



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la
Terre et de l'Univers



Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté par
Mahcer Nour El Houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

***Inactivation pharmacologique de la connexine 43 par
les dérivés opioïdes (Naldemedine) au cours du stress
ischémique***

Soutenu le 18/07/20, devant le jury composé de :

Présidente	TABET HELAL Sana	Maître de conférences B	Université TLEMCEN
Encadrant	BERRAHOUI Samira	Maître assistante A	Université TLEMCEN
Examinatrice	Dali youcef M	Maître de Conférences A	Université TLEMCEN

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Avant tout je remercie "**Allah**" le tout puissant qui m'a aidé et m'a donnée la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon encadrante, **Mme BERRAHOUI Samira**, pour son soutien, sa grande disponibilité, ses encouragements, ses précieux conseils.

Je tiens également à remercier, **Madame Dali Madjda** et **Madame Sana Tabet Helal**, d'avoir accepté d'examiner ce travail, leurs remarques et critiques me seront précieuses et enrichissantes.

Je tiens à exprimer également toute ma reconnaissance à **Mr CHERRAK Sabri** pour m'avoir guidé durant la réalisation du travail avec une disponibilité permanente et de m'avoir fait bénéficier de ses connaissances dans le domaine de docking moléculaire.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous mes enseignants du département de biologie à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents les plus proches de mon cœur, pour leur sacrifice et leurs encouragements tout au long de mes études

À la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, et qui font toujours pour éclairer mon chemin, à mon cher père Benamar, je dédie ce travail et lui souhaite une longue et bonne vie

À la fleur qui adoucit et parfume mes journées, qui soutiennent les nuits jusqu'au sommeil, à ma chère maman Karima, je dédie ce travail et lui souhaite une longue et heureuse vie

À mes chères sœurs Sabrina et Rania mes meilleures, pour leur amour, leur soutien moral pendant mes 5 années d'études

À mon cher frère Amine

À mes petits d'amour Adem et Serine

À toute ma famille

À mes chères amies : Dounia, Naima, Souheyla et à tous mes aimables amis

À toute personne qui a participé de loin ou de près dans la réalisation de ce travail

Résumé

La connexine 43 (Cx43) est l'unité de base dans la formation des hémicanaux (Hc) et des gap junctions (GJ) des cellules myocardiques. Ces derniers, fournissent un accès entre l'intérieur des cellules et le milieu extracellulaire. Suite à un stress ischémique, une accumulation de métabolites dans le compartiment extracellulaire est observée, en combinaison avec un apport réduit en oxygène et acidose extracellulaire. Des données indiquent que la présence de Cx43 mitochondriale est de la plus haute importance pour que les voies cardioprotectrices soient fonctionnelles.

Le but de notre étude, est d'étudier l'interaction de la Naldemedine avec Cx43 afin de repositionner cette molécule approuvée par la FDA, dans le cadre de la thérapie de l'ischémie. Les résultats obtenus nous permettent de proposer cette molécule comme cible potentielle de Cx43, puisque le docking moléculaire a révélé une affinité de liaison élevée entre ce ligand et Cx43. Des analyses de simulation moléculaire plus poussées, et une étude *in vivo* sont cependant nécessaires pour confirmer l'interaction et l'effet inhibiteur potentiel

Mots clés : Connexine, Cx43, Ischémie, Naldemedine, Docking moléculaire.

المخلص

(Cx43) Connexin 43 هي الوحدة الأساسية في تكوين القنوات النصفية (Hc) وتقاطعات الفجوة (GJ) في خلايا عضلة القلب. توفر هذه الوصول بين داخل الخلايا والبيئة خارج الخلية. بعد الإجهاد الإقفاري، لوحظ تراكم المستقبلات في الحيز خارج الخلية، بالاقتران مع انخفاض إمداد الأوكسجين والحمض خارج الخلية. تشير البيانات إلى أن وجود الميتوكوندريا Cx43 له أهمية قصوى في أن تكون مسارات حماية القلب وظيفية.

الهدف من دراستنا هو دراسة تفاعل Naldemedine مع Cx43 من أجل تغيير موضع هذا الجزيء المعتمد من قبل FDA، كجزء من علاج نقص التروية.

تسمح لنا النتائج التي تم الحصول عليها باقتراح هذا الجزيء كهدف محتمل لـ Cx43، حيث كشف الالتحام الجزيئي عن تقارب ارتباط كبير بين هذا ligand وCx43. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من تحليلات المحاكاة الجزيئية ودراسة في الجسم الحي لتأكيد التفاعل والتأثير المثبط المحتمل

الكلمات الرئيسية: Connexine، Cx43، Ischemia، Naldemedine، الالتحام الجزيئي.

Abstract

Connexin 43 (Cx43) is the basic unit in the formation of hemichannels (Hc) and gap junctions (GJ) in myocardial cells. These provide access between the interior of cells and the extracellular environment. Following ischemic stress, an accumulation of metabolites in the extracellular compartment is observed, in combination with reduced oxygen supply and extracellular acidosis. Data indicate that the presence of mitochondrial Cx43 is of the utmost importance for the cardioprotective pathways to be functional.

The aim of our study is to study the interaction of Naldemedine with Cx43 in order to reposition this molecule approved by the FDA, as part of the therapy of ischemia.

The results obtained allow us to propose this molecule as a potential target of Cx43, since molecular docking revealed a high binding affinity between this ligand and Cx43. Further molecular simulation analyzes, however, and an *in vivo* study are needed to confirm the interaction and potential inhibitory effect

Keywords: Connexine, Cx43, Ischemia, Naldemedine, Molecular docking.

Table des matières

Remerciements	1
Dédicace	2
Résumé	3
Introduction	11
Synthèse Bibliographique	14
Chapitre I : Connexine 43	15
1. Connexines et Gap jonctions	16
2. Structure des connexines.....	18
3. Cycle de vie des connexines et formation des gap jonctions	19
4. Connexines du cœur.....	21
5. Localisation de la Cx43 au sein du cardiomyocyte	21
5.1. A la membrane plasmique	21
5.2. Dans la mitochondrie.....	22
6. Régulation de Cx43.....	23
6.1. Phosphorylation de Cx43.....	23
6.2. Autres modifications post-traductionnelles de la Cx43.....	24
7. Cx43 et pathologies.....	24
7.1. Cx43 et maladies héréditaires	24
7.2. Cx43 et maladies cardiovasculaires.....	26
Chapitre II : Ischémie et Connexine 43	27
1. Cœur et Cardiomyocytes.....	28
2. Pathologies cardiovasculaires	29
3. Ischémie myocardique	30
4. Rôle de Cx 43 dans l'ischémie.....	32
5. Rôle de Cx43 dans la thérapie de l'ischémie	34
Chapitre III : Naldemedine et Repositionnement des médicaments.....	35
1. Les récepteurs opioïdes et leurs antagonistes	36
2. Naldemedine	37
3. Docking moléculaire et Repositionnement des médicaments	39
Matériels et Méthodes	41
1. Screening virtuel	42
2. Docking moléculaire	42
2.1. Récepteur.....	42
2.2. Ligand.....	43
2.3. Processus de docking	45

Résultats et Discussion	51
1. Résultats du criblage moléculaire	52
2. Résultats du docking moléculaire	52
Conclusion	56
Liste des Références	39

Liste des abréviations

CaMKII: Ca²⁺/ Calmoduline kinase II.
CK1: Caséine Kinase 1.
CL : Cytoplasmie Loop
CT: C-Terminal
Cx : Connexines
DOR: Delta Opioid Receptor
EL : Extracellular Loop
GJ : Gap Junction
HC : HémiCanaux
IFM : Mitochondries InterFibrillaires
IR: Ischémie Reperfusion
KDa: KiloDalton
KOR: Kappa Opioid Receptor
MAPK : mitogen activated proteins kinase
MMP : MétalloProtéinases Matricielles
MOR: Mu Opioid Receptor
mtCx43: Cx43 mitochondriale
NOP: Nociceptin Opioid Receptor
NT: N-Terminal
ODDD: Dysplasie OculoDentoDigitale
ORL-1: Opioid Receptor Like one
PAMORA: Peripherally Acting μ -Opioid Receptor Antagonists
PI: Préconditionnement Ischémique
PKA : Protéine Kinase A
PKB: Protéine kinase B.
PKC: Protéine Kinase C
ROS: Reactive Oxygen Species
SSM : Mitochondries SubSarcolemmale
TM : Transmembranaire
ZO-1: Zonula Occludens 1

Liste des figures

Figure 1. Modèle d'un canal de gap jonction Cx43	16
Figure 2. Un aperçu de l'expression de Cx43 dans différents tissus et types de cellules	18
Figure 3. Structure Topologique des connexines	19
Figure 4. Compositions possibles des gap jonction	20
Figure 5. Modèle périnexus.....	22
Figure 6. Anatomie cardiaque	28
Figure 7. Représentation schématique du cardiomyocyte.....	29
Figure 8. La cascade ischémique.....	31
Figure 9. Cx43 dans les mitochondries	33
Figure 10. Le pavot	36
Figure 11. Structure chimique de la Naldemedine	38
Figure 12. Structure 3D de la connexine 43	43
Figure 13. Représentation schématique de la connexine humaine et du peptide K26D avec la tubuline/microtubules.....	43
Figure 14. Structure chimique de la Naldemedine	44
Figure 15. Structure 3D de la Naldemedine	44
Figure 16. Les scores donnés par UCSF Chimera.....	53
Figure 17. Complexe Connexine43-Naldemedine	54
Figure 18. Diagramme 2D de la Naldemedine.....	55

Liste des tableaux

Tableau 1. Quelques protéines connexines et leurs gènes chez l'homme.....	17
Tableau 2. Quelques sites de phosphorylation Cx43	24
Tableau 3. Mutations de la Cx43 associées aux dermatoses syndromiques et non syndromiques	25
Tableau 4. Les meilleurs scores ΔG révélés par le screening moléculaire	52

Introduction

La connexine 43 (Cx43) est l'unité protéique de base dans la formation des canaux des gap junction (GJ) dans le myocarde (**Schulz et al., 2015**). Les GJ constituent la base de la communication intercellulaire dans le système cardiovasculaire pour le maintien du rythme cardiaque normal. Dans les cardiomyocytes, l'isoforme la plus abondante est la Cx43. Des altérations de son expression et de sa distribution ont été observées dans la maladie du myocarde; c'est-à-dire dans la cardiomyopathie hypertrophique, l'insuffisance cardiaque et l'ischémie (**Michela et al., 2015**). En effet, les connexines sont impliquées dans la mort et la survie des cardiomyocytes. Ainsi, le couplage chimique par les GJ joue un rôle clé dans la propagation des lésions entre les cellules connectées. De plus, les canaux formés par Cx43 sont impliqués dans les lésions d'ischémie/reperfusion et la protection du préconditionnement ischémique (PI) *in vitro* (**Chen et al., 2016**). En outre, les connexines situées au niveau des structures cellulaires non canonique, notamment les mitochondries et le noyau, ont démontré leur implication dans la cardioprotection (**Rodriguez-Sinovas at al., 2021**).

En effet, la protection du preconditionnement ischémique (PI), qui est une des manœuvres cardioprotectrices pour réduire la taille expérimentale de l'infarctus du myocarde (**Kloner et al., 2006**), dépend des canaux fonctionnels formés par la Cx43, puisque le découplage des canaux ou le déficit génétique en Cx43 abolit la réduction de la taille de l'infarctus par le PI (**Schulz et Heusch, 2004**). De plus, un rôle clé dans le preconditionnement semble être joué par la Cx43 mitochondriale. En effet, l'hémicanal mitochondrial Cx43 peut influencer la survie cellulaire en modulant l'intégrité mitochondriale (**Michela et al., 2015**).

Il semble donc évident que la Cx43 constitue une cible thérapeutique idéale dans la prise en charge de l'ischémie. Nous nous sommes intéressés dans notre travail aux molécules médicamenteuses susceptibles d'interagir avec la Cx43, pour un repositionnement dans le cadre de la thérapie de l'ischémie.

Le repositionnement, processus d'identification de nouvelles utilisations thérapeutiques pour les médicaments anciens/existants/disponibles, est une stratégie efficace pour découvrir ou développer des molécules médicamenteuses avec de nouvelles indications pharmacologiques/thérapeutiques (**Rudrapal et al., 2020**). Le repositionnement des médicaments se développe dans le domaine des maladies rares et négligées. C'est une nouvelle façon d'aborder les composés médicamenteux et les cibles qui ont été « dérisqués » au cours des étapes de développement, ce qui accélère le processus et permet ainsi d'économiser de l'argent, car le médicament pourrait être produit avec moins d'efforts et commercialisé avec une marge bénéficiaire énorme (**Naveja et al., 2016**).

Suite à un screening moléculaire, nous avons sélectionné une molécule approuvée par la FDA et indiquée dans le traitement de la constipation induite par les opioïdes (CIO). Il s'agit de la Naldemedine, la troisième PAMORA à obtenir l'approbation de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis pour le traitement de l'CIO chez les adultes atteints de syndromes douloureux chroniques non cancéreux (**Stern et Brenner, 2017**).

Nous avons tenté par une approche *in silico*, en utilisant les logiciels de docking moléculaire, de prédire l'utilisation potentielle de la Naldemedine comme inactivateur de la Cx43 dans l'ischémie.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I

Connexine 43

1. Connexines et Gap junctions

Le transfert de cellule à cellule de petites molécules est un moyen fondamental par lequel les organismes multicellulaires coordonnent une fonction (**Satins et Civitelli, 2016**).

Les jonctions communicantes, aussi appelées « gap junctions », sont des canaux intercellulaires mettant en relation le cytoplasme de deux cellules voisines. On retrouve des jonctions communicantes dans tous les organismes multicellulaires (**Haefliger et al., 2005**).

Les gap junctions (GJ) permettent l'échange de métabolites et de signaux électriques entre les cellules, assurant ainsi la communication intercellulaire (**Nielsen et al., 2012**).

Selon **Beyer et Berthoud (2017)**, chez les vertébrés, les jonctions lacunaires ou gap junction sont formées par des membres d'une famille de protéines qui sont appelées connexines (Cx).

Les connexines forment une structure hexamérique appelée connexon. Deux connexons amarrés tête à tête, également appelés hémicanaux (HC), forment le canal de GJ (**Bai et al., 2017**) (**figure 1**).

Les connexines ont été regroupées en cinq familles en fonction de leur séquence (domaines conservés), de la longueur de la boucle cytoplasmique et de la structure du gène. Par exemple, Cx37, Cx40 et Cx43 appartiennent au groupe α , Cx32 est une β connexine et Cx45 et une γ connexine (**Leybaert et al., 2017**).

La connexine 32 (Cx32), a été la première connexine clonée à partir du foie de rat en 1986. Depuis, plusieurs autres Cx ont été identifiées, y compris les connexines 43, 26, 31.1, 33, 37, 40, 46, 45 et 50 (**Bai et al., 2017**).

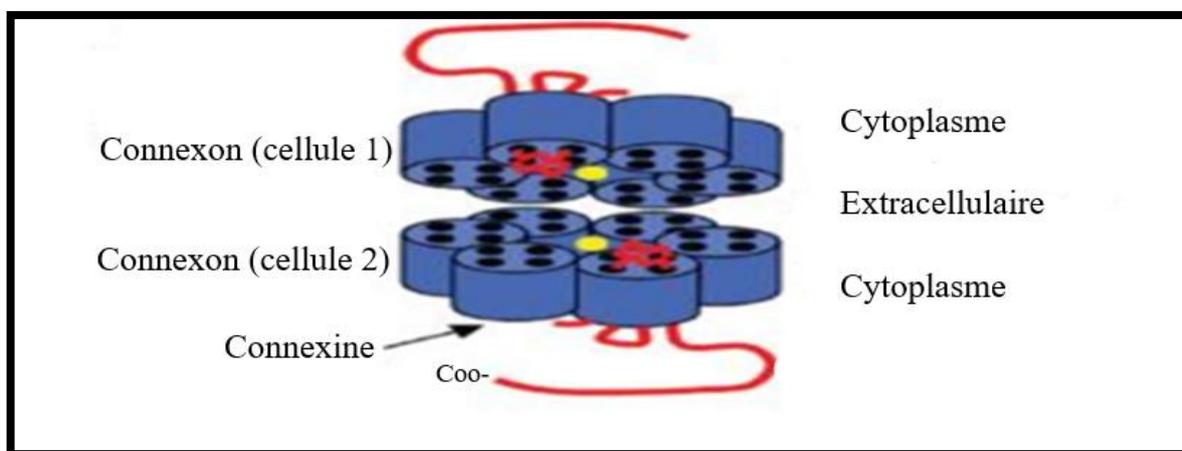


Figure 1. Modèle d'un canal de gap junction Cx43 (**Nielsen et al., 2012**)

L'emplacement des pores du canal est indiqué par le cercle jaune.

