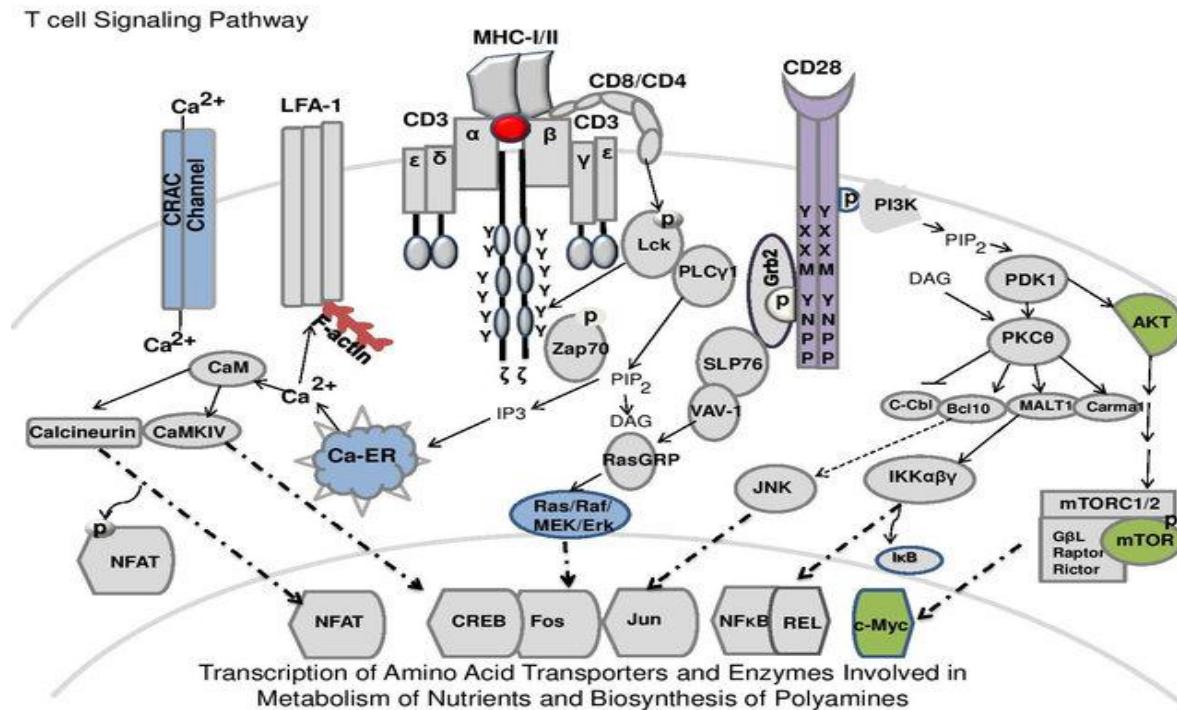


Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Master 1 Sciences Pharmacologiques

Module : CVSC (Communication et Voies de Signalisation Cellulaire)



Dr. Nada ZABAIOU

Trois types principaux de mort cellulaire :
Apoptose, autophagie et nécrose.

1- L'apoptose :

Historique: Kerr 1972

Définition :

- Le nom apoptose fait référence à la chute programmée des feuilles à l'automne : « apo » pour éloignement, « ptose » pour chute.

Implications majeures en physiologie et en pathologie :

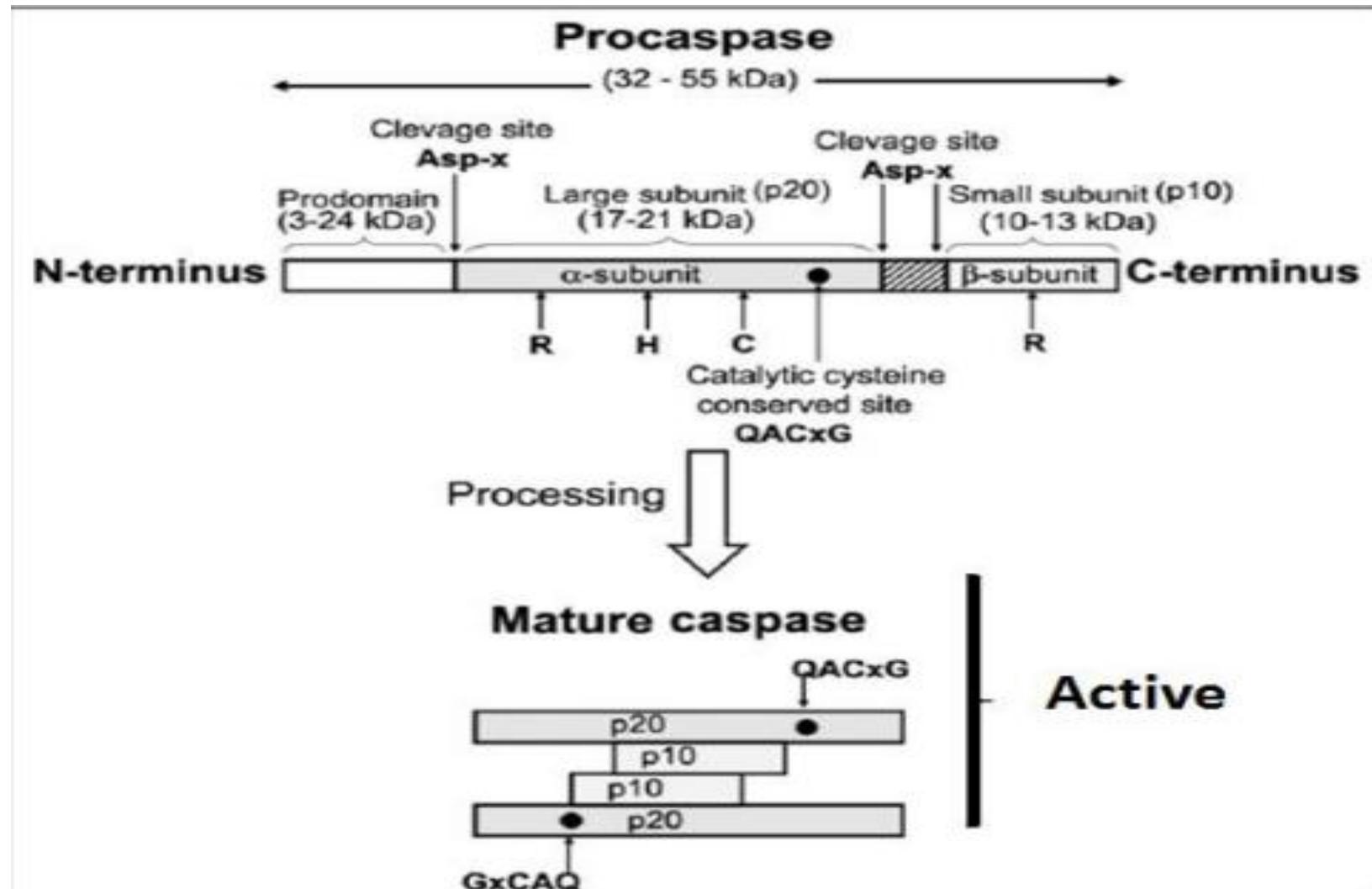
- Elimination des cellules au cours du développement embryonnaire et foetal (l'élimination des tissus inter-digitaux).
- Elimination de cellules à l'âge adulte et notamment de cellules dont l'ADN est endommagé pour maintenir l'intégrité génomique et l'homéostasie cellulaire.
- La mise en place des systèmes nerveux et immunitaire, où elle assure un nombre correct de différenciation de cellules souches. Pendant le développement embryonnaire, les neurones sont générés en excès.

