

L'apoptose neuronale

Hélène Ollat

La mort neuronale par apoptose... "tout le monde en parle". Les neurologues d'abord parce que son rôle dans les pathologies neurodégénératives est bien démontré. Et maintenant les psychiatres, car on peut l'observer dans des pathologies telles que la schizophrénie, les états de stress post-traumatique et les états dépressifs. Ainsi ce sujet est-il régulièrement abordé dans les publications neurologiques et psychiatriques.

Pour autant le processus apoptotique reste mal connu. Ceci rend difficile la lecture de la littérature et obscurcit l'opinion qu'on peut s'en faire. Aussi notre revue vous propose une synthèse... réductrice malgré son volume... dont nous espérons qu'elle puisse être une aide lors de vos "rencontres" avec l'apoptose neuronale. En outre elle constitue le préambule à une autre synthèse, à paraître dans le numéro suivant, qui sera consacrée aux effets délétères du stress sur la trophicité neuronale et aux effets trophiques des antidépresseurs.

1. Introduction

1.1. Le terme d'apoptose a été forgé en 1972 par *Kerr et coll.* (1) pour qualifier un type de mort cellulaire présentant des caractéristiques **morphologiques** bien différentes de celle de la mort cellulaire par nécrose ou par autophagie (*tableau 1*).

Très vite après on a montré que l'apoptose est une **"mort cellulaire programmée"**, résultant de l'activation d'un programme génétique de "suicide", jusque-là quiescent, qui peut être mis en œuvre lorsque la cellule est privée de ses facteurs de survie (les facteurs

neurotrophiques pour le système nerveux) ou lorsqu'elle est sévèrement endommagée. L'apoptose se distingue donc aussi de la nécrose par le fait qu'il s'agit d'un **processus actif**, consommateur d'énergie.

1.2. Après ces premières découvertes, les études portant sur l'apoptose se sont multipliées de façon exponentielle et aujourd'hui on peut en faire le bilan suivant :

- L'apoptose a un rôle physiologique essentiel. Pendant le développement, elle assure l'élimination des cellules produites en excès (pour le système nerveux, au moins 50 % des neurones produits au début du développement). A l'âge adulte, c'est un processus apoptotique qui i) maintient l'équilibre cellulaire au sein des tissus dont les cellules se renouvellent en permanence ii) élimine les cellules non viables iii) élimine les cellules "dangereuses" telles que des cellules infectées, des cellules précancéreuses, ou encore des cellules immunitaires activées alors qu'une réaction immunitaire n'a pas, ou plus, lieu d'être.

Inversement une dysrégulation des voies apoptotiques a des **conséquences pathologiques** (*tableau 2*). Tantôt le processus est déficitaire, d'où notamment des cancers et des maladies auto-immunes. Tantôt il est suractif ; pour ce qui est du système nerveux, les exemples bien connus sont ceux des accidents vasculaires cérébraux et des pathologies neurodégénératives "classiques" ; des données récentes suggèrent qu'il faudra y ajouter des pathologies psychiatriques telles que l'autisme, la schizophrénie ou les états dépressifs (voir page ?? de ce numéro).

Apoptose	Nécrose	Autophagie
1. Atrophie Condensation et marginalisation de la chromatine nucléaire ^(a) Lobulation de la membrane plasmique 2. Formation de corps apoptotiques 3. Phagocytose des débris cellulaires NB Organites et membranes cellulaires longtemps préservées ^(b) Pas de réaction inflammatoire Atteinte de cellules isolées, éparées	1. Dilatation cellulaire Pycnose nucléaire 2. Lésions des organites Rupture de la membrane cellulaire 3. Réaction inflammatoire NB Atteinte de groupes de cellules	1. Formation de vacuoles intracytoplasmiques (vacuoles autophagiques ou phagosomes) au sein desquelles les cellules "s'autodigèrent" 2. Disparition des structures nécessaires à la synthèse protéique (reticulum endoplasmique, appareil de Golgi, polyribosomes) Pycnose nucléaire NB Longue préservation des mitochondries Pas de réaction inflammatoire Atteinte de cellules isolées, éparées

a) La condensation de la chromatine est associée biochimiquement à une fragmentation ordonnée, internucléosomique de l'ADN nucléaire

b) La préservation des organites permet la production d'énergie nécessaire au processus apoptotique. Celle de la membrane plasmique fait qu'il n'y a pas ou peu de libération macromolécules intracellulaires et donc pas ou peu de réactions inflammatoires.

Tableau 1. Caractéristiques morphologiques des différents types de mort cellulaire.

Hypoactivité/Inhibition du programme apoptotique	Hyperactivité/Défaut d'inhibition du programme apoptotique
<p>1. Cancers</p> <ul style="list-style-type: none"> . Lymphomes folliculaires . Carcinomes avec mutation du p53 . Cancers hormono-dépendants <ul style="list-style-type: none"> - du sein - de l'ovaire - de la prostate <p>2. Maladies auto-immunes</p> <ul style="list-style-type: none"> . Lupus érythémateux aigu disséminé . Glomérulonéphrites d'origine immunologique <p>3. Infections virales</p> <ul style="list-style-type: none"> . Herpès virus . Cowpox virus (virus de la vaccine) . Adénovirus 	<p>1. SIDA</p> <p>2. Pathologies neurodégénératives</p> <ul style="list-style-type: none"> . Maladie d'Alzheimer . Maladie de Parkinson . Maladie de Huntington . Sclérose latérale amyotrophique . Rétinite pigmentaire . Schizophrénie (?) . Autisme (?) . Dépression (?) <p>3. Syndromes myélodysplasiques</p> <ul style="list-style-type: none"> . Anémie par aplasie médullaire <p>4. Ischémie</p> <ul style="list-style-type: none"> . Infarctus du myocarde . Accident vasculaire cérébral ischémique . Syndrome de reperfusion <p>5. Toxique</p> <ul style="list-style-type: none"> . Alcool

a) le recensement des maladies liées à une dysrégulation du processus apoptotique est certainement loin d'être achevé... pour certains auteurs ce serait plus de la moitié des pathologies pour lesquelles nous n'avons actuellement pas de traitement approprié (2).

Tableau 2. Les principales pathologies liées à une dysrégulation du processus apoptotique (a).

- La quiescence ou l'induction du programme apoptotique dépendent de l'équilibre fonctionnel entre des signaux inhibiteurs et des signaux activateurs, intra- ou extra-cellulaires, physiologiques ou non (tableau 3).

Dans le système nerveux, les principaux signaux inhibiteurs sont les facteurs neurotrophiques, dont le mode d'action est décrit au § 6, et les oestrogènes ; les principaux signaux excitateurs sont le stress oxydatif, l'augmentation des concentrations intracellulaires en ions Ca^{2+} , l'hyperactivité de la transmission glutamatergique et des taux élevés de glucocorticoïdes.

- La mise en œuvre du programme génétique de mort a volontiers des aspects morphologiques différents de ceux décrits par Kerr et coll. Par ailleurs les signaux proapoptotiques envisagés ci-dessus peuvent aussi induire une nécrose ou une autophagie cellulaires. En fait le mode d'exécution de la mort cellulaire dépend avant tout du type et de la sévérité des signaux inducteurs ainsi que de l'état fonctionnel de la cellule (3).

