

MORT CELLULAIRE: **APOPTOSE ET NECROSE**

La mort cellulaire a été mise en évidence tardivement. A l'heure actuelle, c'est un processus obligatoire à toute cellule Eucaryotes et organismes pluricellulaires.

On est en train de mettre en évidence un processus semblable chez les Bactéries.

Cette M.C.P. (Mort Cellulaire Programmée) est responsable de l'hémostase cellulaire qui apparaît dès le début de la vie d'un individu (*cf. article*).

Notons quelques pathologies de la régulation de cette M.C.P.: cancers (perte du verrou apoptotique), maladie d'Alzheimer (atteinte du système cérébral), maladie de Huntington, S.I.D.A., ...

1. Importance de la M.C.P.

• Définition de la M.C.P.

Processus « cellulaire actif » qui atteint son paroxysme lors de la M.C.P. Cette M.C.P. peut se produire suite à des signaux issus du développement ou de l'environnement ou encore en réponse à des liaisons physiologiques décelées par le réseau de surveillance interne de l'organisme (système immunitaire).

• Principales cellules qui subissent la M.C.P.

cf. poly A doc.1

• Cellules nuisibles:

En priorité: les Lymphocytes T autoréactifs qui agissent contre le soi (si persistance = pathologie auto-immune), les cellules à ADN muté, les cellules qui abritent des agents pathogènes.

• Cellules « inutiles »:

Par exemple les neuroblastes au cours de la vie embryonnaire (neurones en excès, précurseurs des neurones). Seuls les neuroblastes ayant déjà établis des connexions nerveuses persistent. Aussi: les cellules de la palmure interdigitale (aucune utilité chez l'Homme), les canaux de Müller chez les hommes.

Lors des traitements de cancers par chimiothérapie, les molécules agissent en provoquant des liaisons cellulaires qui vont déclencher la mort cellulaire par M.C.P.

• M.C.P.: Apoptose – Nécrose.

Il existe deux voies principales par lesquelles les cellules meurent:

→ voie accidentelle = Nécrose,

→ voie programmée = suicide actif dont le principal mécanisme est l'Apoptose (*cf. article M.C.P. 1, 2, 3*).

• Nécrose:

cf. doc. 2 poly. A

La nécrose se produit quand la cellule reçoit, ou subit une agression structurale ou chimique dont elle ne peut pas se remettre. Ex: ischémie (= manque d'oxygène), température extrême, traumatisme physique,...

Globalement la cellule se désagrège et est digérée par ces propres enzymes (autodigestion). Il y a alors une pénétration massive d'eau dans la cellule. Les cellules gonflent, les organites vont éclater. Ce qui libère les enzymes lytiques, les lysosomes et les péroxysomes entraînant une digestion de la cellule et donc sa lyse. Il y a alors une forte inflammation locale; ses molécules mobilisent les cellules phagocytaires qui vont nettoyer la zone nécrosée.

La nécrose s'étend à cause de la présence de phagocytes.

• Apoptose:

Ici la cellule se condense sur elle-même. La chronologie est très reproductible ici. Ce qui permet d'établir que ce phénomène est régulé et qui provient de la cellule. (*cf. doc. 2 poly. A*)

Premier phénomène: modifications des jonctions cellulaires, elles se rompent (pour les tissus). Alors la cellule se recroqueville, se condense sur elle-même. Ce qui entraîne une perte de l'asymétrie des membranes. Le PhosphatidySérine (marqueur membrane) se retrouve en même quantité sur les deux feuillet alors que normalement il n'y en a que sur le feuillet

interne. La cellule éclate sous forme de vésicules composés de débris cellulaires appelés "corps apoptotiques". Parallèlement on observe une hypercondensation de l'ADN. Enfin, tous ces corps apoptotiques sont phagocytés par deux types de cellules: les cellules voisines de l'apoptose et les macrophages circulants. Ici il n'y a pas de réaction inflammatoire car les débris sont contenus dans des vésicules, les cellules voisines ne sont donc pas dégradées.

- **Comparaison Nérose – Apoptose:**

cf. doc. 3 poly A

2. Mécanisme moléculaire de l'apoptose.

- **M.C.P.: Apoptose – Nécrose.**

cf. doc. 4 poly. B

L'apoptose débute toujours par un signal interne à la cellule (coupure dans l'ADN, stress oxydatif, infection virale,...) Un signal externe peut-être à l'origine de l'apoptose (diminution de facteurs de croissance, contact avec des molécules toxiques, rayonnements X,UV ou γ . Ces signaux sont dits "pro-apoptotiques".

