

Mort cellulaire

Master II Immunologie

HADJIDJ Zeyneb

Mort cellulaire

Type I

- Apoptose
- Mort cellulaire programmée

Type II

- Mort cellulaire Autophagique

Type III

- Necrose
- Mort cellulaire non programmée

Caractéristiques de l'apoptose

- Rétrécissement cellulaire
- Formation de vésicules membranaires
- Condensation du chromatine (pyknose)
- Accompagnée de l'activation des protéases
- Deux principales voies de signalisation :
 - la voie mitochondriale (intrinsèque)
 - la voie du récepteur de la mort (extrinsèque):
induite par une perte de signal ou une interaction classique ligand-récepteur à la surface cellulaire

Caractéristiques de l'autophagie

- Apparition de grandes vésicules intracellulaires et activation de la machinerie autophagique.
- Englobement membranaire et dégradation catabolique de parties du cytoplasme
- L'autophagie est principalement un processus de survie activé en réponse à
 - une crise métabolique (des niveaux bas d'ATP, une privation de nutriments et d'acides aminés)
 - des organites endommagés
 - des agrégats de protéines.
- Peut être une tentative de survie infructueuse

Caractéristiques de la nécrose

- gonflement cellulaire
- rupture de la membrane plasmique
- perte de la structure cellulaire
- Pas de condensation de la chromatine.
- conséquence de dommages cellulaires irréparables

La nécrose

- Survient quand la cellule subit une agression structurale ou chimique (manque d'oxygène, température extrême, traumatisme physique)
- La cellule se désagrège et est digérée par ces propres enzymes (autodigestion).
- Caractérisée par une pénétration massive d'eau dans la cellule, un gonflement des cellules, l'éclatement des organites et libération des enzymes lytiques, les lysosomes et les péroxysomes entraînant la digestion de la cellule et donc sa lyse.
- Forte inflammation locale et recrutement des cellules phagocytaires.

Apoptose

- Forme particulière/distincte de mort cellulaire
- Mécanisme biochimique
- Dépend de l'énergie
- A un potentiel thérapeutique

Caractéristiques de l'apoptose

- Pas de réaction inflammatoire liée au processus de l'apoptose
- Pas de réaction inflammatoire liée à l'élimination de cellules apoptotiques
- Constituants cellulaires non libérés
- Rapidement phagocytés
- Les phagocytes ne secrètent pas de cytokines anti-inflammatoires

Apoptose ou nécrose ?

- Type et/ou degré de stimuli
- Inflammation
- Lysosomes
- Masses cytoplasmiques
- Morphologie
- Karyolysis / Pycnosis
- Energie
- Toxicité du processus
- Mécanisme

Caractéristiques de l'apoptose

- Stimulateurs physiologiques ou pathologiques
- Toutes les cellules ne répondent pas nécessairement par apoptose aux mêmes conditions
- Peut dépendre des récepteurs Fas ou TNF
- Peut être activée par défaut
- Nécessite l'activation des caspases, une cascade d'événements reliant les stimuli initiateurs à la disparition finale de la cellule.

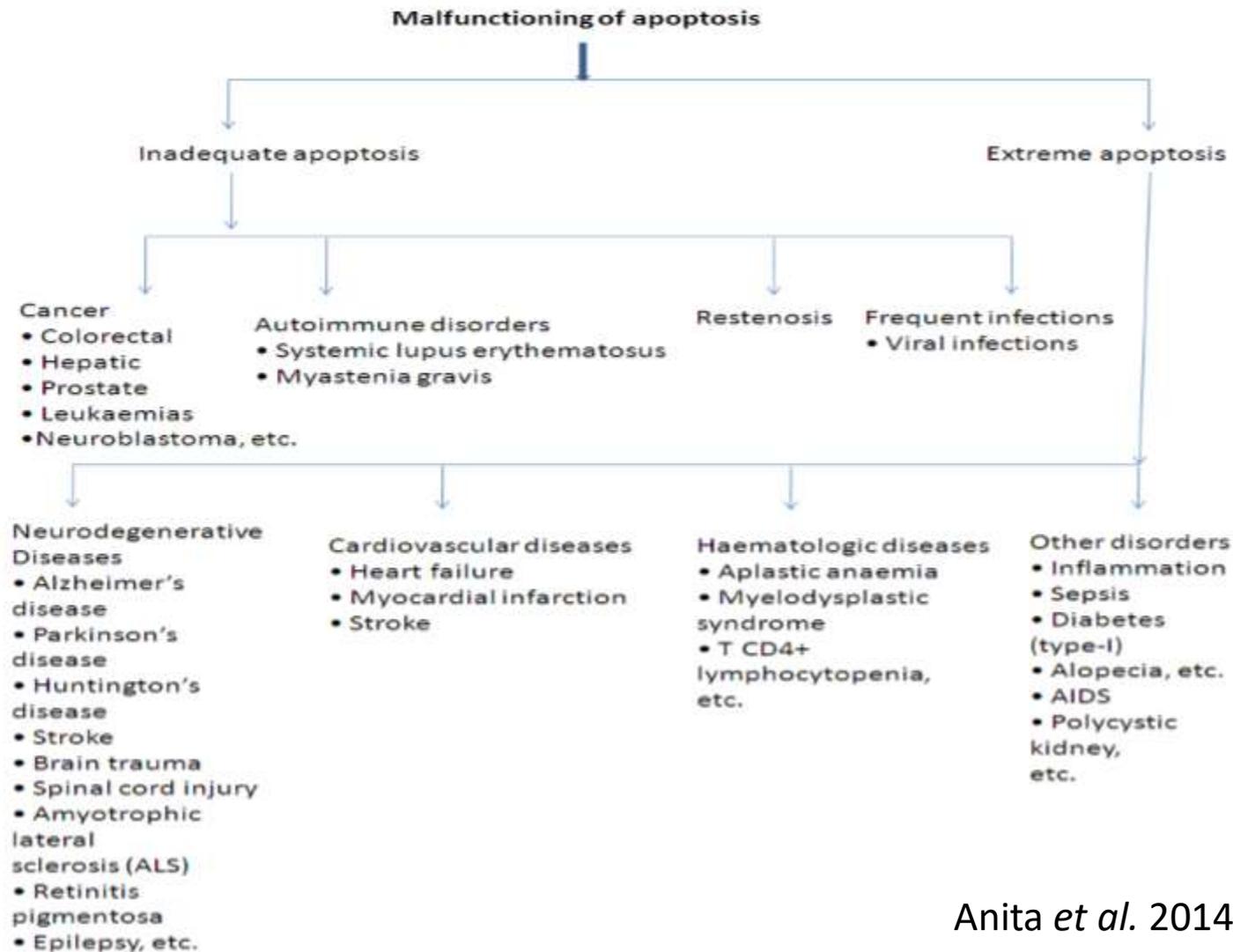
Apoptose et processus vitaux

- Mécanisme homéostatique
- Développement des cellules immunitaire
- Bon fonctionnement du système immunitaire
- Développement embryonnaire
- Mécanisme de défense

Apoptose et processus pathologiques

- Maladies neurodégénératives
- Dommages ischémiques
- Troubles auto-immuns
- Cancers