- Les protéines clefs du programme apoptotique ont été identifiées.

Certaines, les **caspsases**, sont les premiers agents exécuteurs de la mort cellulaire. Leur activation se fait classiquement par deux voies dépendant, respectivement, des **mitochondries** et des **récepteurs de mort**.

D'autres sont des protéines régulatrices de la machinerie apoptotique. Ce sont principalement les protéines de la **superfamille Bcl-2** et les **facteurs (neuro)trophiques**.

Les paragraphes suivants sont consacrés à ces différentes classes de protéines.

2. Les caspases (pour revues : 4,5,6)

2.1. Les caspases sont des **cystéine-protéases** douées d'une double spécificité ; d'une part, elles clivent les séquences peptidiques exclusivement à l'extrémité carboxyle d'un résidu aspartate ; d'autre part, elles ont une efficacité maximum lorsque ce résidu est précédé, du côté de son extrémité aminée, de trois résidus particuliers, différents pour chaque caspase.

On a identifié dix caspases chez l'homme, numérotées selon l'antériorité du clonage de leur ADN. Elles constituent trois sous-familles fonctionnelles ; l'une est impliquée dans la maturation des cytokines ; les deux autres, seules envisagées ici, sont impliquées dans l'apoptose (tableau 4).

2.2. Les caspases sont synthétisées sous forme de zymogènes dont l'activité enzymatique est très faible, les procaspases, qui comportent trois segments (figure 1).

Le premier segment, amino-terminal, est un prodomaine de structure et de longueurs variables. Celui des procaspases donnant naissance aux caspases "initiatrices" est de grande taille et contient des séquences particulières ; pour les procaspases 8 et 10, il s'agit de deux domaines de type *Death Effector Domain* (DED) ; pour les procaspases 2 et 9 il s'agit d'un domaine de type *Caspase Recruitment Domain* (CARD). Celui des procaspases donnant naissance aux caspases "effectrices" est de petite taille, et il ne contient ni DED, ni CARD. Les deux autres segments sont de taille comparable dans toutes les procaspases ; l'un, d'environ 20 kDa, est dit "long" ; l'autre, d'environ 10 kDa, est dit "court". Tous deux contiennent un prosite catalytique inactif.

Inhibiteurs	Activateurs
<p>Inhibiteurs physiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Facteurs de croissance, neurotrophines - Attachement de la cellule à la matrice extracellulaire - Oestrogènes - Androgènes <p>Inhibiteurs viraux</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adénovirus <i>E1B</i> - Baculovirus <i>p35, IAP</i> - Cowpox virus <i>crmA</i> - Virus d'Esptein Barr <i>BHR^F1, LMP-1</i> - Herpès virus γ 34.5 	<p>Activateurs physiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Protéines de la famille du <i>Tumor Necrosis Factor</i> - Calcium - Glucocorticoïdes - Glutamate - Perte du contact entre cellule et matrice <p>Stress cellulaire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Choc thermique - Stress (oxydatif, osmotique) - Ischémie χ ; - Hypométabolisme - Rayons γ, UV - Dommages de l'ADN <p>Infections virales</p> <p>Toxines bactériennes</p> <p>Facteurs de transcription (<i>p53, myc, E1A...</i>)</p> <p>Toxines</p> <ul style="list-style-type: none"> - Alcool - Peptide β-amyloïde <p>Anticancéreux (cisplatine, vincristine...)</p>

Tableau 3. Les principaux inhibiteurs et les principaux activateurs du processus apoptotique (d'après 2).

Caspases	Prodomaine contenant		Site de clivage de la procaspase (*)	Substrat préféré (*)	Fonction
	deux DED	un CARD			
2	•	⊕	DQQD	DEHD	Initiation du processus apoptotique
8	⊕	•	VEVD	LETD	
9	•	⊕	PEPD	LEHD	
10	⊕	•	IEAD	LEND	
3	•	•	IEAD	DEVD	Exécution du processus apoptotique
6	•	•	TEVD	VEHD	
7	•	•	IQAD	DEVD	
1	•	⊕	WFKD	WEHD	Maturation des cytokines
4	•	•	WVRD	(W, L) EHD	
5	•	⊕	WVRD	(W, L) EHD	

CARD : caspase recruitment domain ; DED : death effector domain

Nomenclature des acides aminés : A : alanine, D : aspartate ; E : glutamate ; F : phénylalanine ; H : histidine ; I : isoleucine ; K : lysine ; L : leucine ; N : asparagine ; P : proline ; Q : glutamine ; R : arginine ; T : thréonine ; V : valine ; W : tryptophane

(*) Les séquences d'acides aminés pour lesquelles les caspases sont le plus actives sont présentées dans le sens P1-P1 (extrémité aminée – extrémité carboxyle de la séquence)

Tableau 4. Nomenclature, caractéristiques et fonctions des caspases identifiées chez l'homme (d'après 7).

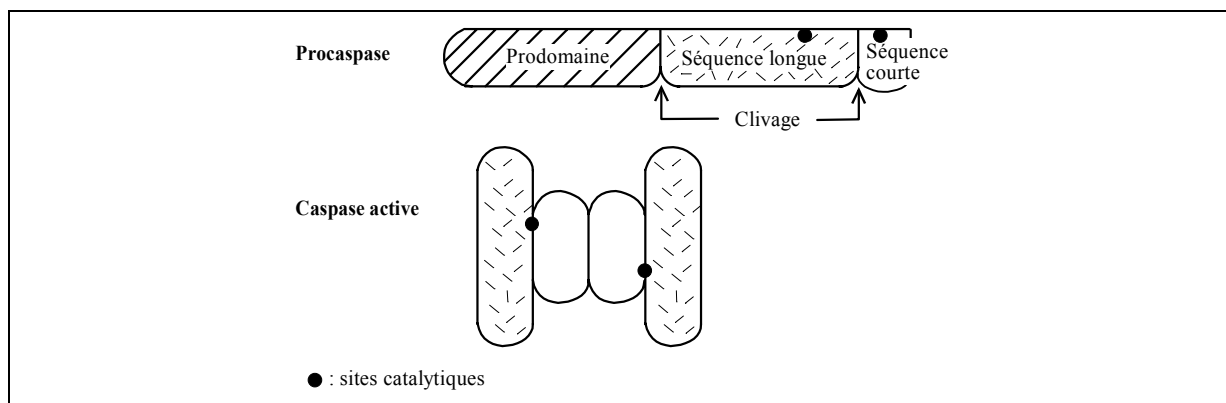


Figure 1. Structure et activation des caspases.

2.3. L'activation des caspases commence par le clivage du prodomaine des procaspases. Le point important est que ce clivage a lieu à l'extrémité carboxyle d'un résidu aspartate, résidu précédé (à son extrémité aminée) de trois résidus aminés reconnus par la caspase elle-même ou d'autres caspases (tableau 4). Les procaspases peuvent donc **s'autoactiver** (bien que faible, leur activité est suffisante pour cela) ou être activées par **d'autres caspases**.

Secondairement deux segments courts et deux segments longs s'assemblent de telle sorte que le tétramère contient deux sites catalytiques actifs (figure 1).