[Mécanisme détaillé en suite.]

- **Phase de latence:**

Durant cette phase, les cellules ont un aspect normal au niveau physiologique mais ont quand même une activité pour les gènes impliqués dans l'apoptose. (Δt variable de quelques heures à quelques jours).

Il y a un point de "non-retour". Auparavant = "stade condamné", où la cellule peut encore arrêter l'apoptose s'il y a beaucoup de facteurs de survie. Ensuite = "stade engagé", où la cellule va être détruite obligatoirement.

Cette première phase est régulée par de nombreux protéines notamment p53, molécule qui contrpôle l'état de l'ADN, puissant activateur de l'apoptose, molécule dite "supresseur de tumeurs" ou "anticoncogène".

- **Phase d'exécution:**

Ici se s'effectuent beaucoup de changements physiologiques et morphologiques (phase très rapide \approx 1 heure).

- **Protéines impliquées dans l'apoptose.**

De nombreuses protéines sont impliquées dans ce mécanisme. On distingue:

- **Les protéines régulatrices:**

(cf. doc. 5 tiré de l'article)

On retrouve des protéines activatrices ou pro-apoptotiques et des protéines inhibitrices ou anti-apoptotiques. Parmi cette grande diversité de protéines une famille y tient un rôle central: les protéine sde la famille Bcl-2 (possèdent toutes des domaines d'homologies BH pour Bcl-Homology très conservé).

Ex: Bax et Bak, favorisent le relarguage d'effecteurs contenus dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie soit en formant un pore membranaire ou en activant sa formation.

Bcl-2 semble bloquer la relarguage du cytochrme C par la mithochondire.

- **Les protéines intervenant dans l'exécution de l'apoptose:**

(cf. doc.6 et 7)

→ **Les caspases** (cystéine aspartase):

Ce sont des protéases spécifiques à Cystéines active qui coupent les protides côté -COOH des Asp. Au niveau de la cellule, elles inhibent les voies de survie cellulaire et avivent spécifiquement d'autres facteurs favorisant la M.C.P.

Structuralement, elles forment une famille complexe:

- ◆ hétérodimères constitués de 2 grosses sous-unités et de 2 petites sous-unités,
- ◆ produites sous forme de zymogènes, leur activation est soit autocatalytique (Caspases initiatrices numérotées de 8 à 10) ou soit par une Caspases (Caspase effectrices),
- ◆ s'activent en cascade avec des ciblage cellulaires très spécifiques.

Ex de cibles:

→ au niveau cytoplasmique: kinases de la régulation du cycle cellulaire et dela signalisation cellulaire (cf. Cors cycle cellulaire), favorisant la libération des éléments de l'apoptosome par la

mitochondrie.

→ au niveau de l'appareil nucléaire: clivent les protéines impliquées dans la détection et la réparation de l'ADN muté, clivent les lamines, clivent la protéine chaperonne ICAD de la nucléase CAD (Caspase Activated Dnase).

→ **La nucléase CAD et sa protéine chaperonne ICAD:**

Cette enzyme est impliquée dans la dégradation de l'ADN. Cette Dnase s'active uniquement lorsque sa protéine chaperonne est dégradée. Son activité consiste à hydrolyser l'ADN en fragment de 50 kpb (corps apoptotiques) puis en fragment de 200 pb (coupure entre 2 nucléosomes).

- **Deux voies conduisent à l'apoptose.**
 - **Voie du récepteur de la mort FAS:**

(cf. Doc. 9)

Ce récepteur est une protéine transmembranaire comportant: un domaine extracellulaire de liaison un FAS ligand, un domaine cytoplasmique contenant un domaine de mort DD (death Domain) capable, lorsqu'il est actif, d'activer les caspases.

Cette voie est parfaitement connue comme stratégie de destruction des cellules anormales (infectées par de virus ou déviantes) par les Lymphocytes T.

