

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2018

THESE N°: 251

APPORT DE L'APOPTOSE
DANS LE PALUDISME

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Imane OUIAZZA

Née le 16 Avril 1992

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Apoptose – Paludisme – Caspase.

JURY

Mr. B. E. LMIMOUNI

Professeur de Parasitologie-Mycologie

Mr. M. BOUCHRIK

Professeur de Parasitologie-Mycologie

Mr. A. IBRAHIMI

Professeur de Biotechnologie

Mr. O. CHOKAIRI

Professeur de Biologie Moléculaire

Mr. M. MEIOUETE

Professeur de Droit Pharmaceutique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَإِذَا سَأَلَكَ عِبَادِي عَنِّي فَإِنِّي قَرِيبٌ
أُجِيبُ دَعْوَةَ الدَّاعِ إِذَا دَعَانِ
فَلْيَسْتَجِيبُوا لِي وَلْيُؤْمِنُوا بِي
لَعَلَّهُمْ يَرْشُدُونَ ﴿١٨٦﴾

البقرة: ١٨٦

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – **Clinique Royale**
Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes

Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUY Mohamed

Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNIAOUI Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbès Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC**

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie

Chef de Service des Ressources Humaines
Abdellah KHALID



Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la**

Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montace r
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen de la FMP Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- **Dir. Hop. Av. Marr.**
Anesthésie-Réanimation **Inspecteur du SSM**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne



Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie



Pr. BENOACHANE Thami
 Pr. BEZZA Ahmed*
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 Pr. BOUMDIN El Hassane*
 Pr. CHAT Latifa
 Pr. DAALI Mustapha*
 Pr. DRISSE Sidi Mourad*
 Pr. EL HIJRI Ahmed
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 Pr. EL MADHI Tarik
 Pr. EL OUNANI Mohamed
 Pr. ETTAIR Said
 Pr. GAZZAZ Miloudi*
 Pr. HRORA Abdelmalek
 Pr. KABBAJ Saad
 Pr. KABIRI EL Hassane*
 Pr. LAMRANI Moulay Omar
 Pr. LEKEHAL Brahim
 Pr. MAHASSIN Fattouma*
 Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine
 Pr. SABBAH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia

Pédiatrie
 Rhumatologie
 Anatomie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie

Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Nouredine*

Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie



Pr. ACHOUR Abdessamad*
 Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
 Pr. AMHAJJI Larbi*
 Pr. AOUI Sarra
 Pr. BAITE Abdelouahed*
 Pr. BALOUCH Lhousaine*
 Pr. BENZIANE Hamid*
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 Pr. CHARKAOUI Naoual*
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GHARIB Nouredine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia
 Pr. KEBDANI Tayeb
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
 Pr. LOUZI Lhoussain*
 Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MAHI Mohamed*
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. MRABET Mustapha*
 Pr. MRANI Saad*
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. RABHI Moncef*
 Pr. RADOUANE Bouchaib*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TABERKANET Mustafa*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Chirurgie générale
 Chirurgie cardio vasculaire
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Anesthésie réanimation
 Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologique
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie



Ophtalmologie

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*

Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*

Pr. AGDR Aomar*

Pr. AIT ALI Abdelmounaim*

Pr. AIT BENHADDOU El hachmia

Pr. AKHADDAR Ali*

Pr. ALLALI Nazik

Pr. AMINE Bouchra

Pr. ARKHA Yassir

Pr. BELYAMANI Lahcen*

Pr. BJIJOU Younes

Pr. BOUHSAIN Sanae*

Pr. BOUI Mohammed*

Pr. BOUNAIM Ahmed*

Pr. BOUSSOUGA Mostapha*

Pr. CHAKOUR Mohammed *

Pr. CHTATA Hassan Toufik*

Pr. DOGHMI Kamal*

Pr. EL MALKI Hadj Omar

Pr. EL OUENNASS Mostapha*

Pr. ENNIBI Khalid*

Pr. FATHI Khalid

Pr. HASSIKOU Hasna *

Pr. KABBAJ Nawal

Pr. KABIRI Meryem

Pr. KARBOUBI Lamya

Pr. L'KASSIMI Hachemi*

Pr. LAMSAOURI Jamal*

Pr. MARMADE Lahcen

Pr. MESKINI Toufik

Pr. MESSAOUDI Nezha *

Pr. MSSROURI Rahal

Pr. NASSAR Ittimade

Pr. OUKERRAJ Latifa

Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Anesthésie Réanimation

Chirurgie Générale

Médecine interne

Pédiatre

Chirurgie Générale

Neurologie

Neuro-chirurgie

Radiologie

Rhumatologie

Neuro-chirurgie

Anesthésie Réanimation

Anatomie

Biochimie-chimie

Dermatologie

Chirurgie Générale

Traumatologie orthopédique

Hématologie biologique

Chirurgie vasculaire périphérique

Hématologie clinique

Chirurgie Générale

Microbiologie

Médecine interne

Gynécologie obstétrique

Rhumatologie

Gastro-entérologie

Pédiatrie

Pédiatrie

Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**

Chimie Thérapeutique

Chirurgie Cardio-vasculaire

Pédiatrie

Hématologie biologique

Chirurgie Générale

Radiologie

Cardiologie

Pneumo-phtisiologie



Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale
 Hématologie
 Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
 Pr. ABOUELALAA Khalil*
 Pr. BELAIZI Mohamed*
 Pr. BENCHEBBA Driss*
 Pr. DRISSI Mohamed*
 Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
 Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
 Pr. EL OUAZZANI Hanane*
 Pr. ER-RAJI Mounir
 Pr. JAHID Ahmed
 Pr. MEHSSANI Jamal*
 Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
 Anesthésie Réanimation
 Psychiatrie
 Traumatologie Orthopédique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumophtisiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie pathologique
 Psychiatrie
 Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
 Pr. AIT EL CADI Mina
 Pr. AMRANI HANCHI Laila
 Pr. AMOUR Mourad
 Pr. AWAB Almahdi
 Pr. BELAYACHI Jihane
 Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
 Pr. BENCHEKROUN Laila

Pharmacologie – Chimie
 Toxicologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Réanimation Médicale
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie-Chimie

Pr. BENKIRANE Souad
 Pr. BENNANA Ahmed*
 O.
 Pr. BENSGHIR Mustapha*
 Pr. BENYAHIA Mohammed*
 Pr. BOUATIA Mustapha
 Pr. BOUABID Ahmed Salim*
 Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
 Pr. CHAIB Ali*
 Pr. DENDANE Tarek
 Pr. DINI Nouzha*
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
 Pr. ELFATEMI Nizare
 Pr. EL GUERROUJ Hasnae
 Pr. EL HARTI Jaouad

Pr. EL JOUDI Rachid*
 Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira

Hématologie
 Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chimie Analytique
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie
 Cardiologie
 Réanimation Médicale
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Neuro-Chirurgie
 Médecine Nucléaire
 Chimie Thérapeutique

Toxicologie
 Pédiatrie
 Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie



Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

****Enseignants Militaires***

MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
 BENCHAKROUN MOHAMMED
 BOUCHIKH MOHAMMED
 EL KABBAJ DRISS
 EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
 HARDIZI HOUYAM
 HASSANI AMALE
 HERRAK LAILA
 JANANE ABDELLA TIF
 JEAIDI ANASS
 KOUACH JAOUAD
 LEMNOUER ABDELHAY
 MAKRAM SANAA
 OULAHYANE RACHID
 RHISSASSI MOHAMED JMFAR
 SABRY MOHAMED
 SEKKACH YOUSSEF
 TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Thoracique
 Néphrologie
 Biochimie-Chimie
 Histologie- Embryologie-Cytogénétique
 Pédiatrie
 Pneumologie
 Urologie
 Hématologie Biologique
 Génécologie-Obstétrique
 Microbiologie
 Pharmacologie
 Chirurgie Pédiatrique
 CCV
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Génécologie-Obstétrique



****Enseignants Militaires***

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
 AIT BOUGHIMA FADILA
 BEKKALI HICHAM
 BENAZZOU SALMA
 BOUABDELLAH MOUNYA
 BOUCHRIK MOURAD

Pédiatrie
 Médecine Légale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Maxillo-Faciale
 Biochimie-Chimie
 Parasitologie

DERRAJI SOUFIANE
 DOBLALI TAOUFIK
 EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
 EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
 EL MARJANY MOHAMMED
 FEJJAL NAWFAL
 JAHIDI MOHAMED
 LAKHAL ZOUHAIR
 OUDGHIRI NEZHA
 Rami Mohamed
 SABIR MARIA
 SBAI IDRISSE KARIM

Pharmacie Clinique
 Microbiologie
 Anatomie
 Anesthésie-Réanimation
 Radiothérapie
 Chirurgie Réparatrice et Plastique
 O.R.L
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Pédiatrique
 Psychiatrie
 Médecine préventive, santé publique et Hyg.

***Enseignants Militaires**



AOUT 2015

Meziane meryem
 Tahri latifa

Dermatologie
 Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
 EL ASRI FOUAD
 ERRAMI NOUREDDINE
 NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 O.R.L
 O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
 Pr. ALAMI OUHABI Naima
 Pr. ALAOUI KATIM
 Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
 Pr. ANSAR M'hammed
 Pr. BOUHOUCHE Ahmed
 Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
 Pr. BOURJOUANE Mohamed
 Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
 Pr. DAKKA Taoufiq
 Pr. DRAOUI Mustapha
 Pr. EL GUESSABI Lahcen
 Pr. ETTAIB Abdelkader

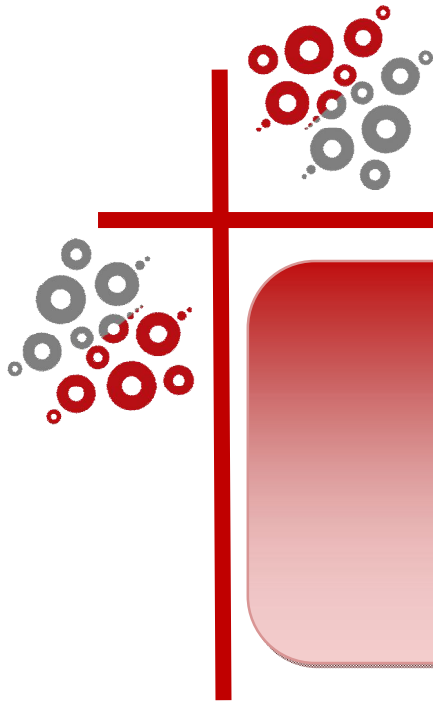
Physiologie
 Biochimie – chimie
 Pharmacologie
 Histologie-Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Génétique Humaine
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Biochimie – chimie
 Physiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie

Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
Pr. HAMZAOU Laila
Pr. HMAMOUCI Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRIS Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*





Dédicaces



***A ma chère mère
Lalla Nora Mouyl***

*Pour l'affection, la tendresse et l'amour
dont tu m'a toujours entouré,
Pour le sacrifice et le dévouement dont tu as toujours fait preuve,
Pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.
Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments
profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.
Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers
toi.
Puisse le grand puissant te donner
bonne santé et longue vie...*





A mon cher père
Mr Hammou OUIAZZA

*Tu m'as toujours
incité à étudier et à aller de l'avant.*

*Grâce à ta bienveillance,
à ton encouragement et à ta générosité,
j'ai pu terminer mes études dans l'enthousiasme.*
*Toutes les encres du monde ne me suffisent pour t'exprimer
mon immense gratitude.*
*Que ce travail puisse être le résultat de tes efforts et de tes
sacrifices.*
Puisse le bon dieu te protéger et t'accorder longue vie.





A ma très chère sœur Fatine

*En témoignage de l'attachement,
de l'amour et de l'affection que je porte pour toi, pour ton mari
et pour mon futur neveu.*

*Je vous dédie ce travail avec
tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

A mon très cher frère Soufiane

Tu es toujours pour moi

*Mon frère bien aimé que j'apprécie énormément.
Que tous tes rêves soient réalisés et que rien ne te manque.*



A Mon Adorable et tendre fiancé

*Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments
les plus profonds envers toi.*

*Je remercie Dieu. Le clément de m'avoir offert une âme sœur
amoureuse, compréhensive et indulgente.*

*Veuillez trouver dans ce travail, mes purs sentiments de
reconnaissance et de gratitude.*

*Que Dieu le tout puissant qui nous a réuni sur terre, vous
préserve santé et vous offre réussite et prospérité.*



A mes chers amis

***Kawtar Benraiss , Alae Negrachi , Mehdi Khayoussef , Amal
Oulad ali, Malak Derbal ,houda akoudad ,Ibtissam
bensghir , Sara Chemlal , Najwa Loukili ,Touiaba Ibn seddik
,Hind reguragui, Sabrina El fahsi ,Yassine Essadi***



*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous
exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des
frères et sœurs et des amis sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de
tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie
ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de
bonheur.*



Remerciements

A Notre maître et président de thèse
Monsieur le professeur LMIMOUNI BADRE
EDDINE.