Les caspases sont activées "en cascade".

Les caspases initiatrices sont d'abord activées en réponse à des signaux proapoptotiques spécifiques. Ceux-ci recrutent des protéines adaptatrices contenant un domaine CARD, ou un domaine DED, qui se fixe sur le domaine homologue de la procaspase ; en outre les protéines adaptatrices contiennent des domaines permettant leur oligomérisation et donc l'oligomérisation des procaspases auxquelles elles sont fixées. Une fois oligomérisées les procaspases initiatrices s'activent mutuellement (voir figures 3 et 5).

Secondairement les caspases initiatrices activent à leur tour les caspases effectrices. Celles-ci initient le processus de désintégration cellulaire ; en outre elles amplifient le processus en clivant d'autres procaspases initiatrices.

2.4. Les caspases effectrices sont les responsables, directes ou indirectes, des modifications morphologiques et biochimiques observées dans les cellules en voie d'apoptose. A ce jour on a identifié une vingtaine de leurs substrats qu'on peut classer en trois groupes

i) des **protéines structurales**. Un exemple est celui de la lamine de l'enveloppe nucléaire dont la dégradation est sans doute le facteur principal de la condensation de la chromatine. Un autre est celui de la gelsoline, une protéine essentielle pour la régulation du cytosquelette ; son clivage contribue au *blebbing* de la membrane cytoplasmique

ii) des **enzymes** normalement quiescentes et activées par leur clivage. Un exemple est l'ADNase qui assure la segmentation internucléosomique de l'ADN, en petits fragments de 180 bp, la principale caractéristique biochimique du processus apoptotique

iii) des protéines au contraire jusque-là actives et **inactivées** par leur clivage. Dans ce groupe on trouve notamment des protéines impliquées dans la réparation et la duplication de l'ADN.

Le point important est que chacun de ces effets, pris séparément, ne semble avoir de conséquences majeures. Pour que le programme apoptotique s'accomplisse, il faut le clivage simultané de nombreuses protéines, impliquées dans la régulation du cytosquelette, la synthèse des membranes et le maintien de l'intégrité de l'ADN (8).

2.5. Les caspases peuvent être inhibées par diverses protéines

i) certaines, les IAPs (*inhibitors of apoptosis proteins*) sont constitutives

ii) d'autres sont produites par des virus (baculovirus, virus de la vaccine...). Ainsi le système immunitaire ne peut induire l'apoptose des cellules infectées et les virus peuvent non seulement persister mais aussi proliférer

iii) enfin on a synthétisé des inhibiteurs – réversibles ou non – des caspases. Ces produits ont d'abord été utilisés *in vitro* pour l'étude des fonctions des caspases. Puis on a montré leur efficacité *in vivo* sur des modèles animaux d'hépatite fulminante, d'accidents vasculaires cérébraux ou myocardiques. Aussi envisage-t-on maintenant leur développement chez l'homme.

3. Les protéines de la superfamille Bcl-2 (pour revues : 6,7,9)

3.1. Les protéines de la superfamille Bcl-2 contrôlent principalement la "**voie apoptotique mitochondriale**" qui aboutit à l'activation de la procaspase-9 (voir infra § 4).

Toutes contiennent de un à quatre domaines dits BHs (*Bcl-2 homology domains*). Le point essentiel est que celles qui contiennent les domaines BH₁-BH₃ peuvent former des homodimères ou, plus souvent, des **hétérodimères** : en effet les domaines BH₁-BH₃ forment un "sillon" où peut se fixer le domaine BH₃ d'une autre protéine, à condition que ce domaine soit "démasqué".

De plus la plupart d'entre elles contiennent, du moins chez les mammifères, un segment hydrophobe à leur extrémité carboxy-terminale, ce qui leur permet de s'ancrer au versant cytosolique de la membrane mitochondriale, de l'enveloppe nucléaire ou encore du reticulum endoplasmique.

Elles constituent trois familles dont les caractéristiques structurales et fonctionnelles sont différentes.

3.2. Les protéines de la famille Bcl-2 proprement dite (Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1...) comportent trois ou quatre domaines BH. Leur domaine BH₃ est constitutivement masqué, et il faut qu'elles subissent un changement de conformation pour qu'il se démasque.

Ce sont des protéines antiapoptotiques. Elles s'opposent à l'activation de la procaspase-9 par des mécanismes encore mal connus. L'un d'entre eux semble être la fixation des protéines Bax.

3.3. Celles de la famille Bax ne contiennent que les trois domaines BH₁-BH₃.

Certaines sont constitutivement liées aux membranes cellulaires et leur domaine BH₃ est toujours démasqué (Bak par exemple). Les autres sont cytosoliques et leur domaine BH₃ est alors masqué ; il faut un "signal de mort" pour qu'elles se déplacent vers les membranes et que leur domaine BH₃ se démasque (Bax par exemple).

Ce sont des protéines proapoptotiques, facilitant la libération du cytochrome c qui prélude à l'activation de la procaspase-9 (voir infra § 4). Leur mode d'action est discuté. Selon certains elles forment des néocanaux dans la membrane mitochondriale externe ; selon d'autres elles facilitent l'ouverture des mégapores mitochondriaux, constitutifs, qui traversent les deux membranes mitochondriales.

3.4. Les protéines du troisième groupe ne contiennent qu'un domaine BH, le domaine BH₃, d'où leur nom de protéines *BH₃-only* ; à l'exception de Bid (voir infra), ce domaine est naturellement "démasqué".

Toutes sont constitutivement cytosoliques et ce sont des "signaux de mort" qui déclenchent leur translocation aux membranes cellulaires. Ce sont également des protéines apoptogènes, mais elles interviennent plus précocément que les protéines Bax. Elles s'en distinguent aussi par leur très grande **spécificité** ; chacune intervient en réponse à

des signaux de mort particulier et seulement dans quelques lignées cellulaires. Deux d'entre elles, Bad et Bid, jouent ainsi un rôle important dans la mort neuronale par apoptose (*figure 2*).

- Bad est normalement phosphorylée au niveau de trois de ses résidus sérine. La phosphorylation des résidus 112 et 136 fait que Bad est séquestrée dans le cytosol par les protéines chaperonnes 14-3-3. Celle du résidu 155 l'empêche de se fixer aux protéines antiapoptotiques.

Nous verrons qu'une carence en facteurs neurotrophiques conduit à la déphosphorylation de Bad (voir § 6). Elle est alors libérée de ses protéines chaperonnes, et gagne la membrane mitochondriale où elle se fixe à la protéine Bcl-2 et l'inhibe ainsi.

- Bid est inactive tant qu'elle n'est pas clivée par la caspase 8, elle-même activée par les "récepteurs de mort". Ce clivage libère un fragment, dit tBid, où BH₃ est démasqué et qui gagne la membrane mitochondriale ; là, tBid facilite la libération du cytochrome c. En d'autres termes tBid connecte la voie d'activation des caspases par les mitochondries et la voie d'activation des caspases par les récepteurs de mort.