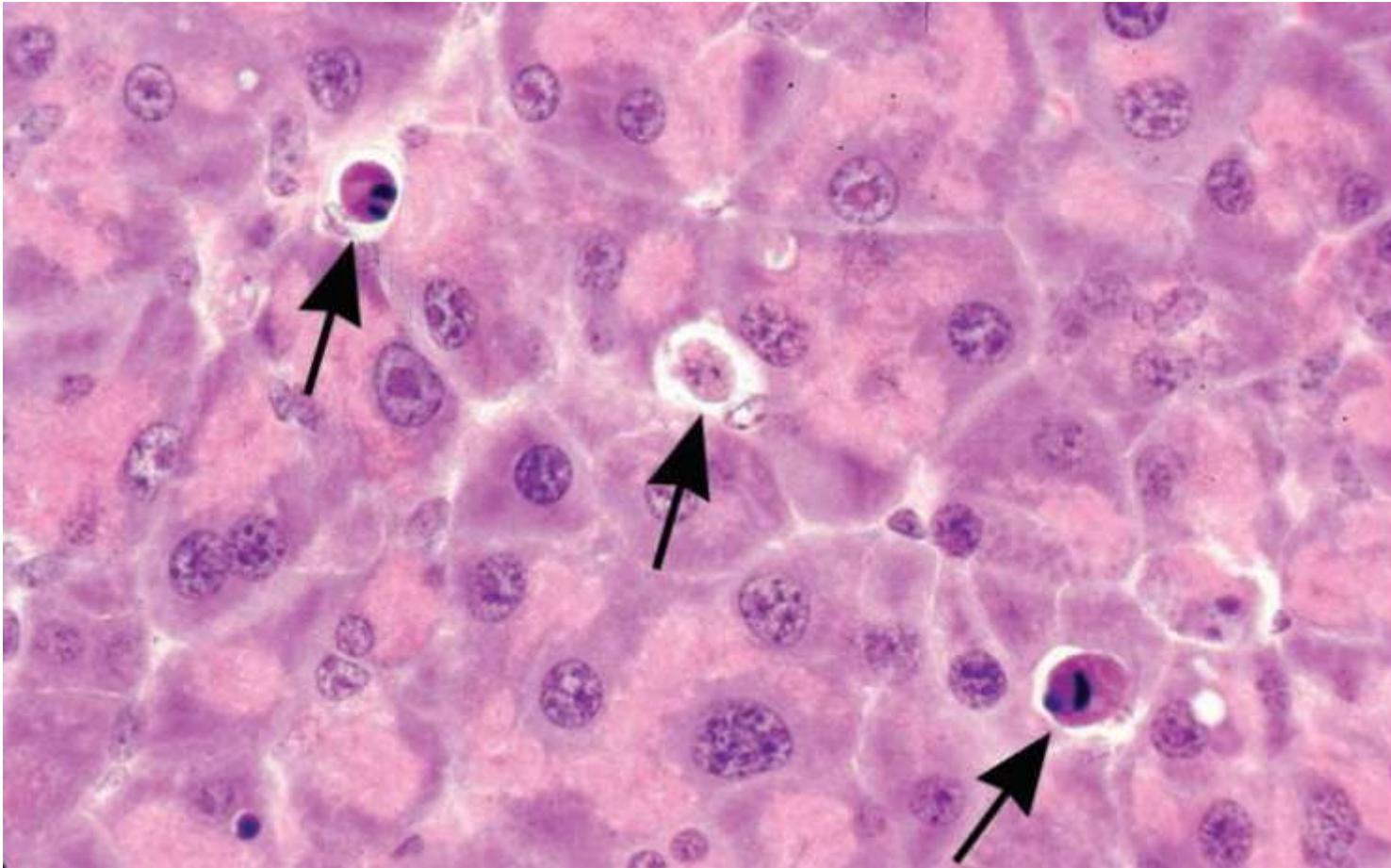
Maladies associées à l'apoptose



Caractéristiques morphologiques de la cellule apoptotique

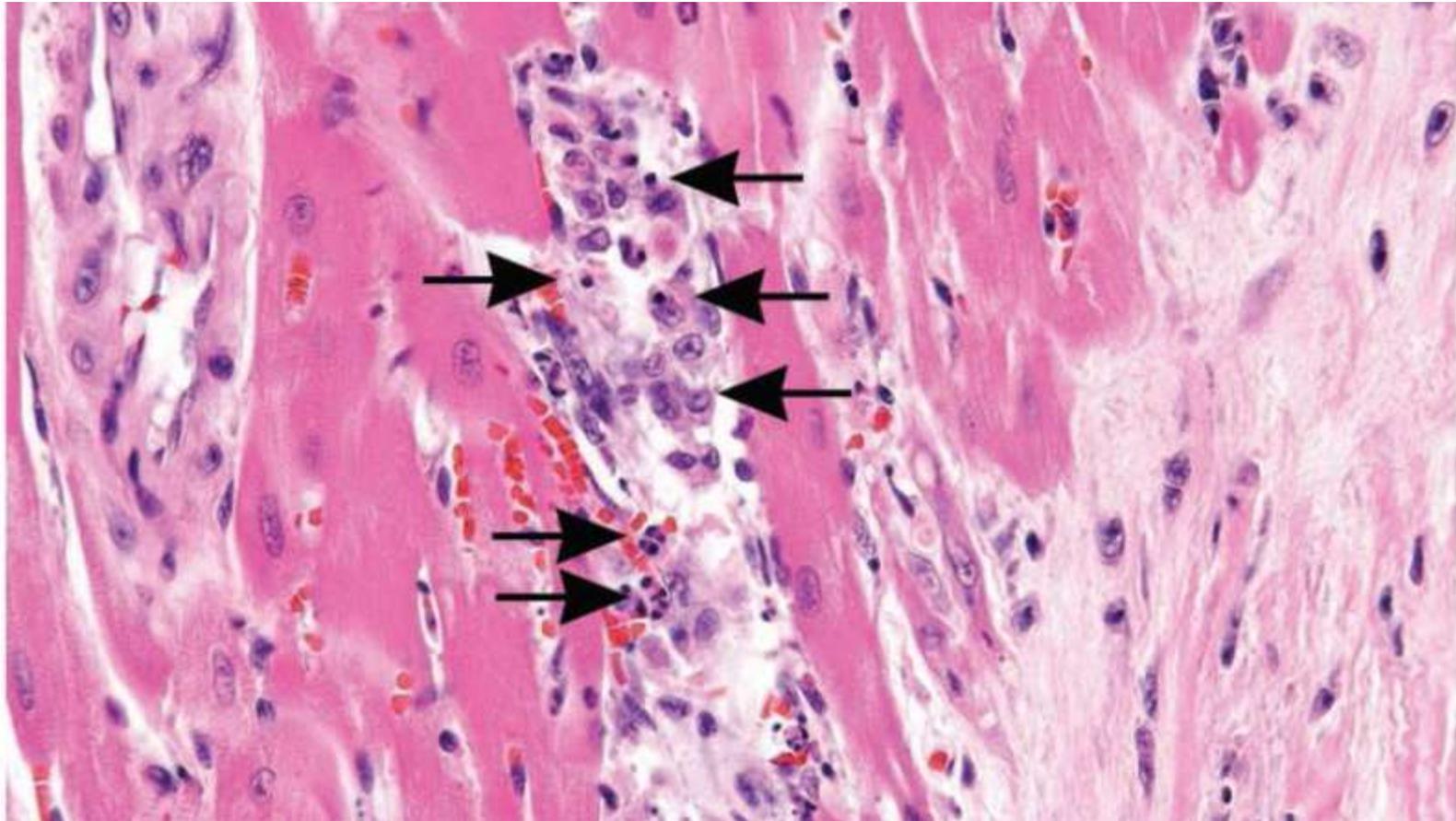
- Petite taille
- Forme arrondie
- Cytoplasme dense
- Organites serrés
- Condensation de chromatine
- Fragmentation de la chromatine

Caractéristiques morphologiques



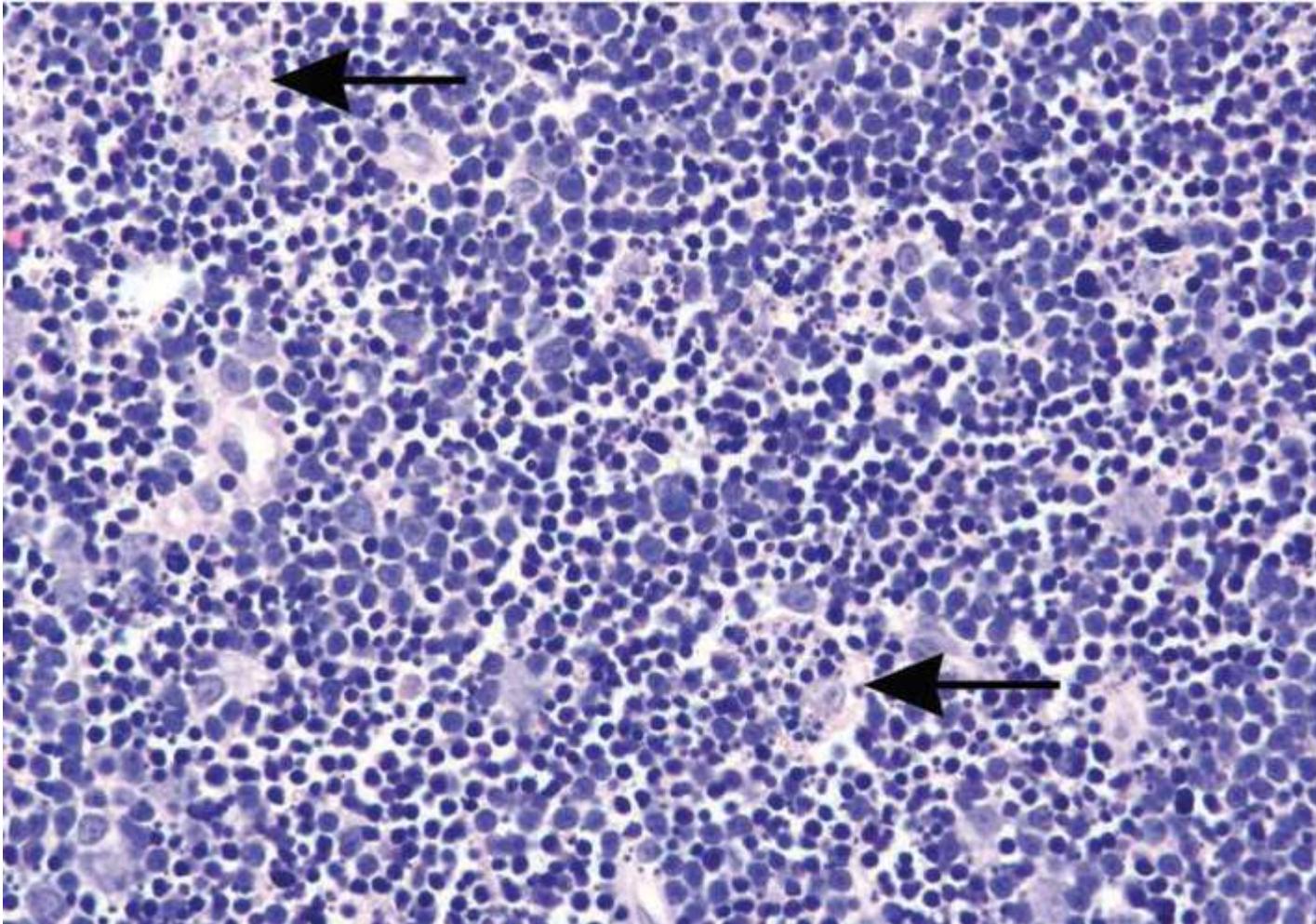
Howden et al., 2004, Journal of Physiology