Dans le génome humain, il existe 21 gènes de Cx différents avec des variations de la longueur et de la séquence du polypeptide codé (**Bai et al., 2017**) (**tableau 1**). Les gènes sont abrégés par « GJ » (pour gap jonction) et numérotées selon l'ordre de découverte ; par exemple, Cx43 était la première Cx du groupe α (GJ α 1) et Cx32 était la première Cx du groupe β (GJ β 1) (**Nielsen et al., 2012**). Quant à la nomenclature des protéines, la plus courante utilise une abréviation commençant par « Cx » pour connexine, suivie d'un nombre correspondant à la masse moléculaire du polypeptide en kilo Dalton (kDa) ; par exemple la connexine 43 fait 43 kDa, elle est donc désignée Cx43 (**Beyer et Berthoud, 2017**).

La plupart des organes expriment les Cx, et différentes Cx ont un modèle d'expression spécifique aux tissus/cellules. Cx43 est isoforme Cx le plus abondant et le plus répandu chez les mammifères et il est exprimé dans un large éventail d'organes et de tissus (**figure 2**) (**Delvaeye et al., 2018**) à l'exception des érythrocytes, des plaquettes, des cellules musculaires striées squelettiques et des spermatozoïdes (**Segretain et al., 2011**).

Tableau 1. Quelques protéines connexines et leurs gènes chez l'homme (**Beyer et Berthoud, 2017**)

Symbole du gène	Nom de la protéine	Synonymes
GJ β 1	Cx32	CMTX1, CMTX
GJ α 4	Cx37	
GJ α 5	Cx40	
GJ α 1	Cx43	ODDD, ODOD, SDTY3
GJ γ 1	Cx45	

Les synonymes indiquent la désignation des Cx en se basant sur les abréviations des maladies causées par leurs mutations, exemple : ODDD (Dysplasie OculoDentoDigitale).

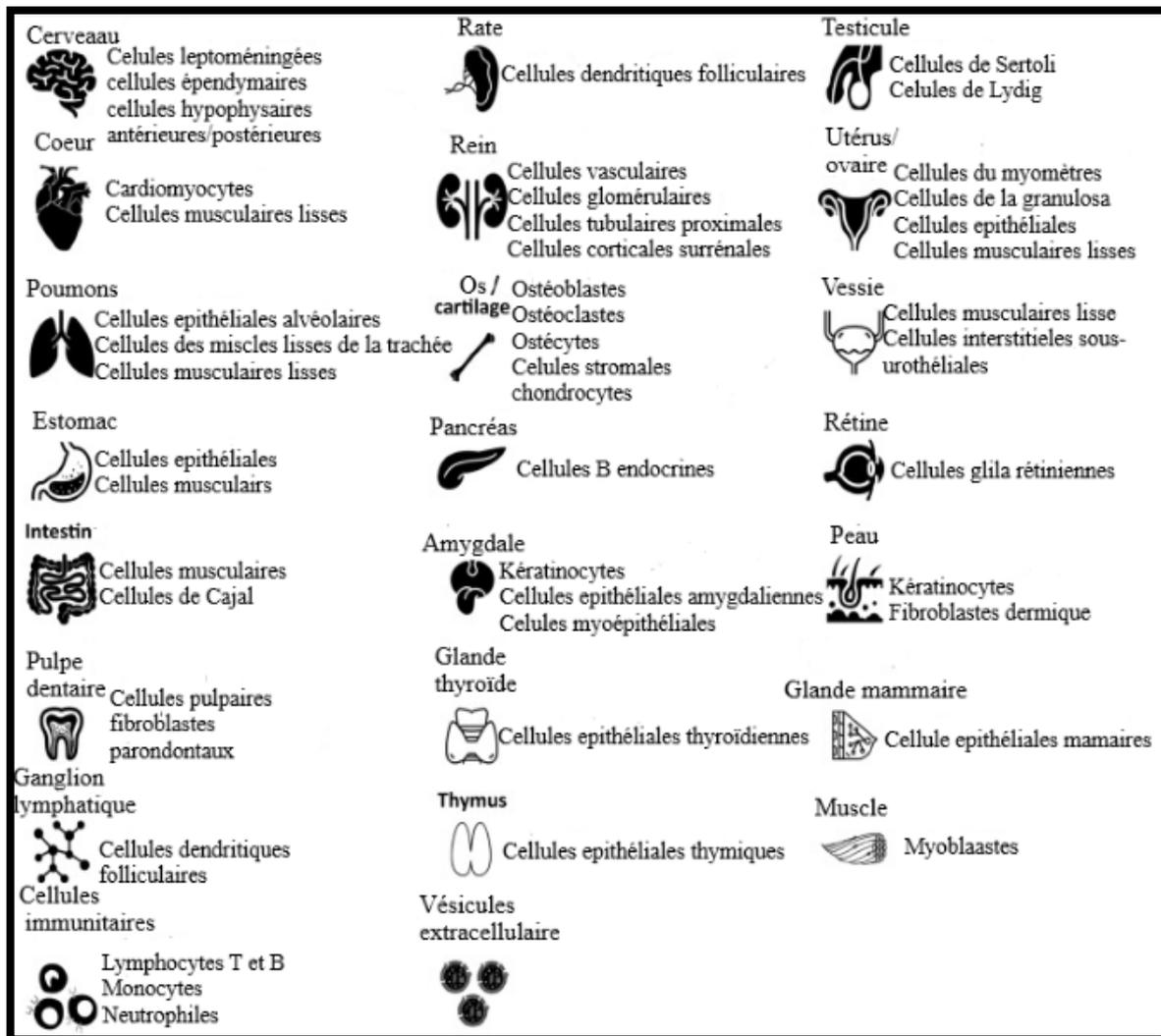


Figure 2. Un aperçu de l'expression de Cx43 dans différents tissus et types de cellules (Delvaeye *et al.*, 2018)

2. Structure des connexines

La structure des diverses connexines est connue dans une certaine mesure (Nielsen *et al.*, 2012). Les connexines sont composées de plusieurs domaines formant une structure en boucle : quatre domaines transmembranaires (TM), deux boucles extracellulaires (Extracellular Loop EL1, EL2) et trois boucles cytoplasmiques (Cytoplasmic Loop CL) (Mazereeuw-Hautier, 2008) ainsi que deux extrémités cytoplasmiques, NH₂ (NT) et COOH (CT) (Talbot et Verrecchia, 2012) (figure 3).

Leithe et ses collaborateurs (2018), prédisent une longueur d'environ 150 acides aminés (résidus 232-382) pour le CT bien que d'autres prédictions indiquent que le site de départ est entre les résidus 227 et 234. Cela représente 39% de la protéine Cx43 entière. Il est riche en arginine (9 résidus), asparagine (11), acide aspartique (10), proline (13 ; absent des autres domaines intracellulaires) et, en particulier, sérine (22 ; absents de la boucle intracellulaire et avec seulement 2 résidus dans l'extrémité NT cytosolique). La riche composition de l'extrémité CT en prolines et sérines a des conséquences physiologiques importantes et fait de cette partie de la Cx43, une cible potentielle pour les interactions protéiques et kinases (**Leithe et al., 2018**).

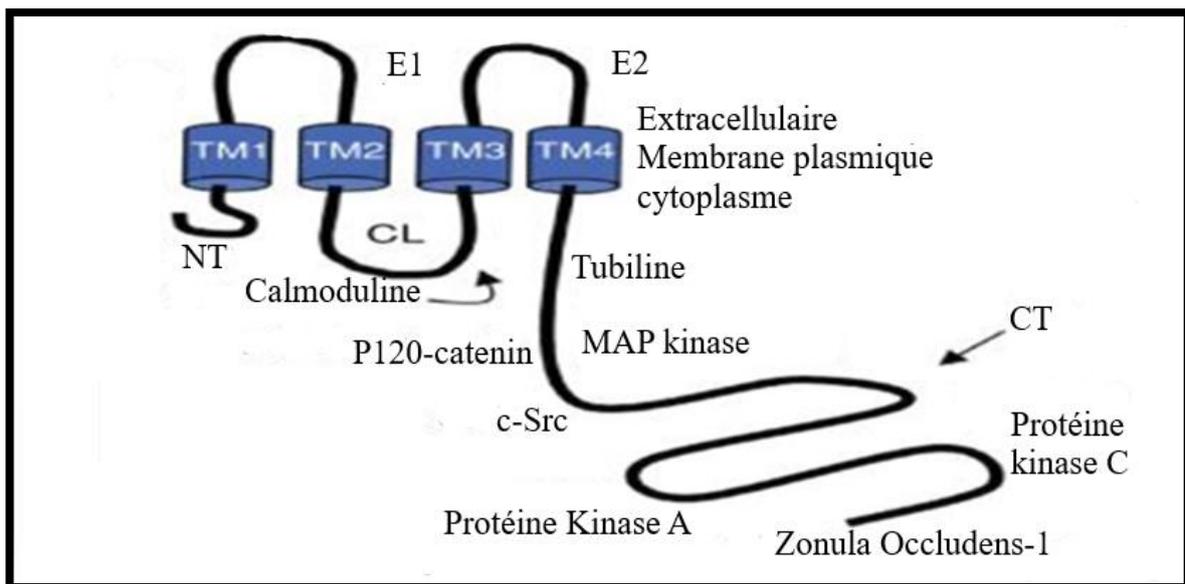


Figure 3. Structure Topologique des connexines (**Nielsen et al., 2012**)

3. Cycle de vie des connexines et formation des gap junctions

Les connexines formant des jonctions communicantes, présentent un cycle de vie complexe qui est régulé à différents niveaux. Premièrement, les régions promotrices et la liaison des facteurs de transcription à celles-ci contrôlent la transcription des gènes de la connexine. La traduction de l'ARNm Cx semble être activée par des éléments internes du site d'entrée du ribosome permettant la traduction même dans des conditions de stress. La protéine Cx nouvellement synthétisée (monomère) est transférée à l'appareil de Golgi, oligomérisée, transférée à la membrane plasmique et incorporée dans des plaques de gap jonction. Deux voies principales de dégradation de Cx pourraient être définies : la dégradation lysosomale et la dégradation protéasomale, incluant la phosphorylation et l'ubiquitination ainsi que l'internalisation de

canaux de jonctions communicantes complets en tant que jonctions communicantes annulaires vouées à la dégradation (Salameh, 2006).

Les travaux de Talbot et Verrecchia (2012), montrent qu'il y a deux types de connexons : des connexons homomériques, constitués d'un seul type de connexines, et des connexons hétéromériques, composés de connexines de plusieurs types. Ces différentes structures des connexons donnent lieu à des gap jonctions homotypiques (association de deux connexons identiques) et hétérotypiques (deux connexons différents). Il est important de noter que les différentes configurations des connexons formant une jonction gap confèrent une sélection vis-à-vis des molécules susceptibles d'y diffuser (Talbot et Verrecchia, 2012) (figure 4).

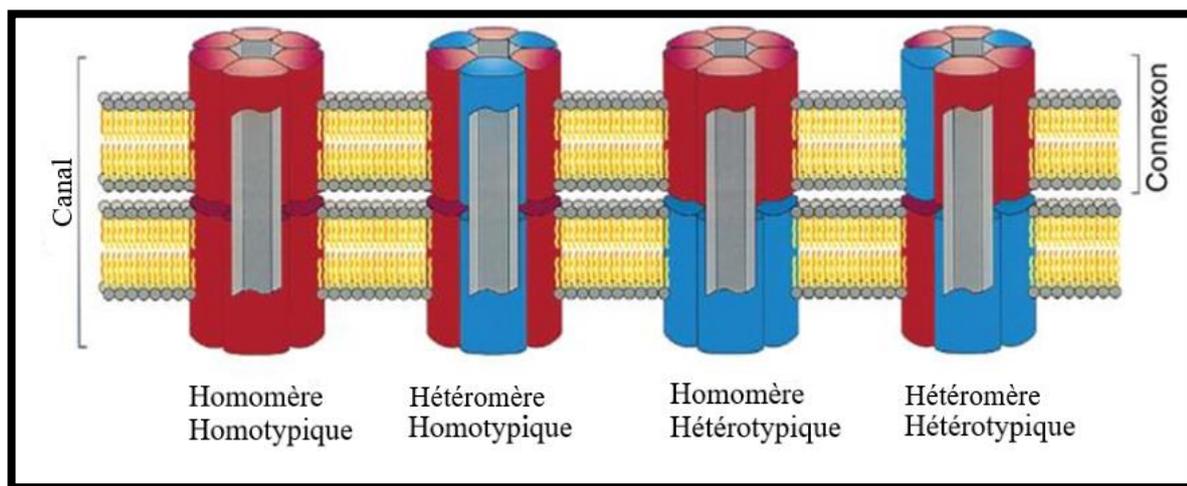


Figure 4. Compositions possibles des gap jonction (Nielsen et al., 2012).

Les canaux gap jonctions s'organisent en plaques, dont la taille peut être visible en microscopie et atteindre plusieurs micromètres de long, et qui contiennent des centaines ou des milliers de canaux GJ. L'inclusion de GJ nouvellement assemblés dans une plaque est un événement organisé, qui implique des interactions avec la protéine zonula occludens ZO-1, qui relie Cx à la F-actine. Les hémicanaux sont liés aux protéines ZO-1 à la périphérie d'une plaque de GJ dans une zone appelé « périnexus ». La dynamique de la formation des plaques n'est pas complètement comprise, elle implique l'accrétion du GJ nouvellement formé au bord extérieur de la plaque, alors que les anciens GJ sont retirés du centre ; probablement par endocytose par des vésicules circulaires à double membrane appelées « jonctions annulaires » ou « connexosomes » (Leybaert et al., 2017).

4. Connexines du cœur

Sur les 21 gènes de connexine codés dans le génome humain, trois isoformes principaux sont exprimés dans le cœur adulte : Cx40, Cx43 et Cx45 (**Martins-Marques et al., 2021**). Cependant, la Cx43 est la principale connexine exprimée dans les ventricules, mais elle est également présente dans les cellules auriculaires et endothéliales (**Hood et al., 2017**). Elle est principalement localisée au niveau des disques intercalés, où les gap junctions assurent la propagation rapide des impulsions anisotropes sous-jacentes aux battements cardiaques synchronisés (**Martins-Marques et al., 2021**). Cx40 et Cx45 sont également exprimées dans le tissu cardiaque, mais se trouvent principalement dans les oreillettes et le système de conduction auriculo-ventriculaire, et sont globalement moins abondantes. Il a été démontré que les quantités relatives, la composition et la distribution de ces connexines influencent les propriétés de conduction des cellules (**Hood et al., 2017**).

Les réarrangements structurels et les interactions intramoléculaires sont importants pour la régulation de la fonction des canaux (**Nielsen et al., 2012**). Les Cx cardiaques, interagissent via leur domaine C-terminal avec de nombreuses protéines, incluant :

- Des protéines membranaires constitutives (ZO-1, occludine, claudines, β -caténine et N-cadhérine),
- Des protéines du cytosquelette cortical (actine α , tubulines α et β , cortactine, drebrine),
- Des protéines impliquées dans le trafic intracellulaire (cavéoline 1, ubiquitine),
- Des enzymes (pp60^{c-src}, protéine-kinases C, protéine-phosphatases) (**Hervé et al., 2008**).

