

APOPTOSE

L'apoptose est une forme active de mort cellulaire, qui constitue une réponse de l'organisme à des stimuli physiologiques ou pathologiques provoquant un déséquilibre entre production et élimination de cellules.

I - DÉFINITION DE L'APOPTOSE ET MORPHOLOGIE DES CELLULES APOPTOTIQUES

-1- Définition

L'apoptose fait partie intégrante de la physiologie normale d'un organisme. Ainsi au cours des nombreuses mitoses et différenciations cellulaires qui permettront de créer un organisme à partir d'un œuf, il est en permanence nécessaire d'éliminer les cellules superflues ou potentiellement dangereuses. Ce phénomène d'élimination sélective des cellules est médié par un processus appelé **APOPTOSE** (le nom apoptose fait référence à la chute programmée des feuilles à l'automne; **apo** pour éloignement et **ptose** pour chute). La notion d'apoptose a été introduite en 1972 par Kerr et coll. pour désigner une forme de mort cellulaire totalement différente de la nécrose, tant d'un point de vue morphologique que biochimique.

L'apoptose est une réponse hautement conservée des eucaryotes unicellulaires jusqu'aux mammifères Une dérégulation de la mort cellulaire programmée peut-être à l'origine de nombreuses pathologies. Certaines sont liées à une inhibition de l'apoptose (cancer, syndromes lymphoprolifératifs,...) alors que d'autres sont associées à une stimulation de ce phénomène (SIDA, maladies neurodégénératives, maladies auto-immunes ...).

L'apoptose peut être induite par différents stimuli comme la déplétion en facteurs de croissance cellulaire, les hormones, le choc thermique, les radiations γ , les agents endommageant l'ADN, le TNF (tumor necrosis factor)- α , ou encore les ligands des récepteurs de mort cellulaire comme Fas. Elle se caractérise par un certain nombre de changements morphologiques et biochimiques. La transduction des signaux apoptotiques induits par ces différents traitements converge vers une voie commune mettant en jeu une cascade protéasique (impliquant notamment l'activation des caspases ou cysteinyl aspartate-specific proteinases), et régulée positivement ou négativement par les protéines de la famille Bcl-2.

-2 Morphologie des cellules apoptotiques

Au cours de l'apoptose, les cellules mettent en place un "**mécanisme de suicide**" qui se traduit par de nombreux changements morphologiques : diminution du volume cellulaire, un bouillonnement de la membrane plasmique qui se désorganise et exprime des signaux pro-phagocytaires, la chromatine se condense avant d'être dégradée en un profil caractéristique dit en "**barreaux d'échelle**" traduisant une fragmentation de l'ADN en fragments de 180 à 200 paires de base. La cellule se scinde en corps apoptotiques qui sont ensuite rapidement éliminés par les cellules adjacentes.

-3 Nécrose et apoptose

La **nécrose** est une mort cellulaire non programmée, par opposition à l'apoptose. La nécrose survient accidentellement (par exemple lors de brûlures ou de fortes compressions), tandis que l'apoptose constitue une réponse de l'organisme à des stimuli physiologiques ou pathologiques provoquant un déséquilibre entre production et élimination de cellules. Alors que la cellule apoptotique se fragmente en plusieurs petits "sacs" étanches, qui sont absorbés et éliminés par les cellules environnantes, la cellule en nécrose meurt en éclatant. Son contenu se retrouve dans le milieu environnant et provoque une réaction inflammatoire.

II LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE L'APOPTOSE

De nombreuses molécules participent à l'apoptose, parmi elles les caspases jouent un rôle essentiel.

- 1 Les caspases

Les principaux effecteurs de l'apoptose sont les caspases ; ce sont des cystéines protéases, caractérisées par une spécificité absolue pour un aspartate en position P1 dans leur site de clivage. Ces enzymes contiennent toutes une séquence pentapeptidique identique dans leur site actif et participent aux nombreux événements protéolytiques qui ont lieu dans une cellule en apoptose, aboutissant au clivage de substrats protéiques jouant un rôle clé dans les fonctions cellulaires normales (protéines du cytosquelette, protéines nucléaires ou enzymes de réparation de l'ADN, protéines kinases...).

On connaît aujourd'hui 14 caspases. Les caspases 1,2,4,8,9,10 sont des caspases initiatrices, les caspases 3,6,7,et 14 sont des caspases effectrices de l'apoptose.

Avant la phase d'apoptose les caspases sont à l'état de zymogène. La conversion de la caspase à l'état de zymogène en une enzyme mature active nécessite au moins deux clivages de la molécule

-2- L'activation des caspases

L'activation des caspases nécessaires à l'apoptose se fait en cascade. Cette activation permet une amplification d'un signal initial.

L'activation peut emprunter deux grandes voies.