Caractéristiques morphologiques

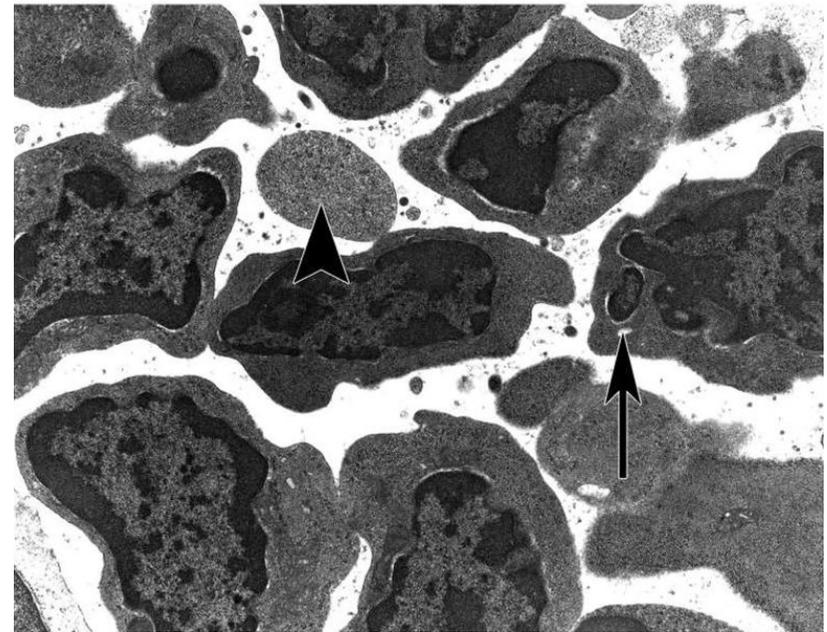
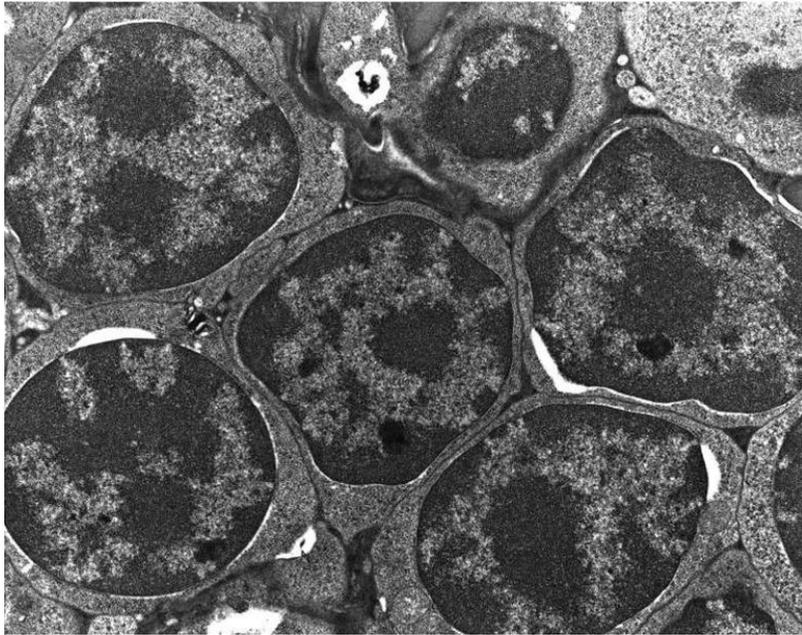


Howden et al., 2004, Journal of Physiology

Caractéristiques morphologiques

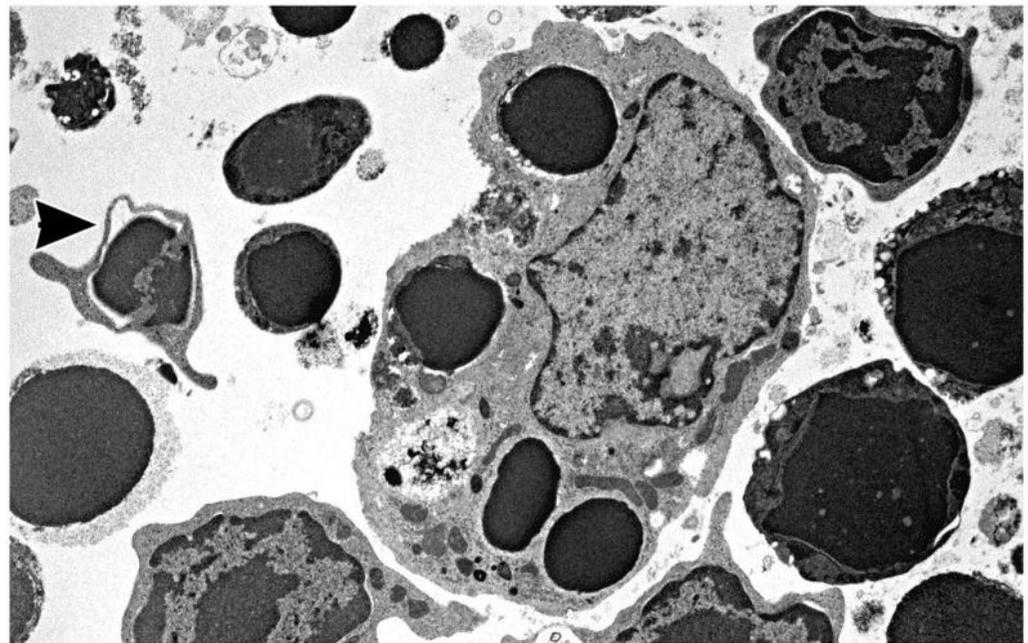
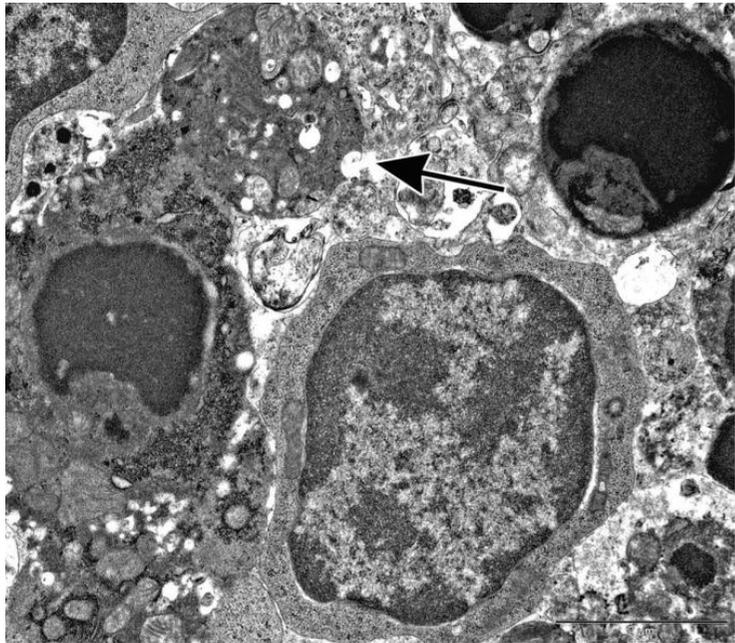