Professeur de parasitologie et Mycologie.
A l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de
RABAT

*C' est pour nous un grand Honneur de voir
présider notre jury de thèse..*

*Veillez trouver dans ce travail, l'expression de
notre profonde gratitude, de nos remerciements
les plus sincères et de notre respect.*

A Notre maître et rapporteur de thèse
Monsieur le professeur BOUCHRIK MOURAD
Professeur de parasitologie et Mycologie.
A l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de
RABAT

*Nous tenons à vous exprimer toute notre
reconnaissance, pour l'honneur que vous nous
avez fait en acceptant de diriger ce travail.*

*Vos conseils et vos orientations nous ont été très
précieux. Nous espérons être dignes de votre
confiance.*

*Veuillez trouver ici, cher Maître, l'expression de
nos vifs remerciements et de notre estime.*



A Notre maître et juge de thèse
Mr Azdine IBRAHIMI
Professeur de Biologie Moléculaire

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous
nous faites*

en acceptant de juger notre travail.

*Veillez accepter nos remerciements ainsi que
le témoignage de notre respect et notre
gratitude.*

*Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression
de nos vifs remerciements et de notre estime.*



A Notre maître et juge de thèse

Mr CHOKAIRI

Professeur de Biologie Moléculaire

*Vous nous avez toujours accueilli avec
amabilité et sympathie, malgré vos
nombreuses occupations professionnelles.*

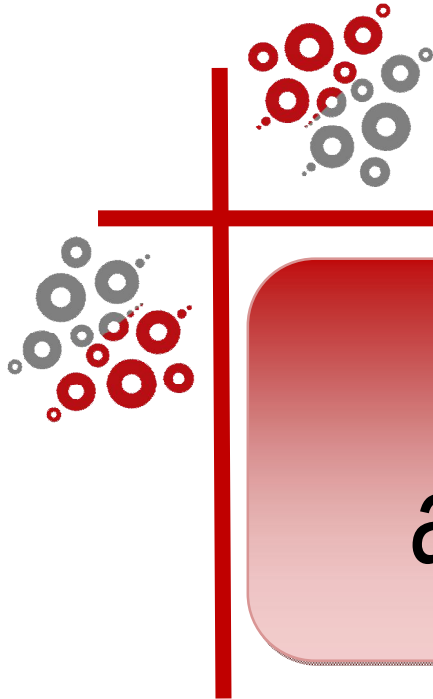
*Votre haute compétence, votre gentillesse et
vos conseils nous ont facilité l'élaboration de
ce travail. Que ce travail soit l'expression de
notre profonde gratitude et le témoignage de
notre grande estime.*



A notre maître et juge de thèse
Monsieur le professeur MEIOUETE
MOHAMED
Professeur de Droit pharmaceutique

*Nous vous remercions vivement de
l'honneur que vous nous faites en
siégeant dans ce jury.*

*Que votre sérieux et votre rigueur de
travail, ainsi que votre dévouement
professionnel sans limites soient
pour nous un exemple à suivre.*



Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN :Acide desoxyribonucléique

ADN: Acide désoxyribonucléique

AIF :Apoptose Inducing Factor

AIP1: Atrophin-Interacting protein 1

AO :Acridine Orange

Apaf-1 :Apoptosis Protease-Activating Factor-1

ART: Artémisinine

ATP :Adénosine Tri-Phosphate

Bcl-2 : B cell lymphoma-2

BID: Domain Death Agonist

C. elegans: *Caenorhabditis elegans*

CARD: Caspase Recruitment Domain

CED-3: Cell Death gene-3

CED-4: Cell Death gene-34

C-FLIP proteins: cellular FLICE-inhibitory

C-FLIP ;Cellular FLICE/Caspase 8 Inhibitory Protein

CQ: Chloroquine

DcR :Les Decoy Receptor

DD: Death Domain

DED: Death Effector Domain

DISC : Complexe de Signalisation

DR: Death Receptor

DR3 ; Death Receptor 3

EBV : Le virus d'Epstein-Barr

EGL-1 :egg-laying defective

FADD : Fas-associated death domain

FAF-1 :Fas Associated Factor 1

FAS : Fatty Acid Synthase

FMK : benzyloxycarbonyl-Val-Arg-Pro-DL-Arg-fluoromethylketone

GR: Globule rouge

IAPS :inhibitor of apoptosis

IAPs: Inhibitor of apoptosis

LMP : Latent membrane protein

MCA: Métacaspase

MEC: Matrice Extra-Cellulaire

MIM: Membrane Interne de la

mitochondrie

MOMP : Mitochondrial outermembrane permeabilization

N-APP : beta Amyloid Precursor Protein

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

OPG :l'Ostéoprotégérine

P : Paracaspase

P.f: *Plasmodium falciparum*

P. knowlesi: *Plasmodium knowlesi*

P. malariae: *Plasmodium malariae*

P. ovale: *Plasmodium ovale*

P. vivax: *Plasmodium vivax*

p75NTR :p75 Neurotrophin receptor

PCR : Réaction de polymérisation en chaine

PLAD ;PreLigand Assembly Domain proteins

PS : Phosphatidylsérine

RIP : Receptor-interacting protein

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labelling

VCAM: Vascular Cell Adhesion Molecule I

VHC: Virus de l'hépatite C

VIH: Virus d'Immunodéficience Humaine

WHO: World Health Organization

YCA1: Yeast metacaspase 1

z-DEVD-AMC: benzyloxycarbonyl -Aspartate-Glutamate-Valine-Aspartate- 7 amino-4-methylcoumarin

z-VAD-fmk: benzyloxycarbonyl -Valine-alanine-aspartate-fluoromethylketone

Z-VRPR- RIP1: Receptor interacting protein 1



Liste des illustrations

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Modelage d'organes

Figure 2 : Apoptose et développement de l'embryon

Figure 3 : Apoptose et formation des doigts

Figure 4 : Apoptose et élimination de structures.

Figure 5 : Apoptose et développement du système nerveux

Figure 6 : Différence apoptose, nécrose, autophagie

Figure 7 : Mutagenèse chimique chez les larves de *C. Elegans*

Figure 8 : Exécution de l'apoptose chez *C. elegans*

Figure 9 : Schéma simplifié représentant les protéines essentielles au programme de mort cellulaire chez *C. elegans* et chez les mammifères

Figure 10 : schéma représentant la structure du domaine de mort (DEATH DOMAIN)

Figure 11 : La signalisation de la voie extrinsèque

Figure 12 : structure de la famille TNF et ligands

Figure 13 : la signalisation de la voie extrinsèque

Figure 14 : schémas simplifiés montrant la signalisation de PIDosome et Apoptosome

Figure 15 : Protéines de la famille Bcl-2 .

Figure 16 : Activation de Bax et Bak par tBid.

Figure 17 : Protéines régulatrices de la voie extrinsèque

Figure 18 : la signalisation de la voie intrinsèque

Figure 19 : Structure et activation des caspases

Figure 20 : Caspases initiateuses et exécutrices

Figure 21 : Représentation schématique de la réponse UPR (Unfolded Protein Response).

Figure 22 : Relations entre la réponse UPR et les voies de mort cellulaire. .

Figure 23: Cellules Hela induite en apoptose par $TNF\alpha$

Figure 24 : Distribution spatiale du paludisme à *Plasmodium falciparum*

Figure 25 : Développement des schizontes hépatiques de *P. falciparum*

Figure 26 : cycle biologique du plasmodium

Figure 27 : Phase sanguine ou cycle asexué intra-érythrocytaire du *Plasmodium falciparum*

Figure 28 : Libération des mérozoïtes hépatiques dans la circulation sanguine

Figure 29 : Cycle sporogonique du *P. falciparum* chez l'anophèle femelle

Figure 30 : Cycle biologique des *Plasmodium* chez l'homme résumant les différentes phases [http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/malaria_LifeCycle.GIF]

Figure 31 : Fièvre tierce et fièvre quarte au cours de l'accès palustre

Figure 32 : Trophozoïtes de *Plasmodium Falciparum*. Frottis mince photo du service de laboratoire de parasitologie Myocologie- HMIMV RABAT

Figure 33 : étape de la technique de la goutte épaisse au laboratoire

Figure 34 : Trophozoïtes de *Plasmodium Falciparum*.

Figure 35 : Technique de la goutte épaisse rapide

Figure 36 : Principe du TDR

Figure 37 : la séquestration résultat mécanique de la cytoadherence

Figure 38 : La structure des Knobs

Figure 39 : Cytoadérence entre les érythrocytes infectés (IRBC) et les cellules endothéliales (EN) .

Figure 40 : Schéma du processus d'adhérence des érythrocytes parasités à l'endothélium vasculaire

Figure 41 : Cytoadérence des érythrocytes parasités à l'endothélium vasculaire

Figure 42 : Représentation schématique des mécanismes moléculaires de la cytoadhérence des GRP à l'endothélium vasculaire de l'hôte .

Figure 43 : Représentation schématique des propriétés structurales des caspases, métacaspases et paracaspases .

Figure 44 : Représentation schématique des protéines de PxMC1, PxMC2, et PxMC3 des Plasmodium (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. berghei*)

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1 : Les Pathologies humaines impliquant une dérégulation de l'apoptose

Tableau 2 : Différence apoptose nécrose.

Tableau 3 : Conservation des différentes grandes familles de protéines impliquées dans l'apoptose, du nématode aux vertébrés

Tableau 4 : Caractéristiques des différents groupes de protéines de la famille Bcl-2.

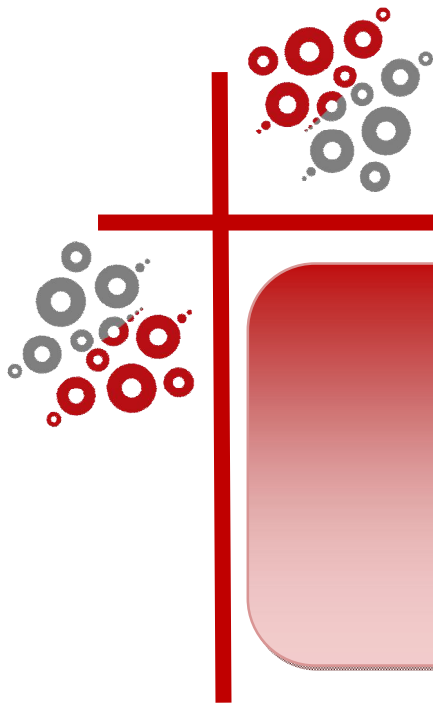
Tableau 5 : Les principales techniques pour la mise en évidence de l'apoptose

Tableau 6 : Les critères de gravité du paludisme chez l'adulte selon l'OMS 2000

Tableau 7 : les principaux aspects morphologiques des espèces plasmodiales observés en microscopie optique.

