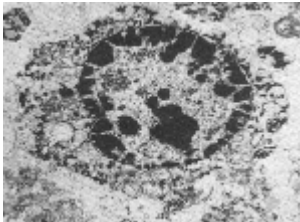

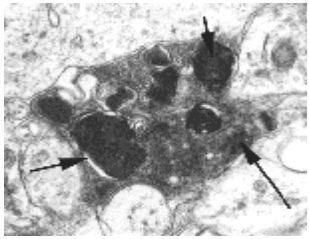


Mort cellulaire et biologie cellulaire du vieillissement

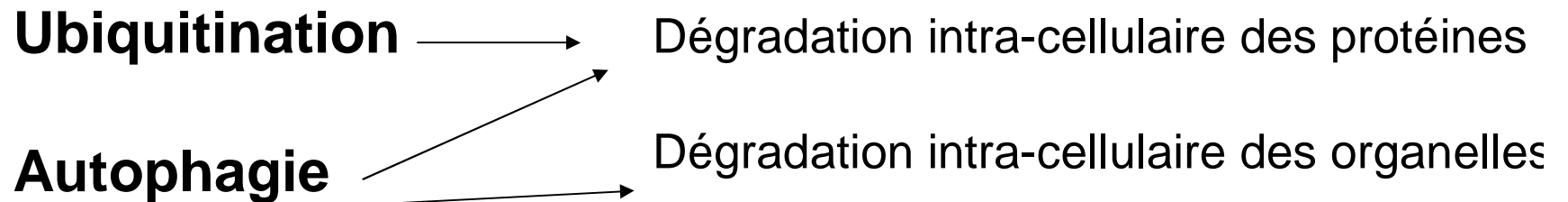
Les différents types de mort cellulaire

Type de mort	Changements morphologiques				Caractéristiques
	membrane	cytoplasme	noyau		
Nécrose	Gonflement de la cellule et des organelles, Rupture	Vacuolisation Dégénérescence des organelles Gonflement des mitochondries	Dégradation aléatoire de l'ADN		Induit une inflammation
Apoptose	Vésicules (Blebbing)	Formation de corps apoptotiques contenant des fragments de cyto et de noyau	Condensation de la chromatine Fragmentation nucléaire Echelle d'ADN		Mécanisme actif, « programmé » Dépendant des caspases Aucune inflammation
Autophagie	Vésicules (Blebbing)	Vésicules autophagiques	Condensation partielle de la chromatine Pas d'échelle d'ADN		Indépendant des caspases Activité lysosomale accrue
Sénescence	-	Granulation Aplatissement	Structure hétérochromatique	Arrêt de réplication	Activité β -Gal associée à la sénescence

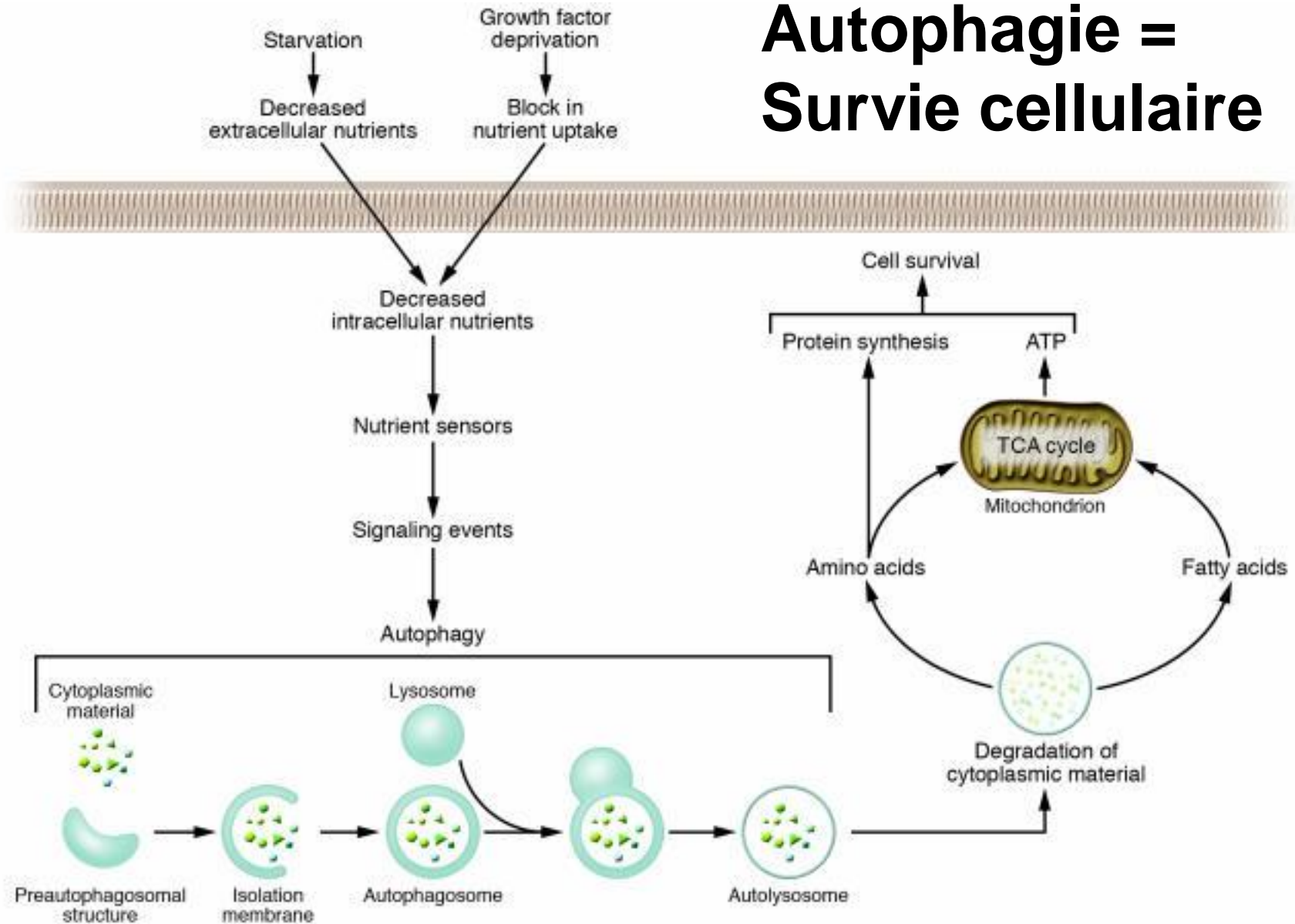
Mort cellulaire

Nécrose cellulaire : processus non programmé
dépendant d'un processus pathologique :
infection, ischémie
Inflammation autour

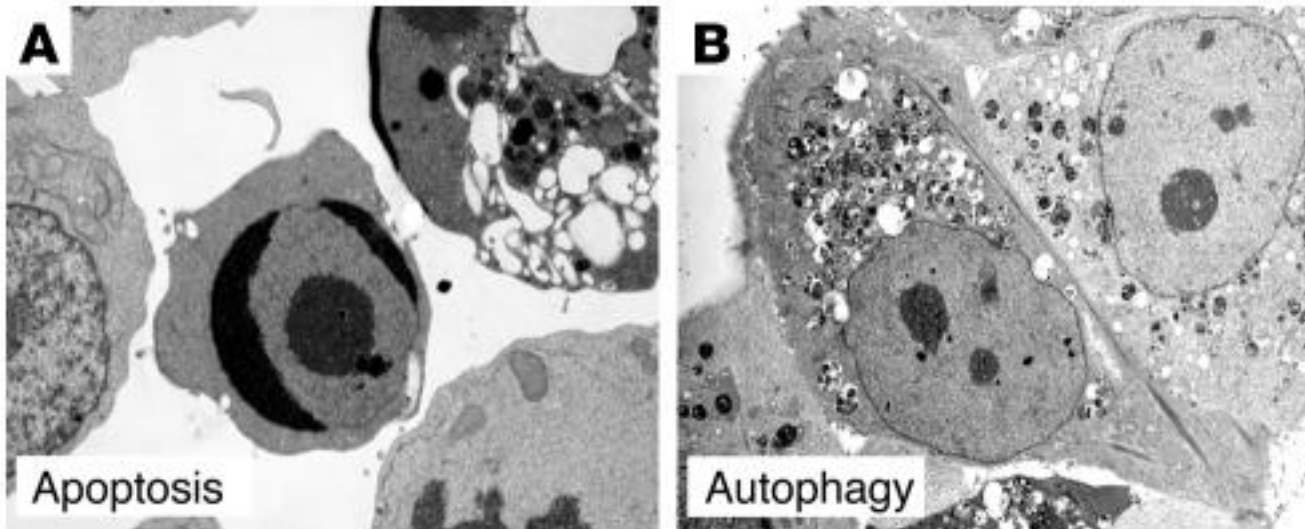
Apoptose et autophagie : processus régulés
Pas d'inflammation



Autophagie = Survie cellulaire



Apoptose et autophagie



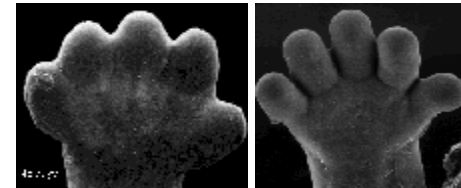
Lignée tumorale traitée par
Un agent apoptotique (Fas L)

Lignée tumorale traitées
par un agent anti cancéreux (tamoxifene)

Aspect d'autophagie dans les cellules en voie de mort
Trop d'autophagie → mort cellulaire ?
Pas de preuve de cause à effet

Apoptose : physiologie

- Développement : élimination tissu interdigitaux



- Immunologie : élimination des lymphocytes reconnaissant le soi dans la circulation
- Elimination des cellules infectées ou endommagées

Apoptose : caspases

- Apoptose = mort cellulaire dépendant des caspases activées
- Protéases hydrolysent des protéines comportant un acide aspartique .
- **Cibles :**

- **Molécules impliquées dans la réparation de l'ADN:**

- **Endonucléases:**

- - **CAD (Caspase Activated DNase), ...**

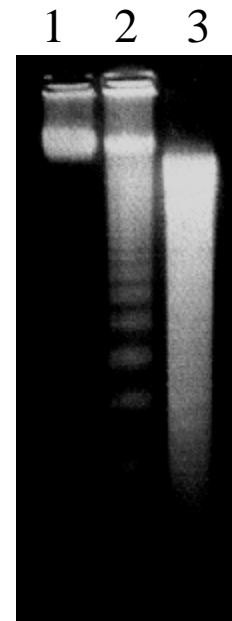
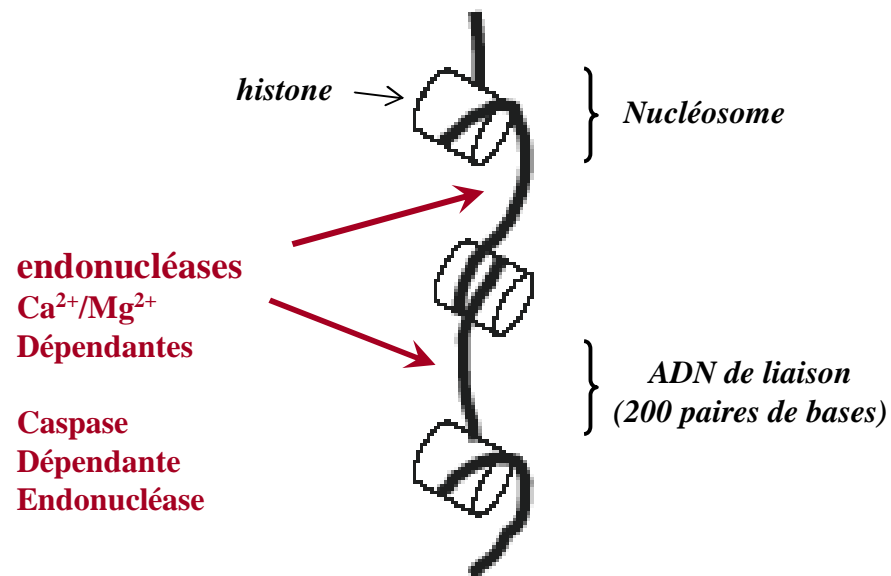
- **Protéines nucléaires:**

- - **laminines, ...**

- **Composants du cytosquelette**

- - **β -caténine, filaments d'actine FAK, ...**

Apoptose : fragmentation de l'ADN



1- Cellules normales,
ADN intact, de haut
poids moléculaire

2- Cellules apoptotiques,
ADN fragmenté
(200pdb)