Caractéristiques morphologiques



Susan Elmore, 2007. Toxicol Pathol

Caractéristiques morphologiques



Susan Elmore, 2007. Toxicol Pathol

Les phases de l'apoptose

- hémorragie de la membrane plasmique
- Pycnose (rétraction du noyau)
- Caryolyse (dégradation de la chromatine)
- Bourgeonnement (Séparation des fragments de cellules en corps apoptotiques)
- Phagocytose des corps apoptotiques par les macrophages, les cellules parenchymateuses ou les cellules néoplasiques

Les phases de l'apoptose

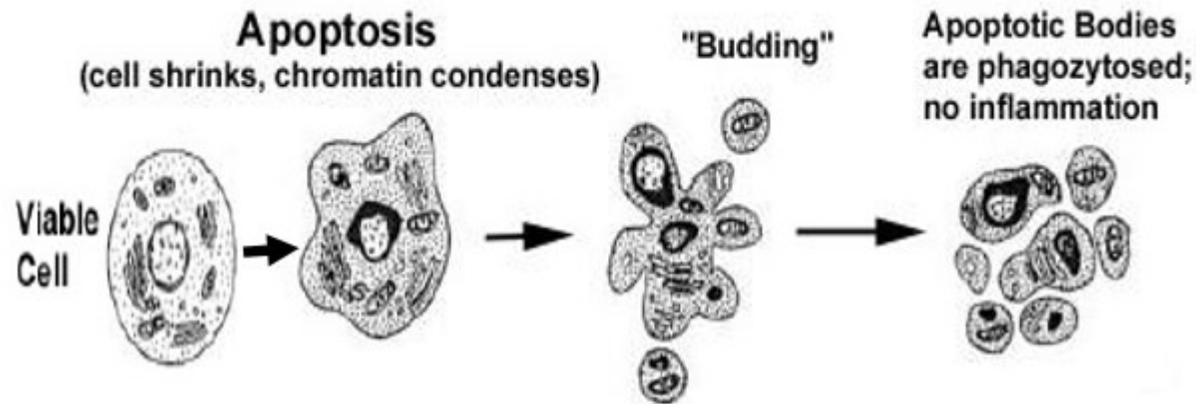


Fig.1. Morphological features of apoptotic cell: Cellular shrinking, chromatin condensation and marginalization, formation of membrane-bound apoptotic bodies, cytosol and nuclear fragmentations.

Caractéristiques biochimiques de l'apoptose

- Les changements membranaires (expression de phosphatidylsérine) permettent la reconnaissance par les cellules phagocytaires
- Activation des caspases
- Dégradation d'ADN et des protéines

Régulation de l'apoptose

- Signaux de développement
 - les hormones
 - les cytokines
 - les facteurs de croissance
- Signaux environnementaux
 - Virus
 - Agressions toxiques
- Dans la plupart des cellules tumorales ou somatiques, l'apoptose se produit via deux voies de signalisation principales : intrinsèque et extrinsèque

Mécanismes de l'apoptose

- **La voie extrinsèque** : activation des récepteurs de la mort et du facteur de nécrose tumorale
- **La voie intrinsèque** : activation des procaspases par les facteurs apoptogènes libérés par la mitochondrie
- **La voie intrinsèque du réticulum endoplasmique**

La voie extrinsèque

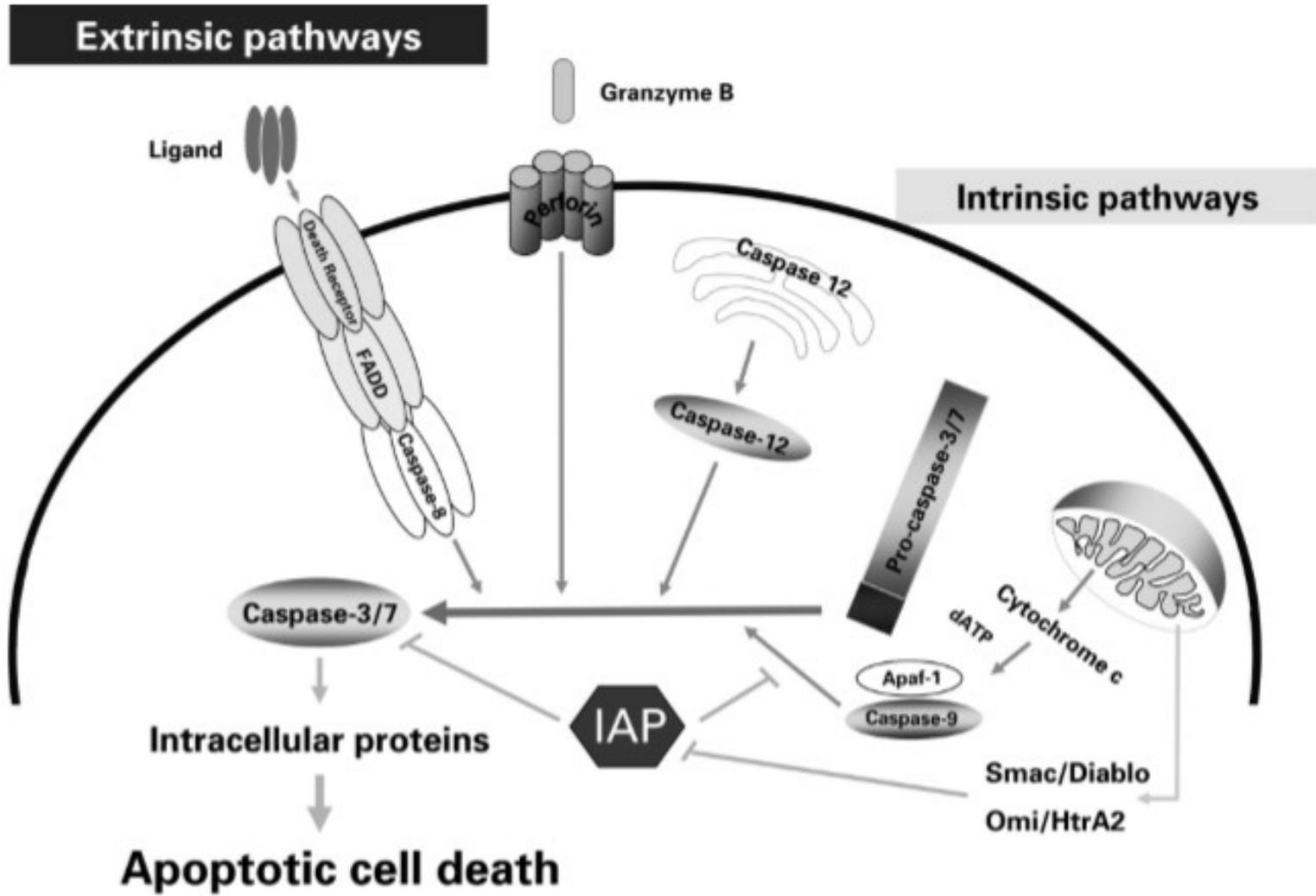
- Déclanchée par une liaison entre les récepteurs de la mort [TNF de type 1 (TNFR1), Fas (CD95)] et ligands de la mort [(TNF, ligand de Fas (FasL)]
- Les récepteurs de mort qui ont un domaine de mort intracellulaire recrutent des protéines adaptatrices (ex. TRADD de TNFR1) et les protéases de la cystéine (ex. caspase 8)
- Formation du complexe de signalisation induisant la mort (DISC) qui active la caspase-8