Tableau 8 : Médicament antipaludique

Tableau 9 : Chimio prophylaxie du Paludisme



Sommaire

I/-INTRODUCTION.....	2
II-GENERALITES SUR L'APOPTOSE	4
1- Historique et définitions	4
2- Importance physiologique de l'apoptose.....	9
2-1 Apoptose et développement	10
2-2 Apoptose et système immunitaire.....	13
2-3 Apoptose et système nerveux	14
3-Apoptose et pathologie	16
3-1 Pathologie par excès d'apoptose	16
3-2 Pathologie par défaut d'apoptose	17
4-Difference entre apoptose,nécrose et autophagie.....	21
5-Modèle d'étude : apoptose chez le Cænorhabditis. elegans	25
6-Apoptose chez les organismes pluricellulaires	29
A -La voie extrinsèque ou "voie des récepteurs de mort cellulaire"	29
1-La superfamille des récepteurs au TNF et leur ligand	32
2- Le death inducing signaling complex (DISC)	34
3-Rôle physiologique des récepteurs de mort.....	34
3-1 Maturation et fonctionnement du système immunitaire	35
3-2 Contrôle de la tumorigenèse :.....	36
3-3 Fonctions indépendantes du système immunitaire	37
4-Protéines régulatrices de la voie extrinsèque.....	39
4-1 Le rôle des Decoy Receptor	39
4-2. Protéines régulatrices à domaine DED	40

4-3. Les protéines accessoires régulatrices du DISC	41
B- La voie intrinsèque ou "voie mitochondriale"	42
1 -Les stimuli induisant cette voie :.....	43
2 -la famille des protéines Bcl-2	44
2-1- Structure	86
2-2- Mode d'action des protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2	47
2-2-1- Bax et Bak	48
2-2-2 Protéines BH-3 only	51
2-3- Libération extra-mitochondriale de facteurs pro-apoptotiques	53
A- Le cytochrome c	53
B- Apoptosis Inducing Factor AIF	54
C- Endonucléase G	54
D- Smac/DIABLO et Hight temperature requirement : HtrA2/Omi	55
2-4 Le cas particulier de l'apoptose caspase-indépendante	57
2-5 Rôle de la voie intrinsèque	59
C- Les caspases.....	59
1-Structure et classificatin :	59
2- Mode d'activation :	61
3- Les caspases effectrices et leurs substrats	62
4- La régulation des caspases.....	63
4-1 Inhibiteur des caspases.....	63
4-2 Protéines kinases régulatrices des caspases :	64
4-3 Les protéines chaperones	66

D- La voie du réticulum endoplasmique (RE)	67
1 -La réponse Unfolded Protein Response : UPR.....	69
2- Stress du RE et apoptose	72
7- Apoptose chez les organismes unicellulaire	75
7-1- Métacaspases dans l'apoptose des eucaryotes unicellulaires.....	78
8. Marqueurs apoptotiques.....	80
8-1. Les modifications morphologiques, biochimiques et moléculaires de l'apoptose..	80
A- Modifications Morphologiques :	80
B- Modifications biochimiques et moléculaires	123
8-2- les techniques de la mise en évidence et de la quantification de l'apoptose	82
III-APOPTOSE ET PALUDISME.....	87
A-Données épidémiologiques du paludisme	88
1- L'agent pathogène et répartition géographique.....	88
2-Vecteur.....	91
3-Cycle biologique du plasmodium.....	94
3.1. Cycles asexués chez l'hôte vertébré (Homme).....	94
3.2. Phase tissulaire ou cycle exo-érythrocytaire	95
3.3. Phase sanguine ou cycle asexué intra-érythrocytaire	97
3.4. Cycle chez l'Anophèle femelle	102
4-Manifestations cliniques	105
4-1. Accès palustre simple:	105
4-2. Accès grave ou pernicieux:.....	107
5-Diagnostic biologique	109
5.1. Diagnostic de présomption.....	109

5-2. Diagnostic spécifique	110
a. Le prélèvement.....	110
b. Les techniques directes.....	110
b-1 Le frottis sanguin	110
b-2. La goutte épaisse :	113
c- Les techniques immunochromatographiques ou Test de diagnostic Rapide....	159
6 Traitement et prévention :	160
6.1. Traitement spécifique	118
6.2 Chimio prophylaxie :	123
B-L'apport de l'apoptose dans le paludisme	124
1-Place de l'apoptose dans l'accès palustre grave.....	126
2- Rôle des métacaspases	137
2-1 historique des métacaspases :.....	137
2-2 structure des métacaspases	139
2-3 Métacaspases des Plasmodium	141
2-4 Métacaspase 1 de Plasmodium falciparum (PfMCA1) cible thérapeutique contre le paludisme	145
2-5 Traitements adjuvants.....	146
IV-CONCLUSION.....	149
RESUME	150
BIBLIOGRAPHIE	154



I/-INTRODUCTION

Le concept d'apoptose a été introduit en 1972 par Kerr, Wyllie et Currie pour décrire une forme de mort cellulaire différente de la nécrose, seule forme de mort cellulaire connue et bien individualisée jusqu'à cette date. Contrairement à la nécrose en effet, l'apoptose se caractérise par une rétraction de la cellule, une agglomération autour du noyau d'organites cytoplasmiques encore intacts et une modification particulière de la chromatine nucléaire qui se condense en volumineux amas, ensemble d'altérations rapidement suivi de la fragmentation de la cellule en corps apoptotiques qui se détachent alors du tissu pour être phagocytés par les macrophages ou les cellules voisines.

Depuis un peu plus d'une décennie, des chercheurs se sont intéressés à la place que pourrait occuper l'apoptose dans la biologie des parasites et la physiopathologie des maladies parasitaires, notamment le Paludisme. Un champ d'exploration passionnant et complexe s'est ouvert, d'où pourront peut-être émerger de nouveaux concepts.

Dans notre travail nous allons étudier le rôle de l'apoptose dans le Paludisme, particulièrement dans l'accès palustre grave ceci en décrivant la mort apoptotique et ses différents mécanisme dans le paludisme .Une meilleure connaissance des mécanismes de l'apoptose et de la spécificité tissulaire des caspases chez le Plasmodium permettront d'envisager une meilleure compréhension de la physiopathologie du neuropaludisme et d'envisager par la suite d'apporter de nouveaux moyens thérapeutique contre le neuropaludisme.



Generalites sur l'apoptose

II-GENERALITES SUR L'APOPTOSE

1- Historique et définitions

La mort d'une fraction des cellules d'un organisme est une condition essentielle à sa croissance, son adaptation et sa survie. La forme la plus classique de cette mort la nécrose, est la conséquence d'un accident, d'une agression ou d'une souffrance. Le suicide cellulaire par apoptose est une mort cellulaire programmée, adaptative et normale. La mort cellulaire programmée, reconnue au XIXe siècle par Vogt puis Flemming sous le terme de «chromatolyse » , a été décrite chez les insectes par Richard Lockshin dans les années 60 puis, le concept d'apoptose a été introduit en 1972 par Kerr, Wyllie et Currie [1] pour décrire une forme de mort cellulaire différente de la nécrose, seule forme de mort cellulaire connue et bien individualisée jusqu'à cette date. Contrairement la nécrose en effet, l'apoptose se caractérise par une rétraction de la cellule, une agglomération autour du noyau d'organites cytoplasmiques encore intacts et une modification particulière de la chromatine nucléaire qui se condense en volumineux amas, ensemble d'altérations rapidement suivi de la fragmentation de la cellule en corps apoptotiques qui se détachent alors du tissu pour être phagocytés par les macrophages ou les cellules voisines. Le choix par Kerr et ses collègues du mot apoptose, qui vient du grec, rappelle cette dernière particularité : il signifie en effet chute et, avec un brin de poésie, comme le remarque Kerr, la cellule en apoptose se détache de ses voisines comme les pétales qui se détachent de la fleur ou les feuilles qui tombent des branches en automne. En réalité, au moment où le mot est introduit dans la littérature médicale, ce type de mort cellulaire était connu depuis Longtemps mais faisait objet de descriptions disparates. Il n'avait pas en effet échappé aux

anatomopathologistes qu'à côté de la nécrose, les cellules pouvaient aussi mourir en se contractant (nécrose de coagulation ou nécrose acidophile) ou en prenant une forme arrondie, comme momifiée (corps de Councilman), avant d'être fragmentées en corps apoptotiques, ensemble de caractères morphologiques totalement différents de la nécrose où la cellule qui meurt présente une atteinte de sa membrane plasmique, un gonflement généralisé ou ballonnisation suivis d'une destruction de tous ses organites, en particulier des mitochondries. Toutefois, l'apoptose ne faisait pas, sauf exception [2], l'objet de descriptions détaillées et, d'une façon générale, bien qu'assez souvent signalée en pathologie, elle était plutôt considérée comme une curiosité morphologique mal expliquée. Après la description princeps de Kerr et al., l'apoptose est restée pendant près de 15 ans pratiquement ignorée bien que l'équipe de Kerr [3] ait insisté largement sur ses particularités morphologiques et sur son importance en pathologie. Il revient toutefois à Wyllie d'avoir montré des 1980[4] que la condensation de la chromatine avait une traduction biochimique particulière caractérisée par la fragmentation régulière de l'ADN en oligonucleosomes et en nucléosomes, structures qui constituent, comme on sait, le premier niveau d'organisation du filament d'ADN dans le noyau. Bien plus, Wyllie avait, dès cette date, émis l'hypothèse que cette fragmentation résultait vraisemblablement de l'activation d'une enzyme nucléaire, probablement une endonucléase, hypothèse confirmée en 1998 [5].

Malgré l'importance de ces travaux, l'apoptose n'a acquis droit de cité que lorsqu'on a compris que, contrairement à la nécrose subie passivement par la cellule à la suite d'une agression extérieure, l'apoptose était un phénomène actif nécessitant de l'ATP et dépendant de gènes pro ou anti-apoptotiques.

En 1982 une description d'un programme génétique spécifique de l'apoptose a été faite, cette découverte essentielle a été faite par Horvitz et son équipe [6]. Lors de leurs études des mutants du nématode *Caenorhabditis elegans*. Ce vers présente la particularité de voir mourir par apoptose pendant son développement un nombre constant de cellules. L'analyse des facteurs intervenant dans cette mort naturelle a ainsi permis d'individualiser toute une série de gènes contrôlant l'ensemble des étapes de l'apoptose et dont trois ont paru d'emblée importants, les gènes *ced-3* et *ced-4* dont l'expression favorise le programme de mort cellulaire [6] alors que le gène *ced-9* l'inhibe [7], parallèlement ces travaux, une autre équipe a individualisé en 1988 à partir du point de cassure de la translocation t(14;18) des lymphomes humains à cellules B un autre gène, appelé *bcl-2* (B-cell lymphoma), qui, quand il était transfecté in vitro dans des cellules hématopoïétiques, prolongeait de façon significative la survie de ces cellules [8] et ceci, comme on s'en est rapidement aperçu, en bloquant l'apoptose [10]. Une étude des effets de la transfection du gène humain *bcl-2* dans le nématode *Caenorhabditis elegans* [9], puis l'analyse de la structure des gènes *bcl-2* et *ced-9* et des protéines qu'ils codent ont alors montré leur étroite analogie [11]. Un autre pas essentiel a été franchi quand on a constaté que le gène *ced-3* codait une protéine dont la structure était très proche d'une protéine existant chez l'homme, l'enzyme de conversion de l'interleukine-1 [12]. Cet enzyme fait partie d'une famille de protéases, les protéases à cystéine dont dix au moins sont connues chez l'homme [13] et qu'on a appelé caspases (pour cysteine aspartate specific proteinases) [14] à partir de leurs homologies structurales et fonctionnelles. Bien que d'autres protéases interviennent aussi dans l'apoptose, on s'est alors rendu compte que les caspases jouaient un rôle essentiel dans la destruction apoptotique car elles pouvaient dégrader un nombre important de protéines nécessaires à la vie de la cellule [15]. Ces découvertes ont alors donné à l'apoptose une dimension

nouvelle et rapidement fascinante. Non seulement l'apoptose est différente de la nécrose, tant sous l'angle morphologique que biochimique, mais de plus le déroulement de cette forme de mort cellulaire est sous un étroit contrôle génétique. On a ainsi réalisé que l'apoptose représentait une fonction cellulaire, jusqu'à lors ignorée, et qui occupait une place probablement importante dans la cellule tout comme la différenciation ou le cycle cellulaire [16].

A partir de 1990, les travaux sur l'apoptose ont augmenté de façon exponentielle. En 2002, le prix Nobel de physiologie a été attribué à Bob Horvitz, Sydney Brenner et John Sulston pour avoir identifié le contrôle génétique de la mort cellulaire programmée [17].

Cette mort programmée fait partie intégrante de la biologie des cellules, qu'elles soient organisées au sein d'un tissu ou isolées chez un hôte. La dérégulation ou l'inhibition de la mort cellulaire programmée interviennent de façon majeure dans la cancérisation des cellules. La résistance des cellules cancéreuses à certains médicaments est probablement causée en partie par une résistance à l'apoptose. Le processus de vieillissement, l'athérosclérose et d'autres manifestations normales ou pathologiques de la physiologie cellulaire ont un lien étroit avec la régulation de l'apoptose. Depuis un peu plus d'une décennie, des chercheurs se sont intéressés à la place que pourrait occuper l'apoptose dans la biologie des parasites et la physiopathologie des maladies parasitaires. Un champ d'exploration passionnant et complexe s'est ouvert, d'où pourront peut-être émerger de nouveaux concepts. Lutter contre les maladies causées par des microbes, implique souvent de chercher à cultiver in vitro ces agents pathogènes, en utilisant parfois des systèmes complexes, comme c'est le cas pour certains parasites, notamment le Plasmodium.