Les caspases:

- Famille de protéases à cystéine qui présentent des similarités au niveau de leur séquence, de leur structure et de leur spécificité de substrat et qui clivent leurs substrats protéiques à des sites contenant un résidu aspartate.

Structure :

- Précurseur zymogène inactifs de 32-55 kDa composés de trois domaines :



Classification :

Les caspases des mammifères sont classées en 3 groupes:

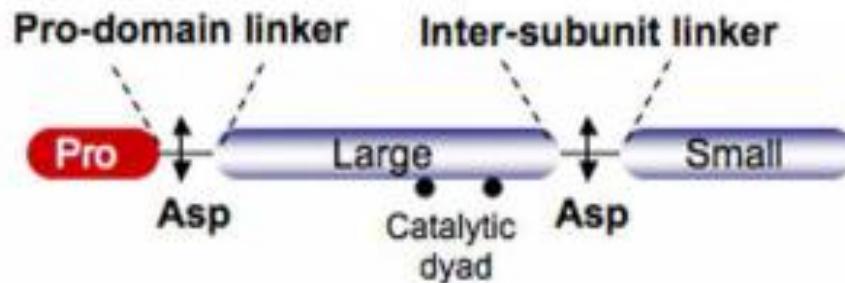
1. Les caspases inflammatoires ou caspases du groupe-I (caspases-1, -4, -5, -12, -13 et -14) : possèdent un grand prodomaine.
2. Les caspases initiatrices ou caspases du groupe-II : un long prodomaine (> 90 acides aminés) avec soit un domaine DED (caspases -8 et -10), soit un domaine CARD (caspases -2 et -9).
3. Les caspases exécutrices ou caspases du groupe-III (caspases-3, -6 et -7) : prodomaine court (20-30 acides aminés).

Classification :

	Enzyme	Prodomaine	Grande sous-unité	Petite sous-unité	Séquence peptidique de clivage sur le substrat
Caspases inflammatoires	Caspase-5	1- ⁴⁴ CARD ¹²¹	L	S	(W/L/F)EHD
	Caspase-4	1- ² CARD ⁹³	L	S	(W/L)EHD
	Caspase-1	1- ² CARD ⁹¹	L	S	(W/Y/F)EHD
Caspases effectrices	Caspase-7	1-	L	S	DE(V/I)D
	Caspase-3	1-	L	S	DE(V/I)D
	Caspase-6	1-	L	S	(T/V/I)E(H/V/I)D
Caspases initiatrices	Caspase-8	1- ⁴ DED ⁵¹ - ⁹⁹ DED ¹⁸⁰	L	S	(L/V/D)E(T/V/I)D
	Caspase-10	1- ¹⁵ DED ⁹⁹ - ¹¹³ DED ¹⁸⁹	L	S	(I/V/L)EXD
	Caspase-9	1- ¹ CARD ⁹²	L	S	(L/V/I)EHD
	Caspase-2	1- ¹⁶ CARD ¹⁰⁸	L	S	VDVAD
	Caspase-14	1-	L	S	

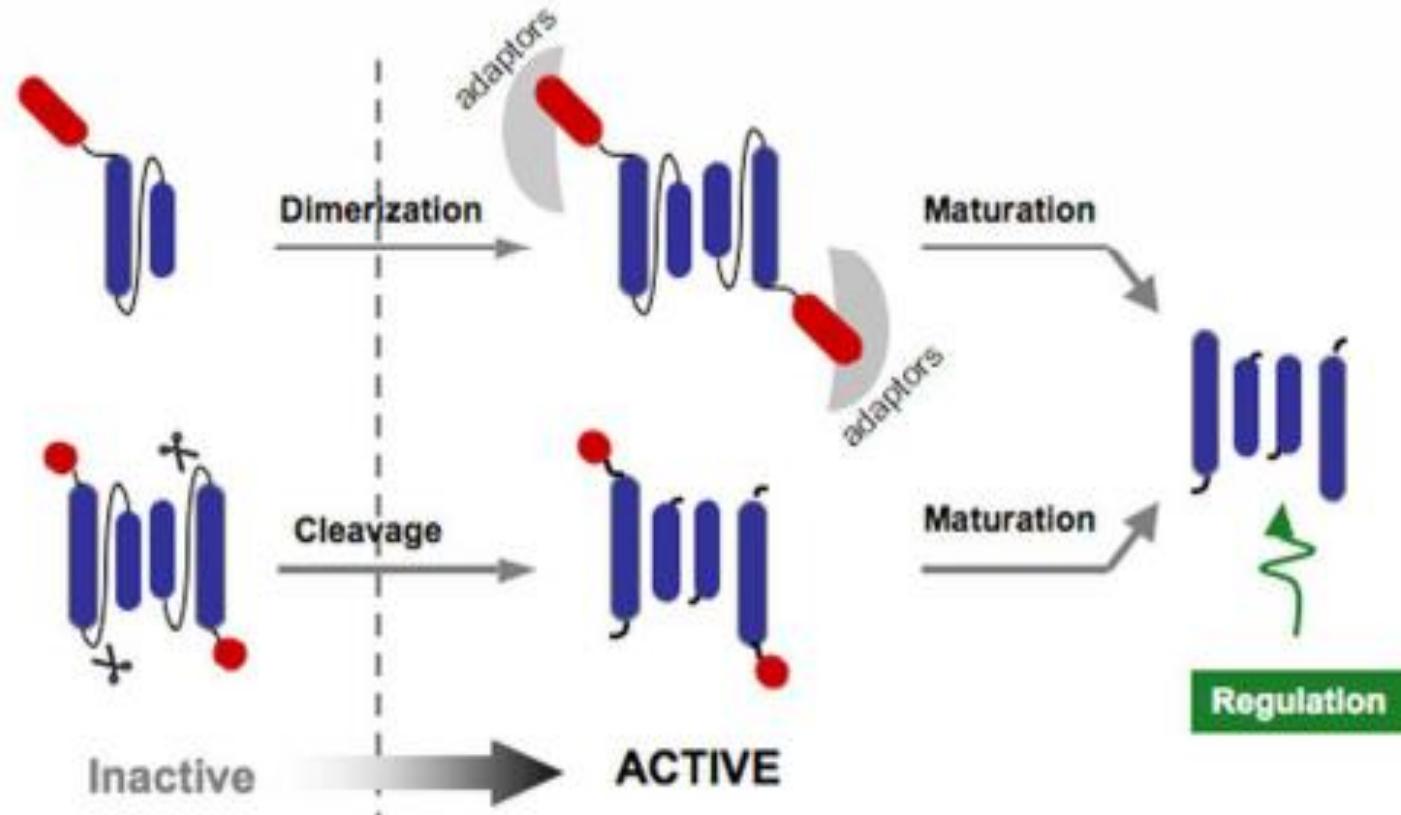
Classification :

