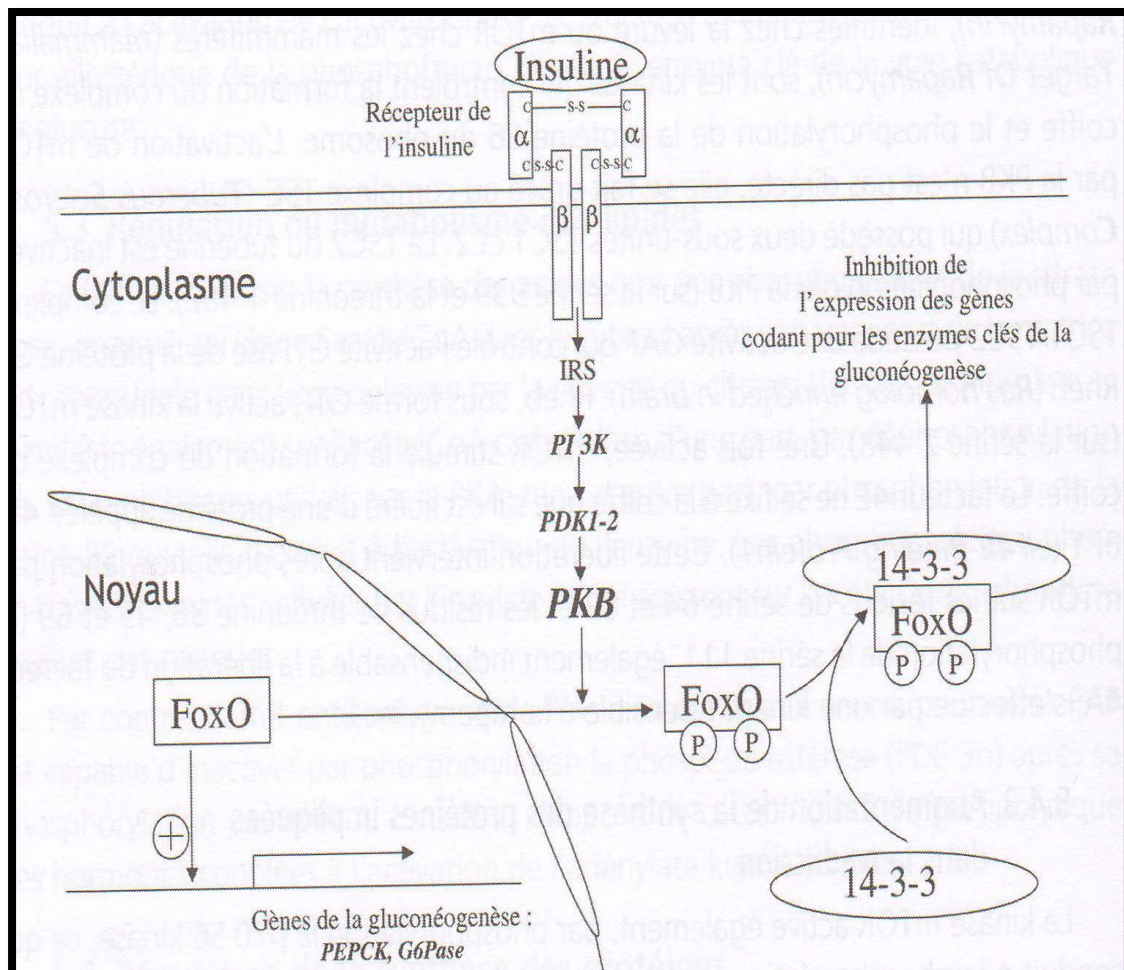


Figure 7

En l'absence d'une stimulation de la voie de l'insuline, FoxO est déphosphorylé, localisé dans le noyau et interagit notamment avec le coactivateur de transcription CBP/p300 (qui possède une activité acétyl-transférase), et aussi avec PGC-1 α pour activer la transcription de ses gènes cibles. L'acétylation de FoxO par CBP augmente sa sensibilité à la phosphorylation par PKB qui phosphoryle ce facteur. Ceci provoque l'exportation vers le cytoplasme et permet la liaison de la protéine chaperone 14-3-3, empêchant ainsi la liaison de FoxO à l'ADN. La gluconéogenèse est ainsi inhibée par la diminution de l'activité de la phosphoénolpyruvate carboxykinase et de la glucose 6-phosphatase.

