

Le métabolisme protéique et son contrôle

1.1.1. Les protéines

Le terme protéine vient du grec « *prôtos* » signifiant premier, essentiel. Les protéines font partie d'une des trois grandes familles de macronutriments comprenant également les glucides et les lipides. Sur le plan biochimique, les protéines sont des macromolécules constituées par un enchainement spécifique d'acides aminés (AA), reliés entre eux par des liaisons peptidiques, qui varient en fonction du nombre, de l'ordre d'enchainement, des proportions relatives des différents AA, ainsi que de leur organisation dans l'espace [9]. Sur un plan physiologique, les protéines sont des constituants majeurs des organismes et des cellules animales et végétales, et ont des rôles essentiels indispensables à la survie des organismes [10]. Elles ont d'une part un rôle structural, en participant à la composition des tissus musculaires, des phanères, de la matrice osseuse et de la peau, et d'autre part, un rôle fonctionnel et de messenger interne grâce aux enzymes, hormones, anticorps, ou récepteurs par exemple. Enfin, sur le plan nutritionnel, les protéines des aliments sont la source majeure d'AA et d'azote et sont aussi des nutriments énergétiques.

1.1.2. Les acides aminés

Les AA sont des molécules qui possèdent une fonction acide carboxylique COOH (extrémité C-terminale), une fonction amine NH₂ (extrémité N-terminale) toutes deux liées à un carbone central appelé carbone α , et une chaîne latérale appelée radical (R), portion variable qui peut se composer de différents éléments (carbone, soufre, azote...). Chez l'homme, 20 AA, dits protéinogènes, entrent dans la composition des protéines. Parmi ces 20 AA, on en distingue trois types (**Figure 1**):

- Les **acides aminés indispensables** (AAI), ce qui signifie qu'il n'y a pas de synthèse *de novo* par l'organisme ou qu'ils sont synthétisés à une vitesse insuffisante par rapport aux besoins de l'organisme et doivent donc être apportés par l'alimentation [11,12]. Parmi ces AAI, deux sont considérés comme strictement indispensables, car ils ne participent pas aux réactions de transamination, ce sont la lysine et la thréonine. La transamination étant le processus d'échange d'une fonction amine primaire entre un acide alpha aminé et un alpha acide cétonique [13].

- Les **acides aminés conditionnellement indispensables**, qui sont synthétisés en quantité insuffisante dans certaines conditions physiologiques ou physiopathologiques et peuvent devenir limitants: arginine, glutamine, glycine, proline, cystéine et tyrosine [14]. C'est notamment le cas de la cystéine chez les prématurés résultant de l'absence de l'activité hépatique de la cystathionase dont le rôle est de cliver la cystathionine en cystéine et acide alpha-cétobutyrique [15,16], ou de l'arginine qui peut être considérée comme indispensable lors d'infection [17].

- Les **acides aminés non indispensables**, qui peuvent être synthétisés par l'organisme à partir de pré-curseurs carbonés et azotés.

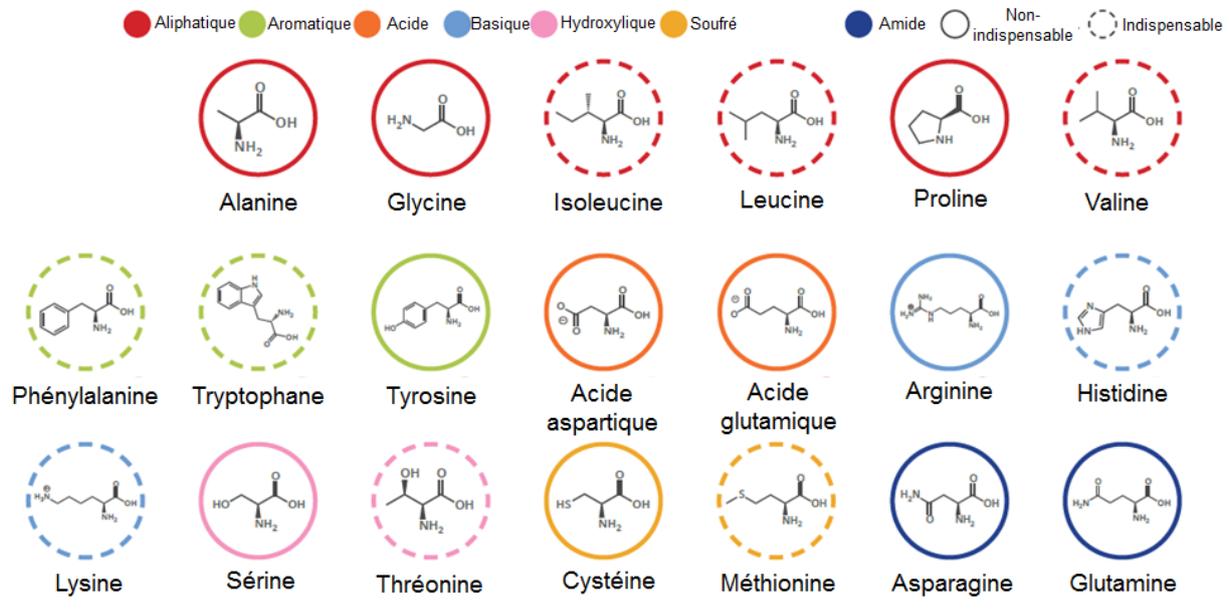


Figure 1. Les 20 acides aminés protéinogènes

20 AA, dits protéinogènes, rentrent dans la séquence des protéines. Ces 20 AA diffèrent dans leur radical carboné qui peut être aliphatique, aromatique, acide, basique, hydroxylique, soufré ou amide. Ils peuvent être non-indispensables ou indispensables, dans ce dernier cas, il est nécessaire qu'ils soient apportés par l'alimentation. Les AAi sont entourés de traits pointillés alors que les non indispensables, de traits pleins. Les couleurs représentent les groupes d'AA en fonction de la nature du radical carboné (Compoundchem.com).

1.1.3. Digestion et absorption des protéines alimentaires

1.1.3.1. Le processus digestif

La digestion des protéines alimentaires débute avec la mastication et l'action des enzymes salivaires [18]. Leur dégradation commence au niveau de l'estomac sous l'action d'une protéase, la pepsine [19]. La pepsine est sécrétée par les cellules principales de l'estomac sous forme de pepsinogène, forme inactive de l'enzyme. Puis, l'acide chlorhydrique, sécrété par les cellules pariétales de la muqueuse gastrique, va d'une part permettre d'hydrolyser le pepsinogène pour obtenir la pepsine, forme active de l'enzyme, et d'autre part va provoquer une dénaturation des structures tertiaires et quaternaires des protéines favorisant ainsi l'accès des enzymes digestives aux liaisons peptidiques. La pepsine est une endopeptidase clivant les protéines au niveau des liaisons peptidiques, à l'extrémité C-terminale des AA aromatiques.

Le chyme entre ensuite au niveau de l'intestin, où les oligopeptides continuent d'être dégradés grâce aux différentes enzymes pancréatiques. Les protéases pancréatiques sont d'abord sécrétées sous forme de zymogène, sous forme non active. Le précurseur de la trypine est clivé pour former la trypine active

qui catalyse le clivage des autres zymogènes en leur forme active : chymotrypsine, élastase et carboxypeptidases. Ces différentes endopeptidases et exopeptidases (**Tableau 1**) permettent de dégrader les oligopeptides en AA libres et di- et tripeptides. Les endopeptidases, trypsine, chymotrypsine, et élastase, hydrolysent les protéines en clivant les liaisons peptidiques qui se trouvent au centre de la protéine, alors que les exopeptidases et carboxypeptidases, clivent les protéines à leurs extrémités, libérant les AA en bout de chaîne [20].

