



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie W04144100

MEMOIRE

Présenté par
Abdesslam Nor el houda

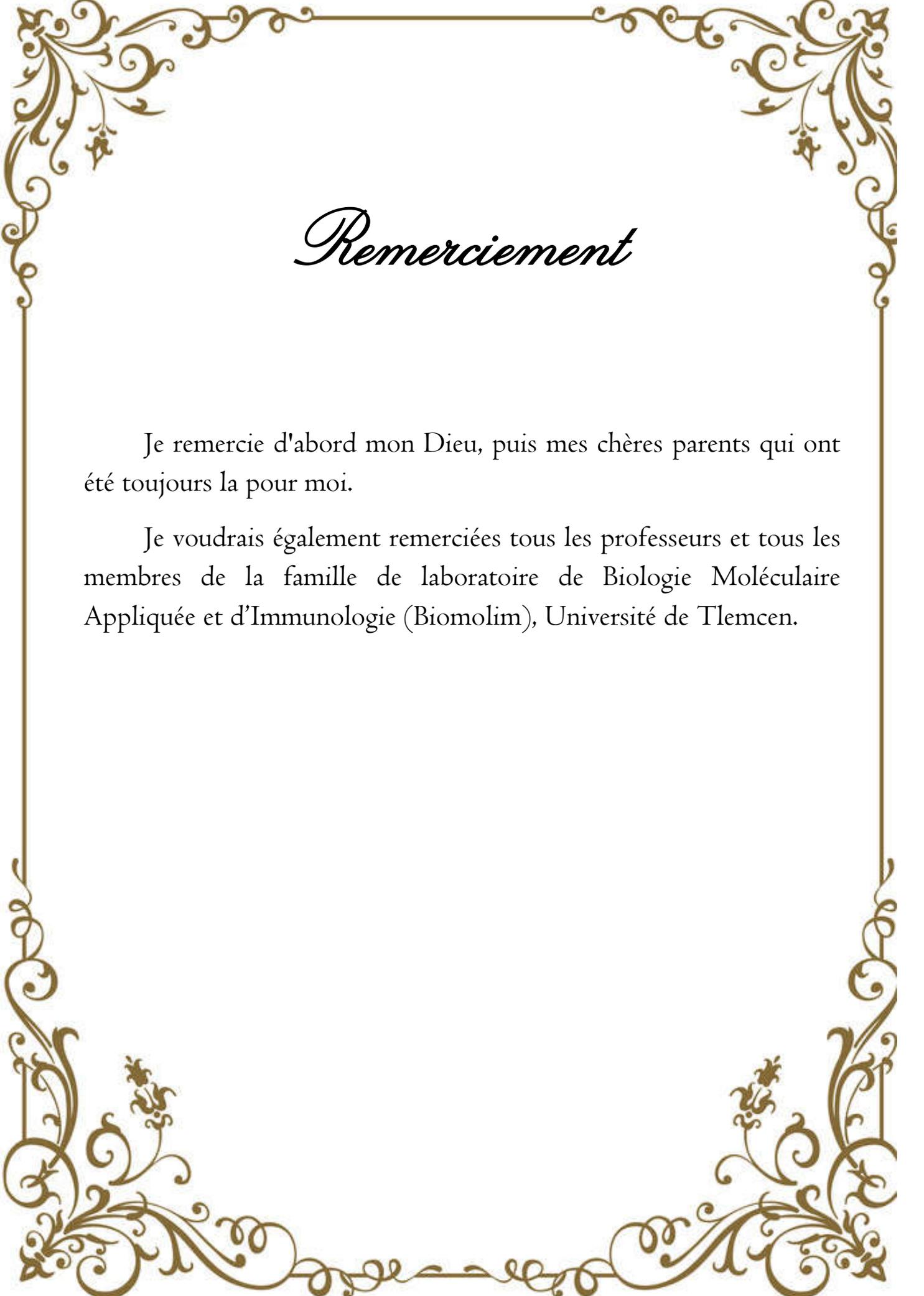
En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
En Immunologie

Thème

Les caspases-3, 8, 9 associée à l'immunité anti-tumorale

Soutenu le 08 Septembre 2020, devant le jury composé de :

Président	Dr EL-MEZOUR C	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr BRAHAMI NABILA	Université de Tlemcen
Examineur	Dr NOUARI WAFFA	Université de Tlemcen



Remerciement

Je remercie d'abord mon Dieu, puis mes chères parents qui ont été toujours là pour moi.

Je voudrais également remercier tous les professeurs et tous les membres de la famille de laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie (Biomolim), Université de Tlemcen.

Résumé

Introduction : L'apoptose est une voie centrale utilisée dans le développement de l'organisme et le maintien de l'homéostasie, avec un rôle crucial dans l'élimination des cellules génétiquement instables ou à croissance aberrante. Les caspases sont les acteurs essentiels dans ce processus, sont des protéases, généralement présentes dans les cellules saines sous forme de zymogènes inactifs, mais lorsqu'elles sont stimulées, elles subissent un clivage autolytique pour devenir pleinement actives. En plus, ont des rôles polyvalents, apoptotique et non apoptotique. À ce contexte, on trouve caspase 3, 8, et 9 qui ont montrés un rôle dans l'immunité anti-tumorale qui sont très différents de leur rôle fondamental dans la mort cellulaire.

Objectif : L'objectif de notre travail est de concevoir des amorces des gènes caspase-3, 8, et 9 pour connaître son effet dans l'immunité anti-tumorale.

Matériels et méthodes : recherche de la séquence des gènes caspase-3, 8, et 9 dans la base de données « ensembl » puis utilisé l'outil « Primer-Blast » pour concevoir les paires d'amorces.

Résultats : à travers l'outil primer blast, on choisit le 1ère paire de base pour chaque'un de ces caspases. En raison de ses produits qui sont inférieures à 900 paires de bases et aussi elles répondent aux conditions requises.

Mots clé : L'apoptose - Caspase 3, 8, 9 – Immunité anti-tumorale – cellules cancéreuses- des amorces.

Abstract

Introduction: Apoptosis is a central pathway used in the development of the organism and the maintenance of homeostasis, with a crucial role in the elimination of genetically unstable or aberrantly growing cells. Caspases are the essential actors in this process, are proteases, usually present in healthy cells as inactive zymogens, but when stimulated, they undergo autolytic cleavage to become fully active. In addition, have polyvalent, apoptotic and non-apoptotic roles. In this context, we find caspase 3, 8, and 9 which have shown a role in anti-tumor immunity which are very different from their fundamental role in cell death.

Objective: The objective of our work is to design primers for the caspase-3, 8, and 9 genes to understand its effect in anti-tumor immunity.

Materials and methods: search for the sequence of the caspase-3, 8, and 9 genes in the « ensembl » database, then used the « Primer-Blast » tool to design the primer pairs.

Results: using the primer blast tool, we choose the 1st base pair for each of these caspases. Due to its products which are less than 900 base pairs and also they meet the requirements.

Keywords: Apoptosis – Caspase-3, 8, 9 - Anti-tumor immunity - cancer cells - primers.

الملخص

مقدمة: موت الخلايا المبرمج هو مسار مركزي يستخدم في تطوير الكائن الحي والحفاظ على التوازن، مع دور حاسم في القضاء على الخلايا غير المستقرة وراثيا أو النمو الشاذ. الكاسبيسات هي اللاعبين الأساسيين في هذه العملية ، وهي البروتياز ، وعادة ما تكون موجودة في الخلايا السليمة كمواد زيموجينية غير نشطة ، ولكن عند تحفيزها فإنها تخضع للانقسام الذاتي لتصبح نشطة بالكامل. بالإضافة إلى ذلك ، لها أدوار متعددة التكافؤ ، أبوتوتيك ، وغير أبوتوتيك. في هذا السياق ، نجد كاسباس 3 و 8 و 9 التي أظهرت دورًا في المناعة المضادة للورم والتي تختلف تمامًا عن دورها الأساسي في موت الخلايا.

الهدف: الهدف من عملنا هو تصميم مواد أولية لجينات كاسباس 3 و 8 و 9 لفهم تأثيرها في المناعة المضادة للورم.

المواد والطرق: البحث عن تسلسل الجينات كاسباس 3 و 8 و 9 في قاعدة بيانات ، ثم استخدم أداة لتصميم أزواج البرايمر.

النتائج: باستخدام أداة التفجير التمهيدي ، نختار الزوج الأساسي الأول لكل من هذه الكاسبيسات. نظرًا لمتجانتها التي تقل عن 900 زوج أساسي، كما أنها تلي المتطلبات..

الكلمات المفتاحية: موت الخلايا المبرمج- كاسباس 3 و 8 و 9- مناعة مضادة للأورام - خلايا سرطانية- البادئات (مواد أولية).

Table des matières

Contenu	Page
Résumé	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre 01 : revue de la littérature	4
1. la famille des caspases	4
1.1. Définition	4
1.2. Classification des caspases	6
1.3. Les types de caspase	7
1.3.1. Les caspases apoptotique	7
• Initiatrices (apicale)	8
• Effectrices (exécuteur)	10
1.3.2. Les caspases inflammatoires	12
1.3.3. Autres caspases	14
1.4. L'activation des caspases	15
1.4.1. Mécanisme d'activation des caspases (procaspase)	15
1.4.2. Mécanismes d'activation des caspases dans l'apoptose	17
• La voie extrinsèque	18
• La voie intrinsèque	19
1.4.3. Autres mécanismes d'activation	21
• Le rôle de la phosphorylation dans l'activation des caspases	22
• Régulation de l'activation des caspases par les kinases	23
• Activation de la caspase apoptotique sans mort cellulaire	23
2. Les rôles et les fonctions des caspases	24
2.1. Au niveau de la cellule (apoptotique et non apoptotique)	24
2.1.1. Rôle apoptotique	24
2.1.2. Rôle non-apoptotique	26
• Activation des caspases dans la différenciation	26
• Mécanismes de prolifération induite par la caspase	27
• rôles mitogènes des caspases	28
2.2. Au niveau de l'immunité anti-tumorale	32

3. la relation entre les caspases 3, 8, 9 et l'immunité anti-tumorale	33
Chapitre 02 : matériel et méthode	38
1. la PCR	38
2. les gènes	39
3. la conception des amorces	40
• Les outils	40
• La méthode	40
Chapitre 03 : résultats et perspectives	+46
1. résultats	46
2. confirmation des résultats	49
• La discussion	59
Conclusion	54
Références bibliographiques	56

Liste de figures

Contenu

Figure 1.1	Structure de caspase.
Figure 1.2	Structure domaine et classification des caspases
Figure 1.3	L'activation de procaspase.
Figure 1.4	L'activation des voies apoptotique
Figure 1.5	Les fonctions non apoptotique des caspases
Figure 2.1	Localisation du CASP3 sur le chromosome 4 humain
Figure 2.2	Localisation du CASP8 sur le chromosome 2 humain
Figure 2.3	Localisation du CASP9 sur le chromosome 1 humain
Figure 2.4	Cherche de caspase-3 sur base de données « ensembl »
Figure 2.5	La séquence étudiée
Figure 2.6	La séquence étudiée copié sur « Word »
Figure 2.7	Logiciel « Primer-Blast »
Figure 2.8	Calcule sur « Word »
Figure 2.9	Travail sur « Primer-BLAST »
Figure 2.10	Remplit les données sur « Primer-BLAST »
Figure 2.11	Cherche le résultat sur « Primer-BLAST »
Figure 3.1	Résultat de CASP3
Figure 3.2	Résultat de CASP8
Figure 3.3	Résultat de CASP9
Figure 3.4	Logiciel de confirmation
Figure 3.5	Confirme le résultat sur « in silico PCR »
Figure 3.6	Confirmation de CASP3
Figure 3.7	Confirmation de CASP8
Figure 3.8	Confirmation de CASP9

Liste des abréviations

TCR	Récepteur de Cellule lymphocytaire T
Bcl2	Famille des protéines du lymphome 2 à cellules B
DR	Récepteurs de la mort
DD	Domaine de la mort
DED	Le domaine effecteur de mort
CARD	Le domaine d'activation et de recrutement de caspase
HMW	Complexes multiprotéiques de haut poids moléculaire
DISC	Le complexe de signalisation inducteur de mort
MOMP	Perméabilisation de la membrane externe mitochondriale
Apaf-1	Facteur 1 d'activation de la peptidase apoptotique
DAMP	Motif moléculaire associés aux dégâts cellulaires
GSDMD	Gasdermine D
ProIL	Pro-interleukins
ICE	Enzyme de conversion de l'interleukine-1 β
ER	Réticulum endoplasmique
CASP	Gène de caspase
LPS	Lipopolysaccharides
TNF	Facteur de nécrose tumorale



Introduction général

Introduction général

Dans les organismes multicellulaires, Le maintien de l'intégrité des tissus pendant le développement de l'organisme et l'homéostasie tissulaire nécessite la coordination précise de plusieurs processus cellulaires, y compris la mort cellulaire. La mort cellulaire est un processus fondamental critique et actif qui élimine les cellules potentiellement nocives. Il existe trois principaux types de mort cellulaire morphologiquement distinctes: l'apoptose (mort cellulaire de type I), la mort cellulaire autophagique (type II) et la nécrose (type III). Tous les trois peuvent être exécutés par des voies de signalisation distinctes, et parfois se chevauchant, qui sont engagées en réponse à des stimuli spécifiques.

L'apoptose est la forme la plus pertinente de mort cellulaire programmée. Il sert à éliminer toutes les cellules inutiles ou indésirables, la mise en forme des organes et l'ajustement du nombre de cellules et est un processus hautement réglementé. Il existe une grande variété de conditions qui entraîneront l'activation de la voie apoptotique qui est activée à la fois par des signaux intracellulaires et extracellulaires. Dans l'apoptose, la mort est exécutée par des programmes moléculaires intrinsèques dans la cellule pour s'assurer qu'il n'y a pas d'impact sur les cellules vivantes environnantes. Notamment, dans l'homéostasie tissulaire, l'apoptose agit également comme un mécanisme de surveillance pour éliminer les cellules endommagées en réponse aux stress environnementaux. Au cours de ces processus, les caspases, un groupe de protéases, ont été bien définies comme les principaux moteurs de la mort cellulaire. L'apoptose est déclenchée lorsque les récepteurs de mort à la surface cellulaire tels que Fas sont liés par leurs ligands (la voie extrinsèque) ou lorsque les protéines proapoptotiques de la famille Bcl2 provoquent la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (la voie intrinsèque). Les deux voies convergent sur l'activation de la famille des caspases protéases, qui est finalement responsable du démantèlement de la cellule.

L'une des caractéristiques de l'apoptose est la rupture du noyau cellulaire. Ce processus en plusieurs étapes comprend la condensation de la chromatine, la fragmentation de l'ADN et l'effondrement de l'enveloppe nucléaire. Les caspases, une famille de protéases dépendantes de la cystéine, jouent un rôle important dans ces événements à la fois par l'activation médiée par la protéolyse d'autres protéines apoptotiques et directement par le clivage des protéines nucléaires. Étant donné que le noyau est la source de protéines et d'acides nucléiques potentiellement immunogènes, ces derniers pouvant avoir une origine virale ou des propriétés oncogènes, sa démolition et son élimination rapides représentent des étapes extrêmement importantes au cours de la mort des cellules apoptotiques.

L'apoptose peut être induite par un certain nombre de facteurs, tels que l'irradiation γ , les agents endommageant l'ADN, le retrait des nutriments, les conditions hypoxiques ou l'activation des récepteurs de la mort (DR). Alors que l'apoptose est généralement considérée comme non lytique et supprime tranquillement les cellules endommagées, infectées et vieillissantes sans alarmer le système immunitaire.

Introduction général

Dans certains cas, les cellules apoptotiques sécrètent des signaux de croissance pour stimuler la prolifération des cellules voisines. Cette voie fonctionne pour régénérer les tissus de plusieurs organismes, mais elle pose également des problèmes de résistance des tumeurs à la chimiothérapie et à la radiothérapie. La mort cellulaire programmée était auparavant considérée comme irréversible après la perméabilisation mitochondriale et l'activation de la caspase. Des découvertes récentes remettent en question la notion d'irréversibilité de l'apoptose et créent une image plus compliquée de notre compréhension des caspases «apoptotiques» conventionnelles. Généralement, ces caspases apoptotiques sont une famille des enzymes évolutive impliquées dans la mort cellulaire et les réponses inflammatoires.

Ce n'est pas surprendre, une régulation incorrecte des caspases et de l'apoptose sous-tend la pathogenèse de nombreuses maladies humaines. Le plus notable d'entre eux est le cancer. Le cancer est la principale cause de décès dans le monde. L'une des caractéristiques du cancer humain est l'évasion de l'apoptose. Par conséquent, de nombreuses thérapies existantes contre le cancer visent à surmonter l'évasion de l'apoptose en ciblant différentes voies de caspase. Bien que la plupart d'entre eux le fassent indirectement, de nouvelles perspectives sur les fonctions des caspases et de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur un ciblage direct des caspases commencent à être prometteuses.

La PCR est une technique largement utilisé dans plusieurs disciplines dont elle sert à sélectionner puis amplifier un fragment d'ADN en une très grande quantité d'ADN particulières. Ce processus se fait à travers un enchainement des étapes bien déterminées incluant des acteurs génétiques. Le choix d'amorces est une étape primordiale dans la réussite de la PCR et l'étude de l'expression de n'importe quel gène.

Objectif : À partir de cela et sur la base de tout ce qui précède. Dans cette étude, il est important pour nous de connaître le rôle principal et efficace de ces enzymes au cours de la mort cellulaire et indépendant de ce processus. En particulier, les caspases 3, 8, et 9 associées à l'immunité anti-tumorale.



CHAPITRE I :

Revue de littérature

CHAPITRE I : revue de littérature

1. la famille des caspases :

1.1. Définition :

Les caspases sont une famille de protéases cystéine-acide aspartique intracellulaires conservées, qui sont présentes dans la plupart des cellules sous forme de zymogènes à chaîne unique enzymatiquement inactifs appelés « procaspases »(Kesavardhana et al., 2020). Qui se composent d'un prodomaine, d'une petite sous-unité catalytique p10 et d'une grande sous-unité catalytique p20(Dabrowska et al., 2016) respectivement 20 kDa et 10 kDa qui forment ensemble le domaine de la protéase(Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Au cours du processus d'activation, formant en outre des complexes pour l'activité enzymatique. Ils nécessitent un clivage dans des conditions cellulaires apoptotiques pour être activés(Dabrowska et al., 2016). Lors de l'induction de l'apoptose, un zymogène est clivé au niveau de résidus d'aspartate spécifiques, puis de grandes et petites sous-unités forment un hétérotétramère enzymatiquement actif (p20 – p10)(Zamaraev et al., 2017). Ce qui formant en outre des complexes pour l'activité enzymatique(Kesavardhana et al., 2020).

Sur la base de la structure, Toutes les caspases contiennent un domaine de caspase C-terminal qui traite protéolytiquement la protéine cible. Certaines des caspases contiennent des domaines non enzymatiques tels que le domaine effecteur de mort (DED) ou le domaine d'activation et de recrutement de caspase (CARD) à leur extrémité N, et Plusieurs caspases contiennent des domaines CARD. Les domaines DED et CARD appartiennent à une superfamille de domaine de la mort (DD) et sont connus pour faciliter l'assemblage de grands complexes de signalisation oligomères par auto-association et interactions protéine-protéine avec des protéines contenant DED / CARD. L'oligomérisation dépendante de DED / CARD peut déclencher une activation dépendante de la proximité des caspases ou activer des fonctions indépendantes de la caspase(Kesavardhana et al., 2020). Procaspases subissent une dimérisation ou une oligomérisation pour activation, qui ont un domaine effecteur mort (DED) et qui se lie à la protéine adaptatrice à son DED(Pfeffer and Singh, 2018).