La PKB n'est pas seulement impliqué dans la régulation de la transcription des gènes de la gluconéogenèse. Un autre facteur de transcription a un rôle majeur au niveau du foie dans l'expression des enzymes lipogéniques et glycolytiques. SREBP (Sterol Responsive Element Binding protein) est un facteur impliqué dans la régulation du métabolisme du cholestérol ; après dimérisation, il est transporté dans le noyau et active la transcription des gènes de la glycolyse (glucokinase) et de la biosynthèse des acides gras (Acétyl CoA carboxylase et acide gras synthase) possédant des éléments SRE (Sterol Responsive Elements). Il faut ajouter que pour ces deux derniers gènes, l'activation complète nécessite l'élément ChREBP (carbohydate Responsive Element Binding Protein) activé directement par un métabolite du glucose : le xylulose 5-phosphate (**Figure 8**).

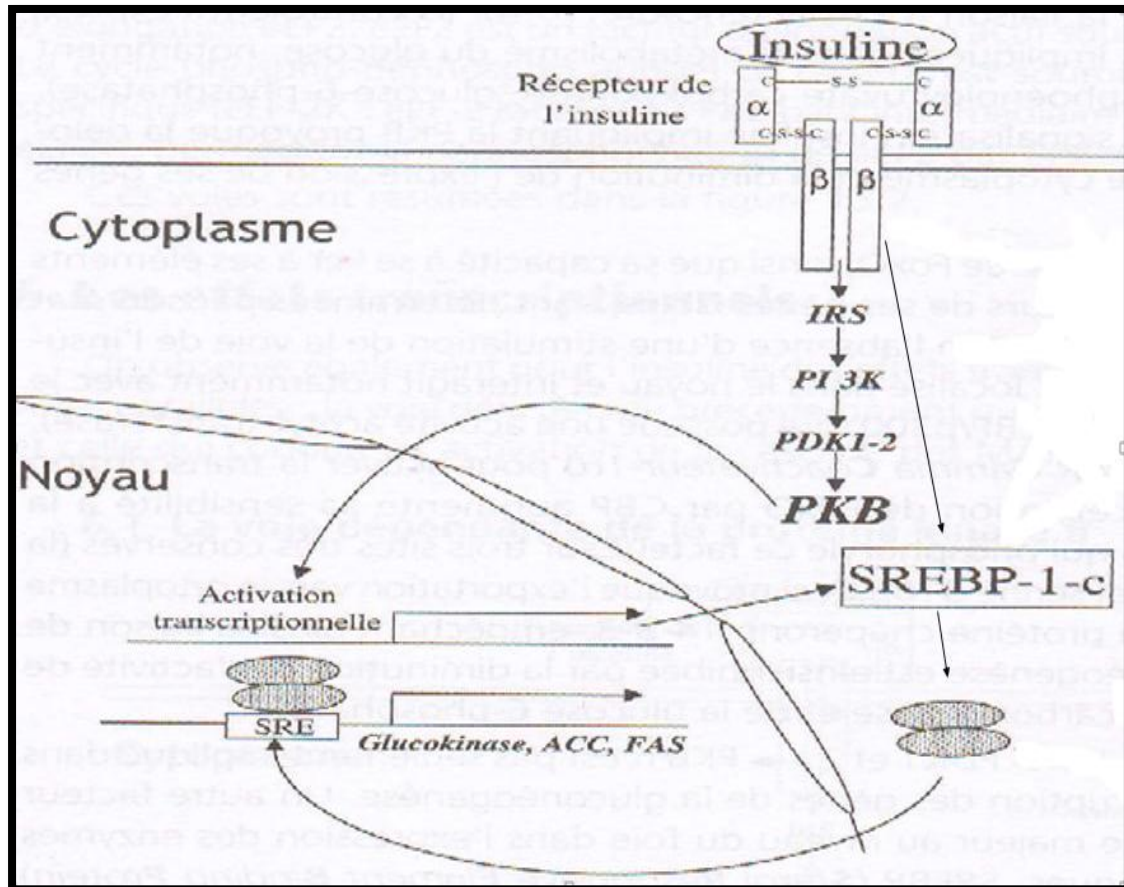


Figure 8

2.2.2. La voie des MAP kinases

La fixation de l'insuline à son récepteur conduit à l'activation de ERK par l'intermédiaire de Ras. C'est grâce à des adaptateurs, c'est-à-dire à des protéines sans activité enzymatique, mais dont la fonction est de mettre en contact des molécules d'une voie de signalisation, que la voie de ERK est activée (**Figure 9**).