Tableau 1. Caractéristiques des enzymes intervenant dans la digestion des protéines et peptides

Enzyme	Origine	Activateurs	Action	Points de clivage	Produits
Pepsine	Estomac	Autoactivation	Endopeptidase	Tyr, Phe, Leu, et Asp	Large oligopeptides et AA libres
Trypsine	Pancréas	Entéropeptidase et trypsine	Endopeptidase	Arg, Lys, et AA basiques	Oligopeptides (2 à 8 AA)
Chymotrypsine	Pancréas	Trypsine	Endopeptidase	Tyr, Trp, Phe, Leu, Gln, Met	Oligopeptides (2 à 8 AA)
Elastase	Pancréas	Trypsine	Endopeptidase	Ala, Gly, Tyr, Phe, Trp	Oligopeptides (2 à 8 AA)
Carboxypeptidase	Pancréas	Trypsine	Exopeptidase	AA situés à l'extrémité carboxylique	AA libres
Aminopeptidase	Bordure en brosse intestinale		Peptidase	Arg, Leu, Met, Glu, Asp	AA libres
Di et tripeptidase	Cytoplasme des entérocytes		Peptidase		AA libres

Dans la lumière intestinale, les polypeptides et protéines digérés se retrouvent à 30% sous forme d'AA libres et 70% sous forme d'oligopeptides (2 à 8 AA) [21]. Puis la muqueuse de l'intestin assure la poursuite de l'hydrolyse des oligopeptides et l'absorption des AA, intervenant principalement au niveau du duodénum et jéjunum [22]. Les AA libres et les di- et tripeptides sont transférés au niveau de la bordure en brosse des entérocytes grâce des transporteurs spécifiques. Dans le cytoplasme des entérocytes, les di- et tripeptides sont hydrolysés en AA libres par l'action des di- et tri-peptidases. Une partie des AA absorbés est utilisée par les entérocytes [23], l'autre partie rejoint la circulation sanguine par la veine porte, puis est transférée vers les différents organes et tissus (Figure 2). Les entérocytes utilisent environ 10% des AA absorbés pour leur propre métabolisme, principalement l'aspartate, le glutamate et la glutamine. La glutamine est le principal substrat énergétique de l'entérocyte [23]. Le glutamate et la glutamine permettent la synthèse d'alanine, de lactate, de proline, d'ornithine et de citruline [24–26].

Les protéines présentes dans la lumière intestinale sont issues des protéines alimentaires, mais s'ajoutent à celles-ci des protéines dites endogènes [20]. Twombly et Meyer [27] ont montré que chez le rat nourri avec un régime protéoprive, la sécrétion endogène de protéines était d'environ 150 mg/j. Ces protéines endogènes, correspondent aux protéines des cellules desquamées, aux protéines des sécrétions salivaires, gastriques, intestinales, biliaires et pancréatiques servant à assurer le processus digestif, ainsi que des protéines d'origine plasmatique (albumine, immunoglobuline, etc.) recyclées par diffusion dans la lumière de l'intestin.

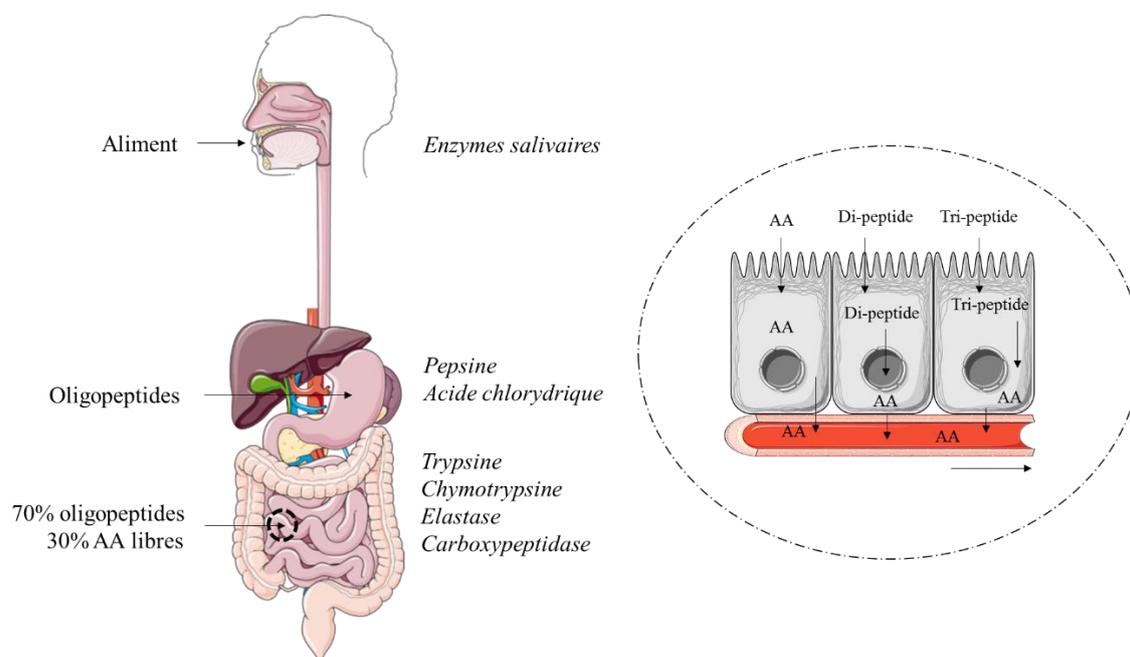


Figure 2. Digestion des protéines

Les aliments sont ingérés et dégradés par l'action mécanique de la mastication et l'action chimique des enzymes salivaires. Les protéines alimentaires rejoignent ensuite l'estomac où elles seront dégradées par une protéase, la pepsine, avec l'aide de l'acide chlorhydrique, donnant des oligopeptides. Au niveau de l'intestin, des protéases pancréatiques (trypsine, chymotrypsine, elastase et carboxypeptidase) vont cliver les oligopeptides en AA libres et oligopeptides (de 2 à 8 AA), avec une proportion de 30% et 70%, respectivement. Les AA libres traversent la membrane des entérocytes à l'aide de transporteurs. Les di- et tripeptides sont transportés à l'intérieur des entérocytes grâce à un transporteur, majoritairement Pept-1. Des di- et tripeptidases vont permettre leur dégradation en AA libres, qui pourront alors rejoindre la circulation sanguine via la veine porte, pour être métabolisés par les différents organes et tissus. Une partie des AA est métabolisée dans les cellules intestinales.

1.1.3.2. Facteurs influençant la digestion et l'absorption des protéines

Les protéines diffèrent entre elles par leur composition et leur structure qui influencent leur digestibilité, leur absorption et leur efficacité nutritionnelle. La notion de digestibilité des protéines correspond à la quantité absorbée d'une protéine par rapport à la quantité ingérée [28]. Sa mesure est généralement réalisée par différence en déterminant la fraction non absorbée au niveau de la partie distale de l'intestin grêle. Il a été montré que la digestibilité des protéines d'origine végétale est, le plus souvent, inférieure à celle des protéines d'origine animale, de 85 à 92% contre 95% respectivement [29].

La digestibilité peut être influencée par différents facteurs tels que la matrice et la transformation des aliments. Certaines sources de protéines végétales ont des structures résistantes à la digestion qui protègent les protéines, ainsi que des facteurs antinutritionnels (tanins, inhibiteurs de protéases, etc...) rendant difficile la dégradation des protéines lors de la digestion [30]. La transformation des aliments, comme la cuisson, peut également provoquer des réactions qui réduisent la digestibilité de certains AA, ce qui est notamment le cas de la lysine impactée par la réaction de Maillard, diminuant ainsi sa biodisponibilité [31].