La voie intrinsèque

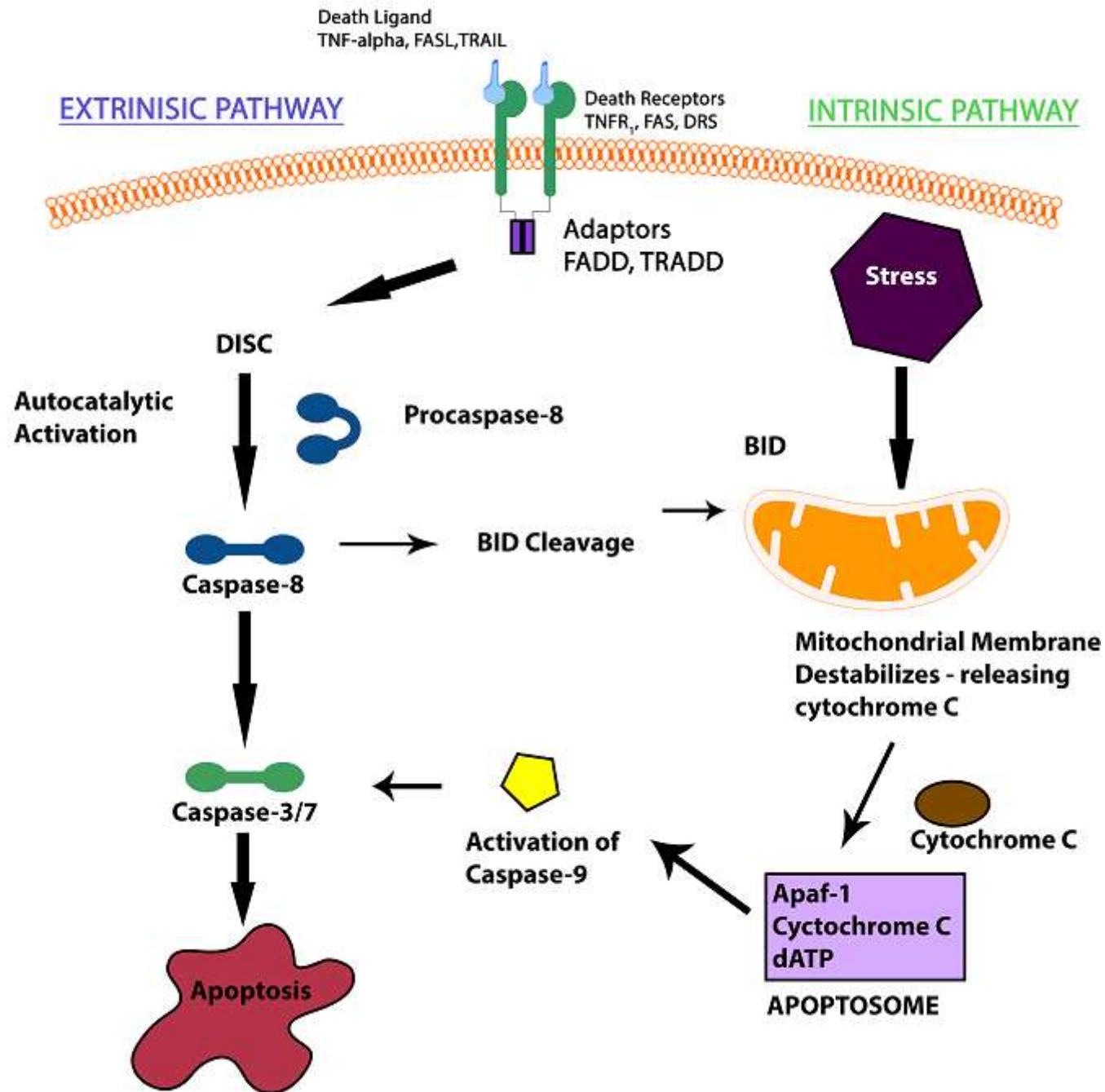
- Initiée au sein de la cellule par des facteurs tels que l'hypoxie, des dommages génétiques, une concentration élevée en ions calcium cytosoliques, un stress oxydatif extrême (voie mitochondriale)
- Libération des facteurs apoptogènes de l'espace intermembranaire mitochondrial vers le cytosol [ex. Cytochrome-c, AIF, Smac, DIABLO, Omi / (HtrA2)]
- Formation de l'apoptosome, composé de cytochrome c, Apaf-1 et caspase 9
- Activation des caspases exécuteurs

La voie intrinsèque

- La libération du Cytochrome-c est étroitement régulée par un groupe de protéines appartenant à la famille Bcl-2
- Il existe deux groupes principaux de protéines Bcl-2
 - Protéines pro-apoptotiques (Bax, Bak, Bad, Bcl-X, Bid, Bik, Bim et Hrk) : favorisant la libération du cytochrome-c
 - Protéines anti-apoptotiques (par exemple, Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 et Mcl-1) : régulent l'apoptose en bloquant la libération du cytochrome-c

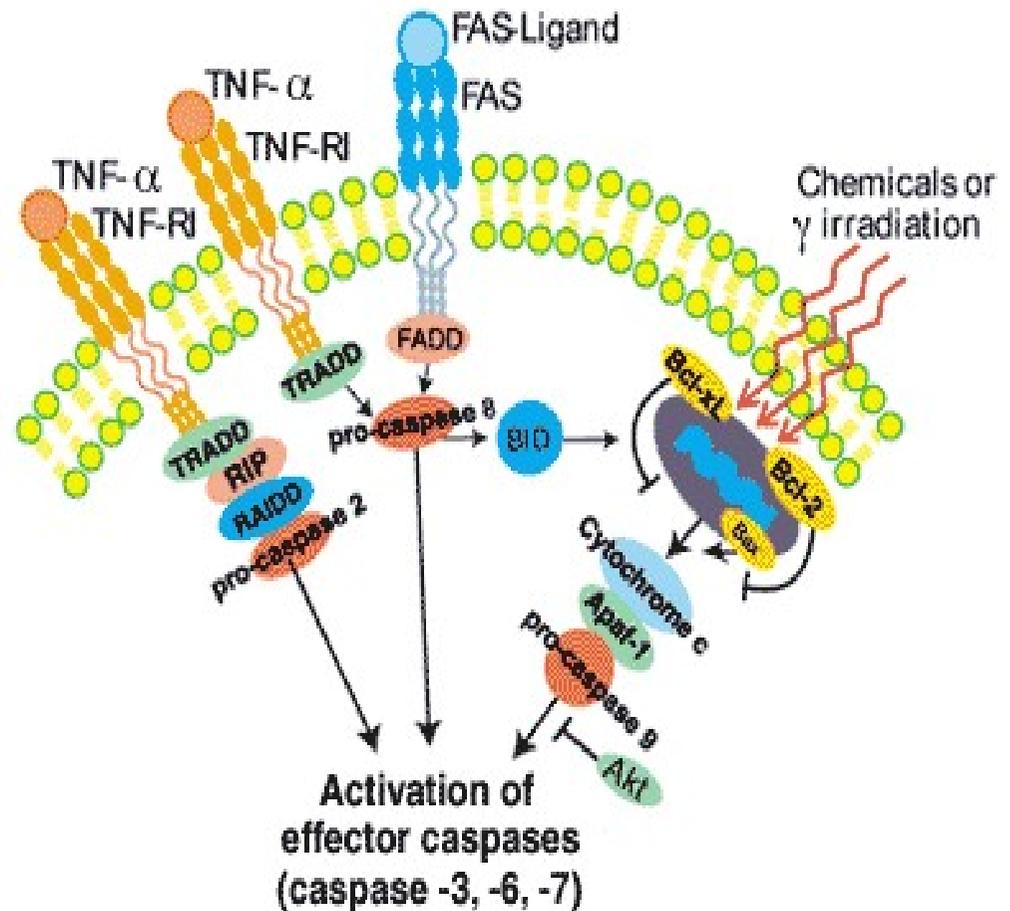


Zhang *et al.* 2005



La voie commune

- La caspase-9 est la caspase de la voie intrinsèque.
- La caspase-8 est la caspase de la voie extrinsèque.
- Les voies intrinsèques et extrinsèques convergent vers la caspase-3.
- La caspase 3 inactive l'inhibiteur de la désoxyribonucléase.