Structures des caspases



Mode d'activation

Caspases initiatrices



Caspases effectrices

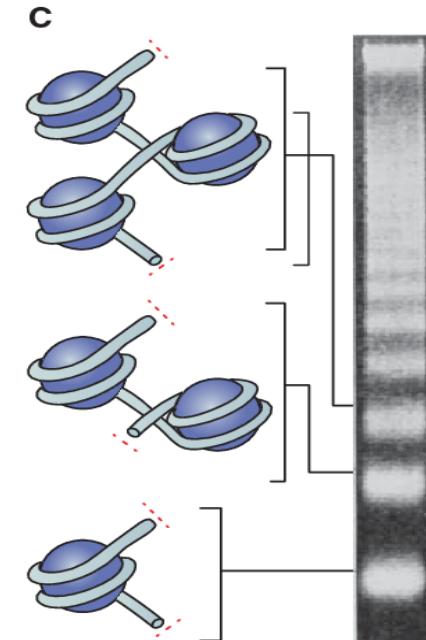
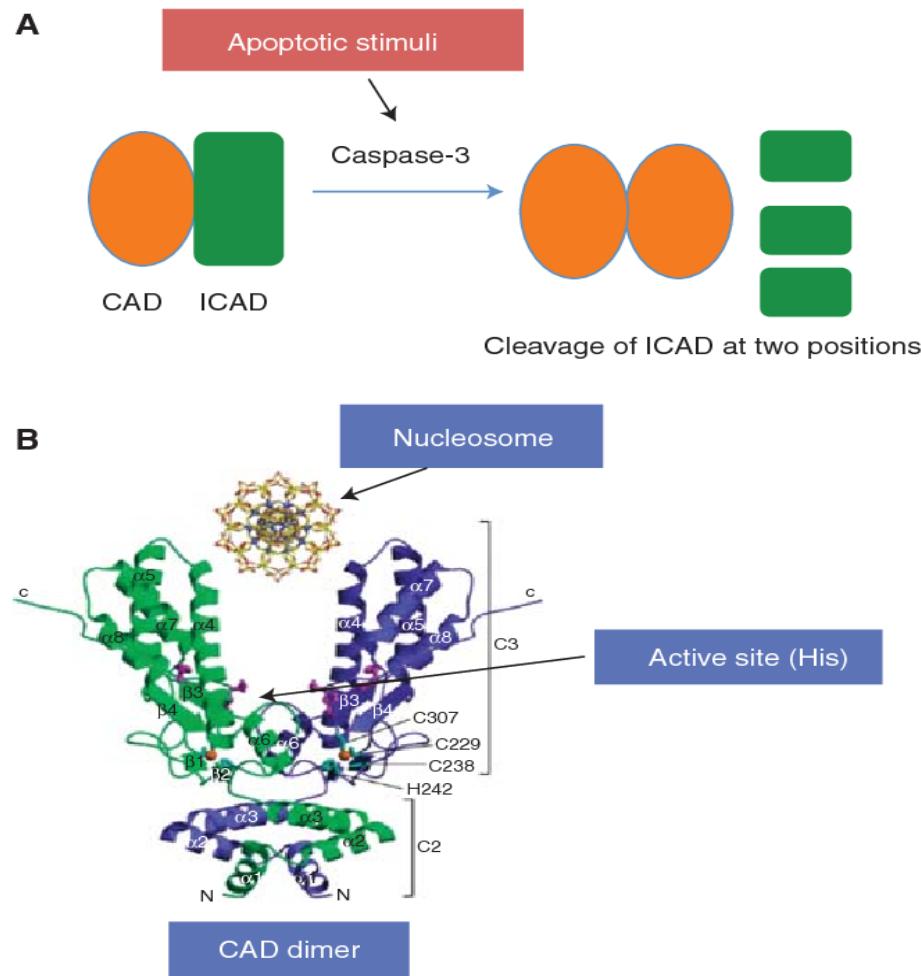
Substrats :

Caspases effectrices: substrats des caspases initiatrices.

Les caspases effectrices ont des centaines de substrats. Plus de 800 substrats ont été identifiés et classés.

Substrats :

- La CAD (caspase activated-DNase).



Substrats :

- Les lamines.
- Les protéines du cytosquelette ce qui entraîne la perte de la morphologie des cellules apoptotiques .
- PARP (ou poly (ADP-ribose) polymérase), qui est une enzyme nucléaire catalysant la fixation des polymères d'ADP-ribose sur des protéines acceptrices en réponse à des lésions de l'ADN. Elle est impliquée dans la réparation de l'ADN en synthétisant de longs polymères d'ADP-ribose. Au cours de l'apoptose, la PARP est clivée par les caspases effectrices -3 et -7 et ne peut plus synthétiser de polymères d'ADP-ribose en réponse à des lésions de l'ADN.

Voies d'induction de l'apoptose :

Trois phases : Une phase d'induction ou d'initiation, une phase d'exécution et une phase de dégradation.

Initiation : Transmission du signal apoptotique aux caspases initiatrices (phénomène réversible).