Des prodomaines N-terminaux, les caspases apoptotiques peuvent être subdivisées en caspases initiatrices (ou apicales) et effectrices (ou exécuteurs). Les caspases initiatrices ont des prodomaines allongés qui contiennent soit les

domaines effecteurs de mort (DED, par exemple pour la caspase 8) soit les domaines de recrutement de caspases (CARD, par exemple pour la caspase 9). En revanche, les caspases effectrices ont de petits prodomaines. Ces caspases ont également des fonctions et des substrats distincts au cours du processus d'apoptose. Les caspases initiatrices clivent les caspases pro-effectrices inactives et les activent. Ils sont donc aussi appelés caspases apicales. En revanche, les caspases effectrices, une fois activées par les caspases initiatrices, clivent davantage leur large gamme de protéines cellulaires conduisant à l'exécution de la mort cellulaire. Ils ont donc un autre nom comme caspases d'exécuteurs (Dabrowska et al., 2016).

Les caspases sont une famille de 18 cystéines protéases identifiées (Shalini et al., 2015), déterminant le destin qui sont les plus connues pour conduire à la mort cellulaire, soit l'apoptose ou la pyroptose (Julien and Wells, 2017) (Dabrowska et al., 2016). Leur nom dérive de l'expression **cystéine-aspartique protéase**, À partir de l'utilisation courante d'une chaîne latérale **Cys** agissant comme nucléophile lors de l'hydrolyse des liaisons peptidiques, et d'une rare spécificité primaire pour le clivage après **Asp** - ce sont des **protéases** spécifiques à l'aspartate dépendant de la cystéine (Ramirez and Salvesen, 2018).

Les caspases sont généralement divisées en initiateurs et effecteurs en fonction de leur structure et de leur fonction dans l'apoptose (Gorelick-Ashkenazi et al., 2018). Ce qui mène à la fois comme des enzymes clés responsables de l'initiation et de l'exécution de régulation de la mort cellulaire apoptotique (Zamaraev et al., 2017). Impliquées dans les réponses inflammatoires et dans les réponses immunitaires innées.

La famille des caspases humaines régule les fonctions biologiques cruciales (Julien and Wells, 2017), et qui peuvent cliver des substrats situés dans différents compartiments intracellulaires pendant l'apoptose (Kopeina et al., 2018). Des milliers de substrats potentiels de caspases ont maintenant été identifiés, mais chacun est clivé à des rythmes différents, et de préférence par différents membres de la famille (Julien and Wells, 2017). Leur activation dépend de la formation d'un complexe protéique multimère appelé apoptosome, qui clive et active les caspases "initiatrices" (Pérez-Garijo, 2018). Alors que les procaspases sont normalement situées dans le cytosol, leurs substrats semblent être répartis également entre tous les compartiments intracellulaires (Kopeina et al., 2018).

Les caspases apoptotiques ont longtemps été étudiées pour leur rôle dans la mort cellulaire programmée et la suppression des tumeurs. Avec les découvertes récentes, cependant, il devient évident que ces exécuteurs de mort cellulaire sont impliqués dans des voies biologiques supplémentaires au-delà de la destruction des cellules (Zhao et al., 2018). Il est important de noter que de faibles niveaux d'activité de caspase effectrice, qui sont bien en deçà du seuil requis pour induire l'apoptose, peuvent inhiber puissamment ce processus. Ces résultats peuvent avoir des implications pour la radiothérapie dans le traitement du cancer (Gorelick-Ashkenazi et al., 2018). Une compréhension approfondie de ces mécanismes est essentielle pour favoriser le développement de cibles thérapeutiques précises pour traiter les troubles auto-inflammatoires, les maladies infectieuses et le cancer (Kesavardhana et al., 2020). (figure 1.1)

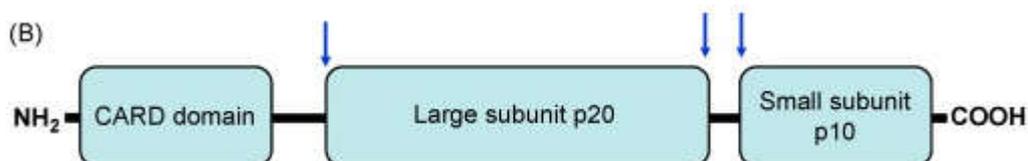


Figure 1.1 : structure de caspase.

1.2. Classification des caspases :

L'apoptose est réalisée par des caspases (cysteine aspartyl-specific proteases) qui sont une classe de protéines de cystéine qui clivent les protéines cibles. L'activité protéase de la caspase est essentielle au succès de l'apoptose car elle clive des centaines de protéines diverses (Pfeffer and Singh, 2018). Une compréhension plus approfondie de la biologie des caspases repose sur de nombreuses facettes, y compris la façon dont chaque caspase est activée, quels substrats ils clivent, quelles fonctions biologiques ils dirigent chacun et dans quel contexte cellulaire (Julien and Wells, 2017). C'est par le clivage de ces substrats que les caspases assurent la médiation de bon nombre des caractéristiques de la mort cellulaire (McArthur and Kile, 2018).

En raison de la différence dans la dénomination des caspases et dans leurs mode d'emploi et leurs façon d'activation, on distingue 18 caspases de mammifères sont connues (Shalini et al., 2015). Selon de leur fonction, classées en deux grands groupes: les caspases-2, -3, -6, -7, -8, -9 et -10 sont des caspases apoptotiques, alors que les caspases-1, -4, -5, -11 et -12 sont impliquées dans l'inflammation (Shalini et al., 2015). Les caspases apoptotiques et inflammatoires

ont des mécanismes biochimiques et biologiques modérément bien définis. Les caspases apoptotique peuvent être subdivisées en caspases initiatrices (caspases-2, -8, -9 et -10) et effectrices (caspases-3, -6 et -7)(Ramirez and Salvesen, 2018). Cependant, les caspases-15, -17 et -18 nouvellement identifiées sont absentes chez les mammifères placentaires à l'exception de la caspase-16 (figure 1.2). Il est également important de noter que la caspase-5 n'est pas présente chez la souris et que le caspase-11 est l'orthologue murins et caspase-13 est l'orthologue bovins de la caspase-4 humaine. La caspase-12 existe à la fois dans les allèles tronqués et pleine longueur chez l'homme et en tant que caspase pleine longueur chez les rongeurs. La caspase-14 est exprimée dans l'épiderme et joue un rôle principal dans la carnification et la protection des couches sous-jacentes de la peau(Shalini et al., 2015).(figure 1.2)

1.3. Les type de caspases :

1.3.1 Les caspases apoptotique :

Les caspases apoptotique fonctionnent principalement pour initier et exécuter l'apoptose, qui est principalement immunologiquement silencieuse(Kesavardhana et al., 2020) .Ces caspases apoptotique sont en outre sous-groupes en tant que caspases initiatrices "2, 8, 9, 10" et effectrices "3, 6, 7"en fonction de leur ordre de fonction dans l'exécution de l'apoptose (Kesavardhana et al., 2020). Et selon leur emploi dans la cascade des caspases et les mécanismes d'activation(Zamaraev et al., 2017).

Dépendamment de cela, Il existe trois points de références importantes et essentielles pour une discussion sur le rôle des caspases apoptotique dans la médiation de la mort cellulaire entraînée par la voie intrinsèque. Premièrement, ils sont classés par structure et fonction comme «initiateur» ou «exécuteur».comme un exemple, la caspase-9 possède des pro-domaines (contenant une CARD ou un domaine effecteur de mort, DED) qui facilitent leur recrutement et leur activation via la dimérisation. La caspase-3 est la mieux caractérisée des exécuteurs, qui manquent de pro-domaines et s'activent lorsque les caspases initiatrices les clivent. Deuxièmement, ils fonctionnent comme une cascade, l'activation de la caspase-9 conduisant au clivage et à l'activation de la caspase-6, aboutissant à l'activation de la caspase-3 et de la caspase-7. Troisièmement, les caspases-3 et -7 d'exécuteur ont des centaines, voire des milliers de substrats(McArthur and Kile, 2018).

- **Initiatrices : (apicale)**

Il existe quatre caspases d'initiateur (caspase-2, -8, -9, 10)(Pfeffer and Singh, 2018). Ces caspases, agissent comme des amplificateurs de signal protéolytiques pour activer les caspases effectrices(Kesavardhana et al., 2020). Les caspases initiatrices sont recrutées dans des complexes multiprotéiques de haut poids moléculaire (HMW), où elles subissent une activation autocatalytique conduisant à l'induction de la mort cellulaire apoptotique. Les caspases initiatrices possèdent un long prodomaine qui contient un domaine de recrutement d'activation de caspase (CARD) ou un domaine effecteur de mort (DED), permettant leur recrutement dans des complexes HMW(Zamaraev et al., 2017).

Les caspases initiales humaines-8, -9 et -10, contiennent toutes un long prodomaine et préfèrent des substrats avec une leucine ou une valine en position P4(Julien and Wells, 2017).

Caspase 2 : c'est le Nedd2, renommée caspase-2(Shalini et al., 2015). La caspase-2 a été signalée pour jouer de nombreux rôles à l'intérieur et à l'extérieur des réseaux apoptotique, et des données récentes suggèrent sa participation à la régulation du cycle cellulaire (Ramirez and Salvesen, 2018). C'est la seule caspase initiatrice pour laquelle la localisation nucléaire a été décrite comme un moyen de réguler ses fonctions(Prokhorova et al., 2018). Bien que la caspase-2 ait été caractérisée comme caspase initiatrice en raison de son long prodomaine, sa spécificité de substrat est plus similaire aux caspases de type exécuteur (Julien and Wells, 2017).

La caspase-2 est activée à travers d'une seule plate-forme d'activation, un complexe macromoléculaire multiprotéiques PIDDosome. Qui comprend une protéine PIDD contenant le domaine de la mort régulé par p53 (DD) et une protéine adaptateur RAIDD contenant CARD et DD(Zamaraev et al., 2017). En réponse au stress génotoxique et à l'échec de la cytokinèse pour inhiber la prolifération cellulaire, et lors de dommages à l'ADN (Kesavardhana et al., 2020).

Au cours de la voie apoptotique extrinsèque, la phosphorylation de la caspase-2 par la protéine kinase CK2 (PKCK2) à S157 s'est avérée avoir un rôle inhibiteur dans l'induction de l'apoptose(Zamaraev et al., 2017). Inversement, le statut métabolique de la cellule contrôle l'activité de la caspase-2 et la voie apoptotique(Zamaraev et al., 2017).

Caspase 8 : La caspase-8 est la principale caspase initiateur de l'apoptose extrinsèque, qui est induite par des signaux externes activée au niveau des chaînes DED du DISC (le complexe de signalisation inducteur de mort) et donc conduit à l'apoptose(Asadi et al., 2018)(Dabrowska et al., 2016). Aussi bien connue pour participer en clivant et en activant directement les caspases effectrices-3 et -7, entre autres(Julien and Wells, 2017). Il s'exprime et constitutive largement dans la plupart des cellules de rongeurs et humaines (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Le gène (CASP8) propageant un signal létal en réponse à l'engagement des récepteurs de mort de la membrane plasmique ou de la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (MOMP)(Galluzzi et al., 2016). La caspase-8 subit une phosphorylation dans les cellules mitotiques, qui sert probablement de mécanisme de protection contre l'induction de la mort cellulaire au cours de la mitose(Zamaraev et al., 2017).

La caspase-8 interagit avec le complexe multiprotéique pour améliorer le clivage des substrats d'adhésion focale et la migration cellulaire. D'ailleurs, son abatte est perturbe les métastases dans le neuroblastome in vivo. Ont rapporté que la caspase-8 contribue à la migration cellulaire(Zhao et al., 2018). Tandis que son inhibition abaisse la migration et l'invasion des cellules du glioblastome(Zhao et al., 2018).

Caspase 9 : La caspase-9 est une clé dans la caspase d'initiateur de l'apoptose intrinsèque activée au niveau de CARD dans l'apoptosome sur une grande variété d'inducteurs de mort cellulaire. Par conséquent, il n'est pas surprenant que divers stimuli extrinsèques et intrinsèques conduisent à de multiples événements de phosphorylation qui régulent l'activation de la caspase-9 en maintenant l'induction de la mort cellulaire sous contrôle strict (Zamaraev et al., 2017). Ce caspase est l'exemple archétypal des premiers, qui possèdent des pro-domaines (contenant une CARD ou un domaine effecteur de mort, DED) qui facilitent leur recrutement et leur activation via la dimérisation(McArthur and Kile, 2018).

Remarquablement, la phosphorylation de la caspase-9 était causée par des stimuli extrinsèques(Zamaraev et al., 2017). Ce processus de phosphorylation pourrait jouer un rôle dans le basculement entre l'apoptose et la nécrose(Zamaraev et al., 2017). Collectivement, une multitude de réseaux de phosphorylation contrôlent des voies de mort cellulaire distinctes régulées par la

caspase-9, fournissant un code réglementaire supplémentaire conduire à la promotion de son activité(Zamaraev et al., 2017).

La caspase-9 initiatrice subit une autoactivation entre les grandes et petites sous-unités du domaine catalytique, induite par la proximité dans la voie dite de «l'apoptose intrinsèque». Outre la caspase-9, ce complexe multi-protéique cytosolique en forme de roue est composé de 7 à 8 unités activatrices du facteur 1 d'activation de la peptidase apoptotique (Apaf-1) qui se lie au nucléotide d'ATP et au cytochrome c mitochondrial, dont la fuite cytosolique sert de un marqueur de dommages mitochondriaux étendus et de perméabilisation de la membrane externe mitochondriale(Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). L'inhibition de l'activation de la caspase-9 et de l'apoptose, qui est observée dans ce cas, pourrait donner lieu à un autre programme de mort cellulaire, tel qu'une nécrose programmée. Cette dernière est fortement associée à l'inhibition de la caspase et serait induite par ces stimuli extracellulaires(Zamaraev et al., 2017).

Caspase 10 : la caspase 10 est une enzyme protéolytique. C'est une autre caspase initiatrice qui est activée au DISC, car la procaspase-10 se lie à la protéine adaptatrice, qui se forme le complexe de signalisation inducteur de mort (DISC)(Pfeffer and Singh, 2018). Les rapports sur la régulation de l'activité de la procaspase-10 via la phosphorylation sont assez pauvres(Zamaraev et al., 2017).

Bien qu'il y ait eu un débat sur la fonction de la caspase-10, la pensée actuelle est qu'elle participe à l'activation de NF- κ B en reconnecter le DISC vers des résultats de survie cellulaire, et dans l'apoptose des lignées cellulaires privées de caspase-8(Ramirez and Salvesen, 2018).

- **Effectrices : (exécuteur)**

Et il existe trois caspases effectrices (caspase-3, -6 et -7)(Pfeffer and Singh, 2018). Les caspases effectrices avec des prodomaines courts sont activées par des caspases initiatrices. Ces caspases jouent un rôle clé dans l'exécution de la mort cellulaire et clivent plusieurs substrats cellulaires, conduisant à la démolition de la cellule(Zamaraev et al., 2017). Ainsi que Les caspases d'exécuteur apoptotique sont responsables des changements morphologiques caractéristiques de l'apoptose qui incluent le saignement membranaire, le rétrécissement cellulaire, la formation de «corps apoptotique» et la fragmentation de l'ADN chromosomique(Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Les caspases d'exécution effectuent la destruction et sont produites sous forme de dimères inactifs dépourvus de domaines d'interaction protéique. L'activation est due au clivage protéolytique entre ce qui sera les grandes et petites sous-unités de l'enzyme mature. Lors du clivage, les nouvelles extrémités se replient dans l'interface dimère et favorisent les changements de conformation pour créer deux sites actifs dans la protéase mature (Green and Llambi, 2015).

Les caspases effectrices apoptotique -3, -6 et -7 qui partagent un court pro-domaine similaire, et sont classiquement décrites comme les «exécuteurs de l'apoptose» (Julien and Wells, 2017). Ce sont clivent protéolytiquement plusieurs protéines cellulaires à leurs sites cibles pour faciliter l'apoptose (Kesavardhana et al., 2020).

Caspase 3 : la caspase-3 est la première caspase apoptotique de bonne foi - avait été identifiée (McArthur and Kile, 2018). Considérer comme la molécule la mieux caractérisée des exécuteurs, qui manquent de pro-domaines et s'activent lorsque les caspases initiatrices les clivent (McArthur and Kile, 2018). Cela signifie que se activée par caspase-8 ou caspase-9, Ce qui mène clivage de nombreuses protéines qui contribuent à l'intégrité structurale et bioénergétique de la cellule (Galluzzi et al., 2016).

Tandis que, c'est une caspase importante lors de la mort des cellules apoptotique, qui active des protéines cellulaires clés pour favoriser le démantèlement de la cellule (Zamaraev et al., 2017). Où elle a un rôle principal dans la dégradation du noyau et des autres compartiments cellulaires pendant l'apoptose (Prokhorova et al., 2018). Aussi bien le rôle facilitateur de la caspase-3 dans la cancérogenèse a également été confirmé dans la transformation induite par Myc des cellules épithéliales mammaires humaines (Zhao et al., 2018).

Caspase 6 : la caspase-6 a été caractérisée comme une caspase exécuter en raison de son court prodomaine et motif de reconnaissance de séquence, mais l'activation de la caspase-6 seule n'est pas suffisante pour conduire à l'apoptose dans toutes les cellules (Julien and Wells, 2017). Il a été démontré que la caspase-6 clive la Lamine A pour favoriser la condensation chromosomique pendant l'exécution apoptotique, et sa présence été observée de manière cruciale dans les troubles neurodégénératives inflammatoires telles que la maladie de Huntington et en particulier dans la maladie d'Alzheimer (Kesavardhana et al., 2020).

Caspase 7 : La caspase-7 est encore une autre caspase effectrice. Le zymogène de cette caspase apoptotique est un homodimère inactif qui acquiert une activité protéolytique lorsque les caspases initiateur et exécuteur activées coupent le lien qui sépare leurs grandes et petites sous-unités catalytiques (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Aussi la caspase-7 a des fonctions indépendantes de l'activité de la caspase-9 (Dabrowska et al., 2016). En outre, elle assure l'achèvement du processus apoptotique dans l'apoptose induite par des médicaments ; et la fragmentation de l'ADN.

1.3.2 Les caspases inflammatoires :

Les caspases inflammatoires comprennent (caspases -1, -4, -5, -11 et -12), et sont fonctionnellement distinctes des caspases apoptotiques (Kesavardhana et al., 2020). Elles varient sur la base des points communs d'avoir un long domaine de recrutement des caspases et d'une préférence pour un gros résidu aromatique ou hydrophobe en position P4 (Julien and Wells, 2017).