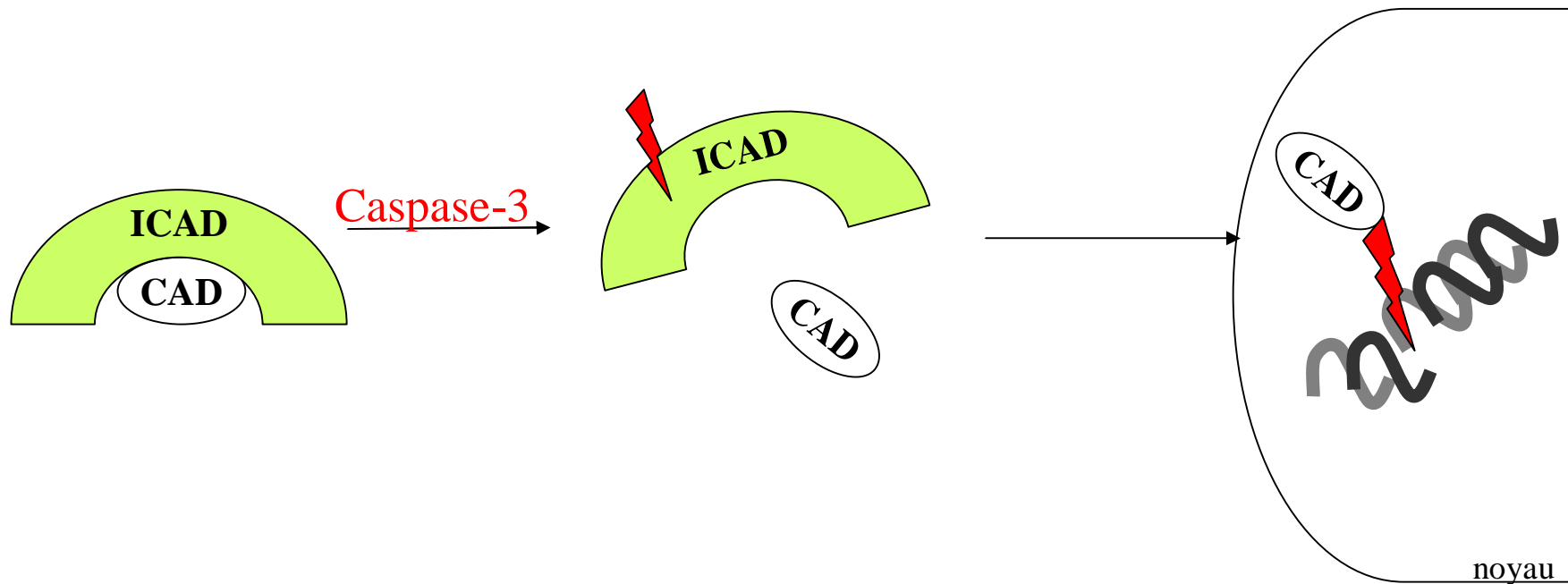
3- Cellules nécrotiques,
ADN dégradé.

Caspase et fragmentation de l'ADN

CAD est une endonucléase Mg^{2+} dépendante :

Caspase-Activated DNase

ICAD est son inhibiteur.

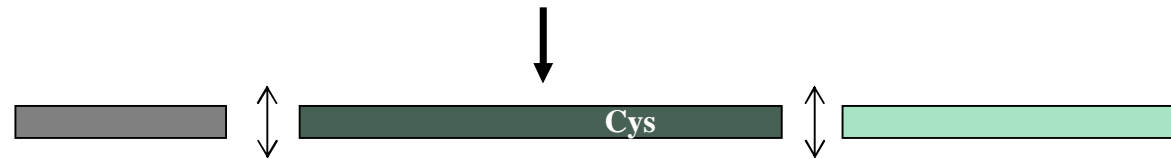


Activation des caspases

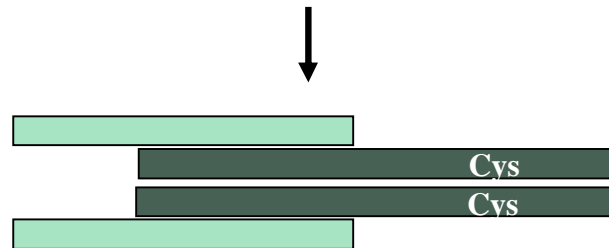
Caspases activées par une autre caspase activée ou par une autre protéine

Pro-caspase inactive

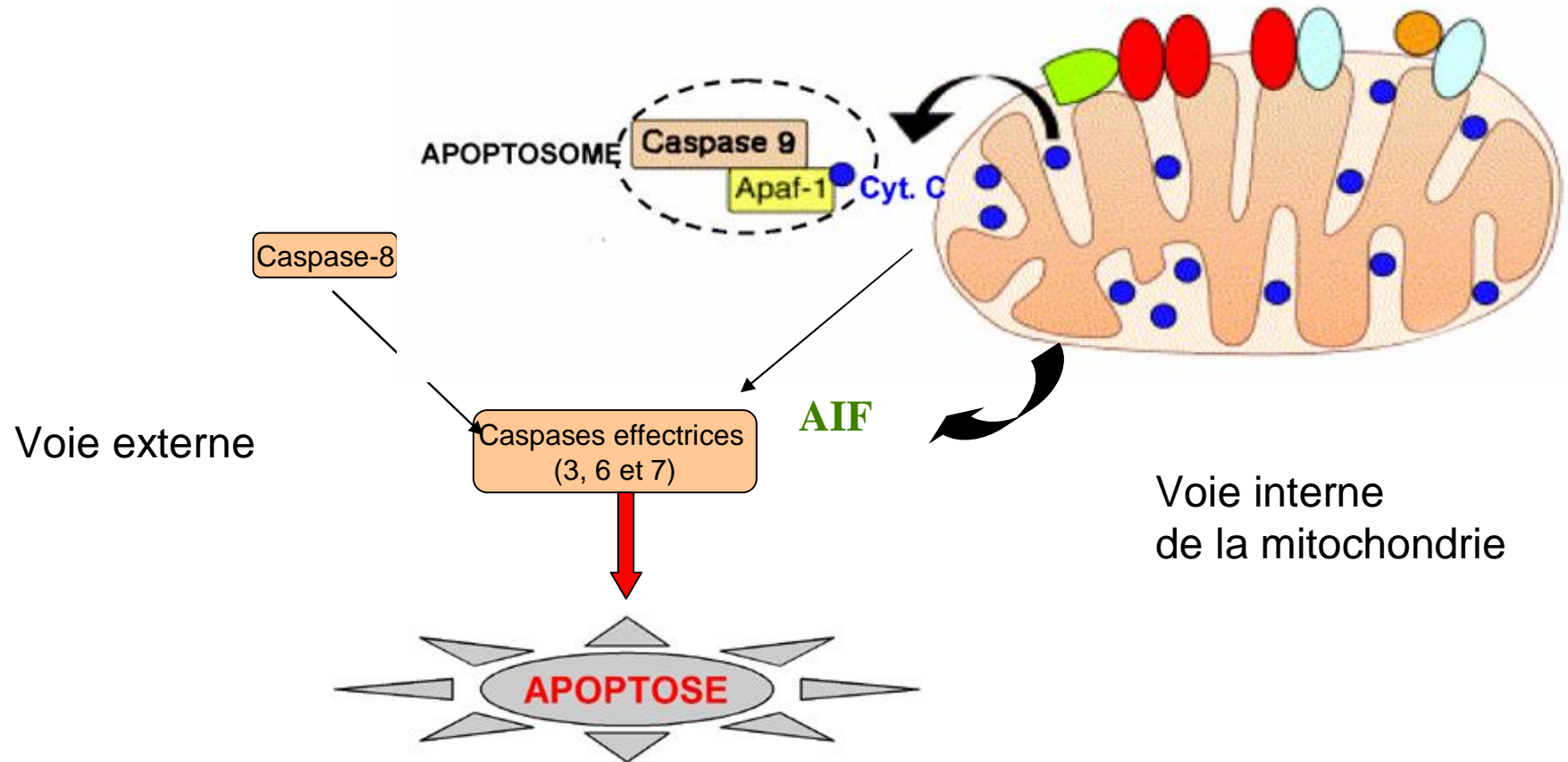
H₂N prodomaine Cys COOH



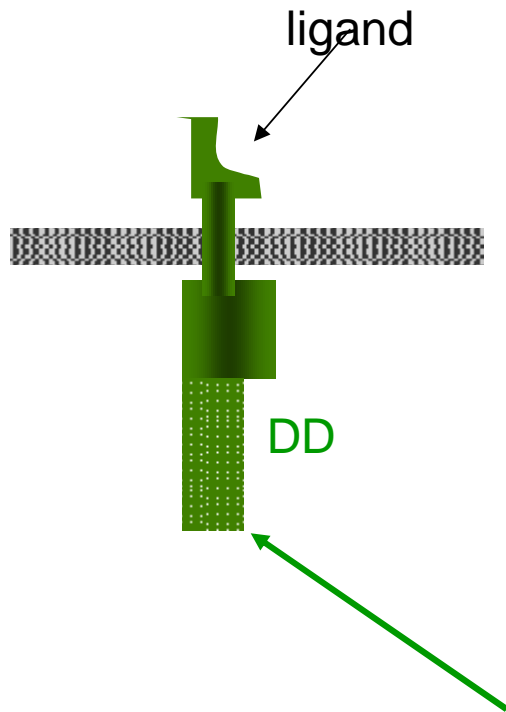
Caspase active



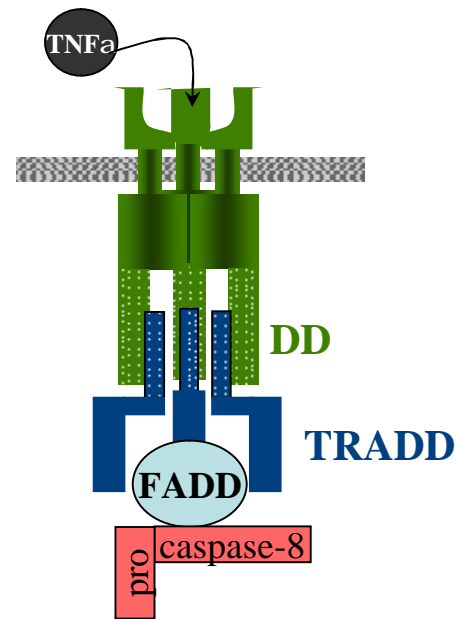
Apoptose : les deux voies



Voie externe: récepteurs de la mort



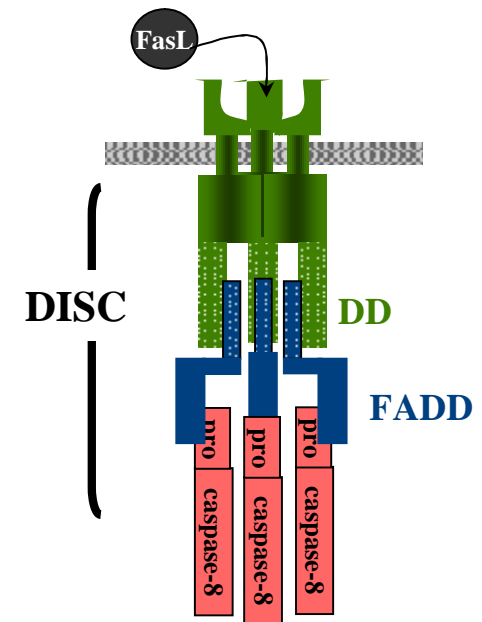
Death domain **DD**
permettant la reconnaissance
De **protéines adaptatrices**
qui vont lier les **caspases**