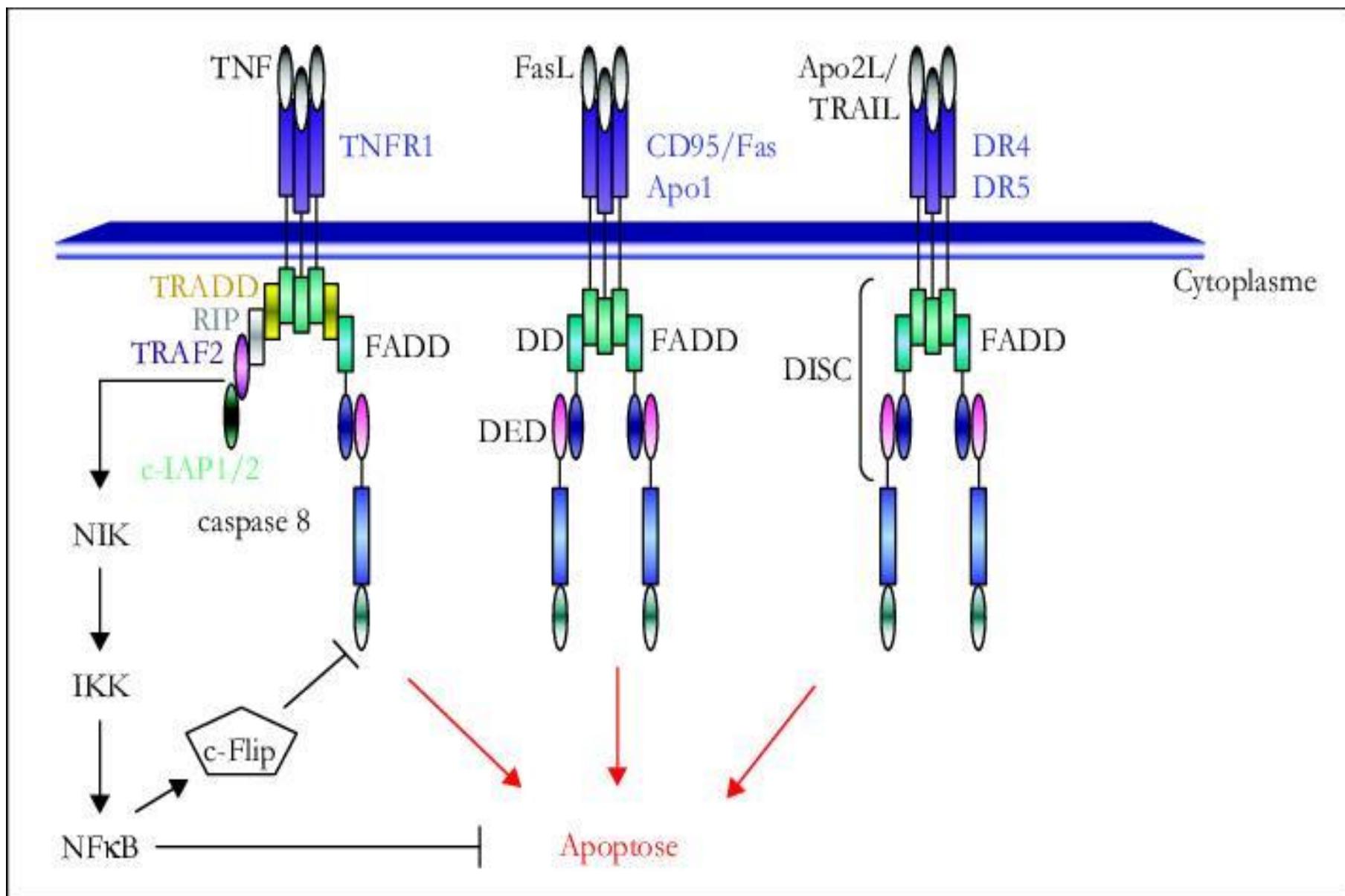
Deux voies principales d'induction de l'apoptose : voie des récepteurs de mort (ou voie extrinsèque) et voie mitochondriale (voie intrinsèque).

➤ Voie des récepteurs de mort (Voie extrinsèque)

Activée en réponse à la fixation de ligands spécifiques, de type cytokines, sur des récepteurs de surface appelés récepteurs de mort qui appartiennent à la super-famille des récepteurs du TNF Tumor Necrosis Factor (TNFR) comme le récepteur Fas, les récepteurs de TNF (TNFR-1, TNFR-2) et les récepteurs du TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) DR-4 et DR-5.

La fixation d'un ligand sur son récepteur de mort induit sa trimérisation et son activation.