Ces caspases inflammatoires sont activées par l'assemblage d'un complexe macromoléculaire oligomère appelé « l'inflammasome » (Kesavardhana et al., 2020), qui est une étape essentielle de la réponse immunitaire aux agents pathogènes microbiens (Zamaraev et al., 2017). L'activation de la caspase inflammatoire induit une forme lytique de mort cellulaire inflammatoire appelée pyroptose et déclenche également la sécrétion de DAMP pour favoriser l'inflammation (Kesavardhana et al., 2020). Bien que ces caspases supplémentaires soient incapables de cliver le proIL-1 β et le proIL-18 en cytokines bioactives, il a été démontré que chacune clive le GSDMD et induit une pyroptose (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Caspase 1 : la caspase-1, la première caspase à découvrir (Ramirez and Salvesen, 2018). C'est un régulateur de l'inflammation pro-in production de cytokines (McArthur and Kille, 2018), qui nécessite l'assemblage de complexes inflammasome pour son activation (Kesavardhana et al., 2020).

L'enzyme de conversion de l'interleukine-1 β (IL-1 β) (ICE), qui connue maintenant sous le nom de caspase-1. A été découverte comme l'enzyme qui clive et active les précurseurs des cytokines, et les cytokines pro-inflammatoires primaires. Donc, elle responsable du traitement de proIL-1 β inactif en IL-1 β actif dans les macrophages qui impliquée dans l'inflammation (Ramirez and Salvesen, 2018). Également traité et activé le ProIL-18, connu sous le nom de facteur inducteur d'interféron-gamma (Ramirez and Salvesen, 2018). Cela

confirme le rôle essentiel de la caspase-1 dans la sécrétion d'IL-1 β et sponsorise l'inflammation en effectuant la maturation des pro-interleukines (Ramirez and Salvesen, 2018). En outre, pyroptose Ce mode de mort cellulaire régulé par la caspase-1 coïncide fréquemment avec la sécrétion d'IL-1 β et d'IL-18 et la libération de DAMP (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Il a été démontré que la caspase-1 est largement dispensable pour l'apoptose (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Bien qu'il puisse lier à la lyse cellulaire induite par le clivage du GSDMD (Ramirez and Salvesen, 2018).

Caspase 4 : Il est également considéré comme régulateurs de l'inflammation pro-in production de cytokines (McArthur and Kile, 2018). Caspase-4 est homologue à la caspase-12 de souris.

L'expression transitoire de la caspase-4 peut entraîner la mort des cellules apoptotique dans une variété de lignées cellulaires. Comprenant leur implication dans l'apoptose induite par le stress du réticulum endoplasmique (ER). Où dans les cellules, la caspase-4 est principalement localisée sur la membrane externe de l'ER ().

Caspase 5 : Il est l'autre un régulateurs de l'inflammation pro-in production de cytokines (McArthur and Kile, 2018). Classiquement, la caspase-5 a été attribuée à un rôle dans la cancérogenèse. Où des mutations somatiques dans le gène CASP5 ont été identifiées dans divers types de cancer.

Caspase 11 : La caspase-11 murine est l'orthologue des caspases humaines 4 et 5, et qui est impliquée dans l'activation de la procaspase-1 dans les macrophages infectés par des agents pathogènes bactériens (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Où la caspase 11 fournit une protection immunitaire contre les bactéries qui pénètrent dans le cytosol de la cellule hôte, Et il est directement activé en détectant le LPS pour induire la pyroptose et l'activation indirecte de l'inflammasome (Kesavardhana et al., 2020). L'activation de la caspase-11 entraîne également la stimulation de l'inflammasome NLRP3 et la production d'IL-1 β et d'IL-18.

Le gène codant pour la caspase-11 est adjacent au gène codant pour la caspase-1 sur le même chromosome (Kesavardhana et al., 2020). Tandis que le substrat clé de la caspase-11 semble être une protéine cytoplasmique appelée Gasdermine D.

Caspase 12 : La caspase-12 est également une caspase inflammatoire, ce caspase semble servir d'intermédiaire pour l'apoptose induite par le stress des ER

mais est dispensable pour l'apoptose induite par des stimuli classiques. La caspase-12 subit un auto-clivage mais ne clive pas les autres caspases. Il a été démontré qu'il interagit avec la caspase-1 et -5 dans les macrophages et inhibe l'activité de la caspase-1 et la libération d'IL-1 β . La caspase-12 ne supprime pas l'activité de la caspase-1 (Kesavardhana et al., 2020).

Quelques exemples apparents incluent l'observation que seuls des sous-ensembles de la population humaine expriment de manière détectable la caspase-12 (Julien and Wells, 2017).

1.3.3 Autres caspases :

La classification des groupes ne met pas non plus en évidence avec précision les contextes cellulaires spécialisés dans lesquels certaines caspases peuvent fonctionner (Julien and Wells, 2017). La chose qui distingue la présence de la caspase qui n'appartient à aucun des groupes ci-dessus, telle que.

Caspase 13 : La caspase-13, également connue sous le nom d'ERICE, est un inhibiteur de la cystéine protéase d'origine bovine. Qui a été initialement confondue avec une protéine humaine, Plus tard il a été considéré comme un orthologue bovin de la caspase-4 humaine. Et il est impliqué dans l'apoptose.

Les inhibiteurs de la caspase-13 sont intéressants pour étudier le rôle de la caspase-13 dans des maladies telles que le cancer et la neurodégénérescence. Et un rôle possible lui a été attribué dans le développement des follicules dominants au cours du cycle menstruel (Galluzzi et al., 2016).

Caspase 14 : Le dernier ajout aux caspases humaines, La caspase-14. Elle n'est pas classée comme caspase apoptotique ou inflammatoire (Kesavardhana et al., 2020). Bien que mécaniquement obscur, semble avoir un rôle hautement spécialisé. Il est connu pour participer dans le processus de différenciation cellulaire épidermique des kératinocytes humains (Julien and Wells, 2017).

Caspase 16 : existe en tant que pseudogène chez la souris, l'homme et plusieurs autres mammifères, mais n'a pas été étudié en détail jusqu'à présent (Galluzzi et al., 2016).

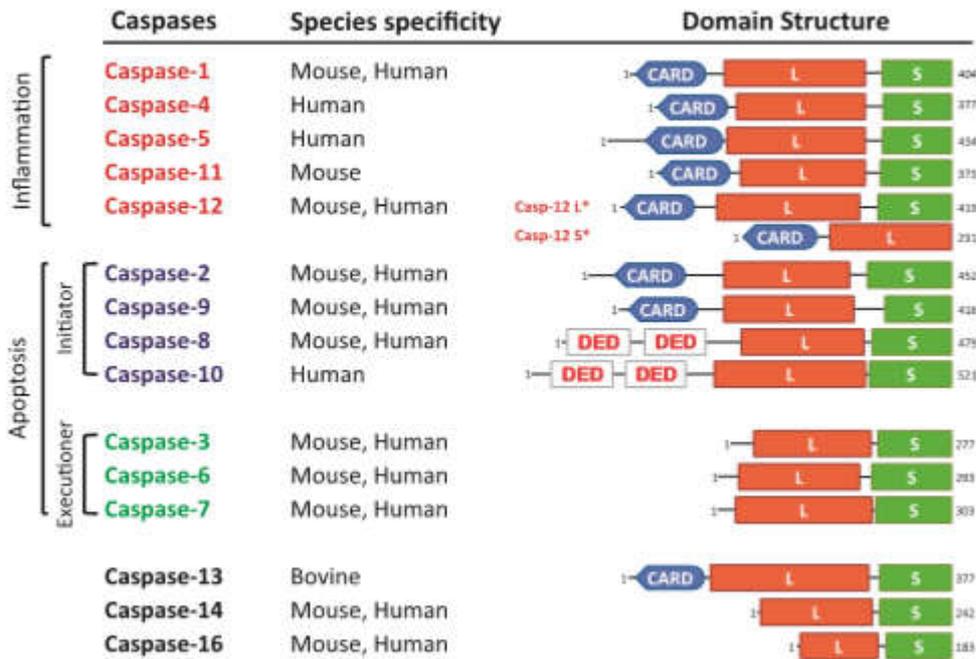


Figure 1.2 : structure domaine et classification des caspases.

1.4. L'activation des caspases :

La plupart des stress cellulaires, tels que les dommages à l'ADN ou le stress du réticulum endoplasmique (ER), engagent activement l'apoptose lorsque les cellules sont endommagées au-delà de la réparation. À l'inverse, l'absence de signal, comme ceux activés par des facteurs de croissance, peut aussi entraîner la mort cellulaire (Green and Llambi, 2015). Où le clivage des protéines nucléaires par les caspases favorise la dégradation nucléaire, et par conséquent, joue un rôle clé dans l'exécution de l'apoptose (Prokhorova et al., 2018). Alors, l'apoptose implique l'activation des caspases, qui orchestrent tous les changements morphologiques qui caractérisent cette forme de mort cellulaire (Green and Llambi, 2015).

1.4.1. Mécanisme d'activation des caspases (procaspase) :

Les caspases sont un groupe de protéases à cystéine. Elles sont présentes dans le cytoplasme sous la forme d'un zymogène inactifs à chaîne unique dite « les procaspases », en attente de signaux d'activation appropriés pour l'activer (Ramirez and Salvesen, 2018). De lui, les procaspases vont ensuite être clivées et dimérisées pour former les caspases actives.

Les zymogènes des caspases initiatrices, sont des monomères inertes (Ramirez and Salvesen, 2018). Ces procaspases nécessitent une dimérisation pour l'activation. Laquelle, la dimérisation est l'événement d'activation fondamental, après recrutement sur un échafaudage protéique et / ou un clivage protéolytique du lieu inter-sous-unités entre les petites et grandes sous-unités (Julien and Wells, 2017). Les caspases initiatrices sont adaptés par des molécules adaptatrices sur des plateformes d'activation oligomères suite à un signal apoptotique. Le modèle de proximité induite postule que l'augmentation locale de la concentration entraîne une dimérisation induite par la proximité et donc une activation (Ramirez and Salvesen, 2018).

D'autre part, les procaspases effectrices, sont exprimées sous la forme de dimères constitutifs obligatoires et le clivage à l'intérieur de la région de liaison inter-sous-unités, soit par des initiateurs soit par autoprotéolyse, induit une activation (Julien and Wells, 2017). Lequel est exécuté par un linker séparant les grandes et petites chaînes. Le traitement protéolytique du lieu permet l'assemblage du site catalytique par le réarrangement des boucles mobiles caractéristiques. L'autoprotéolyse entraînant l'élimination du domaine pro N-terminal ou le clivage du lieu inter-chaîne suit parfois l'activation (Ramirez and Salvesen, 2018).

En brièvement, le processus d'autoactivation induite par la proximité du zymogène caspase dans la protéase active est entraîné par des changements conformationnels induits par la dimérisation qui conduisent à l'excision protéolytique des régions de liaison flexibles séparant le prodomaine et les sous-unités catalytiques grandes et petites (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Et de là, les caspases d'initiateur sont activées dans de grands complexes protéiques multimères distincts, tandis que les caspases effectrices sont activées par les caspases d'initiateur (Gorelick-Ashkenazi et al., 2018).

Lors de l'activation, les caspases commencent à cliver un ensemble de substrats prédéfinis, allant de quelques à plusieurs centaines de cibles, à des taux qui peuvent varier de plus de 500 fois entre les cibles. L'activation de la caspase peut entraîner la mort cellulaire via l'apoptose ou la pyroptose, ou la différenciation cellulaire (Julien and Wells, 2017). (figure 1.3).

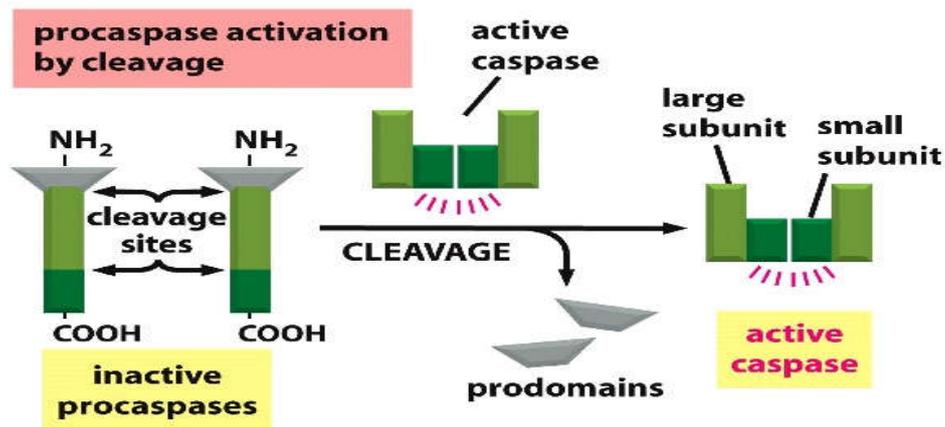


Figure 1. 3 : l'activation de procaspase.

1.4.2. Mécanismes d'activation des caspases dans l'apoptose :

L'activation des caspases pendant le processus apoptotique dans les cellules est médiée par deux voies principales; la voie intrinsèque et extrinsèque (Zhao et al., 2018) qui sont en corrélation avec le type de signal. Ils sont également appelés voies mitochondriales et récepteurs de la mort (DR), respectivement (Pfeffer and Singh, 2018).

Les signaux intracellulaires incluent les dommages à l'ADN, la privation de facteur de croissance et la privation de cytokines, tandis que les signaux extracellulaires les plus courants sont des signaux mortels produits par les cellules T cytotoxiques du système immunitaire en réponse à des cellules endommagées ou infectées (Pfeffer and Singh, 2018).

En bref, les caspases apoptotiques apicales sont le point auquel un signal de mort cellulaire est converti en activité protéolytique, bien qu'ils répondent à des signaux très différents et soient activées dans des plateformes d'activation distinctes, la nature d'une telle activation présente des similitudes frappantes (Ramirez and Salvesen, 2018).

En outre, les voies convergent vers les caspases d'exécuteur. Dès que l'apoptose est signalée, des changements commencent à se produire dans la cellule. Ces changements comprennent l'activation des caspases qui clivent les composants cellulaires nécessaires au fonctionnement cellulaire normal, telles que les protéines cytosquelettiques et nucléaires. En raison de l'activité de la caspase, les cellules apoptotiques commencent à rétrécir et à subir des modifications de la membrane plasmique qui signalent la réponse des macrophages (Pfeffer and Singh, 2018).

La mort des cellules apoptotiques est principalement déclenchée par la voie DR ou mitochondriale, bien qu'il existe des voies supplémentaires. Les DR, Fas (CD95), récepteur Trail (TRAIL-R) ou TNFR1- induisent l'apoptose en recrutant directement une plate-forme d'activation de la caspase lors de la liaison à leur ligand respectif. La voie mitochondriale de l'apoptose, d'autre part, est déclenchée lors de la perte d'intégrité de la membrane externe mitochondriale, ce qui permet la libération de facteurs proapoptotiques (le cytochrome c) des mitochondries dans le cytosol. Ce processus est contrôlé par la Famille de protéines Bcl2. Une fois dans le cytosol, le cytochrome c induit l'assemblage d'un complexe d'activation de la caspase: «l'apoptosome». Les deux voies aboutissent à l'activation des protéases caspases et au clivage des protéines intracellulaires, conduisant finalement au démantèlement de la cellule puis la mort (Green and Llambi, 2015).

- **La voie extrinsèque :**

La voie de l'apoptose extrinsèque est médiée par les récepteurs de la mort, qui initier après la liaison au ligand et l'activation des récepteurs contenant le domaine de la mort (Shalini et al., 2015). C'est l'apoptose au cœur de la signalisation DR induite par le ligand extracellulaire. Les membres de la famille DR bien caractérisée incluent les membres de la superfamille du facteur de nécrose tumorale (TNF) TNF récepteur 1 (TNFR1 / CD120a), l'antigène d'apoptose 1 (APO-1, Fas / CD95), le récepteur de la mort 3 (DR3), DR4 [également appelé récepteur 1 du ligand induisant l'apoptose lié au TNF (TRAIL-R1)] et DR5 (TRAIL-R2 / APO-2) (Kesavardhana et al., 2020). Lors, il est bien établi que l'apoptose peut être induite par des facteurs externes (extrinsèques), tels que le ligand Fas, TRAIL-R1 et TRAIL-R2 (Julien and Wells, 2017). De là, l'engagement de leurs ligands apparentés, induisent la mort cellulaire (Kesavardhana et al., 2020).

En plus du TNF- α lui-même, l'archétype est le ligand Fas (FasL), qui se lie au récepteur de mort Fas sur la surface cellulaire. Cela conduit à un regroupement des récepteurs et au couplage du domaine intracellulaire à la protéine adaptatrice FADD et / ou la protéine du domaine de la mort associée au TNFR (TRADD) et d'autres composants (McArthur and Kile, 2018) (Shalini et al., 2015), qui facilitant le recrutement et l'activation ultérieure de la caspase-8 (McArthur and Kile, 2018). Lors de la liaison, les facteurs cytosoliques caspase-8 et FADD s'associent au récepteur homotrimérique activé pour former le complexe de signalisation inducteur de mort ou DISC (Zhao et al., 2018). Et qui est assemblé

sur la face cytosolique de plusieurs membres de la famille des récepteurs du TNF soutient la dimérisation de la caspase comme une étape critique et suffisante dans le recrutement et l'activation des caspases initiatrices 8 et 10 (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019). Par la suite, le DISC clive la caspase 8, et lui permet d'activer des caspases-3 et -7 d'exécution (Zhao et al., 2018).

En revanche, la caspase-8 clive également la BID en une forme tronquée (tBID), qui engage la voie mitochondriale pour amplifier la réponse apoptotique. Une fois les caspases initiatrices activées par les voies d'apoptose extrinsèque ou intrinsèque, elles assurent aussi l'activation des caspases effectrices-3, -6 et -7 (Shalini et al., 2015). Ce qui conduit au démantèlement de l'infrastructure cellulaire critique et à la mort cellulaire éventuelle (Zhao et al., 2018).

- **La voie intrinsèque :**

La voie de l'apoptose intrinsèque est généralement activée à la suite de signaux proapoptotiques qui activent plusieurs protéines à l'intérieur des mitochondries pour être libérées dans le cytoplasme (Zhao et al., 2018). Alors, elle est déclenchée lorsque l'intégrité mitochondriale est compromise en réponse aux facteurs de stress cellulaire. Ces facteurs de stress comprennent une large gamme de déclencheurs exogènes et endogènes, tels que les dommages à l'ADN, le stress du réticulum endoplasmique (ER), les médicaments cytotoxiques et les espèces réactives de l'oxygène (Kesavardhana et al., 2020).

La principale voie menant à la mort apoptotique dans les cellules de mammifères, l'intrinsèque, est également appelée la voie «classique» ou «mitochondriale». Comme son nom l'indique, il se concentre sur les mitochondries (McArthur and Kile, 2018). La voie intrinsèque, en particulier, est régulée par la famille des protéines du lymphome 2 à cellules B (BCL-2) ce qui comprend les protéines effectrices proapoptotiques, le BH3 uniquement qui inhibent les protéines antiapoptotiques BCL-2. Et les protéines antiapoptotiques BCL-2 qui inhibent l'apoptose par l'inhibition des protéines proapoptotiques BCL-2, de la protéine X associée à BCL-2 (BAX) et du tueur d'antagoniste homologue BCL-2 (BAK) (Pfeffer and Singh, 2018).

Cette voie implique le recrutement des effecteurs proapoptotiques. Où les facteurs de stress induisent l'activation de l'antagoniste ou tueur proapoptotiques BCL-2 (BAK) et / ou de la protéine X (BAX) associée à BCL-2, ce qui entraîne une perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (MOMP) (Kesavardhana et al., 2020). Le MOMP est l'événement définissant de

l'apoptose intrinsèque et est considéré comme le point de non-retour (Pfeffer and Singh, 2018). La perte d'intégrité mitochondriale entraîne la libération de ses protéines membranaires internes clés, telles que le cytochrome c et le deuxième activateur de caspase dérivé des mitochondries (SMAC; également connu sous le nom de DIABLO), qui favorisent directement l'activation de la caspase et l'apoptose intrinsèque (Kesavardhana et al., 2020).