Caspases effectrices



Apoptose



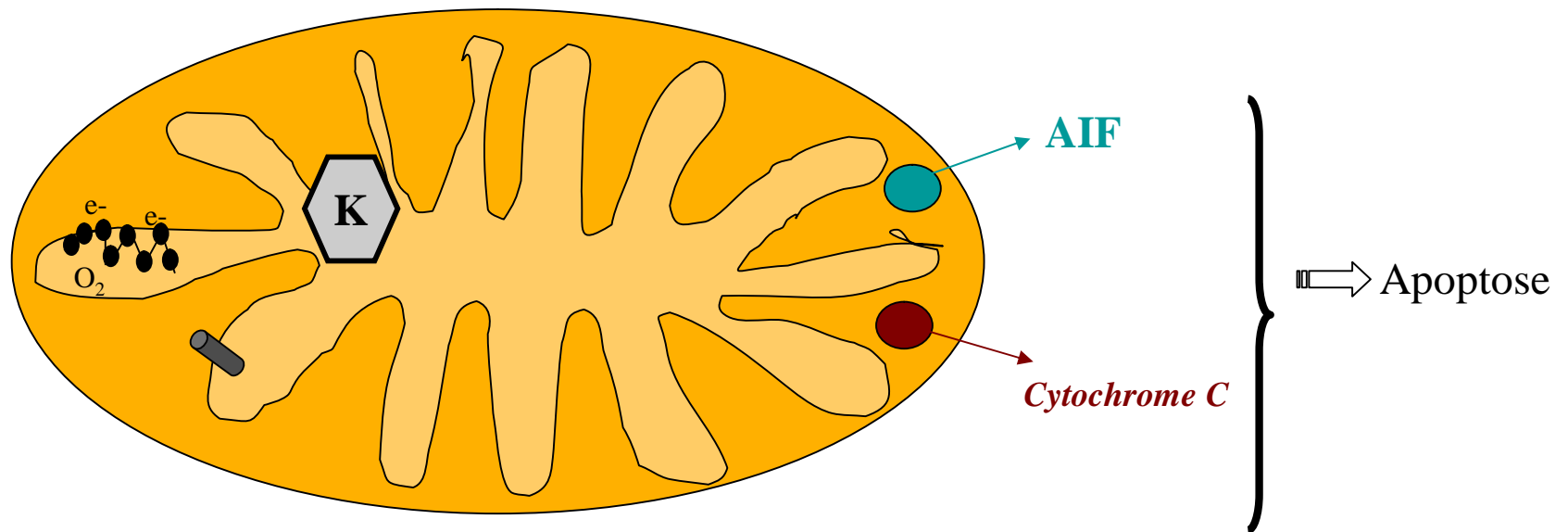
Caspases effectrices



Apoptose

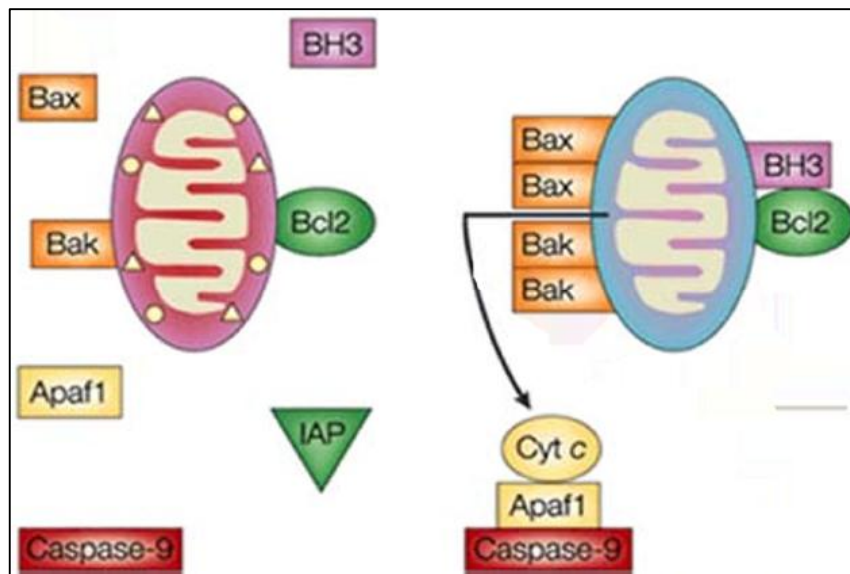
Mitochondrie

Modification de la perméabilité membranaire → relargage de certaines protéines

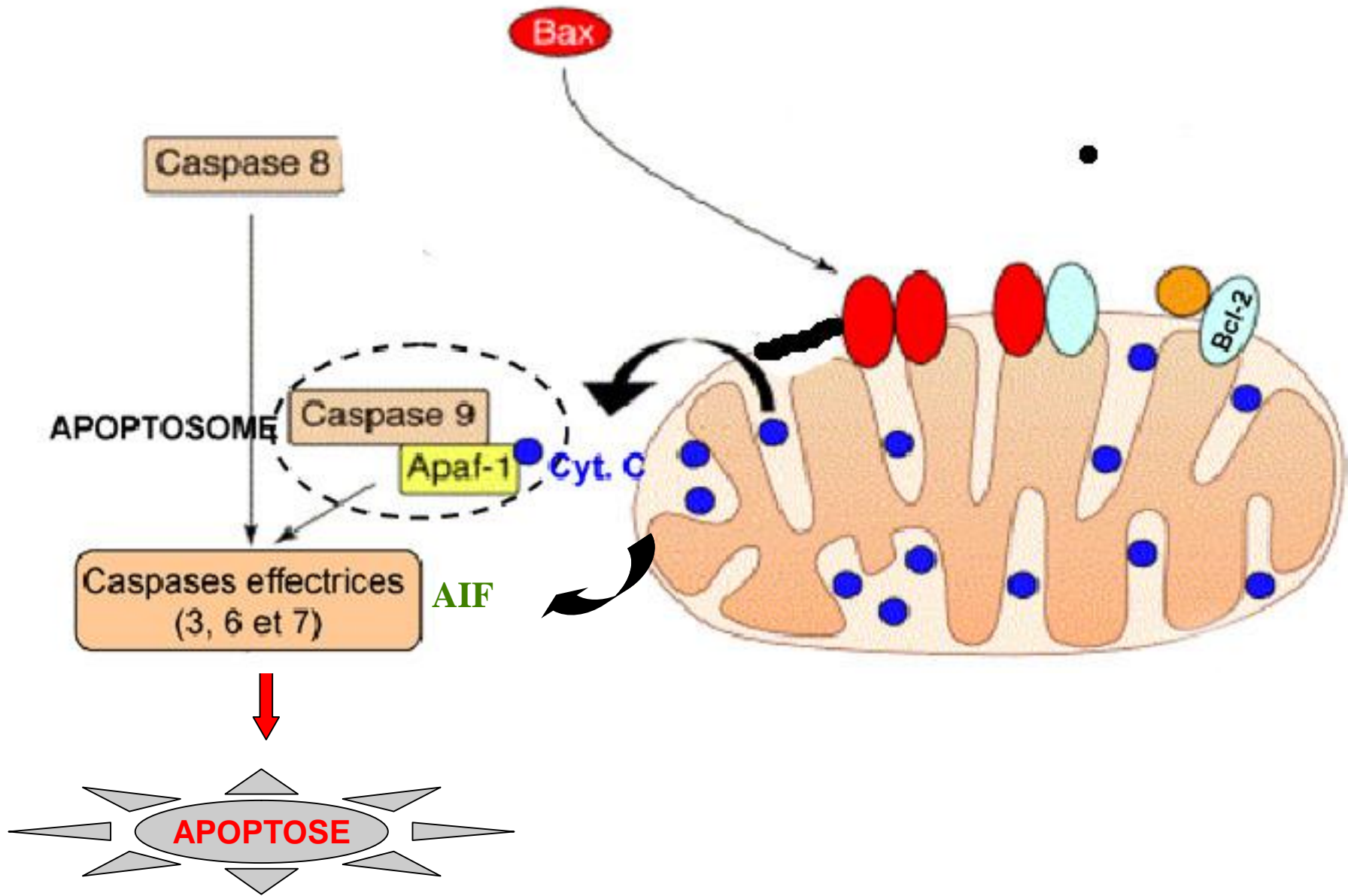


Relargage de la mitochondrie

- 2 familles de protéines liées à la membrane des mitochondries : bax et bcl
- Capables de former de homo ou hétérodimères
- Ratio bax/ bcl détermine la perméabilité de la membrane de la mitochondrie
→ le relargage de AIF et cytochrome c

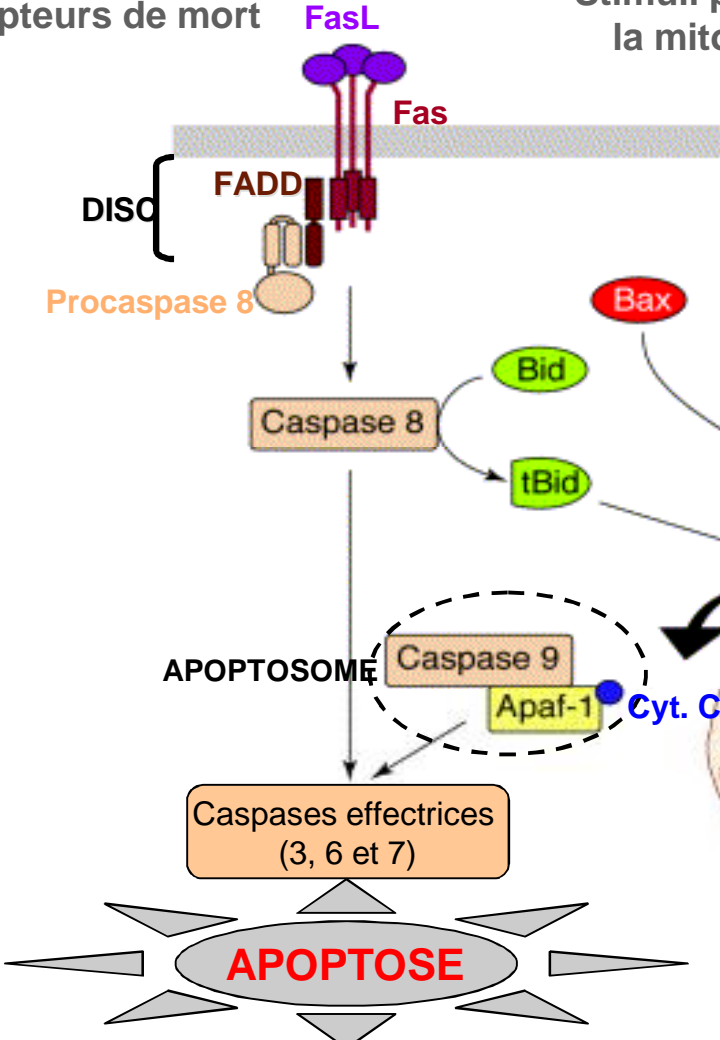


Cytochrome c se lie à Apaf 1
qui recrute caspase 9



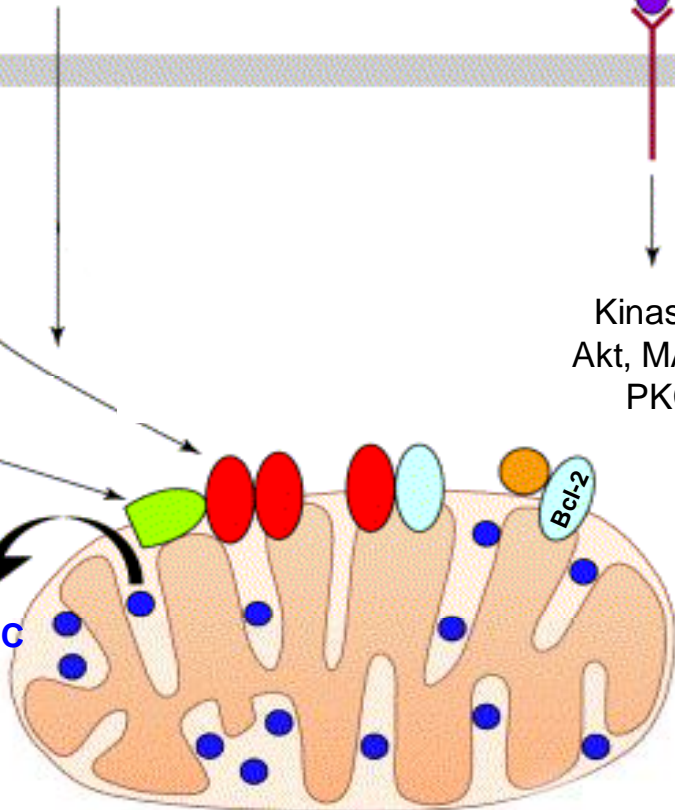
Résumé apoptose

Stimuli passant par les récepteurs de mort

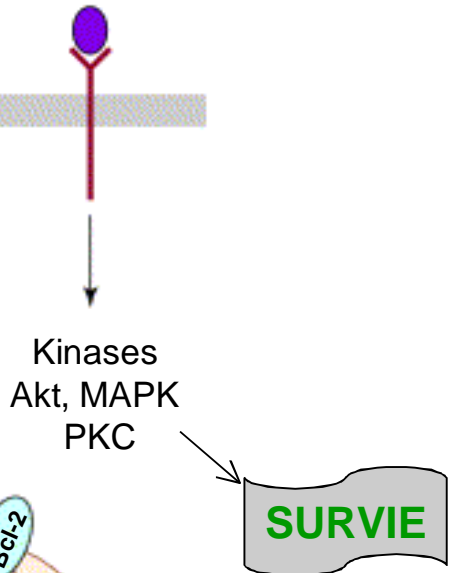


Stimuli passant par la mitochondrie

Bax



Facteurs de croissance et de survie cellulaire



Inhibiteurs physiologiques de l'apoptose

IAP : familles de protéines qui peuvent bloquer l'apoptose chez le baculovirus.

