

LA MORT CELLULAIRE PROGRAMMÉE

= apoptose: processus physiologique.

Prix nobel 2002: Sydney Brenner, Robert Horvitz, John Sulston.

Notion de mort cellulaire.

Schéma 1

Rq: cellules épithéliales de l'organisme sont chaque jour renouvelée.

1. Introduction.

1972: Wyllie et Kerr.

L'apoptose= suicide cellulaire.

Processus actif: ATP.

Processus déterminé (temps/espace).

Pluricellulaires/unicellulaires.

Processus physiologiques (embryon/adulte).

But: limiter la taille.

Cellules somatiques.

Apoptose: absence de signaux de survie, signal de mort.

Mise en évidence expérimental.

Anticorps-anti TCR.

LT + corticoïdes (cf stress, Selyé 1936).

Irradiation UV.

A. Dans les tissus adultes.

Renouvellement cellulaire → homéostasie cellulaire.

5.10^{11} GR/j.

Renouvellement cyclique de l'utérus.

Cellules dangereuses: infectées par des virus, avec des dommages à l'ADN, déplacées, tumorales, (stress oncogénique → apoptose).

B. Lors de l'ontogenèse.

1. C elegans.

1090 → 959 cellules somatiques.

Ce vers à l'état embryonnaire a toujours 1090 cellules et il perd toujours les même 131 cellules durant l'ontogenèse.

2. Chez les vertébrés.

Façonnage des mains et des pieds, par élimination des cellules interdigités.

Ce processus est bcp moins efficace chez amphibiens → pattes palmées.

50% des neurones sont éliminées par apoptose lorsqu'elles ne sont plus alimentées par NGF (Nerve Growth Factor).

Système immunitaire: répertoire des cellules T, par recombinaison génétique → diversité de TCR. Cette recombinaison génétique est un phénomène aléatoire → Possibilité de lutte contre n'importe quel peptide de cellule dangereuse.
Étape d'éducation des lymphocytes: si la cellule immunitaire reconnaît certaines cellules de soi-même, élimination par apoptose.
LT8: perforine + granzyme → apoptose sur cellules choisies.
Ouverture du TD.

C. Les cellules en culture.

- Nutriments (glucose), F (EGF).
- Adhérence: dépendance d'ancrage.

II. Molécules impliquées dans l'apoptose.

A. Les facteurs inducteurs de mort.

1. Facteurs physiologiques.

Tumor Necrosis Factor.

Fas Ligand: molécule fabriquée par LTCD8 cytotoxiques. Molécule interagit sur un récepteur (Fas) → apoptose.

Glucocorticoïdes.

Accumulation de p53: protéines très importante car "gardienne du génome". Si anomalie génétique. p53 favorise la régulation de l'ADN:

- Granzymes.
- Absence de facteur de croissance (FC).
- Perte d'adhérence.

2. Facteurs pathologiques.

Privation de nutriments, infections virale.

3. Facteurs thérapeutiques.

UV.

Médicament (méthotrexate, antimitotique → empêche la télophase → apoptose).

4. Facteurs toxiques.

Éthanol.

B. Les facteurs bloquant la mort.

1. Facteurs physiologiques.

-Nutriments.

-FC: RTK (= récepteur tyrosine kinase) → PKB → Bad.

Activité apoptotique déphosphorylée.

-Hormones.

2. Facteurs pharmacologiques.

- Promoteurs.
- Inhibiteurs de protéases à cystéine.

3. Facteurs pathologiques.

-Protéines virales: E6 et E7 des HPV.

→ verrues plantaires, palmaires, génitales,...

p53 → CKI (p21) → inhibe les complexes de cyclines CDK → inhibe le cycle cellulaire.

HPV E6 agit en supprimant p53.

Perte de contrôle des transitions G1 → S.

- prolifération.
- accumulation d'anomalies génétiques.
- phénotype d'immortalité.

E2F: activation de gène indispensable à la réplication de l'ADN.

E2F associé à p105Rb hypophosphorylé quand ADN au repos (G1). p105Rb va séquestrer E2F car hypophosphorylé. Mais une fois hyperphosphorylé, il libère E2F → Transition de la phase G1 à S.

E7 est capable de séquestrer p105Rb hypophosphorylé et par conséquent de favoriser la transition G1 à S car E2F libre.

III. Mécanismes de mort cellulaire programmée.

A. Mécanisme général.

1. Signal de mort.

Extrinsèque (FasL, TNF), récepteur.

Intrinsèque.

2. Modulation (choix mort/survie).

3. Déclenchement.

4. Modifications morphologiques et biochimiques.

Ordonnée, caractéristiques du processus par apoptose.

5. Élimination des corps apoptotiques.