Le cytochrome c cytoplasmique se lie au domaine WD du facteur 1 d'activation de la protéase apoptotique (Apaf-1, une protéine adaptatrice ayant une homologie avec Ced-4), ce qui forme un complexe laquelle facilite l'activation de zymogène inactif de la caspase-9 d'une manière dépendante de l'ATP/ dATP (la procaspase-9 est convertie en caspase-9); et induisant un changement de conformation et exposant le site de liaison aux nucléotides de Apaf-1 (McArthur and Kile, 2018) (Kesavardhana et al., 2020). La forme liée aux nucléotides de l'oligomérisation d'Apaf-1 subit d'autres changements structuraux entraînant l'assemblage d'un grand complexe heptamérique avec l'initiateur caspase-9, appelé « apoptosome » (Kesavardhana et al., 2020), qui est la plate-forme multimère d'activation de la caspase-9 (Zamaraev et al., 2017).

Au cours de ce processus, la caspase-9 initie la cascade de caspases, par l'activation et le clivage des caspases exécuteurs, caspase-3 / -6 / -7 pour provoquer l'exécution robuste de l'apoptose et commencent rapidement à décomposer les protéines ce qui conduit à tuer la cellule hôte. Ce processus est encore amplifié par SMAC, qui bloque la fonction inhibitrice de la caspase de l'inhibiteur des protéines d'apoptose (IAP) en les ciblant pour la dégradation protéasomique (Kesavardhana et al., 2020).

Il convient de noter que les protéines supplémentaires qui ont été libérées des mitochondries en plus du cytochrome c et SMAC, comprennent le facteur induisant l'apoptose (AIF), l'endonucléase G, la protéine A2 exigeant des températures élevées, et inhibiteur direct de la protéine de liaison à l'apoptose à pH bas (Zhao et al., 2018).

Tandis que, les caspases apoptotiques sont d'importants médiateurs de la mort cellulaire, le MOMP médiée par Bak / Bax est l'étape d'initiation essentielle. Les cellules dépourvues de Bak et Bax ne présentent pas de libération de cytochrome c ni d'activation de caspase lorsqu'elles sont exposées à une large gamme de stimuli apoptotiques. Ils sont capables de survivre, de se diviser et de produire

une progéniture viable, en d'autres termes, ils sont capables de maintenir la clonogénicité(McArthur and Kile, 2018).

Évidemment, Les deux voies apoptotiques sont fusionnées ensemble en un point dans une cellule apoptotique et la caspase 9 et la caspase 8 activent la caspase 3 à la fin. À ce stade, le clivage de la caspase 3 inactive se produit par d'autres médiateurs de l'apoptose, entraînant l'activation de la caspase 3, qui est un événement critique dans l'initiation de l'apoptose(Asadi et al., 2018). En revanche, la perturbation de l'activité enzymatique de certaines de ces caspases peut altérer la fonction de mort cellulaire, mais elle maintient leur capacité à participer à d'autres processus biologiques(Kesavardhana et al., 2020). (Figure 1.4).

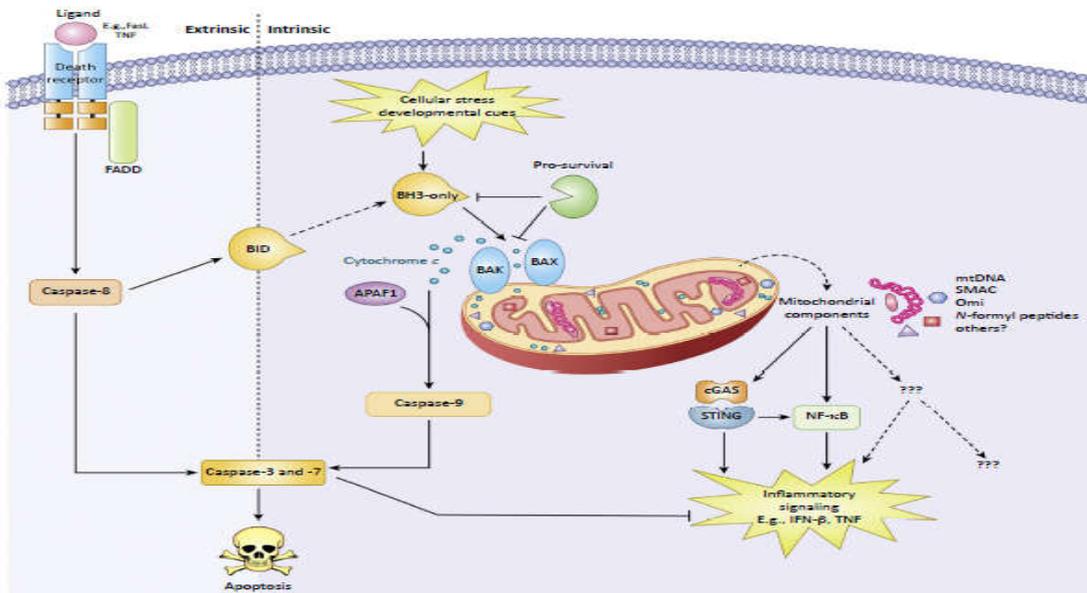


Figure 1.4 : l'activation des voies apoptotique.

1.4.3. Autres mécanismes d'activation :

Une grande partie de la régulation de l'apoptose se produit assurément au début des plateformes d'activation de la caspase .Mais d'autres événements de signalisation peuvent modifier les caspases, même lorsqu'une plate-forme d'activation appropriée se forme, leur activation est inhibée. Tel que XIAP et FLIP(Green and Llambi, 2015). Un certain nombre de circuits réglementaires contrôlent et modifie considérablement le traitement et l'activité catalytique des caspases. Et par conséquent, la liaison de groupes chimiques fonctionnels ou de protéines Où l'addition et / ou l'élimination de groupes chimiques module

l'activité enzymatique des caspases ou stimule et influence leurs fonctions non apoptotiques (Zamaraev et al., 2017).

Les modifications post-traductionnelles altèrent la conformation des caspases, et donc, modulent de manière cruciale leur fonction. Les modifications post-traductionnelles, telles que la phosphorylation, l'ubiquitination, la nitrosylation, la glutathionylation, la SUMOylation et l'acétylation, sont cruciales dans la modulation de l'activité des caspases et la mort cellulaire. Ils représentent un code unique, qui peut réguler la force de la réponse apoptotique et fournir une possibilité supplémentaire d'affiner la signalisation de la mort en aval des stimuli apoptotiques (Zamaraev et al., 2017).

- **Le rôle de la phosphorylation dans l'activation des caspases:**

La phosphorylation des caspases initiateuses et effectrices présente un programme évolutif conservateur de régulation de l'apoptose qui est hautement conservé entre les différents organismes. La phosphorylation / déphosphorylation des caspases fournit le réseau d'activation / désactivation qui régule la mort cellulaire de manière très dynamique (Zamaraev et al., 2017).

Dans le contrôle de l'activité de la caspase initiateuse: L'activation des caspases initiateuses dans les plates-formes HMW, étape clé de l'induction de l'apoptose, est suivie de l'activation des caspases effectrices et du «point de non-retour» dans la cascade des caspases. Remarquablement, chaque caspase initiateuse a son propre réseau de phosphorylation contrôlant son activation sur des stimuli particuliers via une kinase spécifique. Pris ensemble, un certain nombre de réseaux de phosphorylation affinent l'activation des caspases d'initiateuse via la phosphorylation. Fait intéressant, la majorité des sites de phosphorylation signalés jusqu'à présent sont situés dans la région des grandes et petites sous-unités catalytiques plutôt que dans le prodomaine des caspases initiateuses (Zamaraev et al., 2017).

Dans le contrôle de l'activité de la caspase effectrice: La phosphorylation des caspases effectrices préfère en outre affiner la force de la réponse apoptotique induite via l'activation de la caspase initiateuse. Fait intéressant, la fonction proapoptotique de la phosphorylation des caspases effectrices a également été signalée, ce qui conforterait l'hypothèse selon laquelle la phosphorylation contrôle largement l'induction de la mort cellulaire en bloquant l'activation des caspases initiateuses et en agissant sur l'activité des caspases effectrices en

fonction du contexte, ce qui pourrait soit amplifier davantage ou bloquer la mort cellulaire (Zamaraev et al., 2017).

- **Régulation de l'activation des caspases par les kinases:**

Il existe une interaction entre les kinases et les caspases à la fois dans la phosphorylation des caspases et la phosphorylation des substrats des caspases pour inhiber ou améliorer le clivage. De plus, d'autres protéases en plus des caspases sont activées pendant la mort et la différenciation des cellules, telles que les calpaïnes, les sérines protéases (granzymes) et les protéases lysosomales, et celles-ci pourraient potentiellement générer presque le même nombre de substrats clivés (Julien and Wells, 2017).

Dans un cas particulier, La caspase-9 est phosphorylée sur un résidu de thréonine dans la région entre le prodomaine et la grande sous-unité par plusieurs kinases telles qu'ERK2 MAPK et CDK1. L'inhibition de l'activité de la caspase-9 par ERK2 se produit en aval de Ras en réponse à des stimuli prosurvivaux tels que la stimulation du facteur de croissance. CDK1-cycline-B1 contrôle la philosophie et l'activité de la caspase-9 pendant la mitose (Green and Llambi, 2015).

- **Activation de la caspase apoptotique sans mort cellulaire :**

L'activation sublétales de l'activation de la caspase n'est pas sans conséquences. TRAIL induit une voie d'apoptose extrinsèque en ligaturant les récepteurs de la mort qui recrutent le FADD, la caspase-8 et / ou la caspase-10 pour former le «complexe de signalisation induisant la mort». Ont démontré d'une augmentation des dommages à l'ADN et des mutations dans les cellules tumorales survivantes avec la caspase-8 activée après une exposition sublétales à TRAIL ou FasL. Cette activation sublétales des caspases a augmenté les dommages à l'ADN en activant en partie la CAD, un facteur en aval de la caspase-3 (Zhao et al., 2018).

La perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (MOMP) était considérée comme le point de non-retour dans le mécanisme apoptotique car la libération de protéines mitochondriales, y compris le cytochrome c, active les caspases et conduit à la mort cellulaire rapide. Cependant, ont constaté qu'au lieu de tuer les cellules, un MOMP minoritaire induit en fait des dommages à l'ADN dépendant de la caspase, favorisant l'instabilité génomique et la tumorigenèse (Zhao et al., 2018).

2. Les rôles et les fonctions des caspases :

Comme indiqué précédemment, les caspases sont des protéases largement connues pour leur rôle dans la régulation des fonctions biologiques cruciales. Qui sont centralement impliquées au contrôle de la mort cellulaire programmée, de l'inflammation, et la suppression des tumeurs(Shalini et al., 2015). Donc, le rôle des caspases était d'initier une voie irréversible vers l'apoptose, et une fois les caspases activées, la cellule était vouée au suicide(Pérez-Garijo, 2018).

Et avec le temps, il est devenu évident que le rôle de nombreuses caspases ne se limite pas à l'apoptose et qu'elles fonctionnent dans d'autres modes de mort cellulaire (nécrose, autophagie et pyroptose)(Shalini et al., 2015). C'est vrai que la cascade de caspases apoptotiques accélère la vitesse à laquelle une cellule meurt, mais à la fin de compte, il n'y a pas nécessaire pour la mort(McArthur and Kile, 2018).

Étant donné le rôle létal des caspases, il peut sembler surprenant que ces tueurs dangereux soient utilisés pour une pléthore de fonctions non apoptotiques, souvent essentielles aux processus vitaux(Pérez-Garijo, 2018). Il montre illogique que ces enzymes qui ont la capacité de détruire la cellule puissent également induire la division cellulaire. Cependant, il devient de plus en plus clair que les caspases sont beaucoup plus polyvalentes qu'on ne le pensait auparavant. Dans certains cas, les caspases peuvent remplir simultanément leurs rôles apoptotique et mitogène, et tout en provoquant la destruction d'une cellule, elles peuvent induire la prolifération des cellules voisines, ce qui les rend un mécanisme qui peut être très précieux pour compenser la perte des cellules(Pérez-Garijo, 2018).

2.1. Au niveau de la cellule :**2.1.1 Rôle apoptotique :**

Comme discuté ci-dessus, l'apoptose est un mécanisme intrinsèque de mort cellulaire silencieuse qui a évolué pour démanteler les composants cellulaires d'une manière programmée pour maintenir l'homéostasie. Les caspases sont au cœur de ce processus et hydrolysent systématiquement les protéines cellulaires clés dans une cascade complexe. Parce que la protéolyse médiée par la caspase est un événement irréversible, les caspases sont synthétisées comme précurseurs monomères inactifs. Les stimuli proapoptotiques amorcent les cellules à initier la cascade des caspases, ce qui entraîne l'activation induite par la proximité des

caspases initiatrices, ce qui active à son tour les caspases effectrices protéolytiquement, ce qui facilite le démantèlement systématique des composants cellulaires, conduisant à des changements intracellulaires caractéristiques, Par conséquent, les voies apoptotiques peuvent généralement être classées comme extrinsèques ou intrinsèques en fonction du mode d'initiation et des adaptateurs et caspases initiateurs spécifiques impliqués dans le processus(Kesavardhana et al., 2020).

En tant que caspases, les principaux acteurs de l'apoptose, non seulement se déplacent vers le noyau au cours de ce type de mort cellulaire, mais modifient également la structure NE et régulent directement le transport d'autres facteurs liés à l'apoptose(Kopeina et al., 2018), des études protéomiques montrent que les substrats de caspases ne sont clivés qu'une ou plusieurs fois et peuvent créer des produits de domaine stables dans la cellule. Il semble que ces substrats de caspase clivés sont rarement capables de déclencher à eux seuls l'apoptose, qui est un processus létal synthétique massif dans lequel l'activation soutenue de la caspase conduit à de nombreux événements de clivage qui fonctionnent ensemble pour entraîner la mort cellulaire(Julien and Wells, 2017).

L'une des fonctions les plus importantes des caspases pendant l'apoptose est de favoriser la dégradation du matériel génétique(Kopeina et al., 2018). Où les caspases apoptotiques conduisent une morphologie caractéristique qui comprend le saignement membranaire, et contribuer à l'activation ou à la translocation nucléaire d'un ensemble de protéines favorisant la condensation de la chromatine et la fragmentation de l'ADN chromosomique, le conditionnement des constituants cellulaires en «corps apoptotiques» et, éventuellement, la mort cellulaire. En contexte, L'apoptose est une disparition cellulaire immunologiquement silencieuse, en effet elle peut être anti-inflammatoire, et par conséquent des réseaux de signalisation complexes activés par des caspases apoptotiques sont nécessaires pour démanteler et emballer les cellules en vue de leur élimination(Ramirez and Salvesen, 2018).

On dirait que, Les voies sont fortement régulées de sorte que l'apoptose ne se produira que si elle est signalée. La dérégulation de l'apoptose est un symptôme dans une grande variété de maladies. L'apoptose accélérée se retrouve dans l'infertilité, l'immunodéficiences et les maladies dégénératives aiguës et chroniques, et l'apoptose retardée ou inhibée est présente dans le cancer et l'auto-immunité(Pfeffer and Singh, 2018).

2.1.2. Rôle non-apoptotique :

Les liens entre les caspases apoptotiques et le développement vont bien au-delà de la mort. Où une multitude de preuves émergent qui soutiennent l'existence de nombreuses autres fonctions non apoptotiques de ces caspases avec des rôles quelque peu surprenants et fascinants dans divers processus cellulaires. Qui sont essentielles non seulement pour le bon développement de l'organisme, mais aussi pour l'homéostasie tissulaire (Dabrowska et al., 2016). De plus, il a été constaté que l'activation des caspases ne conduit pas irréversiblement à la mort cellulaire, contrairement au paradigme établi. L'activation sublétales des caspases est évidente dans la différenciation cellulaire et la reprogrammation épigénétique (Zhao et al., 2018).

On réserve le terme «non apoptotique» aux situations dans lesquelles les caspases apoptotiques jouent un rôle dans un processus cellulaire qui ne commence pas par la MOMP ou l'activation des récepteurs de la mort. Cela impliquerait qu'une ou plusieurs des caspases apoptotiques (même la cascade entière) soient activées par d'autres moyens pour atteindre un objectif particulier de non-mort (McArthur and Kile, 2018).

Ces fonctions comprennent plusieurs champs, tel que la régulation des réponses immunitaires, la récupération après une blessure, et la promotion de la régulation de la différenciation cellulaire et de la spécification de leur destin. Notamment, les caspases apoptotiques dans les cellules mourantes induites par le stress peuvent activer des signaux mitogènes conduisant à la prolifération des cellules voisines, un phénomène appelé prolifération induite par l'apoptose. Ici, nous mettons en évidence certaines de ces fonctions non apoptotiques, en particulier les rôles des caspases dans l'homéostasie tissulaire, dans le contexte du développement du cancer (Dabrowska et al., 2016). (Figure 1.5).

- **Activation des caspases dans la différenciation:**

La différenciation cellulaire est un processus biologique plus défini et précis impliquant une activation transitoire de la caspase. Il est possible que les substrats clivés dans ces processus soient différents, en raison de l'activation différentielle des caspases, ou du clivage sélectif des substrats rapides en raison de l'activation transitoire. L'activation des caspases a été observée dans la différenciation érythroïde, le développement des lentilles, la spermatogenèse, la différenciation des cellules souches, le développement neuronal et la coupe de la dendrite. Bien que de nombreuses cibles puissent être coupées par différentes

caspases, chaque caspase a un ensemble préféré, suggérant qu'elles ont des fonctions spécialisées (Julien and Wells, 2017).

- **Mécanismes de prolifération induite par la caspase:**

Comme mentionné précédemment, les caspases peuvent induire une prolifération à la fois dans la même cellule où elles sont activées et dans les cellules environnantes (Pérez-Garijo, 2018).

Prolifération autonome: Il a été détecté qu'il existe de nombreuses cellules dans différents tissus qui pourraient activer des caspases à des fins non létales pendant et après le développement. Et il est récemment montré que les cellules peuvent inverser l'apoptose, même lorsqu'elles ont déjà atteint des stades avancés du processus apoptotique.

D'une part, si l'intensité de l'activation de la caspase est maintenue en dessous d'un certain seuil, la cellule pourrait être en mesure de maintenir ces faibles niveaux d'activité de la caspase sans mourir. De plus, l'expression appropriée de certains inhibiteurs de caspases peut contrôler les caspases et limiter l'étendue de leur activation.

Étonnamment, l'une des raisons pour lesquelles une cellule pourrait décider d'activer les caspases est d'entrer dans la division cellulaire. De multiples observations indiquent un rôle possible des caspases dans la régulation du cycle cellulaire. Par exemple, il a été démontré que les caspases étaient régulées à la hausse juste avant ou pendant la mitose, et le traitement avec des inhibiteurs de caspase peut retarder la progression mitotique (Pérez-Garijo, 2018).

Comme une étude plus récente indiquée que la pro-caspase-3 et -7 peuvent contribuer à la prolifération cellulaire. Et il suggère que la caspase-3 peut agir comme un capteur de contraintes extracellulaires, déterminant ainsi si les cellules vivent ou non (Dabrowska et al., 2016).