Chronologie de cette voie (cf. doc. 10):

- 1) Liaison activatrice FAS/FAS Ligand (cd 95 / cd 95L) → fixation de la protéine relais FADD (Fas associated protein with Death Domain)
- 2) ce complexe active les Caspases initiateuses qui s'autolysent
- 3) cascade d'activation et d'amplification des Caspases effectrices
- 4) Mort Cellulaire induite par les Caspases

N.B.: Les cellules du cristallin et des testicules expriment à leur surface de FAS L, ce qui les protège de toute réaction immunologique et donc d'inflammation qui pourrait être fatale à ces tissus. Les cellules cancéreuses produisent des leurrent:

- Fas libre sécrété qui bloque alors FasL et inhibe l'activation des Lymphocyte T,
- Récepteur Fas troqué sans le domaine d'activation DD intracellulaire.

- **Voie mitochondriale de la mort:**

(cf. Doc. 8 et 10)

La mitochondrie est un organe clé d'une voie alternative de la M.C.P. Déclenchée par une grande variété d'agressions toxiques.

Il semble que la réponse apoptotique ait lieu lors de la fixation de Bax, Bad et Bid (famille Bcl-2) pour former un pore membranaire.

Deux conséquences au niveau de la mitochondrie:

- 1) relargage du Cytochrome C et de l'ATP associé avec la ProCaspase et du Apaf-1 (Apoptotic Protease Activating Factor - 1) → formation de l'apoptosome; autoactivation de la Caspase 9 et déclenchement de la cascade de caspases effectrices.
- 2) Interruption de la chaîne respiratoire → fuite d' e^- qui interagissent avec le dioxygène pour former des radicaux hydroxyl (OH^*), des anions superoxydes ($-O_2^-$), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ... Ces composants sont particulièrement néfastes pour la cellule car ils détériorent les lipides et donc les membranes. → perturbation de l'équilibre bio-énergétique de la cellule dont la survie est alors compromise.

- **Bilan des deux voies qui concourent à l'apoptose:**

cf. doc. 10

L'apoptose est particulièrement étudiée dans les recherches en biologie. Il s'agit d'un véritable carrefour majeur de la physiologie cellulaire. Des dérèglements ont été mis en évidence dans des pathologies. D'autres mécanismes existent dans les cellules – MCP2 (autophagie) et MCP3 (necrosis like) – et pourraient servir de piste pour lutter contre les cancers dans le cas de tumeurs résistantes au processus d'apoptose ou MPC-1.

Document 1 : Les principaux types cellulaires subissant la Mort cellulaire Programmée

au cours de l'embryogenèse ♀

Les cellules endodermiques doivent mourir afin de permettre la fusion du tube.

Les cellules de l'épithélium mammaire meurent lorsqu'elles ne reçoivent plus d'hormones à la fin de la lactation.

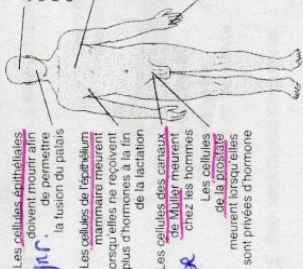
Les cellules des canaux de Müller meurent chez les hommes de la progestation.

Les cellules de la prostate meurent lorsqu'elles sont privées d'hormone.

Jusqu'à 80% des neurones meurent dans certains ganglions.

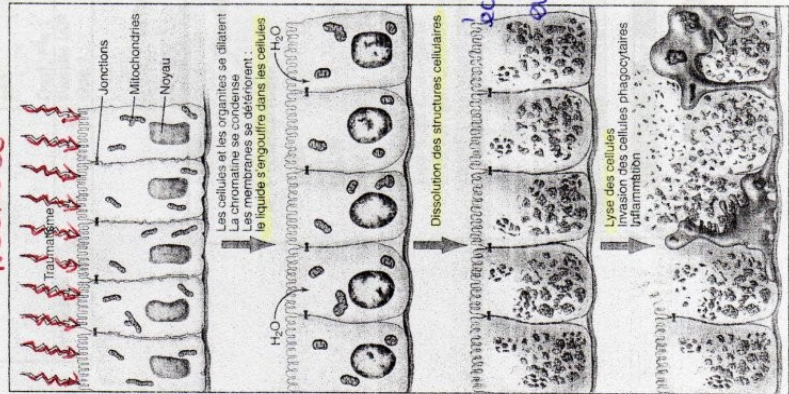
Plus de 95% des cellules T immatures meurent dans le thymus.