L'idée de la possibilité d'un mécanisme de l'apoptose chez *Plasmodium* est apparue dès 1995 à partir d'analogies observées entre la résistance aux médicaments de *Plasmodium* et des cellules cancéreuses. Ensuite, cette réflexion s'est traduite par la première démonstration de la fragmentation oligonucléosomale de l'ADN des formes intra-érythrocytaires chloroquinosensibles de *P. falciparum* en 1997 [18]. L'hypothèse de l'analogie faite avec les cellules cancéreuses s'est vérifiée, car seuls les clones sensibles à la chloroquine ont présenté une fragmentation internucléosomale de l'ADN tandis que les clones chloroquinorésistants sont restés réfractaires[18]. Depuis cette importante observation, d'autres sont venues élargir progressivement nos champs de connaissances sur le sujet. Plus tard, une description classique des signes d'apoptose associant la condensation de la chromatine, la fragmentation de l'ADN et l'externalisation des phosphatidylsérines a été faite pendant le cycle sporogonique de *Plasmodium berghei* (stade ookinète) chez le moustique [20].

Ces travaux ont démontré que plusieurs caractéristiques de l'apoptose pouvaient être retrouvées au stade ookinète et que cette apoptose pouvait être reliée à une activité de type caspasique. De plus, l'utilisation de substances inhibitrices des caspases a entraîné une baisse de la mortalité des ookinètes, confirmant la place de cette activité enzymatique essentielle à la définition de l'apoptose [19].

Plus récemment, différents aspects typiques de l'apoptose, c'est-à-dire l'exposition des phosphatidylsérines, la dépolarisation mitochondriale et la fragmentation nucléaire par la méthode TUNEL ont été mises en évidence chez *P. falciparum* [21]. .

2- Importance physiologique de l'apoptose

Dans toutes les populations cellulaires d'un organisme, le nombre de cellules résulte d'un équilibre entre les phénomènes de multiplication et de suicide des cellules. Les signaux qui assurent la survie cellulaire, en empêchant le déclenchement du suicide cellulaire, ne sont pas obligatoirement des facteurs de croissance, c'est-à-dire des molécules qui déclenchent la multiplication cellulaire. Toutes les cellules de mammifères étudiées jusqu'à présent, qu'elles proviennent d'un embryon, d'un enfant ou d'un adulte, s'autodétruisent dès qu'elles sont privées de contacts avec d'autres cellules ; la survie de chacune des cellules de l'organisme dépend de la réception permanente, ou à intervalles réguliers, de signaux de survie émis par d'autres cellules et qui empêchent la mise en route du programme de suicide cellulaire. Un tel mode de fonctionnement lie étroitement le destin de chaque cellule à celui de l'organisme tout entier. Il permet à l'organisme d'adapter la taille d'une population cellulaire à ses besoins : par exemple, lors d'une infection, le nombre des lymphocytes augmente brutalement, mais, une fois l'infection jugulée, la situation se normalise par un phénomène massif de suicide cellulaire qui n'épargne qu'un petit pourcentage de lymphocytes spécifiques de l'agent infectieux, garants de la mémoire immunologique. Le même phénomène participe à l'expansion et à la contraction régulière de certains organes : le remodelage cyclique de l'utérus, qui survient chez la femme en l'absence de fécondation, résulte d'épisodes réguliers de suicide cellulaire, liés à la chute brutale des hormones sexuelles qui bloquent le suicide cellulaire durant 21 jours. Enfin, la mort cellulaire programmée permet l'élimination de cellules devenues anormales et constituant, de ce fait, un danger pour l'organisme, qu'il s'agisse de cellules infectées, de cellules présentant des anomalies génétiques, ou de cellules en voie de cancérisation.

2-1 Apoptose et développement

L'apoptose est un moyen efficace d'éliminer les cellules qui ne sont plus nécessaires au cours d'un processus d'évolution de l'espèce ou de l'individu. Cette évolution peut être nécessaire au moment de l'embryogenèse afin de donner leurs formes aux futurs organes en éliminant les structures vestigiales [22]. Ameisen utilise la métaphore de la sculpture pour montrer comment, en éliminant des fragments de matière, on arrive à une forme définitive [19]. Lors du développement embryonnaire, on assiste simultanément à une prolifération et à une différenciation cellulaires, et à la mort cellulaire nécessaire à la mise en place de différents systèmes. Au cours de la morphogenèse, la mort cellulaire programmée permet l'élimination des tissus non nécessaires (élimination des tissus interdigitaux lors de la séparation des doigts par exemple), la formation de cavités (ouverture de la bouche par exemple), l'établissement des connexions interneuronales et la différenciation sexuelle (régression du tractus mullérien).

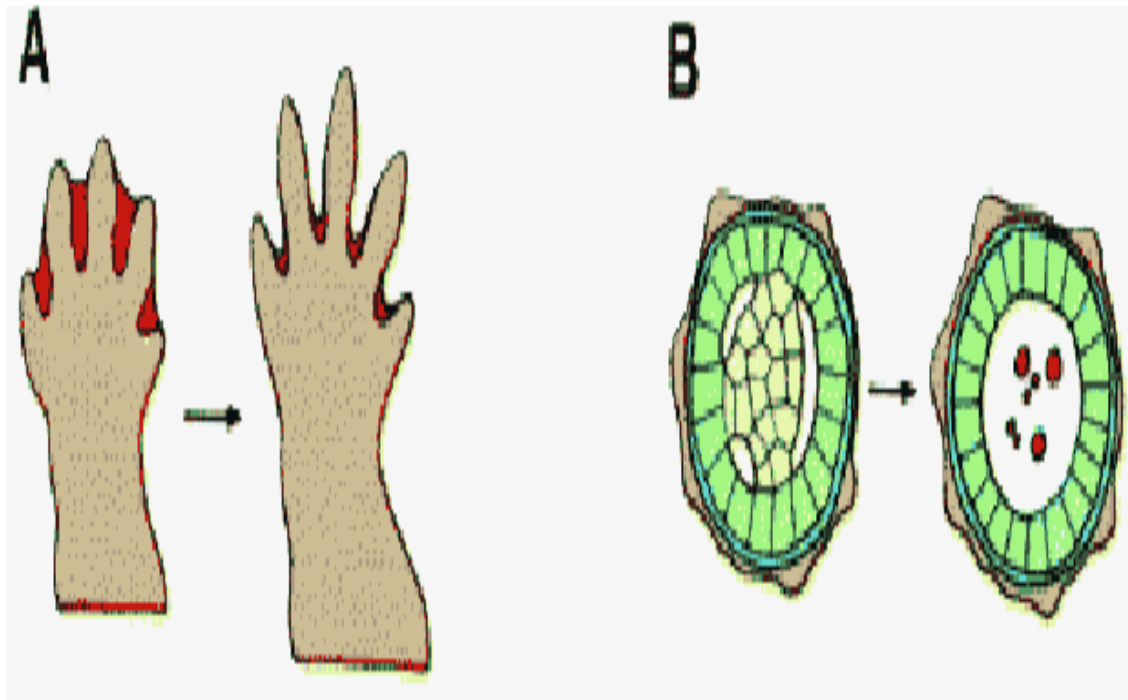


Figure 1 : Modelage d'organes:

- (A) formation des doigts
- (B) mise en place d'une cavité au sein d'un organe initialement «plein» (ex: cavité pré-amniotique)



Figure 2 : apoptose et développement de l'embryon



Figure 3 :Apoptose et formation des doigts

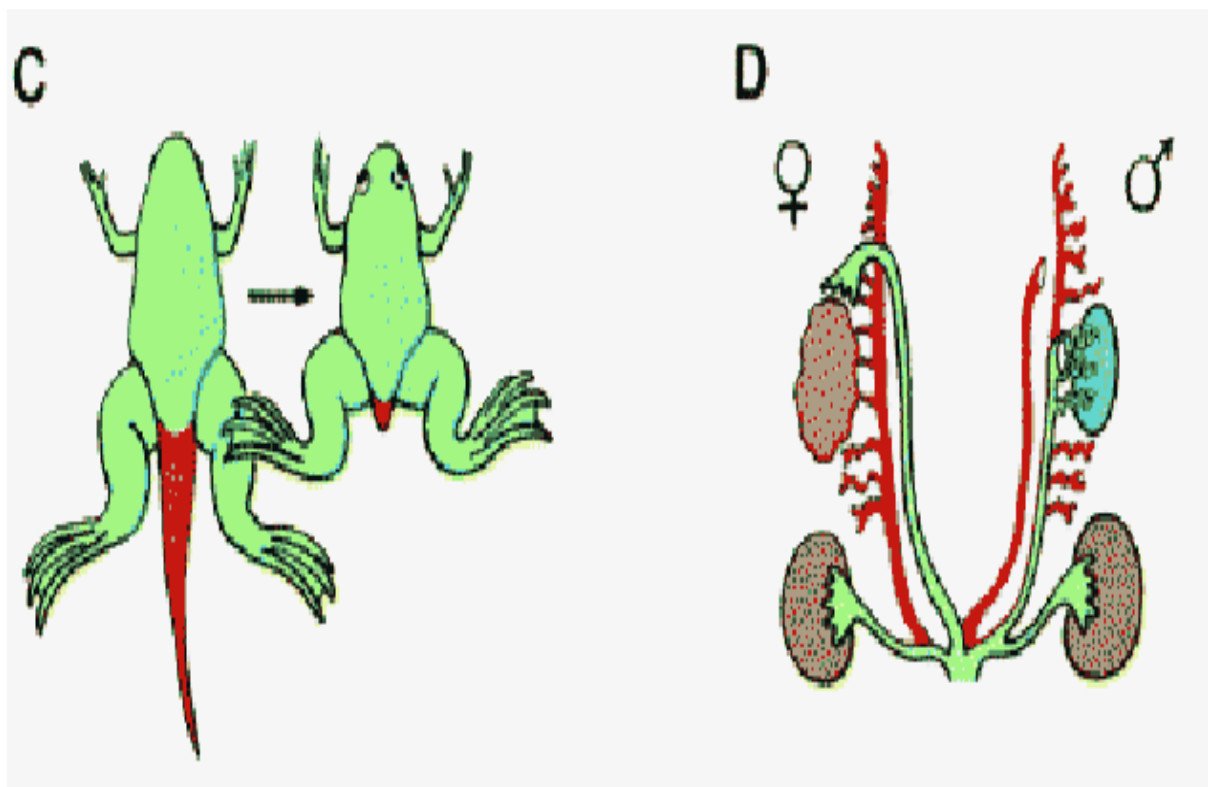


Figure 4 :Apoptose et elimination de structures.

L'apoptose participe également à la construction de nos deux organes de régulation les plus complexes, notre cerveau et notre système immunitaire.

2-2 Apoptose et système immunitaire

L'efficacité remarquable de nos défenses contre la multitude des agents infectieux environnants est due à l'extraordinaire diversité des mécanismes de reconnaissance du système immunitaire. Chacun des quelques centaines de millions de lymphocytes qui le composent porte un récepteur qui lui est propre, et qui lui permet de reconnaître un agent infectieux capté par les cellules de l'organisme. Pour créer cette diversité, l'organisme utilise la formidable puissance du hasard : il permet à un nombre limité de gènes de s'associer de toutes les façons possibles. Toutefois, cette solution crée un problème grave : un lymphocyte dont le récepteur a été produit à la suite d'une telle loterie risque de se tromper d'adversaire et d'attaquer les constituants de l'organisme. Chaque récepteur lymphocytaire doit être capable de distinguer les molécules qui appartiennent à l'individu (les molécules du soi) et qui ne doivent pas activer le système immunitaire, et les molécules des agents infectieux (le non soi) qui doivent activer le système immunitaire : la survie de l'individu en dépend. L'embryon n'a aucun moyen de distinguer a priori les récepteurs spécifiques du soi et du non-soi. Pendant la grossesse, à l'abri des agressions extérieures et des agents infectieux, l'embryon fait subir aux lymphocytes encore immatures une étape de sélection obligatoire, où l'apoptose joue un rôle essentiel. Si un lymphocyte reconnaît trop bien certains constituants du corps, il risque, un jour, de les attaquer et de déclencher une maladie auto-immune : il est dangereux et doit mourir. Au contraire, si un lymphocyte ne reconnaît aucun constituant de l'organisme, il sera incapable d'interagir avec une cellule qui a capté un agent infectieux : il est inutile et doit aussi périr. La sélection négative d'environ 90%

des lymphocytes T autoréactifs par apoptose et la sélection positive de 10% des lymphocytes T de faible affinité pour le complexe majeur d'histocompatibilité permettent le développement de la tolérance immunitaire.