Voie des récepteurs de mort

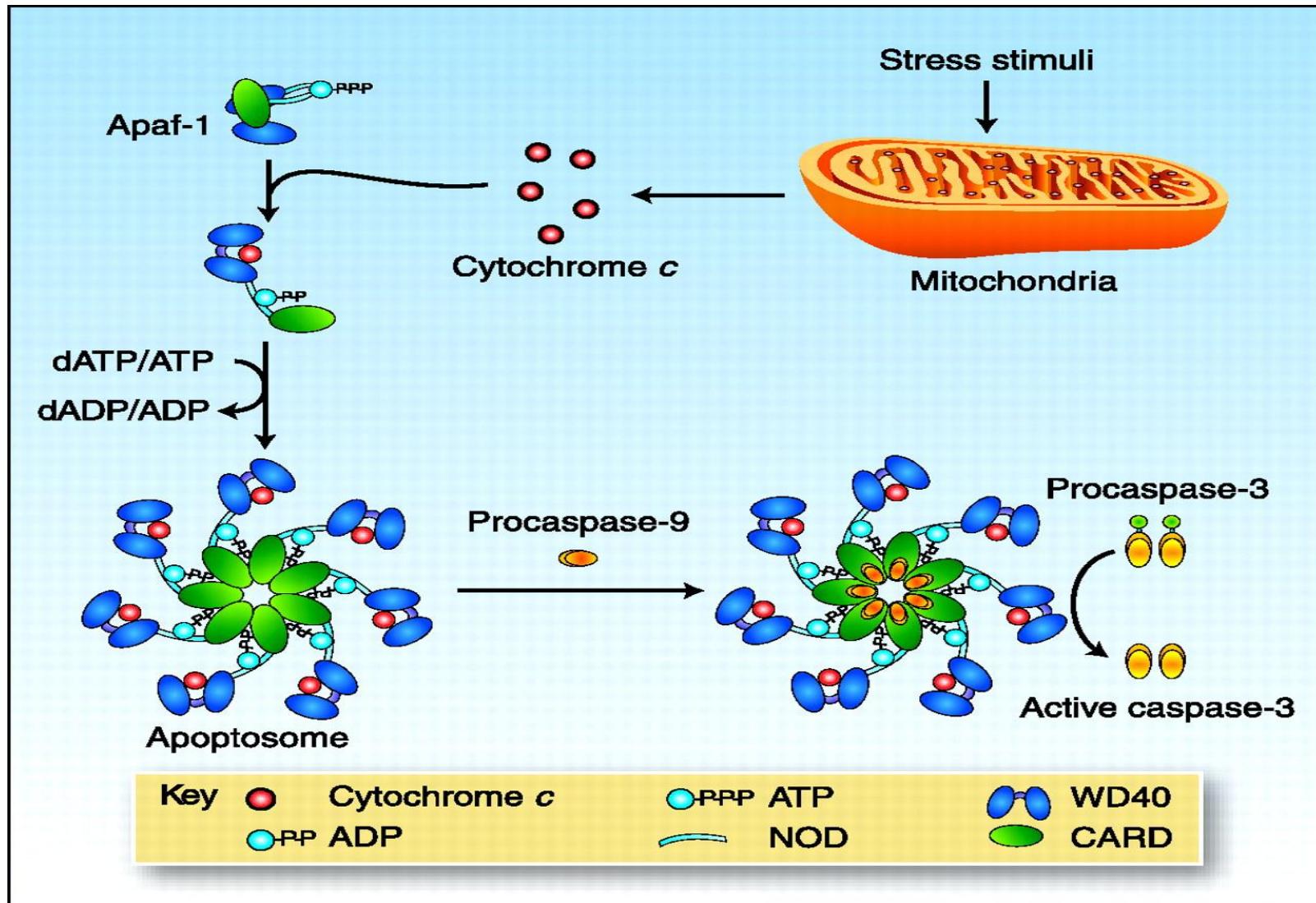


➤ Voie mitochondriale (voie intrinsèque)

Activée par le stress, les dommages de l'ADN, les infections virales, privation de facteurs de croissance les radiations UV, ...

Ils conduisent à la perméabilisation de la membrane interne mitochondriale induisant une chute du potentiel transmembranaire mitochondrial ($\Delta\Psi_m$) et la libération des protéines pro-apoptotiques normalement localisées dans l'espace intermembranaire (cytochrome c, Apf-1, AIF,...), dans le cytosol, par les pores de transition de perméabilité (PTP).

❖ La voie intrinsèque mitochondriale caspases dépendante



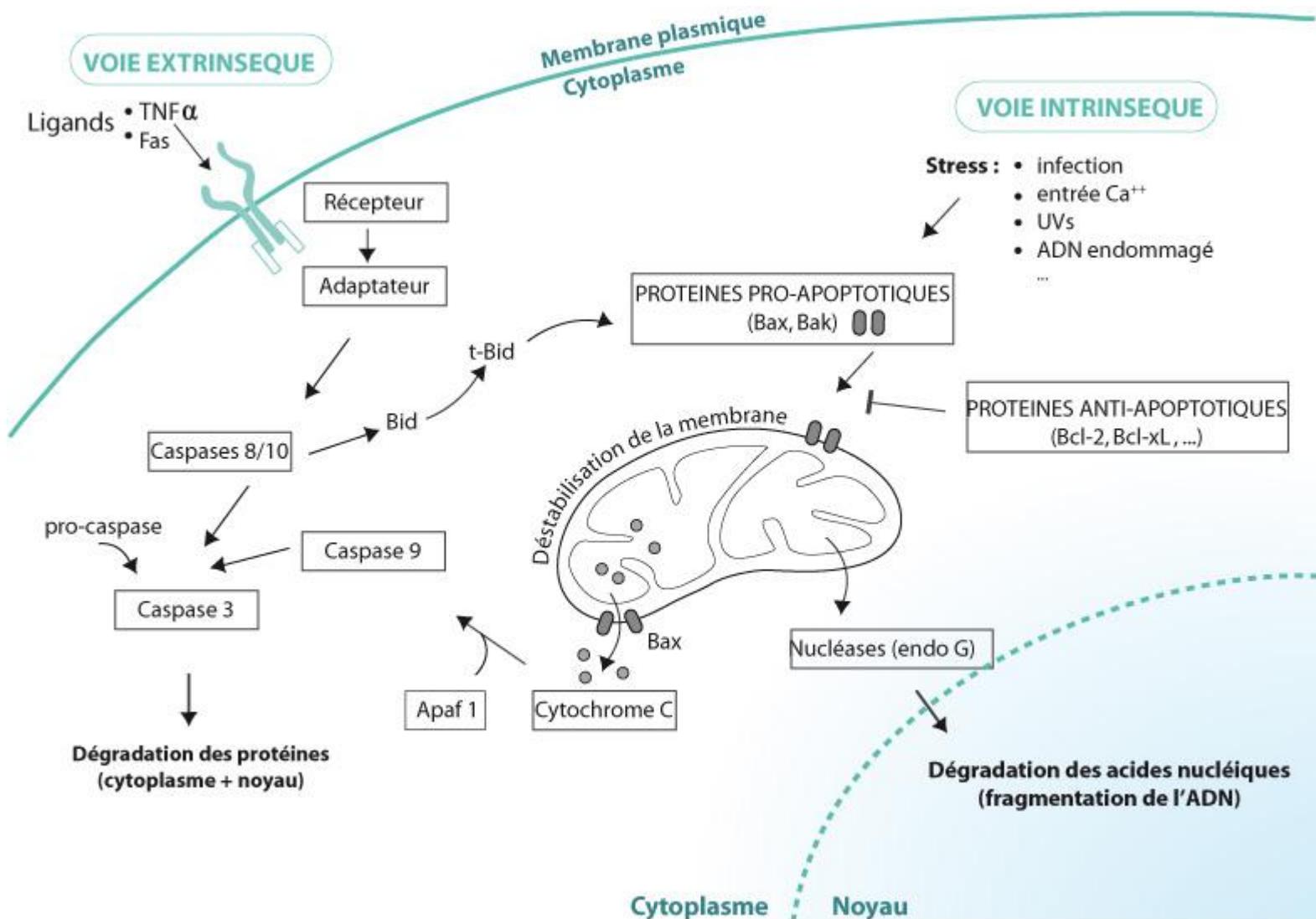
Après formation de l'apoptosome, les monomères de caspase 9 peuvent s'activer par auto-clivage, ce qui leur permet d'activer les caspases effectrices -3 et -7.

❖ La voie intrinsèque mitochondriale caspases indépendante

D'autres protéines pro-apoptotiques sont aussi libérées de la mitochondrie qui sont le facteur induisant l'apoptose AIF (Apoptosis Inducing Factor) et l'endonucléase G.

Leur relargage dans le cytoplasme est un évènement apoptotique tardif qui n'aura lieu qu'une fois la cellule est entrée dans l'apoptose.

Relation entre les voies intrinsèques et extrinsèques :



Les protéines Bcl2 (B-cell lymphoma-2) :

Famille de protéines qui régulent et contrôlent les événements apoptotiques mitochondriaux.

Deux grands sous groupes : les protéines inductrices de mort cellulaire (pro-apoptotiques) (Bax, Bad, Bid) et les protéines inhibant la mort cellulaire (antiapoptotiques) (Bcl-2, Bcl-xL).

Le rapport entre ces deux populations détermine la susceptibilité de la cellule aux stimuli de mort.