Le mécanisme précis des effets de tBid dans la membrane mitochondriale reste discuté. Trois hypothèses, non exclusives, ont été avancées : i) la fixation de tBid aux protéines Bcl-2, ce qui les inhibe ii) la fixation de tBid aux protéines Bax, ce qui facilite leur insertion dans la membrane mitochondriale iii) ou encore la formation de néocanaux par tBid.

4. L'activation des caspases par les mitochondries (pour revues : 4,6,10,11)

4.1. Pendant longtemps la seule voie connue de l'activation des caspases a été celle des "récepteurs de mort". On sait maintenant que cette voie intervient surtout dans le système immunitaire et que dans les autres tissus, les principaux acteurs de la mort cellulaire par apoptose sont en fait les **mitochondries**. De nombreux signaux de mort sont transmis aux mitochondries par les protéines *BH₃-only* (voir supra). En outre les mitochondries produisent elles-mêmes des signaux de mort tels que des radicaux libres ou une augmentation importante de la concentration en ions Ca²⁺ dans la matrice mitochondriale. Le destin de la cellule dépend de l'importance relative de ces signaux de mort par rapport aux signaux de survie, dont en particulier ceux transmis par les protéines Bcl-2 ancrées à la membrane mitochondriale (voir supra).

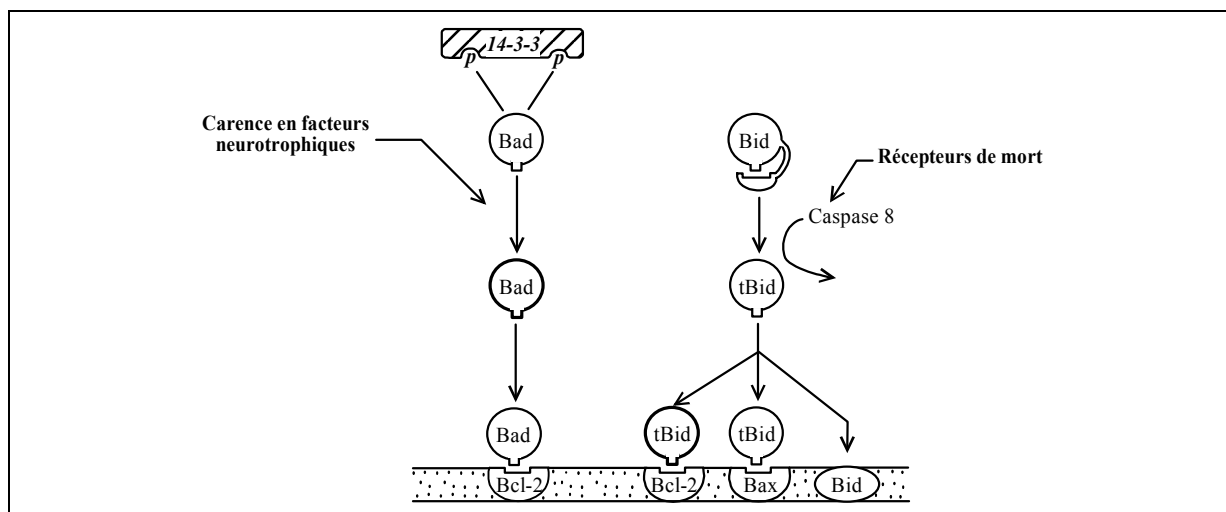


Figure 2. Les effets apoptotiques des protéines Bad et Bid.

Les mitochondries ne gouvernent pas seulement le destin, survie ou mort, de la cellule ; elles **déterminent aussi le type de mort cellulaire** i) apoptose "classique", dépendante des caspases ii) mort cellulaire programmée paraapoptotique, ne remplissant pas tous les critères morphologiques de l'apoptose, où les caspases semblent avoir un rôle moins important que l'AIF (voir infra § 4.2.) iii) mort cellulaire programmée de type nécrotique, où la dégradation cellulaire dépend aussi d'autres protéases que les caspases iv) nécrose "classique". Le plus souvent plusieurs de ces voies sont activées simultanément. Le "choix mitochondrial" dépend de la vitesse de chacun de ces processus et de l'expression de leurs antagonistes ; et cette expression dépend elle-même du type de cellule, de son degré de différenciation, de son état fonctionnel et de son environnement...

4.2. L'espace intermembranaire mitochondrial contient différentes protéines proapoptotiques :

- i) avant tout le cytochrome c, un élément de la chaîne respiratoire mitochondriale
- ii) l'AIF (*apoptosis inducing factor*), qui clive l'ADN en de larges fragments, préalablement à son clivage internucléosomique
- iii) la protéine Smac/DIABLO, qui inhibe les IAPs cytosoliques

En réponse aux signaux de mort qui leur sont transmis, les mitochondries libèrent ces protéines dans le cytosol. Le mécanisme de cette libération reste discuté, avec deux principales théories. L'une est l'ouverture des mégapores mitochondriaux, sous l'influence de leurs agonistes classiques (ions Ca^{2+} , radicaux libres...) et/ou sous l'influence d'une protéine Bax. L'autre est la formation de néocanaux dans la membrane mitochondriale externe par les protéines Bax.

Dans le cytosol le cytochrome c initie la formation d'un complexe associant la protéine adaptatrice APAF-1 (*apoptotic protease-activating factor-1*) et l'ATP. Ce complexe s'oligomérisé puis fixe la procaspase-9.

Cette dernière, également oligomérisée, peut alors s'autoactiver puis activer d'autres caspases (figure 3).

Il faut souligner que l'assemblage de ces complexes multiprotéiques, dénommés apoptosomes, ne signifie pas obligatoirement que la cellule va se suicider. L'activation de la procaspase-9 peut encore être inhibée par les IAPs (à condition que celles-ci ne soient pas elles-mêmes inhibées par Smac/DIABLO...) ou par des Hsps (*heat shock proteins*).

5. Les récepteurs de mort (pour revues : 3,7,12,13,14)

5.1. Les récepteurs de mort sont les récepteurs de protéines appartenant à la superfamille du TNF (*Tumor Necrosis Factor*) ; celles-ci sont naturellement regroupées en trimères, si bien que leur fixation aux récepteurs de mort induit la trimérisation de ces derniers. Par ailleurs le segment intracellulaire des récepteurs de mort contient un domaine de mort (*DD, death domain*) ; une fois regroupés en trimères, les DD recrutent des protéines adaptatrices qui font le lien entre les récepteurs de mort et différents processus de mort cellulaire, dépendants des caspases ou non.

On connaît au moins cinq récepteurs de mort ainsi que leurs ligands. En fait leurs voies de signalisation ne sont assez bien connues que pour deux d'entre eux, les récepteurs **Fas** dont le ligand est Fas-L, et les récepteurs **TNF-RI** dont les ligands sont le TNF- α et la lymphotoxine α .