2-3 Apoptose et système nerveux

Dans le système nerveux, l'organisation extrêmement complexe du cerveau émerge d'un apprentissage fondé sur un dialogue entre les cellules et sanctionné par l'apoptose. Dans l'embryon, les cellules nerveuses (les neurones) se multiplient, se déplacent et envoient des prolongements (les axones) qui leur permettent d'établir des connexions (les synapses) avec d'autres populations cellulaires (les muscles ou d'autres neurones) ; les neurones constituent ainsi, de proche en proche, les réseaux de communication qui permettent le fonctionnement du système nerveux. Dans la plupart des régions du système nerveux, un neurone sur deux en moyenne meurt pendant la période où s'établissent ces contacts.

Durant cette période, le destin des neurones – la survie ou la mort – dépend de leur capacité à établir un contact avec leur cible. Dès qu'un neurone établit ce contact, un signal de survie, produit par ses partenaires cellulaires, empêche la mise en route de l'apoptose. Sont éliminés les neurones inutiles ayant établi des circuits peu performants qui parasiteraient les circuits efficaces, et les neurones dangereux ayant établi des connexions aberrantes avec des cellules qui ne sont pas des partenaires naturels et ne libèrent pas les signaux indispensables à leur survie. Les circuits performants nés de ces dialogues élémentaires forment de multiples réseaux éphémères, dont la stabilisation détermine la survie des neurones. Ainsi naît le système nerveux, formé de quelques dizaines de milliards de neurones spécialisés, chacun étant en moyenne relié à une dizaine de milliers d'autres neurones.

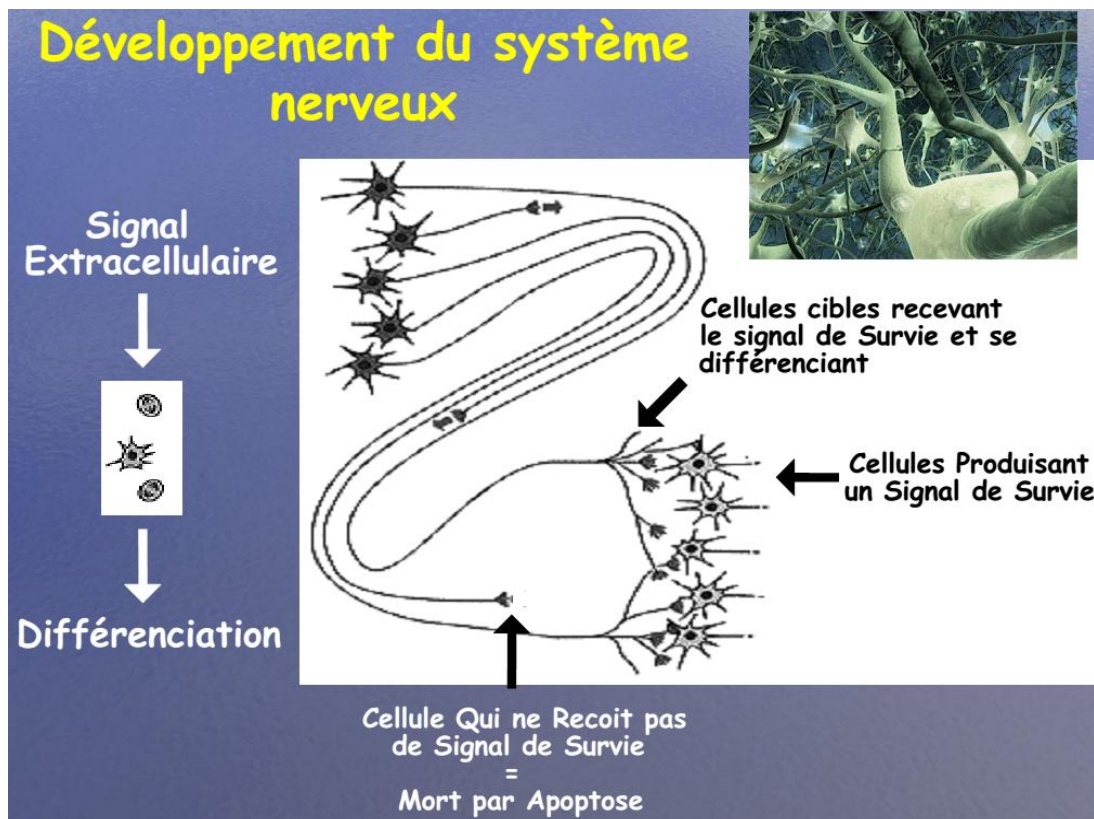


Figure 5: Apoptose et développement du système nerveux

Ainsi, la survie ou la mort d'une cellule résulte d'une combinaison de facteurs internes (la nature des gènes qui s'expriment) et de facteurs externes (la nature des signaux reçus). Certains signaux augmentent la probabilité de déclenchement de l'apoptose, tandis que d'autres signaux la diminuent.

3-Apoptose et pathologie

Le bon fonctionnement de l'organisme et l'homéostasie sont assurés grâce au maintien de l'équilibre entre la mort cellulaire et la prolifération cellulaire. De très nombreuses maladies sont liées à des dérèglements des mécanismes de contrôle ou d'exécution du suicide cellulaire. Il peut alors s'agir d'un excès d'autorégulation cellulaire (excès d'apoptose = sur activation du système apoptotique) engendrant des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson ; chorée de Huntington, sclérose latérale amyotrophique ...), des désordres immunitaires (SIDA, ...) ou s'agir d'un défaut d'autorégulation cellulaire (défaut d'apoptose = défaillance du système apoptotique) donnant naissance à des processus néoplasiques (cancers : lymphomes, hépatomes, mélanomes ...) et de maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde...). Une des caractéristiques fondamentales des cellules cancéreuses, est leur résistance à l'apoptose physiologique [23;24 ;25].

3-1 Pathologie par excès d'apoptose

Au cours du SIDA, le nombre des lymphocytes T CD4⁺ et celui des neurones cérébraux (qui ne sont pas infectés par le virus) diminuent, ce qui aboutit à un déficit immunitaire et, dans certains cas, à une atrophie cérébrale et à une démence. Lors des hépatites virales, les cellules du foie (les hépatocytes) disparaissent brutalement ; parfois, le tissu hépatique est détruit progressivement

et une cirrhose apparaît ; l'alcoolisme chronique a les mêmes effets. L'infarctus du myocarde et les embolies cérébrales conduisent à la mort de cellules cardiaques ou neuronales. D'autres maladies résultent de la disparition de certaines populations de neurones : les amyotrophies spinales de l'enfant, responsables de paralysies, ainsi que de nombreuses maladies dégénératives du système nerveux, qui entraînent un vieillissement cérébral prématuré, telles que les maladies d'Alzheimer, de Parkinson et les maladies à prions. Dans toutes ces maladies, des travaux récents indiquent que la disparition excessive des cellules est associée à des phénomènes anormaux de suicide cellulaire. On commence à en connaître certains mécanismes. Ainsi les produits de l'expression de certains gènes du virus du SIDA (gp120, Tat et Vpr) favoriseraient le déclenchement du suicide cellulaire ; la surexpression du ligand de Fas déclencherait la disparition des cellules du foie au cours des hépatites. Les amyotrophies spinales de l'enfant sont dues à des mutations inactivant des gènes (naip et smm) qui, normalement, empêchent le suicide de certains neurones.

Ainsi, la mort anormale de certaines populations cellulaires au cours de ces maladies ne serait pas due, comme on le pensait naguère, à des phénomènes de destruction cellulaire, mais à l'absence d'expression de gènes qui, normalement, bloquent l'apoptose

3-2 Pathologie par défaut d'apoptose

Inversement, d'autres maladies sont dues à une augmentation anormale du nombre de certaines populations cellulaires. Une augmentation du nombre de cellules résulte soit d'un excès de la multiplication cellulaire, soit d'une apoptose insuffisante. Aujourd'hui, on sait que le blocage excessif des programmes de l'apoptose joue un rôle essentiel dans ces maladies, notamment

dans les cancers. On a longtemps cru que la transformation cancéreuse d'une cellule résultait uniquement de l'expression anormale de proto-oncogènes, des gènes qui déclenchent la multiplication cellulaire. Plusieurs découvertes ont remis en question ces dogmes : premièrement, le gène bcl-2, dont l'expression anormale est à l'origine des cancers lymphocytaires humains les plus fréquents, ne déclenche pas la multiplication cellulaire, mais inhibe le déclenchement du suicide. Deuxièmement, l'expression anormale de proto-oncogènes suffit, à elle seule, à déclencher le suicide cellulaire. Ces gènes n'entraînent la multiplication cellulaire qu'à condition que d'autres gènes soient aussi exprimés pour bloquer le suicide cellulaire. Ainsi, l'inhibition anormale du suicide cellulaire est une étape essentielle de la cancérisation. La transformation cancéreuse peut être liée à l'inactivation anormale d'une autre famille de gènes, les anti-oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs, qui, normalement, freinent la multiplication cellulaire. Or, le gène suppresseur de tumeur p53, dont l'inactivation par mutation survient dans plus de la moitié des cancers humains, participe au déclenchement du suicide cellulaire. Comme l'activation du gène B-Cell Lymphoma Protein 2 (bcl-2), l'inactivation du gène p53 favorise la survie anormale des cellules. Le gène p53 veille à l'intégrité du génome cellulaire : lorsque survient une altération génétique, il oblige la cellule soit à interrompre sa multiplication et à réparer la lésion génétique, soit à déclencher son suicide. Les mutations inactivant le gène p53 permettent aux cellules lésées de se multiplier et de subir de nouveaux remaniements génétiques qui favorisent la transformation tumorale. La plupart des traitements anticancéreux, de la radiothérapie aux chimiothérapies, agissent en forçant les cellules cancéreuses à s'autodétruire. Toutefois, l'accumulation d'altérations génétiques, en inhibant le suicide, favorise la résistance aux traitements anticancéreux. Le blocage anormal

des programmes de suicide cellulaire participe aussi à la dissémination des cellules cancéreuses dans l'organisme, un des mécanismes qui font la gravité des cancers. Une cellule normale qui migre dans un organe autre que le sien s'y suicide, parce qu'elle n'y trouve pas les signaux de survie nécessaires au blocage de son programme d'autodestruction. En revanche, une cellule cancéreuse dont le programme de suicide est bloqué peut survivre en l'absence de signaux appropriés, et coloniser de nouveaux organes en formant des métastases. Tous les intermédiaires existent, entre les tumeurs dont les cellules meurent en grand nombre, mais se multiplient plus qu'elles ne meurent, et les tumeurs les plus agressives, dont les cellules se multiplient sans mourir. Toutes les tumeurs, une fois qu'elles ont atteint une certaine taille, ont besoin de construire, et d'attirer à elles un réseau de nouveaux vaisseaux sanguins pour se nourrir. Des travaux récents ont révélé que des molécules qui provoquent le suicide des cellules endothéliales composant ce réseau de nouveaux vaisseaux entraînent, indirectement, le suicide des cellules cancéreuses, soudain privées de l'apport sanguin indispensable à leur survie : elles conduisent alors à la disparition de la tumeur. Ces travaux pourraient ouvrir une nouvelle voie thérapeutique anticancéreuse. Le dérèglement des programmes de suicide cellulaire joue aussi un rôle essentiel dans les maladies infectieuses. Le déclenchement des mécanismes de suicide cellulaire dans les cellules infectées et dans les cellules avoisinantes, après pénétration d'un agent infectieux, représente, pour l'hôte, un mécanisme de défense ancestral ; cette «stratégie de la terre brûlée» empêche l'agent infectieux de le coloniser. Toutefois, de nombreux virus ont contre-attaqué en exprimant des gènes qui bloquent le suicide des cellules qu'ils infectent. Le virus d'Epstein-Barr (l'agent de la mononucléose infectieuse) exprime deux gènes qui inhibent le suicide cellulaire,

bhrf-1, qui ressemble à bcl-2 et exerce la même action, et Imp-1, qui déclenche l'expression de bcl-2 dans la cellule infectée. Le papillomavirus (à l'origine de certains cancers génitaux) exprime le gène e6, qui dégrade la protéine codée par le gène p53. L'adénovirus exprime à la fois le gène e1a qui déclenche la multiplication de la cellule infectée, mais aussi (comme les proto oncogènes) le suicide cellulaire, et le gène e1b, qui inactive p53 et prévient le suicide. Ainsi, le virus entraîne la survie et la multiplication de la cellule infectée, et se propage. Outre ces virus, des bactéries et des parasites peuvent aussi dérégler les programmes de suicide, soit dans les cellules infectées, soit dans des cellules non infectées. Ainsi, l'activation ou l'inhibition des phénomènes de suicide cellulaire déterminerait la persistance ou l'élimination des agents infectieux et pourrait être utilisée comme une nouvelle cible pour le traitement des maladies infectieuses. .