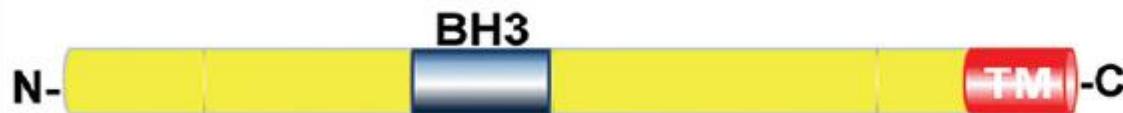
**Multi-domain pro-apoptotic BCL2 family proteins:
(BAK and BAX)**



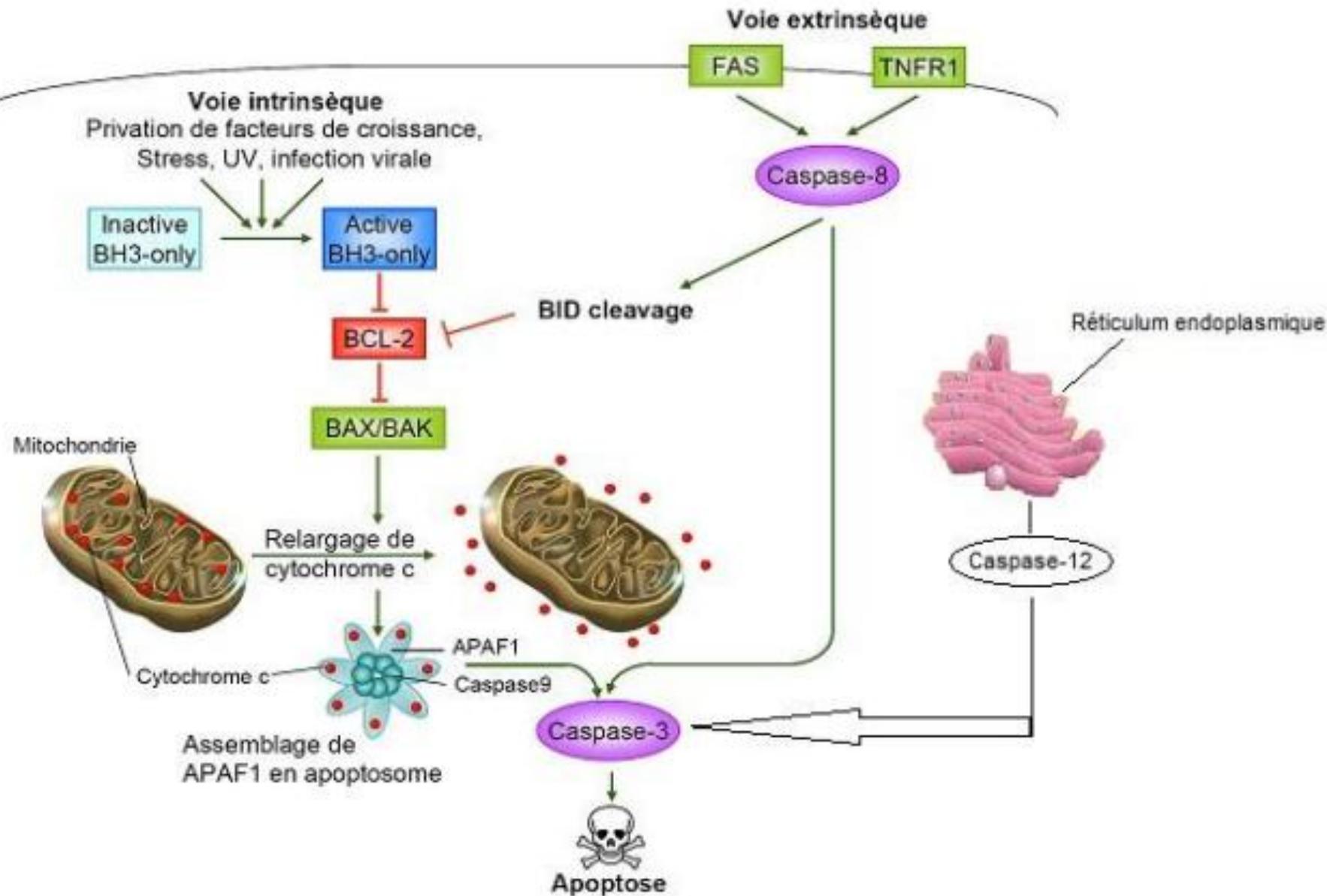
**Multi-domain anti-apoptotic BCL2 family proteins:
(BCL2, BCLX_L, BCLW, BCLB, MCL1 and BFL1)**



**BH3 only pro-apoptotic BCL2 family proteins:
(BIM, PUMA, BID, BAD, NOXA, BIK, BMF, HRK)**



Bcl2 et Bcl-xL anti-apoptotiques: inhibent l'activité de Bid et Bax qui participent à la formation des pores dans la membrane mitochondriale.