Jusqu'à quel moment le processus apoptotique est réversible? nous ne savons pas.

C'est la comparaison entre la somme des signaux de survie d'une part, et de mort d'autre part, qui détermine la finalité de la cellule.

B. Molécules impliquées dans l'apoptose.

Chez le ver C. elegans.

ced: Cell Death Defective.

→ Ce sont 3 gènes qui empêchent la mort des 131 cellules.

ced 3 et 4 → pro-apoptotique.

ced 9 → anti-apoptotique.

Chez les vertébrés:

ced 3: ICE.

IL1 β conversion: enzymes.

Pro IL1 β → IL1 β .

Caspases: homologues chez les vertébrés.

Pour ced 9, l'homologue humain est bcl-2= anti-apoptotique.

Embryogenèse du SN.

Mitochondrie: cyt C.

Bax: pro-apoptotique.

(bcl-2) + (bcl-2) → survie.

(bcl-2) + (bax) → neutralité.

(bax) + (bax) → mort.

En effet, c'est un signal pour les cyt C qui permettront de poursuivre le processus apoptotique.

C. Mécanismes moléculaires.

Par un phénomène de clivage → caspases 8 vont devenir actives → caspases initiatrices car activatrices du processus apoptotique → caspases 3.

Signal de mort intracellulaire: augmentation de p53 → expression de bax qui augmente nettement par rapport à bcl-2 → cyt C qui va s'associer avec caspases 9.

Il existe un lien entre voie extra et intrinsèque.

Lien entre caspases 8 et mitochondries.

Au centre du processus apoptotique, la mitochondrie.

La caspase 3 effectrice → démantèlement progressif de la cellule.

D. Modifications morphologiques.

1. Condensation de l'ADN.

Noyau avec un collier de chromatine.

2. Condensation du cytoplasme (perte d'eau).

3. Fragmentation de l'ADN en multiples 200 pb.

4. Fragmentation du cytoplasme.

→ formation des corps apoptotiques.

Les phospholipides du feuillet interne passent sur le feuillet externe.

5. Phagocytoses par macrophages: PSR (phosphatidyl sérine récepteur).

IL10, TGF β et PGE2 sont des récepteurs anti-inflammatoire → processus de mort passe inaperçue.

6. Analyse du cycle cellulaire.

Agent intercalant.

Cytométrie de flux → analyse d'une population complète de cellules: analyse du nombre d'ADN des cellules.

Lorsque des cellules meurent par apoptose, elle emporte une fraction d'ADN. De ce fait, la cytométrie de flux laisse apparaître un 3e pic dit sub-G1, G1 étant considéré comme l'étalon c'est à dire 1.

IV. Pathologies.

A. Le vieillissement.

Pente accrue de cellules.

B. Les maladies neuro-dégénératives.

-maladie de Parkinson et d'Alzheimer.

Apoptose accrue et prématurée des cellules.

C. Le sida.

→ disparition progressive des cellules CD4.

D. Maladies auto-immunes.

Pemphigoïde bulleuse,...

E. Les cancers.

bcl-2 et hémipathie maligne.

Antioncogénèse p53.

Muté/inactivé.

Restauration de l'apoptose.

Cellules Héla traitées par la stauroscopie.

RÉCEPTEURS ASSOCIÉS À UNE ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

Plan:

Récepteur tyrosine kinase (RTK).

-ligands.

-récepteurs.

-voies de signalisation: ex du récepteur de l'EGF et de l'insuline.

Récepteurs couplés à une tyrosine kinase (RCK).

-ligands.

-récepteurs.

-voie de signalisation: ex du récepteur de l'interleukine.

1. Récepteurs enzymatique à activité tyrosine kinase (RTK).

I. Ligands.

EGF, NGF, PDGF, VEGF, insuline,...

II. Structure des récepteurs.

Molécules à structure similaire:

-domaine EC hydrophile, fixation ligand.

-domaine membranaire hydrophobe.

-domaine IC: activité enzymatique intense.

Liaison L-R → dimérisation du récepteur.

III. Activation d'un RTK.

Le récepteur est capable de s'autophosphoryler.

IV. Récepteur de l'EGF (épidermal growth factor).

1/ Structure: glycoprotéine transmembranaire.

Domaine EC: deux régions riches en cystéine.

Domaine membranaire: 20aa hydrophobes.

Domaine IC:

-domaine catalytique: TK.

-sites de phosphorylation.

2/ Codé par le gène c-erb B1 (HER 1).

Famille de récepteurs HER: 1, 2, 3 et 4.

Ce sont des homologues d'une protéine virale: v-erb qui code pour l'érythroblastose aviaire.

HER 1 a comme ligand l'EGF.

HER 2 n'a pas de ligand car c'est un récepteur tronqué.