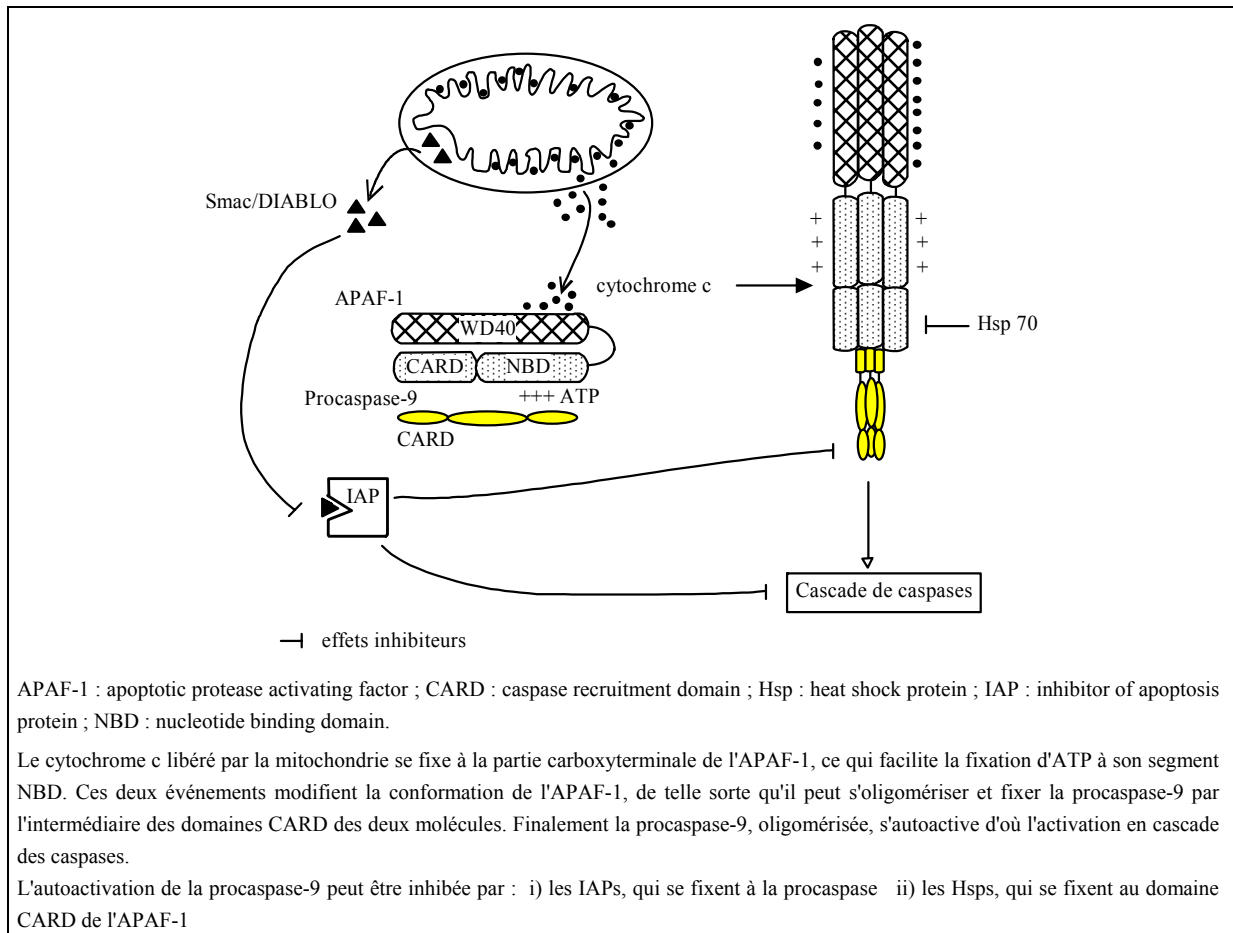


Figure 3. Activation de la procaspase-9 par les mitochondries.

5.2. Les fonctions de Fas ont d'abord été étudiées dans le système immunitaire. Ceci a permis de caractériser une première voie de signalisation contrôlée par Fas : i) les trimères de Fas recrutent la protéine adaptatrice FADD (*Fas-associated protein with death domain*) ii) cette dernière possède un domaine de type DED qui se fixe à celui de la procaspase-8 ou de la procaspase-10 (voir § 2) iii) finalement les trimères de procaspase 8 ou 10 s'autoactivent, et les caspases initiateuses activent d'autres caspases.

Les études d'autres lignées cellulaires ont ensuite montré que les récepteurs Fas gouvernent d'autres voies de signalisation et que celles-ci sont mises en jeu de façon différenciée, selon le type du signal de mort, le type de la cellule et son état fonctionnel.

Pour ce qui est des neurones, les récepteurs Fas interviennent principalement lors d'une **carence en facteurs neurotrophiques** et la voie historique décrite ci-dessus est alors de très faible importance, alors que trois autres voies jouent un rôle essentiel (figure 4)

i) l'une de ces voies a déjà été évoquée. Elle commence, comme la voie précédente, par l'intervention de la protéine FADD et l'activation de la caspase-8. Mais secondairement, au lieu d'activer d'autres caspases, la caspase-8 clive la protéine Bid. Le fragment libéré gagne la membrane mitochondriale où il facilite la libération des protéines proapoptotiques de l'espace intermembranaire, d'où finalement l'activation de la **procaspase-9**

ii) Fas peut aussi recruter la protéine adaptatrice Daxx. Celle-ci active alors l'ASK (*apoptosis stimulating kinase-1*) à l'origine de l'activation des JNKs (*jun amino-terminal kinases*). Ces dernières activent des facteurs de transcription, dont c-jun et p53, qui **stimulent l'expression de protéines proapoptotiques** telles que des récepteurs de mort et leurs ligands ou des protéines Bax

iii) enfin les récepteurs Fas **inhibent** de façon indirecte **une kinase antiapoptotique**, l'Akt (voir § 6.3.) : ils activent une enzyme, la PTEN (*phosphatase and tensin homologue*), qui déphosphoryle le PIP3, un métabolite des phosphoinositides membranaires indispensable à l'activation de l'Akt.

