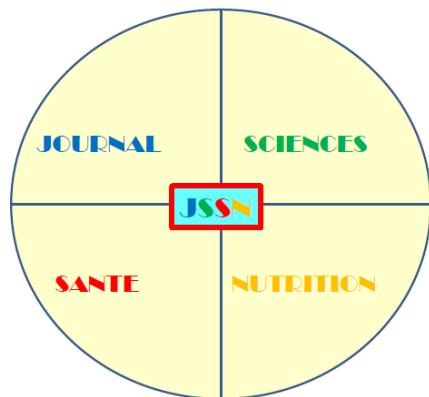
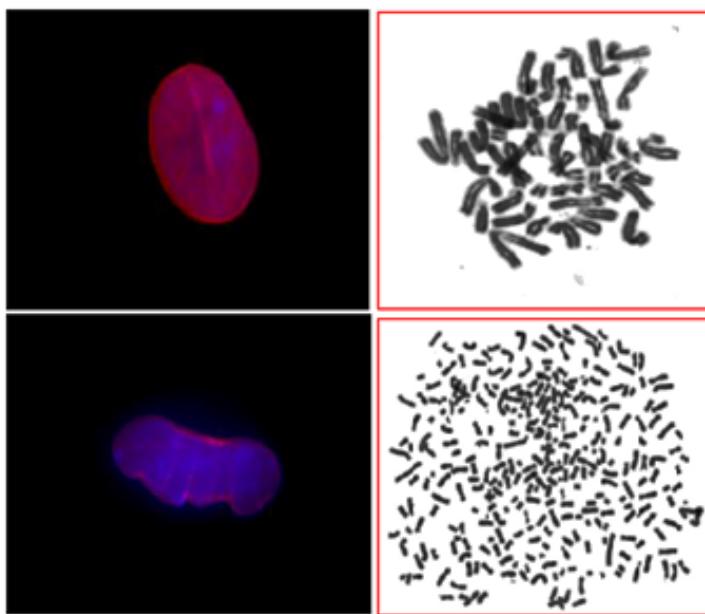


ISSN : 1840-6963



RISSAN

**Revue Internationale des Sciences de la
Santé de l'Alimentation et de la Nutrition**



Réalisée par Dr. Capo-chichi D. Callinice



JSSN : Journal des Sciences de la Santé et de la Nutrition

RISSAN : Revue Internationale des Sciences de la Santé, de l'Alimentation et de la Nutrition

DSSAN : Découvertes en Sciences de la Santé, de l'Alimentation et de la Nutrition

ESSAN : Exposés en Sciences de la Santé, de l'Alimentation et de la Nutrition

Pour vos publications scientifiques et publicités, contacter nous au :

Tel : (229) 68-01-99-56

Email: journalsciencesantenustration@gmail.com

Table des matières

Titre	Auteur	Pages
La réPLICATION de l'ADN et l'instabilité génomique	Hounkpe Wilfried	1
L'effet de la méthylation de l'ADN sur l'expression des gènes	Adanho Corynne	13
Rôle des inhibiteurs d'histone désacétylase dans le traitement des cancers de l'ovaire.	Sossou-Tchatcha Sylvain, Capo-chichi D. Callinice	19
Les mécanismes de régulation du cycle cellulaire	Yahouédéhou S. C. Modeste	25
L'importance de l'apoptose dans l'homéostasie tissulaire	Chénou Francine	33
Les dommages à l'ADN induisent la sénescence dans les cellules tumorales	Amoussa Madjid O.	43

La réPLICATION de l'ADN et l'instabilité génomique

Hounkpe Wilfried

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

La réPLICATION de l'ADN est l'un des principaux mécanismes du cycle cellulaire. Elle est un processus biologique très régulé au cours duquel la cellule utilise des points de restriction et des mécanismes de réparation pour assurer l'intégrité du génome. Chez les eucaryotes, elle est sous le contrôle de plusieurs gènes conservés. Toutefois, des modifications du génome peuvent s'observer lorsque la cellule est incapable de réparer les dommages pouvant survenir au cours de la réPLICATION. Cette revue fera le résumé des travaux récents sur la réPLICATION de l'ADN, en se focalisant sur les erreurs de réPLICATION et leur implication dans les instabilités génomiques menant à divers syndromes humains et à des cancers.

Mots clé : RéPLICATION de l'ADN, dommage, réparation, instabilité génomique, cancer

Introduction

L'intégrité du génome est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme et à la survie de l'espèce. La transmission de l'information génétique doit faire une balance sélective entre la stabilité génomique et l'élimination des mutations ainsi que la perte du potentiel d'évolution (1). Cette stabilité dépend de la fidélité de la réPLICATION de l'ADN qui est un processus hautement régulé impliquant plusieurs facteurs protéiques et des points de restriction permettant à la cellule de repérer et de réparer les erreurs. Chez les eucaryotes, la réPLICATION est initiée à plusieurs origines de réPLICATION appelées OriC, contrairement aux procaryotes chez qui il n'existe qu'une seule origine de réPLICATION. Outre la complexité du génome, la cellule doit s'occuper des erreurs de réPLICATION et du blocage de la fourche de réPLICATION qui apparaissent spontanément sous l'action de facteurs endogènes et exogènes (2, 3, 4). L'incapacité de la cellule à réparer les erreurs ou à éviter une réinitiation de la réPLICATION entraîne des instabilités génomiques telles que les anomalies chromosomiques, le réarrangement génomique et les mutations ponctuelles. Ces instabilités génomiques sont impliquées dans plusieurs syndromes humains, la prédisposition à développer divers cancers ainsi que des anomalies génétiques. Pour pouvoir résoudre ces problèmes, la cellule utilise divers moyens pour détecter et coordonner la réparation des erreurs de réPLICATION. Les gènes intervenant dans la réparation de l'ADN en vue du maintien de la stabilité génomique sont très conservés chez les eucaryotes (1, 5, 6). Dans cette revue, nous discuterons des avancées importantes concernant la réPLICATION de l'ADN, les dommages causés et leur réparation ainsi que leurs conséquences sur le génome.

Mécanismes de réPLICATION de l'ADN.

- **Régulation de l'assemblage du complexe pré-réPLICATIF (pre-RC pour pre-replicative complex).**

Les cellules eucaryotes doivent répliquer à chaque cycle cellulaire l'entièreté de leur génome distribué sur plusieurs chromosomes. Afin de réaliser ce processus en un temps record, l'initiation de la réPLICATION au cours de la phase S du cycle cellulaire se fait au niveau de plusieurs OriC (des milliers d'OriC) sur chaque chromosome. Plusieurs réplicons résultent alors de ces différentes origines de réPLICATION (5). L'initiation est une étape très importante de la réPLICATION, d'où sa forte régulation qui coordonne des séries d'événements complexes telles que la reconnaissance de l'OriC, l'ouverture partielle du double brin d'ADN et la fixation de l'ADN polymérase au complexe de réPLICATION. Du fait de cette régulation, aucune région du génome ne sera répliquée plus d'une fois au cours d'un cycle cellulaire (Figure1). De plus, l'entièreté du génome doit être répliquée (2, 5). Ainsi chaque cellule fille reçoit un exemplaire de l'information génétique identique à celui de la cellule mère. Des erreurs de réPLICATION de l'ADN et de ségrégation des chromosomes peuvent néanmoins apparaître. Ce qui aboutit à la perte ou la duplication de cette information dans une cellule. Ces perturbations jouent d'importants rôles dans la genèse de cellules cancéreuses (2). L'assemblage du pre-RC est capital pour la régulation de la réPLICATION de l'ADN. La reconnaissance de l'OriC se fait par un complexe protéique appelé ORC (Origin Recognition Complex) dont six sous-unités se fixent à chaque origine de réPLICATION. Suite à cette fixation, deux autres facteurs protéiques, Cdc6/Cdc18 et Cdt1, coopèrent avec le premier complexe, ORC, pour le recrutement de six complexes protéiques Mcm2-7 (Mcm2, 3, 5, 6, 7, 8). Le complexe protéique Mcm2-7 est recruté sous forme inactive en phase G1 du cycle cellulaire et est ensuite activé en phase S par les kinases Cdc7 (cell division cycle 7) et CDK (cyclin-dependent kinase). Après l'activation de Mcm2-7, d'autres facteurs protéiques viennent se fixer à l'origine de réPLICATION entraînant ainsi l'ouverture partielle du double brin d'ADN. Il se forme alors deux fourches de réPLICATION qui évoluent en sens inverse (2, 3). L'ensemble de ces complexes protéiques forme le complexe de pré-réPLICATION (pre-RC) qui empêche la réINITIATION de la réPLICATION au cours d'un même cycle cellulaire.

- **Activation du complexe pre-RC.**

Après assemblage du complexe pre-RC, les protéines Cdc45 et GINS (Go Ichi Ni San) sont recrutées et forment avec les sous-unités de Mcm (Minichromosome maintenance) un complexe CMG (Cdc45-Mcm-GINS) au niveau de chaque fourche de réPLICATION (3, 4). L'hélicase Mcm2-7 reste inactive jusqu'à sa phosphorylation par la kinase cdc7. En effet, Cdc7 induirait un changement de conformation des sous-unités de Mcm en ciblant des résidus Sérine/Thréonine des extrémités N-terminale des sous unités Mcm2, Mcm4 et Mcm6. Ainsi, Cdc45 et GINS peuvent s'associer de façon stable à l'hélicase Mcm2-7. Cet assemblage fait intervenir la protéine Dpb11 qui joue un rôle crucial dans les interactions entre les protéines du complexe CMG (3). Cette activation du pre-RC prépare d'autres processus biologiques qui seront initiés en phase S et qui aboutiront à la duplication du matériel génétique (Figure1). En effet, la protéine DUE-B est recrutée avec Cdc45 et interagirait directement avec le complexe Mcm2-7 (3, 4). La kinase CDK active ensuite DUE-B et RecQL4 en les phosphorylant.

Un pont est alors formé entre les formes phosphorylées de DUE-B et RecQL4 par l'intermédiaire de Dpb11 (figure 1). En effet, l'extrémité N-terminale de Dpb11 fixe DUE-B tandis que l'extrémité C-terminale se lie à RecQL4. Suite à la formation du pont, la protéine GINS pourra être recrutée avec l'ADN polymérase ϵ à l'origine de réplication. D'autres facteurs se fixent alors au complexe CMG et une fois activée, l'hélicase Mcm2-7 ouvre la double hélice favorisant la synthèse d'amorce sur le brin tardif et la synthèse d'ADN par l'ADN polymérase ϵ sur le brin avancé. Après la fixation de l'amorce ARN sur le brin tardif, la synthèse se poursuit par l'ADN polymérase α . Les deux fourches de réplication progressent alors en sens inverse (3). De ce fait, la réplication est bidirectionnelle chez les eucaryotes. Actuellement, il reste à clarifier si la phosphorylation de DUE-B par CDK se fait seulement *in situ* à l'origine de réplication ou avant son recrutement. Le mécanisme par lequel la phosphorylation de Mcm2-4-6 contribue à son activation à l'origine de réplication reste hypothétique. Il est possible que certaines cibles très importantes de la kinase Cdc7 ne soient pas encore caractérisées (3). D'autres travaux sont nécessaires pour une meilleure compréhension de ces mécanismes.

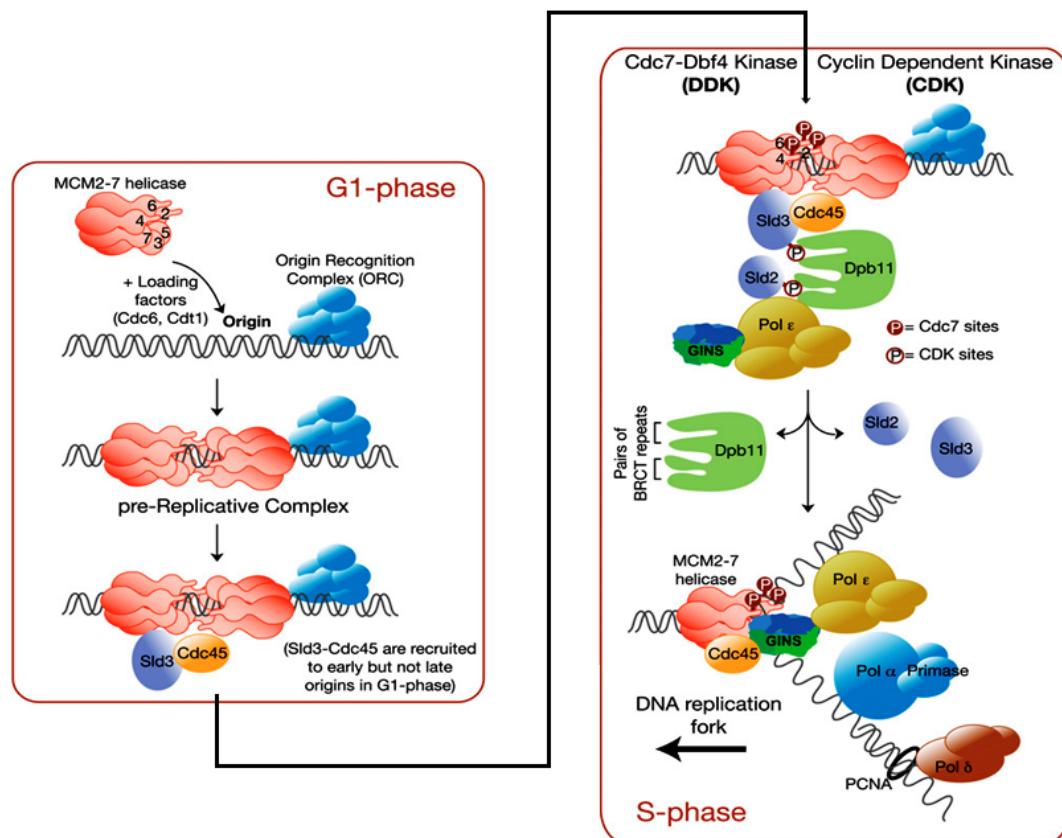


Figure 1: Initiation de la réplication chez la levure. Ce mécanisme est similaire à celui observé chez les vertébrés à la différence que Sld2 et Sld3 remplacent respectivement RecQL4 et DUE-B. Karim Labib1 Cancer Research UK, Paterson Institute for Cancer Research, University of Manchester, Manchester M20 4BX, United Kingdom.

Les erreurs de réplication, les points de restriction (check point) et la réparation de l'ADN :

- Les dommages causés par les boucles R (Cotranscriptionnal R-loops) et la collision frontale entre les mécanismes de réplication et de transcription.

La réplication et la transcription peuvent se faire simultanément sur la même matrice d'ADN. Des incidents peuvent alors découler de cette évolution simultanée. Ces erreurs au cours de la réplication sont causées aussi bien par les collisions entre les polymérases (ADN polymérase et ARN polymérase) que par la formation de boucle co-transcriptionnelle (Cotranscriptional R-loops). Il se forme alors des hybrides ARN-ADN qui induisent une instabilité génomique par blocage de la fourche de réplication. Ces problèmes peuvent être la cause de la genèse de cancer à la longue (7). La collision bloque la progression des deux polymérases (Figure 2A) et peut être aussi due à une ARN polymérase qui n'arrive pas à se détacher de l'ADN après la transcription (7). Les boucles co-transcriptionnelles se forment lorsqu'au cours d'une interférence réplication/transcription, l'ARN s'hybride avec le simple brin qui lui est complémentaire laissant libre le second brin (Figure 2B). La formation de boucle (Cotranscriptional R-loops) se fait préférentiellement dans des régions riches en GC et est favorisée par des super tours négatifs qui s'accumulent derrière l'ARN polymérase. L'apparition des boucles est aussi favorisée par toute erreur qui se manifeste au cours de la transcription.

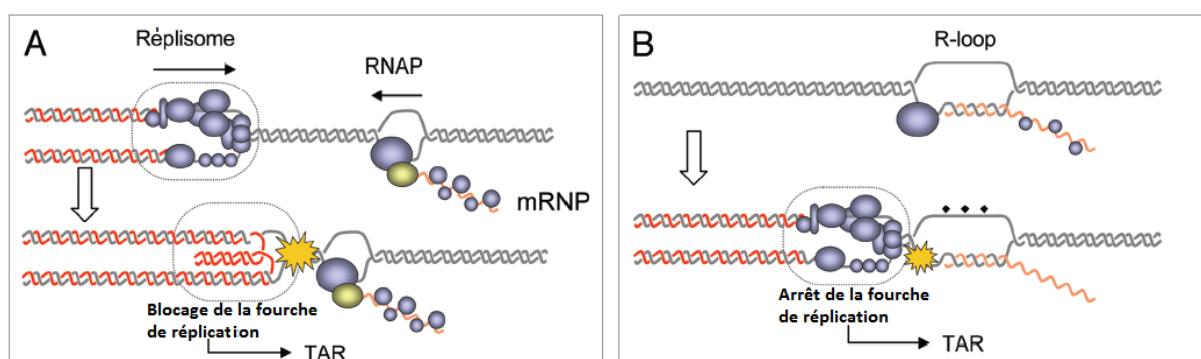


Figure 2: Modèle d'interférence entre réplication et transcription (7). A) Une collision entre le réplisome et l'ARN polymérase bloque la progression de la fourche de réplication. B) Modèle de boucle co-transcriptionnelle (R-loop). Il se forme au cours d'une interférence réplication/transcription un hybride ARN/ADN qui induit un TAR (transcription-associated recombination).

- **Blocage de la fourche de réplication.**

Au cours de la réplication, plusieurs facteurs autres que l'interférence réplication/transcription (les produits du métabolisme cellulaire et des agents exogènes) peuvent menacer la stabilité de la fourche de réplication et induire son blocage (Tableau I). Des régions caractéristiques du génome telles que les CFS (Chromosomal Fragile Sites) sont aussi impliquées dans la survenue de ce blocage (Figure 3). Les CFS sont des régions génomiques spécifiques qui présentent des cassures chromosomiques dans des conditions de stress partiel au cours de la réplication. Ces sites coïncident le plus souvent avec des gènes réarrangés ou délectés dans

les cancers humains. Comme le montre la figure 3, un réarrangement de type RET/PTC et une délétion du gène FHIT peuvent être observés dans des cas de cancers humains (9).