5. Localisation de la Cx43 au sein du cardiomyocyte

5.1. A la membrane plasmique

Sur la membrane plasmique des cardiomyocytes, les canaux GJ sont composés de Cx43 et ZO-1, non seulement au niveau de la plaque de GJ, mais aussi dans la zone autour du GJ. Ce domaine a été appelé le périnexus pour son emplacement à côté de (péri-) la jonction (-nexus) (**figure 5**). Par conséquent, la localisation de l'interaction Cx43/ZO-1 dans cette région indique la présence de Cx43. Il existe une autre interaction entre le périnexus Cx43 et le canal sodium Na_v1.5 (**Rhett et al., 2012**).

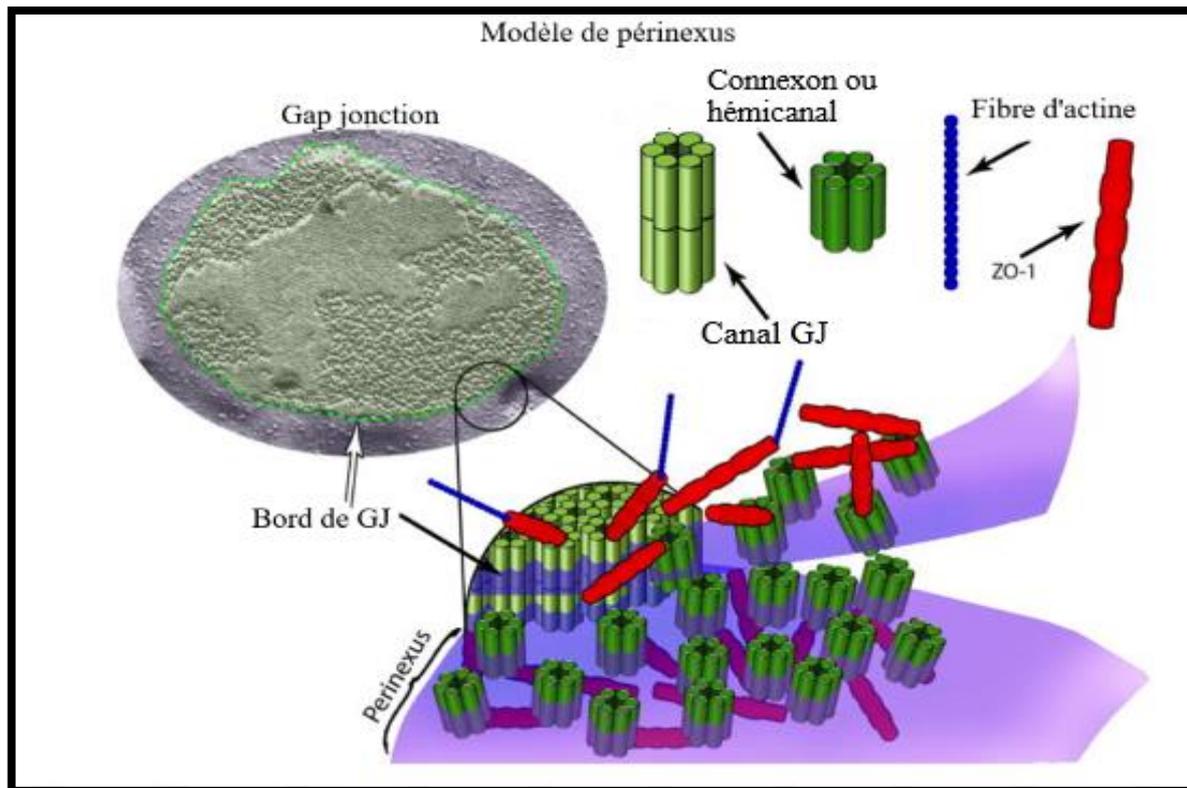


Figure 5. Modèle périnexus (Rhett et al., 2012)

5.2. Dans la mitochondrie

Les cardiomyocytes contiennent au moins deux sous-populations mitochondriales fonctionnellement différentes : les mitochondries subsarcolemmales (SSM), qui sont situées directement sous le sarcolemme et les mitochondries interfibrillaires (IFM), qui sont présentes entre les myofibrilles. Les IFM ont une capacité respiratoire plus élevée et une rétention de calcium (Ca^{2+}) plus prononcée (Boengler et Schulz, 2017).

Cx43 a été identifiée dans les mitochondries des cardiomyocytes (Schulz et al., 2015). Elle est presque exclusivement localisée dans les mitochondries subsarcolemmales. Elle est codée par le génome nucléaire et importé dans les mitochondries dans une protéine de choc thermique 90. Cx43 est située au niveau de la membrane des SSM, avec son extrémité carboxyle orientée vers l'espace inter-membranaire, mais peut également être présente au niveau de la membrane externe régulant la libération de certaines protéines de l'espace inter-membranaire (Leybaert et al. 2017).

Selon Boengler et Schulz (2017), dans les mitochondries, Cx43 interagit avec le facteur induisant l'apoptose : la sous-unité bêta de la protéine de transfert d'électrons et la sous-unité de canal potassique sensible à l'ATP Kir6.1. La quantité de Cx43 mitochondrial (mtCx43) diminue dans les cardiomyocytes après activation du récepteur N-méthyl-D-aspartate 1 via une

translocation mitochondriale améliorée de la matrice métalloprotéinase-9 (Boengler et Schulz, 2017).

Les mtCx43 sont impliqués dans la perte de division du cardiomyocyte après la naissance. La cascade de signalisation implique la formation d'espèces réactives de l'oxygène et l'activation de p38 MAPK. Le renversement de la Cx43 mitochondriale ou l'inhibition de p38 MAPK rétablit la prolifération des cardiomyocytes néonataux (schulz et al., 2015).

6. Régulation de Cx43

Les modifications post-traductionnelles de Cx43 jouent un rôle clé dans la régulation de l'ouverture des canaux de gap jonction et les interactions entre Cx43 et d'autres protéines. Différents types de modifications du CT ont été identifiés, la phosphorylation est la plus connue (Leithe et al., 2018).

6.1. Phosphorylation de Cx43

La protéine Cx43 immature est initialement traduite comme une chaîne protéique de 40 kDa, qui est phosphorylée peu après la synthèse. L'état de phosphorylation de la protéine change alors à mesure qu'elle circule à travers le réticulum endoplasmatique et le Golgi vers la membrane plasmique, formant finalement un canal de gap jonction. Il existe 21 sites de phosphorylation putatifs identifiés dans le domaine CT de Cx43 (tableau 2) (Nielsen et al., 2012).

Principalement, les résidus sérine dans la queue cytoplasmique de Cx43 semblent être phosphorylés, bien que la phosphorylation de la tyrosine au niveau des résidus 247 et 265 ait été signalée. La phosphorylation de Cx43 régule par exemple l'assemblage des hexamères formés de Cx43, le trafic et le renouvellement de la protéine et en conséquence le couplage électrique et métabolique cellule-cellule. Cx43 est la cible de plusieurs kinases, comme la protéine kinase A (PKA), protéine kinase B (PKB ou AKT), protéine kinase C (PKC), caséine kinase 1 (CK1), Ca²⁺ / calmoduline kinase II (CaMKII), protéine activée par un mitogène kinase (MAPK) (tableau 2). La phosphorylation de Cx43 par différentes kinases a des conséquences sur le couplage intercellulaire. En effet, la phosphorylation de Cx43 via MAPK ou PKC inhibe le couplage, alors que la phosphorylation de Cx43 via CK1 ou AKT améliore la communication entre les cellules, par exemple via la régulation de l'assemblage du gap jonction (Boengler et Schulz, 2017).

Tableau 2. Quelques sites de phosphorylation Cx43 (Nielsen et al., 2012)

Résidus	Kinases
S279	MAPK
S282	MAPK
S365	PKC/PKA/CaMKII
S368	PKC
S369	PKC/CaMKII

6.2. Autres modifications post-traductionnelles de la Cx43

La régulation de Cx43 implique d'autres types de modifications post-traductionnelles dont :

- L'ubiquitination : l'ubiquitination de Cx43 peut moduler l'endocytose de la jonction lacunaire en recrutant la protéine de liaison à l'ubiquitine Eps15,
- La S-nitrosylation : Cx43 est constitutivement S-nitrosylé au niveau des jonctions lacunaires formées entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires,
- La SUMOylation : son rôle précis dans la régulation de la Cx43 reste incertain. Mais cette modification pourrait être impliquée dans la stabilisation des jonctions lacunaires au niveau de la membrane plasmique,
- L'acétylation (Leithe et al., 2018).

7. Cx43 et pathologies

7.1. Cx43 et maladies héréditaires

Des mutations dans différentes connexines sont impliquées dans plusieurs troubles génétiques humains. Dans certains cas, il a été supposé qu'une fonction hémicanal défectueuse pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse (Nielsen et al., 2012).

En règle générale, des mutations dans GJA1 codant pour Cx43 entraînent un trouble syndromique autosomique dominant appelé Dysplasie OculoDentoDigital (ODDD), une syndactylie des doigts ou des orteils et, dans de rares circonstances, une maladie de la peau ; une perte auditive est également observée. Cependant, contrairement à d'autres maladies liées aux connexines, la perte auditive ODDD est conductrice plutôt que neurosensorielle. Au total,

73 mutations dans Cx43 ont été liées à ODDD, dont 64 sont des mutations faux-sens autosomiques dominantes. Le mécanisme sous-jacent à l'ODDD a été largement étudié et a émis l'hypothèse qu'il varie en fonction de la mutation impliquée. Par exemple, la mutation Cx43-G138R serait associée à une augmentation de la fonction hémicanal et une perte de la fonction du canal de gap jonction (Cocozzelli et White, 2019) (tableau 3).

Par ailleurs, les hémicanaux de Cx43 peuvent être impliqués dans la pathogenèse d'affections aussi diverses que l'athérosclérose, l'inflammation et les infections bactériennes ainsi que l'ischémie (Nielsen et al., 2012).

Tableau 3. Mutations de la Cx43 associées aux dermatoses syndromiques et non syndromiques (Cocozzelli et White, 2019)

Pathologie	Mutation	Mécanisme lié à la pathologie
Erythrokratodermie variable et progressive (EKVP3)	A44V(131C-T);E227D(681A-T); P283L(848C-T); T290N(869C-A)	Fonctionnalité hémicanal ou inconnue
Naevus épidermique verruqueux linéaire inflammatoire (ILVEN)	A44V (131C-T)	Fonctionnalité hémicanal
Dysplasie oculodentodigitale (ODDD)	Y17S(50A-C);S18P(52T-C);G21R(61G-A); G22E(65G-A);V96M (286G-A)	Fonctionnalité hémicanal
Kératodermie palmoplantaire et alopecie congénitale-1 (PPKCA1)	G8V (23G-T)	Fonctionnalité hémicanal
Hypotrichose avec kératose folliculaire et hyperostose	G38E (113G-A)	Inconnu

7.2. Cx43 et maladies cardiovasculaires

Une distribution anormale de la protéine Cx43 a été décrite dans les ventricules cicatriciels de patients souffrant de cardiopathies ischémiques. On observe alors une relocalisation de la Cx43 sur la surface latérale des cardiomyocytes, qui est concomitante avec la disparition de la même connexine de la zone infarctus. Cette latéralisation des jonctions s'accompagne d'une réduction de la vitesse de conduction longitudinale (**Haefliger et al., 2005**). Il a aussi été démontré que, suite à des arrêts cardiaques, de jeunes adultes souffrant de cardiomyopathies hypertrophiques présentent une relocalisation latérale de la Cx43. En outre, on observe une réduction du taux d'expression de la Cx43 dans les ventricules gauches de patients transplantés souffrant d'insuffisance cardiaque congestive (**Teunissen et al., 2004**).

Chapitre II

Ischémie et Connexine 43

1. Cœur et Cardiomyocytes

Le cœur joue un rôle central dans le système cardio-vasculaire. Il permet la circulation du sang dans l'organisme. Le cœur se divise en quatre cavités : deux cavités supérieures qui sont les oreillettes droite et gauche, et deux cavités inférieures qui sont les ventricules droit et gauche (**figure 6**) (Bessaguet et Desmoulière, 2020).

Le cœur est un organe complexe composé de divers types de cellules, dont chacun joue un rôle important dans les conditions physiologiques et physiopathologiques. Les cardiomyocytes et les cellules endothéliales sont les deux types de cellules cardiaques les plus abondants et jouent un rôle central dans le remodelage et la régénération cardiaques (Talman et Kivelä, 2018).

Les cardiomyocytes, cellules musculaires (myo) (cyte) du cœur (cardio), sont le principal composant cellulaire du myocarde. Du point de vue de la biologie cellulaire, un cardiomyocyte est une cellule cardiaque contractile et excitable qui a un noyau central, qui a des isoformes de protéines sarcomériques spécifiques qui le distinguent des autres cellules musculaires, et qui se contracte rythmiquement sans repos, il est responsable de la contraction du cœur (Keepers et al., 2020) (**figure 7**).

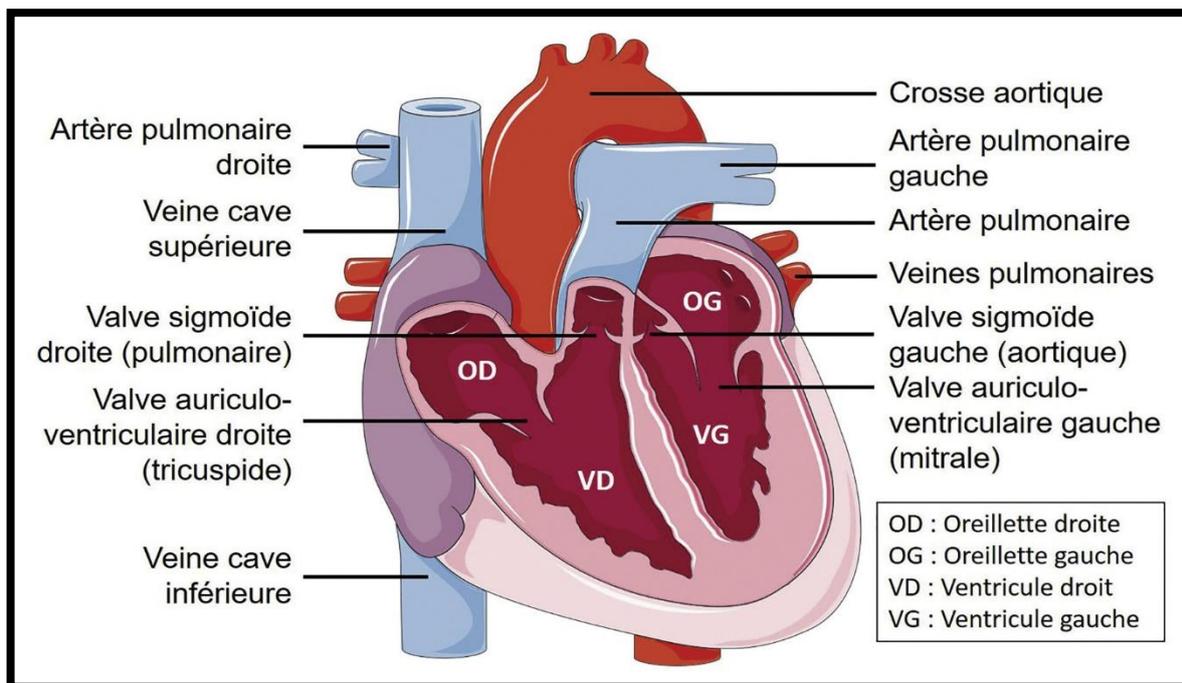


Figure 6. Anatomie cardiaque (Bessaguet et Desmoulière, 2020)