La vitesse de digestion varie également selon les protéines. Ces différences de vitesse se traduisent par des différences dans la cinétique de transfert plasmatique des acides aminés, qui influencent la synthèse et la dégradation protéique. Selon la vitesse d'apparition des AA dans le sang, on distingue deux types de protéines : les protéines dites lentes, comme les caséines, et les protéines dites rapides, comme les protéines sériques du lait [32]. La différence de vitesse d'absorption entre ces deux protéines s'explique par une différence au niveau de la vidange gastrique qui est plus lente pour la caséine, retardant son arrivée au niveau de l'intestin grêle [32].

1.1.4. Le contrôle du pool protéique

Le compartiment des protéines corporelles représente 10-12 kg chez un homme adulte de 70 kg [10]. Près de la moitié des protéines corporelles est localisée au niveau du muscle squelettique (42%), 15% se retrouve au niveau de la peau, de l'os et du sang, 10% au niveau des tissus viscéraux, et le reste dans les autres tissus et organes. La durée de vie des protéines est limitée, elles doivent être en permanence renouvelées pour assurer l'entretien des tissus et les fonctions physiologiques de l'organisme. Afin d'assurer le maintien de la masse des protéines corporelles et de leurs fonctions, deux voies métaboliques interviennent, la protéolyse et la synthèse protéique.

Chaque jour a donc lieu un renouvellement du pool protéique : une partie des protéines est dégradée lors de la protéolyse, alors que de nouvelles protéines sont synthétisées grâce à la protéosynthèse (**Figure 3**). Chez l'adulte en bonne santé, le renouvellement de protéines est estimé à 250-300g par jour (2% en moyenne) ce qui permet à l'organisme de s'adapter en permanence aux différentes conditions physiologiques et nutritionnelles [18].

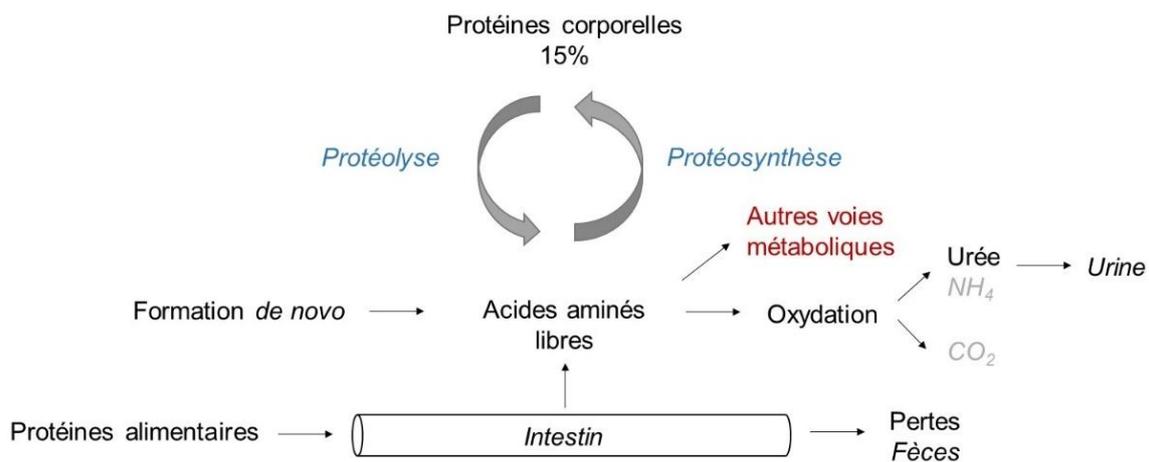


Figure 3. Renouvellement protéique

Les protéines corporelles sont en constant renouvellement. Une partie des protéines est dégradée par protéolyse tandis qu'une autre est synthétisée à partir du pool d'AA libres. Ces AA libres proviennent de l'alimentation, de la protéolyse, ou de la formation *de novo*. Les AA restants permettront la synthèse de composés spécifiques, ou seront dégradés par oxydation conduisant à la production d'urée, et de dioxyde de carbone (CO₂).

Pour que le renouvellement protéique puisse se dérouler correctement, il est important que tous les AAI soient apportés en quantité suffisante [33]. Une protéine ne peut être synthétisée que si tous les AA qui la compose sont disponibles simultanément et en quantité suffisante [34] (**Figure 4**). Dans le cas où l'un des AAI est en déficit, il limite la protéosynthèse. Les autres AA s'accumulent et ne pouvant être stockés par l'organisme, ils sont éliminés par oxydation, ou participe à la synthèse de composés spécifiques (glucose, corps cétoniques) [35].

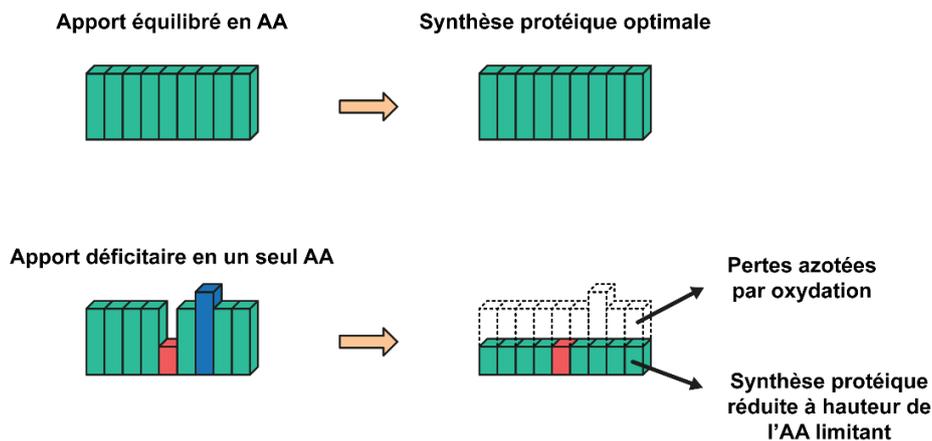


Figure 4. Optimisation de la synthèse protéique (tiré de Gaudichon 2019, FFAS)

Pour que la synthèse protéique soit optimale, l'apport en AA doit être équilibré. L'apport déficitaire en un seul AAI suffit à ralentir la synthèse protéique à hauteur de cet AAI qualifié d'AAI limitant, représenté en rouge.

1.1.4.1. Renouvellement des protéines corporelles via la synthèse protéique

Les AA sont les précurseurs de la synthèse des protéines corporelles. Chaque protéine présente un taux de renouvellement spécifique génétiquement programmé et contrôlé par l'équilibre entre anabolisme et catabolisme, et dépendant aussi des situations physiologiques, physiopathologiques et de l'environnement nutritionnel [10]. La vitesse de renouvellement protéique diffère selon les tissus. En effet, les protéines du foie et de l'intestin ont une vitesse de renouvellement très rapide, d'environ une semaine, alors que les protéines du muscle ont un renouvellement plus lent, de l'ordre de plusieurs mois. De plus, le renouvellement protéique diminue avec l'âge, il passe de 17.4 g/kg/j chez le nourrisson, à 3.0 g/kg/j chez l'adulte et seulement 1.9 g/kg/j chez le sujet âgé [1].