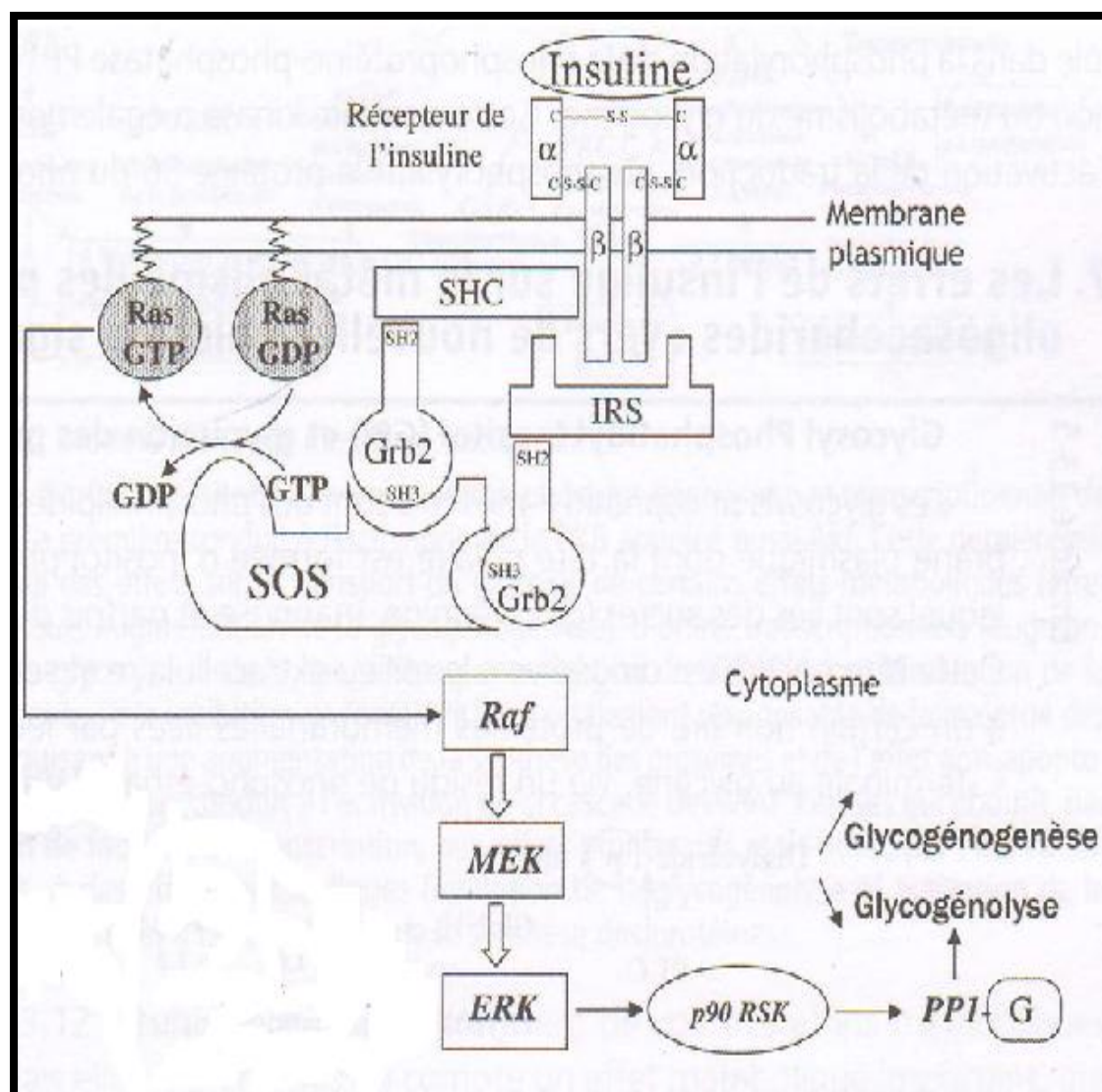


Figure 9

Grb2 est un adaptateur ubiquitaire constitué d'un domaine SH₂ encadré par deux domaines SH₃. Il se fixe d'une part par son domaine SH₂ sur les séquences de la protéine IRS contenant de la phosphotyrosine et d'autre part, par ses séquences SH₃ il se fixe à SOS (Son of Sevenless), une molécule qui active l'échange GDP/GTP de la petite protéine G : Ras. SOS fait donc fonction de GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor).

Ras active Raf qui est une sérine/thréonine kinase qui phosphoryle elle-même MEK capable à son tour de phosphoryler ERK sur des résidus de sérine et de tyrosine.

Erk est capable également d'activer par phosphorylation p90RSK ayant un rôle dans la phosphorylation de la phosphoprotéine-phosphatase PP1-G, cette dernière permet une

activation importante de la glycogène synthase ainsi qu'une inhibition de la glycogène phosphorylase

3. Le cortisol

3.1. Les effets métaboliques

Le cortisol aide l'organisme à résister aux facteurs de stress prolongés principalement en augmentant la glycémie. Il induit des effets cataboliques sur les métabolismes lipidique et protéique tout en augmentant la gluconéogenèse hépatique. L'ensemble de ces effets est résumé dans la **figure 10**.