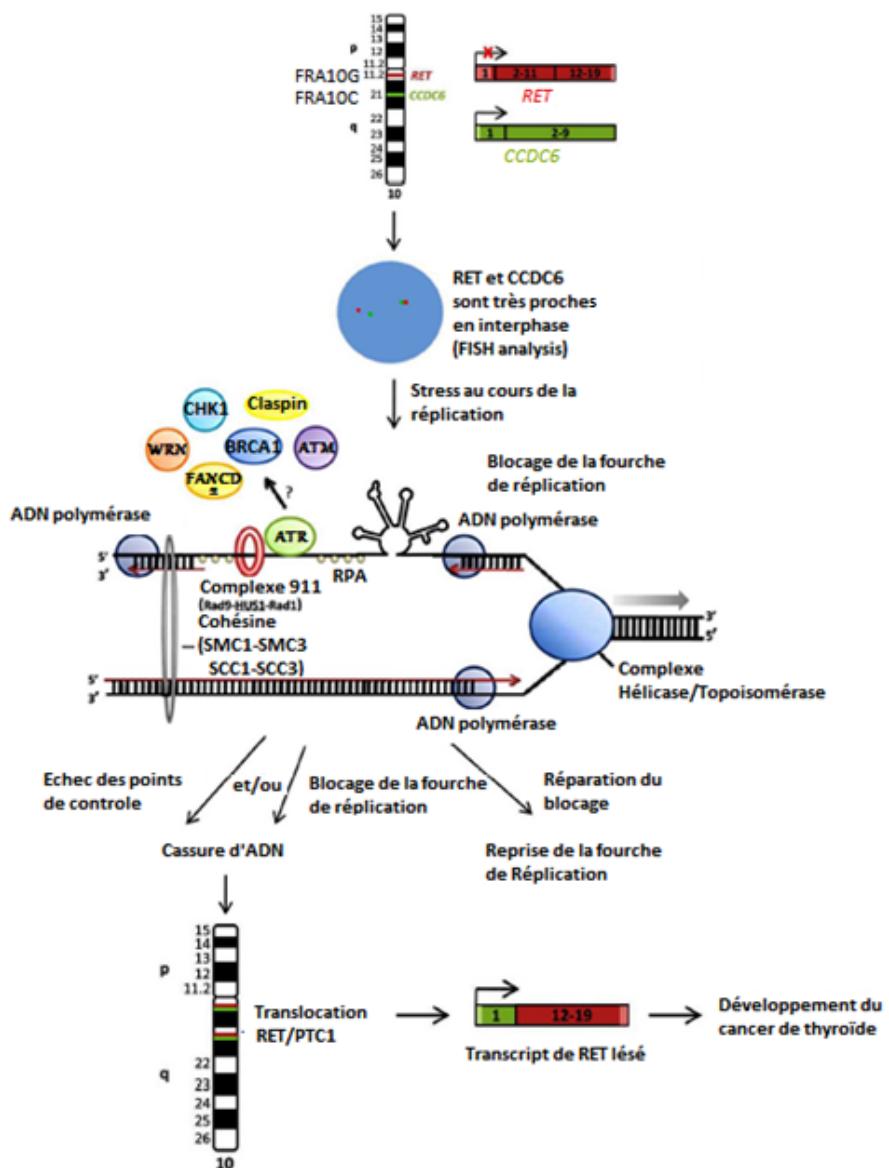


Figure 3: Modèle CFS induisant un cancer suite à un réarrangement chromosomique. Les gènes RET et CCDC6 situés respectivement sur les sites fragiles FRA10G et FRA10C du chromosome 10 sont plus proches qu'espérés en interphase dans les cellules thyroïdiennes normales. Dans une glande normale, RET n'est pas exprimé dans les follicules alors que CCDC6 s'exprime de manière constitutive. En cas de stress au cours de la réplication, les polymérases α , δ , et ϵ se détachent du complexe hélicase/topoisomérase. Il en résulte un allongement d'un double brin d'ADN susceptible de former une structure secondaire. Ces structures peuvent causer le blocage de la fourche de réplication qui va déclencher la voie de réparation ATR-dépendante. En cas d'échec de réparation, il s'en suit une cassure pouvant mener à l'apparition de cellule cancéreuse (9).

Tableau I: Quelques inducteurs d'instabilités de type CFS (Chromosomal fragile sites) (9).

Agent chimique	Utilisation
5-azacytidine, Actinomycine D	Chimiothérapie
Bléomycine, Busulfane, Méthotrexate	Chimiothérapie
Aténolol	Médicament d'hypertension
Benzène	Trouvé dans les fumées de cigarette, essence,
Cafféine, Éthanol	Aliment
Tétrachloride de carbone	Réfrigérants, pesticides
Diméthyl sulfate	Retrouvé dans les teintures, médicaments, parfums, pesticides
Pesticides, Fumée de cigarette	Agent environnemental
Diéthylnitrosamine	Retrouvé dans la fumée de cigarette, viande fumée, pesticides, whiskey

La réparation des erreurs de réPLICATION.

Plusieurs erreurs surviennent au cours de la réPLICATION de l'ADN et la cellule met en place un système de réparation pour les corriger. Les gènes impliqués dans ce processus sont conservés chez les eucaryotes. La cellule utilise des points de restriction pour détecter les erreurs en vue de les réparer.

Les points de restriction de la réPLICATION.

Lorsqu'une erreur survient au cours du cycle cellulaire, les points de restriction s'activent. Cette activation arrête le cycle cellulaire pour permettre à la cellule d'entreprendre les réparations des dommages de l'ADN avant que le cycle cellulaire ne se poursuive. Il existe différents points de restriction du cycle cellulaire: un système de restriction au niveau des transitions G1/S et G2/M et un autre en phase S du cycle cellulaire. Leur activation est contrôlée par les kinases ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) et ATR (Ataxia Telangiectasia Related). La protéine ATM intervient dans la réparation des cassures de l'ADN double brin et la désorganisation de la structure de la chromatine; tandis que la protéine ATR active les mécanismes de réparation des blocages de la fourche de réPLICATION. Ces kinases phosphorylent des protéines d'une cascade de signalisation, qui mène éventuellement à l'arrêt du cycle cellulaire. Les protéines BRCA1, MDC1 et 53BP1 ont été identifiées comme étant des médiateurs dans la transduction du signal des points de restriction (8). Lorsque les dommages sont énormes et que la cellule ne peut les réparer, la protéine p53 appelée gardien du génome est alors activée par les kinases ATM et ATR. La protéine p53 répond donc au stress génotoxique en induisant l'apoptose par désactivation du complexe CDK2/Cycline E au point de restriction G1/S. De même, p21 désactive le complexe CDK1/Cycline B. La régulation de l'activité de p53 se fait à plusieurs niveaux (Figure 4). La phosphorylation de résidus Sérine et Thréonine est la voie d'activation la plus simple de p53. ATR et ATM

phosphorylent le résidu Sérine 15. ATM accroît l'activité apoptotique de p53 en phosphorylant les résidus Sérine 6, 9, 46 et Thréonine 18. L'activation de p53 se fait aussi indirectement par l'intermédiaire d'autres kinases (10).

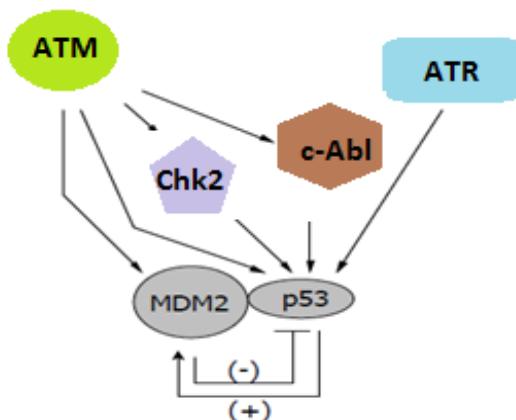


Figure 4 : La régulation de p53 par ATR et ATM. ATM et ATR peuvent influencer l'activité de p53 soit par une phosphorylation directe, ou indirectement par le biais d'autres kinases. De plus, ATM peut activer p53 en phosphorylant MDM2 qui est un inhibiteur de p53 (10).

La protéine ATR est une kinase majeure dans la régulation de la stabilité des CFS. Elle intervient dans la réparation des cassures des CFS au cours de la réplication. Mais ATM joue un rôle secondaire dans ces processus de réparation (9). Les protéines majeures qui interviennent dans cette transduction de signal au point de restriction sont résumées dans le tableau II.

Tableau II : Les protéines intervenant dans l'activation des points de restriction (9).

Protéine	Fonction
ATM	Kinase, maintient la stabilité de site fragile en absence d'ATR
ATR	Kinase, se fixe aux sites fragiles en réponse à un stress de réplication, phosphoryle des protéines cible pour activer des points de restriction
BRCA1	Phosphorylé par ATR, cible majeure d'ATR, Nécessaire à l'activation du point de restriction G2/M suite à un stress de réplication
CHK1	Kinase, phosphorylée par ATR en réponse à un stress de réplication, régulateur central de la voie de signalisation d'ATR
Claspin	Interagit sous forme phosphorylée avec CHK1 en réponse au stress de réplication
HUS1	Membre du complexe 9-1-1, facilite la phosphorylation des substrats d'ATR
WRN	Hélicase ATP-dépendant 3'-5', activité 3'-5' exonucléasique

La réparation des erreurs.

La réparation des erreurs s'impose pour la fidélité de la réPLICATION. Le tableau III rend compte de quelques erreurs observées.

Tableau III : Exemples de lésions à réparer.

Les lésions de l'ADN	Exemple/ cause
Perte de base	Suppression de purines par les acides et la chaleur, élimination de bases altérées par les ADN glycosylases.
Altération de base	Radiations ionisantes et les agents alkylants.
Base incorrecte	Les mutations affectant la fonction d'édition exonucléasidique 3' 5' ; incorporation de base incorrecte.
Insertion ou délétion de nucléotide	Agents intercalant (ex: acridine) qui induisent une addition ou une délétion de nucléotide.
Cassures simple ou double brin	Cassures de liaison phosphodiester par des radiations ionisantes et des agents chimiques.

SOURCE: Adapted from A. Kornberg and T. Baker, 1992, DNA Replication, 2d ed., W. H.

Rôle de la protéine WRN dans la réparation.

La WRN ou protéine du syndrome de Werner (maladie génétique caractérisée par le vieillissement prématuré) est un membre de la famille des hélicases RecQ impliquées dans le maintien de la stabilité génomique. La perte de fonction de cette protéine augmente la prédisposition à développer un cancer. La protéine WRN joue un rôle crucial dans la réponse au stress au cours de la réPLICATION et contribue aussi au rétablissement de la progression des fourches de réPLICATION après blocage. Les kinases ATM et ATR modulent la fonction de WRN lors de l'arrêt de la fourche de réPLICATION (figure 5). Le complexe protéique RPA (Replication Protein A), composé de RPA1, RPA2 et RPA3 qui se fixe à l'ADN, est très important dans les processus de réparation (8, 9, 17).

La réparation des cassures des doubles brins ou DSBs (Double Strand Breaks)

Les DSBs sont réparés par des mécanismes de recombinaison homologue (Homologous Recombination ou HR). Dans ce cas, la séquence d'ADN perdue est restaurée en utilisant comme matrice la chromatide sœur. Des études effectuées chez la levure indiquent que la réparation se fait par les polymérasées δ et ε. D'autres études réalisées sur des cellules humaines révèlent que la reprise de la réPLICATION HR-dépendante se fait par la polymérase TLS polη (6). La polymérase δ prend ensuite le relais pour le rétablissement de la fourche de réPLICATION (figure 6). Cette transition pourrait dépendre d'une interaction avec PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen).

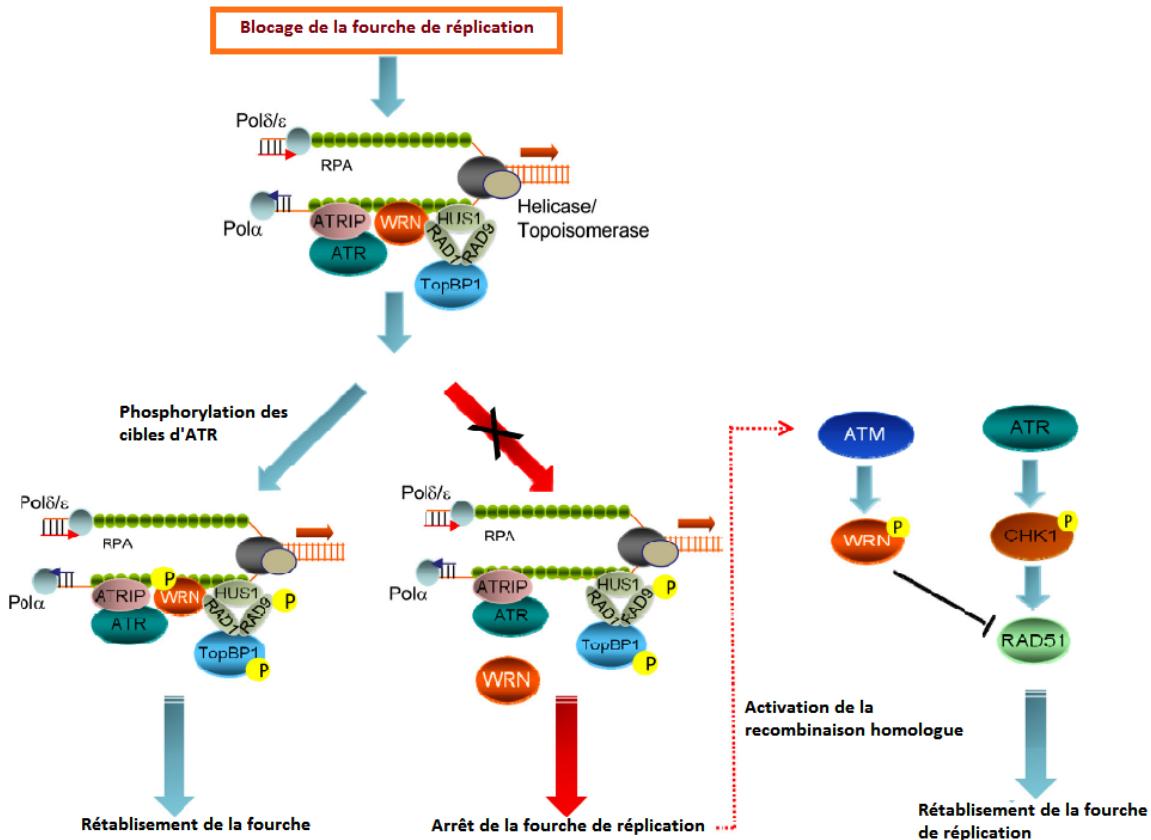


Figure 5: Rôle de la modulation de la fonction de WRN dans le rétablissement de la fourche de réplication sous le contrôle des protéines ATR ou ATM (8).

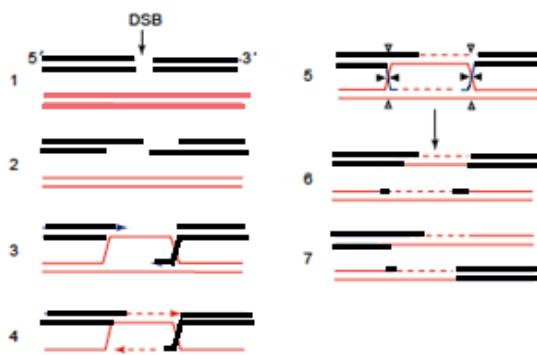


Figure 6: Modèle de réparation de cassures de double brin d'ADN (DSBs)

Dans ce modèle proposé par Szostak et Al, (1) l'extrémité 5' vers 3' du DSB est digérée par une nucléase. (2) Il en résulte une extrémité 3' qui surplombe une région homologue d'une molécule d'ADN (3) générant à l'extrémité une amorce qui s'allonge par une ADN polymérase (4). Le brin déplacé par la propagation de la boucle D (D-loop) peut s'apparier avec d'autres extrémités de la cassure (3), formant une amorce pour la réparation (4) qui fera exclusivement la synthèse du brin guide (5, 6). Deux jonctions sont formées (7).

Les instabilités génomiques et les cancers qui en résultent.

Les risques d'instabilité génomique liés aux infections virales: d'après les estimations, 15-20% des cancers chez l'homme sont causés par des infections virales (12). Étant des parasites intracellulaires, les virus codent des protéines qui reprogramment les voies de signalisation de la cellule hôte. Ils contrôlent ainsi la prolifération, la différenciation cellulaire, la mort cellulaire, l'intégrité du génome et le fonctionnement du système immunitaire (12).

- **La DNase du virus d'Epstein-Barr induit une instabilité génomique dans les cellules épithéliales humaines.**

La DNase du virus d'Epstein-Barr est une nucléase alcaline ayant un rôle très important dans le cycle viral. Cette nucléase semble être en étroite relation avec la survenue de cancer chez des sujets infectés (13). Outre les lésions de l'ADN induites dans les cellules épithéliales infectées, la DNase accroît l'incidence de la formation de micronoyaux. De plus, son expression réprime les mécanismes de réparation, augmentant ainsi la fréquence des mutations dans les cellules épithéliales. La DNase de ce virus cause aussi des aberrations chromosomiques et accroît les MSI (Microsatellite Instability). Ce virus augmente ainsi la survenue de cancers des cellules épithéliales chez l'homme (13).

- **RéPLICATION DU VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN ET INSTABILITÉ GÉNOMIQUE.**

Le développement du cancer du col de l'utérus causé par papillomavirus est un processus dans lequel l'ADN viral est intégré au hasard dans le génome de la cellule hôte. Des études ont montré que les protéines réplicatives E1 et E2 du virus sont capables d'induire une amplification du locus où l'origine de réPLICATION du virus a été intégrée (14, 15). L'ADN viral se réplique malgré les mécanismes de contrôle de la cellule qui tentent d'arrêter la réPLICATION. Cela pourrait être dû à l'existence de complexes pré-RC différents de ceux de la cellule hôte ou bien aux caractéristiques de l'hélicase E1 qui seraient différentes de celles de Mcm2-7 (14, 15). La réPLICATION de l'ADN viral est initiée plusieurs fois car elle dépend non pas du complexe pré-RC de la cellule hôte, mais des protéines virales E1 et E2 qui favorisent une réINITIATION (15). Les interactions entre la réPLICATION virale et les complexes de réPARATION de l'ADN de l'hôte seraient responsables des modifications du génome à la base du cancer. L'oncoprotéine E7 de HPV-16 (Human Papillomavirus-16) induit des erreurs de duplication du centrosome (15). Ces observations suggèrent que le virus du papillome humain est capable d'induire des mutations conduisant à des cellules cancéreuses.

- **Instabilité des CFS (Chromosome Fragile Sites) et Cancérogenèse**

Des réarrangements géniques et des délétions sur les CFS sont observés dans des tumeurs humaines. Ces observations suggèrent une implication des instabilités des CFS dans la Cancérogenèse. Ceci serait dû à la formation de structures secondaires stables des CFS et à un arrêt de progression des fourches de réPLICATION qui aboutissent à des cassures d'ADN. De récentes études sur le fragment FRA16B confirment la formation de structures secondaires et le blocage de l'ADN polymérase in vitro, ainsi qu'une augmentation d'instabilités dans les cellules humaines (9).

- **Dysfonctionnement de la télomérase.**

Les extrémités des chromosomes sont composées de courtes séquences répétées associées à des protéines. Ces extrémités appelées télomères protègent les chromosomes contre les cassures et la fusion de chromatide. Lorsque le télomère est mal repliqué, des instabilités dues à la fusion des chromosomes peuvent apparaître. Ces pertes de télomère sont observées dans des cancers et des cas de vieillissement prématûr où la télomérase (protéine qui maintient les télomères au cours de la réPLICATION) est déficiente. Toutefois, on observe des raccourcissements spontanés de télomère malgré une expression normale de la télomérase. Cette anomalie serait la conséquence de la combinaison d'un stress induit par un oncogène et une déficience des mécanismes de réparation des cassures double brin des régions télomériques (18).