Au sein des cellules, la synthèse de protéines se déroule en différentes étapes. La première étape est la transcription, qui a lieu dans le noyau par transfert du code génétique de l'ADN à l'ARN messenger (ARNm). Elle se réalise en quatre étapes : initiation, élongation, terminaison et maturation. La transcription est régulée par des activateurs et des répresseurs transcriptionnels. Les AA sont notamment capables de réguler l'expression de certains gènes cibles en agissant au niveau de l'initiation de la transcription [36–39]. Différents travaux ont montré que l'expression de l'*Asparagine Synthase* (ASNS) [37], *Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1* (IGFBP-1) [39], et *C/EBP homologous protein* (CHOP) [38] est augmentée en réponse à une déficience en AA. Cette régulation se fait via un élément de réponse

aux AA, appelé *Amino Acid Regulatory Element* (AARE), localisé dans les promoteurs de ces gènes [40] et fait intervenir deux facteurs de transcription de la famille des *Activating Transcription Factor* (ATF), ATF4 et ATF2. La déficience en AA active la traduction d'ATF4 et la phosphorylation d'ATF2 qui se fixent alors sur l'élément de réponse AARE, activant la transcription de gènes cibles [41].

L'ARNm est ensuite transporté du noyau vers le cytosol, où il est traduit en protéine. C'est l'étape de traduction. L'ARNm, porteur du code génétique, est composé de codons, ou triplets de nucléotides, qui seront traduits en AA spécifiques et assemblés en chaînes polypeptidiques. La traduction se déroule en trois temps : initiation, élongation et terminaison (**Figure 5**) [42].

- L'initiation : cette étape commence par la formation d'un complexe de pré-initiation 43S, formé de la petite sous-unité du ribosome (40S), de facteurs d'initiation *eukaryotic Initiation Factor* (eIF) (eIF1, eIF1A, eIF2, eIF3, eIF5), de l'ARN de transfert (ARNt) chargé avec une méthionine, ainsi que de GTP lié à la sous unité γ d'eIF2 [42]. Dans le même temps, le complexe eIF4A-eIF4B-eIF4E-eIF4G s'associe à l'ARNm. Grâce au facteur d'initiation eIF3, le complexe de pré-initiation 43S, le complexe eIF4 et l'ARNm s'assemblent [43]. L'activité hélicase du facteur eIF4 permet de supprimer les appariements intramoléculaires des bases et le déplacement du complexe de pré-initiation le long de l'ARNm jusqu'au codon d'initiation, le codon AUG. Le GTP est alors hydrolysé en GDP, les facteurs d'initiation se détachent du complexe, et la sous unité ribosomique 60S se fixe à la sous-unité 40S [44]. L'étape d'élongation peut ainsi débiter.

- L'élongation : les AA sous forme active, associés à un ARNt, s'associent les uns aux autres pour former une chaîne polypeptidique. L'ordre des AA dépend de la séquence des codons qui compose l'ARNm. Cette étape nécessite l'intervention des facteurs d'élongation *eukaryotic Elongation Factor* (eEF). Un complexe AA-ARNt-eEF1A-GTP se forme et lorsqu'un ARNt possède un anticodon complémentaire du codon de l'ARNm, il s'apparie au niveau du « site A » du ribosome. Le GTP est alors hydrolysé, le facteur eEF1A se dissocie, et la liaison entre la méthionine et le second AA est créée.

Une fois le second AA lié au premier, le ribosome se déplace d'un codon grâce au facteur eEF2 et à l'hydrolyse d'un GTP, on parle de translocation. L'ARNt qui portait le second AA se dissocie alors du ribosome et laisse place à un nouvel ARNt. Ce processus se répète jusqu'à atteindre un codon stop indiquant que l'étape d'élongation est terminée [45,46]. Un ARNm peut être traduit par plusieurs ribosomes en même temps, l'ensemble étant appelé polysome [47].

- La terminaison : lorsqu'un ribosome arrive au niveau d'un codon stop, UGA, UAG ou UAA, qui ne correspond à aucun AA, des facteurs de terminaison *eukaryotic Release Factors* (eRF1 et eRF3) entrent en jeu. Le facteur eRF1 reconnaît l'un des trois codons stop, et se lie au ribosome à la place d'un ARNt. Une molécule de GTP est hydrolysée entraînant la dissociation des deux sous-unités du ribosome et la libération de la chaîne polypeptidique dans le cytoplasme, où elle peut subir des modifications post-traductionnelles [48].