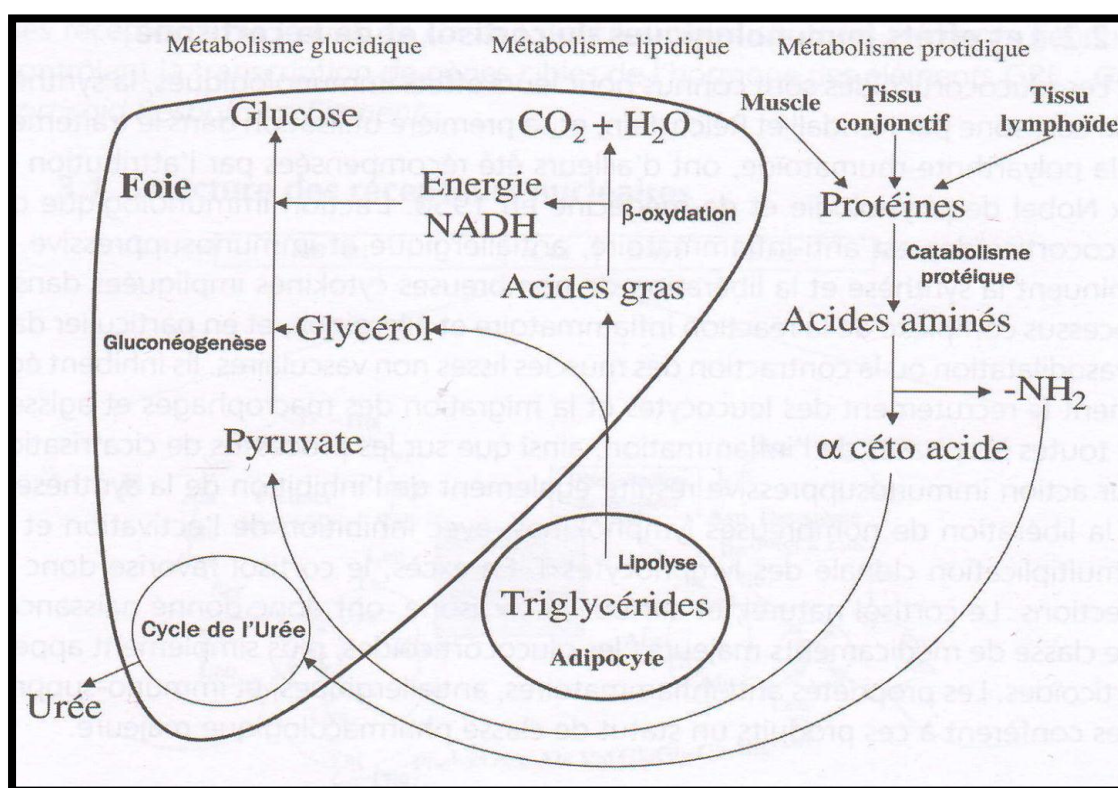


Figure 10

Les tissus cibles sont nombreux : le tissu adipeux est le siège d'une lipolyse importante, la masse musculaire squelettique, le tissu conjonctif, ainsi que le tissu lymphoïde, subissent une protéolyse. Ces effets cataboliques permettent la libération d'acides gras, de glycérol et d'acides aminés.

Ces facteurs sont favorables à une augmentation de la gluconéogenèse hépatique, en effet le glycérol et les acides aminés sont les précurseurs utilisés par le foie pour la

synthèse de glucose tandis que l'oxydation des acides gras fournit l'énergie et les équivalents réducteurs nécessaires à la gluconéogenèse. L'utilisation d'acides aminés pour la synthèse du glucose pose le problème de l'élimination de la fonction amine. C'est effectivement, uniquement la partie carbonée des acides aminés qui est incorporée dans la molécule de glucose. L'utilisation des acides aminés comme précurseurs de glucose nécessite donc une stimulation de la voie d'élimination de la fonction amine sous forme d'urée. Conjointement à l'utilisation des acides aminés, le cortisol stimule également le cycle de l'urée.

3.2. Les effets transcriptionnels

Le cortisol est une hormone qui doit traverser la membrane plasmique pour se fixer à son récepteur. Le récepteur du cortisol fait partie de la famille des récepteurs nucléaires de classe I dont les cibles sont des éléments génétiques contrôlant la transcription de gènes cibles de l'hormone (les éléments GRE : Glucocorticoid Responsive Element).

3.2.1. Association à l'ADN