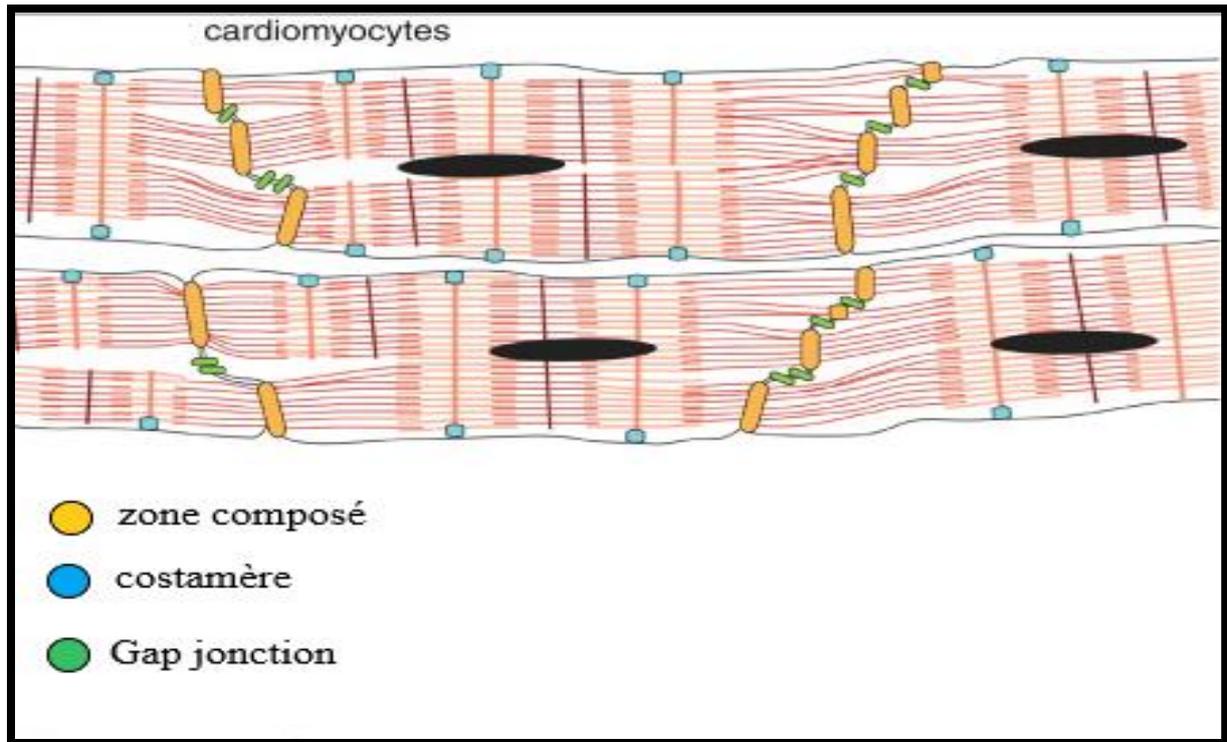


Figure 7. Représentation schématique du cardiomyocyte (Galli, 2011)

2. Pathologies cardiovasculaires

Les pathologies cardiovasculaires sont devenues la première cause de mortalité dans le monde malgré une amélioration de la prise en charge coronarienne des dernières décennies. Les projections qui sont actuellement faites, montrent que les maladies cardiovasculaires devraient rester la première cause de mortalité dans le monde dans les années à venir (Sorbets *et al.*, 2020).

Parmi elles, figure la coronopathie, une des principales causes de morbi-mortalité cardiovasculaire. Elle regroupe plusieurs entités dont la conséquence est l'ischémie myocardique. La maladie coronaire se manifeste le plus souvent par une douleur thoracique mais peut aussi être silencieuse d'où l'intérêt du dépistage de l'angor (l'angine de poitrine) stable notamment chez le sujet âgé dont la manifestation peut se limiter à des symptômes atypiques. Différents examens non invasifs et invasifs sont disponibles afin de mettre en évidence l'ischémie myocardique. L'infarctus du myocarde constitue une urgence diagnostique et thérapeutique dont la prise en charge nécessite une stratification du risque ischémique et hémorragique (Hattach et Manzo-Silberman, 2019).

La lésion ischémique est une cause très courante de dysfonctionnement des organes chez l'homme, et affecte principalement le cœur (Michela *et al.*, 2015).

3. Ischémie myocardique

Étymologiquement, l'ischémie (emprunt au grec ancien **iskhaimos**, "qui arrête le sang") se définit comme la diminution ou l'arrêt de la circulation sanguine. La conséquence est une souffrance voire une nécrose cellulaire liée au manque d'oxygène dans le territoire de l'artère concernée (**Marcadet et Zerbib, 2015**).

La circulation artérielle coronaire est un système complexe doté d'une capacité d'autorégulation très fine qui permet d'adapter à tout instant le débit coronaire aux besoins énergétiques du myocarde lors d'un exercice physique, d'un stress ou, plus globalement, à toute augmentation du travail cardiaque. Lorsque cette autorégulation coronaire est défaillante, le déséquilibre créé entre les apports et les besoins myocardiques en oxygène se traduit par une souffrance tissulaire qui peut être réversible (ischémie) si l'on rétablit rapidement ce déséquilibre ou, dans le cas contraire, devenir irréversible, et c'est alors la nécrose (infarctus) (**Adjedj et Berdeaux, 2020**).

Le métabolisme myocardique est presque exclusivement aérobie, car les cardiomyocytes, à la différence des autres tissus et des muscles, contiennent des stocks de glycogène très limités. Ainsi, une correspondance parfaite entre la consommation d'oxygène du myocarde et l'apport d'oxygène au myocarde est nécessaire pour alimenter la fonction ventriculaire et éviter l'ischémie myocardique (**Pagliari et al., 2019**).

Il existe deux grandes causes d'ischémie : l'augmentation des besoins non compensée par les apports (typiquement l'angor d'effort) et la diminution brutale des apports par obstruction d'une artère (syndromecoronaire aigu). La cause la plus fréquente d'ischémie myocardique est liée à l'athérosclérose. Elle se traduit cliniquement par une angine de poitrine stable ou instable et peut entraîner un événement majeur comme un infarctus du myocarde ou une mort subite (**Marcadet et Zerbib, 2015**).

L'ischémie fait intervenir plusieurs étapes décrites sous le terme de « cascade ischémique ». Les signes les plus précoces d'ischémie sont la baisse de la perfusion myocardique, ainsi que l'apparition d'anomalies métaboliques (**Etiennay et al., 2019**).

La cascade ischémique : initialement, des anomalies de perfusion sont induites, suivies d'un dysfonctionnement diastolique et à un stade ultérieur, systolique ; ce n'est qu'à la toute fin de la

cascade que des modifications de l'électrocardiogramme et des angines de la poitrine se produisent (**figure 8**) (Schuijf, 2005).

L'angine de poitrine n'est pas la manifestation ischémique la plus fréquente de la maladie coronarienne, qu'elle soit stable ou instable. C'est l'ischémie silencieuse ou asymptomatique qui représente l'évènement ischémique le plus fréquent de la maladie coronarienne (Meiltz et Ciareni, 2005).

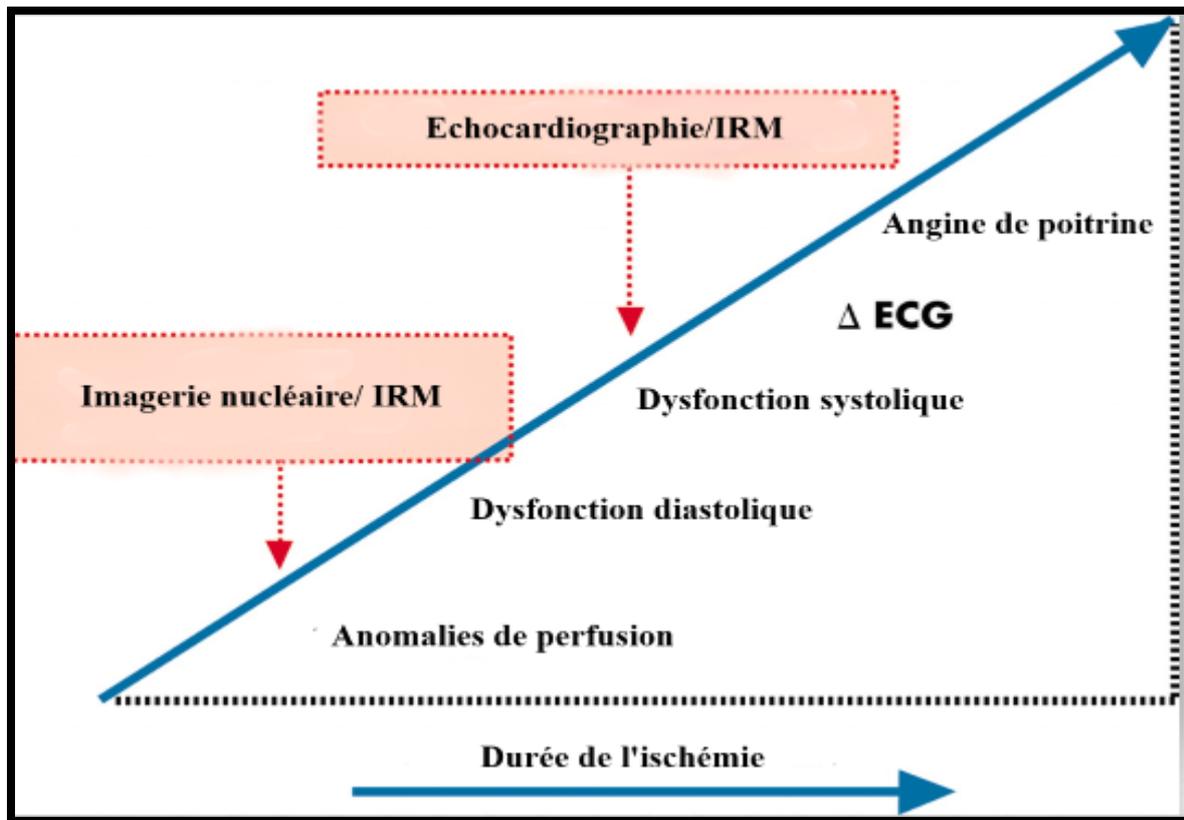


Figure 8. La cascade ischémique (Schuijf, 2005)

La cardiomyopathie ischémique peut être divisée en une phase aiguë suivie d'une phase chronique. L'ischémie aiguë est associée à la fermeture des jonctions lacunaires et donc à un couplage intercellulaire réduit. La phase chronique fait référence aux infarctus qui correspondent au tissu qui se remet de l'ischémie subie et puisqu'il s'agit d'un stade tardif, est associée à des changements dans l'expression et/ou le trafic de la jonction lacunaire Cx43-constituant (Fontes et al., 2012).

4. Rôle de Cx 43 dans l'ischémie

Les cardiomyocytes de travail (contractiles) du ventricule sont largement interconnectés par des grappes de jonctions communicantes contenant de la connexine 43, situées au niveau des disques intercalés (Severs et al., 2004).

La Cx43 est en effet, une protéine structurelle majeure des jonctions lacunaires du myocarde ventriculaire et un déterminant majeur de ses propriétés électriques. Elle a également été considérée comme un composant majeur des GJ des cardiomyocytes, qui régulent le couplage intercellulaire, la vitesse de conduction et l'anisotropie (Chen et al., 2016).

Le rôle des jonctions communicantes en tant que voies intercellulaires pour la propagation ordonnée du flux de courant sous-jacent à la contraction synchrone dans le cœur sain, a conduit à se demander si les altérations de l'organisation des jonctions communicantes et de l'expression de la connexine, pourraient contribuer à une conduction anormale et à une arythmogénèse dans le cœur humain malade (Severs et al., 2004).

En effet, les connexines sont impliquées dans la mort et la survie des cardiomyocytes. Ainsi, le couplage chimique par les GJ joue un rôle clé dans la propagation des lésions entre les cellules connectées. De plus, les canaux formés par Cx43 sont impliqués dans les lésions d'ischémie/reperfusion et la protection du preconditionnement ischémique (PI) *in vitro* (Chen et al., 2016). En outre, les connexines situées au niveau des structures cellulaires non canonique, notamment les mitochondries et le noyau, ont démontré leur implication dans la cardioprotection (Rodriguez-Sinovas et al., 2021).

Par ailleurs, il a été en effet apporté que la déphosphorylation de Cx43 est une caractéristique de l'ischémie, de l'arythmie et d'un myocarde défaillant et vieillissant (Xue et al., 2019).

Au cours de l'ischémie, la Cx43 subit une déphosphorylation rapide, qui est associée à un découplage électrique et à une altération de la distribution de Cx43 sur les côtés du myocyte et dans les pools intracellulaires (Totland et al., 2019).

L'ischémie se manifeste par l'accumulation de métabolites dans le compartiment extracellulaire en combinaison avec un apport réduit en oxygène. Le métabolisme anaérobie et le manque de flux provoquent des acidoses extracellulaires avec une augmentation du K⁺ extracellulaire (Michela et al., 2015). Les conditions ischémiques entraînent un découplage de jonction et une fermeture de GJ en raison de l'élévation du Ca²⁺, de l'acidose, état de phosphorylation modifié et d'autres facteurs liés à l'ischémie. De plus, les Cx sont remodelées à la suite de processus qui impliquent la latéralisation de la protéine Cx, un trafic altéré et l'internalisation ; la plupart

5. Rôle de Cx43 dans la thérapie de l'ischémie

La principale stratégie thérapeutique visant à rétablir le flux sanguin dans la zone ischémique peut faciliter les lésions et le dysfonctionnement du myocarde si elle n'est pas appliquée correctement. Ce phénomène est connu sous le nom de lésion d'ischémie/reperfusion (I/R). Elle contribue de manière significative à la morbidité et à la mortalité liées à l'infarctus du myocarde (**Xue et al., 2019**).

La reperfusion, bien que nécessaire pour sauver les tissus privés d'oxygène, produit des réponses tissulaires paradoxales qui alimentent la production d'espèces réactives de l'oxygène (paradoxe de l'oxygène), séquestration d'immunocytes pro-inflammatoires dans les tissus ischémiques, stress du réticulum endoplasmique et développement d'un non-reflux capillaire post-ischémique, qui amplifient les lésions tissulaires. Ces événements pathologiques aboutissent à l'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale en tant qu'effecteur final commun de la lyse et de la mort cellulaires induites par (I/R) (**Kalogeris et al., 2016**).

Le phénomène de préconditionnement ischémique a été reconnu comme l'un des mécanismes les plus puissants pour protéger contre les lésions ischémiques du myocarde (**Lliodromitis et al., 2007**).

Le Cx43 est impliqué dans la formation des radicaux libres d'oxygène des cardiomyocytes et dans la cardioprotection par PI (**Boengler et al., 2006**).

La déphosphorylation du Cx43 est diminuée dans le myocarde préconditionné par rapport au myocarde non préconditionné, et le découplage électrique, qui est étroitement lié à la déphosphorylation du Cx43, est presque complètement aboli par le préconditionnement ischémique dans les cœurs de rat. Une diminution de la perméabilité des canaux pourrait protéger les cardiomyocytes contre le sodium et par la suite la surcharge volumique, et en effet les cardiomyocytes deviennent plus résistants à un défi hypotonique une fois qu'ils sont préconditionnés (**Schulz et Heusch, 2004**).

Chapitre III
Naldemedine
et
Repositionnement des
médicaments

1. Les récepteurs opioïdes et leurs antagonistes

Les opioïdes constituent une grande classe pharmacologique réunissant les opiacés, alcaloïdes naturels dérivés de la plante *Papaver somniferum* ou pavot somnifère (**figure 10**), morphine et codéine, les molécules semi-synthétiques (créées par modification chimique d'un opiacé comme l'héroïne et l'oxycodone) et synthétiques (produisant une activité pharmacologique similaire sans partager la structure chimique des molécules naturelles comme la mépéridine, la méthadone et le fentanyl) (**Larocque, 2012**).

La pharmacologie des opioïdes s'appuie maintenant sur les données de clonage et de structure moléculaire obtenues à propos de ses récepteurs. Les récepteurs opioïdes font partie de la famille des récepteurs liés à une protéine G. Ils ont tous une partie C-terminale intracellulaire et N-terminale extracellulaire avec sept domaines transmembranaires. La famille de récepteurs opioïdes comprend quatre membres : μ aussi appelé mu, MOR (Mu Opioid Receptor), δ aussi appelé delta, DOR (Delta Opioid Receptor), κ aussi appelé kappa, KOR (Kappa Opioid Receptor) et un quatrième récepteur ORL-1 (Opioid Receptor Like 1) (aussi appelé NOP (Nociceptin Opioid Receptor) (**Harkouk et al., 2018**).