plct des lymphocytes T

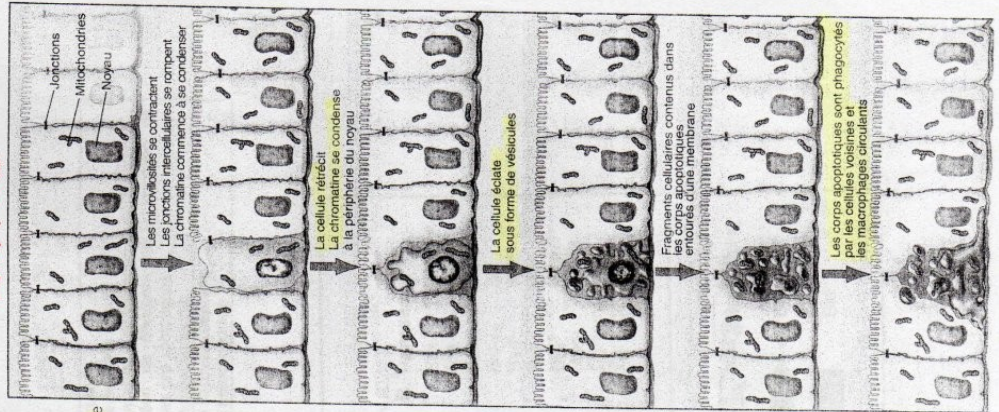


Document 2 : Processus cellulaires de nécrose et d'apoptose

NECROSE



APOPTOSE



Document 3 : Comparatif Apoptose-nécrose

Apoptosis	Necrosis
Physiological or pathological	Always pathological
Single cells ♀ & ♂	Sheets of cells always ♀
Energy dependent	Energy independent
Cell shrinkage condense	Cell swelling expose
Membrane integrity maintained	Membrane integrity lost
Role for mitochondria and cytochrome C	No role for mitochondria
No leak of lysosomal enzymes	Leak of lysosomal enzymes
Characteristic nuclear changes	Nuclei lost
Apoptotic bodies form	Do not form
DNA cleavage	No DNA cleavage
Activation of specific proteases caspase	No activation
Regulatable process	Not regulated
Evolutionarily conserved	Not conserved

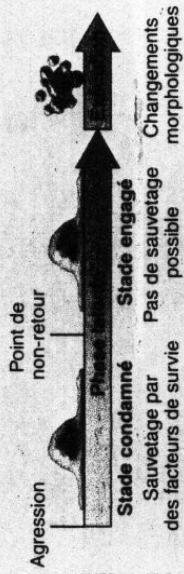
Dead cells ingested by neutrophils and macrophages

↳ INFLAMMATION

RAS D'inflammation

libération

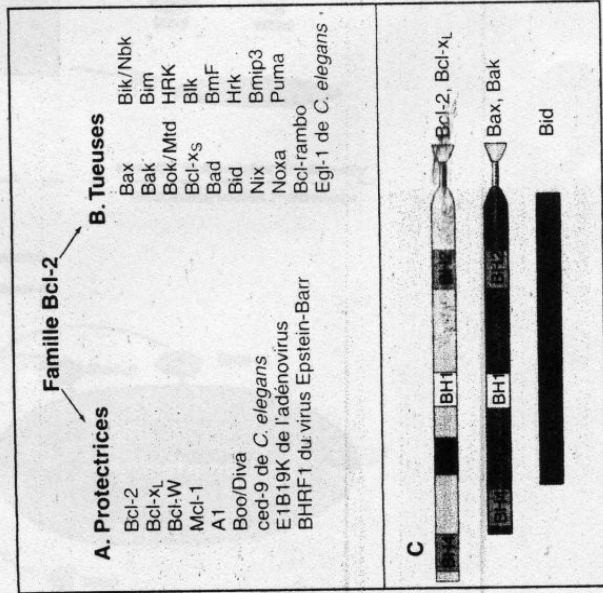
Document 4 : Déroulement de la Mort cellulaire par apoptose



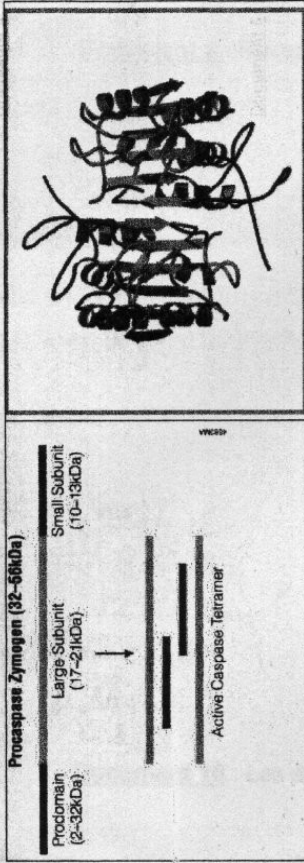
Document 5 : Protéines régulant l'apoptose