La réponse au cortisol est double : une réponse primaire par interaction du récepteur dimérisé avec les éléments GRE qui conduit à la régulation de la transcription des gènes cibles directement ; une réponse secondaire, nécessitant une synthèse de novo de protéines, correspondant à l'activation de la transcription de facteurs nucléaires (facteurs de transcription et coactivateurs) permettant, à leur tour, d'activer la transcription de gènes ne contenant pas d'éléments de réponse au cortisol. C'est le cas du gène de l'arginase, dont la transcription est activée par le cortisol sans que celui-ci possède d'éléments GRE.

Pour beaucoup de gènes, la réponse au cortisol ne dépend pas uniquement de la liaison du récepteur dimérisé à des éléments GRE mais va dépendre également de la liaison d'autres facteurs de transcription sur des sites proches. Ces éléments de réponse spatialement et fonctionnellement associés forment des GRU (Glucocorticoid Response Units)

3.2.2. Activation de la transcription

Quand le récepteur des glucocorticoïdes est fixé à l'ADN, plusieurs mécanismes conduisent à l'activation de la transcription (**Figure 11**) :

- **Un remodelage de la chromatine** : La structure condensée de la chromatine ne permet pas la transcription. Cependant, il a été montré, que le site GRE n'est pas masqué par la structure nucléosomale. Le récepteur du cortisol peut donc s'y fixer, ce qui déclenche un remodelage (dépendant de l'ATP) de la chromatine. Ceci permet aux autres facteurs d'interagir au sein de la GRU et de recruter des coactivateurs en particulier des histones acétylases (HAT) permettant une restructuration prolongée de la chromatine.