Redondantes

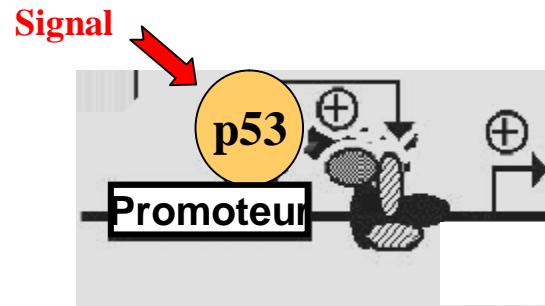
Similitude biochimique (BIR domaine)

Survivine présente uniquement dans les cellules des tissus en développement et les cellules cancéreuses

XIAP : inhibe directement les caspases 3, 7 et 9

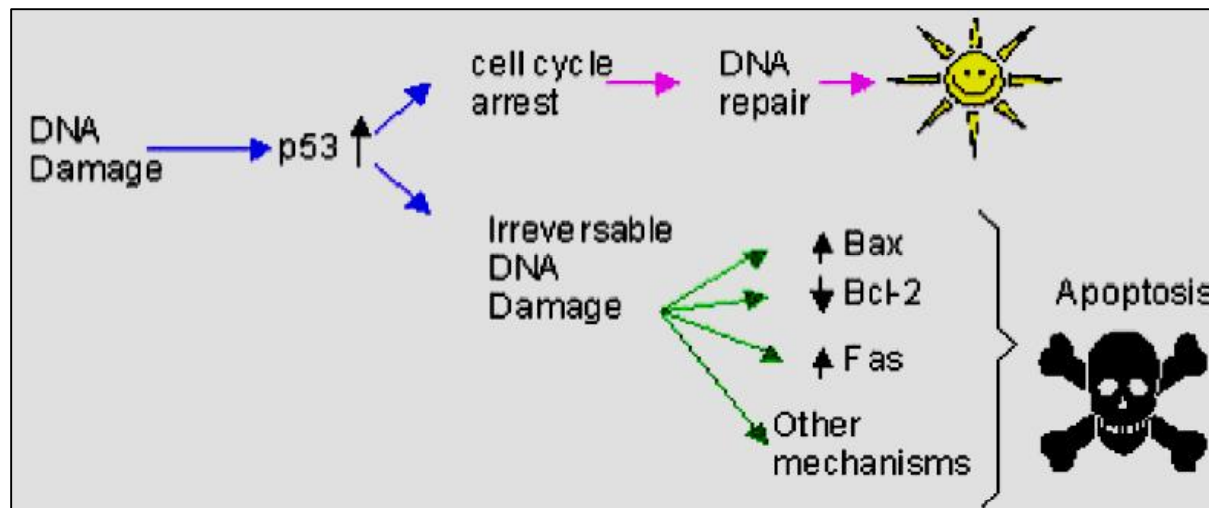
Pourraient être des cibles de traitement anti cancéreux mais ..
Pas de modification chez souris invalidées pour XIAP,
pas de liaison clinique claire

P 53 protéine pro-apoptotique



Effecteur pro-apoptotique

Bax
AIP
récepteur de la mort



Apoptose et cancer

Diminution du nombre de cellules apoptotiques dans les tissus cancéreux

Participe autant qu'une prolifération excessive à la survenue des cancers

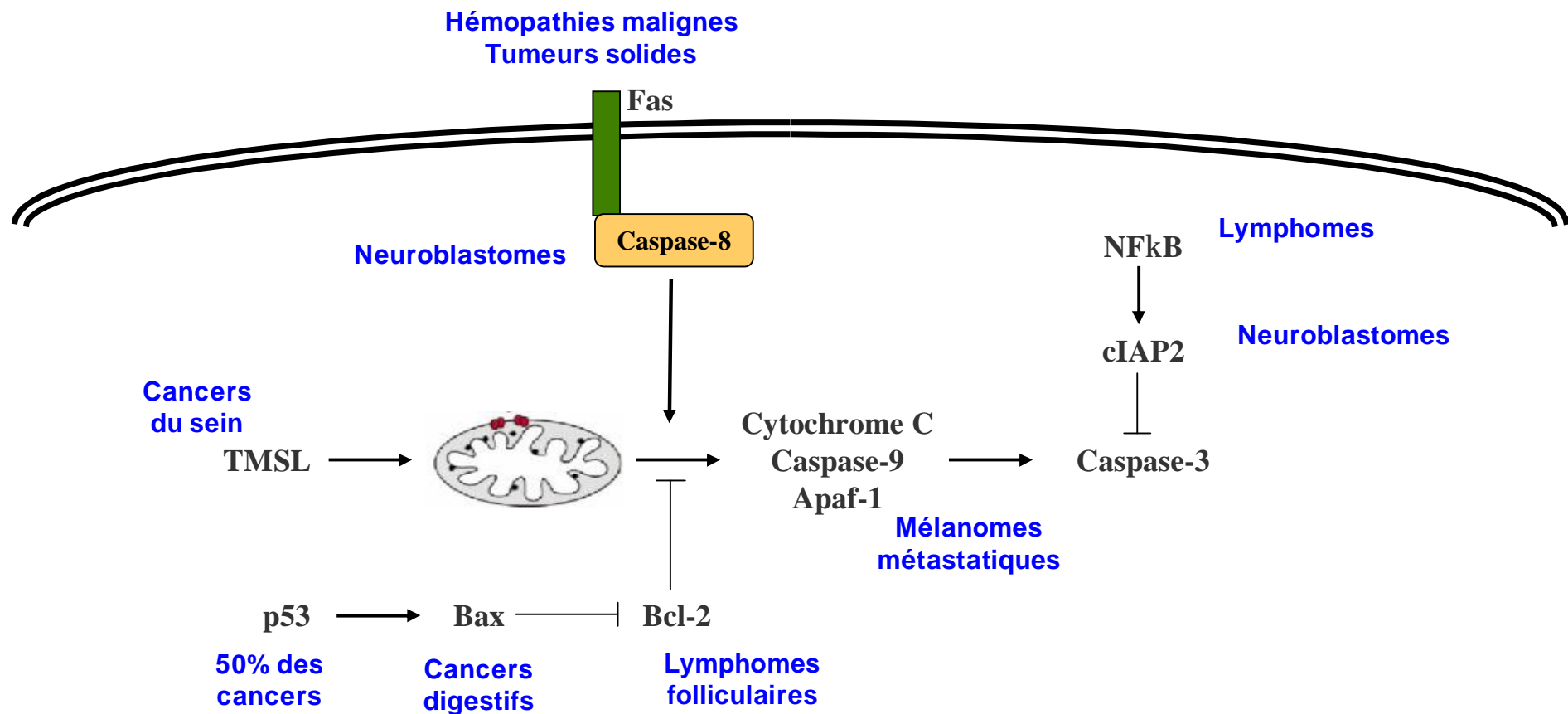
Augmentation de l'expression de bcl dans les tissu cancéreux : rôle d'oncogène

Diminution d'expression de p53

Apoptose des cellules : cible des traitements anti-cancéreux

Mutations dans les tumeurs humaines

L'analyse moléculaire des **mutations** somatiques présentes dans les tumeurs a révélé que de nombreux gènes agissant sur les voies de signalisation et d'exécution de l'apoptose sont affectés dans les tumeurs.



Apoptose et vieillissement

- Lien avec le système nerveux: apoptose des neurones augmente avec l'âge
- Augmentation des cancer avec l'âge : manque de défense apoptique

Vieillessement : généralités

- Durée de vie différente suivant les espèces
- Ressemblance familiale de la durée de vie (familles de centenaires)
- Maladie humaines dues à des mutations dans un seul gène responsable de vieillissement accéléré
- → control génétique du vieillissement

Vieillessement et « environnement » : l'accumulation des radicaux libres

Biologie du vieillissement : plan

- Les télomères
- Les maladies humaines monogéniques
- Environnement : Les radicaux oxydés

Biologie du vieillissement : les modèles (1)

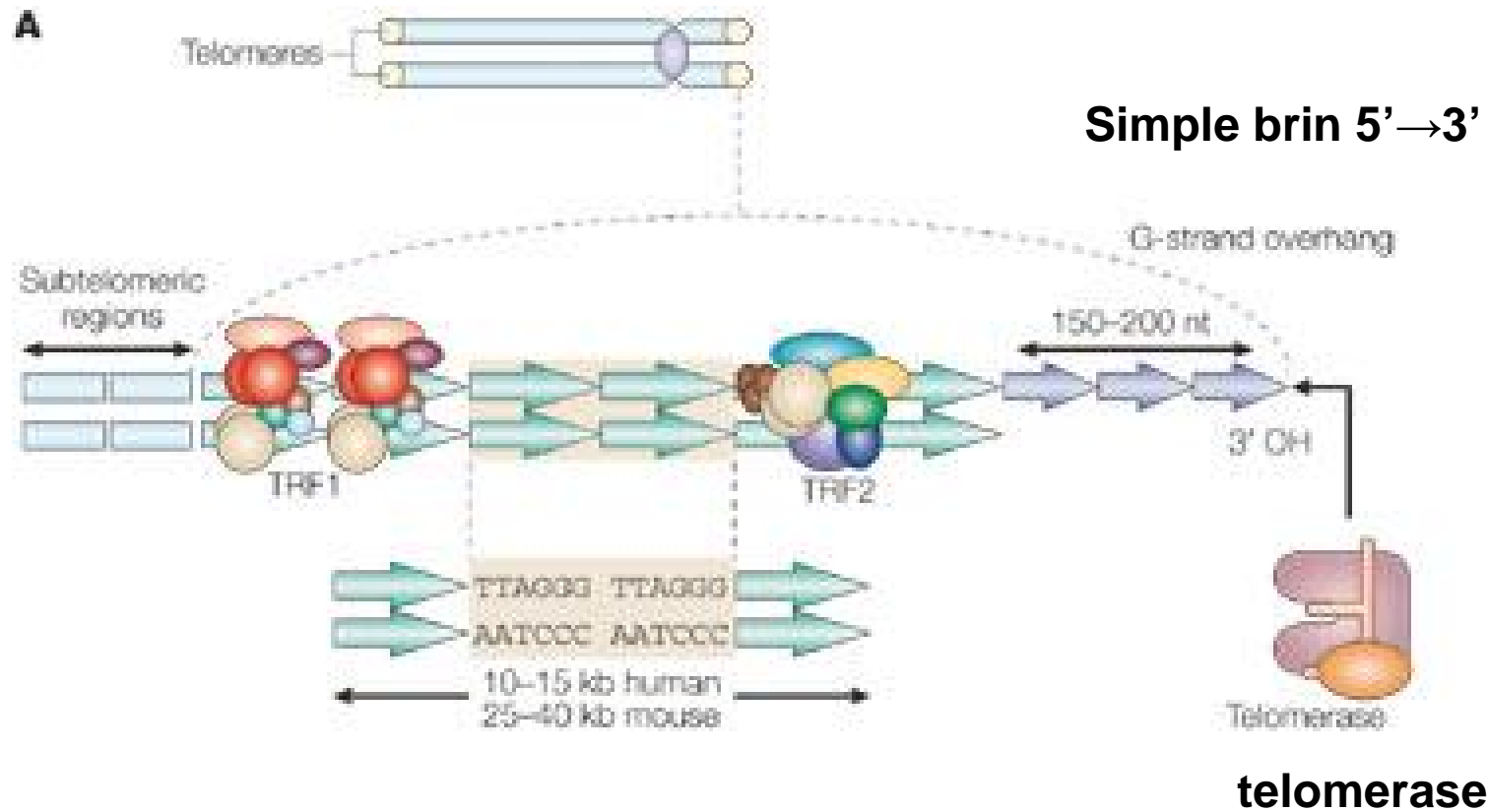
- Modèle in vitro
- Prolifération cellulaire varie en fonction de l'âge du donneur : modèle cultures de fibroblastes = sénescence réplivative ou modèle de Hayflick
- Nombre de cycles de réplication // durée de vie

Biologie du vieillissement : les modèles (2)

- Modèles animaux in vivo
- Maladies humaines monogénique avec vieillissement prématuré
- Modèles de souris invalidées pour un gène ou de race de souris avec vieillissement prématuré