EXCES D apoptose	DEFICITN D APOPTOSE
• Sida • Maladies neurodégénératives Alzheimer Parkinson Sclérose amyotrophique latérale • Maladies auto-immunes • Lésions ischémiques: Infarctus du myocarde Attaque cérébrale • Diabète de type I • Thyroïdite d'Hashimoto • Colite ulcéreuse	• Infection virale Adénovirus Virus de l'herpès • Cancer: Lymphome folliculaire Tumeurs hormono-dépendante Carcinomes • Maladies auto-immunes: Syndrome hyperéosinophilique Lupus érythémateux Polyarthrite rhumatoïde Maladie de Basedow

Tableau 1 : les Pathologies humaines impliquant une dérégulation de l'apoptose.

4-Difference entre apoptose,nécrose et autophagie

Classiquement, on distingue deux types de mort cellulaire : la mort cellulaire par apoptose et la mort cellulaire par nécrose. Différents critères biochimiques et morphologiques permettent de les distinguer) [26] .

L'apoptose est une forme de mort caractérisée par la condensation de la cellule et du noyau et la préservation de l'intégrité de la membrane cytoplasmique. Une cellule mourant par apoptose présente des modifications morphologiques caractéristiques qui commencent par une condensation du cytoplasme et de la chromatine nucléaire. La membrane plasmique bourgeonne transitoirement, puis la cellule se fragmente en corps apoptotiques qui sont reconnus et ingérés par des cellules environnantes. Ces modifications s'accompagnent d'une fragmentation de l'ADN.

Contrairement à l'apoptose, la nécrose est une mort cellulaire dite "accidentelle" qui survient lors d'un dommage tissulaire et elle implique des groupes de cellules. Lors de la nécrose, la cellule devient enflée, puis la membrane cellulaire éclate déversant le contenu cellulaire dans le tissu environnant et provoquant l'inflammation. Les mitochondries et le noyau restent intacts tout au long de ce processus.

Quant à l'apoptose, elle ne provoque pas d'inflammation : les membranes plasmiques ne sont pas détruites, et la cellule émet des signaux (en particulier, elle expose sur le feuillet externe de sa membrane plasmique de la phosphatidylsérine, un phospholipide normalement constitutif de son feuillet interne) qui permettront sa phagocytose par des globules blancs, notamment des macrophages [19;27]. Ces descriptions sont à distinguer de l'autophagie, qui est un processus normal de renouvellement des constituants cellulaires et qui est associée à un processus de mort de la cellule qui peut être altéré au cours du cancer [28].

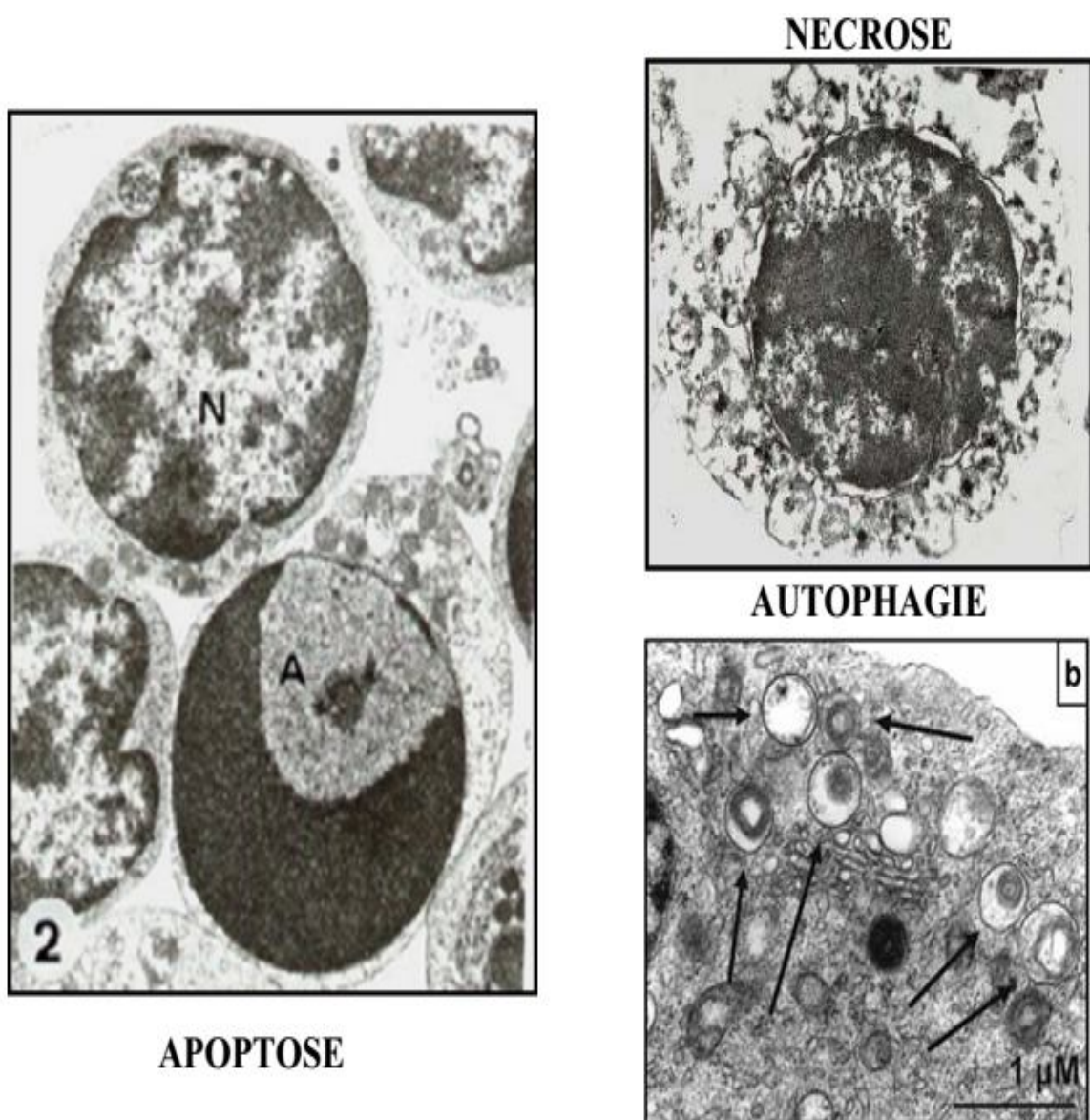


Figure 6 :Difference apoptose,ncrose,autophagie
(Les flèches montrant les vacuoles d'autophagie)

La mort cellulaire autophagique, a d'abord été identifiée dans les cellules privées de sérum. Elle est parfois qualifiée de « mort cellulaire programmée de type II » par opposition à l'apoptose, alors qualifiée de « mort cellulaire de type I ». La première se caractérise par la vacuolisation du cytoplasme, la seconde par la condensation de la cellule. Ces deux morts cellulaires sont très liées et souvent associées [29] . L'autophagie est indépendante des caspases et se caractérise par la dégradation progressive des composants du cytoplasme. Elle commence par la séquestration de composants du cytoplasme dans des autophagosomes, se poursuit par la fusion des autophagosomes avec les lysosomes pour former des vacuoles d'autophagie et se termine par la picnose du noyau. Comme dans l'apoptose, il n'y a pas de rupture de la membrane plasmique et elle conduit à la phagocytose des cellules mortes [30,31].

Il est important de souligner qu'il n'existe pas de barrières nettes entre ces différentes formes de mort cellulaire qui partagent en communs de nombreux mécanismes et facteurs déclenchants. Par exemple les lysosomes, directement impliqués dans l'autophagie, pourraient également déclencher l'apoptose par activation mitochondriale [19 ;32].

Nécrose	Apoptose
Mort anormale des cellules	Mort cellulaire programmée
Spontanée, ne nécessite pas d'énergie	Contrôlée, requiert de l'énergie (ATP)
Bourgeoisement cellulaire	Rétrécissement des cellules, sans inflammation
Fragments ADN de taille aléatoire	Fragmentation de l'ADN : taille multiple de 185 bp
Perte de l'intégrité membranaire du fait de la lyse	Membrane plasmique bourgeoise mais reste intacte
Contenu cellulaire libéré dans l'environnement cellulaire : inflammation	Bourgeoisement des corps apoptotiques (contenu cellulaire encapsulé) (cf. Figure 3)
Phagocytose des débris cellulaires par les macrophages chez les organismes multicellulaires	Phagocytose des corps apoptotiques par les macrophages chez les organismes multicellulaires [Arden et al. 2006]

Tableau 2 : Différence apoptose nécrose.

5-Modèle d'étude : apoptose chez le *Cænorhabditis. elegans*

La majeure partie de nos connaissances actuelles sur les mécanismes moléculaires de la régulation de l'apoptose provient de travaux menés sur le nématode *Cænorhabditis elegans*.

Ainsi, la sélection par mutagenèse chimique de larves présentant des défauts d'élimination des cellules au cours du développement a permis l'identification de 11 gènes impliqués dans la régulation de la mort cellulaire programmé chez *C. elegans*.

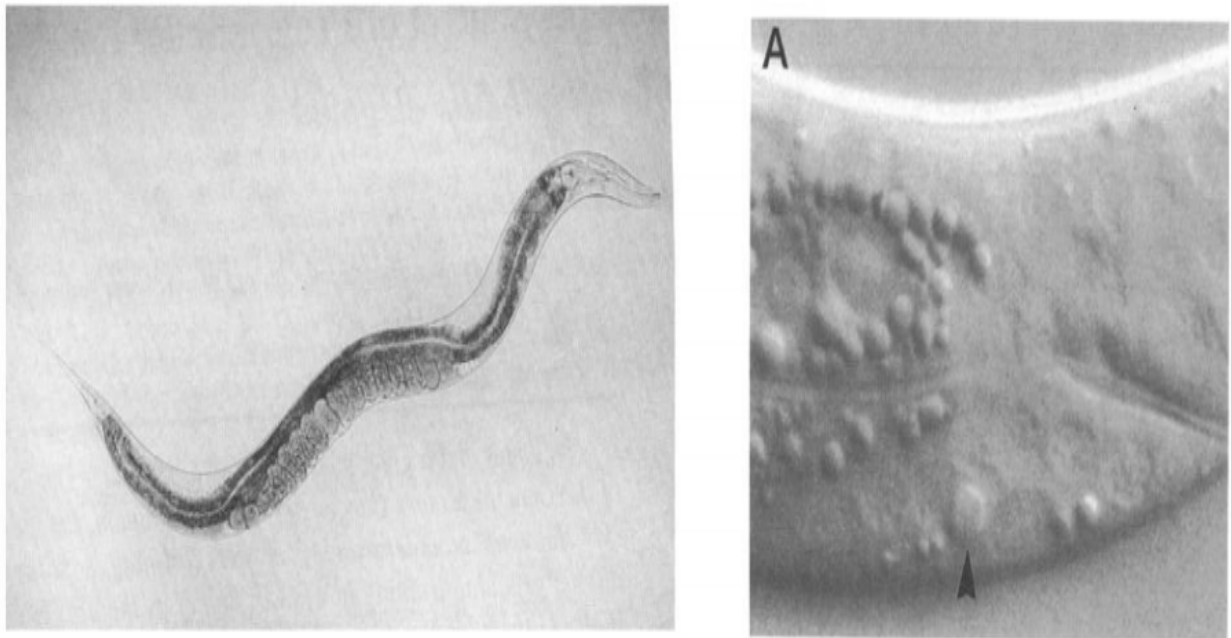
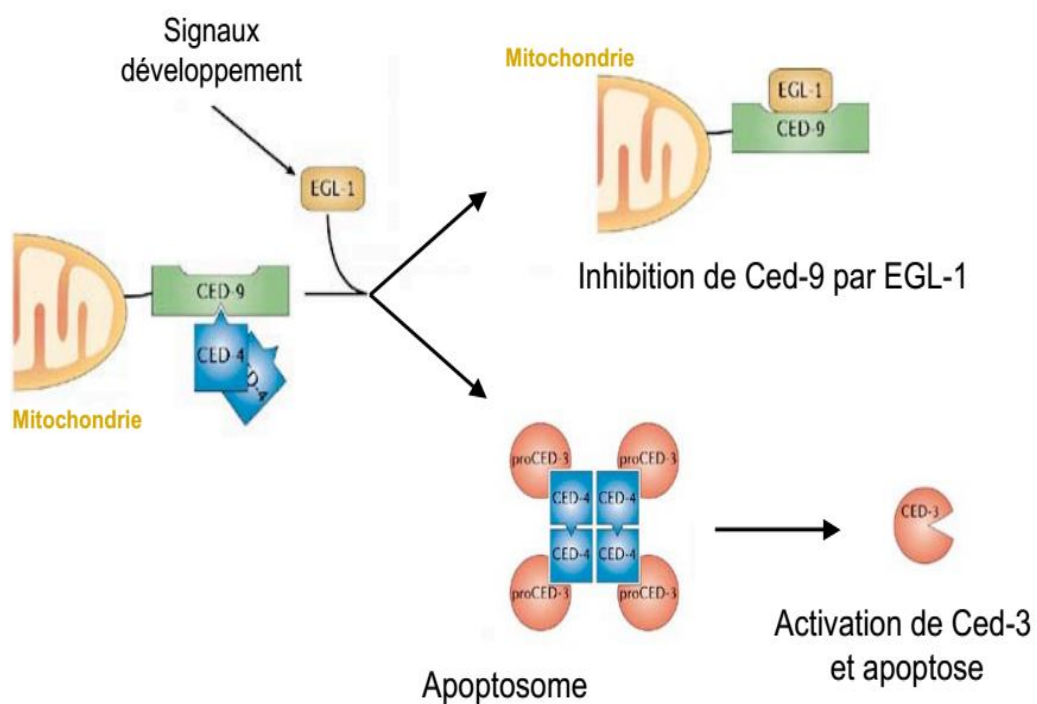