Activateurs	Smac / DIABLO Omi/HtrA2 AIF, Endo G p53	Inhibent IAP Activité protéase directe Condensation et dégradation de l'ADN Activation de Bax(pore mit.), induction de protéines pro apoptotiques Fission mitochondriale Blocage l'activité caspases Fusion mitochondriale
Inhibiteurs	Drp1, Fis 1 Familie IAP Opa 1	

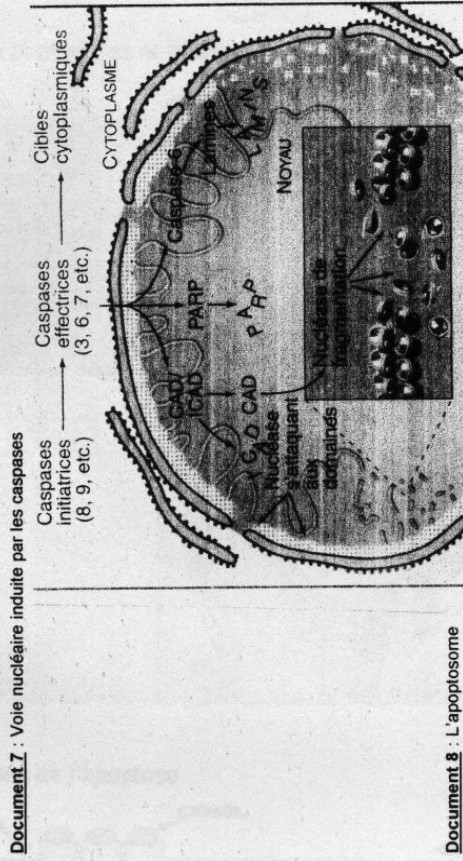
La famille Bcl-2



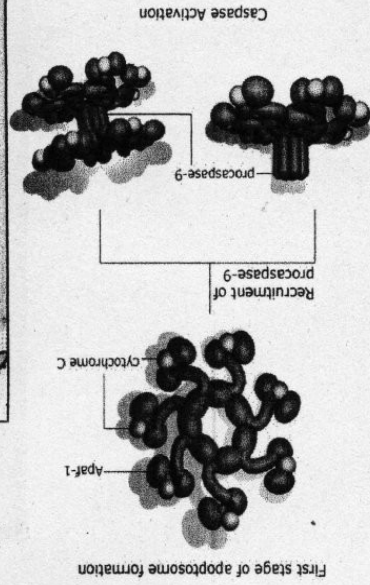
Document 6 : Protéines effectrices



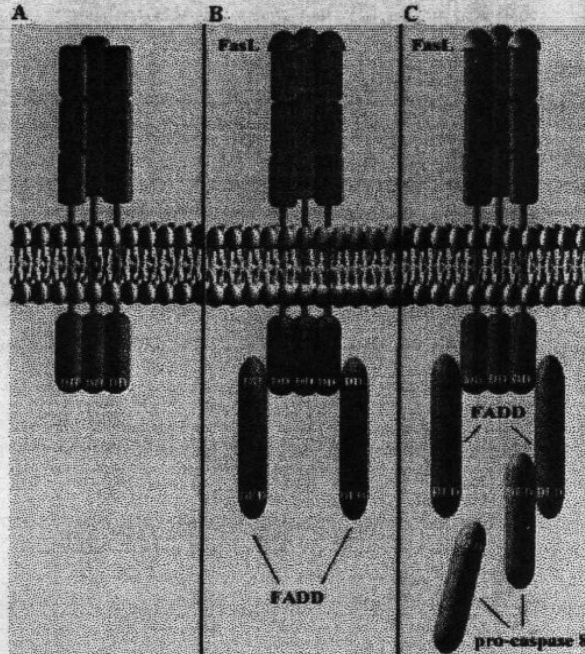
Structure 3D Caspase 7 activée



Document 8 : L'apoptosome



Document 9 : Récepteur de la mort Fas et activation



Document 10 : Les deux voies de l'apoptose