Téломères : rappel

telomeres



Structure des télomères

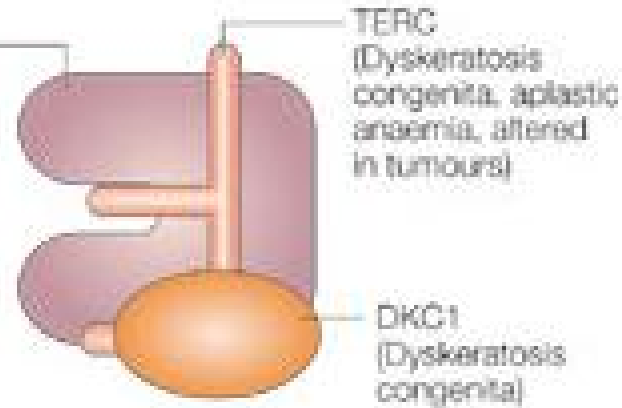
- Télomères : hétérochromatine constitutive : présence de protéine HP1 et histone H3 méthylés. Séquence répétée TTAGGG
- En l'absence de télomérase, raccourcissement de 15-50 nucléotide /an
- Télomérase = reverse transcriptase, présente dans les cellules germinales cancéreuses et souches
- TRF1 et 2 complexes protéiques comprenant des protéines ayant aussi un rôle dans la stabilité et la réparation de l'ADN et encadrant les séquences répétées

Téломérase

Htert : reverse transcriptase synthétise le brin 3'-5' grâce à une amorce d'ARN

Cc Telomerase

TERT
(aplastic anaemia, altered in tumours)



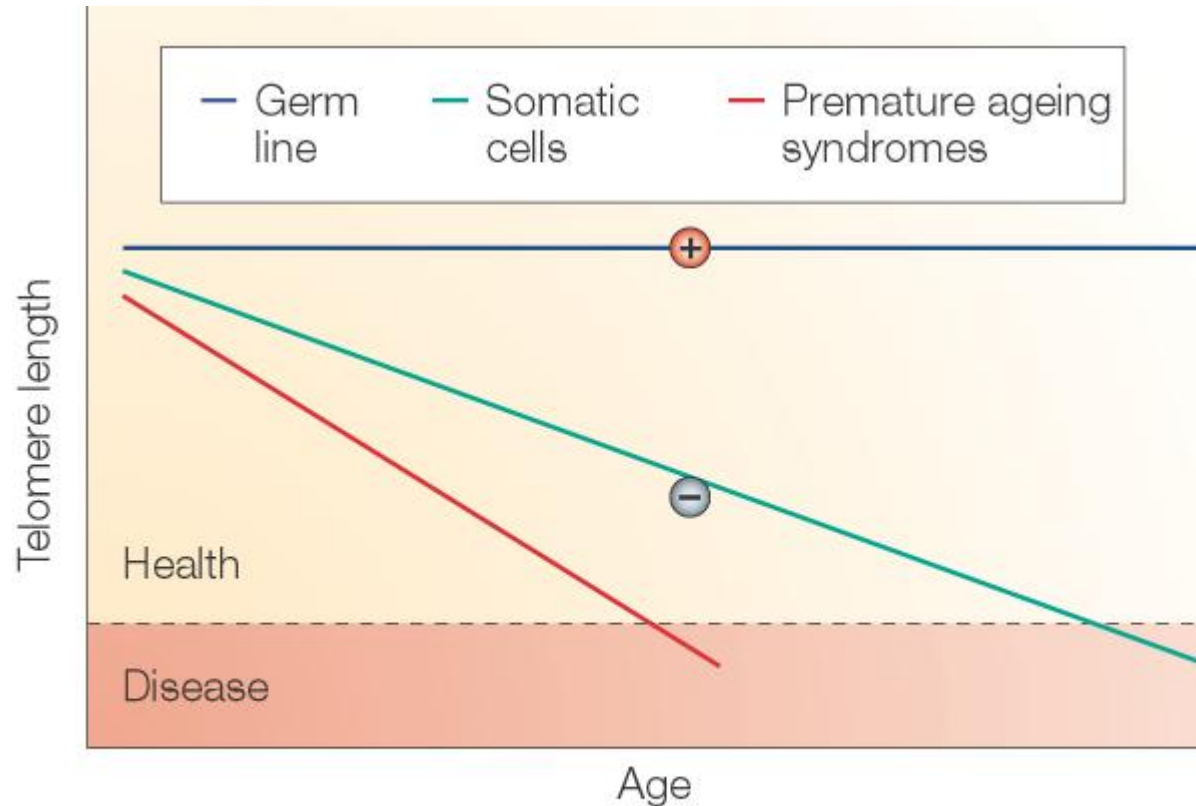
TERC
(Dyskeratosis congenita, aplastic anaemia, altered in tumours)

DKC1
(Dyskeratosis congenita)

Tert : télomérase

TERC : Matrice d'ARN

Taille des télomères et sénescence



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | **Genetics**

Pas assez de télomérase → Raccourcissement des télomères avec l'âge dans les cellules somatiques → Altération ADN, instabilité génétique

Rôle de la télomérase in vivo

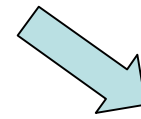
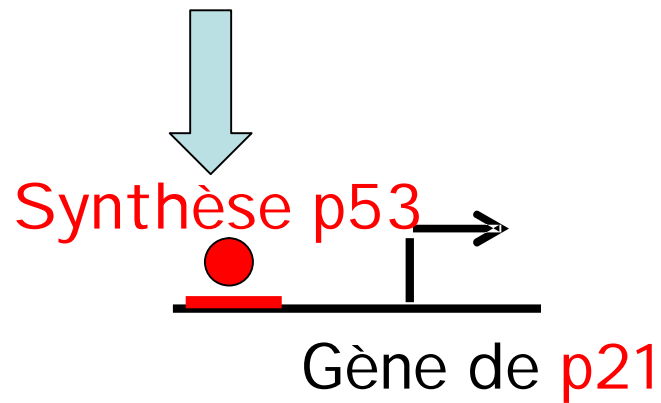
- Souris invalidées pour le gène de la télomérase
 - Longévité diminuée
 - Perte de fertilité
 - Atrophie de plusieurs tissus, insuffisance rénales
 - Moins de cancer (\neq vieillissement chez l'homme)
 - \uparrow de p53 dans les tissus

Sénescence cellulaire et télomères

- Transfection fibroblastes avec *htert*
→ plus de sénescence, cellules immortelles

- Diminution des télomères →
↑ p53 car reconnu comme cassure ADN →
arrêt du cycle et apoptose

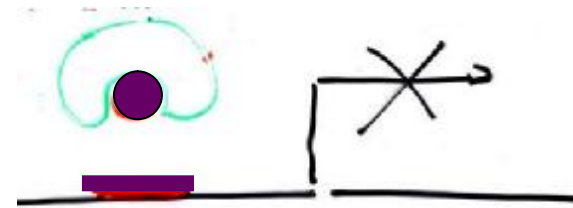
si lésion de l'ADN



Fin G1

CDK (4)
Cycline (D)
p21

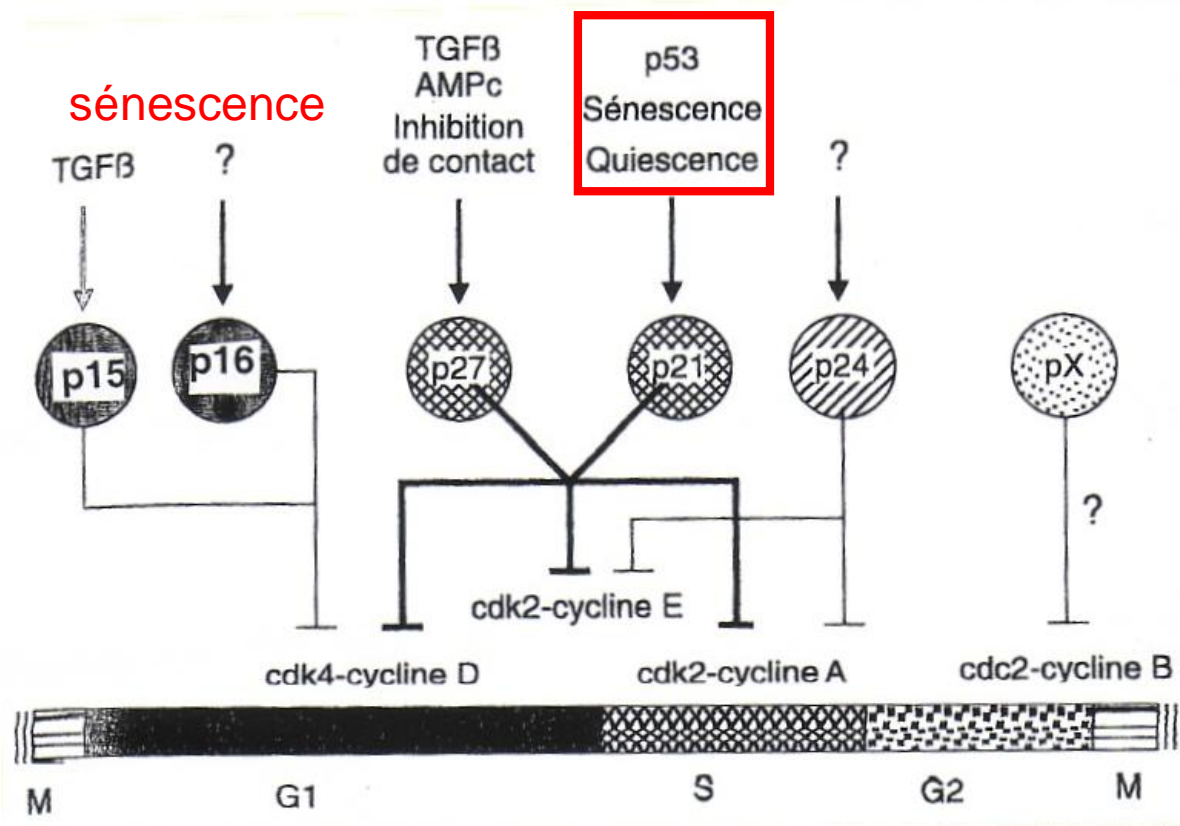
pRb
facteur de transcription



Ralentissement du cycle

Promoteur d'un gène impliqué dans la réplication ADN

CDI = CDK inhibiteur et sénescence



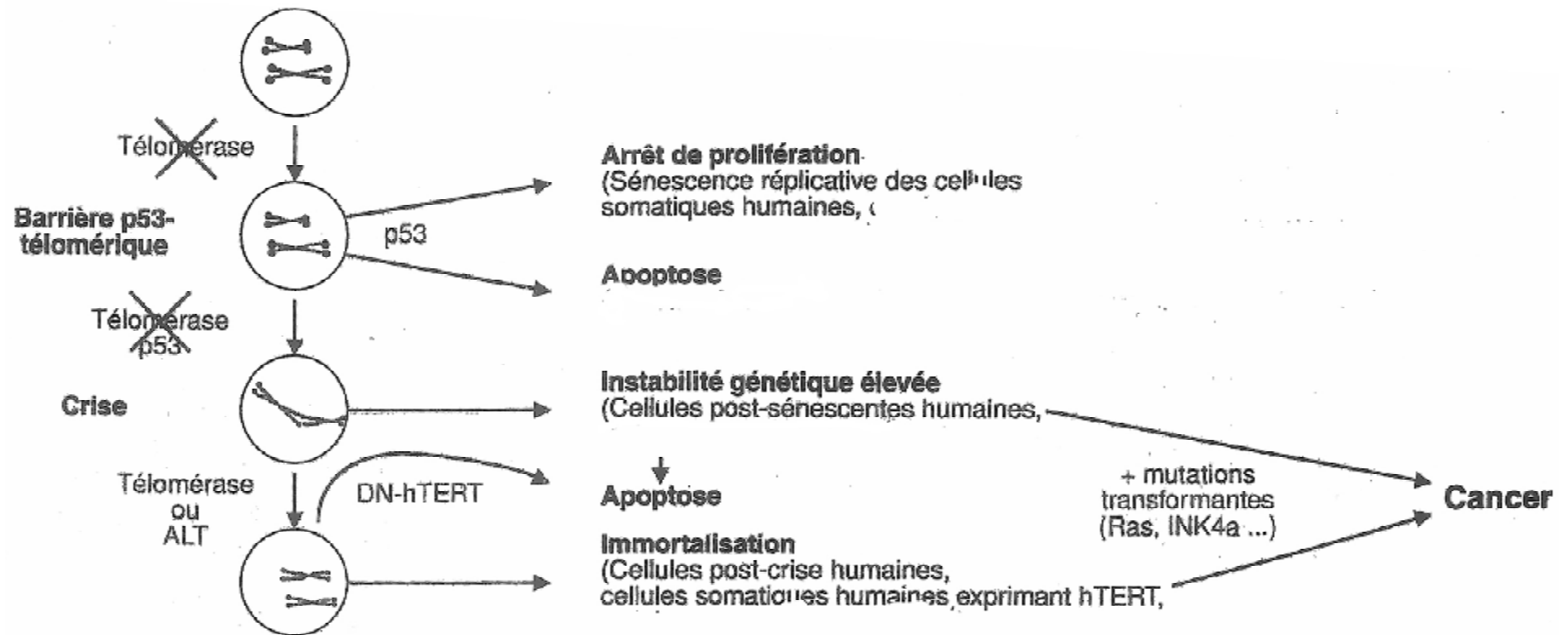
Sénescence, cycle cellulaire et télomères