2.1. La première est la voie «mitochondriale».

Dans la plupart des types cellulaires, une baisse du potentiel mitochondrial précède les manifestations nucléaires de l'apoptose. Cette chute du potentiel de membrane serait due à l'ouverture du pore de perméabilité de transition (PTP), pore non-sélectif à large conductance formé au niveau des points de contact entre des membranes internes et externes de la mitochondrie. La chute du potentiel mitochondrial s'accompagne de la sortie dans le cytosol d'au moins trois facteurs apoptogéniques : le cytochrome c, une protéine de 50 kDa appelée AIF pour «apoptosis inducing factor» et la protéine SMAC/DIABLO (second mitochondria-derived activator of caspases)/(direct IAP-binding protein with low pI).

Le cytochrome c interagit avec la protéine cytosolique Apaf-1 (apoptotic protease activating factor) et avec la procaspase-9, en présence de dATP pour former «l'apoptosome», complexe multiprotéique à l'origine de l'activation de la caspase-9 (clivage autocatalytique de la procaspase-9) puis de la caspase-3.

L' AIF qui fonctionne indépendamment des caspases migre vers le noyau où elle semble jouer un rôle dans la fragmentation de l'ADN en fragments de plus de 50 kb.

Cette voie déclenchée par des stimuli internes, et indépendante des récepteurs de mort est la **voie intrinsèque mitochondriale**

2.2. L'autre voie déclenchante de l'apoptose est celle des « récepteurs de mort ».

Ces récepteurs sont des récepteurs membranaires appartenant à la superfamille des récepteurs du TNF(tumor necrosis factor receptor). Ces récepteurs, type TNF -R1, ou Fas, via la présence dans leur portion intracellulaire d'un domaine conservé de 80 acides aminés, appelé « domaine de mort » (DD, death domaine) assurent la transmission du signal de mort programmée. C'est l'interaction de TNFR1 (p55) ou de Fas (CD95 ou APO-1) avec leur ligand naturel (ou un anticorps monoclonal agoniste) qui permet l'assemblage d'un complexe multiprotéique cytoplasmique (contenant la protéine FADD) appelé DISC (death-inducing signaling complex). Ce complexe initie l'enclenchement de la cascade apoptotique par activation de la procaspase-8. Au terme de cette cascade c'est la caspase effectrice 3 qui est activée.

Cette voie déclenchée par des stimuli externes passant par des récepteurs de mort est la **voie extrinsèque des récepteurs membranaires**

Etant donné les effets dévastateurs que pourraient avoir une activation inopportune des caspases, il n'est pas surprenant que cette étape soit étroitement modulée. En fait, non seulement l'activation mais aussi l'activité et la production des caspases sont régulées à plusieurs niveaux.

III - INTÉGRATION ET RÉGULATION DES SIGNAUX AU NIVEAU DES COMPLEXES MULTIPROTEIQUES

C'est au niveau des complexes multiprotéiques (DISC et apoptosome) que la plupart des modulateurs de la mort cellulaire exercent leur action.

-1- Les régulateurs du DISC

Les FLIP (FADD-like ICE inhibitory proteins) sont des protéines régulatrices de l'apoptose qui agissent au niveau de la formation du DISC. Ce sont des isomorphes de la caspase 8, mais qui ne possèdent pas de site actif. Elles fonctionnent donc comme des molécules leurres de FADD et modulent l'activité du DISC : elles sont capables de bloquer un signal de mort cellulaire induit par le récepteur Fas

-2- Les régulateurs de l'apoptosome

IL existe différents éléments de régulation

2.1. Les protéines codées par la famille des gènes Bcl-2 régulent soit positivement soit négativement la mort cellulaire programmée. Chez les mammifères, ces protéines incluent des protéines anti- apoptotiques telles que bcl-2, bcl-x, bcl-w, et aussi des protéines pro-apoptotiques telles que bax, bak, Bad, Bid, Bim.... Ces protéines interagissent les unes avec les autres en un réseau complexe d'homodimères et d'hétérodimères.

Les molécules anti-apoptotiques siègeraient au niveau de la mitochondrie, tandis que les protéines pro-apoptotiques posséderaient une localisation différente (cytosol ou microtubule).

A la suite d'un signal apoptotique les protéines pro-apoptotiques s'inséreraient dans la membrane mitochondriale et induiraient sa perméabilisation : ainsi BAX favorise la libération des facteurs mitochondriaux (cytochrome -c) dans le cytoplasme.

Les protéines anti -apoptotique de la famille Bcl-2 associées aux membranes de la mitochondrie contrôlent leur perméabilité en inhibant la perméabilité de transition.

Les niveaux relatifs des protéines pro- et anti-apoptotiques déterminent la sensibilité de la cellule à un stimulus de nature apoptotique.

2.2. Les IAP et Smac/DIABLO : ce sont deux régulateurs principaux des caspases

Les IAP (Inhibitor of apoptosis protein), sont des protéines qui inhibent la mort cellulaire en se liant directement aux caspases (aussi bien activatrices, qu'effectrices) empêchant ainsi leur clivage et leur activité.

La protéine Smac/DIABLO se lie aux protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP) et les inactive. La protéine SMAC/DIABLO neutralise ainsi les activités anti-apoptotiques des IAP (inhibitors of apoptosis). C'est un répresseur d'inhibiteur de caspases.