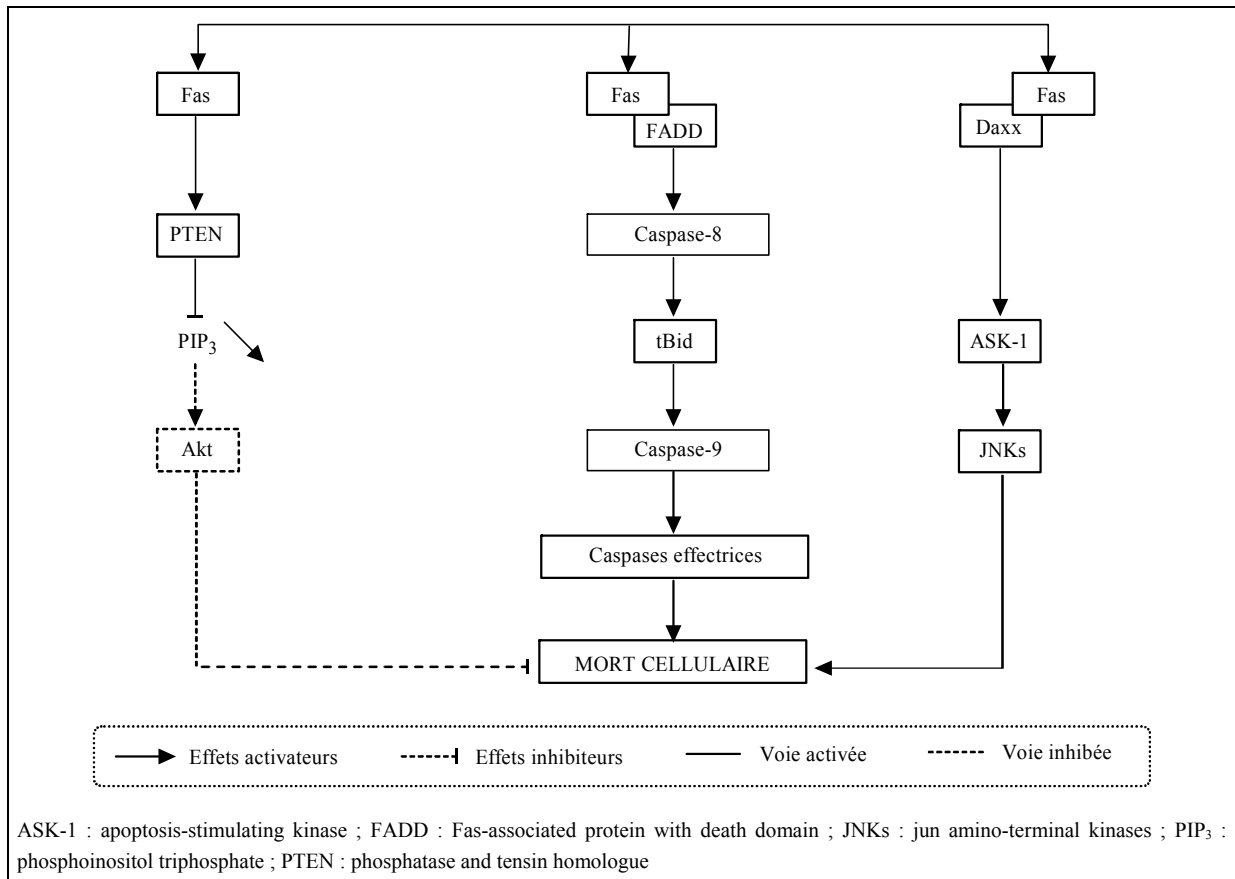


Figure 4. Fas et mort neuronale.

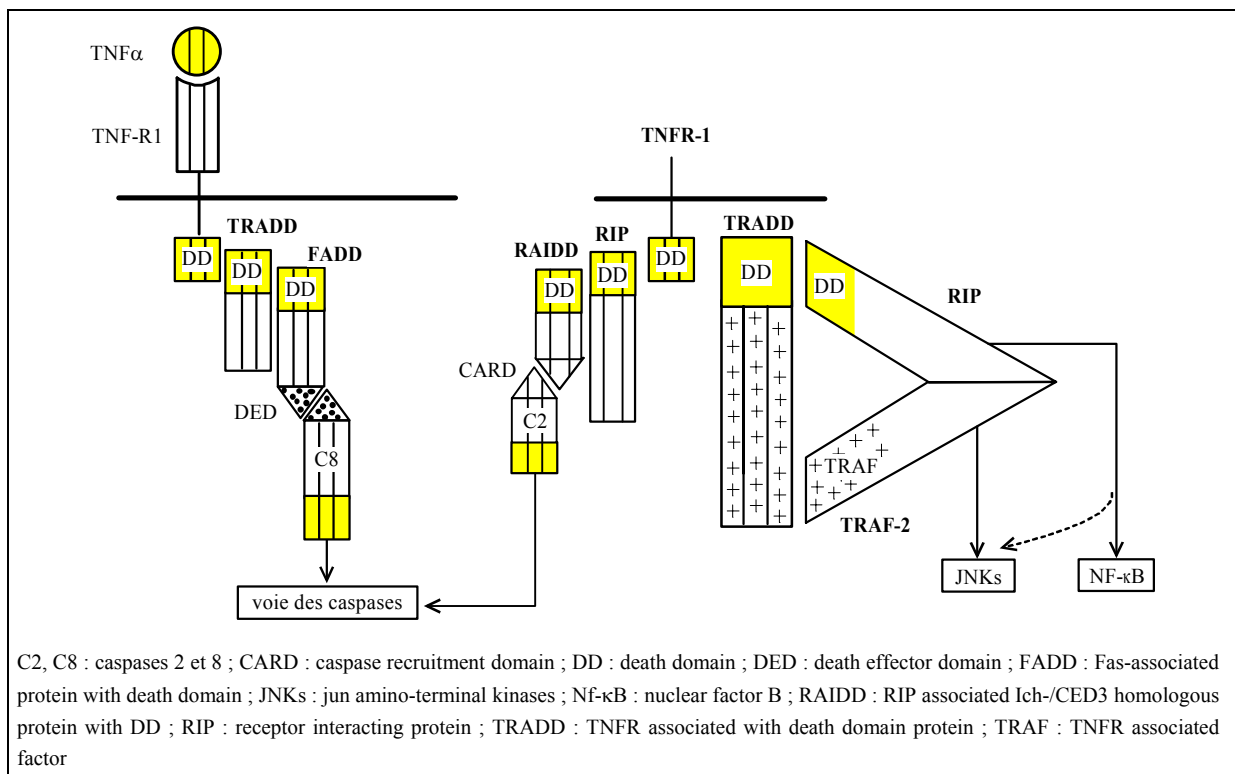


Figure 5. TNF-R1 et mort neuronale.

5.3. Les ligands des TNF-R1 sont produits surtout par les lymphocytes et les macrophages (les cellules microgliales pour le système nerveux). Aussi les TNF-R1 interviennent-ils essentiellement au cours des **réactions inflammatoires**. Celles-ci ne sont pas l'apanage de pathologies aiguës, infectieuses ou non ; on les observe également au cours des **pathologies neurodégénératives** telles que la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson.

Les signaux transmis par les TNF-R1 dépendent de deux protéines adaptatrices, TRADD (*TNFR associated with death domain protein*) et RIP (*receptor interacting protein*) (figure 5).

TRADD se fixe au domaine de mort des TNF-R1 et recrute à son tour FADD, d'où l'activation des caspases 8 ou 10.

RIP est recrutée de deux façons, soit directement par le domaine de mort des TNF-R1, soit indirectement par le domaine de mort de TRADD.

Dans le premier cas, RIP recrute à son tour la protéine RAIDD (*RIP associated Ich-1 / CED3 homologous protein with DD*) ; cette dernière est munie d'un domaine CARD, ce qui lui permet d'activer la procaspase-2.

Dans le second cas, RIP exprime son activité kinase et active le facteur de transcription NF- κ B. En outre TRADD peut alors recruter simultanément TRAF-2 (*TNFR associated factor-2*) qui active la voie des JNKs.

5.4. Diverses protéines peuvent s'opposer aux effets transmis par les récepteurs de mort. Outre les IAPs, qui inhibent les caspases, ce sont

- i) les protéines FLIPs (*FLICE inhibitory proteins*, FLICE étant l'abréviation de *FADD-like IL-1 β converting enzyme*). Ces protéines contiennent un domaine de mort qui se fixe à celui des procaspases et empêche ainsi leur recrutement par FADD ou RAIDD
- ii) des protéines chaperonnes qui "coiffent" les récepteurs de mort et les empêchent de fixer les ligands de mort
- iii) des kinases. Certaines, comme l'Akt, inactivent des molécules proapoptotiques (voir 6.3.) ; d'autres facilitent l'expression de molécules antiapoptotiques.