Prolifération des lymphocytes: Le rôle des caspases dans le système immunitaire est particulièrement complexe. Alors que dans certains scénarios, elles peuvent favoriser l'apoptose canonique et que certains types de cellules dépendent d'eux pour se différencier, les caspases ont un rôle prépondérant dans la régulation de la prolifération des lymphocytes. Par exemple, la mutation de la caspase 8 peut conduire à de graves troubles lymphoprolifératifs, comme on peut s'y attendre du rôle des caspases dans la promotion de la mort cellulaire des lymphocytes, mais entraîne également une diminution de la prolifération des

lymphocytes T et une immunodéficienc. Le rôle des caspases dans le déclenchement de la prolifération est bien établi pour les lymphocytes T.

Dans les cellules B, le rôle des caspases est moins bien étudié et probablement plus complexe. Comme dans le cas des lymphocytes T, la caspase-8 semble avoir le rôle le plus important dans la stimulation de la prolifération (Pérez-Garijo, 2018).

- **rôles mitogènes des caspases :**

- **Prolifération induite par la caspase dans le développement et l'homéostasie :**

Lorsque l'on pense au rôle des caspases pendant le développement et l'homéostasie, seule leur capacité destructrice vient à l'esprit. Tandis que la fonction proliférative des caspases est conforme à leur nature mortelle. Alors, les caspases jouent un rôle crucial à la fois dans la destruction de la cellule dans laquelle elles sont activées ainsi que dans la prolifération des cellules voisines (Pérez-Garijo, 2018).

Développement cardiaque: Le cœur en développement fournit un exemple remarquable du rôle des caspases dans la prolifération au cours du développement. La fonction principale des caspases dans ce scénario était de promouvoir la prolifération. Et un rôle pour la voie apoptotique a été trouvé dans l'hypertrophie cardiaque, une hypertrophie pathologique du cœur pouvant conduire à une insuffisance cardiaque. Et on montre de façon convaincante que l'activation des caspases est nécessaire et suffisante pour induire la réponse hypertrophique dans le cœur (Pérez-Garijo, 2018).

Formation osseuse: Fait intéressant, les caspases d'exécution jouent un rôle crucial lors du développement et du remodelage osseux. Ces signaux, entre autres fonctions, favorisent la prolifération des ostéoblastes, qui synthétisent et sécrètent les composants des nouveaux tissus osseux lors de l'ostéogénèse.

De plus, l'expression de la forme activée de la caspase 7 était corrélée à l'expression de l'ostéocalcine, un marqueur de l'ostéogénèse, suggérant un rôle distincte de la caspase-7 dans ce processus selon le type d'ossification (Pérez-Garijo, 2018).

La neurogenèse: Le rôle non apoptotique des caspases a été bien établi dans l'élagage dendritique, la recherche de voies neuronales et la plasticité synaptique, et l'inhibition chimique des caspases peut altérer la mémoire et l'apprentissage. Cependant, les caspases semblent exercer une fonction proliférative sans ambiguïté dans le cerveau. Par exemple, les neurones mourants peuvent déclencher la prolifération des cellules progénitrices et gliales environnantes lors d'une blessure. Fait intéressant, des dommages aigus dans les lobes optiques ont déclenché l'activation de la caspase et la mort des cellules neuronales, et cela en corrélation avec une neurogenèse améliorée, qui fournit de nouveaux neurones pour soutenir la réparation du cerveau(Pérez-Garijo, 2018).

▪ **Prolifération induite par la caspase dans la maladie:**

La mort cellulaire a retenu beaucoup l'attention pour son implication dans une myriade de maladies, et il est largement admis que la dérégulation de l'apoptose peut avoir des conséquences pathologiques. Par conséquent, il n'est peut-être pas surprenant que les rôles des caspases se retrouvent fréquemment dans les situations de maladie. Cependant, il est important de différencier les effets exclusivement liés à la fonction exécuteur des caspases (c'est-à-dire les pathologies associées à un excès ou à un déficit de mort cellulaire) et les résultats résultant de leurs rôles non apoptotiques et / ou de la signalisation dépendant de la caspase.

Donc, on passe en revue ici le lien intrigant entre le rôle mitogène des caspases et la maladie(Pérez-Garijo, 2018).

Cancer (stimulation du repeuplement des cellules tumorales): La voie dans laquelle les cellules apoptotiques libèrent des facteurs de croissance pour favoriser la régénération tissulaire est clairement bénéfique dans la régénération tissulaire normale et la cicatrisation des plaies(Zhao et al., 2018). En plus des anomalies du développement, l'activation dérégulée de la caspase comme mécanisme de maladie causale dans la tumorigenèse, l'auto-immunité, l'auto-inflammation, les pathologies infectieuses, et d'autres problèmes de santé graves(Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Le maintien de l'intégrité des tissus en empêchant la migration cellulaire indésirable, pourrait être l'une des plus anciennes fonctions non apoptotiques de cette famille de protéases. On montre que de faibles niveaux d'activité de caspase effectrice inhibent puissamment ce processus, ainsi qu'un autre processus de migration cellulaire de développement distinct. Ces résultats

pourraient étendre notre compréhension du rôle des caspases en tant que suppresseurs de tumeurs et avoir des implications pour la radiothérapie dans le traitement du cancer (Gorelick-Ashkenazi et al., 2018).

Mais en revanche, on démontre que la caspase-3 dans les cellules tumorales mourantes entraînait une réponse pro-angiogénique (Zhao et al., 2018).

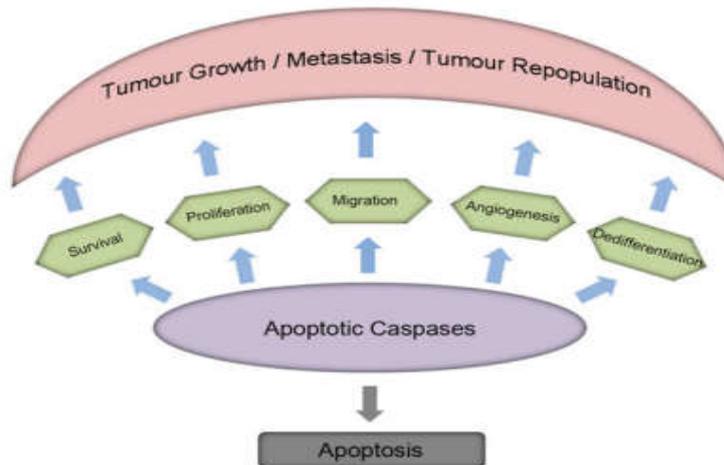


Figure 1.5 : les fonctions non apoptotique des caspases.

Autres maladies:

Bien que le cancer soit probablement l'endroit où le lien entre les caspases et la prolifération est le plus convaincant, l'activité non apoptotique des caspases pourrait également être la cause principale d'autres maladies. Par exemple, les cas liés à l'activation de la caspase sont des maladies fibrotiques. La fibrose peut résulter d'une réponse exagérée à la cicatrisation des plaies qui, par la prolifération et l'activation des fibroblastes, conduit à une accumulation anormale de tissu fibreux qui peut compromettre le fonctionnement normal d'un organe. Il est intéressant de noter que les signaux sécrétés par les cellules endothéliales mourantes semblent avoir un rôle direct dans le processus de fibrogenèse.

Les caspases ont également été impliquées dans des complications associées à certaines conditions caractérisées par des niveaux élevés d'apoptose. Un exemple est les dommages au foie causés par une infection chronique par l'hépatite C. Plusieurs rapports montrent une forte corrélation entre les niveaux d'activation de la caspase et le degré de lésions hépatiques inflammatoires, de fibrose et de stéatose. La signalisation par les caspases pourrait également être

liée à la progression de la maladie vers la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire.

Comme dans le cas du cancer, il est intéressant de souligner que certains des tissus dans lesquels les caspases ont un rôle prolifératif important au cours du développement ou lors d'une blessure, comme le cœur et le foie, sont également ceux qui sont affectés pendant la maladie. Cela pourrait refléter le potentiel de ces tissus à activer les rôles non apoptotiques des caspases, ce qui peut entraîner des complications lorsque la situation tourne mal, conduisant à des états pathologiques. Compte tenu de l'importance de l'apoptose au cours du développement et de son implication généralisée dans la maladie, il est très probable qu'il existe encore de multiples rôles non apoptotiques non identifiés pour les caspases qui peuvent être liés à la pathologie(Pérez-Garijo, 2018).

Brièvement:

Depuis leur découverte, rôle des caspases était d'initier une voie irréversible vers l'apoptose, et donc, une fois les caspases activées, la cellule était vouée au suicide. Mais aussi que ces enzymes potentiellement mortelles peuvent servir à de nombreux fins non apoptotiques. Un rôle particulièrement frappant des caspases est leur capacité à favoriser la prolifération cellulaire, qui peut survenir à la fois à la suite de l'apoptose ou dans des cellules résistantes à l'apoptose, et qui peut affecter la même cellule qui active les caspases ou les cellules voisines. Le lien entre ces enzymes induisant la mort et la croissance peut entraîner de multiples résultats souhaitables. Par exemple, il a été démontré que les signaux sécrétés par les cellules mourantes sont requis pour différents processus de régénération et de réparation tissulaire(Pérez-Garijo, 2018).

Plusieurs caspases sont également impliquées dans la différenciation tissulaire, la formation de tumeurs et les métastases, déterminant la réponse immunitaire, la plasticité synaptique, les dommages à l'ADN et la réponse au stress, le métabolisme et le vieillissement. Ainsi, Une meilleure connaissance de la fonction des caspases peut fournir des stratégies considérablement améliorées pour concevoir des thérapies efficaces dans le domaine de l'inflammation, des maladies auto-immunes et du cancer(Shalini et al., 2015).

Cependant, dans certaines circonstances, la déréglementation de ces mécanismes peut entraîner une maladie(Pérez-Garijo, 2018).

2.2. Au niveau de l'immunité anti-tumorale :

L'apoptose a été identifiée comme une forme de mort cellulaire par ses caractéristiques morphologiques distinctes, notamment le rétrécissement cellulaire, la condensation des chromosomes, la fragmentation nucléaire et la formation de corps apoptotiques. Ensuite, il a été révélé que l'apoptose est génétiquement contrôlée et joue un rôle essentiel pendant le développement pour éliminer les cellules indésirables ou inutiles. Cette fonction de l'apoptose s'étend en outre au maintien de l'homéostasie tissulaire en éliminant les cellules endommagées ou inadaptées. L'apoptose a donc été considérée comme un programme de surveillance visant à identifier et à tuer les cellules potentiellement nocives pouvant se transformer en cancer. Conformément à cette idée, l'évitement de l'apoptose a été considéré comme une caractéristique du cancer (Dabrowska et al., 2016).

L'apoptose est un mécanisme évolutif conservé dans les organismes multicellulaires, permettant la formation correcte de motifs au cours du développement et l'élimination des cellules qui sont préjudiciables à la santé et à la survie de l'organisme (Dabrowska et al., 2016). Dans ce contexte, certaines formes de mort cellulaire régulée, sont précipitées par l'activation des cystéines protéases de la famille des caspases, y compris les caspases 8, 9 et 3 (Galluzzi et al., 2016). Les caspases sont une famille d'enzymes qui sont les principaux exécuteurs de l'apoptose. Elles se trouvent dans presque toutes les cellules et sont hautement conservées sur le plan de l'évolution. Bien que tous les membres n'aient pas été impliqués directement dans l'apoptose, ils sont impliqués dans la réponse immunitaire innée (Mandal et al., 2020).

D'une part, les caspases apoptotiques étaient à l'origine identifiées comme des acteurs clés du programme de développement. Leurs fonctions apoptotiques sont essentielles pour l'élimination des cellules supplémentaires produites au stade précoce du développement et l'élimination des cellules indésirables dans la structuration tissulaire et la morphogenèse. Et d'autre part, les cellules cancéreuses sont capables d'utiliser ces fonctions de caspases à leur avantage pour permettre leur survie, leur prolifération et leurs métastases afin de croître et de progresser (Dabrowska et al., 2016).

Apparemment, différents aspects fonctionnels des caspases doivent être étroitement contrôlés et restreints par les contextes cellulaires afin de prévenir leurs effets néfastes. Dans le contexte du cancer, ces fonctions non apoptotiques

des caspases peuvent être détournées pour assurer la survie des cellules cancéreuses et favoriser leur propagation (Dabrowska et al., 2016). Les mécanismes derrière la capacité oncogénique des caspases sont très divers, et ils ne sont pas seulement limités à leur rôle de stimulation de la division cellulaire. Il devient clair que les caspases entraînent non seulement la prolifération tumorale, mais aussi de nombreux autres processus qui sont essentiels à la transformation maligne, tels que l'invasion et les métastases, l'angiogenèse, l'accumulation de macrophages et le remodelage (Pérez-Garijo, 2018). (Figure 1.5)

La résistance à la mort cellulaire est traditionnellement considérée comme l'une des principales caractéristiques du cancer (Pérez-Garijo, 2018). Donc l'évasion de la mort cellulaire apoptotique est souvent une condition nécessaire pour soutenir la transformation de l'oncogène (Green and Llambi, 2015). A cause de la régulation aberrante de l'apoptose peut également être la principale cause de chimiorésistance pendant le traitement du cancer (Asadi et al., 2018).

De plus, les thérapies contre le cancer sont souvent conçues pour induire la mort cellulaire dans les cellules tumorales et, par conséquent, l'activation de la caspase pourrait être considérée comme un résultat souhaitable. Cependant, les preuves commencent à s'accumuler révélant des propriétés inattendues de promotion des tumeurs des caspases. En fait, des niveaux élevés d'activité de caspase dans les cellules tumorales ont été liés à un mauvais pronostic chez les patients cancéreux (Pérez-Garijo, 2018). Et les caspases apoptotiques peuvent jouer des rôles oncogènes à travers leurs fonctions non apoptotiques (Dabrowska et al., 2016). De cela, La vaste amélioration de nos connaissances sur la mort cellulaire médiée par la caspase, les mécanismes immunitaires et les nouveaux substrats suscite un grand espoir de nouvelles possibilités thérapeutiques à l'avenir (Kesavardhana et al., 2020).

3. la relation entre les caspases 3, 8, 9 et l'immunité anti-tumorale :

De nombreuses stratégies anticancéreuses reposent sur la promotion de l'apoptose dans les cellules cancéreuses comme moyen de réduire les tumeurs. Les caspases bourreaux, notamment la caspase-3, qui protéolysent une variété de protéines, induisant la mort cellulaire, sont cruciales pour la fonction apoptotique (Boudreau et al., 2019). Le clivage de la caspase-3 est généralement considéré comme un marqueur universel de l'apoptose car l'activité du caspase-3 est requise pour la majorité des événements morphologiques et biochimiques

associés à l'apoptose (Crowley and Waterhouse, 2016). Cette caspase est extrêmement importante car les voies intrinsèques et extrinsèques convergent vers la caspase 3. En plus du rôle classique dans l'apoptose, des preuves émergentes indiquent que la caspase 3 s'exécute également fonctions non apoptotiques (Liu et al., 2019). (Figure 1.5)

Où la caspase-3 est impliquée dans un certain nombre de processus qui ne sont pas directement liés au désassemblage des cellules. L'activation des caspases bourreaux pendant l'apoptose a un rôle important en tant que régulateur négatif de la réponse immunitaire en déclenchant la libération de cytokines anti-inflammatoires et en supprimant la réponse inflammatoire. Parallèlement à ces rôles de suppression immunitaire, les caspases bourreaux ont un rôle dans la régénération et la prolifération tissulaires. Bien que l'activation de la Caspase-3 provoque la mort cellulaire dans la cellule hôte, il s'est avéré qu'elle stimule la prolifération cellulaire dans les cellules voisines non apoptotiques. Ce phénomène est important dans la cicatrisation des plaies et la régénération tissulaire. Bien que des cellules moins résistantes puissent activer la Caspase-3 et subir une apoptose, ces cellules mourantes peuvent envoyer des signaux à des cellules cancéreuses plus résistantes favorisant la prolifération et le repeuplement (Flanagan et al., 2016).

L'augmentation des activités de la caspase-3 est généralement considérée comme un signe d'apoptose et un indicateur positif d'efficacité dans le traitement du cancer. Mais récemment, il existe de plus en plus de preuves que la caspase-3 favorise la croissance des cellules cancéreuses induites par le stress, la migration cellulaire, le pouvoir invasif et l'angiogenèse tumorale. Dans le traitement du cancer chez l'homme, plusieurs études ont rapporté que les patients avec des niveaux plus élevés de procaspase-3 ou de caspase-3 active avaient un pronostic plus mauvais que les patients avec des niveaux inférieurs de procaspase-3 ou de caspase-3 active (Zhou et al., 2018). Alors, la régulation négative de la caspase-3 dans les tumeurs probablement entraîne généralement une résistance au traitement anticancéreux (Huang et al., 2018).

Été reconnu que les expressions de la caspase-3 et de la caspase-8 ont été identifiées comme des marqueurs importants dans de nombreuses tumeurs malignes (Yao et al., 2018). Bien que l'on sache que, la caspase-8, un initiateur bien caractérisé de l'apoptose, joue des rôles non apoptotiques dans les cellules (Zhong et al., 2020). Elle remplit des fonctions initiatiques lors de l'induction de l'apoptose par la voie extrinsèque (Ivanisenko and Lavrik, 2019).

Nous révélons ici que la caspase-8 peut induire la mort cellulaire d'une manière particulière, qui ne dépend pas de l'activation des caspases et de l'initiation mitochondriale (Zhong et al., 2020). Il est devenu évident que la caspase-8 fait partie intégrante de l'initiation et de la régulation de l'activation médiée par le récepteur de la mort de l'apoptose, de la nécroptose et de l'inflammation (Tummers and Green, 2017).

La caspase-8, s'est également avérée jouer des rôles non apoptotiques dans les cellules. Certaines études montrent que la surexpression de la caspase-8 induit la mort cellulaire indépendante de l'apoptose dans les cellules cancéreuses, en provoquant la désacidification lysosomale et donc la perméabilisation de la membrane lysosomale, qui pourrait être potentiellement appliquée dans les traitements des cancers résistants à l'apoptose (Zhong et al., 2020). En outre, la Caspase-8 joue également une fonction cruciale pour la survie en inhibant une forme alternative de mort cellulaire programmée appelée nécroptose. De faibles taux d'expression de pro-Caspase-8 sont donc associés à la transformation maligne des cancers. Il est devenu de plus en plus clair que les fonctions de la Caspase-8 ne se limitent pas à son rôle établi de longue date dans le déclenchement de l'apoptose. À partir du fait que la Caspase-8 est activée, exprimée ou régulée de manière différentielle dans différents types de cancer, démontrent les vastes rôles dépendants du contexte qu'elle joue dans ces cancers (Mandal et al., 2020).

D'autre part, la caspase-9 est la protéase initiateur apoptotique de la voie apoptotique intrinsèque ou mitochondriale, qui est activée sur des plates-formes d'activation multi-protéines. On pense que son activation implique une homodimérisation des zymogènes monomères. Il se lie à l'apoptosome pour conserver une activité catalytique substantielle. Une variété de stimuli apoptotiques peut réguler la caspase-9 (Kim et al., 2015). Les preuves suggèrent que la caspase-9 est parmi les membres les plus importants avec des rôles non apoptotiques dans l'exécution de la différenciation (Madadi et al., 2019).