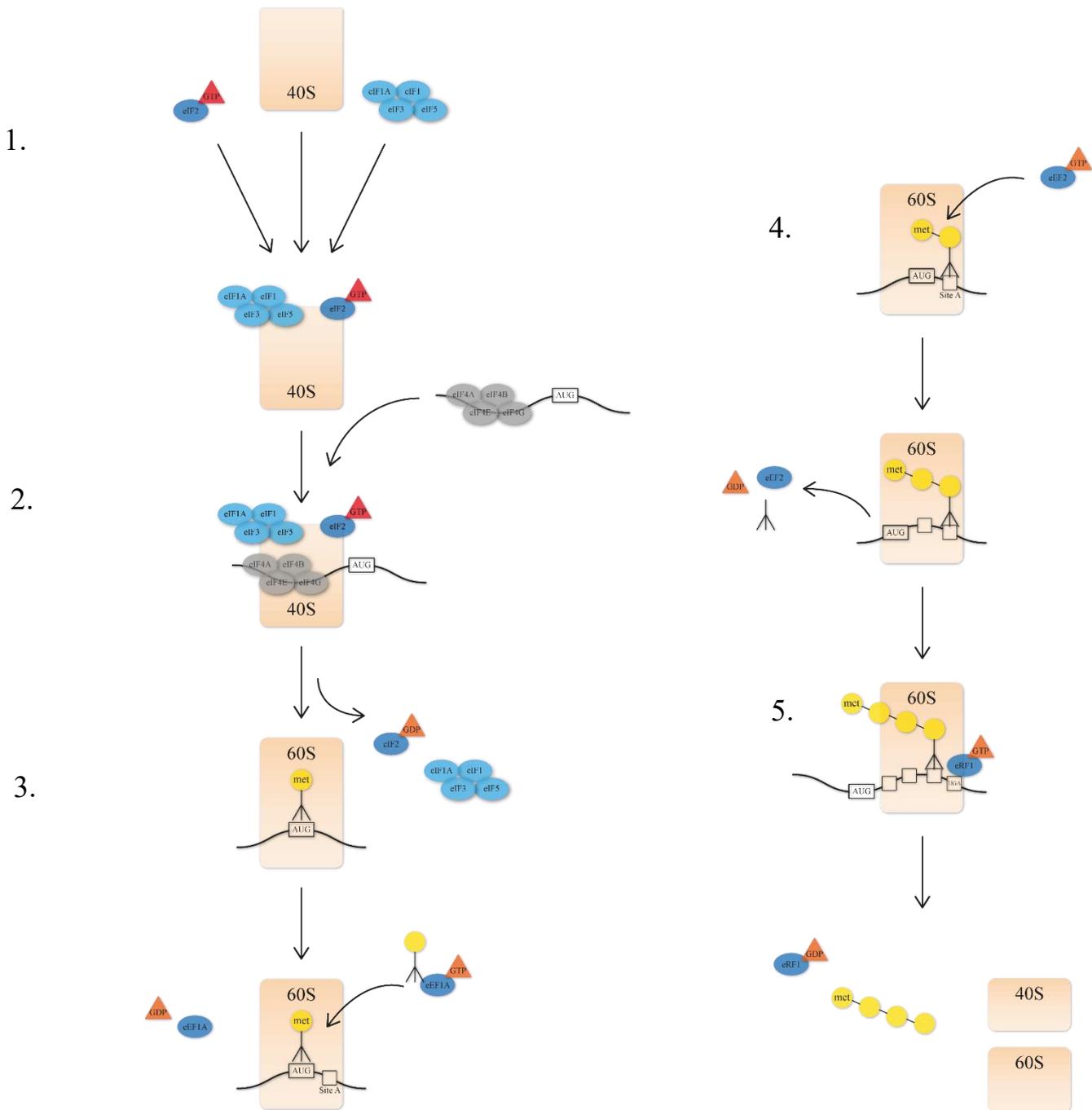


Figure 5. Schéma de la traduction protéique

1. La petite sous-unité du ribosome (40S), les facteurs d'initiation eukaryotic Initiation Factor (eIF) (eIF1, eIF1A, eIF2, eIF3, eIF5), l'ARN de transfert (ARNt) chargé avec une méthionine, ainsi que le GTP lié à la sous unité γ d'eIF2 s'associent pour former le complexe de pré-initiation 43S. Dans le même temps, le complexe eIF4A-eIF4B-eIF4E-eIF4G s'associe à l'ARNm. **2.** Le complexe de pré-initiation 43S, le complexe eIF4 et l'ARNm s'associent grâce au facteur eIF3. Le complexe de pré-initiation se déplace alors le long de l'ARNm jusqu'au codon d'initiation, AUG, grâce à l'activité hélicase du complexe eIF4 qui permet de supprimer les appariements intramoléculeux des bases. **3.** Le GTP est hydrolysé en GDP, les facteurs d'initiation se détachent du complexe et la sous unité ribosomique 60S se fixe ainsi à la sous-unité 40S. **4.** L'étape d'élongation débute. Les AA vont être liés les uns aux autres. **5.** Lorsqu'un ribosome arrive au niveau d'un codon stop, l'élongation s'arrête. L'hydrolyse du GTP entraîne la dissociation des deux sous-unités du ribosome, et la chaîne polypeptidique est libérée dans le cytoplasme.

1.1.4.2. La dégradation des protéines : la protéolyse

A l'intérieur d'une cellule, le niveau de protéines varie selon le rapport entre protéosynthèse et protéolyse. La demi-vie d'une protéine est variable, pouvant aller de quelques minutes à plusieurs jours [49]. Les protéines rapidement dégradées sont des protéines de régulation, comme les facteurs de transcription ou les hormones, permettant d'ajuster le signal en fonction des situations physiologiques et nutritionnelles, ou certaines protéines hépatiques telles que l'ApoB.

Il existe quatre voies de protéolyses chez les eucaryotes :

- **La voie ubiquitine-protéasome:** c'est la principale voie de dégradation des protéines nucléaires et cytosoliques. L'ubiquitine, un polypeptide de 76 AA, est activée par l'enzyme E1 (*ubiquitin-activating enzyme*) par suite de la formation d'une liaison thioester, puis est transférée sur une seconde enzyme E2 (*ubiquitin-conjugating enzyme*). Dans la majorité des cas, l'ubiquitine est ensuite transférée sur une troisième enzyme E3 (*ubiquitin-protein ligase*), responsable de la reconnaissance du substrat. L'ubiquitine se fixe ainsi sur la protéine à dégrader au niveau de la chaîne latérale d'un résidu lysine [49]. Dans certains cas, E2 permet la reconnaissance du substrat sans l'intervention de E3. D'autres ubiquitines vont ensuite s'ajouter pour former une chaîne d'ubiquitine sur la protéine à dégrader. Les protéines polyubiquitinylées sont alors reconnues et dégradées par le protéasome. Le protéasome est un complexe enzymatique multiprotéique qui reconnaît les protéines ubiquitinylées. Les ATPases déplient la protéine permettant son passage à l'intérieur du protéasome. Elle est alors dégradée dans la chambre protéolytique, contenant des sites actifs peptidasiques [50], en oligopeptides de 3 à 20 AA, et l'ubiquitine est recyclée. Les oligopeptides sont ensuite dégradés en AA grâce à l'action des carboxypeptidases et des aminopeptidases cellulaires [51].

- **La voie lysosomale ou autophagie:** elle fait intervenir les lysosomes, organites intracellulaires contenant des enzymes digestives tels que des protéases (cathepsines, carboxypeptidases). La voie lysosomale permet la dégradation de protéines intracellulaires, extracellulaires, membranaires ou d'organelles [52]. Il apparaît que les protéines dégradées via cette voie de dégradation contiennent une séquence KFERQ (Lys-Phe-Glu-Arg-Gln), et sont des protéines à longue demi-vie [49]. La dégradation des protéines via la voie lysosomale peut se faire selon quatre processus d'autophagie différents [53] :

- La macroautophagie : elle permet la dégradation de protéines solubles et d'organelles. Le complexe ULK1/ATG13/FIP200 (*Unc-51 Like autophagy activating Kinase 1 / AuTophaGy-related protein 13 / Family Interacting Protein of 200 kD*) initie la formation d'une vésicule à double membrane, l'autophagosome, qui se forme en englobant la protéine ou l'organelle à dégrader. Ce dernier fusionne alors avec un lysosome grâce à des protéines transmembranaires, *Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein Receptor* (SNARE). Les enzymes du lysosome permettent alors la dégradation des éléments à l'intérieur de la vésicule.

- La microautophagie : grâce à une invagination de la membrane du lysosome, elle permet le passage du matériel cytosolique à l'intérieur de celui-ci afin d'être dégradé par ses protéases.
- L'autophagie médiée par les chaperonnes : des protéines chaperonnes reconnaissent les protéines à dégrader grâce à leur séquence KFERQ et s'associent à elles. Les protéines chaperonnes sont reconnues par des récepteurs membranaires à la surface du lysosome, *Lysosome-Associated Membrane Protein Type 2A* (LAMP2A). Une fois les protéines stabilisées au niveau du récepteur, elles sont transloquées à l'intérieur du lysosome puis dégradées.

- **Les calpaïnes** : ce sont des cystéines protéinases. Leurs substrats sont majoritairement cytoplasmiques comprenant les protéines du cytosquelette, et les protéines nucléaires avec certains facteurs de transcription. Leur action est dépendante du calcium [54]. Il existe deux types de calpaïnes qui se différencient par la concentration en calcium nécessaire à leur activation. Les calpaïnes de type I sont activées par des concentrations en Ca^{2+} inférieures à 1 mM, alors que les calpaïnes de type II le sont avec des concentrations en Ca^{2+} supérieure à 1 mM. L'action de ces calpaïnes est également régulée par une protéine, la calpastatine, qui a une activité inhibitrice [55,56].

- **Les caspases** : elles appartiennent à la famille des protéases à cystéine (*cysteine-dependant aspartate-directed proteases*). Elles sont impliquées dans les phénomènes de morts cellulaires programmées, comme l'apoptose et la pyroptose. Les caspases sont présentes sous forme inactive dans le cytoplasme, appelées procaspases. Il existe deux types de caspases jouant un rôle dans l'apoptose. D'une part, les caspases initiatrices (caspase-2 ; caspase-8 ; caspase-9 ; caspase-10) qui sont activées suite au clivage et à la dimérisation de leurs sous-unités pour former une protéine tétramérique active. D'autre part, les caspases effectrices (caspase-3 ; caspase-6 ; caspase-7) qui sont exprimées sous forme de dimères, sont clivées au niveau de leurs sous-unités par des molécules initiatrices ou par autoprotéolyse, ce qui induit leur activation [57]. Ces dernières ont une activité protéolytique, et clivent leur substrat à l'extrémité C-terminal au niveau d'un résidu aspartate, glutamate ou plus rarement au niveau d'une phosphosérine [58].

1.1.5. Signalisation des acides aminés

Au-delà de leur propre rôle métabolique, certains nutriments ont la capacité d'avoir un rôle de régulateur des fonctions cellulaires. C'est le cas des AA, qui en plus de leur rôle de constituant des protéines et de source d'énergie, ont un rôle de signalisation. La disponibilité en AA régule des processus physiologiques cellulaires grâce au contrôle de certaines voies de signalisation et de l'expression de certains gènes.