La voie commune

- Les caspases en aval des deux voies (caspases 3 et 7) induisent le clivage des protéines suivantes
 - Protéines kinases
 - protéines cytosqueletiques
 - protéines de réparation de l'ADN
 - Les sous-unités inhibitrices de la famille des endonucléases.
- Les caspases en aval des deux voies exercent un effet sur
 - le cytosquelette
 - le cycle cellulaire
 - les voies de signalisation qui contribuent aux changements morphologiques typiques de l'apoptose

Les protéines intervenants dans l'apoptose

- Interactions entre plusieurs familles de protéines
 - les caspases
 - la granzyme B
 - les calpaines
 - les cathepsines
 - les protéines de la famille Bcl-2
 - les protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP)

La famille des caspases

- Jouent un rôle essentiel dans l'apoptose
- Les inhibiteurs de caspases préviennent l'apoptose
- L'expression ectopique des caspases peut induire l'apoptose
- L'ablation des caspases clés entraîne des troubles de développement avec une létalité précoce (perturbation de l'apoptose)

La famille des caspases

- Protéases spécifiques de l'aspartate dépendante de la cystéine
- 14 caspases identifiées
 - Initiateurs de l'apoptose (caspase-2, 8, 9 et 10)
 - Exécuteurs de l'apoptose (caspase-3, 6 et 7)
 - Participants à l'activation de cytokines (caspase-1, 4, 5, 11, 12, 13 et 14)
- Les caspases initiateur et exécuteurs ont un rôle direct ou indirect dans le traitement, la propagation et l'amplification de signaux apoptotiques

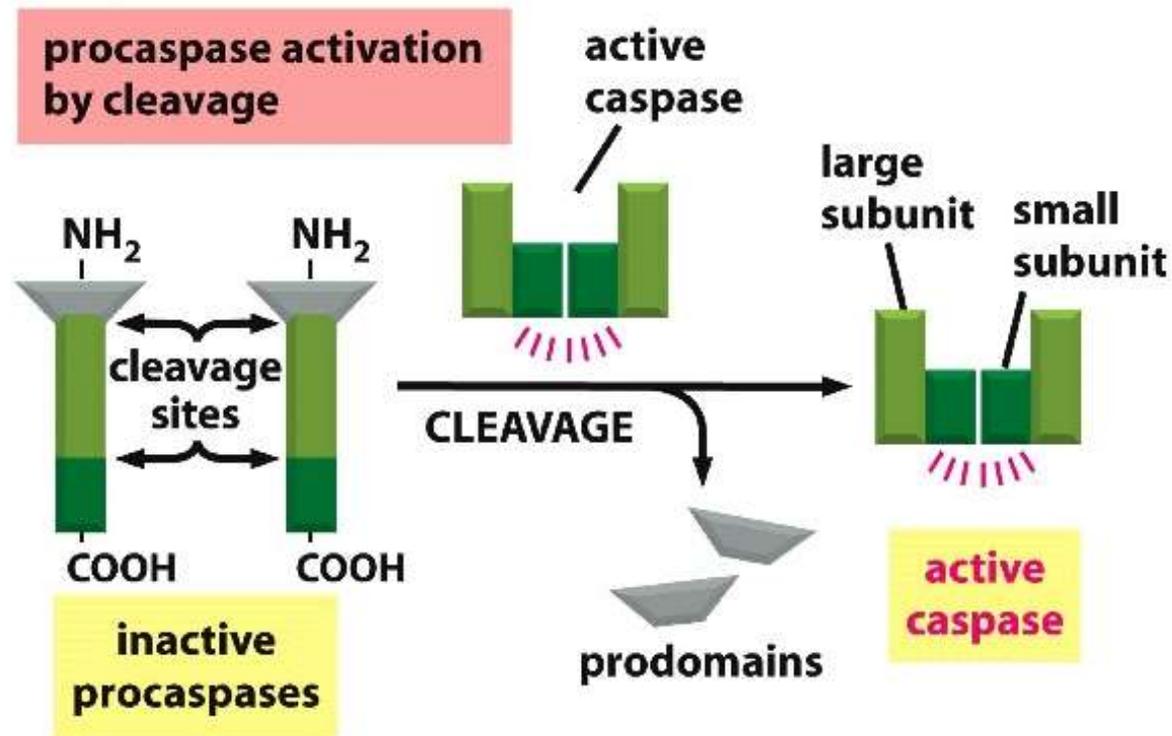
Caspases Initiateurs et Protéines Adaptatrices

- Initiation de la voie apoptotique par contrôle et exécution des signaux de mort
 - Caspase-2 : apoptose induite par le stress
 - Caspase-8 et FADD : apoptose par transduction de Fas et TNF-R1
 - Caspase-9 et Apaf-1 : dommages liés à l'ADN
 - Caspase-10 et FADD : apoptose médiée par TRAIL et Fas
 - Caspase-12 : activée dans le réticulum endoplasmique par des signaux apoptotiques induits par le stress

Caspases Exécuteurs

- Clivage enzymatique de diverses protéines cellulaires.
 - caspase-3 : assure l'achèvement du processus apoptotique dans le développement embryonnaire
 - caspase-6
 - caspase-7 : assure l'achèvement du processus apoptotique dans l'apoptose induite par des médicaments ; fragmentation de l'ADN

Activation des caspases



Activation des caspases

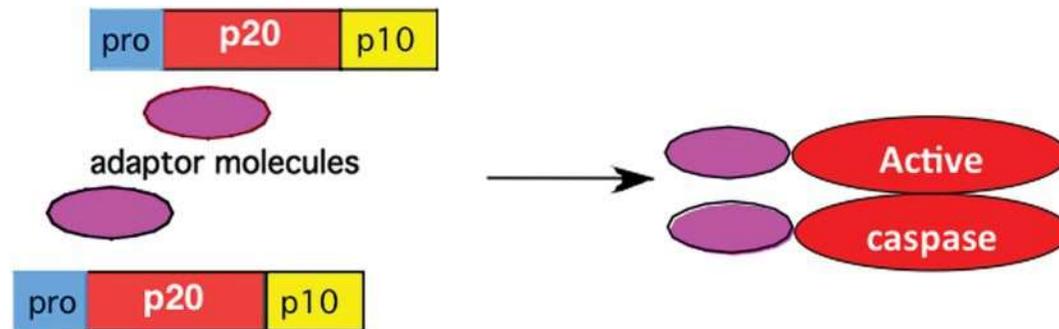
Activation by cleavage

Effector caspases
Caspases-3, -6 and -7



Activation by proximity-induced dimerization

Initiator caspases
Caspases-2, -8, -9 and -10



Protéines cibles des caspases

- Les caspases exercent un clivage protéolytique hautement sélectif: spécificité dominante pour les substrats contenant de l'aspartate et utilisation d'une chaîne latérale de cystéine (Gln-Ala-Cys-Xaa-Gly) pour catalyser le clivage
- Environ 70 substrats de caspases identifiés
- Protéines clés qui jouent un rôle crucial dans la survie des cellules ou interviennent dans des fonctions cellulaires :
 - protéines régulatrices qui fonctionnent dans les voies homéostatiques
 - protéines impliquées dans l'organisation et le maintien des structures cellulaires