HER 3 et 4 ont comme ligands des neurorégulines ainsi que TGF α .

4/ Activité catalytique.

4.1/ Mécanisme.

Modification configuration récepteur.

Dimérisation du récepteur.

4.2/ Phosphorylation résidus tyrosine.

Autophosphorylation du récepteur.

Reconnaissance des résidus phosphorylés par SH1, 2 et 3.

SH sont des protéines qui vont recruter d'autres protéines.

Trois voies d'activation:

a. Voie MAPK.

Protéines Grb2 (Growth receptor bound protein 2).

Sos (facteur d'échange GDP/GTP) →

Ras.

Activation de cascades de phosphorylation: de trois protéines kinases: MAPKKK qui phosphoryle MAPKK qui phosphoryle MAPK. qui va pouvoir se transloquer dans le noyau.

Ras hydrolyse GTP en GDP. Cette protéine sert donc d'interrupteur pour arrêter le signal EGF.

b. Voie PDK/PKB.

→ Tyrosine phosphorylée recrutée par PI3K (phosphatidyl inositol 3 kinase).

→ Phosphorylation de Bad (qui devient alors inactive).

PI3K → PIP2 phosphorylé en PIP3, qui devient de ce fait une zone d'ancrage pour les protéines.

Tout ceci inhibe l'apoptose, logique puisque ça favorise la prolifération.

c. Voie phosphorylase C gamma.

Capable de cliver PIP2 en diacyl glycérol qui constitue un second messenger qui active la protéine kinase C, et en IP3 qui constitue un second messenger pour l'ouverture des canaux calciques vers le cytoplasme.

Ce calcium est le 3e messenger, il va s'associer avec calmoduline pour former des complexes.

→ réorganise les microtubules pour faciliter la division cellulaire.

5/ Rôles.

Essentiellement mitogène:

-activation de la division cellulaire.

-blocage de l'apoptose.

-réorganisation des microtubules.

6/ Pathologies.

6.1/ Anomalies.

Récepteur tronqué suractivé → activité TK indépendante de EGF.

Mutation du REGF dans domaine TK → activation.

6.2/ Thérapeutiques ciblées.

Ac anti-HER 1: cancer tête et cou (Cetuximab).

Ac anti-HER 2: cancer du sein (perceptine).
Inhibiteur TK: cancer du poumon (Tarceba).

V. Récepteur de l'insuline.

1/ Structure.

2 sous unités α liées par S-S entre elles ainsi qu'à 2 sous unités β .

Sous unités α : domaine EC, riche en cystéine.

Sous unités β : petit domaine EC, 23aa transmembranaire, domaine IC: activité TK, 2 à 3 sites d'autophosphorylation.

2/ Activation du récepteur (liaison insuline à alpha).

2.1/ Autophosphorylation de bêta.

2.2/ Reconnaissance du récepteur par IRS (Insuline Receptor Substrate).

Phosphorylation des tyrosine de IRS 1.

Liaisons des protéines à domaine SH2.

Recrutement des phospholipases C gamma.

Insuline pourra activer les mêmes voies à l'issue de laquelle → phosphorylation des facteurs de croissance.

Activation de transporteurs du glucose.

2.3/ Cascade de phosphorylation.

Translocation et activation de Glut-4.

a. Cellule au repos.

Stockage du glucose par fixation sur récepteur de l'insuline.

b. cellule stimulée par l'insuline.

PI3K → PKB → Phosphorylation de protéines impliquées dans l'exocytose de Glut-4. (recaptage du glucose multiplié par 10 à 20).

c. Élimination de l'insuline.

Après élimination de l'insuline, l'endocytose soustrait des transporteurs à la membrane plasmique et rend passifs ceux qui y étaient logés.

PKB → phosphorylation enzyme intervenant dans le métabolisme des G, L, P.

Exemple d'inactivation par phosphorylation (glycogène synthèse est phosphorylée par GSK elle même phosphorylée par PKB, ce qui alors l'inactive.

3/ Rôles physiologiques.

Insuline liée à son récepteur: régulation de la glycémie.

4/ Pathologies.

Résistance à l'insuline. Déficit de l'activité tyrosine kinase (TK).

2. Récepteurs couplés à une TK: RCTK.

I. Ligands.

1/ Cytokines.

Médiateurs autocrines, paracrines → prolifération et différenciation des cellules impliquées dans:

-réponse immunitaire.

-réaction inflammatoire.

-hématopoïèse.

IL2, 6, 12, GM-CSF, G-CSF, EPO, TPO.

2/ Hormones.

Hormones de croissance, prolactine.

II. Récepteurs.

Complexes dans leur structure et leur fonctionnement mais analogie de structure.

Structure: 1, 2 ou 3 chaînes.