Les analgésiques opioïdes sont des médicaments couramment prescrits pour le traitement de la douleur chronique. Les effets indésirables les plus courants associés à un traitement opioïde à long terme sont les nausées, les vomissements, les gaz et la constipation. La plupart des effets disparaissent après l'utilisation continue de l'opioïde (**Baker, 2017**).



Figure 10. Le pavot (**Schilperoord, 2017**)

Les agents pharmacologiques disponibles pour le traitement de la constipation induite par les opioïdes comprennent les antagonistes des récepteurs opioïdes, les prokinétiques et les laxatifs. Cependant, les antagonistes des récepteurs opioïdes comme la Naldemedine, atténuent les effets gastro intestinaux des opioïdes mais peuvent également contrer l'analgésie induite par les opioïdes par franchissement de la barrière hémato-encéphalique. Une approche plus ciblée du traitement de la constipation induite par les opioïdes implique l'utilisation d'un récepteur μ -opioïde à action périphérique antagoniste (PAMORA : Peripherally Acting μ -Opioid Receptor Antagonists), qui bloque les récepteurs opioïdes dans le tube digestif sans pénétrer dans le système central neveux (**Blair, 2019**).

2. Naldemedine

- Généralités

Nom générique : Naldemedine

Nom propriétaire : Symproic (Shionogi)

Note d'approbation : 1S

Classe thérapeutique : agents de détoxification, antidotes

Médicaments similaires : Lubiprostone, Méthylnaltrexone, Naloxégol

Noms de sons/semblances : Nalmefene, Nilutamide (**Baker, 2017**)

La Naldemedine est un PAMORA, disponible par voie orale pour le traitement de la constipation induite par les opioïdes. Elle est approuvée dans plusieurs pays, dont le Japon et les Etats-Unis sous le nom de SYMPROIC® et dans les pays de l'Union Européenne sous le nom de Rizmoic® (**Blair, 2019**). La structure de la Naldemedine, un dérivé amide de la naltrexone est donnée dans la **figure 11 (Fukimura et al., 2018)**.

moins de 4 semaines peuvent être moins réactifs au traitement par la Naldemedine (**Baker, 2017**).

- **Effets indésirables**

Les effets indésirables les plus fréquents avec la Naldemedine dans les essais cliniques sont des douleurs abdominales, c'est-à-dire : gêne abdominale, douleur abdominale, douleur du bas-ventre douleur, douleur abdominale supérieure, douleur gastro-intestinale, diarrhée, nausées, vomissements et gastro-entérite (**Baker, 2017**).

3. Docking moléculaire et Repositionnement des médicaments

Le repositionnement de médicaments également appelé réaffectation, reprofilage ou redirection de médicament, est l'utilisation d'un médicament dans une autre indication que celle pour laquelle il a été initialement commercialisé. La notion de repositionnement du médicament exclut donc toute modification structurelle du médicament. Au lieu de cela, le repositionnement utilise dans une nouvelle indication, soit les propriétés biologiques pour lesquelles le médicament a déjà été approuvé (éventuellement selon une formulation différente, à une nouvelle dose ou via une nouvelle voie d'administration), soit les propriétés secondaires d'un médicament qui sont responsables de ses effets indésirables (**Jourdan et al., 2020**).

Le repositionnement des médicaments est un courant d'innovation du développement pharmaceutique qui offre des avantages pour les développeurs de médicaments et des médicaments plus sûrs pour les patients. Plusieurs médicaments ont été repositionnés avec succès pour une nouvelle indication ; les plus importants d'entre eux étant le viagra et la thalidomide (**Novac, 2013**).

Le viagra ou le Sildénafil a été en effet initialement commercialisé par Pfizer en 1985 en tant que médicament antihypertenseur potentiel. Il a été démontré qu'il produisait une vasodilatation et inhibait l'agrégation plaquettaire en inhibant la phosphodiesterase de type 5, c'est pourquoi il a été utilisé dans le traitement de l'angine de poitrine et l'érection pénienne. Le viagra ne produit une érection qu'en présence d'une stimulation sexuelle, entraînant la libération d'oxyde nitrique (**Jourdan et al., 2020**).

La découverte de médicaments est devenue extrêmement difficile ces derniers temps. Le coût de mise sur le marché d'une nouvelle entité moléculaire dépasse les 2 milliards de dollars US. L'augmentation des dépenses couplée à la position « trop prudente » des organismes de réglementation n'a fait qu'aggraver la situation en termes de productivité mesurée par le nombre de nouvelles entités moléculaires lancées chaque année. Le retour sur investissement est devenu une préoccupation majeure (**Kharkar et al., 2014**).

C'est pourquoi, le docking moléculaire est devenu un outil de plus en plus important dans la recherche pharmaceutique (**Meng et al., 2011**).

Dans la conception de médicaments modernes, l'amarrage ou le docking moléculaire est couramment utilisé pour comprendre l'interaction médicament-récepteur. L'amarrage moléculaire fournit des informations utiles sur les interactions médicament-récepteur et est fréquemment utilisé pour prédire l'orientation de liaison de petites molécules candidates à leurs cibles protéiques afin de prédire l'affinité et l'activité de la petite molécule. L'amarrage moléculaire peut être défini comme un problème d'optimisation, qui décrirait l'orientation la mieux adaptée d'un ligand qui se lie à une protéine d'intérêt particulière et est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire formé entre deux molécules ou plus. Le cas le plus intéressant est l'interaction protéine-ligand, du fait de ses applications en médecine (**Vijesh et al., 2011**).

Matériels et Méthodes

1. Screening virtuel

Nous avons recherché dans la base de données Zinc, les molécules approuvées par la FDA (Food and Drug Administration) et susceptibles d'interagir avec la connexine 43.

ZINC est une ressource publique gratuite pour la découverte de ligands. La base de données contient plus de 20 millions de molécules disponibles dans le commerce dans des représentations biologiquement pertinentes qui peuvent être téléchargées dans des formats et sous-ensemble populaires prêts à l'emploi. ZINC est disponible gratuitement sur zinc.docking.org (Sterling et Irwin, 2015).

Pour cela nous avons suivi les étapes suivantes :

- Cliquer sur Substances pour rechercher les sous-ensembles.
- Cliquer sur Sous-ensembles pour rechercher les médicaments approuvés par la FDA, par Drug Bank.
- Télécharger les structures des ligands sous forme SDF

2. Docking moléculaire

2.1. Récepteur

Premièrement, nous allons à la Bank PDB (Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), pour télécharger le récepteur.

La PDB contient des milliers de structures protéiques prises soit par cristallographie (rayons X) ou par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire).

Concernant la Cx43, est disponible dans la banque de données, la molécule répertoriée sous le code 2LL2. Il s'agit de l'extrémité C-terminale de Cx43 s'étendant de l'acide aminé 243 à 259 selon **Saidi Brikci-Nigassa et al. (2012)**, sa structure a été déterminé par RMN (**figure 12**). Il s'agit de la structure du peptide K26D en interaction avec la tubuline/ microtubule, dont la séquence est donnée dans la **figure 13**.

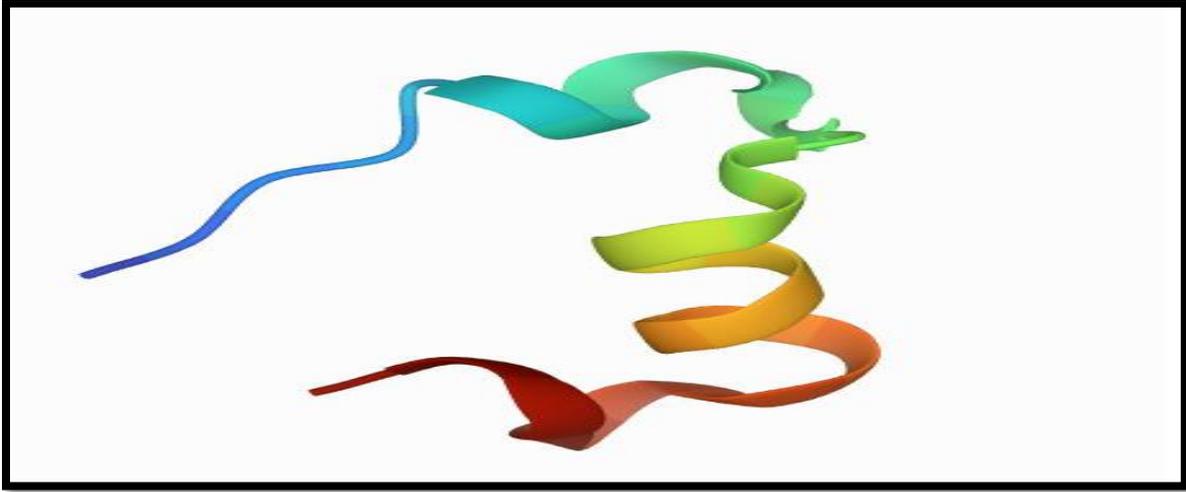


Figure 13. Structure 3D de la connexine 43

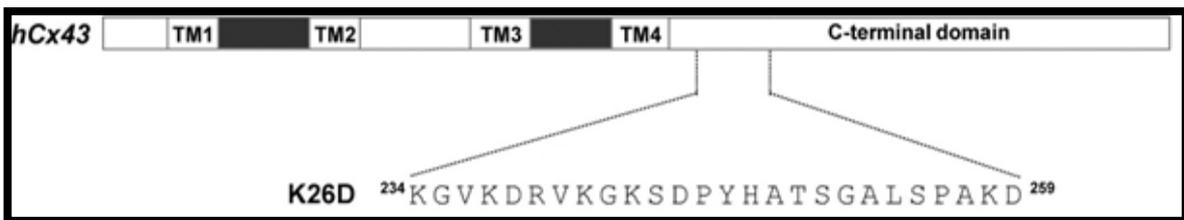


Figure 12. Représentation schématique de la connexine humaine et du peptide K26D avec la tubuline/microtubules décrit par **Saidi Briki-Nigassa et al., (2012)**

2.2.Ligand

Les structures des ligands sont obtenues à partir du site PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Parmi les 1615 ligands capables d'interagir avec le récepteur 2LL2, comme l'a révélé le screening moléculaire, nous avons retenu la Naldemedine dont la formule moléculaire est $C_{32}H_{34}N_4O_6$ et le poids moléculaire : 570,6 g/mol.

Ses structures chimique et 3D sont données respectivement dans les **figures 14 et 15.**

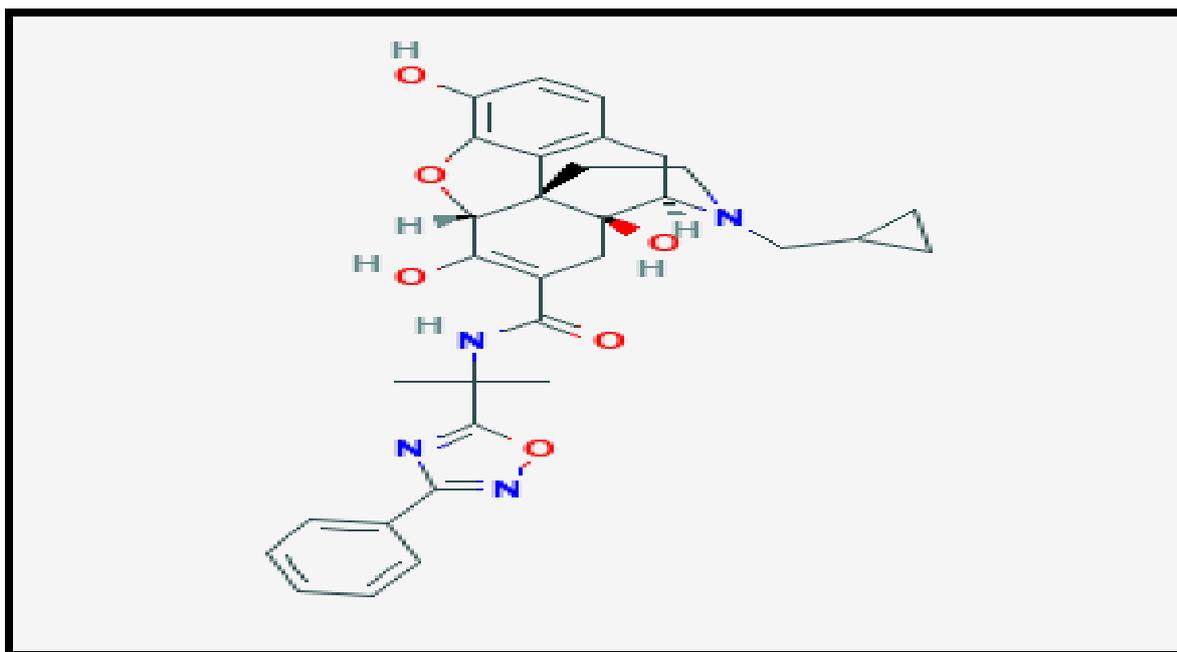


Figure 14. Structure chimique de la Naldemedine

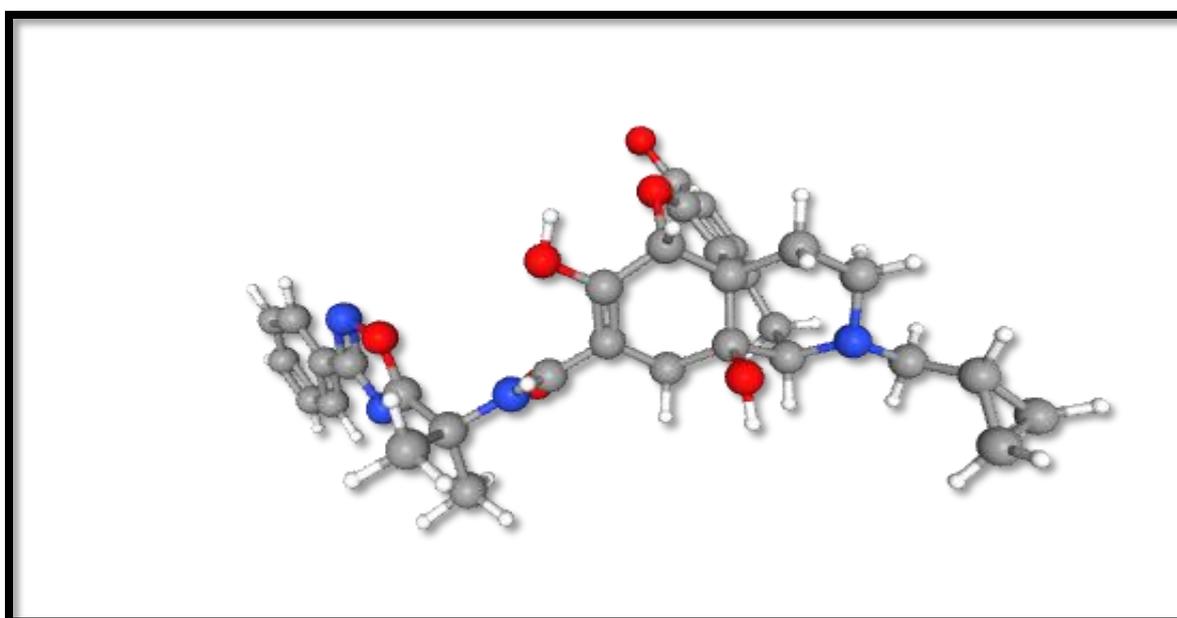


Figure 15. Structure 3D de la Naldemedine

2.3. Processus de docking

Le processus d'amarrage ou docking moléculaire est utilisé pour générer une liste de complexes représentant le mode de liaison favorable entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à estimer ces complexes, afin de trouver le ou les complexes plus probables pour reproduire au mieux le mode d'association réel.

Nous avons utilisé les logiciels PyRx et Chimera pour tester l'interaction ligand-récepteur.