1.1.5.1. Signalisation cellulaire : GCN2, AMPK et mTOR

Les AA ont un rôle régulateur au niveau transcriptionnel et traductionnel [59–61]. Le contrôle des AA sur les voies métaboliques se fait via des voies de signalisation intracellulaire d'AA. Les voies de signalisation qui sont impliquées dans la détection des AA sont les voies mammalian Target Of Rapamycin (mTOR), General Control Conderepressible 2 (GCN2), et AMP-activated Kinase (AMPK).

1.1.5.1.1. mTOR

mTOR est une sérine/thréonine kinase ayant un rôle clé dans la détection des AA. mTOR est impliqué dans la régulation de la croissance cellulaire, de la prolifération et de la synthèse protéique [62,63]. Chez les mammifères, mTOR est présent sous forme de deux complexes distincts, mTORC1 et mTORC2 [64]. mTORC1 est composé de la sous-unité catalytique mTOR, de deux sous-unités régulatrices *Proline-Rich Akt Substrate de 40KDa* (PRAS40), et Raptor, associée à mTOR. Le complexe mTORC2 est quant à lui composé de mTOR, et de la protéine Rictor. La protéine *DEP domain-containing mTOR-interacting protein* (Deptor) et une protéine associée à la sous-unité β du complexe protéique G/LST8 (mLST8/G β L) sont communes à mTORC1 et mTORC2 [65–67]. mTORC1 a la propriété d'être inhibé par la rapamycine, et est sensible aux nutriments et facteurs de croissance, contrairement à mTORC2 qui est insensible aux nutriments et à la rapamycine, et a un rôle dans la survie cellulaire et la réorganisation du cytosquelette [68]. L'activité de mTOR est régulée par phosphorylation.

L'assemblage et l'activation de mTORC1 se déroule au niveau de la membrane des lysosomes (**Figure 6**). La présence d'AA va empêcher l'inhibition de *Gap Activity TOward Rags 2* (GATOR2) par *Cytosolic Arginine Sensor For mTORC1 Subunit* (CASTOR) et Sestrin (SESN) via l'arginine et la leucine, respectivement. GATOR2 inhibe alors GATOR1, qui est également inhibé par la méthionine qui empêche son activation via *S-AdenosylMethionine sensor for the mTORC1* (SAMTOR). L'inhibition de GATOR1 permet l'activation des *Ragulator* (Rag) GTPases. Les Rag GTPases sont également activées par *Folliculin* (FLCN), *Ragulator*, *KPTN ITFG2 C12orf66 and SZT2-containing regulator of mTORC1* (KICSTOR) et *Sodium-coupled neutral amino acid transporter 9* (SLC38A9). Après leur activation, les Rag se lient à mTORC1 et induisent sa localisation à la surface du lysosome.

Une fois mTORC1 à la surface du lysosome, son activité kinase est stimulée par la protéine *Ras homolog enriched in brain* GTPase (Rheb) [69] en réponse à l'énergie, aux facteurs de croissance ou à l'insuline [70]. La translocation de mTORC1 sur la membrane des lysosomes et son activation par Rag GTPases et les protéines Rheb, stimulé par les AA et les facteurs de croissance, provoque une activation de la synthèse protéique au niveau de l'étape de l'initiation de la traduction et une inhibition de la protéolyse, alors que la diminution de la concentration en AA diminue son assemblage réduisant ainsi la synthèse protéique et augmentant l'autophagie et donc la protéolyse [71].

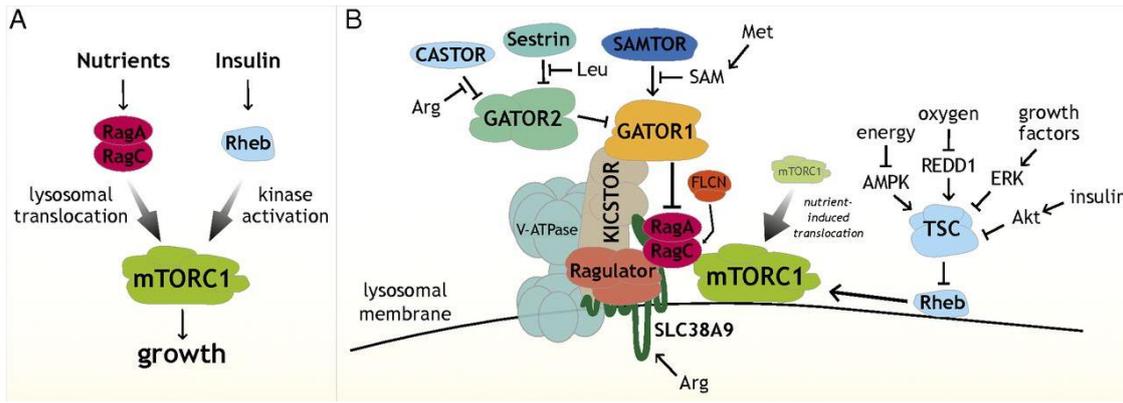


Figure 6. Activation et assemblage de mTORC1 sur la membrane du lysosome [70]

(A) La présence de nutriments, en particulier les AA, permettent aux Rag GTPases d'induire la translocation de mTORC1 au niveau de la membrane lysosomale. Puis, la protéine Reg stimule l'activité kinase de mTORC1 en réponse à l'insuline et aux nutriments. (B) Les Rag GTPases sont régulées par différents complexes protéiques, eux-mêmes régulés par les niveaux d'AA.

La traduction protéique est régulée par mTORC1 via son action sur ces deux cibles, *Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1* (4E-BP1) et *P70S6 kinase* (P70S6K), qui sont impliqués dans le contrôle de l'initiation de la traduction. mTORC1 premièrement active par phosphorylation la protéine kinase P70S6K, qui à son tour phosphoryle la *ribosomal protein S6* (S6). Cette protéine est un composant de la sous-unité ribosomale 40S et permet alors l'initiation de la traduction [72]. En parallèle, mTORC1 phosphoryle 4E-BP1, ce qui réduit son affinité pour le facteur eIF4E ce qui le libère et permet sa liaison avec le facteur d'initiation eIF4G permettant la formation d'un complexe d'initiation de la traduction avec la sous-unité ribosomale 40S [73,74].

En plus de son effet sur la protéosynthèse, mTORC1 contrôle la protéolyse en régulant le processus d'autophagie, permettant ainsi aux cellules de s'adapter à des carences en nutriments [75]. Pour cela, en présence d'AA et de facteurs de croissance, l'activation de mTORC1 phosphoryle et inhibe le complexe ULK1/Atg13/FIP200, qui est requis pour initier l'autophagie. Il apparaît également qu'il agit sur d'autres effecteurs tels que *Death Associated Protein 1* (DAP1) qui est un suppresseur de l'autophagie et *WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2* (WIPI2), régulateur de la formation d'autophagosome [68,76].

1.1.5.1.2.GCN2

GCN2 est une sérine/thréonine kinase impliquée dans le métabolisme énergétique et le contrôle de la synthèse protéique en contrôlant l'étape de traduction des ARNm [77]. Cette kinase, activée par phosphorylation, se compose de différents domaines (pseudokinase domain (N), protein kinase (PK), HisRS-like et C-terminal domain (CTD)) [78].