Figure 7: Mutagenèse chimique chez les larves de *C. Elegans*

Parmi ces gènes, 3 furent identifiés comme des régulateurs clé de l'apoptose dans toutes les cellules somatiques, il s'agit de ced-3, ced-4 et ced-9 (**ced** pour *Cænorhabditis elegans death*). Ced-3 et ced-4 sont tous deux requis pour la mort cellulaire. En effet, une mutation conduisant à une inactivation de l'un ou l'autre de ces gènes aboutit au blocage de l'apoptose dans chacune des 131 cellules somatiques du ver. ced-9, pour sa part, à une fonction antagoniste de ced-3 et ced-4 en ce sens qu'il est capable de promouvoir la survie. Ainsi une perte partielle de fonction de ced-9 est létale, suite à une mort cellulaire exacerbée, alors qu'un gain de fonction de ced-9 conduit à un excès cellulaire.



Exécution de l'apoptose chez *C.elegans*

Modifié d'après Lettre et Hengartner 2006

Figure 8: exécution de l'apoptose chez *C.elegans*

Le clonage de ces différents gènes a révélé que (Tableau 3) :

- Ced-3 est une cystéine protéase à substrat aspartate (caspase) synthétisée par la cellule sous forme de précurseur inactif ;
- Ced-4 est un activateur qui se lie à Ced-3, permettant la production de la caspase active ;
- Ced-9 en interagissant avec Ced-4 l'empêche d'activer Ced-3 ;
- Egl-1 en se liant à Ced-9 permet la libération de Ced-4 qui peut se lier à Ced-3 pour l'activer.

Chez les mammifères, Ced-3 a pour homologue la caspase-1 ; Ced-4, l'Apaf, protéine proapoptotique ; Ced-9, les protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 et Egl-1, les protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2 à domaine BH3 (Figure 8, Tableau 3)

Inhibiteur des régulateurs (protéines à domaine BH3)	Régulateurs	Adapteurs	Protéases
NEMATODES EGL-1	CED-9	CED-4	CED-3
VERTEBRES Bad, Bid...	Bcl-2	Apaf-1	Caspases

Tableau 3 : Conservation des différentes grandes familles de protéines impliquées dans l'apoptose, du nématode aux vertébrés [39].

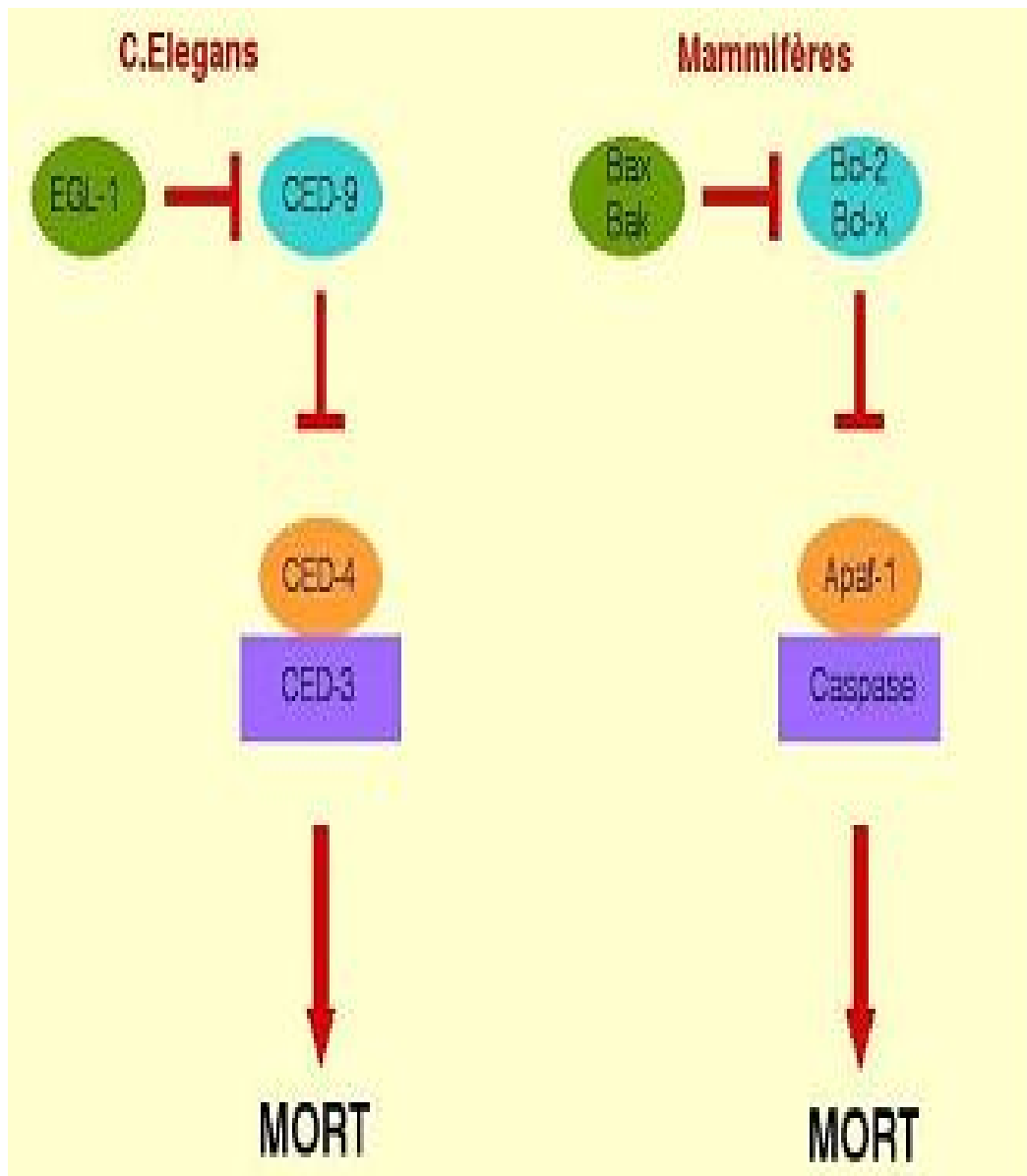


Figure 9 : Schéma simplifié représentant les protéines essentielles au programme de mort cellulaire chez *C. elegans* et chez les mammifères

6-Apoptose chez les organismes pluricellulaires

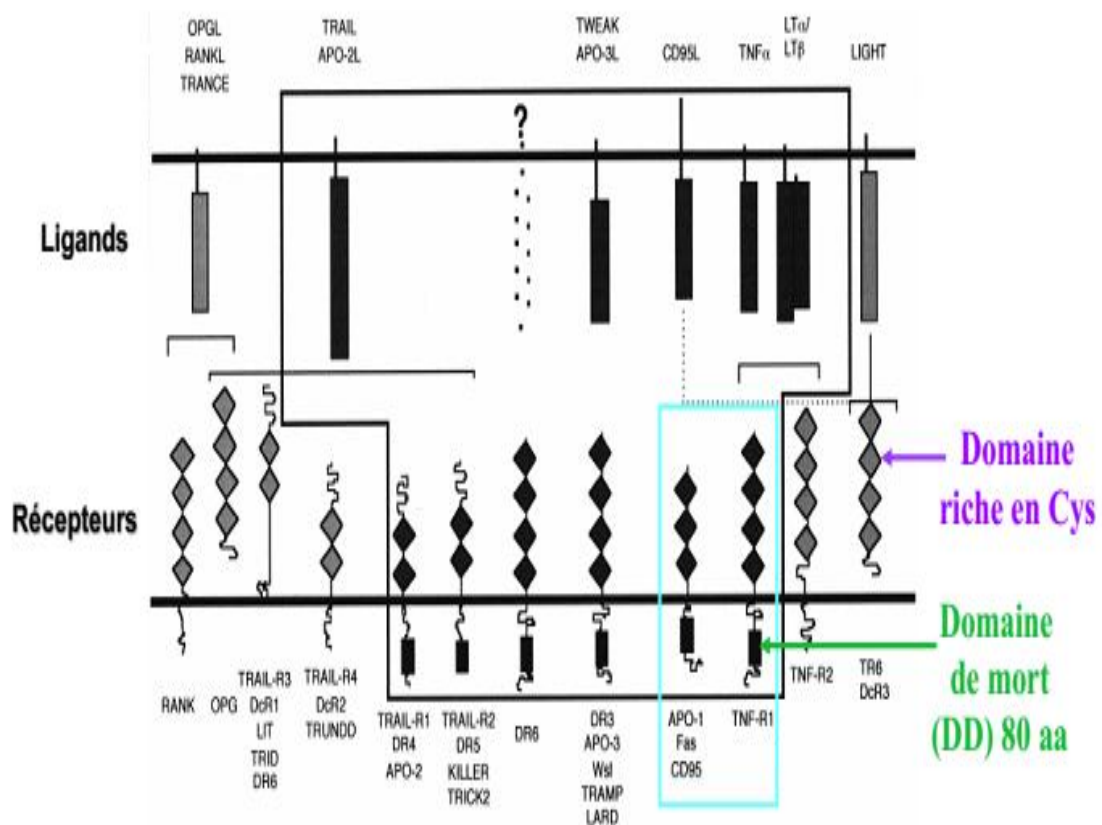
Essentiellement, le mécanisme d'apoptose est gouverné par deux principales voies d'activation. La première, dite extrinsèque (ou voie des récepteurs de mort) est initiée à la surface de la cellule par des récepteurs membranaires appartenant à la superfamille des récepteurs au TNF (récepteurs Fas, TNF, TRIAL). La seconde, appelée voie intrinsèque de l'apoptose, met en jeu la mitochondrie qui occupe une place centrale dans les mécanismes de l'apoptose. Cette voie est gouvernée par des protéases appelées « caspases » appartenant à la superfamille de Bcl-2 (celles qui sauvent Bcl-2 et Bcl-x par exemple et celles qui tuent Bax et Bak par exemple) et les molécules adaptatrices Apaf-1 (apoptotic proteaseactivating factor). Ces deux voies conduisent à l'activation de protéases à cystéine appelées caspases, responsables des phénomènes morphologiques et biochimiques observés.

Une troisième voie activée en réponse à un stress et faisant intervenir le réticulum endoplasmique (RE) a également été décrite.

A -La voie extrinsèque ou "voie des récepteurs de mort cellulaire"

La voie extrinsèque déclenchée par la liaison de ligands à des récepteurs spécifiques appartenant à la super famille des récepteurs du "Tumor Necrosis Factor" (TNF) situés au niveau de la membrane plasmique [33]. Ces récepteurs, de type TNF-R1 ou Fas, via la présence dans leur portion intracellulaire d'un domaine appelé "domaine de mort" (DD, death domain), assurent la transmission du signal de l'apoptose.