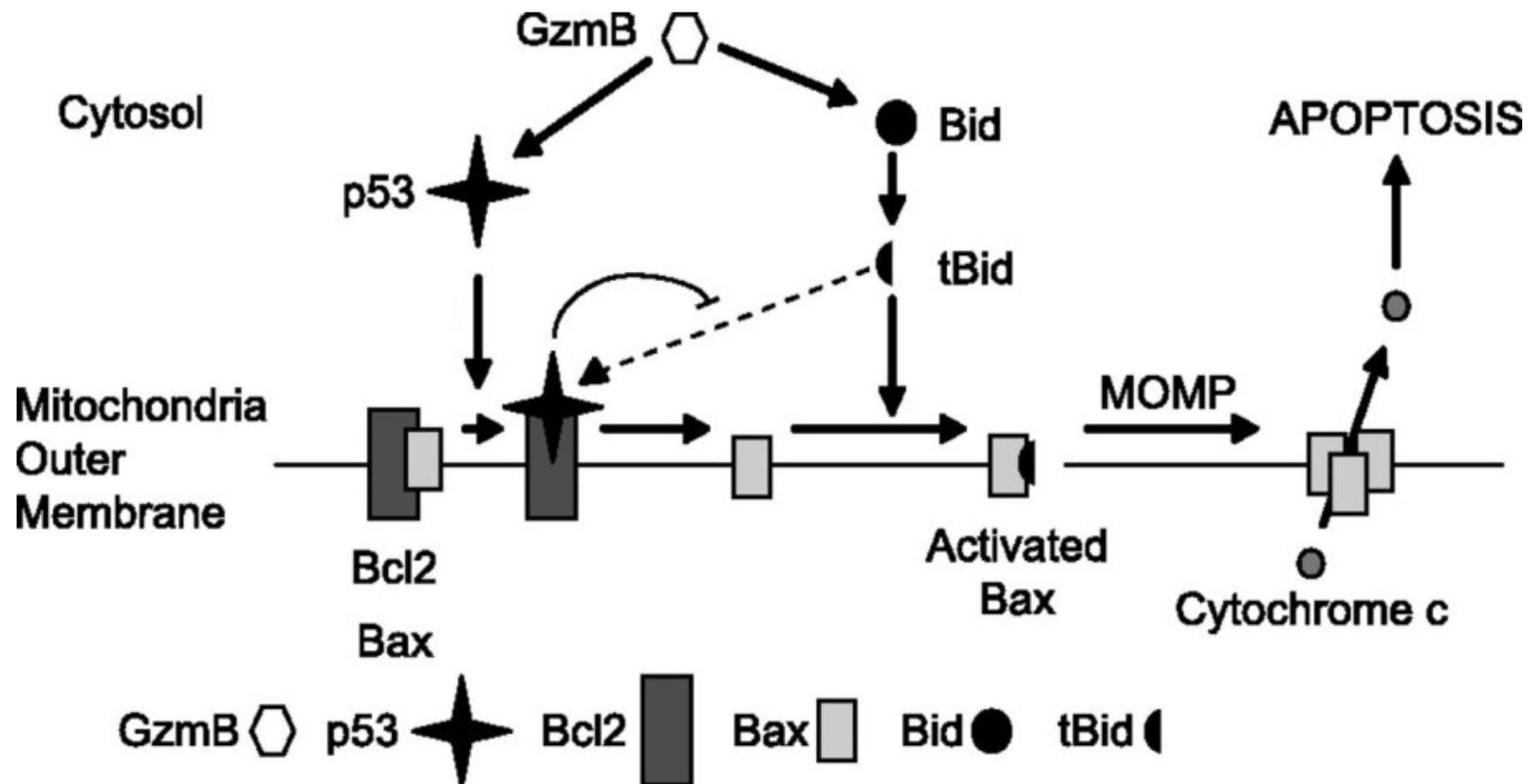
Protéines cibles des caspases

- Les caspases peuvent modifier la fonction de leurs protéines cibles de quatre façons différentes :
 - Inactiver la fonction biochimique normale de leurs substrats [Ex. inhibiteur de la DNase activée par la caspase (ICAD), PARP, DNA-PKcs]
 - Activer par élimination de domaines régulateurs (Ex. Les PKC, SREBP)
 - Altérer ou inverser la fonction de leurs protéines cibles (Ex. activation de Bid et passage de Bcl-2 et Bcl-XL de la forme anti-apoptotique à la forme apoptotique après clivage)
 - Protéolyse (désassemblage) des composants structurels du cytosquelette et de l'échafaudage nucléaire (Ex. les lamines, la fodrine, la gelsoline)

Granzyme B

- Sérine protéase
- Exprimée par les LT CD8+ et les NK
- Induit la mort des cellules infectées et potentiellement dangereuses
- Dépendante de la perforine
- Même spécificité de site de clivage que la caspase-3
- Polyspécifique : capable de cliver les caspases 2, 3, 6, 7, 8, 9 et 10 à des degrés de préférence différents
- Peut directement cliver des substrats de caspases en aval (ex: fragmentation de l'ADN)

Granzyme B



Les calpaïnes

- Un groupe de protéases cytoplasmiques, exprimées de manière ubiquitaire ou spécifique du tissu.
- Ca^{2+} indispensable pour leur activation et le maintien d'une activité optimale.
- L'activité des calpaïne est également régulée par un inhibiteur endogène très spécifique appelé calpastatine
- Substrats de la calpaïne : la gelsoline, la PKC, p53 et Bax.

Les cathepsines

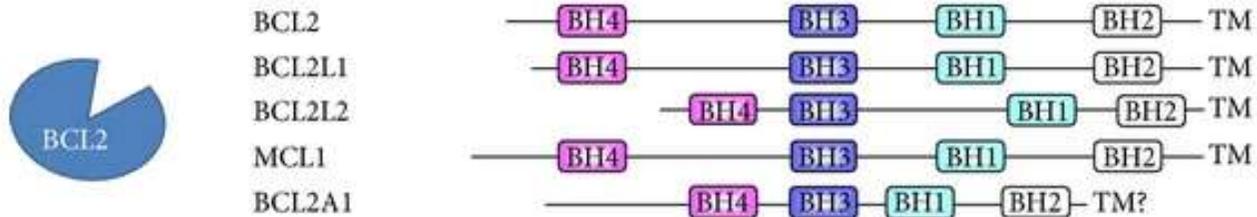
- Famille des protéases divisées en trois groupes distincts en fonction des résidus d'acides aminés du site actif:
 - groupe 1 - sérine protéase (cathepsine A et G),
 - groupe 2 - protéases de cystéine (cathepsine B, C, H, K, L, S et T)
 - groupe 3 - protéases aspartate (cathepsine D et E)
- Comme les caspases, les cathepsines sont synthétisées sous forme de zymogènes inactifs et leur activation peut également impliquer une cascade de traitement protéolytique dans laquelle la cathepsine D est activée en amont de la cathepsine B

Famille des protéines Bcl-2

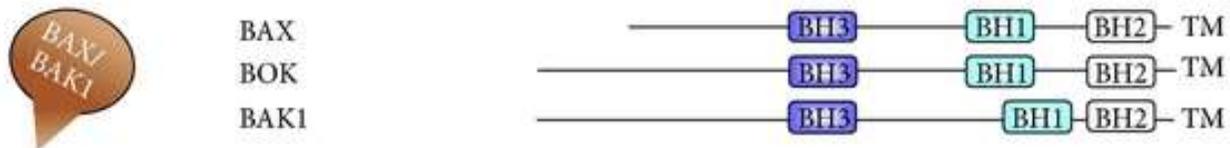
- Famille de molécules pro- et anti-apoptotiques
- Puissants régulateurs du programme de mort cellulaire apoptotique
- Classées en trois sous-familles sur la base de leur fonction et de leur structure:
 - Bcl-2 : Un groupe de protéines formant un canal anti-apoptotique avec quatre domaines d'homologie (BH) Bcl-2 (BH1–4). Comprend les Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Bcl-B / Diva / Boo, Mcl-1 et A1 / Bf1-1,
 - Bax : Comprend les Bax, Bak et Bok / Mtd qui sont pro- apoptotiques et forment des canaux protéiques avec trois domaines BH (BH1–3)
 - BH3: ligands pro-apoptotiques ne contenant que le domaine BH3 et comprennent Bik, Bad, Bid, Blk, Hrk, BimL et BNIP3