Conclusion

Chez les êtres vivants, la réPLICATION de l'ADN est un processus biologique dont la fidélité est très importante pour le maintien de l'intégrité du génome. Pour cela, des mécanismes hautement régulés tels que l'initiation, la synthèse de l'ADN et la réparation des lésions sont coordonnés pour fournir en fin de la phase S deux molécules d'ADN identiques à celle de départ. Lorsque ces conditions ne sont pas réunies, des instabilités génomiques apparaissent spontanément provoquant des maladies et des cancers. Une meilleure compréhension de ces mécanismes s'impose donc dans la prise en charge des patients et l'élaboration de nouvelles thérapies.

Références

1. Nigel O, Ann R. DNA repair. WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, 1-12, 2006.
2. Early A, Drury LS, Diffey JF. Mechanisms involved in regulating DNA replication origins during the cell cycle and in response to DNA damage. The Royal Society, 359: 31–38, 2003.
3. Labib K. How do Cdc7 and cyclin-dependent kinases trigger the initiation of chromosome replication in eukaryotic cell? Genes & development, 24:1208-19, 2010.
4. Makarova KS, Koonin EV and Kelman Z. The CMG (CDC45/RecJ, MCM, GINS) complex is a conserved component of the DNA replication system in all archaea and eukaryotes. Biol Direct, 7: 1-10, 2012.
5. Prasantha SG, Méndez JL .M. Dynamics of pre-replication complex proteins during the cell division cycle. The Royal Society, 359: 7–16, 2003.
6. Garcia-Diaz M and Bebenek K Multiple functions of DNA polymerases. Rev Plant Sci, 26: 105–122, 2007.
7. Poveda AM, Le Clech M, Pasero P. Transcription and replication: Breaking the rules of the road causes genomic instability. Transcription, Landes bioscience,1: 99-102, 2010.
8. Pichiorri. P, Ammazzalorso F. The Werner Syndrome protein: linking the replication ch 1:99-102; eckpoint response to genome stability. Aging, 3: 311-18, 2011.
9. Dillon LW, Burrow AB, Wang Y. DNA Instability at Chromosomal Fragile Sites in Cancer .Current Genomics, 11:326-337, 2010.
10. Jun Y, Zheng-Ping X. ATM and ATR: Sensing DNA damage. World Journal of Gastroenterology, 10:155-160, 2004.
11. Hass CS, Lam K, Wold MS. Repair-specific functions of Replication Protein A. JBC, 287: 3908-3918, 2011.

12. McLaughlin-Drubin ME and Munger K. Viruses Associated with Human Cancer. *Biochim Biophys Acta*, 1782: 127–150, 2008.
13. Chung-Chun W. Epstein–Barr Virus DNase (BGLF5) induces genomic instability in human epithelial cells. *Nucleic Acids Res*, 38: 1932–49, 2010.
14. Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawam H, Nguyen CL, Owens M, Grace M, Huh KW. Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis. *Journal of virology*, 78: 11451–60, 2004.
15. Kadaja M, Silla T, Ustav E, Ustav M. Papillomavirus DNA replication- From initiation to genomic instability. *Virology*, 384: 360–68, 2009.
16. Flores-Rozas H and Kolodner R. Links between replication, recombination and genome instability in eukaryotes. *TIBS Review*, 25, 196-200, 2000.
17. Sutton MD and Walker GC. Managing DNA polymerases: Coordinating DNA replication, DNA repair, and DNA recombination. *Proc Natl Acad Sci*, 98: 8342–49, 2001.
18. Murnane JP. Telomere dysfunction and chromosome instability. *Mutation Research*, 703: 28-36, 2011.
19. Iourov IY, Vorsanova SG and Yurov YB. Somatic Genome Variations in Health and Disease .*Current Genomics*, 11: 387-96, 2010.

L'effet de la méthylation de l'ADN sur l'expression des gènes.

Adanho Corynne

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

L'expression des gènes influe fortement sur le phénotype d'une cellule et de façon plus étendue sur le phénotype d'un individu. L'état de la chromatine, qu'elle soit décondensée ou condensée, régule fortement l'expression des gènes. La chromatine quant à elle subit l'influence des histones qui lorsqu'elles sont désacétylées entraînent une fermeture de la chromatine et quand elles sont acétylées une ouverture de la chromatine permettant alors la transcription. Il existe aussi des méthylations sur les îlots CpG des promoteurs des gènes ou des méthylations sur des lysines spécifiques des histones qui provoquent une répression des gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire. Tous ces mécanismes de contrôle de l'expression des gènes sont classés dans le domaine de l'épigénétique. La connaissance de ces mécanismes, est nécessaire pour le traitement des cancers d'origine épigénétique.

Mots clés : Epigénétique, méthylation, acétylation, expression des gènes, cancer, îlots CpG.

Introduction

L'épigénétique désigne « les processus d'hérédité nucléaire qui ne sont pas fondés sur des différences dans la séquence d'ADN » (1), mais sur la modification des protéines associées à l'ADN. Selon Conrad Waddington (1942), c'est la manière dont le génotype s'exprime en phénotype (2) pendant le développement. Arthur Riggs (1975) définit plutôt l'épigénétique comme l'étude de la mitose et ou des brassages méiotiques dont l'on peut hériter et qui ne peuvent être expliqués par des changements dans la séquence d'ADN. Quelle que soit la définition que l'un ou l'autre donne à l'épigénétique, une notion de modification transparaît : en effet, elle regroupe plusieurs variations qui affectent les protéines associées à l'ADN dont les histones. La conformation de l'ADN dépend du degré de méthylation ou d'acétylation des histones. Ces changements sont à l'origine de la régulation de l'expression de nombreux gènes et dépendent fortement de la conformation de la chromatine, c'est à dire de son degré de condensation.

La méthylation

On parle de méthylation chez les mammifères lorsqu'une cytosine est retrouvée méthylée en 5' des guanosines dans un nucléoside CpG (3). Ceux-ci sont généralement présents dans la région régulatrice (promoteur) de nombreux gènes. Il s'agit d'un processus qui intervient lors de la répression et ou de l'inactivation des gènes. La méthylation des régions promotrices de l'ADN au niveau des séquences CpG est toujours corrélées avec l'inhibition de la transcription (4) ; ce qui influence fortement l'expression des gènes. Le mécanisme par lequel les promoteurs sont inactivés implique une forte remodulation de la chromatine au niveau du promoteur. La méthylation de l'ADN réduit la capacité des protéines liées à l'ADN à présenter une affinité spécifique avec des facteurs de transcription. Elle est aussi capable de recruter des séquences d'ADN spécifiques aux protéines liées comme les MDBP ou « Methylated DNA Binding Proteins » (5, 6) qui peuvent intervenir comme des répresseurs de la transcription. Toutefois, un processus plus général recrute des protéines MeCP ou « Methyl

CpG binding Proteins » liées à des séquences CpG méthylées non spécifiques, ce qui exclut les facteurs de transcription se fixant sur des promoteurs méthylés (7).

Méthylation et expression des gènes

Le terme « méthylation de l'ADN » désigne l'ajout, par des ADN Méthyl-Transférases (DNMT), de groupements méthyle sur des cytosines précédant un résidu Guanine localisé au niveau des îlots CpG (8). La méthylation de l'ADN permet une addition d'information épigénétique sur une séquence d'ADN donnée permettant la régulation de l'expression des gènes ciblés. Ce phénomène épigénétique intervient ainsi dans la régulation de la croissance, du développement embryonnaire et dans la répression des gènes (9). La présence d'un groupement méthyle en un site précis empêche l'interaction entre le gène et les facteurs de transcription. Additionnellement la méthylation de la région régulatrice d'un gène attire des protéines ayant un rôle répresseur qui reconnaissent spécifiquement l'ADN méthylé (10). Lorsqu'elles interagissent avec le gène, ces protéines en recrutent d'autres qui bloquent la capacité d'expression du gène en conférant à la chromatine une structure répressive (10). Pour mieux comprendre la fonction de la méthylation de l'ADN, et surtout son impact sur l'expression des gènes, la machinerie de la méthylation a été étudiée. Les différents modèles de méthylation de l'ADN sont copiés par une machinerie enzymatique indépendante des DNMTs (11).

Les différentes sortes de méthyltransférase

Riggs et al. (1975) furent les premiers à suggérer que la méthylation de l'ADN pouvait être transmise et ont proposé un mécanisme pour la régulation des gènes (12). En ce sens, ils prédisent l'existence d'une méthyltransférase dont l'activité a été révélée par des expériences de clonage de mammifères. Celles-ci ont démontré l'identité de la méthylation à travers l'héritage génétique (13, 14), et l'existence des protéines DNMTs (15). Il a été découvert trois familles de DNMT. Les DNMT 1 maintiennent des profils de méthylation au cours des divisions cellulaires. Les DNMT 2, de fonction inconnue, sont identifiées par homologie de séquence avec DNMT 1. Enfin, les DNMT-3a et -3b jouent un rôle important dans le développement embryonnaire normal (16) et dans la méthylation de novo. Le DNMT-3a intervient dans la méthylation des séquences régulatrices de l'expression des gènes; et le DNMT-3b intervient dans la méthylation des séquences « satellites » des centromères. On a établi il y a plus d'une trentaine d'années que les cellules cancéreuses présentaient des méthylations au niveau de leur séquence d'ADN, spécifiquement au niveau des régions régulatrices des gènes (16).

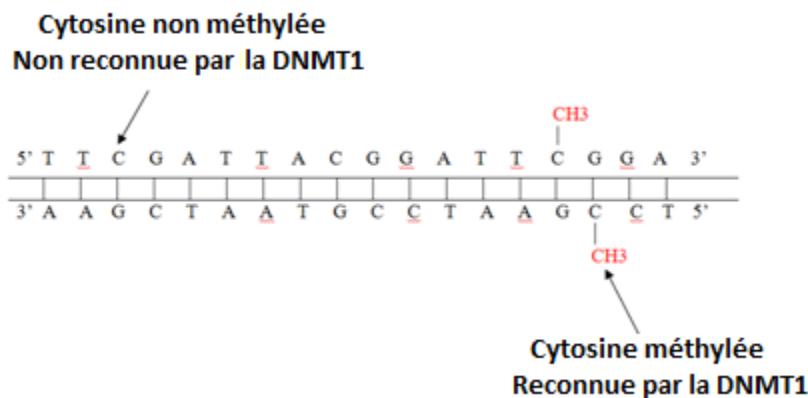


Figure 1: schéma représentant la méthylation de l'ADN

Méthylation et cancer

La tumorigenèse est un processus multi étape produit par l'accumulation des altérations génétiques et ou épigénétiques qui transforment une cellule normale en une cellule maligne. La méthylation de l'ADN joue un rôle important dans la transformation de la cellule saine en cellule tumorale (17). La découverte de nombreux promoteurs hypermethylés des gènes suppresseurs de tumeurs, et une meilleure compréhension du mécanisme de répression des gènes, a mis en évidence l'effet de la méthylation de l'ADN comme l'un des mécanismes de l'inactivation des protéines suppresseurs de tumeur dans le cancer (18). Les cancers sont en général constitués de plusieurs cellules qui ont des aberrations dans l'expression et dans la structure des protéines qui régulent la prolifération, la migration et la mort cellulaire (19). Les études menées sur la méthylation de l'ADN chez les mammifères ont révélé que la méthylation d'une région promotrice coïncide en général avec la répression du gène.

Méthylation de l'ADN et la répression des gènes.

Dans une cellule de mammifère normale, la méthylation de l'ADN intervient dans la régulation de l'expression des gènes. L'hyperméthylation des promoteurs joue toutefois un rôle majeur dans le cancer à travers la répression des régulateurs de croissance de la transcription (20). D'autres modifications telles que la désacétylation des histones, de concert avec la méthylation de l'ADN affectent localement la structure de la chromatine, régulant ainsi la transcription des gènes. Les inhibiteurs de la méthylation de l'ADN à savoir l'Azacitidine et la Decitabine peuvent induire une restauration de l'expression des gènes réprimés, causant ainsi l'arrêt de la prolifération et l'apoptose des cellules cancéreuses. Les inhibiteurs de la méthylation en synergie avec les inhibiteurs de la désacétylation ont prouvé leur activité clinique lors du traitement de certains cancers où les gènes sont hypermethylés (20). On a pu ainsi analyser la méthylation de l'ADN dans le cancer et son effet sur l'expression des gènes pouvant justifier le recours aux agents déméthylants lors du traitement du cancer (20). De la méthylation de l'ADN et de la désacétylation de l'histone qui réprime tous les deux l'expression des gènes lors du cancer, la méthylation apparaît comme étant le phénomène dominant.

Désacétylation des histones

Le contrôle de l'activité génique par la méthylation est insuffisant pour réprimer la transcription. La structure locale de la chromatine contribue aussi à la détermination des gènes qui doivent être transcrits ou réprimés. Par exemple, les DNMTs peuvent réguler la répression des gènes accompagnant la méthylation des promoteurs d'ADN par le recrutement des Histone Désacétylases (HDAC) et autres protéines chromatiniennes liées aux promoteurs et qui maintiennent la désacétylation des histones (21, 22). Les traitements inhibant la désacétylation des histones par des inhibiteurs de HDAC (trichostatine A) peuvent augmenter l'expression des gènes sans promoteurs méthylés mais pas celle des gènes hypermethylés. Cependant, si certaines déméthylations sont causées par de faibles doses de médicaments comme la 5-azacytidine, les inhibiteurs des HDACs agissent en synergie avec les inhibiteurs de la méthylation et restaurent les gènes réprimés (21).

Conclusion

Les avancées de la recherche dans le domaine de l'épigénétique ont amélioré notre compréhension des mécanismes par lesquels l'ADN méthylé est détecté et décodé par les protéines méthyl-CpG. De récentes études ont illustré le rôle de la méthylation de l'ADN dans le contrôle de l'expression des gènes, très fortement lié aux modifications de l'histone et au remodelage chromatiniens. Ces derniers se manifestent lors du développement embryonnaire, dans le maintien de la structure inactive du chromosome X chez la femme,

dans l'empreinte génomique et la stabilité chromosomique. Dans cette optique, un nombre croissant de maladies humaines a été associé à une méthylation aberrante de l'ADN. L'étude de la méthylation de l'ADN ainsi que de la désacétylation des histones dans les cellules cancéreuses a fourni de nouvelles compréhensions dans le rôle joué par les modifications épigénétiques dans l'homéostasie cellulaire.

Références

1. Holliday R. Epigenetics: an overview; *Dev Genet*, 15: 453-7, 1994.
2. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447: 396-8, 2007.
3. Jones A. Baylin S. The fundamental role of epigenetic event in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 3: 415-428, 2002.
4. Bird A. The essentials of DNA methylation. *Cell*, 70:5-8, 1992.
5. Zhang XY, Ehrlich KC, Wang RY, Ehrlich M. Effect of site-specific DNA methylation and mutagenesis on recognition by methylated DNA-binding protein from human placenta; *Nucleic Acids Res*, 14:8387-97, 1985.
6. Bird A and Wolve A. Méthylation-induced repression-belts, braces and chromatin. *Cell*, 99:451-4, 1999.
7. Johnson JA. Chromatin modification and disease. *J Med Genet*, 37:905–15, 2000.
8. Michaël Weber. Profil de méthylation de l'ADN dans les cellules normales et cancéreuses. *Medecine/sciences*, 24 : 731-3, 2008.
9. Jones PA, and Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Epigenetics Science*, 293: 1068-70, 2001.
10. Tate PH, Bird AP. Effects of DNA methylation on DNA-binding proteins and gene expression. *Curr Opin Genet Dev*, 3:226–231, 1993.
11. Szlyf M. Epigenetics, DNA Méthylation, and Chromatin Modifying Drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 49: 243–63, 2009.
12. Holliday R, Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science*, 187: 226-32, 1975.
13. Wigler M, Levy D, Perucho M. The somatic replication of DNA methylation. *Cell*, 24: 33–40, 1981.
14. Stein R, Gruenbaum Y, Pollack Y, Razin A, Cedar H. Clonal inheritance of the pattern of DNA methylation in mouse cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 61–65, 1982.
15. Bestor TH, Laudano AP, Mattaliano R, Ingram VM. Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases. *J. Mol. Biol.*, 203: 971–83, 1988.
16. Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA Methyltransferase Dnmt3a and Dnmt3b are essential for De Novo Méthylation and Mammalian Development *Cell*, 99: 247–57, 1999.
17. Scarano MI, Strazzullo M, Matarazzo ME, D'Esposito M. DNA methylation 40 years later: Its role in human health and disease. *Journal of Cellular Physiology*, 204: 21–35, 2005.
18. Jones PA, Laird PW. Cancer-epigenetics comes of age, *Nature Genetics*, 21:163-167, 1999.
19. Dokmanovic M, Clarke C, Marks PA. Histone Deacetylase Inhibitors: Overview and Perspectives; *Mol Cancer Res*, 5:981, 2007

20. Weber MW, Hellmann I, Stadler M B, Ramos L, Svante P, Rebhan M , Dirk S. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nature Genetics*, 39: 457–66, 2007.
21. Herman JG, and Baylin SB. Gene Silencing in Cancer in Association with Promoter Hypermethylation. *M.D. N Engl J Med*, 349:2042-54, 2003.
22. Baylin S B. DNA méthylation and gene silencing in cancer. *Nature Clinical Practice Oncology*, 2:4-11, 2005.

Rôle des inhibiteurs d'histone désacétylase dans le traitement des cancers de l'ovaire.

Sossou-Tchatcha Sylvain, Capo-chichi D. Callinice

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

La désacétylation des histones est l'un des mécanismes épigénétiques à la base de l'initiation et la progression des tumeurs. Elle altère l'expression des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, la différentiation et l'apoptose. La désacétylation des histones est assurée par les enzymes histones désacétylases (HDAC) dont les activités peuvent être annihilées par des inhibiteurs de HDAC (HDACI). Un déséquilibre entre les niveaux d'acétylation et de désacétylation de la chromatine joue un rôle crucial dans l'acquisition d'un phénotype tumoral. L'inhibition de la désacétylation des histones par des HDACIs permet une restauration de l'expression des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, dans la différentiation cellulaire et l'apoptose. Des essais *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'efficacité des traitements à base de HDACI sur les cancers dont le cancer ovarien.

Mots clés: histones désacétylases, inhibiteurs des histones désacétylases, prolifération, apoptose, cancer de l'ovaire.