6. Carence en facteurs neurotrophiques (pour revues : 15,16,17)

6.1. Les facteurs neurotrophiques sont des peptides solubles et diffusibles indispensables à la survie et à la plasticité de populations neuronales spécifiques. Ils sont répartis en deux classes : i) les "facteurs de survie", doués uniquement d'effets trophiques, dont la carence conduit à la mort neuronale par apoptose ii) les "facteurs de croissance", exerçant principalement des effets hyperplasiques et mitotiques, mais également capables d'effets trophiques (tableau 5)

6.2. Les effets des différents facteurs neurotrophiques sont transmis par des récepteurs spécifiques possédant plusieurs caractéristiques communes :

- i) leur segment intracellulaire contient un domaine doué d'une **activité tyrosine-kinase**, d'où leur nom de récepteurs Trks
- ii) la fixation de leurs ligands induit leur dimérisation ; ceci permet l'activation – par autophosphorylation – de leur domaine tyrosine-kinase
- iii) une fois activés les domaines tyrosine-kinase activent à leur tour différentes **cascades de kinases**. Deux d'entre elles, envisagées dans les deux paragraphes suivants, jouent un rôle majeur dans les effets antiapoptotiques des facteurs neurotrophiques. L'une aboutit à l'activation de l'**Akt**, une sérine-thréonine kinase, également dénommée protéine-kinase B (PK-B). L'autre conduit à l'activation d'*extracellular signal regulated kinases* (ERKs), appartenant à la famille des *mitogen activated protein kinases* (MAPKs).

6.3. La voie **d'activation de l'Akt** passe d'abord par l'activation d'une protéine de la superfamille des **protéines Ras** (figure 6). Celles-ci sont des protéines G (protéines fixant les guanine-nucléotides) de faible poids moléculaire qui existent dans deux conformations : une conformation active lorsqu'elles fixent du GTP (guanosine triphosphate) et une conformation inactive lorsqu'elles fixent du GDP (guanosine diphosphate).

Facteurs de survie	Facteurs de croissance
Nerve Growth Factor (NGF)	Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)
Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)	Acidic Fibroblast Growth Factor (aFGF)
Neurotrophine-3 (NT-3)	Insuline, Insulin-like Growth Factors (IGFs)
Neurotrophine-4 (NT-4)	Epidermal Growth Factor (EGF)
Neurotrophine-5 (NT-5)	Transforming Growth Factor alpha (TGF α)
Neurotrophine-6 (NT-6)	
Heparin-Binding Neurotrophic Factor (HBNF)	
Glia-Derived Neurotrophic Factor (GDNF)	

Tableau 5. Les principaux facteurs neurotrophiques.

Les tyrosine-kinases réceptorielles, activées par leur dimérisation, phosphorylent deux protéines adaptatrices, Shc et Gab-1. Celles-ci recrutent alors une autre protéine adaptatrice, Grb-2, ainsi que le facteur SOS (*son of sevenless*). Ce dernier est un facteur d'échange de guanine-nucléotides pour les protéines Ras ; lorsqu'il est couplé à Grb-2, il leur donne du GTP en échange de leur GDP.

Ras active ensuite la PI3-K (phosphatidyl inositol-3OH kinase) qui agit sur les lipides de la membrane cytoplasmique, produisant ainsi des phosphoinositides. Ces derniers activent deux PDKs (*phosphoinositide dependent kinases*) dont l'une d'entre elles, la PDK-1, active l'Akt en la phosphorylant. Finalement l'Akt phosphoryle des facteurs de transcription, dont deux principaux ; l'un est le CREB (*CAMP-response element binding protein*) ; l'autre appartient à la famille des FKHRs (*Forkhead transcriptional regulators*)

- i) une fois phosphorylé, le CREB active la transcription de gènes possédant un motif CRE (*cAMP responsive element*), motif auquel il se fixe. Parmi les gènes activés par le CREB se trouvent ceux codant pour des protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2 (Bcl-2 elle-même, Bcl-XL, Mcl-1) et pour un facteur trophique (le BDNF), d'où une boucle d'amplification du processus
- ii) les FKHRs sont au contraire actifs lorsqu'ils ne sont pas phosphorylés. Ils sont alors localisés dans le noyau où ils activent des "gène de mort", codant pour des récepteurs de mort et leurs ligands ainsi que pour la protéine proapoptotique Bim, de la famille *BH3-only* (voir § 4). Leur phosphorylation par l'Akt induit leur relocalisation dans le cytoplasme, où ils ne peuvent exercer leurs effets délétères.

En outre l'Akt a des effets directs sur la machinerie apoptotique. Avant tout, elle phosphoryle la protéine proapoptotique Bad, ce qui augmente son affinité pour les protéines chaperonnes cytoplasmiques ; en d'autres termes l'Akt empêche Bad de gagner la membrane mitochondriale. Elle phosphoryle également l'APAF-1, qui est ainsi inhibé, et les IAPs, dont les effets sont alors au contraire potentialisés.

6.4. La "voie classique" de l'activation des ERKs débute également par le recrutement de la protéine Ras, selon le même mécanisme que celui décrit précédemment. Il s'ensuit l'activation successive i) de MAPK kinase kinases, Raf ou Mos principalement ii) de MAPK kinases, MEK-1 et MEK-2 iii) et finalement des ERK-1 et-2 (*figure 7*).

D'autres voies sont possibles :

- i) l'activation de Raf / Mos par la P13-K, elle-même activée par Ras
- ii) le recrutement par Gab-1 d'une protéine phosphatase, Shp-2, qui active Raf / Mos par un mécanisme encore inconnu
- iii) la phosphorylation par la tyrosine kinase réceptorielle de la CHK (*Csk Homologue Kinase*). Celle-ci active alors la phospholipase C-γ (PLC-γ), d'où la production de diacylglycérol (DAG). Ce dernier active une isoforme de la protéine-kinase c (PKC) qui active à son tour MEK-1/2
- iv) la phosphorylation par la tyrosine réceptorielle de la protéine adaptatrice FRS-2 qui peut alors recruter deux autres protéines adaptatrices, Src et Crk, et une tyrosine phosphatase, la SH-PTP-2. Ensuite la Crk fixe et active un facteur d'échange de guanine nucléotides, le C3-G, qui active à son tour de protéine Ras. Finalement cette dernière active Raf / Mos.