La caspase-9 étant une caspase initiateur de l'apoptose, c'est une cible thérapeutique importante de diverses maladies liées à l'apoptose. Par conséquent, une compréhension approfondie des rôles ainsi que des régulateurs de la caspase-9 est nécessaire pour trouver des moyens plus efficaces de vaincre les maladies liées à l'apoptose, en particulier le cancer. Où les avantages de cibler la caspase-9 dans le traitement du cancer sont que les cellules cancéreuses

sont plus sensibles à certains traitements que les cellules normales (Kim et al., 2015).

La découverte que l'activation de la caspase initiateur est induite par dimérisation a directement conduit au développement de nouvelles approches thérapeutiques utilisant une version inductible de la caspase-9. Cette approche a d'abord été utilisée comme interrupteur de sécurité dans les thérapies biologiques utilisées pour le traitement du cancer. La même approche de caspase-9 inductible a été testée comme mécanisme pour cibler directement les tumeurs solides(Boice and Bouchier-Hayes, 2020).



CHAPITRE II:

Matériel et méthode

CHAPITRE II: matériel et méthode

L'objectif :

L'objectif de notre travail est de concevoir des amorces qui encadrent les **caspases-3, caspase-8, caspase-9** qui sont des enzymes apoptotique associée à l'immunité anti-tumorale. Feras l'objet d'une étude les gènes chromosomiques chez l'humain.

1. La PCR :

PCR est l'abréviation de Réaction en Chaîne par Polymérase, équivalent : Amplification en Chaîne par Polymérisation ou ACP. Est une méthode enzymatique pour l'amplification exponentielle de fragments d'ADN spécifiques, et très sensible pour détection de l'acide nucléique. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités spécifique et de longueur définie.

La PCR consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés des ADN polymérase celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce qui est une petite séquence d'ADN utilisée pour démarrer la réplication de l'ADN lors de la PCR. C'est donc une séquence complémentaire à une région située au début de l'ADN que l'on veut amplifier. Il faut bien choisir l'amorce pour que l'efficacité de la PCR soit optimale.

Chaque réaction met en œuvre deux amorces sens et anti-sens, oligonucléotidiques dont les extrémités 3-prime pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou «primers» en anglais définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier. L'astuce consiste à utiliser les produits de chaque étape de synthèse comme matrices pour les étapes suivantes, au lieu de les séparer afin de ne réutiliser que la matrice originale. Au lieu d'être linéaire, l'amplification obtenue est exponentielle. **(Touati)**

2. Les gènes :

CASP3 : CASP3 (Caspase 3) est un gène codant pour les protéines. Un caspase apoptotique d'exécuteur, qui parmi ses voies apparentées figurent la modulation et la signalisation de l'apoptose et la signalisation les cellules T.

Il interagit avec la caspase 8 et la caspase 9. Elle est codée chez l'homme par le gène CASP3, situé sur le **chromosome 4**.

Localisation : (4q35.1)

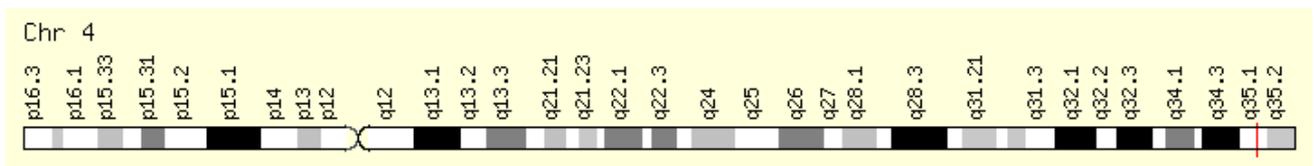


Figure 2.1: Localisation du CASP3 sur le chromosome 4 humain.

CASP8 : CASP8 (Caspase 8) est un gène codant pour les protéines. Un caspase apoptotique d'initiateur, qui parmi ses voies apparentées, on trouve la modulation et la signalisation de l'apoptose et le domaine de liaison aux nucléotides.

Un paralogue important de ce gène est CASP10. Codée chez l'homme par le gène CASP8, situé sur le **chromosome 2**.

Localisation : (2q33.1)

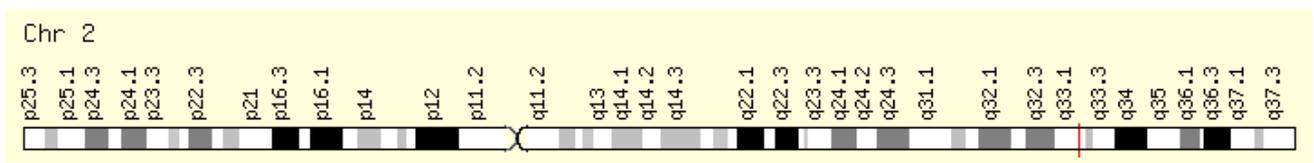


Figure 2.2: Localisation du CASP8 sur le chromosome 2 humain.

CASP9 : CASP9 (Caspase 9) est un gène codant pour les protéines. Un caspase apoptotique d'initiateur, qui parmi ses voies apparentées figurent la modulation et la signalisation de l'apoptose. Également un paralogue important de ce gène est CASP10.

Le gène caspase-9 humain contient 9 exons et 8 introns et il a été prédit qu'il s'étend sur environ 35 kb de l'ADN génomique. Elle est codée chez l'homme par le gène CASP9, situé sur le **chromosome 1**.

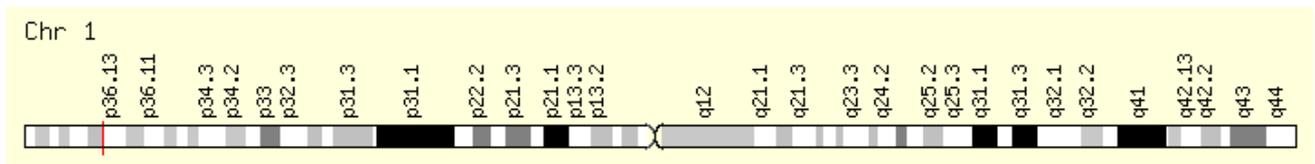
Localisation : (1p36.21)

Figure 2.3: Localisation du CASP9 sur le chromosome 1 humain.

3. La conception des amorces :

La conception des amorces est sans doute le paramètre le plus important pour le succès de la PCR. Où la séquence d'amorce détermine plusieurs choses, telles que **la position** et la **longueur** du produit, sa **température de fusion** et finalement le **rendement**. Toutes choses égales par ailleurs, une amorce mal conçue peut empêcher le fonctionnement de la réaction PCR.

Dans ce processus, on trouve les séquences des amorces à utiliser lors de la réalisation d'une PCR. En plus, le choix des amorces est évidemment crucial. Et permet d'étudier plus en détail ces amorces, notamment de savoir si elles ne s'hybrident pas sur elles-mêmes ou entre elles. Cela signifie, qu'elle permet de proposer des couples d'amorces adaptés à la réalisation d'une PCR. Pour intégrer les séquences déjà connues, et acquérir des séquences nucléiques ou protéiques à partir de « banques de données ». (**Touati**)

- **Les outils :**

- Connaissance de la séquence et des séquences ou des transcrits étudiés par, la base de donnée « *Ensembl* ».
- Utilise un document « *Word* », pour une révision statistique.
- Obtenir des résultats par, le logiciel « *Primer-BLAST* ».
- Confirmation des résultats par, "*UCSC in-silico PCR*" (PCR virtuelle).

- **La méthode :**

On utilise cette méthode pour les trois gènes (**CASP3\CASP8\CASP9**).

- 1) La conception des amorces encadrant les 3 caspases (3\8\9) commence par la recherche de la séquence de référence du gène **CASP3**, comme un

choix. on utilise la base de donnée « **Ensembl** » est utilisé grâce au site «**www.ensembl.org s'** » comme montré dans la Figure 2.4.

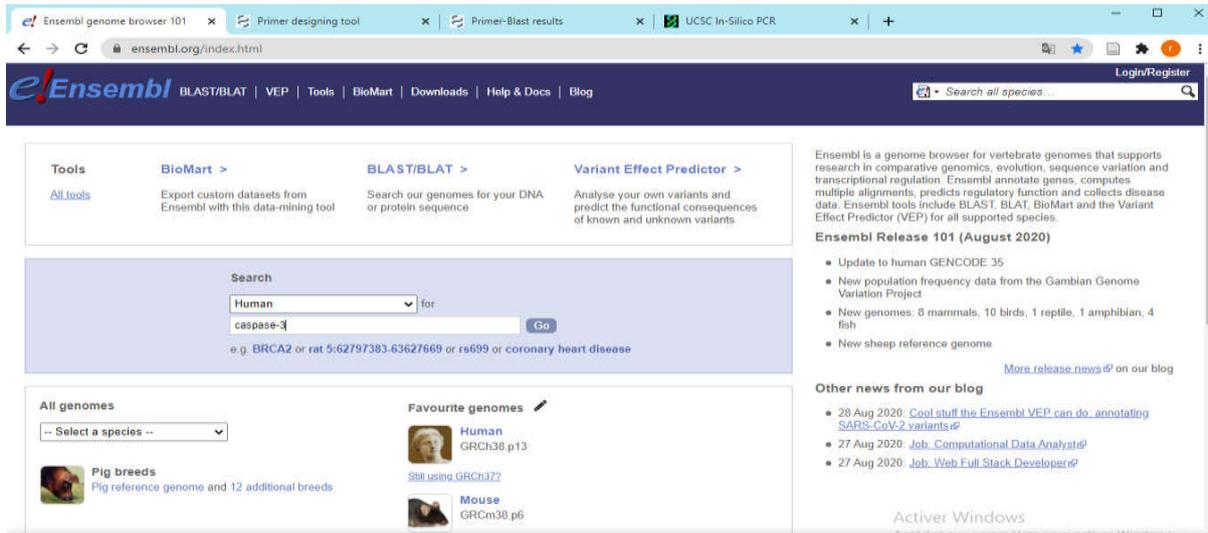


Figure 2.4 : recherche de caspase-3 sur base de données « ensembl ».

2) On cherche la séquence et déterminer les transcrits étudié sur cette base de donné. Où sont représenté en noir les séquences non codante, et en rouge les exons.

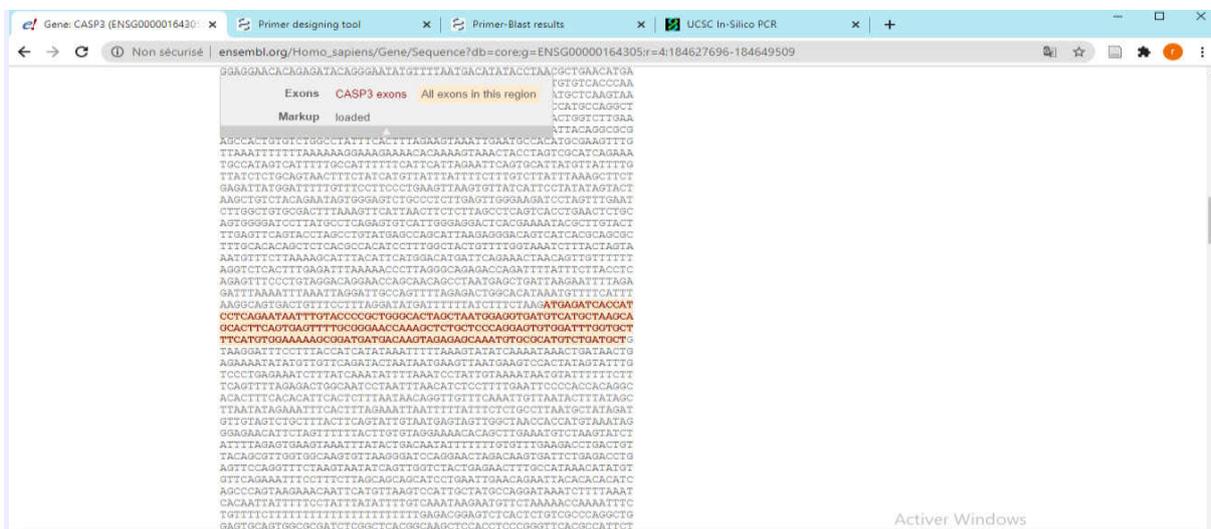


Figure 2.5 : la séquence étudiée.

- 3) On Préciser la séquence étudié, puis on copier dans un document « **Word** ». après, la séquence d'intérêt est encadrée comme montré dans la figure, pour faciliter notre recherche des amorces.

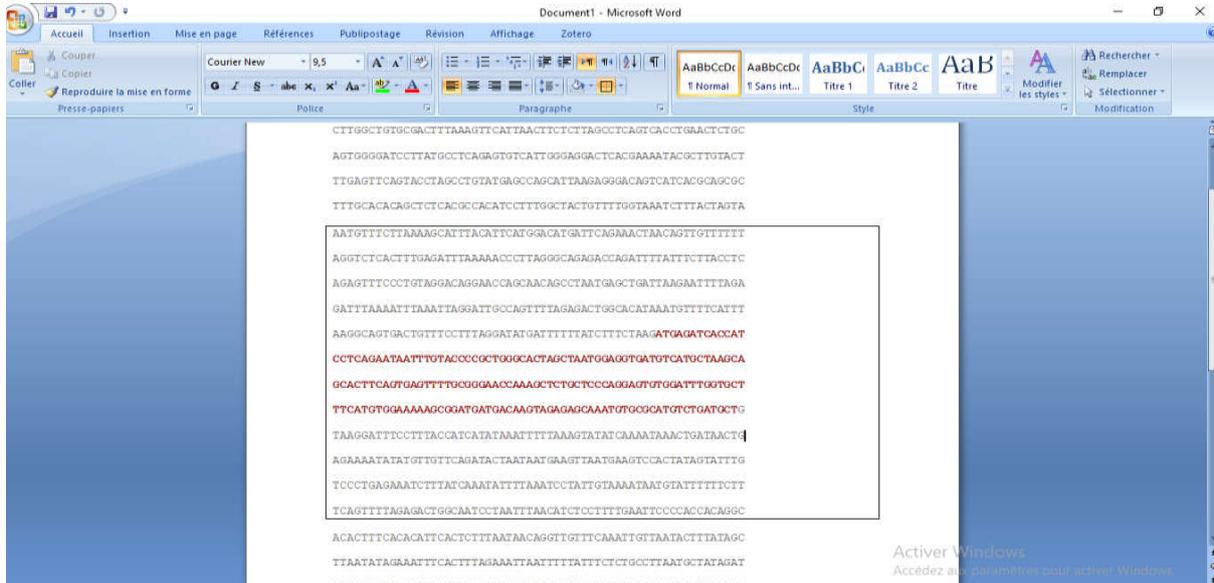


Figure 2.6 : la séquence étudiée copié sur « Word ».

- 4) Dans les ressources du « National Center for Biotechnology Information » (NCBI) on utilisé le logiciel « **Primer-BLAST** » dans le site « **www.ncbi.nlm.nih.gov** » afin de concevoir les amorces recherchées. puis on coller la séquence d'intérêt et insérer dans la zone correspondante. Il faut éliminer les espaces.

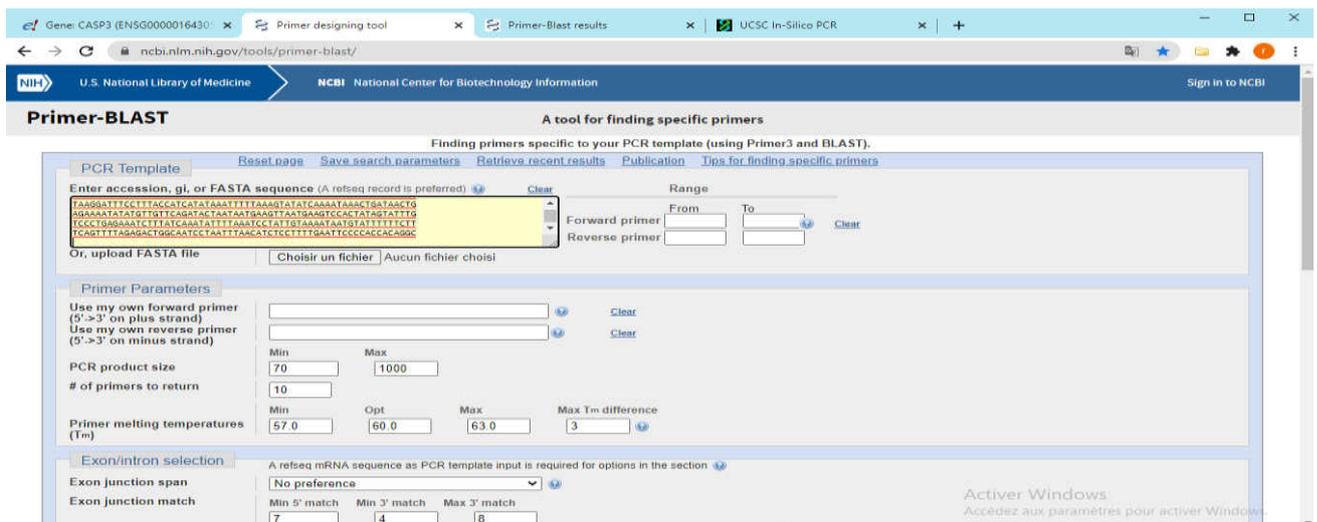


Figure 2.7 : logiciel « Primer-Blast ».

7) On réguler les données en bas de la page, coché « **show results in a new window** », puis cliquer sur « **Get primers** ».

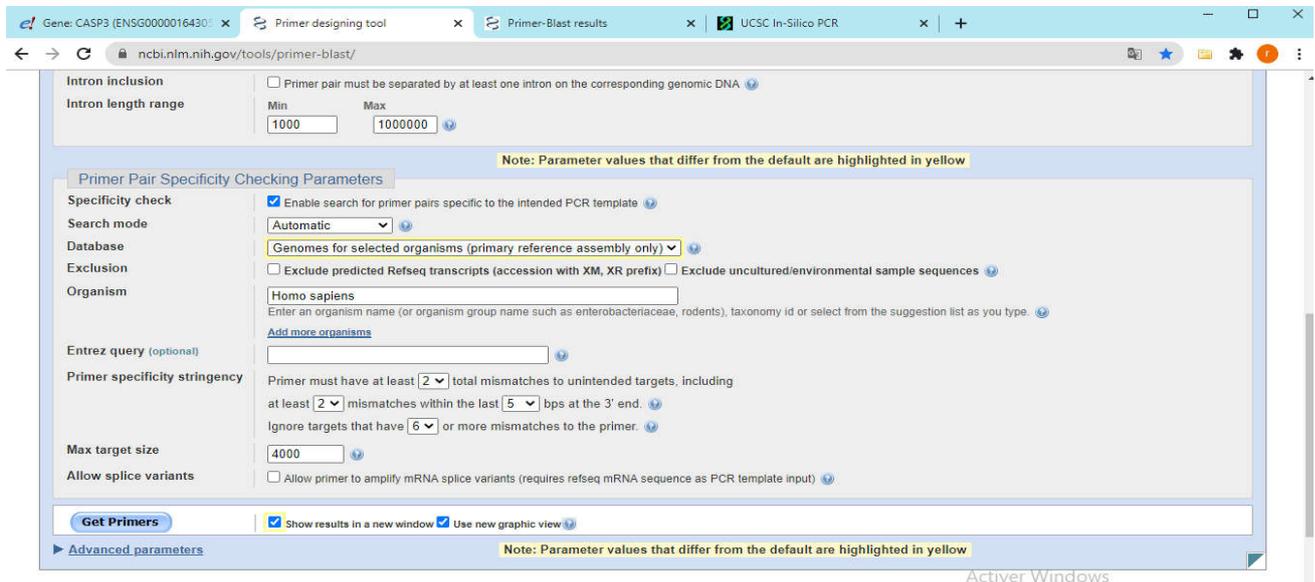


Figure 2.10 : remplit les données sur « Primer-BLAST ».