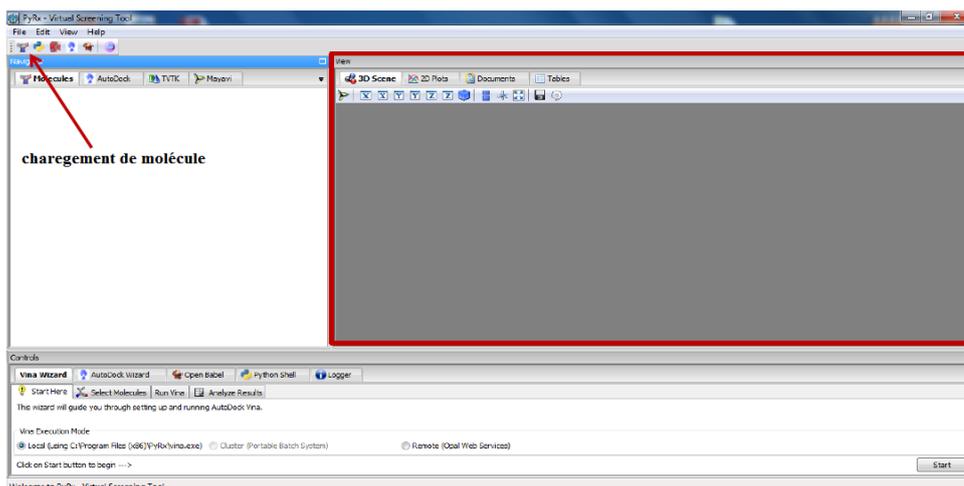
- **PyRx** : Est un logiciel libre doté d'une interface utilisateur intuitive et fonctionnant sur tous les principaux systèmes d'exploitation (Linux, Windows et Mac OS) (**Dallakyan et Olson, 2014**).
- **Chimera** : UCSF Chimera est un programme pour la visualisation et l'analyse interactives des structures moléculaires et des données associées, conçu pour être utilisé par les biologistes structuraux, les chercheurs biomédicaux et autres personnes intéressées par la structure et la fonction moléculaires. Chimera est une application de bureau dont les racines sont principalement dans l'analyse visuelle interactive (**Huang et al., 2014**).

Le docking moléculaire sur PyRx se déroule selon les étapes suivantes :

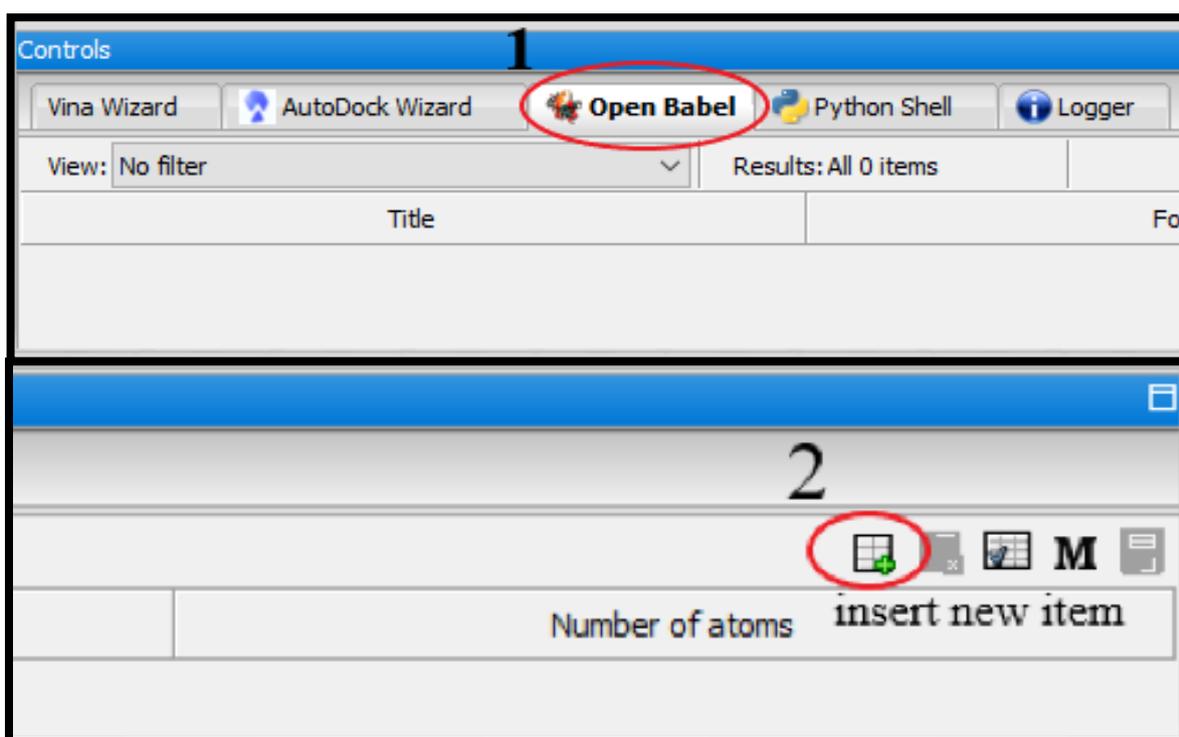
- Téléchargement de PyRx : <http://pyrx.sourceforge.net/downloads>

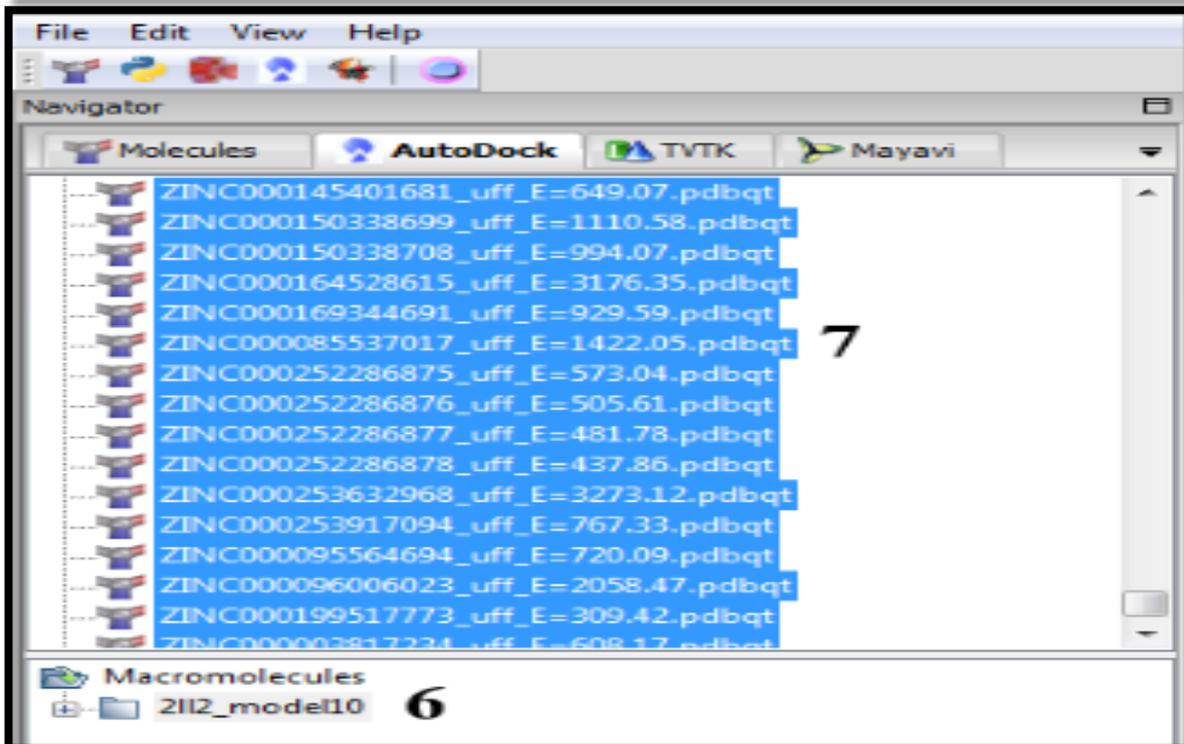
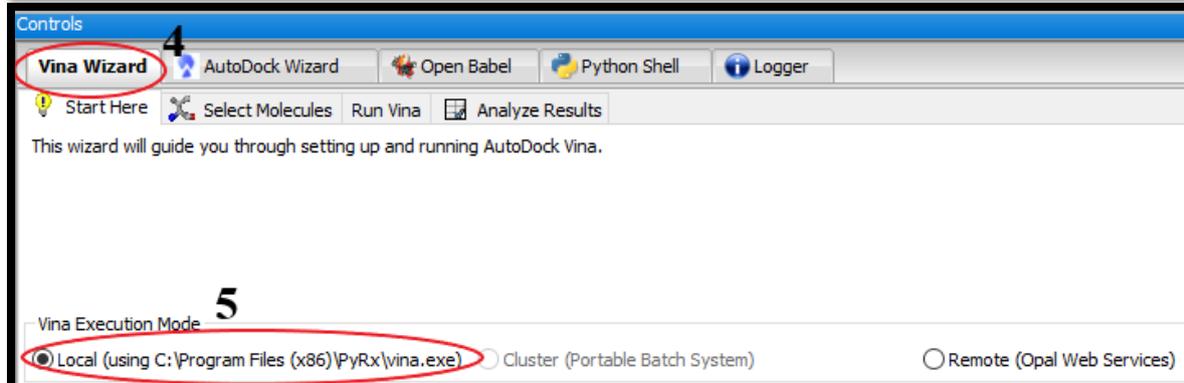
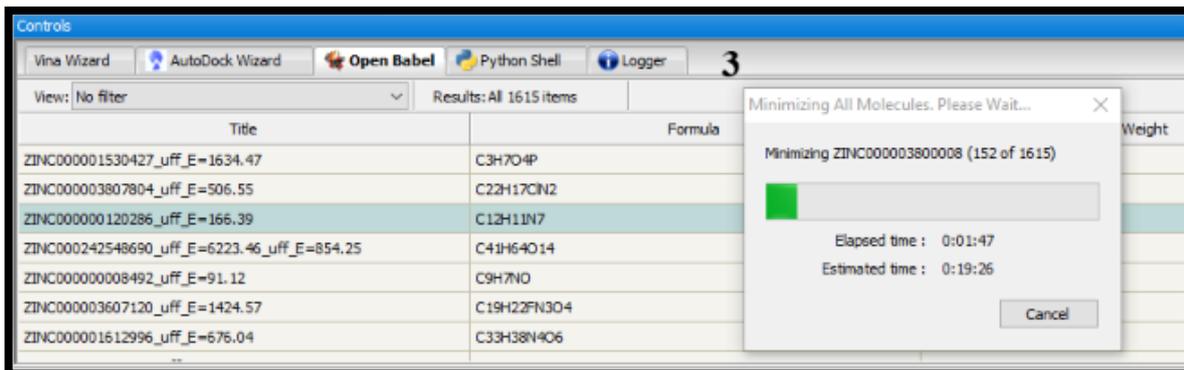


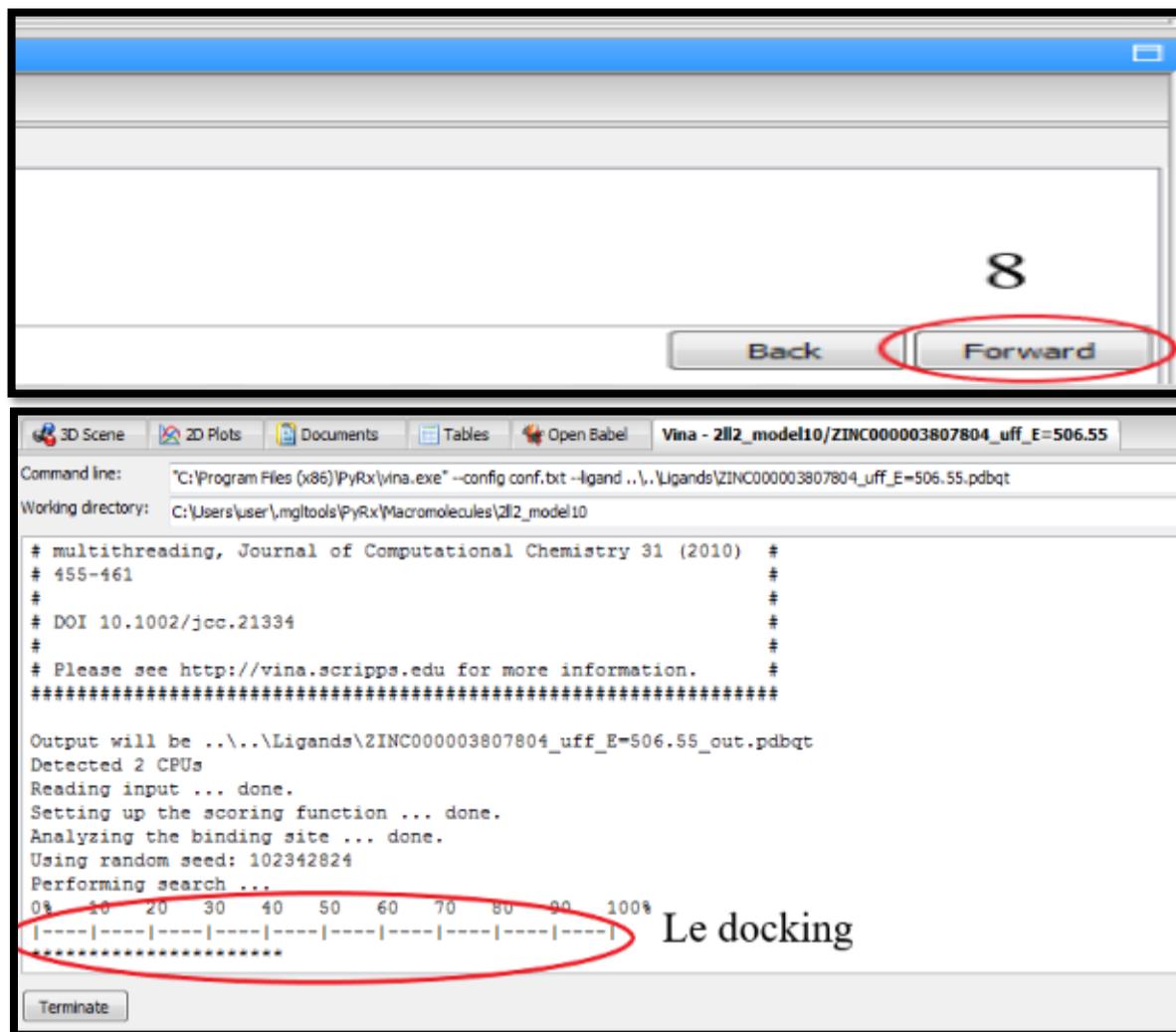
- Chargement des molécules dans l'espace de travail PyRx



- ✓ Cliquer sur File puis sur Load Molecule et sélectionner le fichier 2LL2.
- ✓ Cliquer sur Open Babel/insert new item/ sélectionner la base de données FDA
- ✓ Cliquer droit et sélectionner Minimize All.
- ✓ Cliquer Vina Wizard → sélectionner Local /start /Add Macromolecule → sélectionner 2LL2
- ✓ Cliquer sur Open Babel puis cliquer droit sur les ligands et sélectionner Convert All to AutoDock Ligand (pdbqt).
- ✓ Cliquer sur le premier ligand et sur shift puis sur le dernier ligand pour sélectionner tous les ligands/et en fin sur forward.