GCN2 est défini comme le senseur du déficit en AA. Lorsqu'il y a une déficience en AA, la cellule est capable de la détecter, et de déclencher des réponses adaptatives conduisant à l'inhibition de l'initiation

de la traduction via GCN2 5 (**Figure 7**) [79]. Lorsqu'un AA est en déficit, les ARNt libres augmentent au sein de la cellule. Grâce à son domaine HisRS-like (domaine homologue à l'histidyl-tRNA synthetase) et CTD, GCN2 se lie aux ARNt non chargés [77,79]. Cette liaison induit un changement de conformation allostérique au sein de GCN2, entraînant son auto-activation par phosphorylation. En retour, GCN2 phosphoryle le facteur *eukaryotic Initiation Factor 2 α* (eIF2 α) au niveau de la sous-unité α , responsable de l'initiation du complexe de traduction [77]. En effet, eIF2 α fournit aux ribosomes les méthionyl-tRNA en hydrolysant son GTP en GDP durant la première étape de la traduction. La phosphorylation d'eIF2 α par GCN2 au niveau de la sérine 51, empêche le recyclage du GDP en GTP par le facteur d'initiation de la traduction eIF2B. eIF2 α est dans ces conditions inactif et ne peut plus fournir les méthionyl-tRNA aux ribosomes [80].

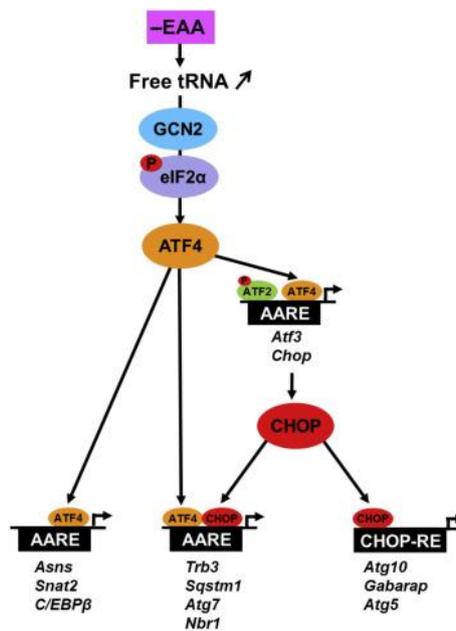


Figure 7. Activation de la voie de signalisation GCN2/ATF4 [86]

La déficience en AAI (EAA : *essential amino acid*) induit l'augmentation des ARNt libres qui permettent l'activation de GCN2. GCN2 phosphoryle en retour eIF2 α qui augmente la traduction du facteur de transcription ATF4. La déficience en AAI induit également la phosphorylation d'ATF2. ATF4 et ATF2 activent la transcription de gènes cibles, en se fixant sur la séquence AARE au niveau du promoteur des gènes. Le gène CHOP est transcrit et peut à son tour induire la transcription de certains gènes, impliqué dans les processus d'autophagie, en se liant à la séquence AARE avec ATF4, ou à la séquence CHOP-RE.

La phosphorylation d'eIF2 α entraîne d'une part l'inhibition de la synthèse protéique, d'autre part l'augmentation de la traduction du facteur de transcription ATF4. En parallèle, la déficience en un AA induit la phosphorylation d'ATF2 [41], indépendamment de la voie GCN2. ATF2 est phosphorylé par *c-Jun NH₂-terminal kinase 2 (JNK2)* via l'activation de la voie α 12 [81]. ATF4 et ATF2 permettent la transcription de gènes cibles possédant une séquence AARE au niveau de leur promoteur [82–84]. Ils induisent ainsi la transcription du gène CHOP, qui possède un rôle de facteur de transcription. CHOP et ATF4 activent l'expression de certains gènes tels que *Tribbles 3 (Trb3)*, ULK1, Atg7 qui sont impliqués dans les processus d'autophagie et plus particulièrement dans la formation de l'autophagosome [85]. Cette

cascade de signalisation permet de réguler le taux de synthèse protéique en réponse à un déficit en AA, mais également l'expression de gènes impliqués dans l'adaptation des cellules en réponse à une situation de stress, comme une carence en nutriments et particulièrement en AA.

Au-delà d'être un senseur de la déficience en AA, GCN2 est également sensible à leur augmentation. Chotechuan et al ont montré que des rats nourris avec à un régime à forte teneur en protéines (48% de protéines), présentaient une diminution de la phosphorylation de GCN2 dans le foie. Ces résultats indiquent que GCN2 est capable de détecter la déficience mais également l'augmentation d'AA au niveau du foie [63].

1.1.5.1.3.AMPK

La majorité des processus biologiques nécessite de l'énergie. Cette énergie est fournie grâce à l'hydrolyse de l'ATP qui permet ainsi la réalisation de diverses réactions biochimiques nécessaire à la survie cellulaire. La consommation d'ATP augmente la concentration en AMP au sein des cellules, et ce ratio AMP/ATP reflète le statut énergétique de la cellule. Le principal senseur de ce ratio énergétique est la protéine kinase AMPK. C'est un complexe protéique composé de trois sous-unités : la sous-unité catalytique α , et les deux sous-unités régulatrices β et γ . Chaque sous-unité existe sous différentes isoformes ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$) [86]. L'AMPK permet le maintien de l'homéostasie énergétique en condition de stress. Lors d'une diminution de la disponibilité en ATP, ou une augmentation du ratio AMP/ATP dans la cellule, l'AMPK est activée par phosphorylation. Pour cela, l'AMP se lie à la sous-unité γ , induisant un changement conformationnel de l'AMPK et permettant la phosphorylation de la sous-unité α au niveau de la thréonine 172 par des kinases [86–89]. La fixation de l'AMP sur l'AMPK permet d'inhiber la déphosphorylation par des phosphatases alors que la liaison à l'ATP inhibe l'activation de l'AMPK.

L'AMPK est également impliquée dans le contrôle de la synthèse protéique. Elle agit au niveau de l'étape d'initiation et d'élongation de la traduction. Au niveau de l'initiation de la traduction, l'AMPK inhibe la synthèse protéique via l'inhibition de mTOR (**Figure 8**). En effet, la protéine SESN2 stimule l'activité de l'AMPK qui phosphoryle la protéine Tuberous Sclerosis Complex 2 (TSC2), rendant le complexe TSC1/TSC2 inactif, ce qui permet la conversion de Rheb-GTP en Rheb-GDP, sa forme inactive. Une fois inactivé, Rheb ne peut plus phosphoryler mTORC1, qui est alors lui-même inactivé [90]. En parallèle, SESN2, via une action directe et via l'inhibition de GATOR2, maintient les Rag GTPases inactives. mTORC1 est ainsi maintenu inactif dans le cytoplasme [91]. Il semble également que l'AMPK inhibe mTOR en phosphorylant sa protéine associée, RAPTOR [65,92]. Outre l'arrêt de la synthèse protéique par l'inhibition de mTOR, l'AMPK a aussi pour cible la kinase eukaryotic Elongation Factor-2-kinase (eEF2k). L'AMPK active par phosphorylation cette kinase qui phosphoryle à son tour le facteur d'élongation eEF2, empêchant sa liaison au ribosome, ce qui bloque alors l'étape d'élongation de la traduction [93]. Cette étape d'élongation est très coûteuse en énergie. Elle nécessite environ 4 ATP pour

la formation d'une liaison peptidique [94]. Via l'inhibition de mTOR, l'AMPK stimule également l'autophagie [95–97].

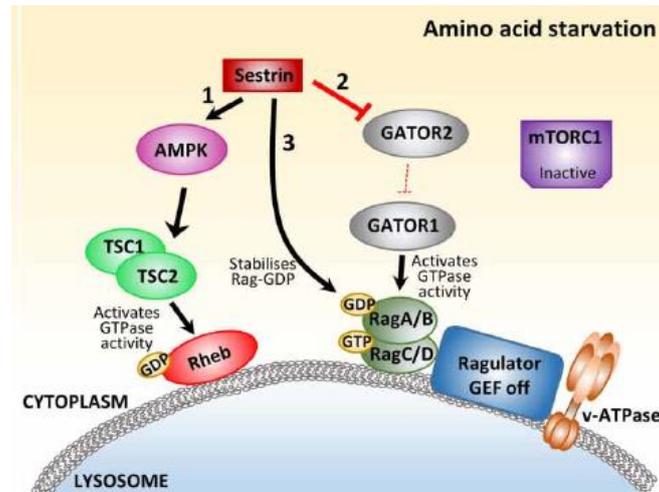


Figure 8. Régulation de mTORC1 via l'AMPK [92]

En cas de déficience en acides aminés, les protéines Sestrin induisent l'inhibition de mTORC1. (1) Sestrin active l'AMPK qui bloque le complexe TSC1/TSC2 et réduit l'activité de Rheb. (2) Sestrin inhibe GATOR2 ce qui rend inactives les Rag GTPases. (3) Sestrins stabilise les Rag-GDP pour les garder inactives. mTORC1 reste dans ce cas inactif dans le cytoplasme.