- **Une interaction avec la machinerie de transcription** : (l'ARN polymérase II et les facteurs généraux de transcription). Il est rare que la région trans-activatrice du récepteur interagisse directement avec le complexe d'initiation de la transcription. Le plus souvent, à cause de l'éloignement de la GRU et du promoteur, des protéines corégulatrices doivent intervenir. On pense que la liaison de ces coactivateurs conduit à un remaniement de la structure de l'ADN permettant un rapprochement entre le complexe protéique lié à la GRU et le complexe d'initiation de la transcription. Ce rapprochement est nécessaire à la transactivation.

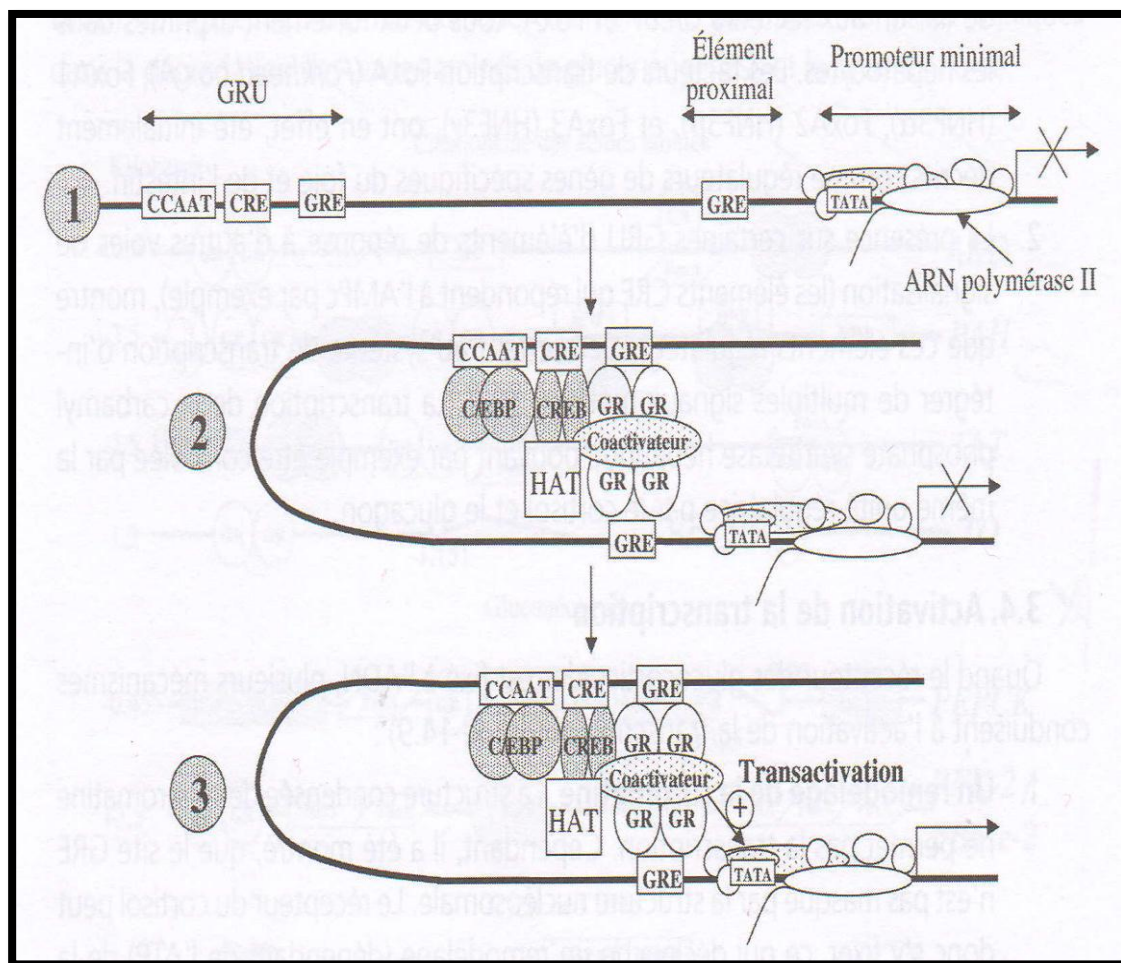


Figure 11

3.2.3. Régulation des flux métaboliques

La transcription des gènes est donc spécifique des tissus ; ainsi les gènes activés seront différents dans les tissus extrahépatiques dans lesquels le catabolisme est activé (catabolisme protéique et lipolyse) et dans le foie dans lequel l'anabolisme est activé (gluconéogenèse ainsi que le cycle de l'urée). L'activation sera réalisée directement par fixation du récepteur activé du cortisol sur les éléments GRE isolés ou au sein d'une unité régulatrice GRU, ou indirectement en augmentant la synthèse de facteurs tels C/EBP β (CCAAT Enhancer Binding Protein β) ou HNF 3 β (Hepatocyte Nuclear Factor 3 β) qui stimule la transcription des gènes cibles. Il faut noter que dans certains cas, le récepteur peut se lier à l'ADN sous forme monomérique (demi-sites GRE : 1/2GRE), dans ce cas, il faut un élément protéique supplémentaire pour stabiliser la liaison et conduire à l'activation. Le tableau ci-dessous donne la liste des principaux gènes impliqués dans les effets métaboliques du cortisol.

Effets	Modes d'activation	Gène
Cataboliques	GRE isolé	Tyrosine hydroxylase