Introduction

Le cancer est l'un des problèmes de santé publique majeur dans le monde. Les altérations génétiques qui peuvent en être la cause ont fait l'objet de nombreuses études (1). Au cours de ces dernières années, des études ont prouvé que l'initiation et la progression du cancer peuvent également dépendre des modifications de l'expression des gènes qui ne s'accompagnent pas de changements dans les séquences nucléotidiques et qui sont qualifiées de phénomènes épigénétiques (2,3). Les modifications épigénétiques de l'expression des gènes peuvent être associées soit à une désacétylation d'histone par les enzymes histones désacétylases (HDACs) ; ou à une méthylation de l'ADN par les ADN méthyltransférases (DNMT1, DMNT2, DNMT3) au niveau des résidus cytosines des îlots CpG dans des séquences promotrices des gènes (3). La conformation des nucléosomes est régulée par l'activité antagoniste de l'Histone Acétyl-Transférase (HAT) et de l'Histone désacétylase (HDAC). Les nucléosomes ayant des histones acétylées adoptent avec l'ADN une conformation permissive à la transcription, tandis que les nucléosomes ayant des histones désacétylées adoptent avec l'ADN une conformation restrictive à la transcription (3, 4, 5). Les gènes dont la séquence promotrice se retrouve au niveau des nucléosomes ayant des histones désacétylées sont réprimés. Ainsi donc, la désacétylation des histones au niveau des promoteurs des gènes impliqués dans la différentiation et l'organisation des cellules de l'épithélium de l'ovaire, a été démontrée dans les cancers ovariens (3, 4, 5). Le cancer ovarien est souvent fatal car les stades primaires de cette maladie sont asymptomatiques et difficiles à détecter ; le diagnostic se fait à un stade évolué de la maladie (5). Les traitements efficaces des cancers ovariens sont limités et sont souvent de courte durée dans 70% des cas (6, 7). Des essais *in vitro* ainsi que des essais cliniques ont démontré l'efficacité des

inhibiteurs des histones désacétylases (HDACIs) dans les traitements des cancers ovariens initiés à la suite d'une désacétylation des histones (3-6).

- L'acétylation des histones

C'est une modification post-traductionnelle importante dans le remodelage de la chromatine et se traduit par l'acétylation de l'extrémité N-terminale de l'histone. Ce mécanisme contribue au « code d'histone » déterminant l'activité de gènes cibles (7-9). L'acétylation des histones est prise en charge par les HATs qui catalysent le transfert d'un groupe acétyle de l'acétyl-CoA vers un groupement amine (NH_3^+) d'une lysine située dans la queue N-terminale de l'histone. Chez la plupart des espèces, les principaux sites d'acétylation sont les lysines 9, 14, 18 et 23 de l'histone H3 et les lysines 5, 8, 12 et 16 de l'histone H4 (3,5).

- La désacétylation des histones

C'est une modification des histones assurée par les HDACs qui sont des enzymes dont le rôle est de désacétyler les lysines des histones. Une augmentation anormale de l'activité des HDACs est associée au développement de certains cancers humains dont le cancer ovarien (4, 5, 8-11). Les HDAC de classe I, II et IV ont pour substrats communs les histones H2A, H2B, H3, H4. Les HDACs de classe I, sont des enzymes exprimés de façon ubiquitaire, sont strictement localisés dans le noyau et agissent essentiellement comme des corépresseurs transcriptionnels. Les HDACs de classe II, se déplacent entre le noyau et le cytoplasme, laissant supposer des fonctions dynamiques extranucléaires. L'activité enzymatique du site actif des HDACs de classes I et II, est dépendante de l'ion Zn^{2+} (6-12). La désacétylation des histones permet l'adoption d'une structure nucléosomique permissive à la transcription des gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire, ainsi que des gènes impliqués dans la différenciation et dans l'apoptose des cellules cancéreuses *in vivo* et *in vitro* (9-18).

- Les inhibiteurs des HDACs (HDACIs)

Ils empêchent la désacétylation des histones en bloquant les sites enzymatiques des HDACs (9-18). Parmi les HCACIs on distingue:

- les acides valproïques (VPA, valproic acid),
- les acides gras à courte chaîne (butyrate de sodium),
- les acides hydroxamiques: SAHA (Suberoylanilide hydroxamic acid), trichostatine A (TSA),
- les tétrapeptides cycliques (trapoxine).

- Mode d'action des HDACIs

* Les VPA, butyrate et trapoxine, agissent sur les HDACs de la classe I (HDAC1, HDAC 2, HDAC 3, HDAC 8), et de la classe IIa (HDAC 4, HDAC 5, HDAC 7, HDAC 9).

* Les SAHA et TSA, agissent sur les HDACs de classe I, IIa, IIb (HDAC 6 et HDAC 10) et les HDAC de classe IV (HDAC 11). SAHA se lie à la cavité de l'enzyme HDAC grâce à une liaison entre l'acide hydroxamique de SAHA et l'atome zinc de HDAC (12). Les études *in vitro* portées sur les effets des HDACIs au niveau de la prolifération des cellules du carcinome ovarien ont montré que, les HDACIs en inhibant la désacétylation des histones, inhibent aussi la prolifération tout en induisant la différenciation dans de nombreux types cellulaires transformés (3-5,15-20). La figure 1 montre les voies métaboliques inhibées par l'utilisation des HDACIs. Chaque type de HDACIs est fortement effectif dans la suppression de la

prolifération des cellules du cancer ovarien (21). En présence de HDACI, il y a une forte induction des protéines p21^{WAF1} et p27^{KIP1} qui inhibent respectivement les complexes Cdk2/cycline E et Cdk4/cycline D et provoquent l'arrêt du cycle des cellules cancéreuses à la phase G0/G1 (22-24). En présence de HDACI l'activité anti-apoptotique de bcl2 est inhibée permettant à la caspase-8 d'activer la caspase-3 pour induire l'apoptose. En présence de HDACI on observe aussi une inhibition de la transcription des oncogènes et une expression des gènes impliqués dans la différentiation cellulaire tels que, E-cadherin, GATA-4, GATA6, Dab2 qui sont réprimés dans les cancers ovariens (3, 4, 5). Des études précliniques et des essais cliniques *in vivo* ont agréé l'effet inhibiteur des HDACIs sur les cellules du cancer ovarien (25). Chez les patients traités par SAHA et VPA (non toxiques *in vivo*) on a observé une augmentation du taux d'apoptose des cellules cancéreuses ovariennes (26).

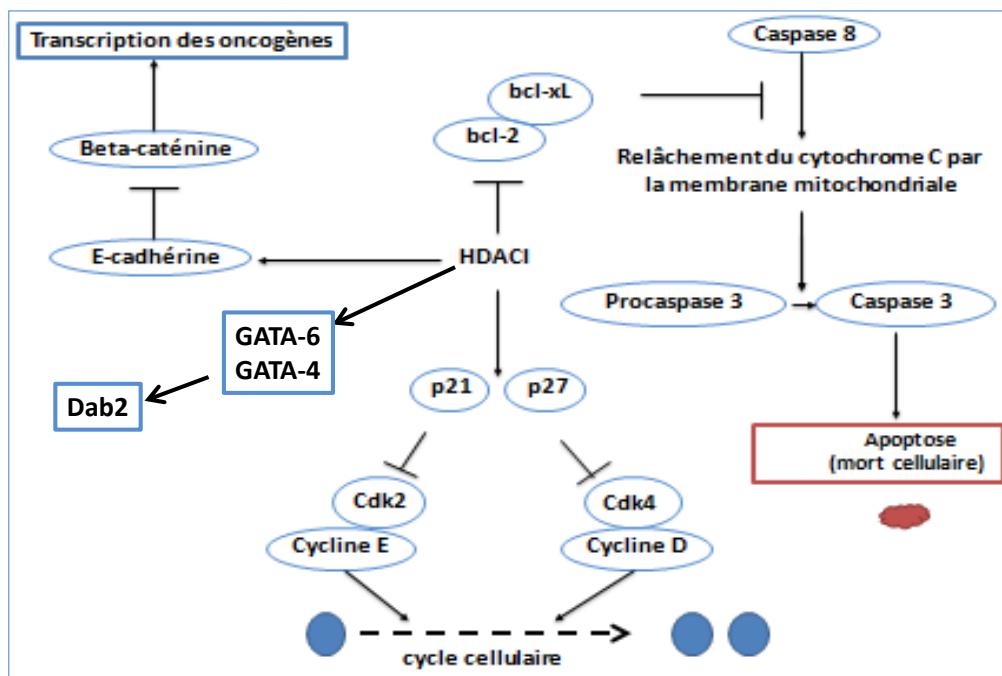


Figure 1: Mécanisme d'action des HDACIs dans les cancers ovariens.

Conclusion

Les HDACIs ont un effet anticancéreux prouvé dans de nombreux cancers dont le cancer ovarien. Leurs actions sont accompagnées de la désacétylation des histones et de l'induction des protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, dans la différentiation cellulaire et dans mort cellulaire. L'utilisation des HDACIs pour le traitement des cancers ovariens initiés à la suite d'une modification épigénétique, constitue une thérapie efficace dans les phases primaires de la maladie pour restaurer l'expression des gènes des cellules transformées, ou pour les éliminer.

Références

- Villar-Garea A, Esterller M. Histone deacetylase inhibitors: understanding a new wave of anticancer agents. Int. J. Cancer, 112: 171-178, 2004.

2. Lane AA, Bruce A. Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. American Society of Clinical Oncology, 27: 5459-68, 2010.
3. Caslini C, Capo-Chichi CD, Roland IH, Nicolas E, Yeung AT, Xu XX. Histone modifications silence the GATA transcription factor genes in ovarian cancer. *Oncogene*, 25: 5446-61, 2006.
4. Mottet D and Castronovo V. Histone deacetylases: a new class of efficient anti-tumor drugs. *Médecine/sciences*, 24: 742-6, 2008.
5. Cai QK, Caslini C, Capo-chichi CD, Slater C, Smith ER, Wu H, Klein-Szanto AJ, Godwin AK, Xu XX. Loss of GATA4 and GATA6 Expression Specifies Ovarian Cancer Histological Subtypes and Precedes Neoplastic Transformation of Ovarian Surface Epithelia. *PLoS ONE*, 4: e 6454, 2009.
6. Walkinshaw DR and Yang XJ. Histone desacetylase inhibitors as novel anticancer therapeutics. *Current Oncology*, 15: 237-43, 2008.
7. Pontiki E and Hadjipavlou-Litina D. Histone desacetylase inhibitors (HDACIs). Structure-activity relationships: history and new QSAR perspectives. *Medicinal Research Reviews*, 32:1-165, 2012.
8. Donovan EA, Kim YS, Trepel JB, Kummar S. The use of deacetylase inhibitors for the treatment of solid tumors. *Current Issues*, 12 -16, 2007.
9. Bug G, Ottoman OG. The DAC system and associations with acute leukemia and syndromes. *Invest new drug*, 28: S36-49, 2010.
10. de Schutter H, Sandra Nuyts S. Radiosensitizing potential of Epigenetic Anticancer Drugs. *Anti-cancer in Medicinal chemistry*, 9: 99-108, 2009.
11. Bolden JE, Peart MJ, Johnston RW. Anticancer activities of histone Deacetylase inhibitors. *Nature reviews Drug discovery*, 5:769-84, 2006.
12. Kim HJ, Bae SC. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am. J. Transl. Res*, 3: 166-179, 2011.
13. Noureen N, Rashid H., kalsoom S. Identification of type-specific anticancer histone deacetylase inhibitors: road to success. *Cancer Chemother Pharmacol*, 66: 625-33, 2010.
14. Takai N, Narahara H. Histone deacetylase inhibitor therapy in epithelial ovarian cancer. *Journal of Oncology*, 2010: 1-6, 2010.
15. Takai N, Kawamata N, Gui D, Said JW, Miyakawa I, Koeffler PH. Human ovarian carcinoma cells: Histone deacetylase inhibitors exhibit antiproliferative activity and potently induce apoptosis. *Cancer cytopathology*, 101: 2760-70, 2004.
16. Tan J, Cang S, Ma Y, Petrillo RL, Liu D. Novel histone deacetylase inhibitors in clinical trials as anti-cancer agents. *Journal of hematology and Oncology*, 3: 1-13, 2010.
17. Dejligbjerg M, Grauslund M, Litman T et al. Differential effects of class I Isoform histone deacetylase depletion and enzymatic inhibition by belinostat or valproic acid in Hela cells. *Molecular Cancer*, 7: 1-12, 2008.
18. Federico M, Bagella L. Histone Deacetylase Inhibitors in the Treatment of Hematological Malignancies and Solid Tumors. *J Biomed biotechnol*, 2011: 1-12, 2011.
19. Acharya MR, Sparreboom A *et al*. Rational Development of Histone Deacetylase Inhibitors as Anti-cancer Agents. *Molecular pharmacology fast forward*, 1-49, 2005.
20. H.Mils Prince.MD, Peter. Histone deacetylase inhibitor in the treatment of multiple myeloma. *Clinical advances in Hematology & oncology*, 6: 1-8, 2008.
21. Chen S, Sang N. Histone Deacetylase Inhibitor Therapy in Epithelial Ovarian Cancer. *J of Biomed and Biotechnol*, 2011: 1-14, 2011.

22. Christiansen AJ, West A, Banks KM, Haynes NM, Teng MW, Smyth MJ, Johnstone RW. Eradication of solid tumors using histone deacetylase inhibitors combined with immune-stimulating antibodies. Proceeding of the National Academy of Sciences, 108:4141-46, 2011.
23. Pécuchet N, Cluzeau T, Thibault C, Mounier N, Vignot S et al. Inhibiteurs des histones désacétylases: la régulation épigénétique sort de l'ombre. Bulletin du cancer, 97:17-35, 2010.
24. Wong ST, Stein MN. HDAC Inhibitor Research: Still in its infancy. Oncology, 24:188-9, 2010.
25. Kim TY, Yung, Bang YJ, Robertson K. Histone deacetylase inhibitors for cancer Therapy. Epigenetics, 1: 14-23, 2006.
26. Yong WP, Coh BC, Soo RA et al. Phase I and pharmacodynamic study of an orally administered novel inhibitor of histone deacetylases, SB939, in patients with refractory solid malignancies. Oxford Journals Medicine Annals of oncology Advance Access, 22: 2516-22, 2011.

Remerciement à Hounkpe Wilfried et Yahouédéhou S. C. Modeste A. pour leur participation dans la mise en forme des textes.

Les mécanismes de régulation du cycle cellulaire.

Yahouédéhou S. C. Modeste A.

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

La régulation de la progression du cycle cellulaire est assurée par les complexes formés par les CDKs et cycline A, cycline E ou cycline D. L'expression de ces derniers dans la cellule permet la transition entre la phase G1 et la phase S. En cas de dommage à l'ADN, le complexe cycline A ou cycline E/CDK2 est inhibé par les inhibiteurs des CDKs (CDKIs); ce qui conduit à l'arrêt du cycle cellulaire. Il en est de même pour cycline D/CDK4. Il a été remarqué chez la souris, que l'inhibition de CDK2 par p27^{Kip1} n'a pas d'effet sur la prolifération cellulaire. De même, son inhibition par l'expression de CDK DN (CDK à Dominance Négative) ou d'oligonucléotide anti-sens n'empêche pas la prolifération des cellules. Cela s'explique par l'effet compensatoire de l'expression de cycline D/CDK4 ou CDK6 dans la cellule. De plus, chez les souris déficientes en CDK2, p21^{Cip1} ou p27^{Kip1} peut induire l'arrêt du cycle cellulaire; ce qui fait qu'une déficience en p21^{Cip1} ou p27^{Kip1} entraîne la prolifération des cellules.

Mots clés: CDK2, cellule, inhibition, prolifération, CDKIs

Introduction

Des études récentes ont montré que les complexes cycline/kinase dépendante des cyclines (CDKs) ont un rôle important dans la régulation de la progression du cycle cellulaire (Figure 1); on distingue les CDK1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7; (1-5). CDK2 quant à elle fait partie de la famille des kinases de type serine/thréonine (5). Dans les cellules des mammifères, le complexe cycline E/CDK2 est activé de façon catalytique en fin de phase G1 et est impliqué dans la progression G1/S (2). L'activation de ce dernier nécessite la fixation de CDK2 aux cyclines. En plus de sa fixation avec les cyclines, des évènements de phosphorylation et de déphosphorylation régulent son activité (5). Les complexes cycline/CDKs sont en retour régulés par les inhibiteurs de CDK (CDKIs). Ces derniers, inhibent généralement la progression du cycle cellulaire. La synthèse contrôlée et la dégradation de p27^{Kip1}, inhibiteur du cycle cellulaire; sont des évènements clés dans la régulation de la progression du cycle cellulaire (1). Il est généralement admis que p27^{Kip1} et p21^{Cip1} bloquent le cycle cellulaire par inhibition de l'activité kinase du complexe cycline E/CDK2 ou du complexe cycline A/CDK2. Cependant, une étude a montré que CDK2 n'est pas indispensable pour l'activité inhibitrice de p27^{Kip1} et p21^{Cip1} durant la phase G1 ainsi que pour leur propriété supresseur de tumeur. Bien que le mécanisme par lequel p27^{Kip1} et p21^{Cip1} bloquent la progression du cycle cellulaire reste à être défini, on suggère que: soit CDK2 n'est pas un médiateur de l'activité de ces inhibiteurs, soit les cellules possèdent alternativement des mécanismes

compensatoires. De plus, l'induction de CDK4 est suffisante pour l'arrêt du cycle cellulaire (6).

Les cyclines dépendantes des kinases (CDKs)

Les CDKs constituent une famille de protéines qui contrôle en partie la progression du cycle cellulaire. Sous forme de monomère, les CDKs sont inactives (7). Elles s'associent avec les cyclines, qui constituent une famille de protéines dont le niveau d'expression varie pendant le cycle cellulaire pour former des hétérodimères qui sont séquentiellement actives pendant le cycle cellulaire (7-10). En effet, les complexes cycline/CDKs activés, sont capables de phosphoryler des substrats clés, impliqués dans chaque phase du cycle cellulaire. L'un de ces substrats: la protéine rétinoblastome (Rb), une fois phosphorylée (pRb), permet la progression du cycle cellulaire (4, 11, 12). En effet, cette phosphorylation inhibe la protéine Rb, conduisant au relâchement du facteur de transcription E2F. Cette dernière stimule la transcription du gène essentiel pour l'entrée en phase S tel que les cyclines de type E qui activent CDK2 (13). Dans un cycle cellulaire normal, CDK4 et CDK6 s'associent avec les cyclines de type D durant la phase G1, CDK2 s'associe aux cyclines de type A et E durant les phases S et G2 et CDK1 s'associe avec les cyclines de type A et B durant les phases G2 et M (14). L'activation des CDKs nécessite également la phosphorylation d'un résidu Threonine spécifique par la CDK-activating kinase (CAK) encore appelée CDK7 (7). Il a été montré que CDK2, CDK4 et CDK6 ne sont pas indispensables pour la progression du cycle cellulaire (4, 8, 15, 16), et que CDK1 peut se fixer aux cyclines de type D, E et A pour permettre la progression normale du cycle cellulaire. Cependant, CDK2 est indispensable pour la méiose (12).