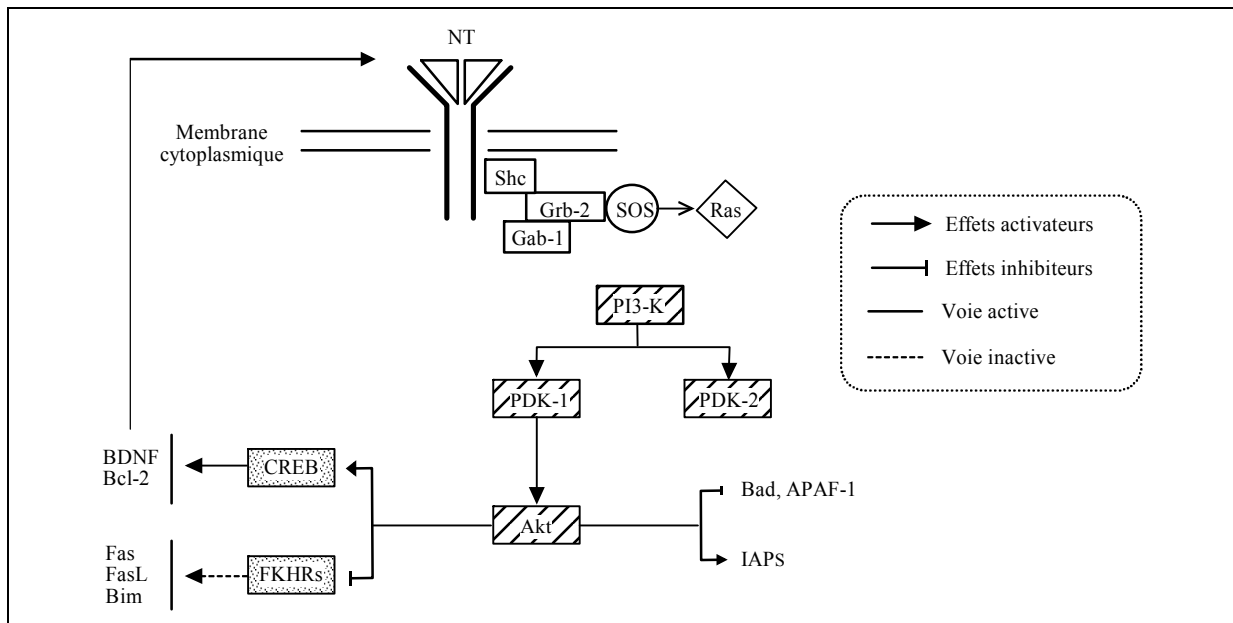


Figure 6. La voie et les effets de l'Akt.

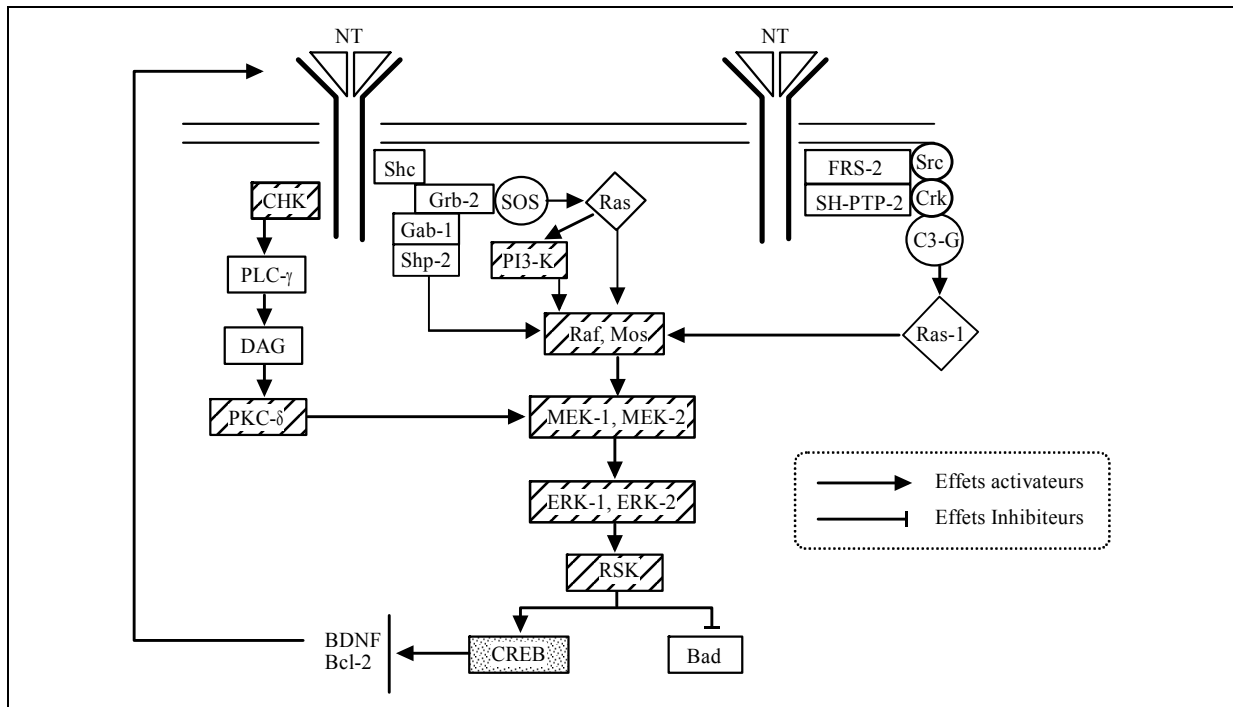


Figure 7. L'activation et les effets antiapoptotiques des ERKs.

REFERENCES

- Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissues kinetics. *Br J Cancer* 1972 ; 26 : 239-257.
- Thompson C.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995 ; 267 : 1456-1462.
- Leist M., Jäättelä M. Four deaths and a funeral : from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev, Mol Cell Biol* 2001 ; 2 : 589-598.
- Desagher S., Martinou J-C. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol* 2000 ; 10 : 369-377.
- Bratton S.B., Cohen G.M. Apoptotic death sensor : an organelle's alter ego ? *Trends Pharmacol Sci* 2001 ; 22 : 306-315.
- Reed J.C. Apoptosis-regulating proteins as targets for drug discovery. *Trends Mol Med* 2001 ; 7 : 314-318.
- Strasser A., O'Connor L., Dixit V.M. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000 ; 69 : 217-245.
- Martinou J-C., Green D.R. Breaking the mitochondrial barrier. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001 ; 2 : 63-67.
- Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 protein family : arbiters of cell survival. *Science* 1998 ; 281 : 1322-1326.
- Kroemer G., Reed J.C. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 2000 ; 6 : 513-519.
- Adrain C., Martin S.J. The mitochondrial apoptosome : a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001 ; 26 : 390-397.
- Ashkenazi A., Dixit V.M. Death receptors : signaling and modulation. *Science* 1998 ; 281 : 1305-1308.
- Wallach D., Varfolomeev E.E., Malinin N.L., Goltsev Y.V., Kovalenko A.V., Boldin M.P. Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annu Rev Immunol* 1999 ; 17 : 331-367.
- Sharma K., Wang R.X., Zhang L.Y. et coll. Death the fas way : regulation and pathophysiology of CD95 and its ligand. *Pharmacol Ther* 2000 ; 88 : 333-347.
- Raoul C., Pettmann B., Henderson C.E. Active killing of neurons during development and following stress : a role for p75NTR and Fas ? *Curr Opin Neurobiol* 2000 ; 10 : 111-117.
- Brunet A., Datta S.R., Greenberg M.E. Transcription-dependent and -independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Curr Opin Neurobiol* 2001 ; 11 : 297-305.
- Patapoutian A., Reichardt L.F. Trk receptors : mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 2001 ; 11 : 272-280.