- cellules sénescentes.:
 - p16 (CDI) ↑
 - P19^{arf} ↑ → inhibition de MDM2 qui inhibe p 53
- Si transfection *htert* + inactivation de p16 → toutes cellules immortelles

Gènes suppresseurs de tumeur, sénescence et télomères

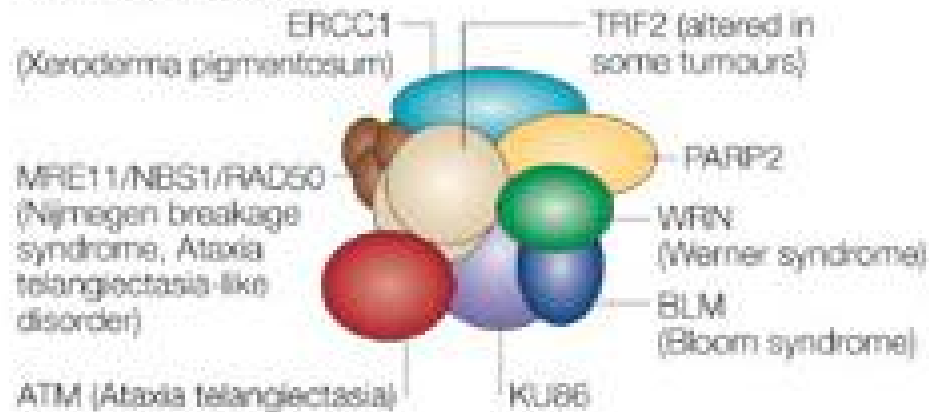
- Certaines cellules peuvent surmonter la « barrière » p53 et sont en « crise » = instabilité génétique importante → apoptose.
- Si adjonction télomérase (immortalisation) + oncogène → cancer

Téломères : Cancer et sénescence



Structure de TRF2 et de la télomérase

Cb TRF2 complex



TRF2

Primordial pour protéger le simple brin.

Nombreuses protéines impliquées dans la réparation des régions télomériques et non télomériques de l'ADN

WRN= syndrome de Werner
ERC =Xeroderma pigmentosum
ATM =ataxie telangectasie

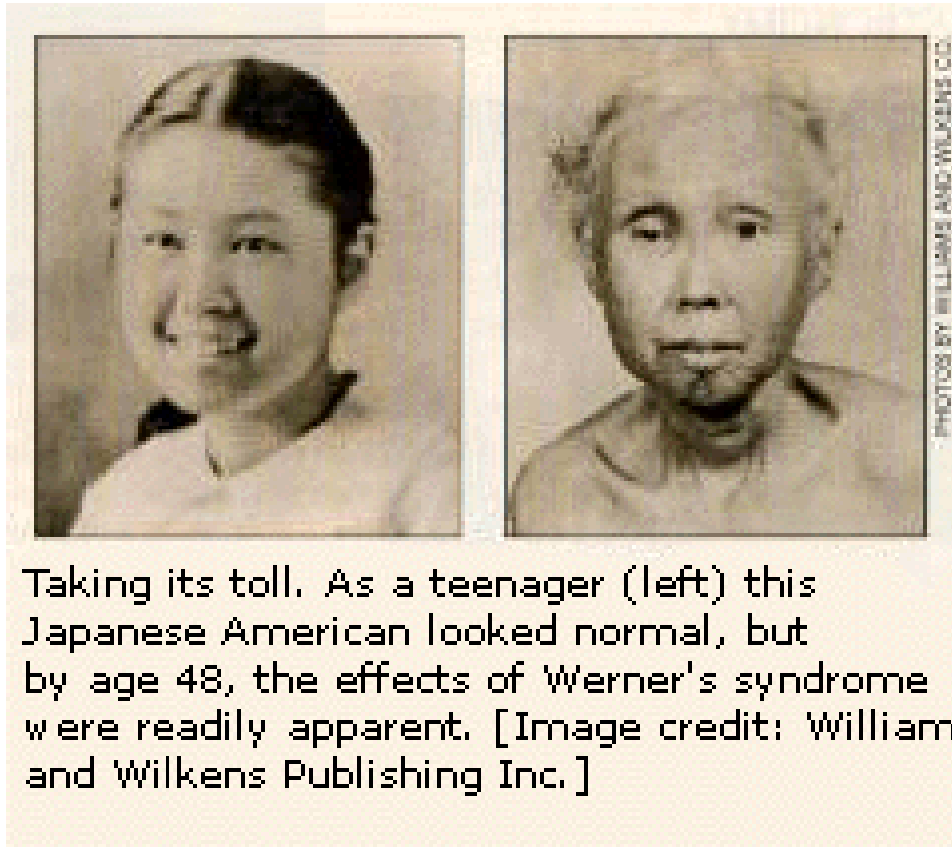
Maladies humaines monogénique et vieillissement prématuré

Syndrome de Werner vieillessement prématuré



Homme de 37 ans atteint de syndrome de Werner

Syndrome de Werner vieillessement prématuré



Mutation d'une hélicase
Qui est nécessaire au
Déroulement de
L'ADN durant sa réparation

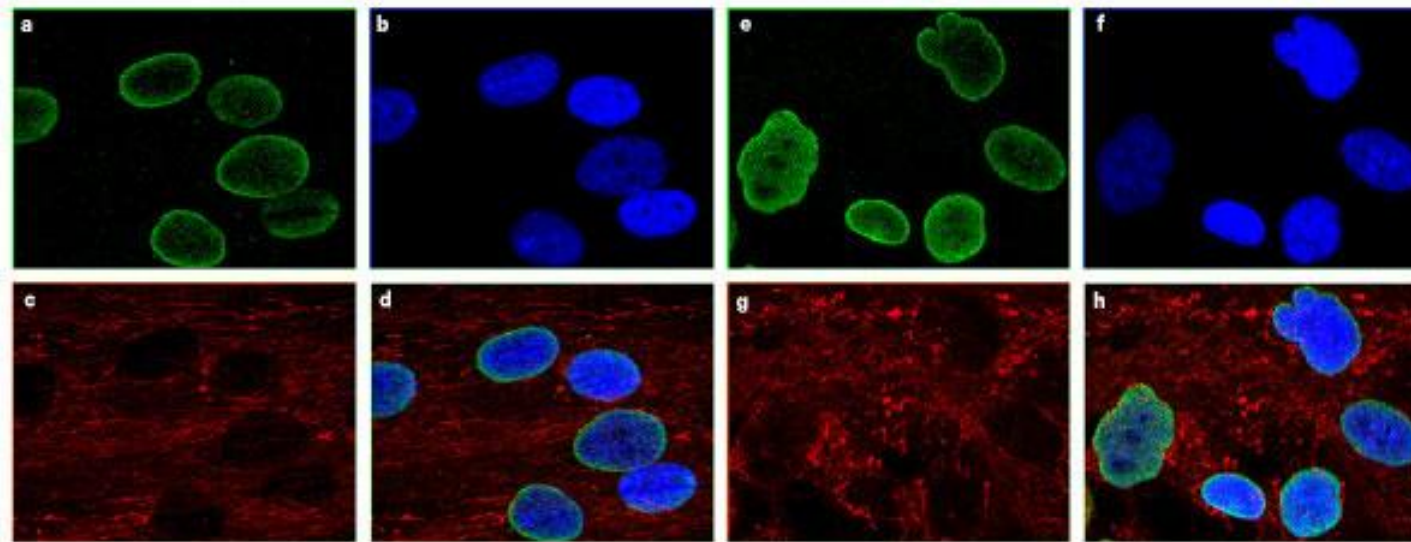
Progeria (Hutchinson-Gilford progeria)

- Autosomale dominante très rare ($1/8.10^6$) 100 cas rapportés
- Diagnostic vers 2 ans, vieillissement très accéléré : perte des cheveux, rides, arthrose. Mort vers 13 ans d'insuffisance cardiaque (pas de cancer)
- Mutations dans le gène de la lamine A : *LMNA*



Lamines et vieillissement

■ Anticorps anti lamine ■ noyau



Sujet normal

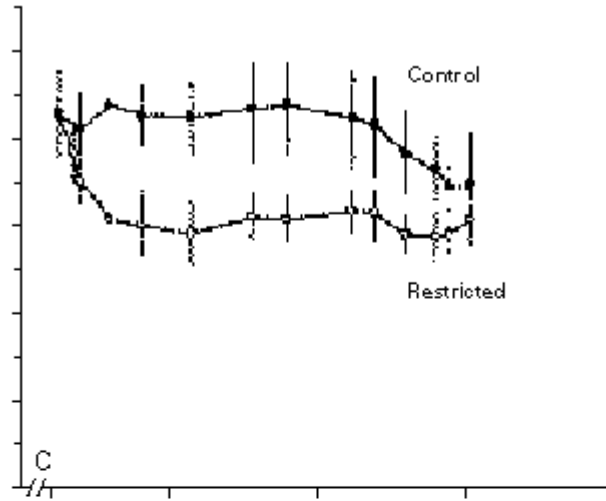
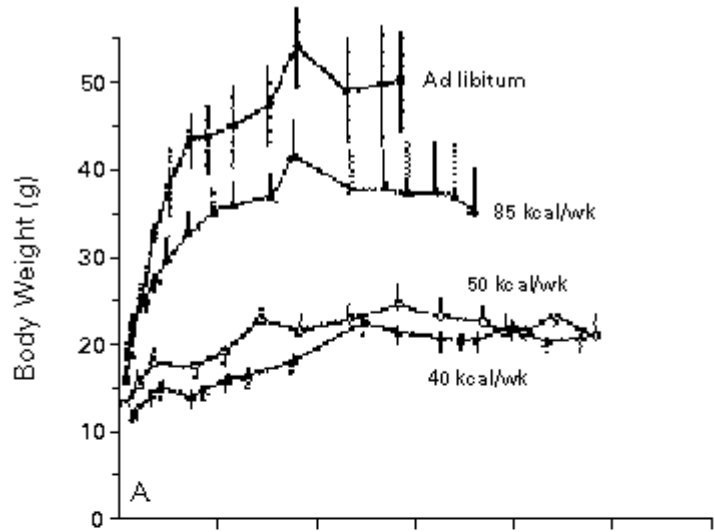
Sujet atteint de progeria

- « Fragilité nucléaire » → mort cellulaire

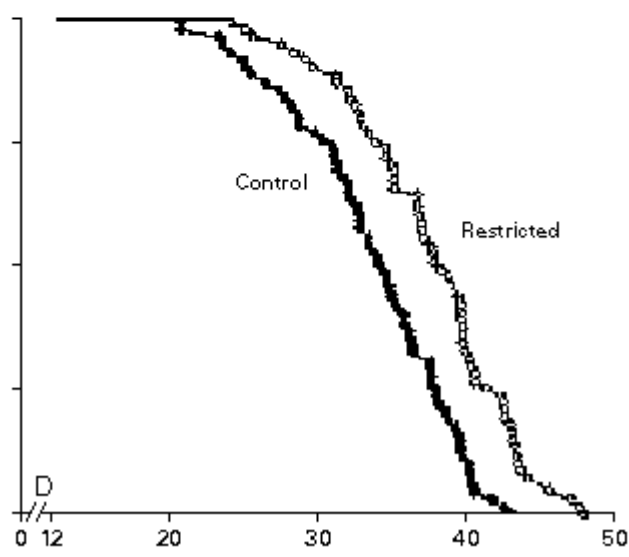
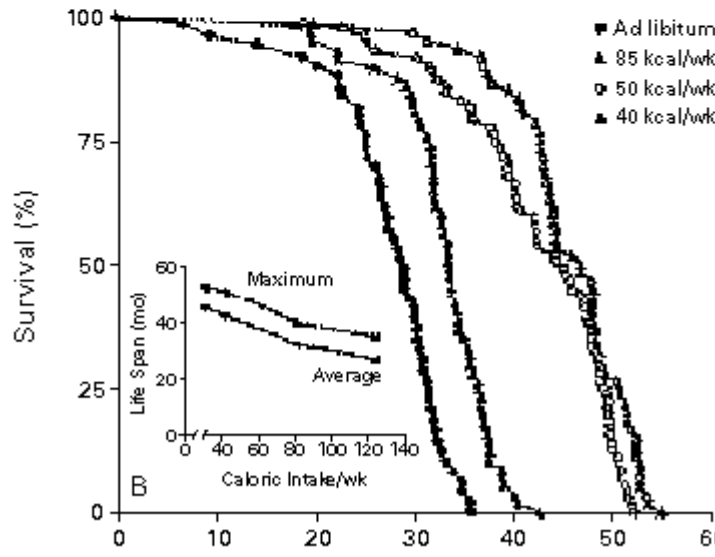
Environnement et vieillesse