Les inhibiteurs des CDKs

Ces protéines sont classées en deux familles selon leurs structures et leurs propriétés fonctionnelles. Les premiers sont les INK4s (**Inhibiteurs de CDK4**) qui regroupent : p16/INK4A (p16), p15/INK4B (p15), p18/INK4C (p18), et p19/INK4D (p19). Elles forment des complexes avec CDK4 et/ou CDK6 et les cyclines de type D. Ces protéines ont des activités fonctionnelles dépendantes de la protéine Rb normale (1). Le second groupe des CDKIs est la famille des Cip/Kip. Elle regroupe les protéines suivantes : p21/WAF1/Cip1 (p21), p27^{Kip1} (p27) et p57^{Kip2} (p57). Ces protéines inhibent l'activité de cycline E/CDK2, de cycline D/CDK4 ou CDK6 (1, 12, 17, 18). Les Cip/Kip sont également appelées CDKIs universels à cause de leurs interactions avec des complexes CDKs et les différentes cyclines A, E, D1, D2 ou D3 (1). Les protéines Kip ont une séquence de localisation nucléaire (NLS pour Nuclear Localisation Sequence); ce qui permet leur localisation dans le noyau où elles jouent leur rôle. Leur surexpression conduit à l'arrêt du cycle cellulaire. Un autre type de protéine, la protéine Cables favorise la phosphorylation de la Thyrosine 15 (Y15) de CDK2 par l'intermédiaire de la protéine kinase Wee1 (Figure 2). Cette protéine entraîne également la diminution de l'activité kinase de CDK2 (5, 7).

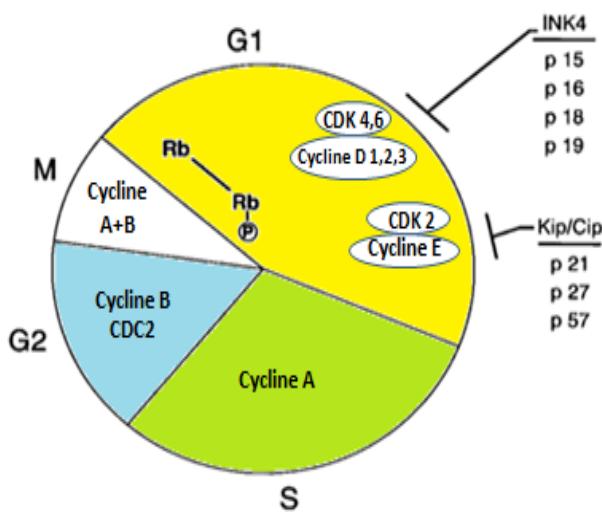


Figure 1. Schéma montrant les inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines (CDKIs) et les complexes cycline/CDKs dans le cycle cellulaire. Les protéines membres du groupe des INK4s (p15/INK4B, p16/INK4A, p18/INK4C, et p19/INK4D) et celles du groupe Cip/Kip (p21/WAF/Cip1, p27^{Kip1}, et p57^{Kip2}) ont des rôles inhibiteurs dans la transition G1/S. (1)

P27^{Kip1} et p21^{Cip1} bloquent la progression du cycle cellulaire en absence de CDK2

Pour voir si les inhibiteurs Cip/Kip causent l'arrêt du cycle cellulaire en absence de CDK2, les fibroblastes embryonnaires de souris (MEFs) CDK2^{+/+} et CDK2^{-/-} ont été infectés avec des rétrovirus exprimant p27^{Kip1} ou p21^{Cip1}. L'expression extra-utérine de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1} arrête la prolifération de ces MEFs primaires, que ce soit en présence ou l'absence de CDK2 (6). Comme espéré, p27^{Kip1} induit l'arrêt du cycle cellulaire en G1 et G2/M, vraisemblablement par inhibition de l'activité kinase de CDK2 fixé respectivement à cycline A et cycline E. Étonnamment, p27^{Kip1} bloque aussi la progression du cycle cellulaire en G1 (58% des cellules) et G2/M (42%) en absence de CDK2. Cet arrêt du cycle cellulaire peut être induit par CDK1, une cible de p27^{Kip1} (19). Cependant, le mécanisme par lequel p27^{Kip1} induit l'arrêt en phase G1 dans les cellules CDK2^{-/-} est moins évident. Pour étudier l'effet de l'expression de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1} sur les variétés de complexe cycline/CDK en absence de CDK2, l'activité kinase de ces derniers a été mesurée en utilisant les MEFs CDK2^{+/+} et CDK2^{-/-}. Les résultats ont montré que, bien que l'activité kinase de CDK2 fût significativement diminuée dans les cellules, l'expression extra-utérine de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1} n'a aucun effet sur l'activité kinase de CDK4 (6). Par contre, l'expression extra-utérine de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1} réduit significativement l'activité kinase de CDK1 dans les MEFs contrôle. Dans les MEFs CDK2^{-/-}, l'activité kinase de CDK1 est complètement inhibé suite à l'expression de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1}. Ce résultat peut expliquer l'arrêt d'une fraction des cellules CDK2^{-/-} en phase G2/M.

Prolifération des cellules cancéreuses déficientes en CDK2

Les protéines p27^{Kip1} et p21^{Cip1} empêchent la croissance de la tumeur et la progression du cycle cellulaire par inhibition de cycline E ou cycline A/CDK2. L'expression extra-utérine de p27^{Kip1} et p21^{Cip1} inhibent efficacement la progression du cycle cellulaire de fibroblaste déficient en CDK2. La perte de p27^{Kip1} ou p21^{Cip1} confère des avantages de prolifération similaires aux cellules CDK2^{+/+} et CDK2^{-/-}. De plus CDK2 n'est pas indispensable pour l'arrêt du cycle cellulaire induit par p27^{Kip1} après un dommage dans l'ADN. La suppression de CDK2 dans les souris déficientes en p27^{Kip1} ne corrige pas leurs défauts phénotypiques, impliquant le développement des tumeurs. Ces résultats indiquent que CDK2 n'est pas une cible essentielle pour p27^{Kip1} et p21^{Cip1} dans l'inhibition du cycle cellulaire et dans la suppression de la tumeur (1). Il a été également remarqué dans les cellules cancéreuses de colon, que la suppression de CDK2 par utilisation d'oligonucléotide anti-sens n'arrête pas la prolifération des cellules. De ce fait, aucune accumulation de population en phase G0/G1 ni en fin de phase G1 n'était observée (20).

L'activité suppresseur de tumeur des Cip/kip ne nécessite pas CDK2

L'expression extra utérine des oncogènes Ras et E1A induit significativement plus de cellules transformées dans les MEFs dépourvus de p27^{Kip1} et p21^{Cip1} que dans des cellules contrôles. La suppression simultanée de p27^{Kip1} et CDK2 ou p21^{Cip1} et CDK2 donne les mêmes taux de cellules transformées (6). Ces observations suggèrent que l'augmentation de la transformation des cellules déficientes en Cip/Kip induite par les oncogènes Ras et E1A n'est pas causée par une augmentation de l'activité de CDK2 puisque la suppression de CDK2 ne change pas les résultats. Pour étudier les interactions entre CDK2 et les inhibiteurs Cip/Kip *in vivo*, le phénotype des souris déficientes pour CDK2 et p27^{Kip1} ont été analysés. Il en ressort que, la suppression de p27^{Kip1} aboutit à une hyperplasie conduisant à une organomégalie généralisée. Cette organomégalie n'est rien d'autre que la conséquence d'une prolifération des cellules (6).

CDK2 n'est pas indispensable pour la neurogenèse dans l'hippocampe d'une souris adulte

Des études réalisées chez des souris CDK2^{-/-} ont permis de suggérer que, soit CDK2 n'a pas un rôle fonctionnel dans la neurogenèse de l'hippocampe d'une souris adulte, soit son activité est pleinement compensée (13). Une étude a montré que CDK1 se fixe à cycline E dans plusieurs tissus et permet la progression du cycle cellulaire. Il peut également réguler la transition G1/S dans les fibroblastes embryonnaires de souris (13, 21). De même, CDK4 et CDK6 pourraient aussi compenser la perte de l'activité de CDK2 par phosphorylation de Rb (13, 22). Dans les cellules cancéreuses de colon déficientes en CDK2, CDK4 peut phosphoryler la protéine Rb sur les sites de phosphorylation de CDK2 (13), conduisant à la prolifération de ces cellules. Cela montre que, dans les cellules de l'hippocampe dépourvues de CDK2, CDK1 ou CDK4 ou même CDK6 vont jouer le même rôle que CDK2 (13).

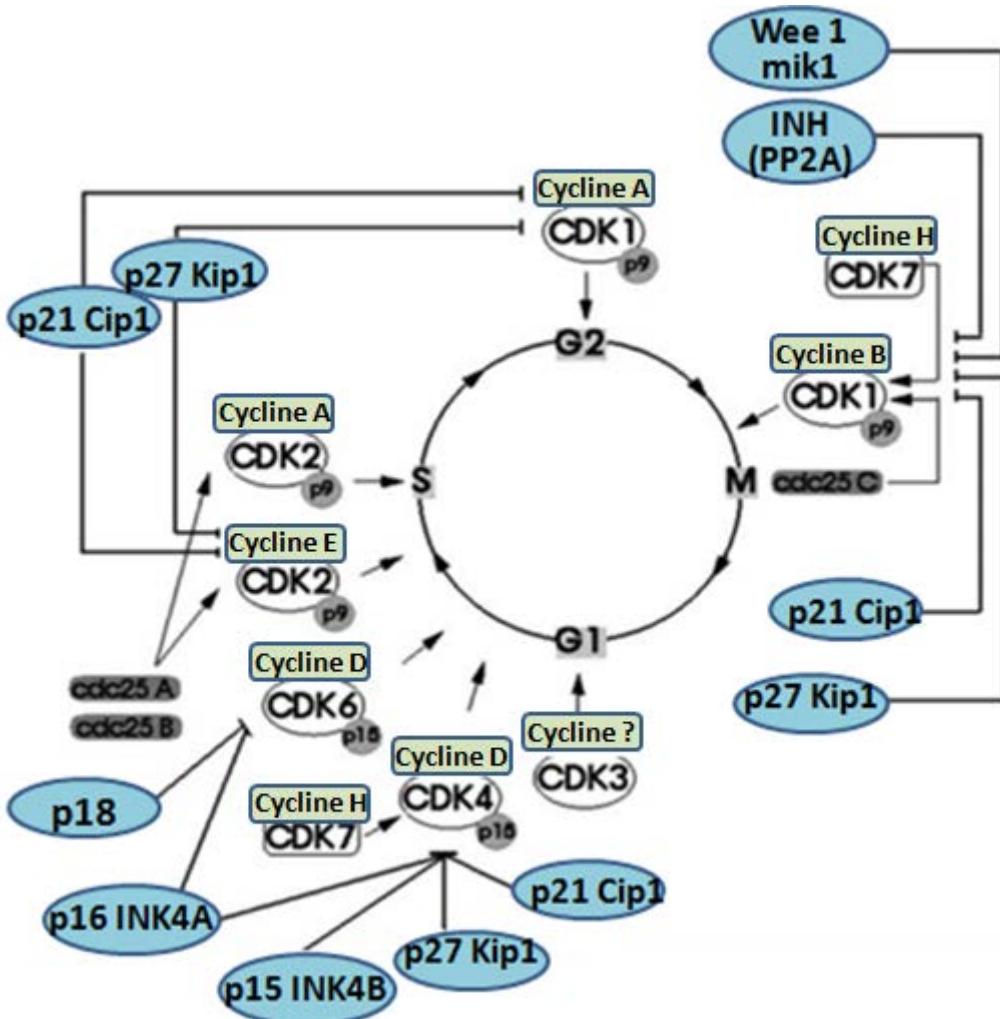


Figure 2: Schéma montrant la régulation du cycle cellulaire. Les complexes cyclines/CDKs (en blanc et vert) régulent le cycle cellulaire et sont en retour régulés par d'autres protéines: les CDKIs (en bleu), Wee1, INH. (7)

Conclusion

Le cycle cellulaire est sous le contrôle des CDKs qui sont associées aux cyclines. Ces protéines sont en retour inhibées par d'autres protéines appelées CDKIs. En cas de dommage à l'ADN, CDK2 est inactivée afin de permettre la réparation de cet ADN. Cette réparation est faite pendant l'arrêt du cycle cellulaire. Cependant, il a été mis en évidence que même en cas d'inhibition de CDK2, on a une prolifération des cellules. Cela s'expliquerait par des mécanismes de compensation des effets induits par CDK2, en présence d'autres CDKs telles que CDK4, CDK6 et CDK1. De plus, il a été montré que CDK2, CDK4 et CDK6, ne sont pas indispensables pour la progression du cycle cellulaire.

Références

1. Lloyd RV, Erickson AL, Jin L, Kulig E, Qian X, Cheville JC, Scheithauer BW. P27^{kip1}: A Multifunctional Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor with Prognostic Significance in Human Cancers. *American journal of pathology*, 154:313-323, 1999.
2. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N, Horii I, Loh DY, et Nakayama KI. Mice Lacking p27^{kip1} Display Increased Body Size, Multiple Organ Hyperplasia, Retinal Dysplasia, and Pituitary Tumors. *Cell*, 85:707-20, 1996.
3. Misra RN. Clinical progress of selective cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitor. *Drugs Fut* 31:43, 2006.
4. Malumbres M, Sotillo R, Santamaria D, Galan J, Cerezo A, et al. Mammalian cells cycle without the D-type cyclin-dependent kinases Cdk4 and Cdk6. *Cell*, 118:493-504, 2004.
5. Wu CL, Kirley SD, Xiao H, Chuang Y, Chung DC, Zukerberg LR. Cables Enhances Cdk2 Tyrosine 15 Phosphorylation by Wee1, Inhibits Cell Growth, and Is Lost in Many Human Colon and Squamous Cancers. *Cancer Res*, 61:7325-32, 2001.
6. Martin A, Odajima J, Hunt SL, Dubus P, Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. Cdk2 is dispensable for cell cycle inhibition and tumor suppression mediated by p27^{kip1} and p21^{Cip1}. *Cancer Cell*, 7:591-8, 2005.
7. Canduri F, and de Azovedo Jr WF. Structural Basis for Interaction of Inhibition with Cyclin-Dependent Kinase 2. *Current computer Aided Drug Design*, 1:53-64, 2005.
8. John H. Chung and Fred Bunz. Cdk2 is required for p53-Independent G2/M Checkpoint Control. *PLoS Genet* 6(2), 2010.
9. Malumbres M, Barbacid M. Mammalian cyclin-dependent kinases. *Trends Biochem Sci*, 30:630-41, 2005.
10. Sherr CJ, Roberts JM. Living with or without cyclins and cyclin-dependent kinases. *Genes Dev*, 18:2699-11, 2004.
11. Xiaotang Hu, Xiaohong Zhang, Qing Zhong, Ariana B Fisher, Matthew Bryington and Kenneth S Zuckerman. Differential effects of transforming growth factor on cell cycle regulatory molecules in human myeloid leukemia cells. *Oncogene* 20:6840-6850, 2001.
12. Berthet C, Aleem E, Coppola V, Tessarollo L, Philipp Kaldis P. Cdk2 Knockout Mice Are Viable. *Current Biology*, 13:1775-85, 2003.
13. Vandenbosch R, Borgs L, Beukelaers P, Foidart A, Nguyen L, Moonen G, Berthet C, Kaldis P, Gallo V, Belachew S, Malgrange B. CDK2 is Dispensable for Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Cycle*, 6:3065-9, 2007.
14. Baydoun HH, Pancewicz J, Bai XT, Christophe Nicot C. HTLV-I p30 inhibits multiple S phase entry checkpoints, decreases cyclin E-CDK2 interactions and delays cell cycle progression. *Mol Cancer*, 9:302, 2010.
15. Berthet C, Aleem E, Coppola V, Tessarollo L, Kaldis P. CDK2 knockout mice are viable. *Curr Biol*, 13:1775-1785, 2003.
16. Marcos Malumbres and Mariano Barbacid. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nature reviews cancer*, 9:153-167, 2009.
17. James Brugarolas, Roderick T. Bronson, and Tyler Jacks. P21 Is a Critical CDK2 Regulator Essential for Proliferation Control in Rb-deficient Cells. *Journal of Cell Biology*, 141:503-514, 1998.
18. Charles J. Sherr and James M. Roberts. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev*, 13:1501-12, 1999.
19. Pagano, M. Control of DNA synthesis and mitosis by the Skp2-p27-Cdk1/2 axis. *Mol. Cell*, 6:661-672, 2004.
20. Tetsu O, McCormick F. Proliferation of cancer cells despite CDK2 inhibition. *Cancer Cell* 3(3):233-245, 2003.

21. Aleem E, Kiyokawa H, Kaldis P. Cdk2-cyclin E complexes regulate the G1/S phase transition. *Nat Cell Biol*, 7:831-6, 2005.
22. Mittnacht S. Control of pRb phosphorylation. *Curr Opin Genet Dev*, 8:21-27, 1998.

L'importance de l'apoptose dans l'homéostasie tissulaire

Chénou Francine

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

L'apoptose est une "mort cellulaire programmée". Elle résulte de l'activation d'un programme génétique de "suicide", nécessaire pour l'embryogenèse, le développement normal et l'homéostasie des organismes pluricellulaires. Des signaux extracellulaires et intracellulaires induisent l'initiation de l'apoptose par deux voies principales : la voie mitochondriale et la voie des récepteurs de mort. Les principaux effecteurs de l'apoptose sont les caspases. Leur action dans une cellule a pour conséquence, un changement morphologique et une mort cellulaire programmée. Ce type de mort est régulé par des protéines et est différente de la nécrose qui est une mort cellulaire accidentelle, biologiquement passive. Une dérégulation de l'apoptose est à l'origine de nombreuses pathologies. Certaines sont liées à une inhibition de l'apoptose (cancer, syndromes lymphoprolifératifs...) alors que d'autres sont associées à une activation de ce phénomène (SIDA, maladies neurodégénératives...). Elle joue un rôle majeur dans le fonctionnement de l'organisme, la survenue de nombreuses maladies, pour lesquelles elle représente une cible thérapeutique; d'où son importance qui sera développée dans cette revue.

MOTS CLÉS : apoptose, caspases, nécrose, dysfonctionnement.