8) On clique sur « **submit** », et les résultats s'affichent dans une nouvelle fenêtre. Cette opération peut durer quelques minutes.

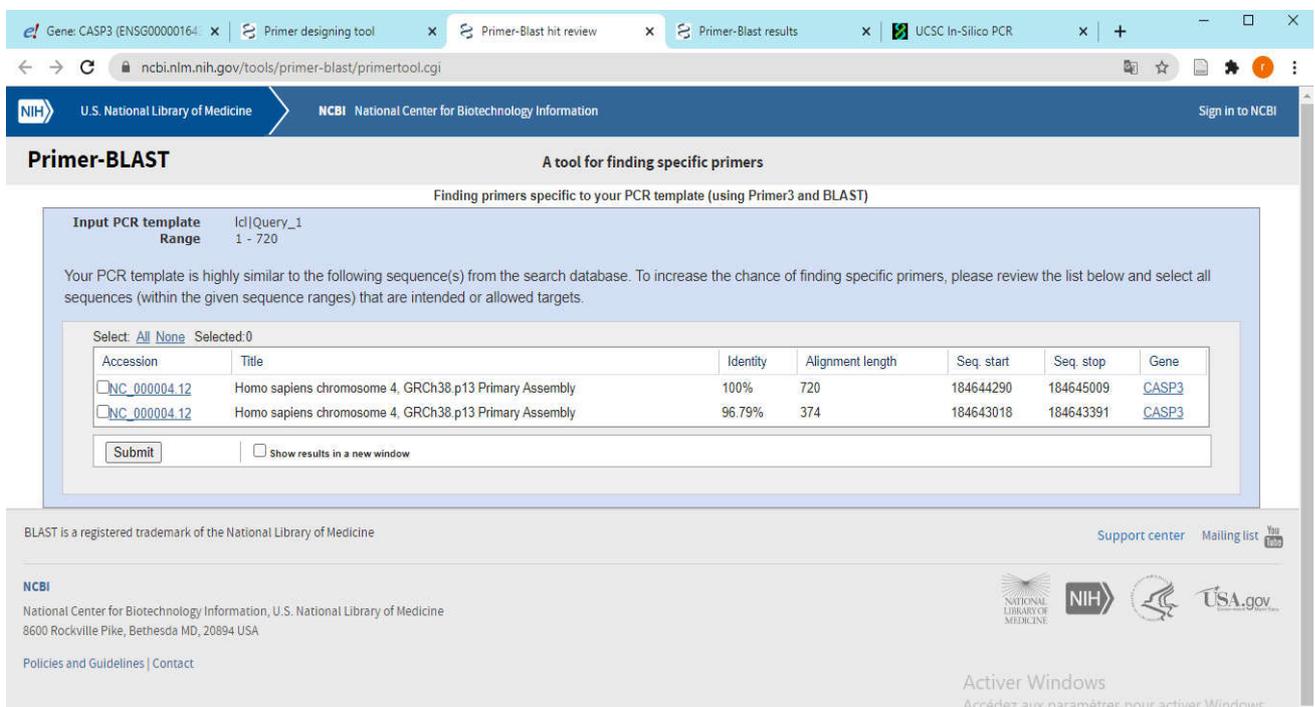


Figure 2.11 : cherche le résultat sur « Primer-BLAST ».

On fait tous ces étapes avec les deux autres gènes (CASP8/CASP9).



CHAPITRE III :

Résultats et perspectives

CHAPITRE III : résultats et perspectives

1. Les résultats : Les résultats apparaissent pour les 3 gènes, à ceci :

CASP3 :

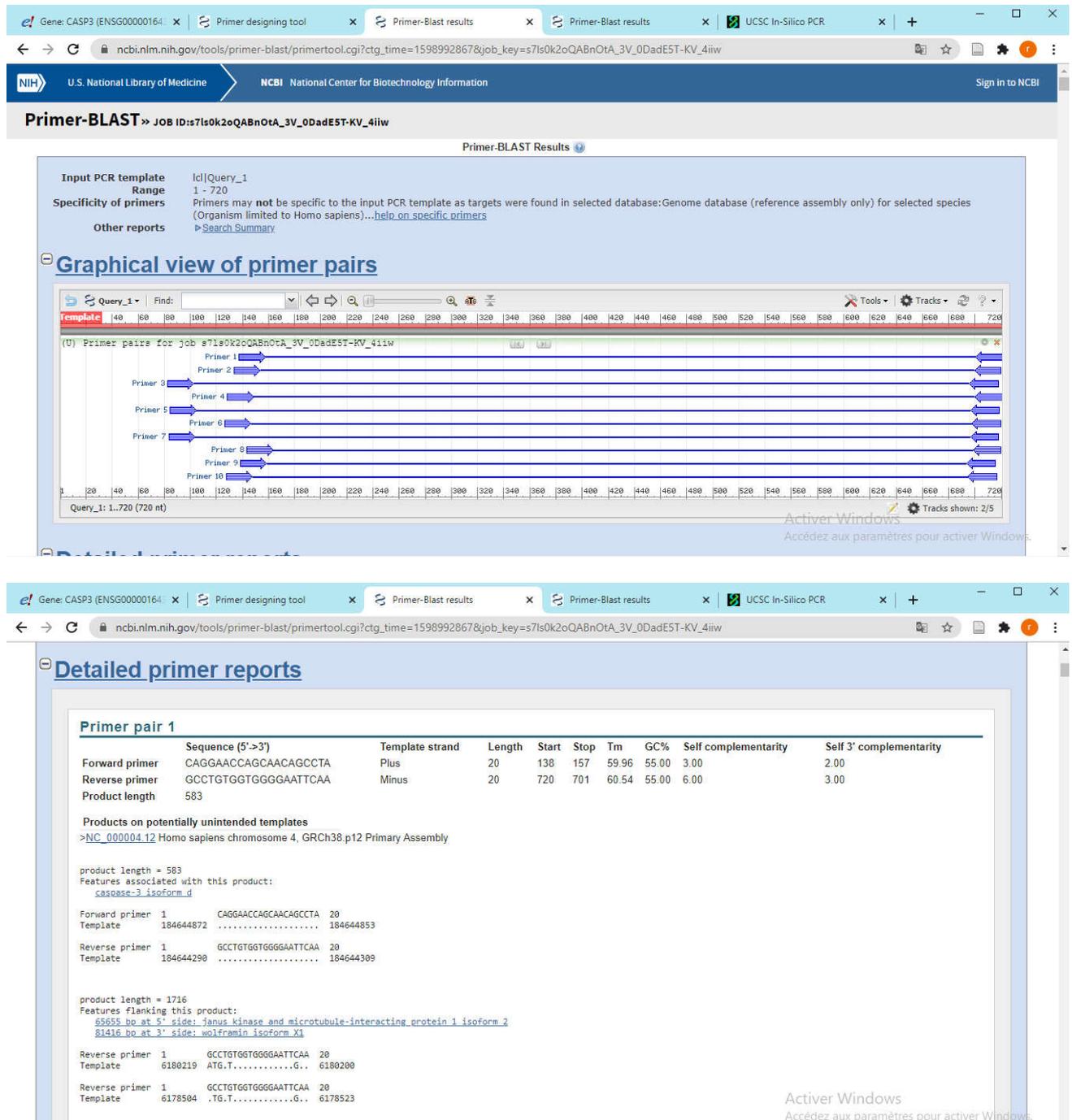


Figure 3.1 : résultat de CASP3.

CASP8 :

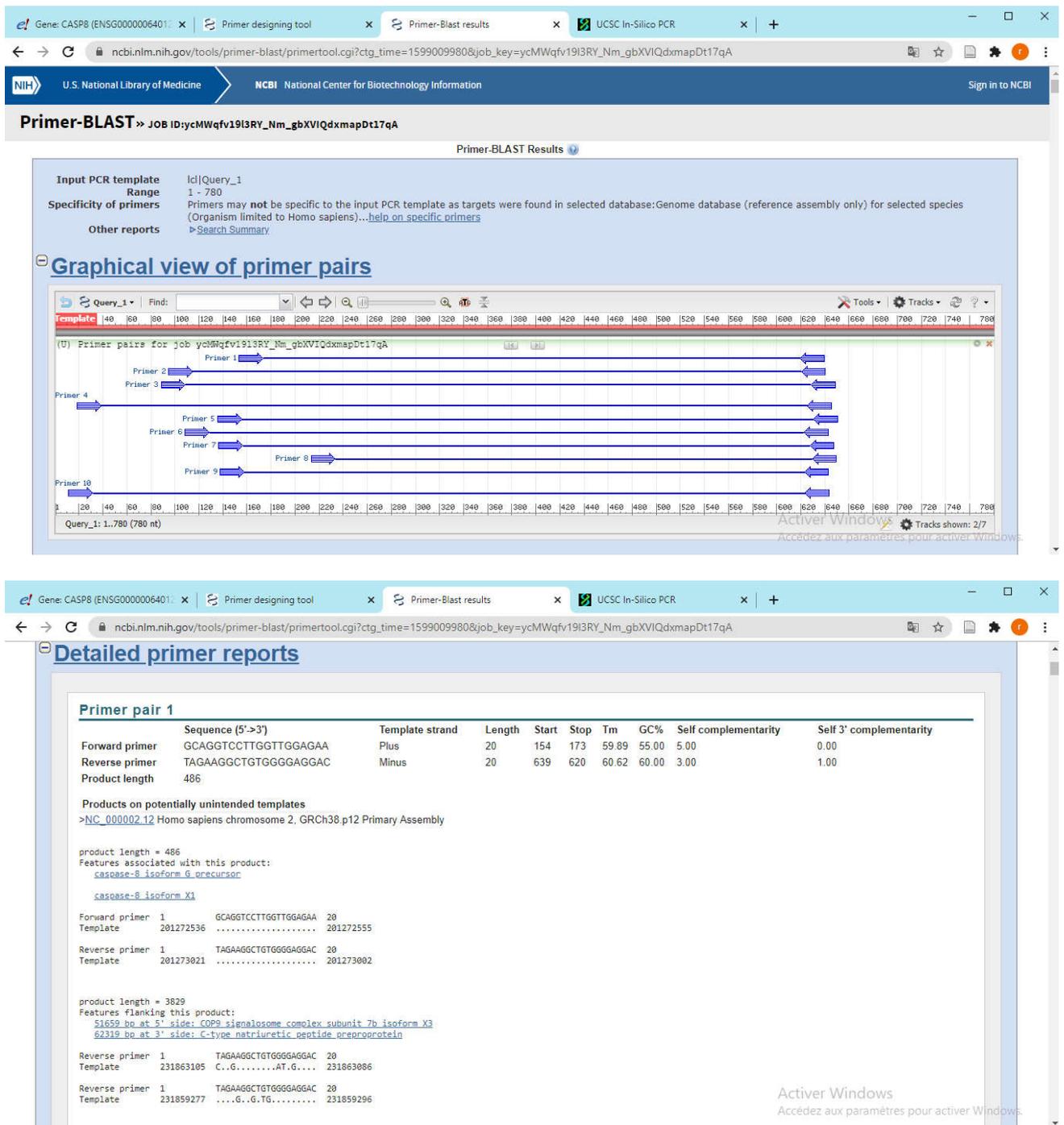


Figure 3.2 : résultat de CASP8.

CASP9 :

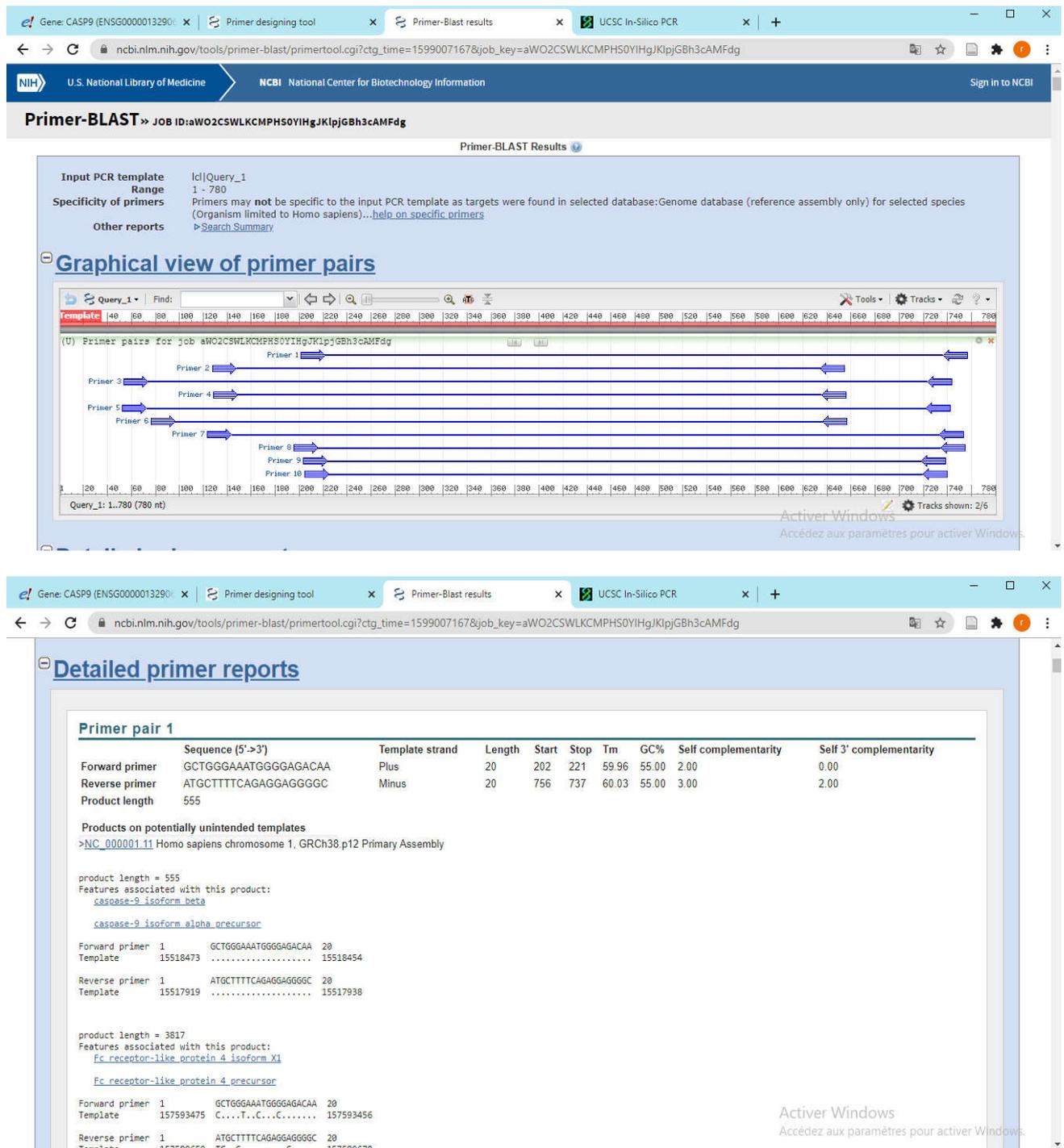


Figure 3.3 : résultat de CASP9.

Dans un premier temps, jusqu'à 10 ou plus couples d'amorces ont été conçues par le site «**Primer-BLAST**», et chacun présenter un produit aspécifique de 400 à 700 Paires de bases (Pb). Grâce au ce logiciel, nous avons obtenue un couple d'amorce spécifique à la région encadrant le **CASP3** (figure 3.1).

Les amorces ainsi conçues doivent répondre aux critères suivants :

- Choisir le couple d'amorces qui donne le moins de produits aspécifiques, afin d'amplifier que le produit étudié (généralement le premier couple dans le tableau est le plus fiable).
- Ignorer les produits aspécifiques de plus de 900 Pb, car lors d'une produit de PCR il est pourraient être difficiles d'amplifier une séquence de plus de 1kb.

2. La confirmation des résultats :

- 1) Afin de vérifier la fiabilité des amorces, « **in silico PCR** » (PCR virtuelle) doit être réalisée. Ceci s'effectue par un programme dans le site suivant : « <https://genome.ucsc.edu/> ». Cliquer sur **tooL**, puis **in silico PCR**.

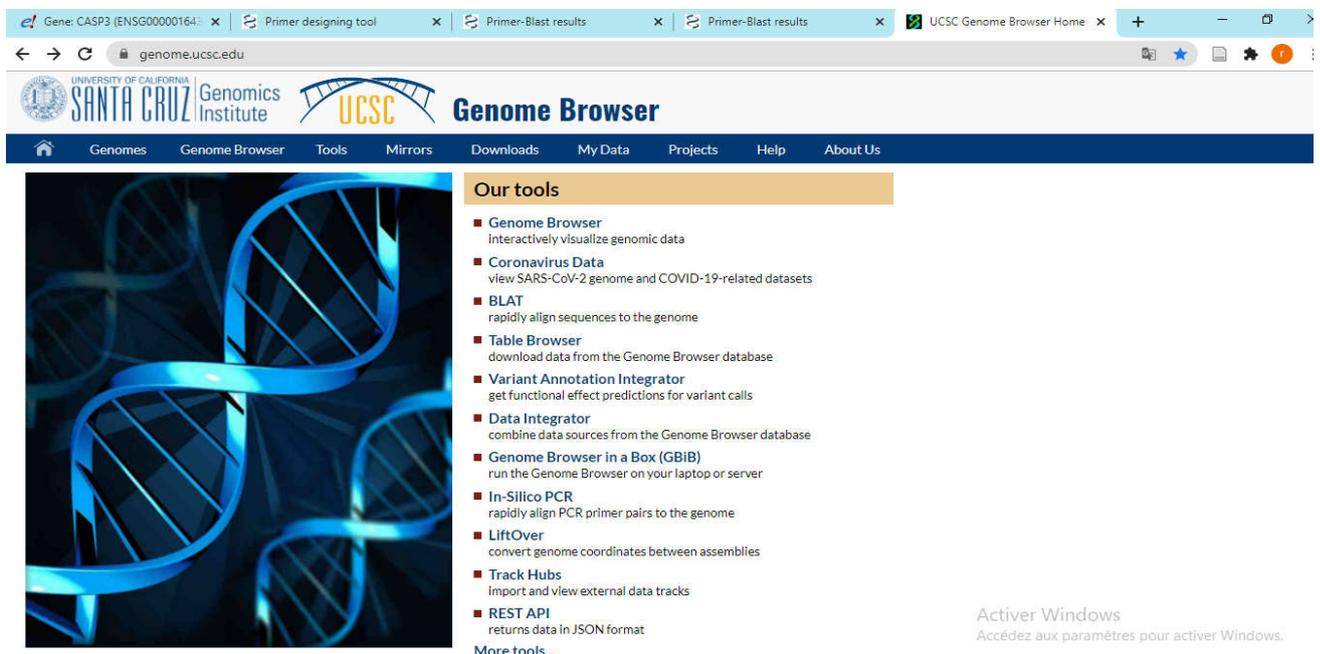


Figure 3.4 : logiciel de confirmation.

2) puis insérer la séquence d’amorce sens et anti-sens de couple d'amorces qui on choisir « **primer pair 1** ». Et cliquer sur « **submit** ».