En résumé, la déficience en AAI induit l'activation des voies GCN2 et AMPK et l'inhibition de la voie mTOR (**Figure 9**). Ces voies vont d'une part permettre d'inhiber la synthèse protéique en contrôlant l'étape d'initiation et d'élongation de la traduction, et d'autre part activer les processus d'autophagie afin de fournir les AA nécessaire à l'organisme.

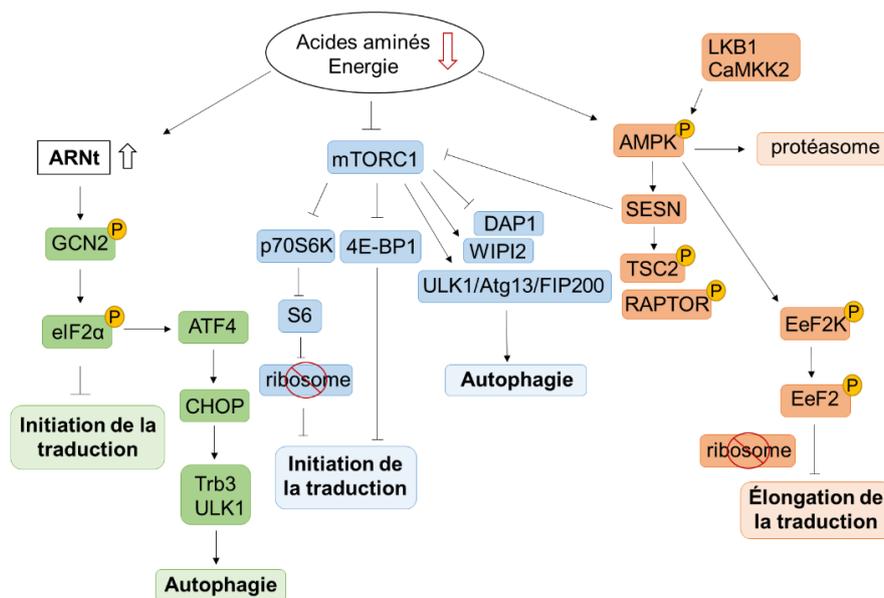


Figure 9. Les voies de signalisation impliquées dans la réponse à un déficit en acides aminés

La déficience en AAI induit l'activation des voies GCN2 et AMPK et l'inhibition de la voie mTOR ce qui induit une inhibition de la synthèse protéique et l'activation des processus d'autophagie.

1.1.5.2. Signalisation extracellulaire : FGF21

Savoir s'adapter à des changements nutritionnels par la régulation de l'homéostasie est primordial pour la survie d'une espèce. Cette adaptation est assurée par des modifications intracellulaires des orientations métaboliques et est coordonnée par des hormones elles-mêmes sous la régulation de la disponibilité en protéines et AA. Parmi les hormones qui répondent aux variations d'apport en protéines ou AA, il y a *Fibroblast Growth Factor 21* (FGF21).

Le Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) est une hormone peptidique appartenant à la famille des facteurs de croissance des fibroblastes [98]. Il est exprimé principalement dans le foie [99], mais également dans le pancréas, le muscle, le tube digestif, le tissu adipeux brun (TAB), le tissu adipeux blanc et l'hypothalamus [100] (**Figure 10**). C'est un facteur contrôlant l'homéostasie énergétique, avec une action endocrine, autocrine et paracrine au niveau de différents organes cibles [101].

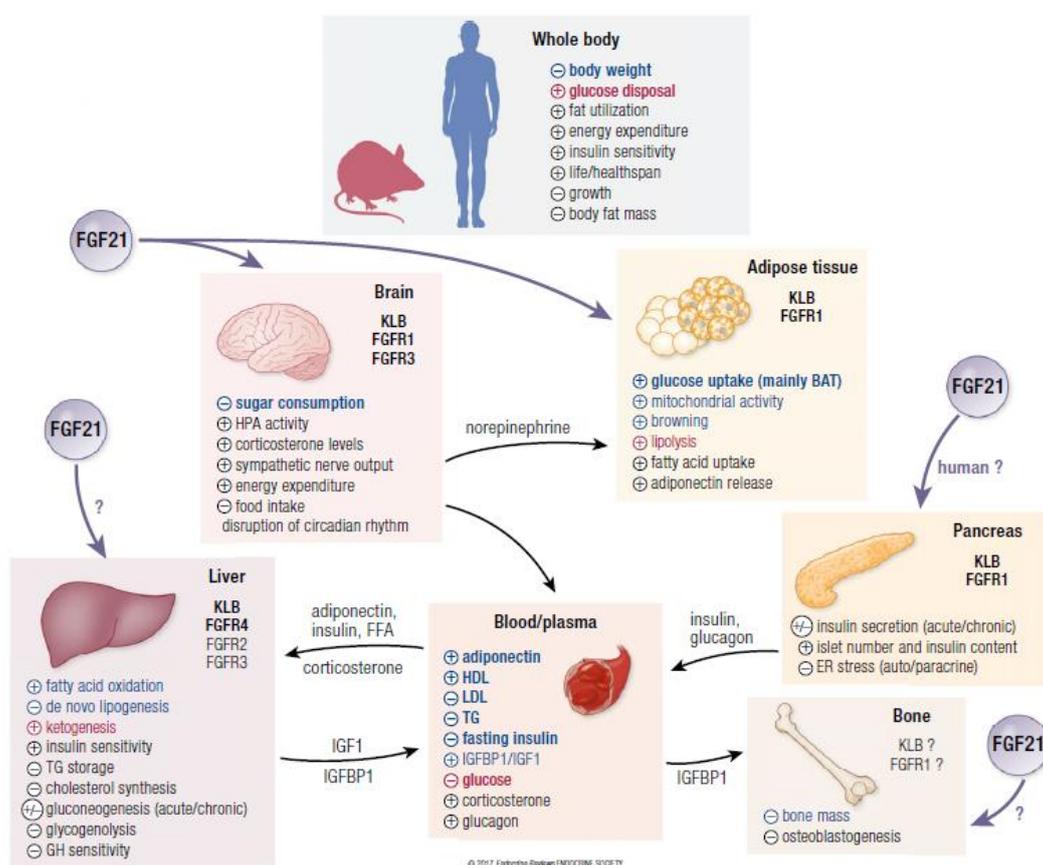


Figure 10. Effets métaboliques de FGF21 chez la souris et l'homme [100]

Chez la souris et l'homme, FGF21 est impliqué dans divers processus physiologiques comme le montre cette illustration. FGF21 a un impact sur différents organes tels que le cerveau, le tissu adipeux, le foie, le pancréas ou l'os. Il contrôle le métabolisme lipidique, glucidique, énergétique, la croissance, le poids, la prise alimentaire, ou encore la sécrétion d'hormones. (+) indique un effet stimulant de FGF21, et (-) un effet inhibiteur. Les effets similaires chez l'homme et la souris sont notés en bleu, les effets différents en rouge, et en noir lorsque les données chez l'homme sont absentes de la littérature.