Introduction

Le mot apoptose dérivant d'un langage GREC veut dire chute des pétales d'une fleur (1). Le terme apoptose a été proposé en 1972 par Kerr et al, pour désigner une mort cellulaire par suicide qui présente des caractéristiques morphologiques bien différentes de celle de la mort cellulaire par nécrose (2). L'apoptose «mort cellulaire programmée» est un processus génétique et biochimique essentiel pour les métazoaires. Elle se produit normalement pendant l'embryogenèse, le développement normal, le vieillissement, et dans l'homéostasie pour maintenir constante la population cellulaire dans les tissus (3,4). Elle se produit aussi dans les mécanismes de défense tels que les réactions immunitaires, et le processus d'élimination des cellules transformées par une maladie ou des agents nocifs. L'apoptose peut être induite par différents stimuli comme la déplétion en facteurs de croissance cellulaire, les radiations γ , les hormones, le choc thermique, les agents endommageant l'ADN, ou encore les ligands des récepteurs de mort cellulaire comme Fas (4, 5,6). Les caspases (cystéines protéases) ayant une activité protéolytique, clivent une protéine dans une cellule après un résidu d'acide aspartique. Elles sont les premiers agents exécuteurs de la mort cellulaire (7). Leur activation menant à un changement morphologique de la cellule, se fait par deux voies principales : la voie mitochondriale ou voie intrinsèque et la voie des récepteurs de mort ou voie extrinsèque (8). D'autres sont des protéines régulatrices de la machinerie apoptotique. Ce sont principalement les protéines de la superfamille Bcl-2, les IAPs (inhibitors of apoptosis proteins), les FLIP (Flice-(Fas-associated Death Domain-like IL-1 β -Converting Enzyme) – inhibitory proteins), Smac/DIABLO (Second mitochondria-derived activator of caspase/Direct IAP-binding protein with Low pI). Le changement morphologique se caractérise par la diminution du volume cellulaire, la condensation et l'expulsion de la

chromatine nucléaire, la lobulation de la membrane plasmique, la formation de corps apoptotiques et la phagocytose des débris cellulaires (9). Le changement biochimique se caractérise par la translocation des phosphatidylséries sur la membrane externe de la cellule. Le dysfonctionnement des voies apoptotiques a des conséquences pathologiques. Un défaut d'apoptose s'observe dans les cancers et les maladies auto-immunes; un excès d'apoptose s'observe dans les maladies neurodégénératives et le sida (10).

Caractéristiques morphologiques de l'apoptose.

Dans les cellules en apoptose on observe une condensation et un rétrécissement du noyau, suivis d'une fragmentation en corps apoptotiques. La membrane plasmique ne se rompt pas mais exprime des signaux de mort en exposant en particulier sur le feuillet externe de sa membrane plasmique, la phosphatidylsérine (figure.1). Ces phospholipides normalement constitutifs de son feuillet interne sont reconnus par les macrophages, qui pourront phagocytter les corps apoptotiques sans réaction inflammatoire (11, 12, 13). De plus, il y a l'activation des enzymes protéolytiques (caspases) qui intervennent dans le clivage des protéines spécifiques garant de l'architecture du noyau, du cytoplasme et des organites (12).

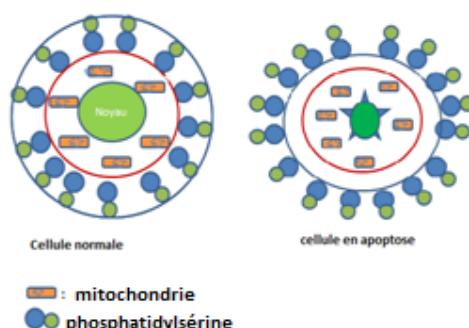


Figure 1 : Comparaison biochimique d'une cellule normale et d'une cellule apoptotique.

Différence entre l'apoptose et la nécrose

L'apoptose est une mort programmée qui est un processus biologique actif, alors que la nécrose est une mort accidentelle qui est un processus biologique passif. (14). La comparaison entre les deux processus est représentée sur la figure 2 et le tableau I.

Tableau I : Comparaison des Caractéristiques morphologiques de l'apoptose et la nécrose. (15)

Apoptose	Nécrose
Contraction cellulaire.	Dilatation cellulaire.
Condensation et marginalisation de la chromatine nucléaire.	Pycnose nucléaire.
Lobulation de la membrane plasmique.	Lésions des organites.
Maintien de l'intégrité des organites.	Rupture de la membrane cellulaire.
Formation de corps apoptotiques.	Réaction inflammatoire.
Phagocytose des débris cellulaires.	Atteinte de groupes de cellules.
Pas de réaction inflammatoire.	
Atteinte de cellules isolées.	

L'importance de l'apoptose dans l'homéostasie tissulaire

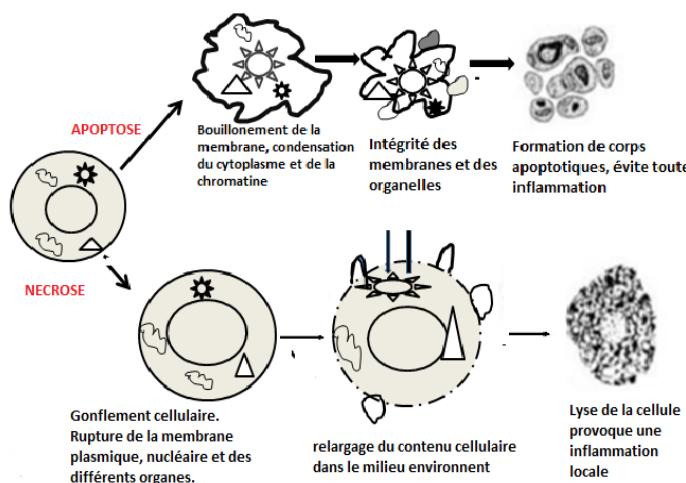


Figure 2: Comparaison entre le mécanisme de l'apoptose et le mécanisme de la nécrose.

Mécanisme moléculaire de l'apoptose.

Les protéines clés du programme apoptotique ont été identifiées. Les caspases sont les premiers agents exécuteurs de la mort cellulaire et les protéines de la super-famille Bcl-2 ainsi que les IAPS, FLIP, Smac/DIABLO sont les protéines régulatrices de la machinerie apoptotique.

Les caspases

Les caspases sont des cystéine-protéases douées d'une activité protéolytique; elles clivent exclusivement les protéines à l'extrémité carboxyle après un résidu aspartate. On a identifié dix caspases majeures chez l'homme. Elles constituent trois sous-familles fonctionnelles ; l'une est impliquée dans la maturation des cytokines (caspase-1,-4,-5) ; les deux autres, sont impliquées dans l'apoptose : les caspases ayant un rôle initiateur (caspase-2,-8,-9,-10) et les caspases ayant un rôle effecteur ou exécuteur (caspase-3,-6,-7).

Tableau II : Nomenclature, caractéristiques et fonctions des caspases identifiées chez l'homme (15).

Caspases	Prodomaine contenant		Site de clivage de la procaspase (*)	Substrat préféré (*)	Fonction
	deux DED	un CARD			
2	•	⊕	DQQD	DEHD	Initiation du processus apoptotique
8	⊕	•	VETD	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)

D'autres caspases ont été identifiés : la caspase 11 qui régule l'apoptose et la maturation des cytokines pendant le choc septique, la caspase 12 qui sert d'intermédiaire entre l'apoptose de l'endoplasmique spécifique et la cytotoxicité par les amyloïdes β , la caspase 13 serait

présente chez les bovins, la caspase 14 est beaucoup exprimée dans les tissus de l'embryon, mais pas dans les tissus d'un adulte (16). Dans la cellule les caspases sont synthétisées sous forme de zymogènes inactives (procaspases). Elles possèdent un prodomaine comportant une grande sous unité et une petite sous unité du coté N-terminal. Le prodomaine 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 Recrutement Domain (CARD). Celui des procaspases donnant naissance aux caspases "effectrices" est de petite taille, et il ne contient ni DED, ni CARD (1). 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 quatre résidus aminés reconnus par la caspase elle-même ou d'autres caspases. Les procaspases peuvent donc s'autoactiver ou être activées par d'autres caspases. La caspase activée est un tétramère de deux hétérodimères contenant deux sites catalytiques actifs (3). Les caspases sont activées "en cascade". Les procaspases initiatrices sont d'abord activées en réponse à des signaux proapoptotiques spécifiques. Celles-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 ainsi que celle des procaspases auxquelles elles sont fixées. Une fois oligomérisées les procaspases initiatrices s'activent mutuellement. Secondeairement les caspases initiatrices activent à leur tour les caspases effectrices (figure 3). Celles-ci initient le processus de désintégration cellulaire.

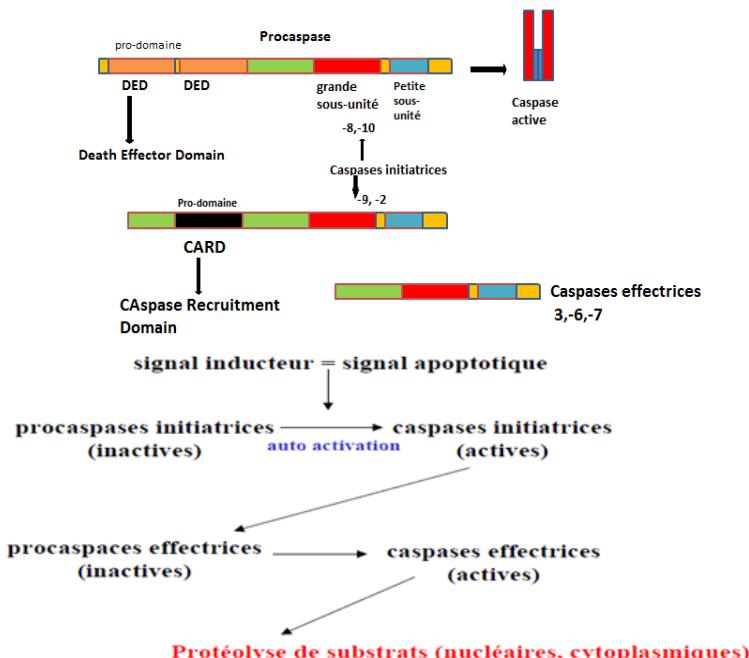


Figure 3 : Structure et activation des caspases

Les caspases effectrices sont les responsables directes ou indirectes, des modifications morphologiques et biochimiques observées dans les cellules en voie d'apoptose (figure 3). Il y a environ une vingtaine de leurs substrats que nous pouvons classer en trois groupes:

- des protéines structurales; un exemple est celui de la lamine de l'enveloppe nucléaire dont la dégradation est 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 bourgeonnement (blebbing) de la membrane cytoplasmique.
- 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.
- des protéines au contraire jusque-là activées et inactivées par leur clivage; dans ce groupe on trouve notamment des protéines impliquées dans la réparation (p53) et la duplication de l'ADN.

Le point important est que chacun de ces effets, pris séparément, ne semble pas 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. Les caspases peuvent être inhibées par les IAPs (15).

Mécanisme de signalisation de l'apoptose.

La Voie intrinsèque

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 changement de la membrane mitochondriale, résulte de l'ouverture des PTPM (Pore de transition de perméabilité mitochondriale) et se traduit par la perte du potentiel transmembranaire ($\Delta\Psi_m$) mitochondrial. La libération des protéines pro-apoptotiques de l'espace intermembranaire dans le cytosol. Ces protéines sont classées en deux groupes.

1^{er} groupe: le cytochrome C, la protéine Smac/DIABLO, HtrA2/Omi qui est une sérine protéase ayant un motif AVPS de fixation aux domaines BIR (Baculoviral Iaps Repeat) des IAPs pour les inactiver par séquestration. Ces protéines activent la voie mitochondriale dépendante des caspases.

Le cytochrome C interagit avec la protéine Apaf-1 (Apoptotic Protease-Activating Factor-1) et la forme zymogène de la caspase 9, formant ainsi, en présence d'ATP, un complexe multiprotéique appelé apoptosome qui entraîne l'activation de procaspase 9.

La protéine Smac/DIABLO se lie aux protéines inhibitrices de l'apoptose, les IAPs et les inactive.

2^{ème} groupe: L'AIF (Apoptosis Inducing Factor), l'endonucléase G et la CAD sont libérées par la mitochondrie durant l'apoptose de façon tardive. L'AIF est une flavoprotéine à activité oxydoréductase. Elle est transloquée du cytosol vers le noyau pour se fixer à l'ADN et induire la condensation de la chromatine. Puis, l'AIF recrute des nucléases impliquées dans la fragmentation de l'ADN en particules de haut poids moléculaire (50-300Kpb).

L'endonucléase G est une nucléase mitochondriale. Lorsqu'elle est relarguée par la mitochondrie en réponse à un signal apoptotique, elle transloque dans le noyau et dégrade l'ADN. La CAD est relarguée par la mitochondrie et transloquée vers le noyau après clivage par la caspase -3. Elle va dégradée l'ADN et il y a une progression de la condensation de la chromatine.

Les protéines appartenant à la famille Bcl-2 jouent un rôle fondamental dans le contrôle et la régulation des événements apoptotiques de la mitochondrie. Le suppresseur de tumeur (p53) régule les protéines Bcl-2 (16).

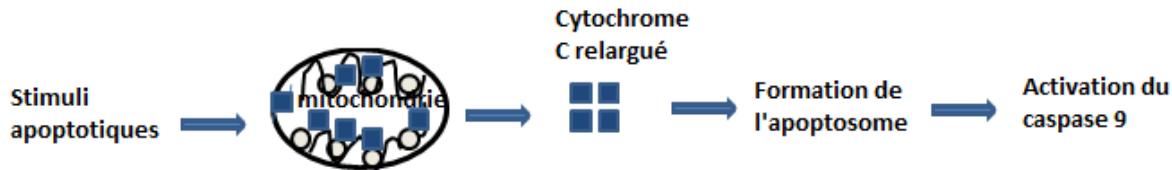


Figure 4 : Voie mitochondriale de l'activation des caspases.

La voie extrinsèque

Elle est médiée par des récepteurs membranaires appartenant à la superfamille des récepteurs du TNF (tumor necrosis factor receptor). Ces récepteurs possèdent un domaine extracellulaire riche en cystéine et un domaine intracellulaire comportant 80 acides aminés, appelé «domaine de mort» (DD, death domain) qui joue un rôle important dans la transmission du signal de mort programmée. On connaît des récepteurs de mort ainsi que leurs ligands FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 et Apo2L/DR 5. (16). Le récepteur Fas (ou APO-1 ou CD95) se trimérisé sous l'action de son ligand grâce à une protéine cytosolique adaptatrice, la protéine FADD (Fas-Associated Death Domain) qui se lie d'une part au domaine de mort de la protéine Fas et qui d'autre part présente à son extrémité libre un domaine de mort effecteur (DED) lui permettant de se lier à la procaspase 8, la protéine Fas trimérisée active la procaspase 8. Cette activation entraîne une troncation de la protéine Bid qui secondairement interagit avec Bax pour provoquer la sortie du cytochrome C de la mitochondrie (17). Similairement, ce mode d'action est retrouvé pour le TNF α avec toutefois des différences importantes, la protéine FADD étant associée à la protéine d'adaptation TRADD (TNFR1-Associated Death Domain). Additionnellement, le mécanisme d'action du TNF α est plus complexe puisque la trimérisation du TNFR1 peut s'accompagner soit d'une activation de la procaspase 8, avec comme précédemment une troncation de Bid, une sortie du cytochrome c et une apoptose soit une activation d'un facteur de transcription le NF-KB (Nuclear Factor KB) qui au contraire favorise la survie de la cellule (18). Quant aux récepteurs DR5/DR4, ils sont spécifiquement mobilisés par un autre ligand, le ligand TRAIL (Tumor Necrosis Factor (TNF)-Related Apoptosis Ligand). Toutefois, comme pour Fas, le domaine de mort des récepteurs de TRAIL s'associe à la protéine FADD afin d'activer la procaspase 8 qui modifie la structure moléculaire de Bid pour permettre l'accrochage de Bax à la surface mitochondriale et entraîner la sortie du cytochrome C. Comme dans l'étape post-mitochondriale, la transduction de ces 3 récepteurs est régulée avant la mitochondrie par différentes molécules cytosoliques qui interviennent dès l'assemblage des domaines de mort de chaque récepteur avec les protéines adaptatrices. Par exemple, Fas et DR5/DR4 sont modulés par les molécules FLIP ou par la protéine RIP (Receptor-Interacting Protein) pour le TNFR1 (19). La survenue de l'apoptose met donc en jeu un ensemble de complexes de molécules.

Les protéines régulatrices de l'apoptose

Les protéines de la superfamille Bcl-2 (*B cell leukemia*)

Les protéines de la superfamille Bcl-2 contrôlent principalement la "voie apoptotique mitochondriale". Elles contiennent 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 (figure 5). 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 chez les mammifères la plupart d'entre elles contiennent, 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 réticulum endoplasmique (15). Elles constituent trois familles dont les caractéristiques structurales et fonctionnelles sont différentes. 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 que ce domaine soit démasqué. Ce sont des protéines anti-apoptotiques. 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 pro-apoptotiques, facilitant la libération du cytochrome C qui prélude à l'activation de la procaspase-9.

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, ce domaine est naturellement "démasqué". Toutes sont constitutivement cytosoliques et ce sont des "signaux de mort" qui déclenchent leur translocation aux membranes cellulaires (figure 5). Ce sont également des protéines apoptogènes, mais elles interviennent plus précocement que les protéines Bax. Elles s'en distinguent aussi par leur très grande spécificité; chacune d'elles intervient en réponse à des signaux de mort particuliers et seulement dans quelques lignées cellulaires (15).

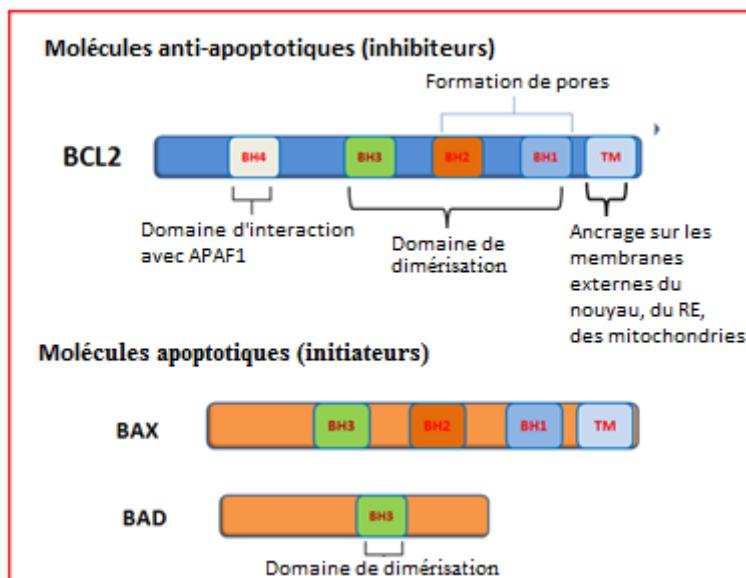


Figure 5: La famille de BCL2.

Les FLIP

Les FLIP (FADD-like ICE inhibitory proteins) sont des protéines régulatrices de l'apoptose qui agissent au niveau de la formation du DISC. Ce sont des isomorphes de la caspase 8, mais qui ne possèdent pas de site actif. Elles fonctionnent donc comme des molécules leurres de FADD et modulent l'activité du DISC : elles sont capables de bloquer un signal de mort cellulaire induit par le récepteur Fas (16).