Classification des Bcl-2

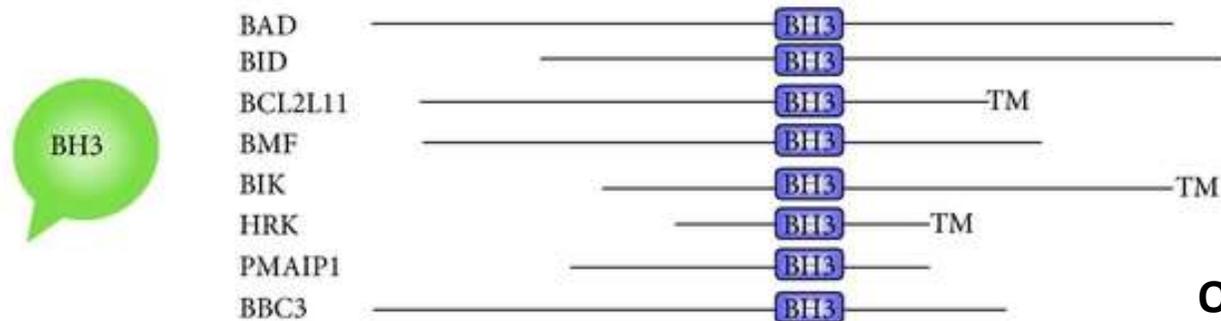
Multidomain prosurvival proteins



Multidomain proapoptotic proteins



BH3-only proapoptotic proteins



Olsson *et al.* 2013

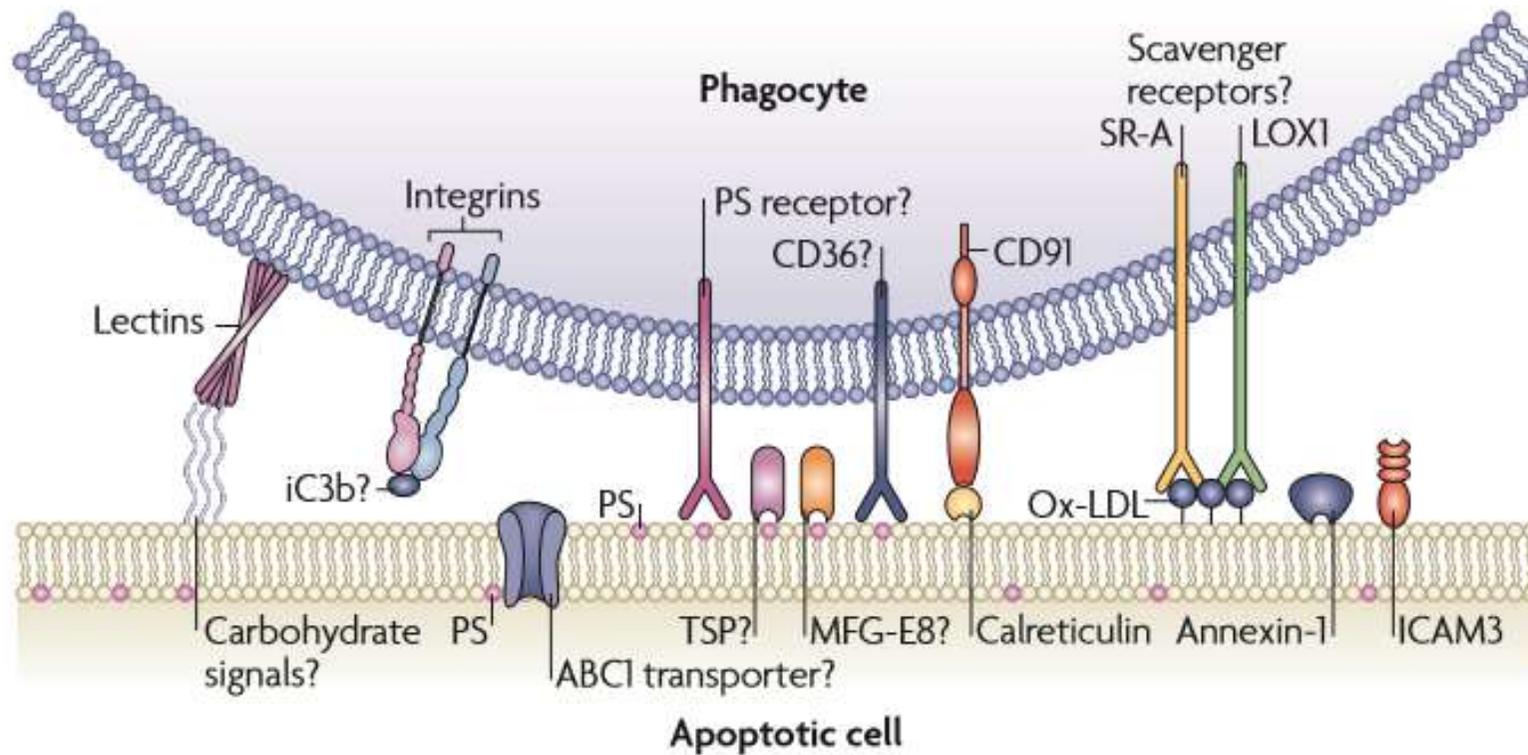
Mécanismes d'action des Bcl-2

- Interaction protéine-protéine et hétérodimérisation
 - Bcl-2 anti-apoptotique ancrée à la mitochondrie maintient l'homéostasie membranaire et supprime la libération du cytochrome c
 - Bcl-xL interagit physiquement avec Apaf-1 pour prévenir l'activation des caspases associées, entraînant la suppression de la cascade de caspases et d'apoptose ultérieure

Protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP)

- XIAP, c-IAP1, c-IAP2, NAIP, survivine, livine et Ts-IAP
- Contrairement aux protéines de la famille Bcl2, qui exercent leurs effets régulateurs par le biais des mitochondries, les IAP se lient directement aux caspases 3, 7 et 9
- Trois protéines ont été identifiées comme régulateurs négatifs des IAP
 - le facteur 1 associé à XIAP (XAF1),
 - Smac / DIABLO
 - Omi / HtrA2

Phagocytose des cellules apoptotiques



Taylor *et al.* 2008

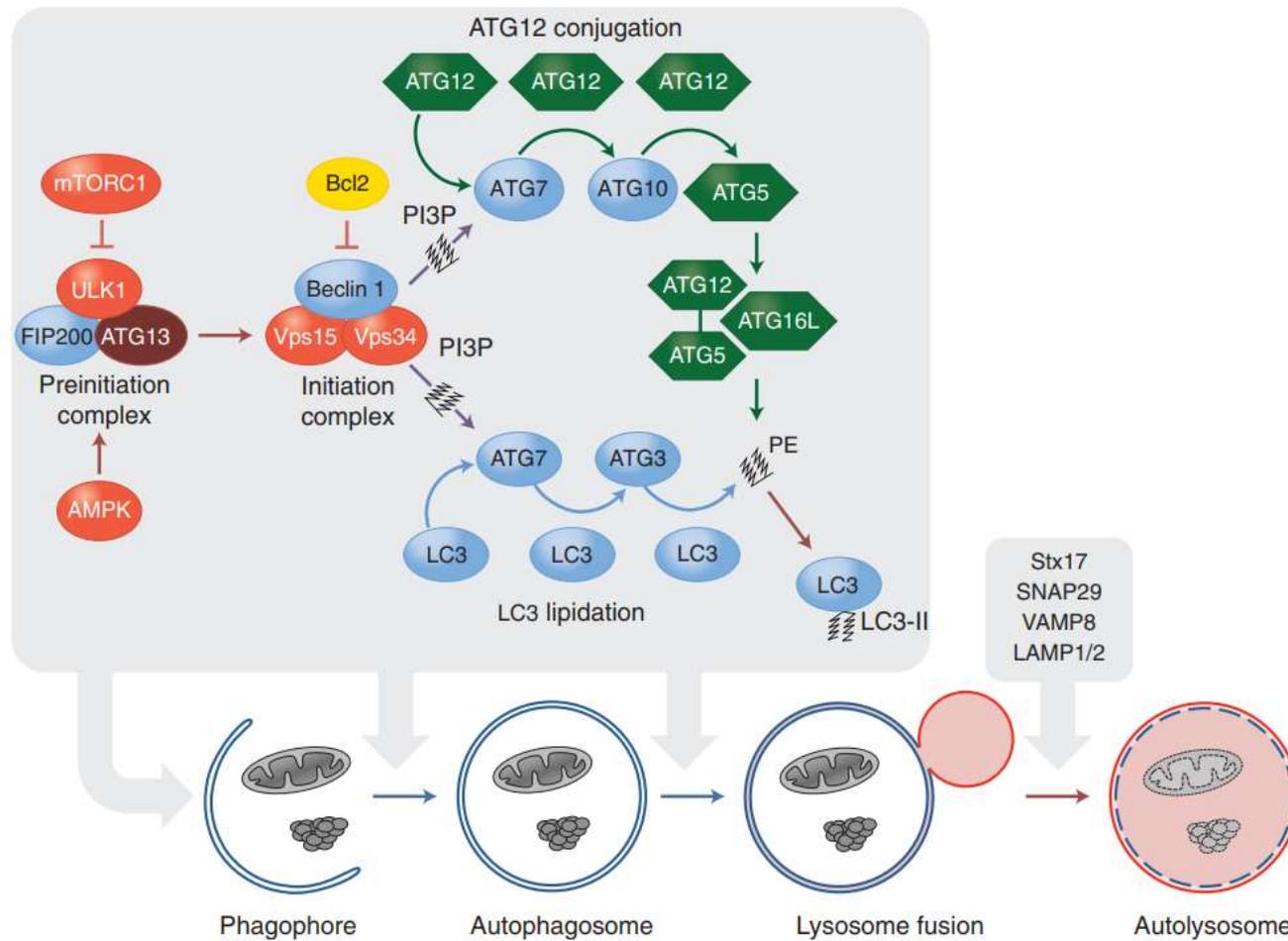
Autophagie

- processus de survie cellulaire hautement conservé chez les eucaryotes.
- catabolisme activé en cas de stress métabolique (comme la privation de nutriments et l'échec bioénergétique), visant à assurer la disponibilité des intermédiaires métaboliques essentiels.
- Importante pour l'élimination d'organites endommagés (y compris les mitochondries), des agrégats de protéines et des organismes infectieux

Autophagosome

- structure à double membrane qui enveloppe le matériel intracellulaire et fusionne avec les lysosomes
- La formation et la maturation de l'autophagosome sont régulées par la fonction séquentielle de plusieurs protéines liées à l'autophagie (ATG).

Autophagosome



Mort cellulaire autophagique

- Une tentative échouée de surmonter un stress létal
- Mort cellulaire indépendante de la caspase
- La chromatine n'est pas condensée
- Le cytoplasme présente une vacuolisation très importante
- Les cellules ne sont pas ou sont peu reconnues par des phagocytes.
- L'autophagie peut agir comme une "arme meurtrière", permettant à une cellule de tuer efficacement une autre.