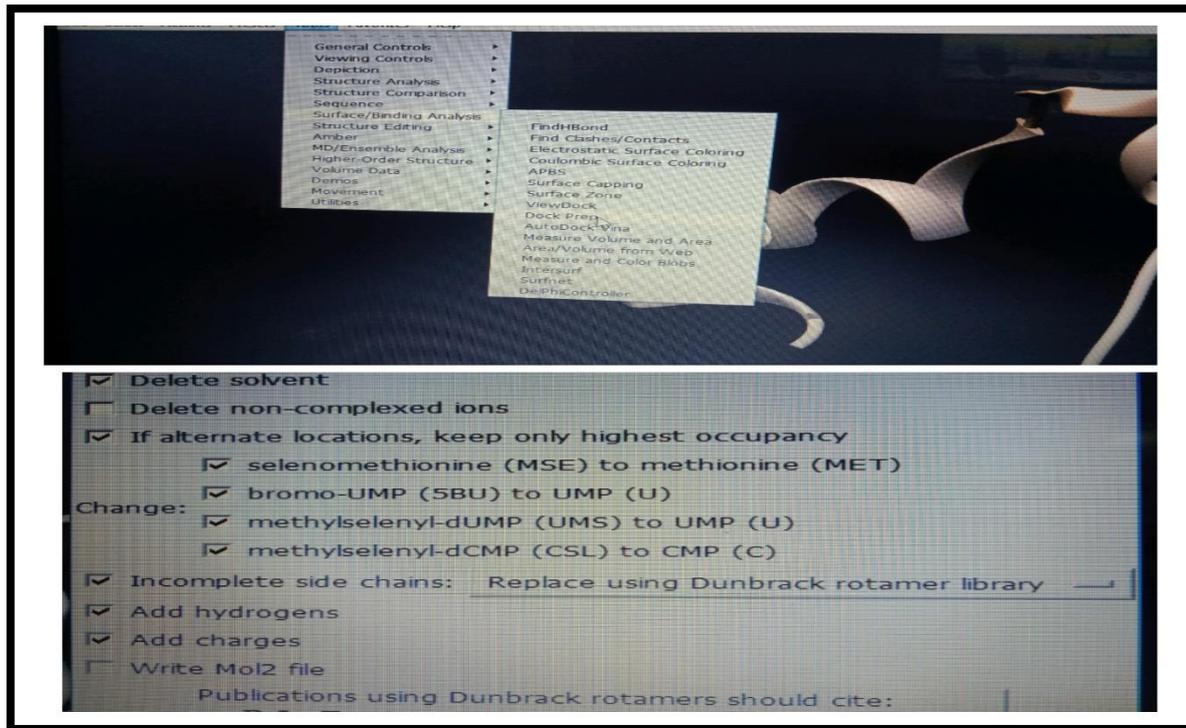


- ✓ Ensuite, on transforme le fichier de minimisation pdb en pdb.qt pour entrer dans un autre programme qui s'appelle Chimera.

Le docking moléculaire se poursuit sur Chimera selon les étapes suivantes :

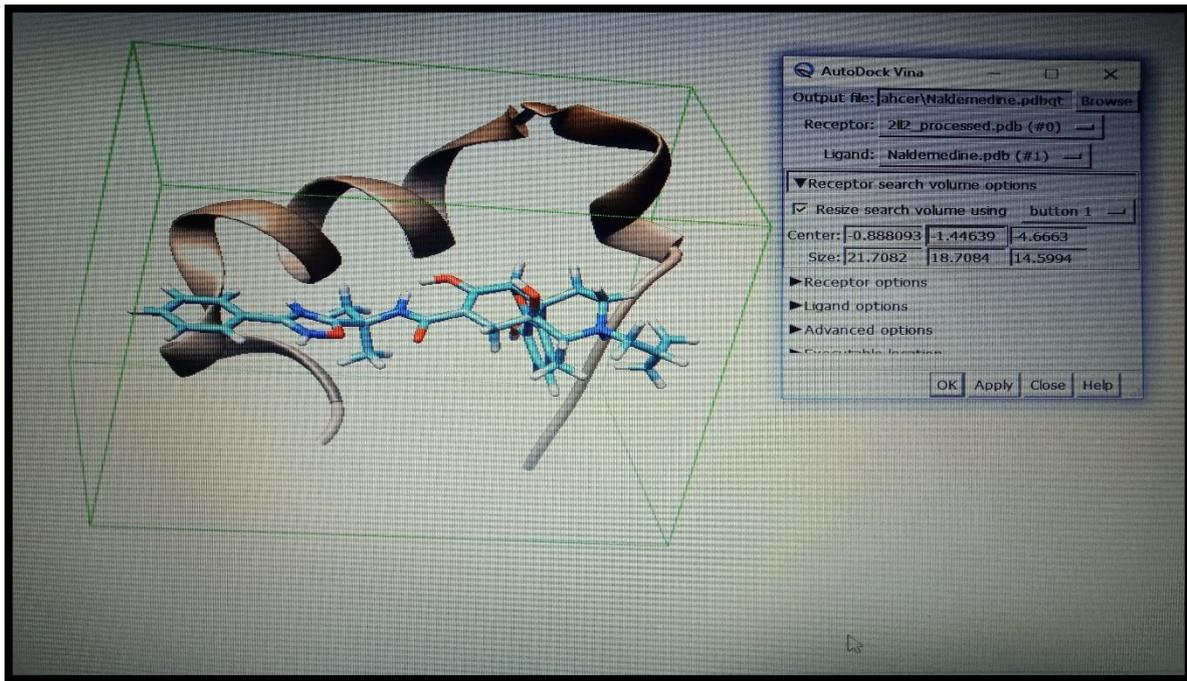
Préparation du récepteur

- ✓ Cliquer sur File puis Open pour ouvrir le fichier 2LL2
- ✓ Cliquer sur Tools puis sur Surface/Binding Analysis / Dock prep.
- ✓ Dans Dock prep sélectionner toute les options sauf « Delte non-complexed » et « Write Mol2 file » / cliquer sur OK/OK/OK.



Préparation du ligand pour le Docking

- ✓ Cliquer sur File puis Open/ dans notre cas la Naldemedine (Ligand)
- ✓ Cliquer sur Tools/Surface/Binding Analysis/ AutoDock Vina.
- ✓ Dans AutoDock Vina cliquer sur Brose → nomer votre complexe/ sélectionner le récepteur et le ligand / cliquer sur button 1 et sur Resize search volume using
- ✓ Cliquer sur l'écran par la souris clic droit pour mettre le complexe sur une boîte et



Résultats et Discussion

1. Résultats du criblage moléculaire

Le screening moléculaire a permis de ressortir 1615 molécules susceptibles de cibler Cx43 en interagissant avec son extrémité C-terminale.

Les meilleurs scores selon ΔG sont donnés dans le **tableau 4**. La Naldemedine est en 10^{ème} position selon son affinité d'interaction estimée par l'énergie de liaison.

Le ΔG ou enthalpie libre ou encore énergie libre de Gibbs, est une fonction d'état introduite par Willard Gibbs. Elle correspond à l'énergie disponible dans une réaction pour effectuer un travail utile et est différente du changement d'énergie total d'une réaction et principe d'évolution des réactions physico-chimiques (**Reichle, 2020**).

Tableau 4. Les meilleurs scores ΔG révélés par le screening moléculaire

Ligands	Zinc Code	ΔG (kcal/ml)
Digoxine	242548690	-9,3
Dihydroergotamine	3978005	-9,3
Conivaptan	12503187	-9,3
Lumacaftor	64033452	-8,8
Nilotinib	6716957	-8,7
Irinotecan	1612996	-8,6
Ponatinib	36701290	-8,5
Ergotamine	52955754	-8,5
Dolutegravir	58581064	-8,4
Naldemedine	100378061	-8,4
Lomitapide	27990463	-8,2
Itraconazole	4097343	-8,2
Differin	3784182	-8,2
Paliperidone	1481956	-8,2
Plerixafor	22443609	-8,1

2. Résultats du docking moléculaire

Après quelques minutes de docking avec UCSF Chimera, s'ouvrir « ViewDock » et affiche la liste tabulaire des poses (score, RMSD.....etc) (**figure 16**).

S	Score	RMSD l.b.	RMSD u.b.
V	-8.4	0.0	0.0
V	-8.3	3.444	6.794
V	-7.9	4.19	8.052
V	-7.7	4.226	7.29
V	-7.7	4.744	8.346
V	-7.0	2.443	4.873
V	-6.9	3.681	6.906

Chimera Model #1.1

REMARK VINA RESULT: -8.4 0.000 0.000

REMARK 9 active torsions:

REMARK status: ('A' for Active; 'I' for Inactive)

REMARK 1 A between atoms: C_1 and C_19

REMARK 2 A between atoms: C_2 and O_39

REMARK 3 A between atoms: C_10 and O_47

REMARK 4 A between atoms: N_13 and C_43

REMARK 5 A between atoms: C_17 and O_41

Change Compound State

Viable Deleted Purged

Figure 16. Les scores donnés par UCSF Chimera

Pour mesurer les distances inter-atomiques on utilise fréquemment une grandeur appelée écart quadratique moyen (RMSD - "Root Mean Square Deviation", en Å) entre les coordonnées spatiales des atomes des acides aminés appariés.

La lecture de fichier pdb par « Discovery studio visualizer » permet la visualisation du mode et le type d'interaction entre la meilleure conformation de ligand et leur récepteur. La **figure 17**, représente un modèle 3D amarré de Cx 43 – Naldemedine. Cette interaction engage plusieurs types de liaisons comme le montre le diagramme 2D (**figure 18**).

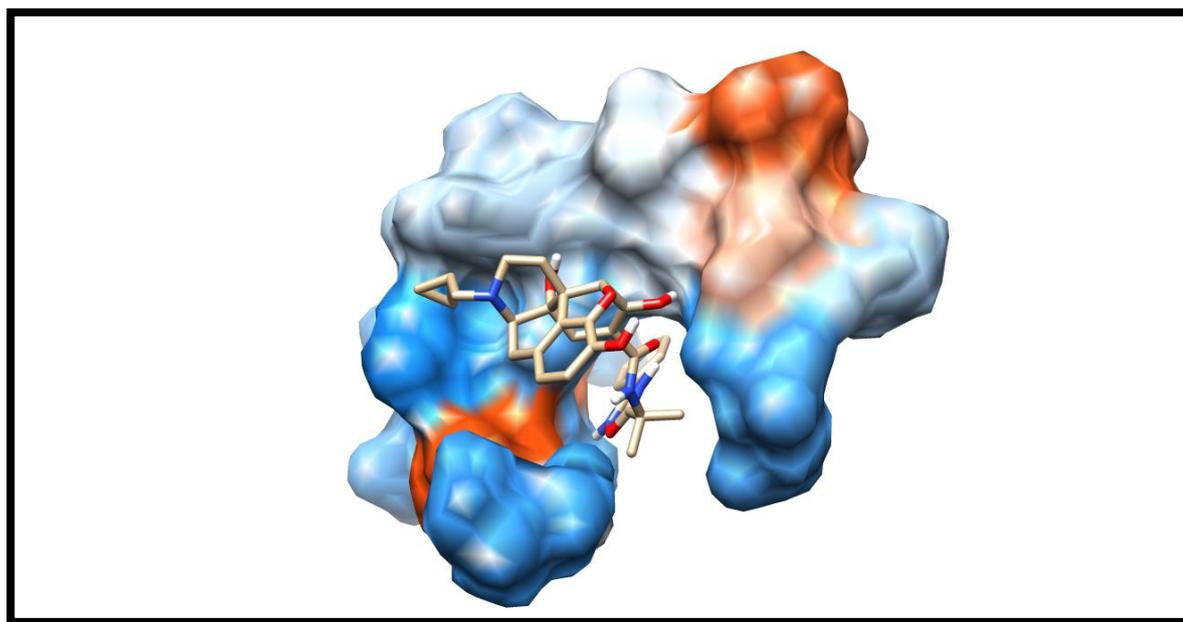


Figure 17. Complexe Connexine43-Naldemedine

Nous recensons :

- 3 liaisons hydrogènes formées entre N –ter de la Naldemedine et les résidus alanine en position 24, lysine en position 25 et histidine en position 15 du C-ter de Cx43 (**figure 18**). La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre 2 molécules ou entre 2 groupements d'une molécule. Elle joue un rôle stabilisateur de la structure secondaire des macromolécules biologiques (**Élie, 2004**)
- 3 liaisons pi alcaline entre le ligand et le résidu tyrosine en position 14, valine en position 7 et lysine en position 25 du récepteur 2LL2 (**figure 18**). La liaison pi alcaline est une liaison chimique covalente qui est créé entre deux atomes. Sa présence toute libre rotation autour de cette liaison, car elle entraîne une rigidité moléculaire (**Allen et al., 2001**).

- Une liaison pi-pi empilée (empilement pi) entre le ligand et l'acide aminé histidine en position 15 de 2LL2 (**figure 18**).

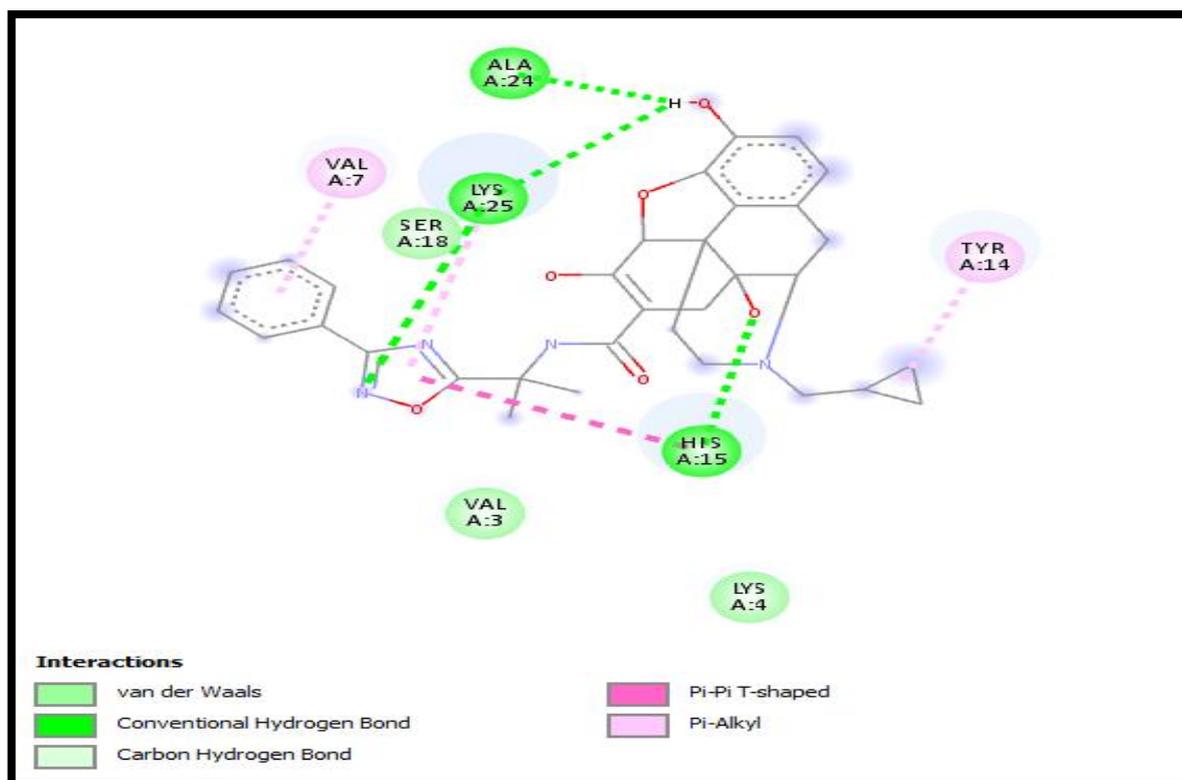


Figure 18. Diagramme 2D de la Naldemedine

Conclusion

Les connexines et en particulier la Cx43, sont impliquées dans plusieurs pathologies cardiaques dont l'ischémie. Leur rôle dans le preconditionnement ischémique et la cardioprotection n'est plus à démontrer. Par conséquent, ces protéines de jonction lacunaire constituent une cible thérapeutique potentielle dans le traitement de l'ischémie.

Par une approche *in silico*, nous avons identifié 1615 molécules approuvées par la FDA et susceptibles d'interagir avec Cx43. Nous en avons retenu une, la Naldemedine, un antiopioïde utilisé dans le traitement des constipations chroniques, et qui a montré une affinité de liaison élevée avec Cx43.