Les IAPs et Smac/DIABLO

Ce sont deux régulateurs principaux des caspases. Dans l'espèce humaine, il y a 8 membres protéiques de la famille IAPs. Elles sont des protéines qui comportent des domaines BIR et inhibent la mort cellulaire en se liant directement aux caspases (aussi bien activatrices, qu'effectrices) ; empêchant ainsi leur clivage et leur activité (1, 16). La protéine

Smac/DIABLO se lie aux protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP) et les inactive. La protéine SMAC/DIABLO neutralise ainsi les activités anti-apoptotiques des IAPs. C'est un répresseur d'inhibiteur de caspases. (1)

La protéine p53

La protéine p53 est un acteur essentiel dans la régularisation de la balance entre survie et mort cellulaire. Le gène p53 exerce une fonction de suppresseur de tumeur dans la tumorigénèse. Il est ainsi muté dans près de 50% de cancers humains. Ce facteur de transcription a un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie cellulaire: arrêt de la prolifération cellulaire, réparation de l'ADN, apoptose. L'activité de p53 est extrêmement régulée par de nombreuses modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation, l'acétylation, l'ubiquitination, et la séquestration cytosolique. Par exemple, p53 est inhibée puis dégradée via le protéasome suite à la fixation de l'ubiquitine ligase E3 MDM2. Parallèlement, MDM2 est une cible transcriptionnelle de p53, permettant ainsi l'établissement d'une boucle rétro-régulatrice. L'activation de p53 permet la régulation positive de nombreux gènes impliqués dans la régulation apoptotique. Ce facteur de transcription p53 contrôle notamment l'expression de la protéine pro-apoptotique Bax et les protéines BH-3 only telles que Bid, NOXA et PUMA qui agissent en amont de Bax et Bak. Ces protéines sont de puissants activateurs de la voie apoptotique mitochondriale. Par ailleurs, p53 régule négativement l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl2. La protéine p53 cytosolique active directement la protéine pro-apoptotique Bax et inhibe la séquestration des protéines anti-apoptotiques Bcl2 par Bcl-XL. Enfin, Apaf-1 l'un des composants de l'apoptosome est aussi régulé par cette protéine. P53 est donc capable d'activer un très grand nombre de protéines impliquées à tous les niveaux dans la régulation de la voie apoptotique mitochondriale (figure 6). Ce facteur de transcription est par ailleurs capable de réguler la voie des récepteurs de mort, notamment via Fas et les récepteurs à TRAIL, DR4 et DR5 (20).

Rôle de l'apoptose

L'apoptose maintient l'homéostasie des tissus et des organes. On estime que le corps humain produit $\pm 10^5$ cellules par seconde et en détruit tout autant, si bien qu'au terme d'une vie normale, plus de 99 % des cellules apparues depuis la naissance sont mortes (21). Elle élimine les cellules non viables, 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. Au cours de l'embryogenèse, l'apoptose provoque la formation de cavités dans des masses compactes de cellules. Elle singularise les doigts à l'extrémité des membres, qui ont à l'origine la forme palmée: dans les espaces interdigitaux, des rangées de cellules meurent par apoptose, ce qui contribue à sculpter la main et le pied. L'apoptose participe également à la formation du système nerveux. Un grand nombre de neurones cérébraux se suicident au cours de la vie fœtale, parce qu'ils ne parviennent pas à établir des connexions stables avec d'autres neurones, ou qu'ils sont exposés à des concentrations insuffisantes de facteurs trophiques, indispensables à leur survie. Les lymphocytes meurent par apoptose s'ils n'arrivent pas à synthétiser des molécules d'anticorps fonctionnelles, ou produisent des anticorps dirigés contre les antigènes de l'individu. Chez les femmes, l'apoptose réduit la taille de l'utérus et des seins après la grossesse et l'allaitement (figure 7).

L'importance de l'apoptose dans l'homéostasie tissulaire

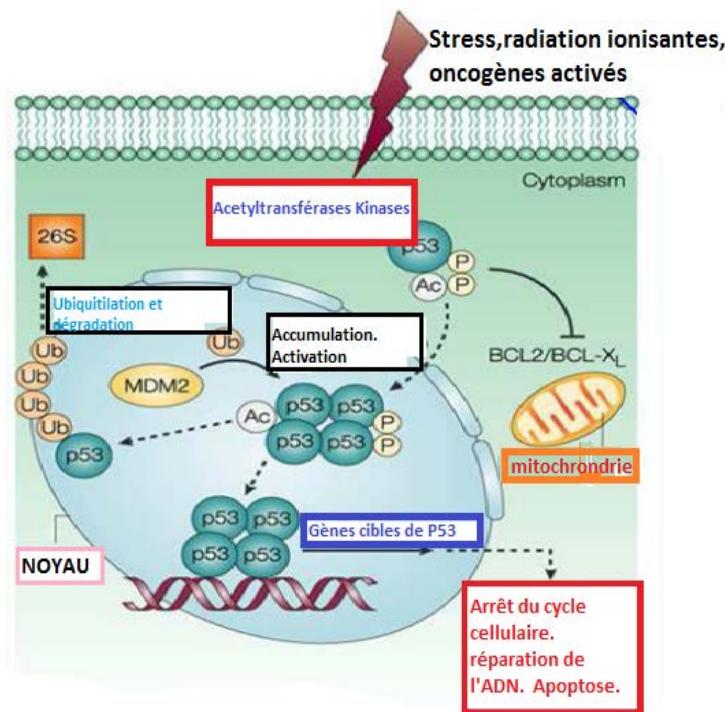


Figure 6: Schéma montrant le rôle régulateur de p53
(Nature Reviews cancer 4, 793-805 2004)

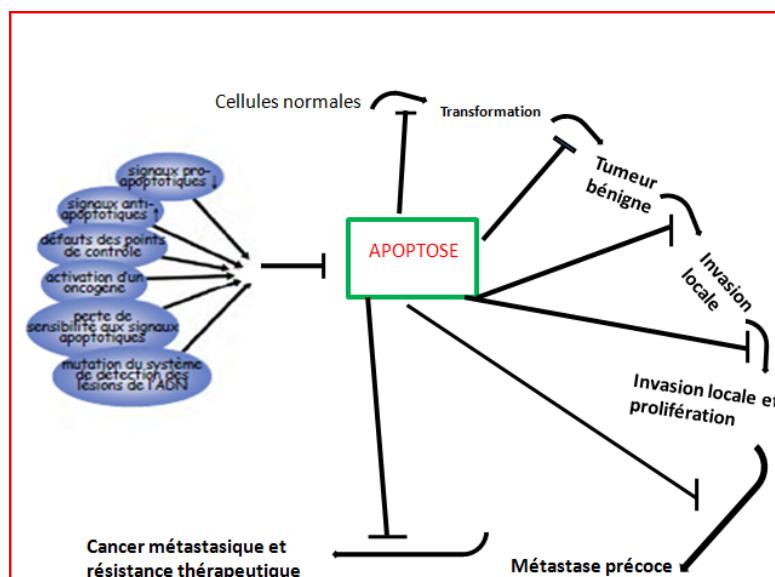


Figure 7: Rôle de l'apoptose dans la prévention du cancer.

Dérèglement de la voie de l'apoptose dans le cancer.

Le cancer est dû à la mutation des gènes impliqués dans l'initiation, la médiation ou l'exécution de l'apoptose. Il y a l'inactivation de p53, qui est un point de restriction important dans l'apoptose dans 50% des cancers humains. La surexpression de Bcl-2 dans les processus tumoraux et la mutation de Bax et Bak entraînent la survie des cellules cancéreuses. Elles survivent et se multiplient en dépit d'anomalies génétiques survenues au cours de la vie de la cellule, alors que normalement elles auraient dû être détruites par apoptose.

Conclusion

L'apoptose est une mort cellulaire programmée. Elle est nécessaire pour le bon fonctionnement d'un organisme multicellulaire. La connaissance de son mécanisme permet d'avoir de thérapies adéquates pour les maladies provoquées par son dysfonctionnement.

Références

1. Andreas G. Introduction to apoptosis. Aporeview, 2003.
2. Formigli L, Conti A, Lippi D. "Falling leaves": A survey of the history of apoptosis. Minerva Med, 95:159-64, 2004.
3. Nika ND and Stanley J K. Cell Death: Critical Control Points. Cell, 116: 205- 219, 2004.
4. Moallem.SA, Barbara F. H. The role of p53 and cell death by apoptosis and necrosis in 4-hydroperoxycyclophosphamide-induced limb malformations. Development, 125: 3225-34, 1998.
5. Fesik SW. Insights into Programmed Cell Death through Structural Biology. Cell, 103: 273–82, 2000.
6. Wang, X. "The expanding role of mitochondria in apoptosis." Genes Dev, 15: 2922-33, 2001.
7. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. Annu Rev Biochem, 69: 217-245, 2000.
8. Linda EB, Frank AEK, Giaccone G. Cell Death Independent of Caspases: Clinical Cancer Research, 11:3155-62, 2005.
9. Alexei T., Ulf T. B. Autophagy in cardiac myocyte homeostasis, aging, and pathology. Cardiovascular Research, 68: 355 –65, 2005.
10. Pushkar K et al. Apoptosis: Concept, Mechanisms and Clinical Implications, 2010.
11. Hiramine C. Definition and morphological features of apoptosis. Rinsho Byori, 45:459-69, 1997.
12. Saraste A et Pulkki, K. "Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis." Cardiovasc Res, 45: 528-37, 2000.
13. Koyama.AH, Mikako TF, Hicrohi I, Akio A. Physiological significance of apoptosis in animal virus infection. Microbes and Infection, 2:1111-17, 2000.
14. KanducD, Mittelm A, et al. Cell death: Apoptosis versus necrosis (Review), 2002.
15. Ollat, H. L'apoptose neuronale. Neuropsychiatrie : Tendances et Débats 18 : 27-37, 2002.
16. Elmore. S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology, 35:495–516, 2007.
17. Nagata S. Fas ligand-induced apoptosis. Annu Rev Genet, 38 : 29-55, 1999.
18. Pessayre D, Feldmann G, et al. Hepatocyte apoptosis triggered by natural substances (cytokines, other endogenous molecules and foreign toxins). IN: Handbook of Experimental Pharmacology, 142: 59-108, 2000.
19. Wang S, El-Deiry WS. TRAIL and apoptosis induction by TNF-family death receptors. Oncogene, 22: 8628-8633, 2003.
20. Mermet-Bouvier,C. Caractérisation d'un nouveau récepteur à dépendance : TrkC et étude de la signification biologique de la fonction pro-apoptotique de RET dans la tumorigénèse. page85, 2006.
21. Lane DP. P53, guardian of the genome. Nature, 358: 15-16, 1992.

Les dommages à l'ADN induisent la sénescence dans les cellules tumorales.

Amoussa Madjid O.

Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

L'état sénescient est un arrêt irréversible du cycle cellulaire associé à des modifications morphologiques et fonctionnelles de la cellule. La sénescence est causée par certains phénomènes qui provoquent des dommages à l'ADN tels que : le raccourcissement des télomères (sénescence réplicative) ou l'exposition aiguë ou chronique à d'autres signaux de stress physiologique (un phénomène appelé *stasis, stress*). Les dommages à l'ADN sont capables d'induire la sénescence dans les cellules tumorales en exprimant la p53 sauvage. La sénescence réplicative ou la perte de fonctionnalité des télomères mobilisent les protéines détectrices des cassures doubles brin de l'ADN, conduisant à l'activation des systèmes de réparation de l'ADN et de la protéine suppresseur de tumeur p53, qui, à son tour, induit l'inhibiteur du cycle cellulaire p21WAF1. Ainsi p53 et p21 jouent un rôle central dans l'apparition de la sénescence, tandis que la fonction de p16INK4A peut être impliquée dans le maintien de la sénescence. Ainsi, comme l'apoptose, la sénescence semble être induite par p53 en réponse aux dommages à l'ADN.

Mots clés : ADN, sénescence, cellules tumorales, p53.

Introduction

La sénescence cellulaire est la perte ultime et irréversible de la capacité réplicative survenant dans la culture des cellules primaires somatiques. La découverte de la sénescence réplicative a une influence profonde sur l'étude et le concept du vieillissement (1). Initialement, on pensait que les cellules une fois retirées de l'organisme seraient en mesure de se reproduire indéfiniment (1). Mais des études ont montré que le vieillissement n'était pas une conséquence d'un processus intrinsèque cellulaire mais une caractéristique inhérente à l'existence des cellules dans un environnement. La culture de fibroblastes provenant de l'embryon humain a eu un impact énorme sur notre perception actuelle du vieillissement (1, 2). En effet ces fibroblastes en culture ont une durée de vie limitée et s'arrêtent de se diviser de manière irréversible après une cinquantaine de cycles cellulaires (1, 2). Cette découverte suggère qu'un processus intrinsèque moléculaire doit rendre compte de ce phénomène (1, 3). Des études ont montré que le raccourcissement des télomères (les extrémités des chromosomes) pourrait fonctionner comme un «réplicomètre» (en comptant le nombre de divisions cellulaires) et comme un déclencheur de la sénescence réplicative des cellules diploïdes normales (4, 5). En effet, la quantité d'ADN télomérique diminue avec le vieillissement des fibroblastes humains (6). L'expression ectopique de la sous-unité catalytique de la télomérase, une enzyme responsable de la réplication des télomères, peut surpasser la sénescence et conduire à l'immortalisation cellulaire (7). Le raccourcissement des télomères a été proposé comme un mécanisme de comptage de la reproductibilité (2) et du fait que les cellules congelées à un niveau de doublement de population permettraient de conserver une mémoire et, une fois décongelées, subissent le nombre maximum prévu de divisions (8). La perte des télomères est une conséquence de l'incapacité de la cellule à synthétiser de nouvelles séquences télomériques ou à mobiliser des ressources pour la maintenance. Comme prévu par les

théories évolutionnistes du vieillissement, le raccourcissement des télomères peut donc être considéré comme un exemple d'investissement limité à long terme de maintenance somatique et de la fonction de réparation (9). Les cellules individuelles dérivées de population clonale présentent un potentiel de division hétérogènes et une grande dissemblance dans la longueur des deux extrémités chromosomiques dans ces cellules et d'une cellule à l'autre (10, 11). Par ailleurs, il a été démontré que la fraction de cellules sénescentes présente dans une population de masse augmente progressivement avec le doublement de la population (12,13). Les cellules sénescentes en culture ont montré des caractéristiques de dysfonctionnement mitochondriaux; notamment des niveaux élevés d'espèces d'oxygène réactif (ERO) en collaboration avec des télomères courts et l'activation de la signalisation induite par les dommages à l'ADN (14, 16). La durée de vie d'une lignée de cellules est régie par des facteurs aléatoires (stochastiques) en amont du raccourcissement des télomères et est probablement liée au stress oxydatif. Par conséquent, nous allons maintenant examiner en détail comment le stress oxydatif affecte spécifiquement les télomères et quel rôle jouent les mitochondries (l'ADN mitochondrial) dans le processus de la sénescence cellulaire.

La chromatine télomérique

Les télomères, formés par des répétitions de séquences TTAGGG et de protéines spécifiques, assurent la stabilité des extrémités chromosomiques (17, 19). Les télomères ne sont pas des structures linéaires, mais adoptent une structure intramoléculaire particulière de la chromatine, la T-loop (telomere loop), qui protège physiquement l'extrémité 3' terminale du télomère des activités cellulaires de dégradation et de fusion télomérique (figure 1).

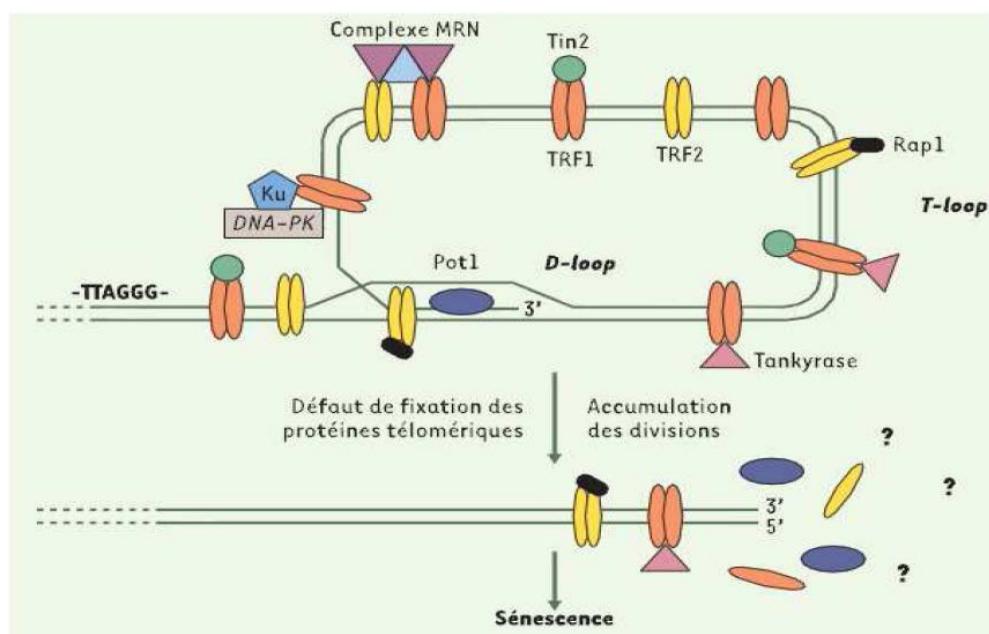


Figure 1. Contrôle de la sénescence par une modification de l'état fonctionnel du télomère. L'organisation particulière de la chromatine télomérique permet aux extrémités des chromosomes d'être distinguées d'une simple cassure double brin de l'ADN. À la suite d'un défaut de fixation des protéines télomériques comme TRF2, ou d'un raccourcissement au dessous d'une taille minimale critique, le télomère adopte une structure modifiée non fonctionnelle. Cette perte d'intégrité télomérique coïncide avec la disparition de l'extrémité 3' simple brin dont la longueur est essentielle à la formation de la boucle télomérique. En l'absence de structure de protection, l'extrémité télomérique est reconnue par la cellule comme un signal d'arrêt du cycle cellulaire, phénomène à la base de la sénescence (1).

Cette boucle télomérique serait créée à la suite du repliement de l'extrémité 3' du télomère (17, 19). En effet, cette extrémité s'hybride au brin qui lui est complémentaire, formant une boucle (D-loop : displacement loop). La stabilité de la boucle télomérique est assurée par la longueur du télomère et par la liaison de protéines. Parmi elles, on distingue TRF1 et TRF2, qui se fixent directement sur l'ADN télomérique double brin, tandis que Pot1 se lie à l'extrémité 3' simple brin. De nombreuses protéines de réparation ou de recombinaison de l'ADN, notamment ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated), le complexe protéique MRE11/RAD50/NBS1 (MRN) et l'hétérodimère Ku (sous-unité régulatrice de la DNA-PK : Ku86 et Ku70), sont également présentes au niveau du télomère (20, 21). La protéine DNA-PK est une kinase dépendante de l'ADN.