Les molécules régulatrices des caspases

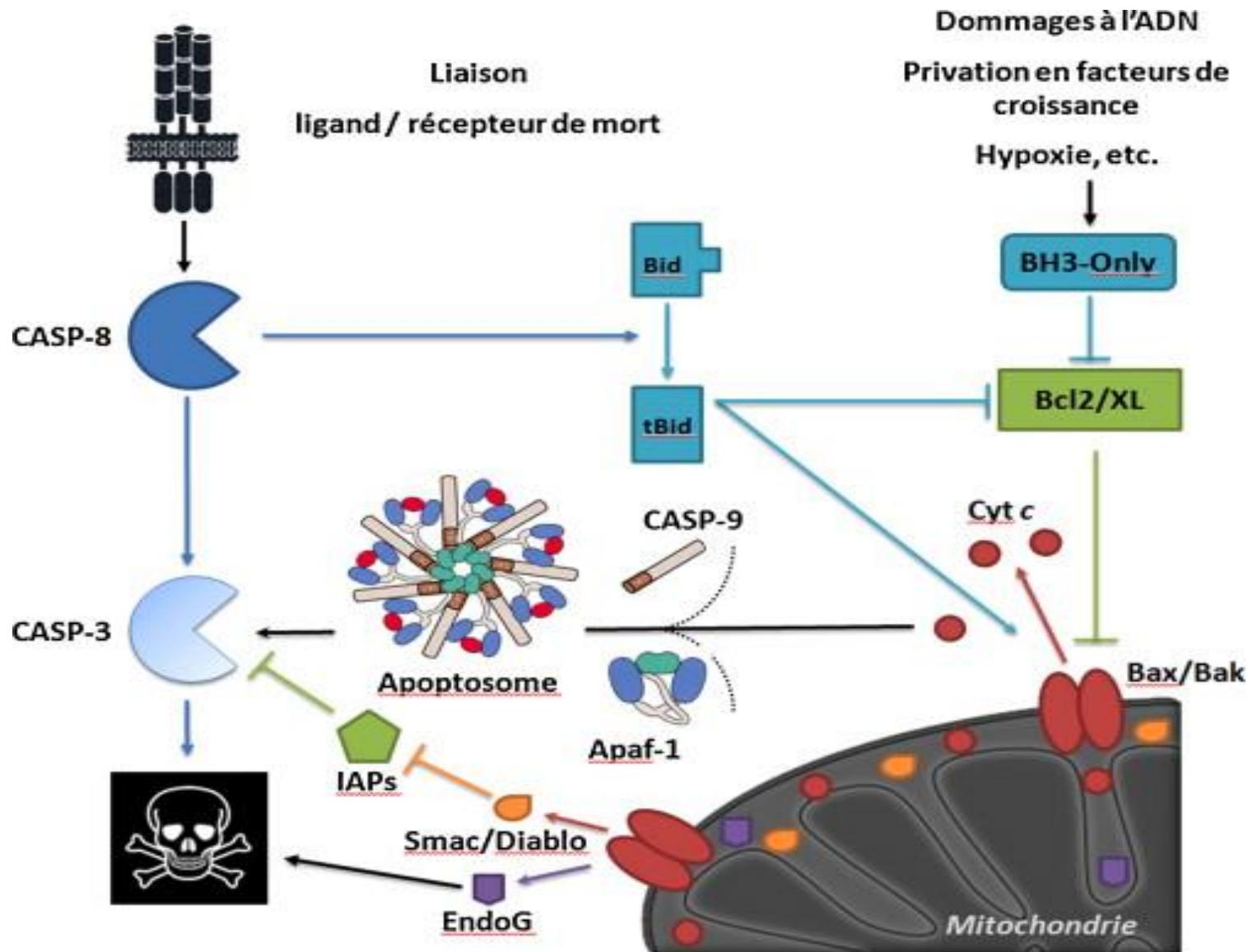
Les protéines inhibitrices de l'apoptose IAP (XIAP, C-IAP1, C-IAP2, survivin): agissent par deux mécanismes:

- Liaison directe aux caspases supprimant leur activité catalytique.
- Activité E3 ligase → ubiquitination et dégradation des caspases cibles.

Apoptose induite par Fas/caspase -8: IAP inhibe le substrat de casp-8 : la caspase-3.

Dans la voie mitochondriale: les IAPs se fixent sur la caspase -9 et empêchent sa fixation au cytochrome c.

Smac/diablo et Omi/Htra2 sont deux protéines relarguées de la mitochondrie au cytoplasme : contribuent à l'activation des caspases en séquestrant les IAPs.



Quelques caractéristiques morphologiques des cellules apoptotiques

- * Les cellules s'isolent et perdent les jonctions cellulaires.
- * La cellule se rétracte et le volume cellulaire diminue.
- * Les mitochondries peuvent migrer à un pôle du cytoplasme.
- * Condensation de la chromatine et formation de corps apoptotiques
- * Perte en acide sialique
- * Transduction des phosphatidylsérines à la surface de la membrane plasmique

2- L'autophagie :

Mécanisme de survie de la cellule à une carence en nutriments. L'auto-digestion de ses organites permet à la cellule de palier ses besoins en substrats. Lorsque la carence persiste, la cellule déclenche un processus de mort cellulaire «autophagy associated cell death».

3- La nécrose

Elle est considérée comme une mort incontrôlée et non souhaitable.

Les caractéristiques de la nécrose

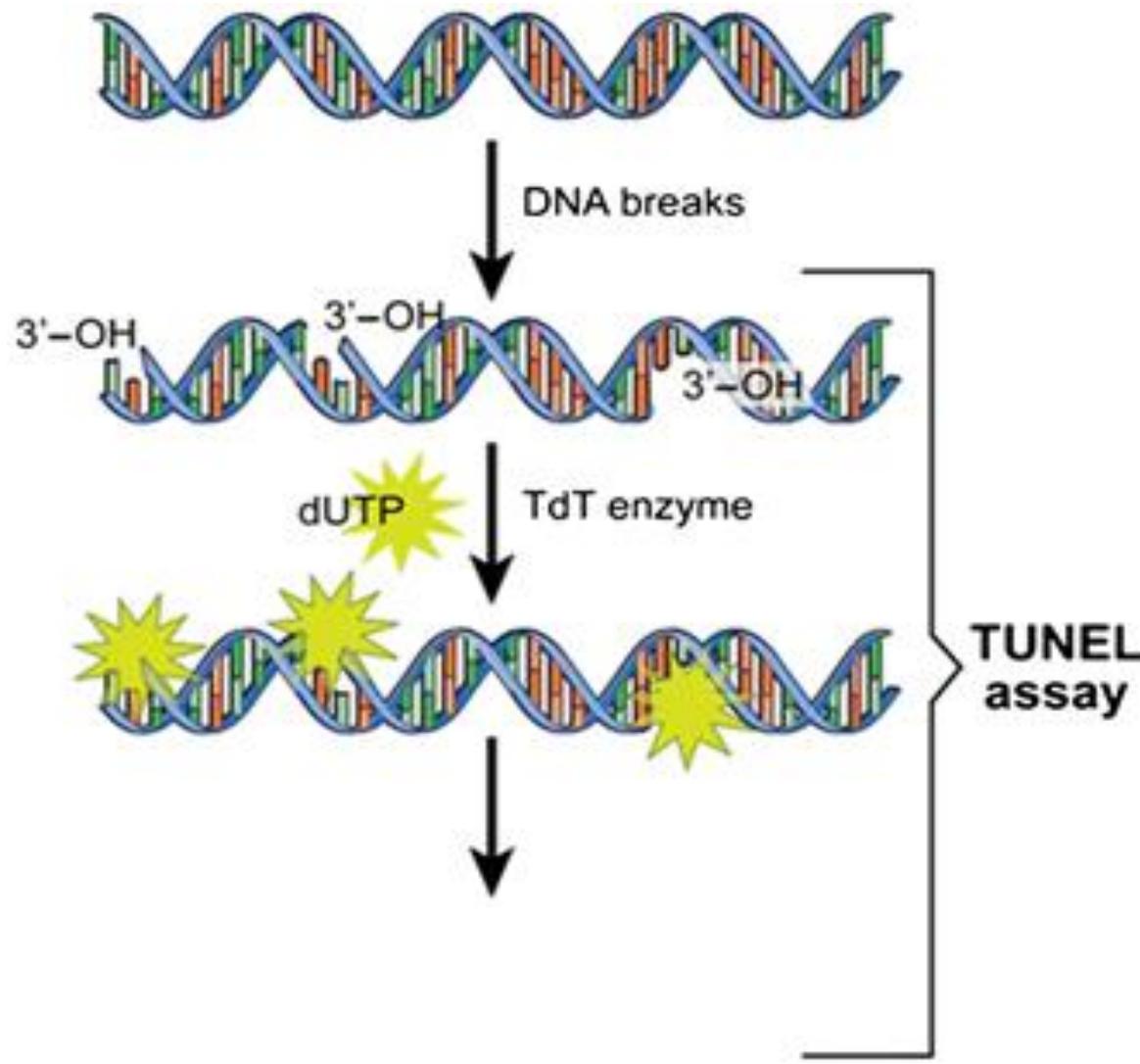
Augmentation du volume de la cellule, gonflement des organelles et rupture précoce de la membrane plasmique avec perte du contenu intracellulaire.