Restriction calorique et vieillissement

poids



survie



Souris C3B soumises à une restriction Calorique depuis la naissance

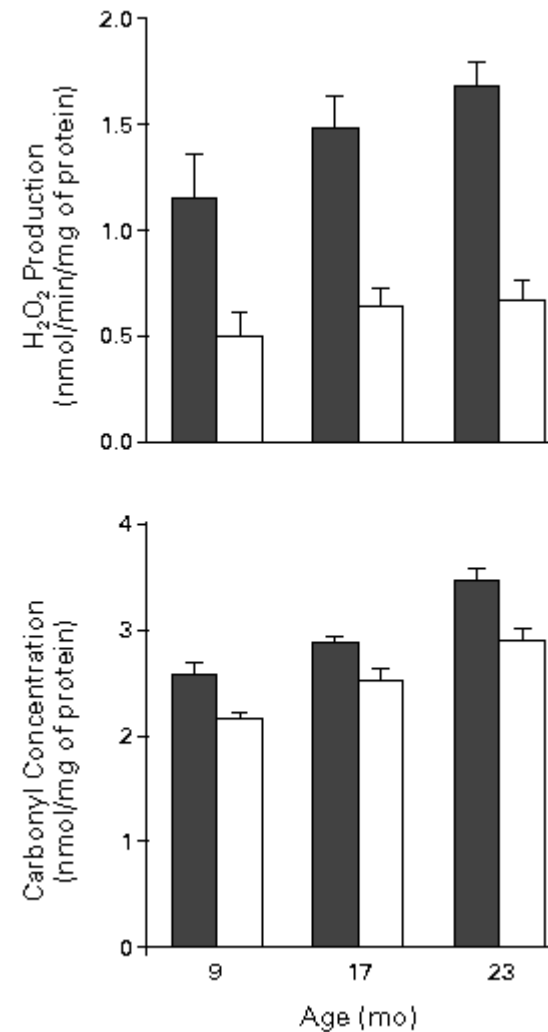
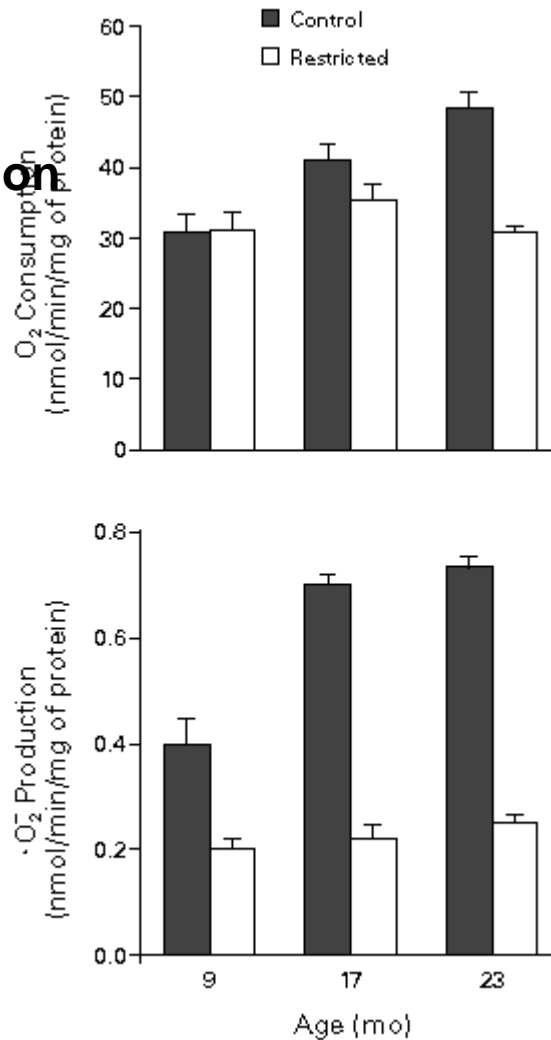
Souris C3B soumises à une restriction calorique depuis l'âge de 12 mois

Restriction calorique et vieillissement : mécanisme

- Diminution des dégâts oxydatifs
- Diminution des produits de glycations
- Diminution des fonctions reproductives
- Diminution des taux d'IGF

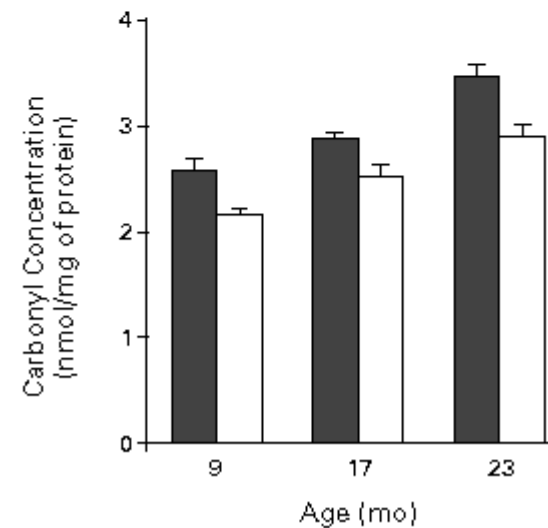
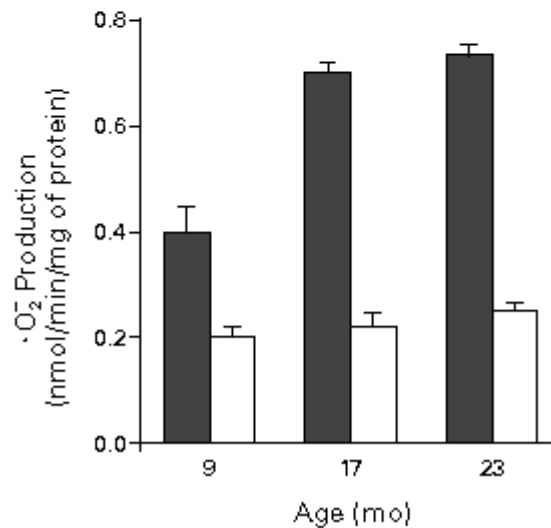
Restriction calorique et production de radicaux libres chez le rat vieillissant

Consommation d'oxygène



■ controls
□ restriction

Production de radicaux libres



Radicaux libres et leur cibles

- Radicaux libres de l'oxygène : O_2^- = Anion superoxide
- $O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ = peroxyde d'hydrogène
- $OH \cdot$ = Radical hydroxyle. Le plus réactif

Lipides : diminution de la fluidité des membranes

ADN : oxydation des bases → lésions

Protéine : inactivation de certaines enzymes

Radicaux libres : production et défenses

Génération

Transport d'électron de la mitochondrie

B oxidation des acides gras dans les peroxysome

Cytochrome P450

Les phagocytes activés

Défenses

Superoxyde dismutase (SOD): transforme O_2^- en H_2O_2

Glutation peroxydase : convertit H_2O_2 en H_2O

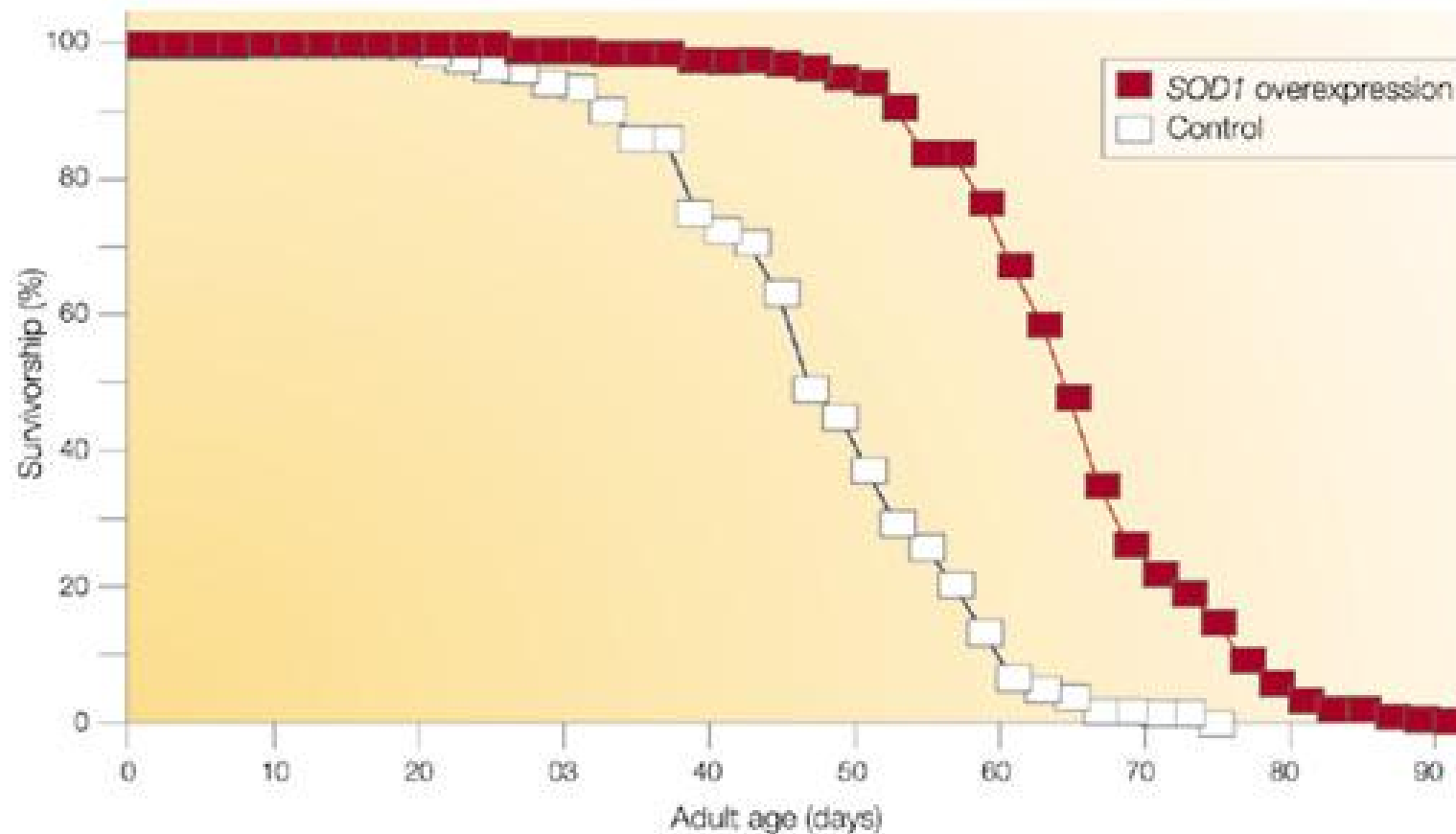
Radicaux scavenger hydrophiles acide ascorbique (vitamine C)

Radicaux scavenger lipophiles (tocophérols (vitamine E),

Flavonoides, carotènes

Glutathion réductase

Super oxide dismutase et durée de vie



Nature Reviews | **Genetics**

Chez la drosophile la sur expression de la SOD1 dans les neurones augmente la durée de vie

Radicaux libres et sénescence

- Vieillessement = plus de dégâts dus aux radicaux libres :
 - Diminution des systèmes de défense avec l'âge ?
 - Production plus importante avec l'âge de radicaux oxydés?
- Vieillessement = conséquence de altérations des macromolécules par des réactifs oxygénés.