Induction de la sénescence par le raccourcissement des télomères

Le facteur physiologique principal responsable du dysfonctionnement des télomères dans les cellules somatiques humaines est l'accumulation des divisions cellulaires. Au cours de ces divisions, des motifs TTAGGG sont perdus en raison de l'incapacité de la machinerie conventionnelle à répliquer les extrémités linéaires des chromosomes. Cette perte d'ADN télomérique est compensée par la télomérase, une transcriptase inverse spécialisée, qui assure la synthèse *de novo* des séquences répétées sur les télomères préexistants, maintenant ainsi leur longueur (22). L'activité télomérase est présente dans les cellules germinales qui ne subissent pas la sénescence et dans les lignées cellulaires immortelles qui lui ont échappé. En effet, l'immortalisation des cellules humaines s'accompagne de la sauvegarde des fonctions télomériques. À l'inverse, la majorité des cellules somatiques n'ont pas suffisamment d'activité télomérase; leurs extrémités 3' raccourcissent donc à chaque réPLICATION chromosomique (23). *In vitro*, la réintroduction de la sous-unité catalytique de la télomérase (hTERT) dans les fibroblastes humains suffit à reconstituer une activité télomérase et à stabiliser la longueur des télomères tout en leur permettant ainsi d'échapper à la sénescence. Ces cellules devenues immortelles ne montrent aucune anomalie de leur caryotype ni d'aberration des mécanismes de surveillance du cycle cellulaire (24). En revanche, la combinaison de l'expression de la télomérase à l'effet transformant d'oncogènes (tels que l'antigène T du virus SV40 et H-Ras-V12) confère un phénotype malin aux cellules normales (24). La télomérase n'est pas un oncogène, mais sa perte de fonction joue un rôle direct dans la progression tumorale en conférant l'immortalité aux cellules précancéreuses. De façon remarquable, la télomérase est active dans plus de 80% des tumeurs, toutes origines confondues, alors qu'elle n'est pas détectable dans les tissus sains correspondants (25). D'ailleurs, son activité est fortement corrélée au phénotype malin de nombreuses tumeurs.

La sénescence réplicative est une réponse cellulaire apparentée à la réponse aux dommages de l'ADN.

La modification télomérique responsable de la sénescence est de mieux en mieux définie. Il a été proposé qu'après leur raccourcissement répété l'extrémité télomérique des chromosomes seraient reconnus comme une simple « cassure » de l'ADN, activant ainsi les systèmes de réparation (26). En accord avec cette hypothèse, l'entrée en sénescence s'accompagne d'une augmentation de la fonction transactivatrice de p53 et de l'accumulation de p21WAF1, un inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines, codé par *WAF1*, gène cible de p53 (27) (Figure 2). De plus, le déclenchement et le maintien de l'arrêt réplicatif dépendent de p53, et un état proche de la sénescence est provoqué après irradiation des fibroblastes humains par des rayonnements ionisants (27). Des travaux plus récents ont montré que les fibroblastes humains sénescents accumulent sous forme de foyers la forme phosphorylée de l'histone H2AX (γ -H2AX), un marqueur de sites de cassures de l'ADN (28), ainsi que d'autres

protéines intervenant dans la réparation de l'ADN, comme le complexe MRN, 53BP1 et BRCA1 (Figure 2). Le dommage à l'origine de cette réponse provient directement du dysfonctionnement des télomères (28). De même, les formes phosphorylées actives de la protéine kinase ATM et de sa kinase messager Chk2 s'accumulent dans les cellules sénescentes (28). L'activation d'ATM par les lésions de l'ADN induit la dissociation des dimères inactifs d'ATM en monomères actifs et son autophosphorylation. L'ATM monomérique active est alors recrutée au niveau des sites de cassures de l'ADN où elle phosphoryle de nombreux substrats comme Chk2 et p53 (29). Bien que les mécanismes responsables de l'activation de p53 ne soient pas complètement élucidés, la voie ATM/Chk2 reconnaît très vraisemblablement le signal émis par les télomères érodés et active p53 par phosphorylation (30).

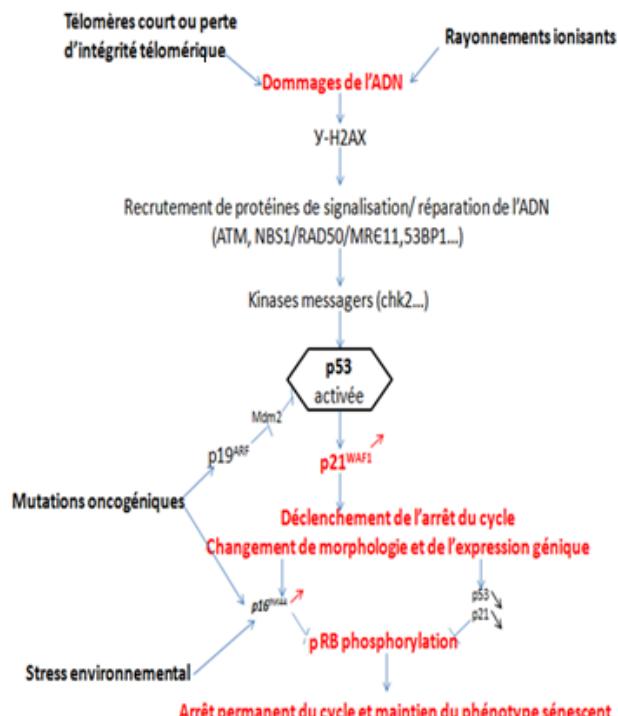


Figure 2. Mécanismes à la base de l'arrêt permanent du cycle cellulaire lors de la sénescence. Divers stimuli peuvent activer un programme commun de sénescence. Le raccourcissement des télomères est le stimulus physiologique le mieux décrit dans l'induction de la sénescence. Cette dernière qui est aussi un mécanisme suppresseur de tumeur peut être déclenchée par l'expression d'oncogènes activés. Le programme effecteur de la sénescence comprend les voies p53/p21WAF1 et p16INK4A/pRb. La protéine p53 est activée par les kinases ATM/Chk2 (médiateurs des systèmes de réparation des dommages de l'ADN) ou par p19ARF (médiateur de la voie signalétique activée par l'oncogène ras). Le facteur p16INK4A serait activé par le stress imposé par des conditions inadéquates de culture et par une stimulation oncogénique déréglée. Les mécanismes responsables de l'accumulation de p16INK4A sont encore méconnus (1).

Induction de la sénescence non télomérique

Plusieurs signaux de stress, à savoir les dommages causés à l'ADN, l'expression de l'oncogène *ras* activé, et le dommage oxydatif (31), activent un programme de sénescence non télomérique, mais qui est morphologiquement et biochimiquement semblable à la sénescence replicative (figure 2). Cette forme de sénescence est appelée stasis (stress or aberrant signaling-induced senescence) et coïncide avec l'activation du locus INK4A/ARF (31). Soulignons que ce locus code pour ARF et l'inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines, p16INK4A, protéines impliquées dans deux voies métaboliques indépendantes, la voie p16INK4A-CyclineD/CDK4- pRb et la voie ARF-Mdm2-p53, respectivement. Dans les

fibroblastes humains, p16INK4A joue un rôle plus prééminent que p14ARF à la fois dans la sénescence induite par l'oncogène *ras* et la sénescence réplique. p16INK4A, mais non p14ARF, s'accumule dans les fibroblastes sénescents après une stimulation oncogénique déréglée ou après épuisement de leur capacité réplique (figure 2). Néanmoins, il n'a toujours pas été montré que le raccourcissement des télomères participe directement à l'accumulation de p16INK4A (30, 32). Des études récentes montrent que l'accumulation de p16INK4A au cours de la sénescence reflète un plus grand stress que celui subi par certains types cellulaires *in vitro* (33). Par exemple, contrairement à ce qui se passe dans les fibroblastes, l'expression ectopique de hTERT seule n'immortalise pas les kératinocytes. L'immortalisation de ces cellules requiert un événement additionnel, l'inactivation de p16INK4A. Celle-ci peut être spontanée, *via* la répression de son promoteur par hyperméthylation, ou expérimentale, à travers l'inactivation de pRb par l'expression de l'oncoprotéine E7 du virus du papillome humain (34). Cultivés dans des conditions adéquates, c'est-à-dire en présence de cellules nourricières, les kératinocytes peuvent être immortalisés par l'expression de hTERT seule (35). Dans ce contexte, cette sénescence indépendante des télomères reflète l'adaptation des cellules aux conditions difficiles de culture en laboratoire. Clairement, un stress environnemental expérimenté par les cellules en culture peut «masquer» la sénescence, qui est uniquement contrôlée par la longueur des télomères. Chez la souris, l'axe p19ARF-p53 sert également à intégrer une variété de signaux antiprolifératifs et oncogéniques. L'immortalité des MEF (mouse embryo fibroblasts) est associée à la perte mutuellement exclusive de la fonction du locus *INK4a/ARF* ou de p53 (36). Jusqu'à très récemment, il subsistait une incertitude sur les rôles respectifs des protéines p16INK4A et p19ARF dans la tumorigenèse murine. L'invalidation du seul gène *p16INK4A* chez la souris montre que l'absence de p16INK4A n'affecte ni la prolifération des MEF, ni leur entrée en sénescence. En revanche, il semble que p19ARF soit le principal acteur du contrôle de la sénescence et de l'immortalisation (37). De même, p19ARF, joue un rôle important dans la sénescence cellulaire induite par l'oncogène *ras* (37). En effet, l'oncogène *ras* active p19ARF, qui se lie à Mdm2, un régulateur de la stabilité de p53. Mdm2 est une ubiquitine ligase qui se lie à p53 pour l'adresser au protéasome où elle est dégradée. L'activation de la voie p19ARFp53 par l'oncogène *ras* explique pourquoi *ras* oncogénique seul ne peut pas efficacement transformer les MEF, mais est capable de transformer les MEF déficients en p19ARF ou p53 (38).

CONCLUSION

En définitive, les dommages spécifiques des extrémités l'ADN chromosomique (les télomères) et l'ADN mitochondrial, jouent un rôle important dans la sénescence cellulaire. Ces deux types de dommages à l'ADN sont fonctionnellement interdépendants. La production d'ERO, est une cause majeure de dommages des télomères et de leur raccourcissement (shortening), résultant éventuellement de la signalisation de la sénescence.

Références

1. Passos JF, Saretzki G, and Zglinicki TV. DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence: is there a connection? Nucleic acids research, 35:7505-13, 2007.
2. Hayflick L, Moorhead PS. La culture de série de souches humaines cellule diploïde. Exp. Cellule Res, 25:585-621, 1965.
3. Holliday R. Comprendre le vieillissement. Cambridge University Press, 1995.
4. Watson JD. Origine des concatémériques T7 ADN. Nat. Nouveau Biol, 239:197-201. 5, 1972.

5. Olovnikov AM. Les télomères, la télomérase, et le vieillissement: l'origine de la théorie. *Exp. Gerontol.*, 31:443-48, 1996.
6. Harley CB, AB Futcher, Greider CW. Les télomères raccourcissent au cours du vieillissement des fibroblastes humains. *Nature*, 345:458-60, 1990.
7. Bodnar AG, Ouellette M, M Frolkis, Holt SE, CP Chiu, Morin Go, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, et al. Extension de la durée de vie par l'introduction de la télomérase dans les cellules humaines normales. *Science*, 279:349-52, 1998.
8. Hayflick L. L'illusion de l'immortalité cellulaire. *Br. J. Cancer*, 83:841-46, 2000.
9. Kirkwood TBL. Comprendre la science impaire de vieillissement. *Cell*, 120:437-47, 2005.
10. Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D, D. Kipling variation allélique étendues et des télomères dans la sénescence ultracourtes cellules humaines. *Nat. Genet.*, 33:203-207, 2003.
11. Zou Y, A Sfeir, Gryaznov SM, Shay JW Wright WE. T une sentinelle ou un sous-ensemble des télomères courts de déterminer la sénescence répllicative? *Mol. Biol. Cell*, 15:3709-18, 2004.
12. Thomas E, Al-Baker, E, S Dropcova, Denyer S, Ostad N, Lloyd A Tuer IR, Faragher RGA. Cinétique différente de la sénescence dans des fibroblastes humains et de cellules mésothéliales péritonéales. *Exp. Cellule Res*, 236:355-58, 1997.
13. Fagagna FdAd, Reaper PM, Clay-Farrace L, H Fiegler, Carr P, von Zglinicki T, G Saretzki, Carter NP, Jackson SP. Une réponse checkpoint endommage l'ADN des télomères dans la sénescence-initiés. *Nature*, 426:194-98, 2003.
14. Martin-Ruiz C, Saretzki G, J Petrie, Ladhoff J, J Jeyapalan, Wei W, J Sedivy, von Zglinicki T. variation stochastique du taux de raccourcissement des télomères entraîne une hétérogénéité de la durée de la vie humaine fibroblastes répllicative. *J.Biol.Chem.* 279:17826-33, 2004.
15. Passos JF, Saretzki G, Ahmed S, Nelson G, Richter T, Peters H, Wappler I, Birkett M, Harold G, et al. Dysfonction mitochondriale des comptes de l'hétérogénéité dans les télomères stochastiques dépendant sénescence. *PLoS Biol*, 5: e110, 2007.
16. von Zglinicki T, Petrie J. la tuberculose Kirkwood. Sénescence répllicative des télomères est axée sur une réponse au stress. *Nat. Biotechnol*, 21:229-230, 2003.
17. Kim SH, Kaminker P, Campisi J. Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending. *Oncogene*, 21: 503-11, 2002.
18. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell*, 106: 661-73, 2001.
19. De Lange T. Protection of mammalian telomeres. *Oncogene*, 21: 532-40, 2002.
20. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell*, 43: 405-13, 1985.
21. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 345: 458-60, 1990.
22. Morales CP, Holt SE, Ouellette M, et al. Absence of cancer-associated changes in human fibroblasts immortalized with telomerase. *Nat Genet*, 21: 115-8, 1999.
23. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 266: 2011-5, 1994.
24. Wynford-Thomas D, Bond JA, Wyllie FS, et al. Does telomere shortening drive selection for p53 mutation in human cancer? *Mol Carcinog*, 12: 119-23, 1995.
25. Gire V, Wynford-Thomas D. Reinitiation of DNA synthesis and cell division in senescent human fibroblasts by microinjection of anti-p53 antibodies. *Mol Cell Biol*, 18:1611-21, 1998.
26. Gire V, Roux P, Wynford-Thomas D, et al. DNA damage checkpoint kinase Chk2 triggers replicative senescence. *EMBO J*, 23: 2554-63, 2004.

27. Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K, et al. DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts. *Genes Dev* 8: 2540-51, 1994.
28. D'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*, 426: 194-8, 2003.
29. Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 421: 499-506, 2003.
30. Abraham RT. Cell cycle checkpoint signaling through the ATM and ATR kinases. *Genes Dev*, 15: 2177-96, 2001.
31. Drayton S, Peters G. Immortalisation and transformation revisited. *Curr Opin Genet Dev*, 12: 98-104, 2002.
32. Wei W, Hemmer RM, Sedivy JM. Role of p14 (ARF) in replicative and induced senescence of human fibroblasts. *Mol Cell Biol*, 21: 6748-57, 2001.
33. Alcorta DA, Xiong Y, Phelps D, et al. Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 13742 7,1996.
34. Beausejour CM, Krtolica A, Galimi F, et al. Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways. *EMBO J*, 22: 4212-22, 2003.
35. Kiyono T, Foster SA, Koop JI, et al. Both Rb/p16INK4A inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature*, 396: 84-8, 1998.
36. Ramirez RD, Morales CP, Herbert BS, et al. Putative telomere-independent mechanisms of replicative aging reflect inadequate growth conditions. *Genes Dev*, 15: 398-403, 2001.
37. Sharpless NE, Bardeesy N, Lee KH, et al. Loss of p16INK4A with retention of p19Arf predisposes mice to tumorigenesis. *Nature*, 413: 86-91, 2001.
38. Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev*, 11: 98-103, 2001.

JOURNAL DES SCIENCES DE LA SANTE ET DE NUTRITION (JSSN)

Présidente et Editeur en chef : Dr. Capo-Chichi D. Callinice

Sécrétaire Général : Yahouédéhou S. C. Modeste A.

Chargé de rédaction : Hounkpe Wilfried

Chargés de communication auprès des médecins et des scientifiques : Tamadaho Ruth Adanho Corynne, Amoussa A. Madjid O.

Chargé de communication auprès des tradipraticiens : Biao Fortuné

Chargé de communication multimédia : Adanho Corynne, Hounkpe Wilfried

Chargé de logistiques: Amoussa A. Madjid O, Chénou Francine, Mekpissi K. Charles

Chargé de reproduction et impression : Sossou-Tchatcha Sylvain

Comité de Publication

- **Equipe de rédaction**

- 1- Capo-chichi D. Callinice
- 2- Amoussa A.E. Roukiyath
- 3- Adanho Corynne
- 4- Chénou Francine
- 5- Hounkpe Wilfried
- 6- Sossou-Tchatcha Sylvain
- 7- Yahouédéhou S. C. Modeste A

- **Equipe de lecture**

- 1- Capo-chichi D. Callinice
- 2- Adanho Corynne
- 3- Amoussa A. Madjid O.
- 4- Biao Fortuné
- 5- Hounkpe Wilfried
- 6- Mekpissi K. Charles
- 7- Sossou-Tchatcha Sylvain
- 8- Yahouédéhou S. C. Modeste A.

- **Consultants**

- 1- Agossa T. Etienne

Adresse de contact

Site Web: <http://www.jsciencesantenustration.blogspot.com/>

Email: journalsciencesantenustration@gmail.com

Dépôt légal N°6043 du 02 Mai 2012

Bibliothèque nationale du Bénin, Porto-Novo, Bénin

ISSN : 1840-6963

Impression

CENTRE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES

Université d'Abomey-Calavi BP 526 COTONOU Tel : 95915761

Notes aux lecteurs

Ces revues sont les meilleures qui ont été sélectionnées parmi les revues rédigées par les étudiants de Master I et Master II de la formation de Biochimie, Biologie Moléculaire et Applications de la faculté des Sciences et techniques (FAST) de l'Université Abomey-Calavi (UAC) au Bénin en 2010 et 2011 sous ma direction. Ces revues bibliographiques mettent en exergue les mécanismes moléculaires qui sont à la base de la transformation de la cellule avant la cancérogenèse.

Nous espérons que ceci encouragera d'autres étudiants et Enseignant-Chercheurs à soumettre leurs travaux ou revues pour être publiés afin d'informer leurs autres collègues de l'avancée de la recherche aussi bien sur le plan national qu'international, en Sciences de la Santé et de la Nutrition. Ces informations sont aussi utiles aux médecins pour la prévention et le traitement du cancer.

Dr. Callinice D. Capo-chichi /Agossa

Tous nos remerciements à l'Université Abomey-Calavi (UAC) pour son soutien lors de la réalisation du premier volume du Journal des Sciences de la Santé et de la Nutrition (JSSN).

Dépôt légal N°6043 du 02 Mai 2012
Bibliothèque nationale du Bénin, Porto-Novo, Bénin
ISSN : 1840-6963
Toute reproduction interdite.