Résulte en général d'un traumatisme comme un stress mécanique, chimique ou des températures extrêmes.

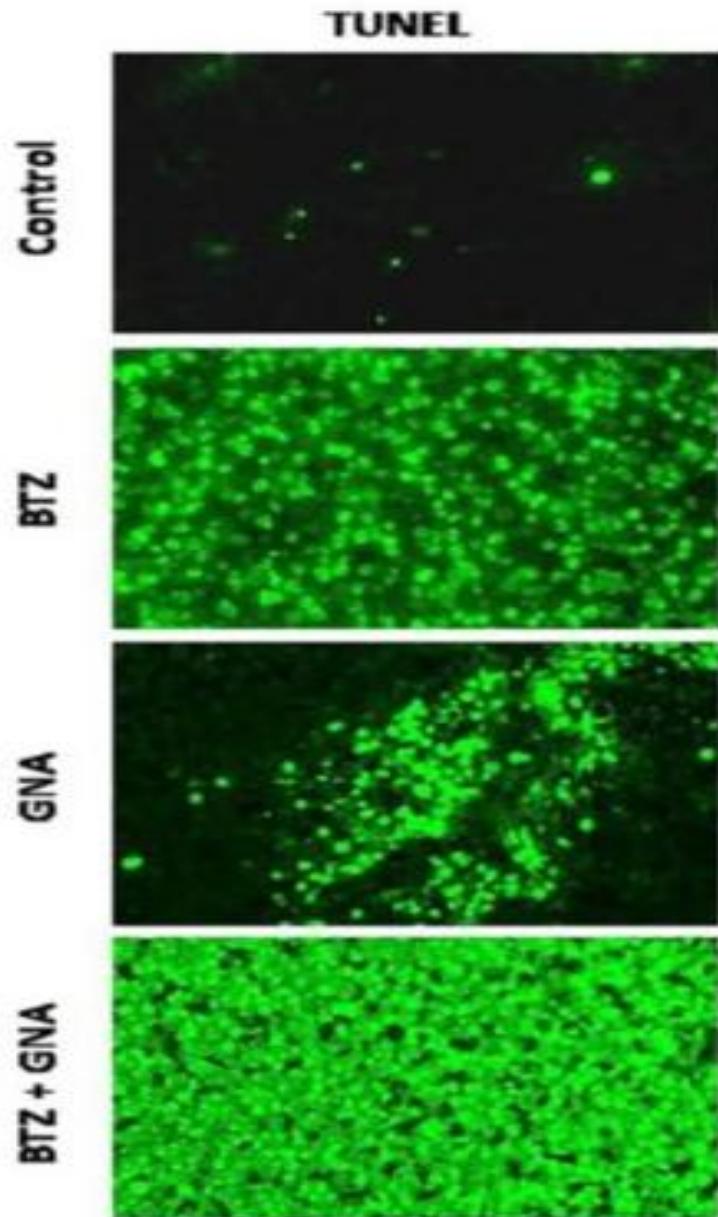
La nécrose intervient lors de phénomènes d'ischémie/reperfusion.

Etude de l'apoptose :

Marquage des fragments d'ADN fragmentés

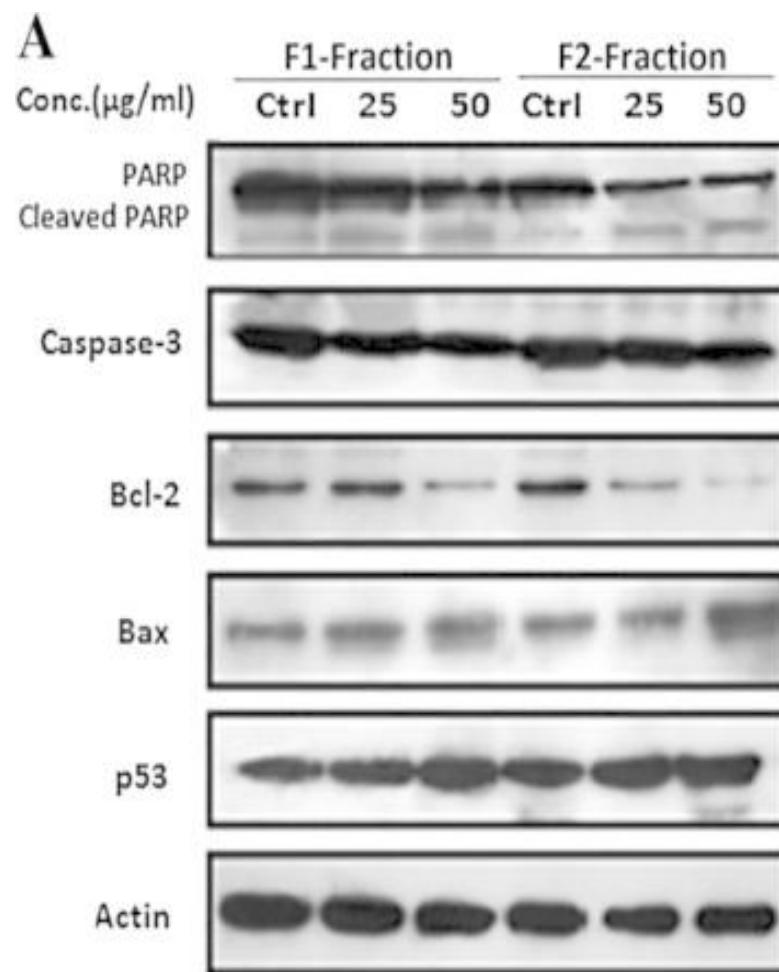


Etude de l'apoptose :



Etude de l'apoptose :

Western Blot



Etude de l'apoptose :

Annexine V et IP

	Cellules normales	Cellules apoptotiques	Cellules nécrotiques
Annexine	-	+	+
Iodure propidium	-	-	+

Etude de l'apoptose :

Annexine V et IP