	1/2 GRE dans un GRU	Phénylalanine hydroxylase
	GRE dans un GRU	Tyrosine amino transférase
		α -cétoacide déshydrogénase (sous-unité E2)
Anaboliques	GRE dans un GRU	Phosphoénolpyruvate carboxykinase
		Phosphofructo kinase 2/Fructose bisphosphatase 2
		Carbamyl phosphate synthétase
	Indirecte <i>via</i> C/EBP β	Arginase

La **figure 12** résume les effets de l'augmentation de l'activité transcription de ces enzymes clés, suite à la stimulation de leur transcription, sur la canalisation des flux métaboliques.

Le cortisol favorise la libération des acides aminés à partir des protéines (protéolyse), leur transamination, et leur catabolisme. Les acides aminés glucogéniques fournissent ainsi des éléments en C₅ (c-cétoglutarate) ou en C₄ (oxaloacétate, succinate et fumarate) qui augmentent la concentration intramitochondriale en malate. La navette au malate permet le passage de ces précurseurs dans le cytoplasme. Le malate est réoxydé en oxaloacétate, qui est transformé en phosphoénolpyruvate par la phosphoénolpyruvate carboxykinase, activée par le cortisol.

L'augmentation de l'activité de l'enzyme bifonctionnelle phosphofructo-kinase-2/fructose diphosphatase-2 permet une diminution de la concentration en fructose 2,6-phosphate, cette activation nécessite l'action concertée de la pKA, qui, en phosphorylant la protéine, stimule l'activité phosphatasique et inhibe l'activité kinasique. Cette diminution de la concentration en fructose 2,6-phosphate provoque une activation du cycle futile fructose 6-phosphate/fructose 1,6-diphosphate dans le sens de la gluconéogenèse.

L'augmentation directe de l'activité de la carbamyl phosphate synthétase, ou indirecte pour l'arginase, permet au cycle de l'urée la prise en charge de l'excédent de fonctions amines libérées par l'augmentation du catabolisme des acides aminés.