À la lumière des données d'amarrage moléculaire, la Naldemedine semble être un candidat potentiel pour cibler la Cx43. Cependant, des analyses de simulation moléculaire restent indispensables pour déterminer la stabilité de cette interaction au cours du temps. Toutefois, seuls des tests *in vivo*, pourraient confirmer ou infirmer cette interaction et potentiellement l'effet inhibiteur de la Naldemedine, ce qui ouvrirait la voie à une utilisation de cette molécule connue et testée, dans l'ischémie et les pathologies cardiaques impliquant la Cx43 et les jonctions lacunaires.

Liste des Références

Liste des références

A

Adjedj J., Berdeaux A (2020) Biologie et Physiopathologie cardiovasculaire et de l'hémostase. Cardiologie et maladies vasculaires ; Pages 1-99.

Allen T W., Klink W H et Polyzou WN (2001) Analyse ponctuelle des facteurs de forme de deutons élastiques. Examen physique C ; Volume 63, Numéro 3.

B

Bai B., Yue B., Aoyama H (2018) Les motifs cruciaux et les résidus dans les boucles extracellulaires influencent la formation et la spécificité de l'amarrage des connexines. Biochimica ET Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes ; Volume 1860, Numéro 1, pages 9-21.

Baker D E (2017) Examen des médicaments du formulaire : Naldemedine. Pharmacie hospitalière ; Volume 52, Numéro 7, Pages 464-468.

Bessagnet F., Desmoulière A (2020) Le cœur. Actualités Pharmaceutiques ; Volume 59, Numéro 599, Pages 57–61.

Beyer E C., Berthoud V M (2017) Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. BBA – Biomembranes; Volume 1860, Numéro 1, Pages 5-8.

Blair H A (2019) Naldemedine: Une revue de la constipation induite par les opioïdes. Médicaments ; Volume 79, Numéro 11, Pages 1241-1247.

Boengler K., Heusch G., Schulz R (2006) Connexin 43 et préconditionnement ischémique : effets de l'âge et de la maladie. Gériatrie expérimentale ; Volume 41, Numéro 5, Pages 485-488.

Boengler K., Schulz R., (2017) Connexin 43 et mitochondries dans la santé et les maladies cardiovasculaires. Dynamique mitochondriale en médecine cardiovasculaire ; Pages 227-246.

C

Chen C-C., Kuo C-Y., Chen R.-F (2016) Rôle du CAPE sur la protection des cardiomyocytes via la régulation de la connexine 43 sous hypoxie. Journal international des sciences médicales ; Volume 13, Numéro 10, Pages 754-758.

Cocozzelli A G., White T W (2019) Les mutations de la connexine 43 conduisent à une fonctionnalité accrue de l'hémicanal dans les maladies de la peau. Journal international des sciences moléculaires ; Volume 20, Numéro 24, Pages 1-15.

Liste des références

Coluzzi F., Scerpa, M S., Pergolizzi J (2020) Naldemedine : une nouvelle option pour l'OIBD. Journal of Pain Research; Volume 13, Numéro 1209-1222.

D

Dallakyan S., Olson A J (2014) Criblage de bibliothèques de petites molécules par amarrage avec PyRx. Biologie chimique, Pages 243-250.

Delvaeye T., Vandenabeele P., Bultynck G., Leybaert L and Krysko D V (2018) Therapeutic Targeting of Connexin channels: New Views and Challenges. Trends in Molecular Medicine; Volume 24, Numéro 12, Pages 1036-1053.

E

Elie F (2004) Liaison hydrogène et autres liaisons chimiques. ResearchGate ; page 14.

Etienny A., Ancedy Y., Soulat-Dufour L., Ederhy S., Adavane-Scheuble S., Nhan P., Bensaid R., Chauvet-Droit M., Boccara F., Cohen A (2019) Échocardiographie de stress dans la cardiopathie ischémique. EMC-Traité de Médecine Akos ; Volume 14, Numéro 2.

F

Fontes M S C., Van Veen T A B., de Bakker J M T., van Rijen H V M (2012) Conséquences fonctionnelles de l'expression anormale de Cx43 dans le cœur. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes ; Volume 1818, Numéro 8, Pages 2020-2029.

Fukumura K., Yokota T., Baba Y., Arjona Ferreira J C (2017) Phase 1, études randomisées, en double aveugle, contrôlées par placebo sur l'innocuité, la tolérabilité et la pharmacocinétique de la naldemedine chez des volontaires sains. Pharmacologie clinique dans le développement de médicaments ; Volume 7, Numéro 5, Pages 474-483.

G

Galli G L J (2011) Conception et physiologie du coeur | Ultrastructure cellulaire des cellules cardiaques chez les poissons. Encyclopedia of Fish Physiology; Volume 2, Pages 1006-1014.

H

Haefliger J., Allagnat F., Krattinger N., Nicod P., Meda P (2005) Jonctions communicantes et pathologies. Médecine interne; Volume 9, Numéro 017, Pages 1126-1133.

Harkouk H., Pares F., Daoudi K., Fletcher D (2018) Pharmacologie des opioïdes. EMC-Traité de Médecine Akos ; Volume 15, Numéro 1, Pages 23.

Liste des références

Hattach L., Manzo-Silbermann S (2019) Coronaropathies. EMC-Traité de Médecine Akos ; Volume 3, Pages 7.

Hervé J C., Derangeon M., Théveniau-Ruissy M., Miquerol L., Sarrouilhe D., Gros D (2008) Connexines et canaux jonctionnels. Leurs rôles dans la propagation de l'activité électrique cardiaque et le développement du cœur. Pathologie Biologie; Volume 56, Numéro 5, Pages 334–341.

Hood A R., Ai X., Pogwizd, S M (2017) Régulation des jonctions communicantes cardiaques par les protéines phosphatases. Journal de cardiologie moléculaire et cellulaire ; Volume 107, Pages 52-57.

Hu k., PharmD., Bridgeman M B., BCPS., BCGP (2018) Naldemedine (Symproïque) pour le traitement De la constipation induite par les opioïdes. DRUG FORECAST; Volume 43, Numéro 10, Pages 601-627.

Huang C C., Meng E C., Morris J H., Pettersen E F., Ferrin T E (2014) Amélioration de UCSF Chimera via des services Web. Recherche sur les acides nucléiques, Volume 42, Numéro 1, Pages 478-484.

I

Irwin J J., Sterling T., Mysinger M M., Bolstad ES., Coleman RG (2015) ZINC : Un outil gratuit pour découvrir la chimie pour la biologie. Journal of Chemical Information and Modeling ; Volume 52, Numéro 7, Pages 1757-1768.

J

Jourdan J., Bureau R., Rochais C., Dallemagne P (2020) Repositionnement du médicament : un bref aperçu. Journal de pharmacie et de pharmacologie.

K

Kalogeris T., Baines C P, Krenz M., Korthuis, R J (2016) Ischémie/Reperfusion. Physiologie complète ; Pages 113-170.

Keepers B., Liu J., Qian L (2019) Qu'y a-t-il dans un cardiomyocyte - Et comment en fabriquer un par reprogrammation ?. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Recherche sur les cellules moléculaires; Volume 1867, Numéro 3.

Kharkar P S., Guerrier S., Gaud R S (2014) Ammarage inversé : un outil puissant pour le repositionnement et le sauvetage des médicaments. La CHIMIE MEDICINALE ; Volume 6, Numéro 3.

Liste des références

Kirca M., Kleinbongard P., Soetkamp D., Heger J., Csonka C., Ferdinandy P., Schulz R (2015) Interaction entre Connexin 43 et l'oxyde nitrique synthase dans les mitochondries cardiaques de souris. Journal de médecine cellulaire et moléculaire ; Volume 19, Numéro 4, Pages 815-825.

Kloner R., Rezkalla S (2006) Préconditionnement, postconditionnement et leur application à la cardiologie clinique. Recherche cardiovasculaire ; Volume 70, Numéro 2, Pages 297-307

L

Larocque A (2012) protocole de traitement de l'intoxication aiguë aux opioïdes. Portail Toxicologie clinique ; Volume 28, Numéro 4.

Leithe E., Mesnil M., Aasen T (2018) Le connexin 43 C-terminus : Une queue de beaucoup d'histoires. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes ; Volume 1860, Numéro 1, Pages 48-64.

Leybaert L., Lampe P D., Dhein S., Kwak B R., Ferdinandy P., Beyer E C., Laird D W., Naus C C., Green C R., Schulz R., Levy F O (2017) Connexines dans la santé et les maladies cardiovasculaires et neurovasculaires : implications pharmacologiques. PHARMACOLOGICAL REVIEWS ; Volume 69, Numéro 4, Pages 396-478.

Lliodronitis E K., Lazo A., Kremastinos Th D (2007) Préconditionnement ischéémique : protection contre la nécrose myocardique et l'apoptose. Vasc Gestion des risques pour la santé ; Volume 3, Numéro 5, Pages 629-637.

M

Marcadet D M., Zerbib E (2015) Evaluation de l'ischémie Myocardique. Stratégie thérapeutique ; Volume 9, Numéro 75, Pages 152-165.

Markham A (2017) Naldemedine : Première approbation mondiale. Médicaments ; Volume 77, Numéro 8, Pages 923-927.

Martins-Marques T., Hausenloy D J., Sluijter J P G., Leybaert L., Girao H., (2021) Communication intercellulaire dans le cœur : opportunités thérapeutiques pour l'ischémie cardiaque. Tendances en médecine moléculaire ; Volume 27, Numéro 3, Pages 248-262.

Mazereeuw-Hautier J (2008) Syndrome de kératite-ichtyose-surdité (KID). Annales de Dermatologie et de Vénérologie ; Volume 135, Numéro 1, Pages 80-82.

Liste des références

Meiltz A., Ciaroni, S (2005) 'L'ischémie myocardique silencieuse: un silence assourdissant', Rev Med Suisse 2005; volume 9, Nyméro 009, Pages 613 – 616.

Meng X., Zhang H., Mezei M., Cui M (2011) Ammarage moléculaire: une approche puissante pour la découverte de médicaments basée sur la structure. HHS Puclic Access ; Volume 7, Numéro 2, Pages 146-157.

Michela P., Velia V., Aldo P., Ada P (2015) Rôle de la connexine 43 dans les maladies cardiovasculaires. Journal européen de pharmacologie ; Volume 768, Pages 71-76.

N

Naveja J J., Dueñas-González A., Medina-Franco J L (2016) Réadaptation de médicaments pour des cibles épigénétiques guidées par des méthodes informatiques. Epi-informatique; Pages 327-357.

Nielsen M S., Axelen L N., sorger P L., Verma V., Delmar M and Holstein-Rathlou N (2012) Gap Junction. Comprehensive Physiology; Volume 2, Numéro 3, Pages 1981-2035.

Novac N (2013) Défis et opportunités du repositionnement des médicaments. Tendances des sciences pharmacologiques ; Volume 34, Numéro 5, Pages 267-272.

P

Pagliario B R., Cannata F., Stefanini, G G., Bolognese L (2019) Ischémie myocardique et maladie coronarienne dans l'insuffisance cardiaque. Avis sur l'insuffisance cardiaque.

R

Reichle D E (2020) Traitement de l'énergie par les animaux. Le cycle mondial du carbone et le changement climatique ; Pages 55-78.

Rhett J M., Ongstad E L., Jourdan J., Gourdie, RG (2012) Cx43 s'associe à Nav1.5 dans le périnexus des cardiomyocytes. Le Journal de biologie membranaire ; Volume 245, Numéro 7, Pages 411-422.

Rodríguez-Sinovas A., Sánchez J A., Valls-Lacalle L. Consegal M., I Ferreira-González (2021) Connexins in the Heart: Regulation, Function and Involvement in Cardiac Disease. International Journal of Molecular Sciences; Volume 22, Numéro 4413.

Rudrapal M., Khairnar S J., Jadhav A G (2020) Drug Repurposing (DR) : Une approche émergente dans découverte de médicaments. Drug Repurposing; Volume 978.

S

Liste des références

Saidi Brikci-Nigassa A., Clement M-J., Ha-Duong T., Adjadj E., Ziani L., Pastre D., Savarin P (2012) La phosphorylation contrôle l'interaction du domaine C-terminal de Connexin43 avec la tubuline et les microtubules. *Biochimie* ; Volume 51, Numéro 21, Pages 4331-4342.

Salameh A., (2006) Cycle de vie des connexines : régulation de la synthèse et de la dégradation des connexines. *Avancées en cardiologie* ; Volume 42, Pages 57-70.

Schilperoord P (2007) Plantes cultivées en Suisse- le pavot.

Schuijf J D (2005) Imagerie cardiaque dans la maladie coronarienne : différentes modalités. *Cœur* ; Volume 91, Numéro 8, Pages 1110-1117.

Schulz R., Görge P M., Görbe A., Ferdinandy P., Lampe PD., Leybaert L (2015) Connexin 43 est une cible thérapeutique émergente dans les lésions d'ischémie/reperfusion, la cardioprotection et la neuroprotection. *Pharmacology & Therapeutics* ; Volume 153, Pages 90-106.

Schulz R., Heusch G (2004) Connexin 43 et préconditionnement ischémique. *Recherche cardiovasculaire* ; Volume 62, Numéro 2, Pages 335-344.

Segretain D., Zeghimi A., Carette D., Carpentier F., Dompierre J., Gilleron J., Pointis G (2011) Connexines testiculaires : marqueurs physiopathologiques et cibles potentielles aux toxiques environnementaux. *Andrologie fondamentale et clinique* ; Volume 21, Numéro 2, Pages 75-82.

Severs N (2004) Altérations des jonctions lacunaires dans les maladies cardiaques humaines. *Recherche cardiovasculaire* ; Volume 62, Numéro 2, Pages 368-377.

Sorbets E., Lallmahomed E., Kretz S., Vallée A., Lelong H., Blachier V., Blacher J (2020) Prévention secondaire chez le coronarien. *EMC-Traité de Médecine Akos* ; Volume 23, Numéro 4, Pages 11.

Stains J P., Civitelli R (2016) Un test fonctionnel pour évaluer la communication de cellule à cellule médiée par la connexine 43 des seconds messagers dans les cellules osseuses en culture. *Gap Junction protocols, Methods in Molecular Biology*; Volume 1437, Pages 193-201.

Stern E K., Brenner D M (2018) Pleins feux sur la naldémédine dans le traitement de la constipation induite par les opioïdes chez les patients adultes souffrant de douleurs

Liste des références

chroniques non cancéreuses : conception, développement et place dans la thérapie. *Journal de recherche sur la douleur* ; volume 11, Pages 195-199.

T

Talbot J., Verrecchia F (2012) Communication intercellulaire et remodelage osseux. *Biologie Aujourd'hui* ; Volume 206, Numéro 2, Pages 125-134.

Talman V., Kivelä R (2018) Cardiomyocyte—Interactions des cellules endothéliales dans le remodelage et la régénération cardiaques. *Frontières en médecine cardiovasculaire* ; Volume 5.

Teunissen B., Jongsma H., Bierhuizen M (2004) Régulation des connexines myocardiques au cours du remodelage hypertrophique. *European Heart Journal* ; Volume 25, Numéro 22, Pages 1979-1989.

Totland M Z., Rasmussen N L., Knudsen L M., Leithe E (2019) Regulation de la communication intercellulaire des jonctions lacunaires par l'ubiquitination des connexines : implications physiologiques et physiopathologiques. *Science de la vie cellulaire et moléculaire* ; Volume 77, Pages 573-591.

V

Vijesh A M., Isloor A M., Telkar S., Arulmoli T., Fun H-K (2013) Études d'amarrage moléculaire de certains nouveaux dérivés d'imidazole pour leurs propriétés antimicrobiennes. *Journal arabe de chimie* ; Volume 6, Numéro 2, Pages 197-204.

X

Xue, J., Yan X., Yang Y., Chen M., Wu L., Gou Z., Luo D (2019) La déphosphorylation de la connexine 43 contribue aux arythmies et à l'apoptose des cardiomyocytes dans les cœurs d'ischémie/reperfusion. *Recherche fondamentale en cardiologie* ; Volume 114, Numéro 15.