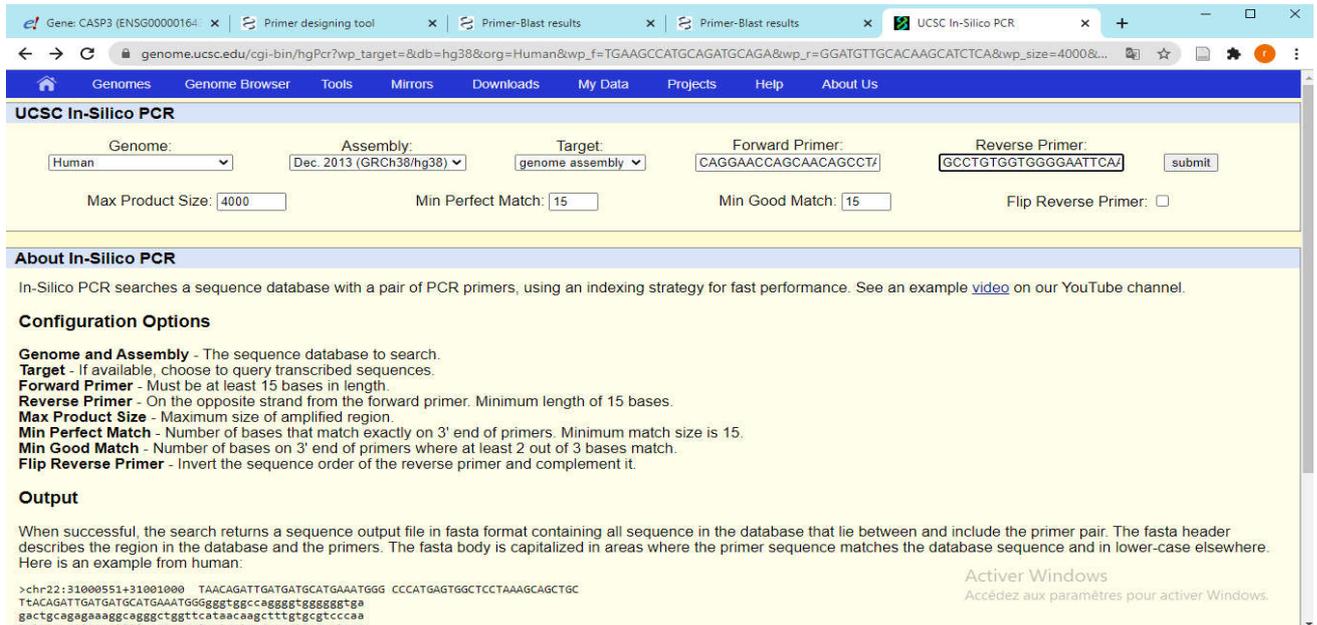


Figure 3.5 : confirme le résultat sur « in silico PCR ».

3) On soumit les séquences des amorces de tous les trois différents gènes à ce programme d'analyse de confirmation, Chacun séparément. Et donc on obtenu les résultats de confirmation suivants:

CASP3 :

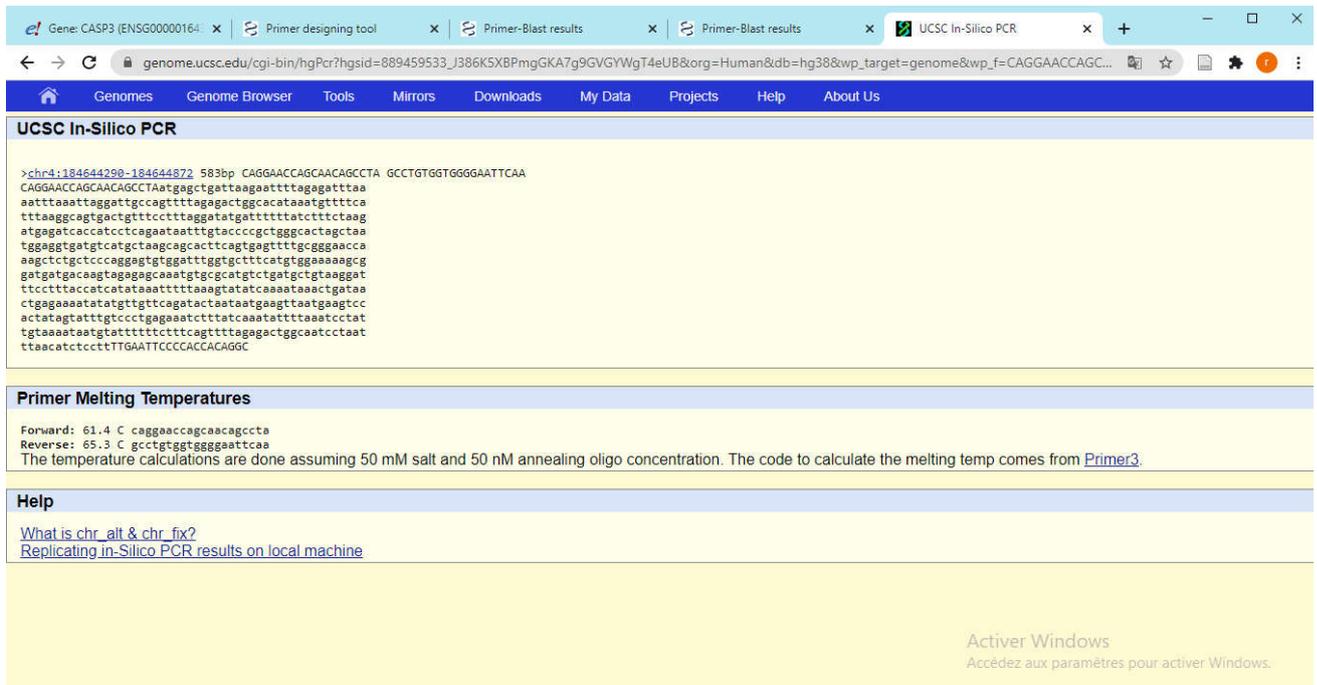


Figure 3.6 : confirmation de CASP3.

CASP8 :

Figure 3.7 : confirmation de CASP8.

CASP9 :

Figure 3.8 : confirmation de CASP9.

- **La discussion :**

Si les amorces sont fiables, un seul résultat apparait, en donnant la position sur le chromosome et la taille. Si on a deux ou trois chromosomes, cela veut dire que ces amorces peuvent amplifier d'autres gènes, ce ne sont pas les bonnes. Et on refait la conception, choisit d'autres régions ou étale la sélection.

Alors que, dans notre travail, les résultats de cette confirmation ont donné que chacun des gènes (**CASP3 / CASP8 /CASP9**) est situé sur leur propre chromosome, (figures 3.6\ 3.7\ 3.8). Donc ces résultats confirment la fiabilité et la spécificité des amorces qu'on a conçues.

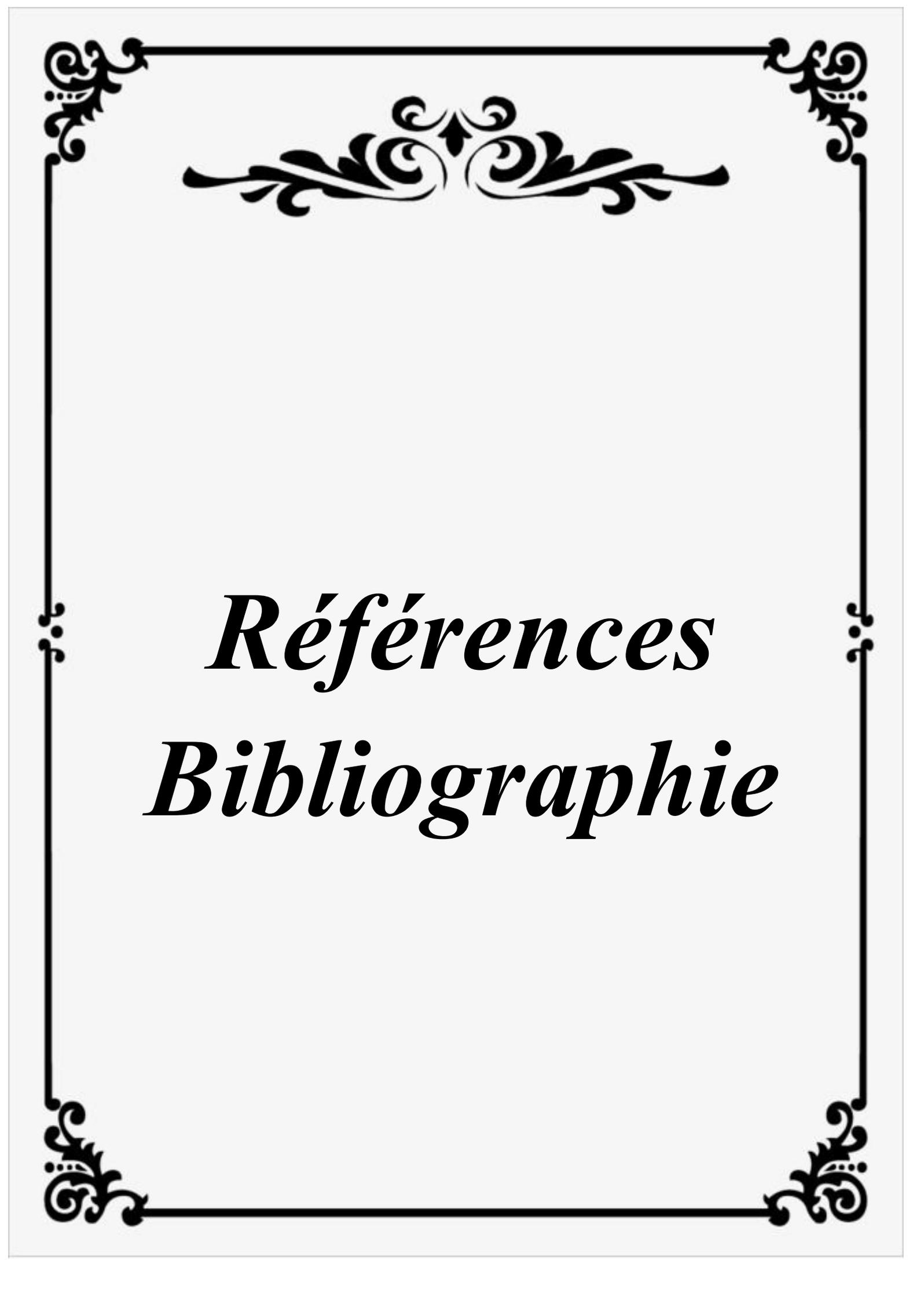


Conclusion
Général

Conclusion :

L'apoptose est orchestrée par les caspases, une famille de cystéine protéases qui clivent leurs substrats du côté carboxy-terminal de résidus d'acide aspartique spécifiques. Ces protéases sont généralement présentes dans les cellules saines sous forme de zymogènes inactifs, mais lorsqu'elles sont stimulées, elles subissent un clivage autolytique pour devenir pleinement actives. Ils clivent ensuite leurs substrats en un ou deux sites spécifiques, ce qui peut entraîner l'activation, l'inactivation, la relocalisation ou le remodelage du substrat. Alors, cette famille des protéases caspases est essentielle pour initier et exécuter la mort cellulaire apoptotique. En plus, de nombreuses caspases ont des fonctions non apoptotiques qui doivent être prises en compte lors du ciblage des voies des caspases dans le cancer.

En résumé, les approches qui induisent directement l'activation de la caspase ou lèvent les freins sur les inhibiteurs existants de l'activation de la caspase représentent des stratégies prometteuses pour le traitement de différents types de cancer. Cependant, certains défis demeurent. Depuis la découverte de la famille des caspases de protéases, notre connaissance de leurs fonctions est passée du statut de seuls moteurs de l'apoptose à des rôles multiformes en biologie cellulaire allant de la régulation de la prolifération cellulaire à l'induction de l'instabilité génomique. Ajoutant à cette complexité, différents répertoires de substrats de caspases individuelles qui changent avec les types de cellules et la progression de la maladie peuvent avoir un impact significatif sur le résultat de l'activation d'une caspase spécifique. En raison de ces divers rôles, une activation insuffisante ou incomplète des caspases peut même contribuer à la chimiorésistance ou à la résurgence de la croissance tumorale. Ainsi, afin de tirer pleinement parti des voies de la caspase apoptotique à des fins thérapeutiques ou préventives, les mécanismes et les conséquences complètes de leur activation doivent être pris en compte et leurs multiples rôles critiques dans la détermination du destin cellulaire doivent être pleinement compris.



Références
Bibliographie

Références Bibliographie

1. Asadi, M., Shanehbandi, D., Asvadi Kermani, T., Sanaat, Z., Zafari, V., Hashemzadeh, S., 2018. Expression Level of Caspase Genes in Colorectal Cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 19, 1277–1280. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.5.1277>
2. Boice, A., Bouchier-Hayes, L., 2020. Targeting apoptotic caspases in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1867, 118688. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118688>
3. Boudreau, M.W., Peh, J., Hergenrother, P.J., 2019. Procaspase-3 Overexpression in Cancer: A Paradoxical Observation with Therapeutic Potential. *ACS Chem. Biol.* 14, 2335–2348. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00338>
4. Crowley, L.C., Waterhouse, N.J., 2016. Detecting Cleaved Caspase-3 in Apoptotic Cells by Flow Cytometry. *Cold Spring Harb Protoc* 2016. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot087312>
5. Dabrowska, C., Li, M., Fan, Y., 2016. Apoptotic Caspases in Promoting Cancer: Implications from Their Roles in Development and Tissue Homeostasis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 930, 89–112. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39406-0_4
6. Flanagan, L., Meyer, M., Fay, J., Curry, S., Bacon, O., Duessmann, H., John, K., Boland, K.C., McNamara, D.A., Kay, E.W., Bantel, H., Schulze-Bergkamen, H., Prehn, J.H.M., 2016. Low levels of Caspase-3 predict favourable response to 5FU-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: Caspase-3 inhibition as a therapeutic approach. *Cell Death & Disease* 7, e2087–e2087. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.7>
7. Galluzzi, L., López-Soto, A., Kumar, S., Kroemer, G., 2016. Caspases Connect Cell-Death Signaling to Organismal Homeostasis. *Immunity* 44, 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.020>
8. Gorelick-Ashkenazi, A., Weiss, R., Sapozhnikov, L., Florentin, A., Tarayrah-Ibraheim, L., Dweik, D., Yacobi-Sharon, K., Arama, E., 2018. Caspases maintain tissue integrity by an apoptosis-independent inhibition of cell migration and invasion. *Nat Commun* 9, 2806. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05204-6>

Références Bibliographique

9. Green, D.R., Llambi, F., 2015. Cell Death Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006080>
10. Huang, K.-H., Fang, W.-L., Li, A.F.-Y., Liang, P.-H., Wu, C.-W., Shyr, Y.-M., Yang, M.-H., 2018. Caspase-3, a key apoptotic protein, as a prognostic marker in gastric cancer after curative surgery. *Int J Surg* 52, 258–263. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2018.02.055>
11. Ivanisenko, N.V., Lavrik, I.N., 2019. [Mechanisms of Procaspase-8 Activation in the Extrinsic Programmed Cell Death Pathway]. *Mol. Biol. (Mosk.)* 53, 830–837. <https://doi.org/10.1134/S0026898419050094>
12. Julien, O., Wells, J.A., 2017. Caspases and their substrates. *Cell Death Differ.* 24, 1380–1389. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.44>
13. Kesavardhana, S., Malireddi, R.K.S., Kanneganti, T.-D., 2020. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Pyroptosis. *Annu. Rev. Immunol.* 38, 567–595. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-073119-095439>
14. Kim, B., Srivastava, S.K., Kim, S.-H., 2015. Caspase-9 as a therapeutic target for treating cancer. *Expert Opin. Ther. Targets* 19, 113–127. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.961425>
15. Kopeina, G.S., Prokhorova, E.A., Lavrik, I.N., Zhivotovsky, B., 2018. Alterations in the nucleocytoplasmic transport in apoptosis: Caspases lead the way. *Cell Prolif.* 51, e12467. <https://doi.org/10.1111/cpr.12467>
16. Liu, J., Wang, F., Yin, D., Zhang, H., Feng, F., 2019. Caspase 3 may participate in the anti-tumor immunity of dendritic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 511, 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.02.081>
17. Madadi, Z., Akbari-Birgani, S., Monfared, P.D., Mohammadi, S., 2019. The non-apoptotic role of caspase-9 promotes differentiation in leukemic cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1866, 118524. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.118524>

Références Bibliographie

18. Mandal, R., Barrón, J.C., Kostova, I., Becker, S., Strebhardt, K., 2020. Caspase-8: The double-edged sword. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1873, 188357. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188357>

19. McArthur, K., Kile, B.T., 2018. Apoptotic Caspases: Multiple or Mistaken Identities? *Trends Cell Biol.* 28, 475–493. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.003>

20. Pérez-Garijo, A., 2018. When dying is not the end: Apoptotic caspases as drivers of proliferation. *Semin. Cell Dev. Biol.* 82, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.11.036>

21. Pfeffer, C.M., Singh, A.T.K., 2018. Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19020448>

22. Prokhorova, E.A., Kopeina, G.S., Lavrik, I.N., Zhivotovsky, B., 2018. Apoptosis regulation by subcellular relocation of caspases. *Sci Rep* 8, 12199. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30652-x>

23. Ramirez, M.L.G., Salvesen, G.S., 2018. A primer on caspase mechanisms. *Semin. Cell Dev. Biol.* 82, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2018.01.002>

24. Shalini, S., Dorstyn, L., Dawar, S., Kumar, S., 2015. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death Differ.* 22, 526–539. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.216>

25. Tummers, B., Green, D.R., 2017. Caspase-8: regulating life and death. *Immunol. Rev.* 277, 76–89. <https://doi.org/10.1111/imr.12541>

26. Van Opdenbosch, N., Lamkanfi, M., 2019. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. *Immunity* 50, 1352–1364. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.05.020>

27. Yao, Q., Wang, W., Jin, J., Min, K., Yang, J., Zhong, Y., Xu, C., Deng, J., Zhou, Y., 2018. Synergistic role of Caspase-8 and Caspase-3 expressions: Prognostic and predictive biomarkers in colorectal cancer. *Cancer Biomark* 21, 899–908. <https://doi.org/10.3233/CBM-170967>

Références Bibliographie

28. Zamaraev, A.V., Kopeina, G.S., Prokhorova, E.A., Zhivotovsky, B., Lavrik, I.N., 2017. Post-translational Modification of Caspases: The Other Side of Apoptosis Regulation. *Trends Cell Biol.* 27, 322–339. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.01.003>
29. Zhao, R., Kaakati, R., Lee, A.K., Liu, X., Li, F., Li, C.-Y., 2018. Novel roles of apoptotic caspases in tumor repopulation, epigenetic reprogramming, carcinogenesis, and beyond. *Cancer Metastasis Rev.* 37, 227–236. <https://doi.org/10.1007/s10555-018-9736-y>
30. Zhong, B., Liu, M., Bai, C., Ruan, Y., Wang, Y., Qiu, L., Hong, Y., Wang, X., Li, L., Li, B., 2020. Caspase-8 Induces Lysosome-Associated Cell Death in Cancer Cells. *Mol. Ther.* 28, 1078–1091. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.01.022>
31. Zhou, M., Liu, X., Li, Z., Huang, Q., Li, F., Li, C.-Y., 2018. Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells. *Int. J. Cancer* 143, 921–930. <https://doi.org/10.1002/ijc.31374>