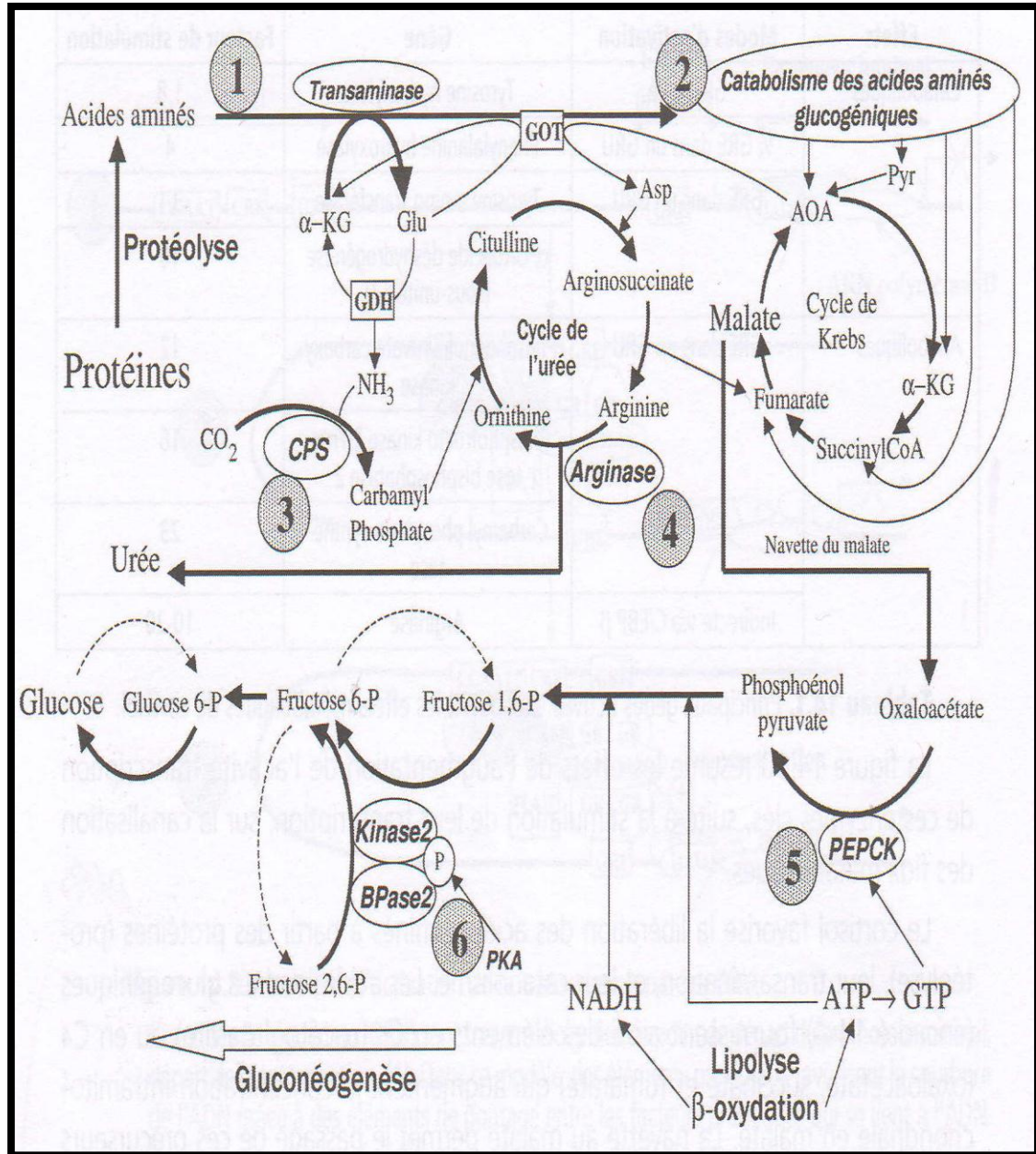


Figure 12