-Domaine EC: N ter, avec résidus cystéine.

-Domaine transmembranaire.

-Domaine IC: pas de domaine catalytique.

ex: R-IL2: 3 chaînes (α , β et γ).

Deux de ces chaînes (α et β) vont fixer IL2. Et la chaîne γ va recruter les enzymes nécessaire à la conduction du signal.

III. Voie de signalisation.

Une voie principale de transduction du signal: voie STAT.

1/ Liaison L-R → multimérisation.

Recrutement de l'enzyme JAK (Janus Activated Kinase).

→ Cette kinase va phosphoryler le récepteur et s'autophosphoryler.

Ces protéines phosphorylés vont servir de point d'ancrage aux protéines STAT, qui vont se faire phosphoryler par JAK → dimère de STAT qui va se transloquer dans le noyau → transcription de gènes cibles, recrutement d'ARN polymérase 2.

IV. Rôles.

1/ Réponses immunitaires.

IL2 produite par LT-CD4 + activés → prolifération LB.

2/ Réactions inflammatoires.

IL6 produite par monocyte, macrophage, lymphocyte.

Principal inducteur dans protéines de l'inflammation par le foie.

3/ Hématopoïèse: GM-CSF, G-CSF, EPO,...

Contrôle de la prolifération et différenciation dans cellules pluripotentes médullaires.

4/ Inhibition de l'apoptose: expression des Bcl-2, Bcl-xL.

V. Pathologies.

3. Récepteurs à activité guanylate-cyclase (GC).

Deux types de guanylate cyclase.

I. Récepteurs de type particulaire.

R-ANF: Atrial Natriuretic Factor.

1/ Structure.

-Domaine EC: liaison ANF.

-Domaine transmembranaire: hélice α .

-Domaine IC: catalytique cyclase.

2/ Activation du récepteur.

-ANF lié au récepteur.

-Activation du récepteur:

→ guanylate cyclase activ.

→ GTP.

→ GMP cyclique.

-GMPc:

→ active PKG: phosphorylation de protéines (Ser, thréonine).

→ active les canaux ioniques (Cl^- / Ca^{2+}).

→ active enzyme PDE (phospho di-estérase).

3/ Effets.

Vasorelaxation.

Augmente la natriurèse.

4/ Pathologies.

Anomalies R-ANF.

→ HTA (hyper tension artérielle).

II. Forme soluble.

1/ Structure.

Dimère α_1 et β_1

-Domaine N ter: lie l'hème.

-Domaine C ter: catalytique cyclase.

2/ Activation de la GC.

2.1/ Par l'oxyde nitrique NO (gaz stable toxique).

Arginine + O_2 → citruline + NO (+ NADPH et FAD).

2.2/ NO fabriqué par:

-neurones (NOS-1).

-cellules de l'endothélium vasculaire (NOS-3).

-macrophages (NOS-2 inductible).

2.3/ NO active la GC (fixation sur le fer).

Modification de GC= activation.

Augmente GMPc= stimulation PKG.

2.4/ GMPc dégradé par PDE.

Demi vie NO= 5 à 10s.

3/ Rôle de l'activation de la GC.

3.1/ Neurotransmission: SNC et SNP.

Glutamate → se fixe sur récepteur → ouvre canaux calciques → entrent dans neurones post-synaptiques, se fixe sur calmoduline → diffusion rétrograde au niveau pré-synaptique et plus précisément au niveau de la GC.

3.2/ vasorelaxation.

Un autre rôle de NO et GC.

Récepteur va activer phospholipase C β → production d'inositol triphosphate → se fixe sur son récepteur au niveau cyto → libération de Ca intracellulaire → se fixe à la calmoduline → active NOS-3 (spécifique de la cellule endothéliale) → diffusion de NO → limite l'agrégation plaquettaire et permet la relaxation des vaisseaux, active GC → stimule libération GMPc → dans les cellules musculaires lisses, PKG va activer MLCP → qui déphosphoryle les MLC, qui perdent alors leur interaction avec les chaînes lourdes de myosine → relaxation du tissu musculaire → vasodilatation (→ érection).

Rq: viagra: permet le maintien de GMPc au niveau cellulaire musculaire lisse.

3.3/ Réponse immune non spécifique.

3.4/ Autres rôles:

Diminution de l'agrégation plaquettaire.

Relaxation utérine.

Bronchodilatation.

4/ Pathologies.

Certaines HTA essentielles. Défaut synthèse NO.

Choc septique, post-infection. Libération brutale de NO en réponse aux LPS bactériens.

Production excessive NO par neurone:

-toxicité.

-mort neuronale dans Accident Vasculaire Cérébral.

-affection neurodégénératives.

-maladie d'Alzheimer et de Huntington.