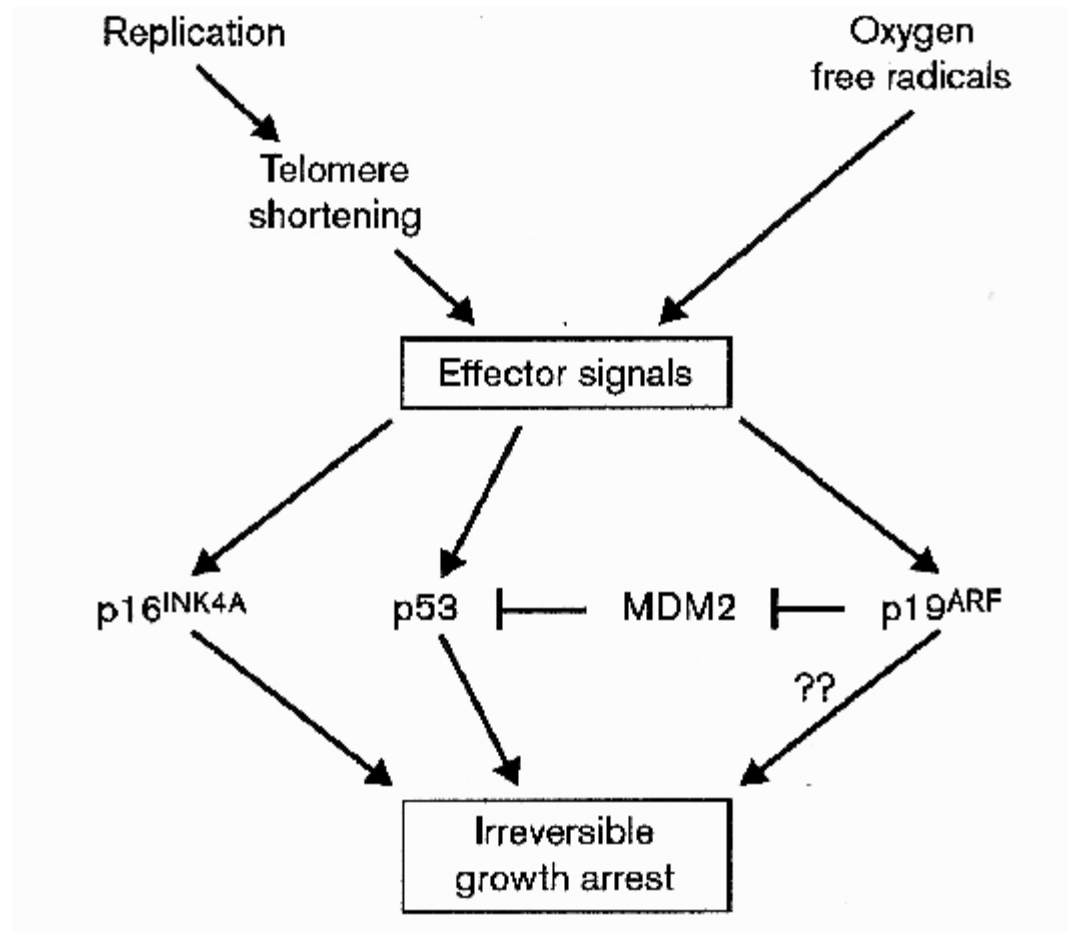
Télomères et antioxydants : le lien in vitro

- Les lésions de l'ADN dues à son oxydation peuvent être responsable du raccourcissement des télomères et du phénomène de sénescence répllicative in vitro
- Expériences:
 - Exposition brève à l' H_2O_2
 - Culture avec 40% d' O_2

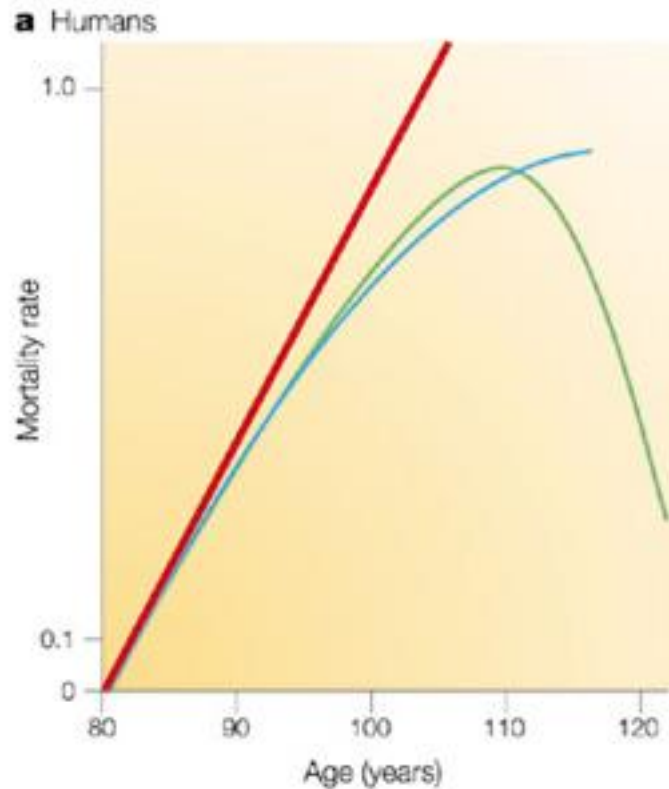
β

 - Diminution de longueur des télomères
 - Arrêt de croissance

Vieillessement une théorie générale



Le vieillissement est-il inéluctable ?



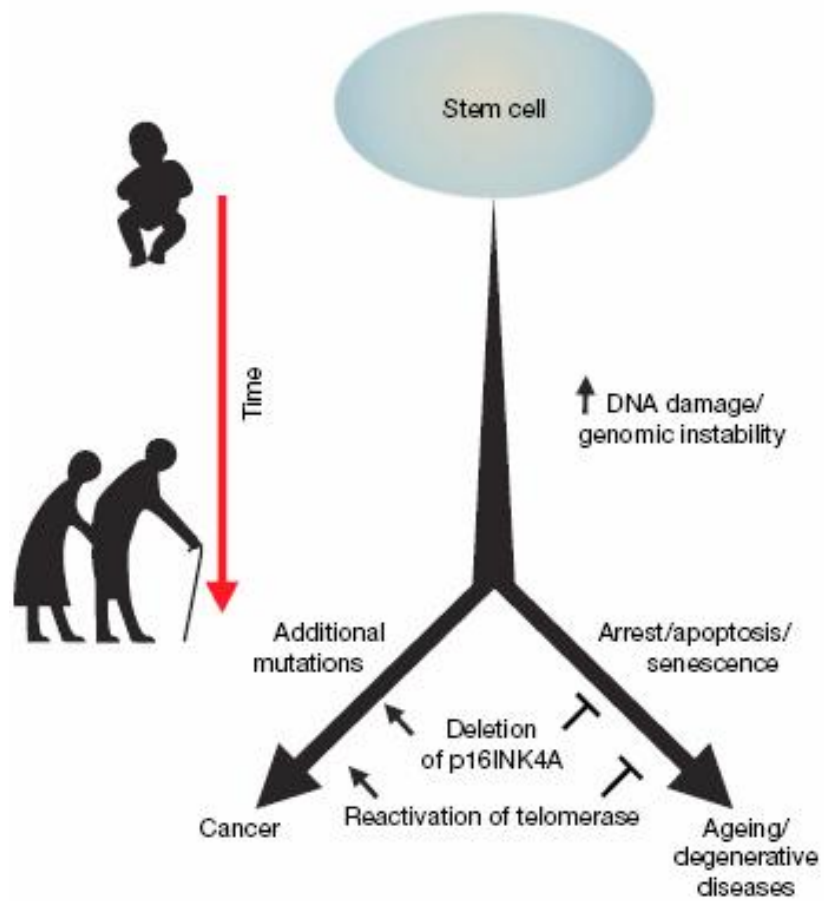
**ce rouget de roche
a 205 ans**

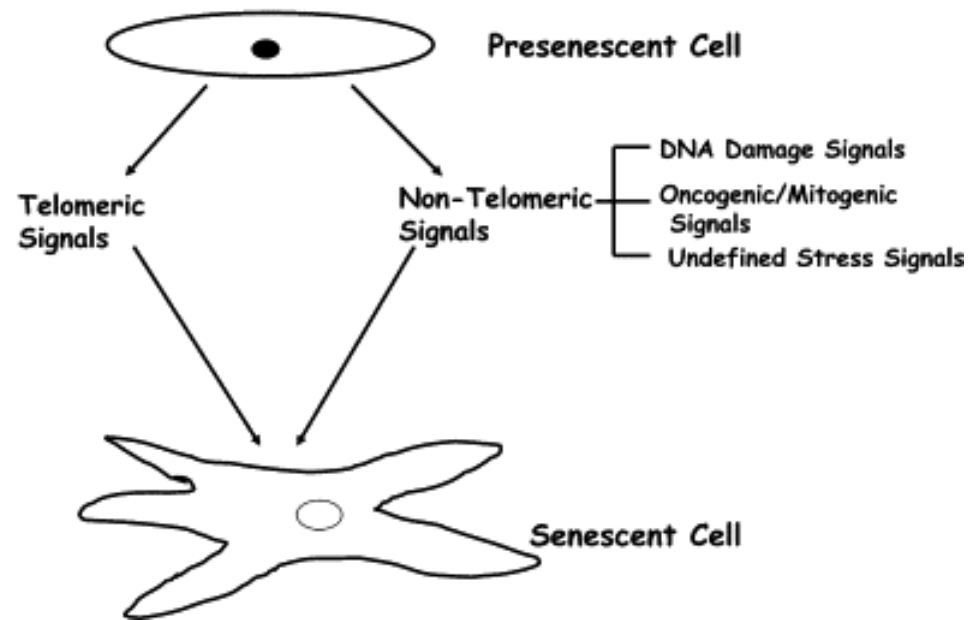


**La tortue à trois orteils
se reproduit jusqu'à 70 ans**

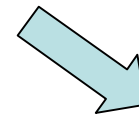
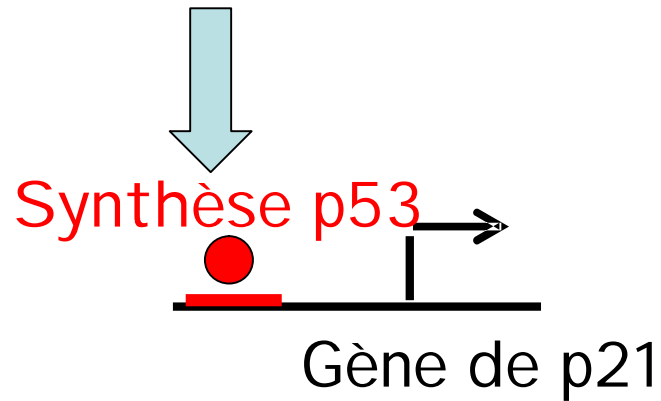
Nature Reviews | Genetics

- Augmentation exponentielle de la mortalité avec l'âge (modèle)
- Diminution de la mortalité après 80 ans (observé) survivant « sain »
- Diminution de la mortalité après 110 ans (espéré)





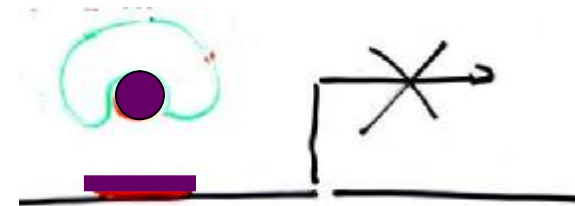
Liaison p53 et Rb :
si lésion de l'ADN



Fin G1

CDK4
Cycline D
p21

pRb
facteur de transcription

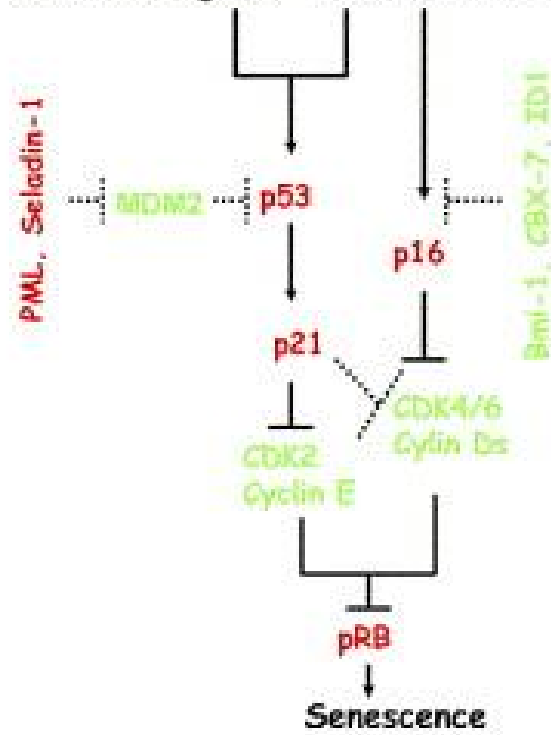


Ralentissement du cycle

Promoteur d'un gène impliqué
dans la réplication ADN

A.

Telomeric signals Nontelomeric signals



B.

Nontelomeric signals