L'interaction des récepteurs TNF-R1 (ou p55) ou Fas (appelé aussi CD95 ou APO-1) avec leur ligand naturel (ou un anticorps monoclonal agoniste) permet l'assemblage d'un complexe multi protéique cytoplasmique (contenant la protéine FADD, Fas-Associated Death Domain) appelé DISC (Death-Inducing Signaling Complex).



Schmitz et al, 2000

Death Domain: structure similaire au DED
nécessaire pour transmettre le signal de mort

Figure 10 : schéma représentant la structure du domaine de mort (DEATH DOMAIN)

Ce complexe initie l'enclenchement de la cascade apoptotique par l'activation principalement de la procaspase-8. L'activation consécutive des caspases-3, -6 et -7 par un clivage protéolytique de la caspase-8 induit l'autodestruction cellulaire en clivant des substrats essentiels au maintien de la vie cellulaire [34,35,36]. Cette voie implique également la mitochondrie par l'intermédiaire d'une protéine pro-apoptotique, homologue de la famille bcl-2, la protéine Bid, activée par le clivage de la caspase-8 pour générer une protéine Bid tronquée (tBid) [37]. Cette protéine une fois activée crée des pores au sein de la membrane mitochondriale et entraîne la libération de cytochrome-c dans le cytosol . Il est à remarquer que cette voie peut être inhibée au niveau des récepteurs par une protéine appelée FLIP-S, homologue inactif de la caspase-8, qui entre en compétition avec cette dernière [38,39].

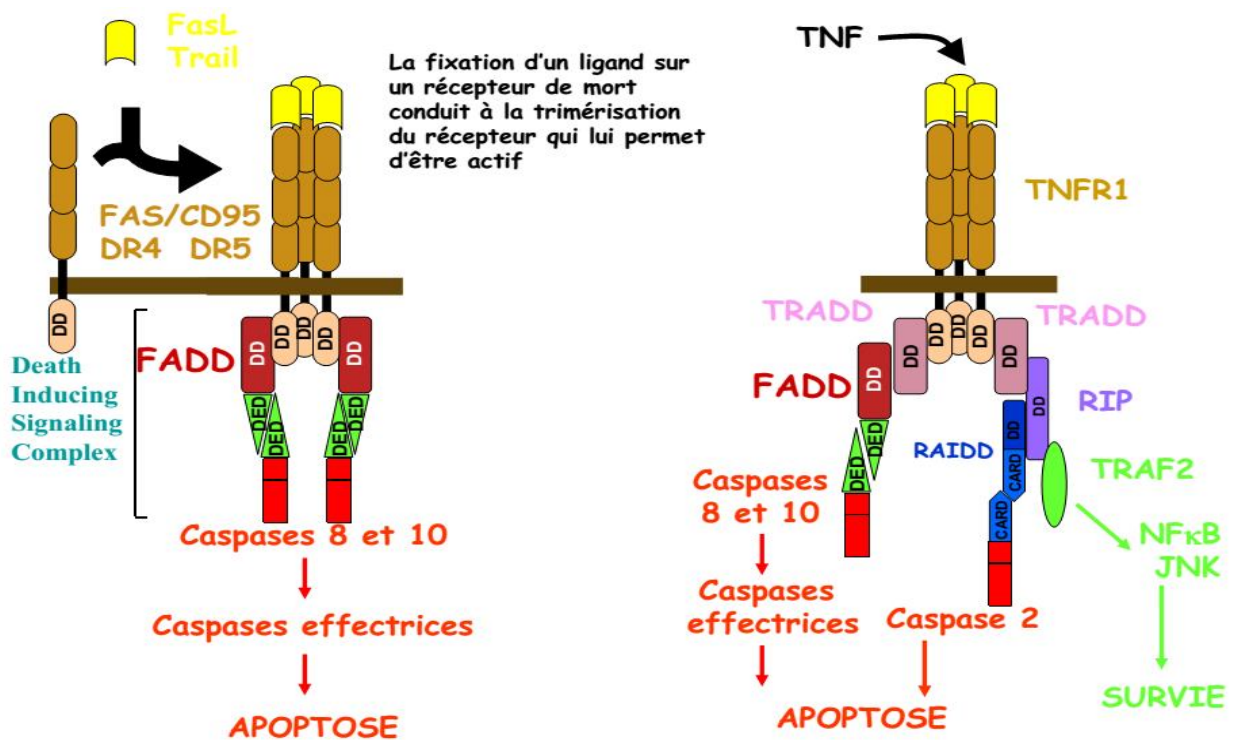


Figure 11 : La signalisation de la voie extrinsèque

1-La superfamille des récepteurs au TNF et leur ligand

Les récepteurs de mort appartiennent à la superfamille des récepteurs au TNF (Tumor Necrosis Factor) et comportent TNF-R1 (Tumor Necrosis Factor Receptor 1), TNF-R2, Fas, DR3 (Death Receptor 3), DR6, TRAIL-R1 (TNF Related Apoptosis Inducing Ligand Receptor 1), TRAIL-R2, EDAR et p75NTR (p75 Neurotrophin receptor) qui sont des protéines transmembranaires de type II à activité pro-apoptotique. Par ailleurs, ces récepteurs partagent la même structure : tous sont munis d'un domaine de mort en C Terminal (à l'exception de TNF-R2) et de domaines riches en cystéines sur leur partie extracellulaire. Au sein de cette superfamille des récepteurs au TNF, on distingue la classe des récepteurs leurres (ou Decoy Receptor) composée des membres : TRAIL-R3, TRAIL-R4 et DcR3 et l'Ostéoprotégérine (OPG). Ces derniers n'ont pas de domaine intracellulaire et ne transduisent pas de signal apoptotique mais sont capables de fixer les mêmes ligands que les récepteurs [40]. Les ligands des récepteurs de mort et des récepteurs leurres sont EDA1, NGF, TNF, TL1A, FasL et TRAIL. Ces ligands sont synthétisés sous une forme membranaire mais peuvent être sécrétés sous l'action de métallo protéases [41]. Il est à noter que le ligand du récepteur DR6 n'a pas été identifié. Toutefois, il a récemment été montré que DR6 était capable d'interagir avec la partie N-terminale d'un autre récepteur transmembranaire : N-APP (beta Amyloid Precursor Protein) et que cette interaction était capable d'induire l'activation des caspases 3 et 6 *in vitro* et *in vivo* sur différents types cellulaires tels que les neurones commissuraux [42]. Les études futures montreront si la fixation de N-APP sur DR6 entraîne la formation d'un DISC à l'origine de l'activation des caspases.

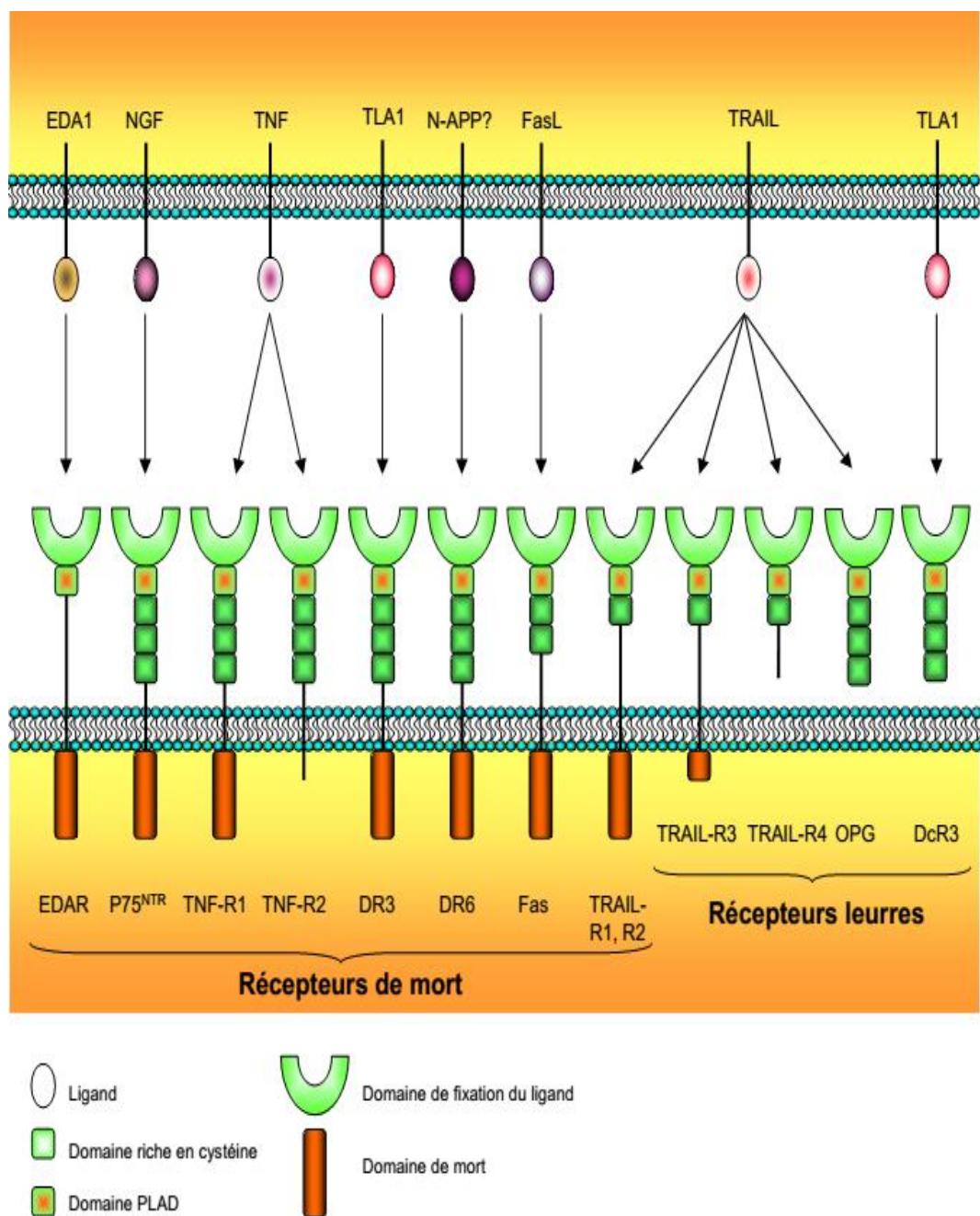


Figure 12 : structure de la famille TNF et ligands

2- Le death inducing signaling complex (DISC)

Suite à la fixation du ligand, les récepteurs de mort s'homotrimérisent par interaction entre leur premier domaine N-Terminal riche en cystéine nommé PLAD (PreLigand Assembly Domain) et vont recruter les différentes protéines du DISC via leur domaine de mort. Les récepteurs de mort sont capables de former deux types de DISC. L'un est formé en une seule étape de recrutement (récepteurs Fas, TRAIL-R1 et TRAIL-R2) : suite à la fixation du ligand, le trimère de récepteurs recrute via ses domaines de mort la protéine FADD, les procaspases 8/10 et va permettre leur activation puis l'activation des caspases effectrices. Le second type de DISC (récepteurs TNF-R1, DR3 et DR6) se forme de manière séquentielle suite à l'association de deux séries de protéines adaptatrices formant le complexe de type I puis le complexe de type II) [40]: après leur trimérisation les récepteurs recrutent tout d'abord via leur domaine de mort les protéines adaptatrices RIP (Receptor Interacting Protein), TRADD (TNF-R Associated Death Domain protein) ainsi que les protéines TRAF1 et TRAF2 (TNF-R Associated Factor). Ce complexe dit de type I est ensuite transloqué dans le cytosol où il s'associe avec FADD et les procaspases 8/10 formant le complexe de type II à l'origine de l'activation des caspases initiateur.

3-Rôle physiologique des récepteurs de mort

Les récepteurs de mort n'étant pas exprimés de manière ubiquitaire, leur fonction est tissu-dépendante. Il est à noter que les récepteurs de mort ont des fonctions pro et antiapoptotiques ce qui peut paraître contradictoire avec la définition même de ces récepteurs. Toutefois, les cellules (en particulier les cellules du système immunitaire) sont confrontées au même moment à de nombreux signaux (ceux médiés par les récepteurs de mort mais aussi tout un

ensemble de signaux médié par d'autres cellules du système immunitaire tels que les Interleukines) qui vont activer ou inhiber différents régulateurs pro ou anti-apoptotiques des voies de signalisation induite par les récepteurs de mort [43].

3-1 Maturation et fonctionnement du système immunitaire

Les récepteurs de mort et leurs ligands sont importants pour la différenciation, la maturation et l'activation des leucocytes au cours de la réponse immunitaire. Néanmoins, cette fonction ne serait pas toujours liée à l'induction de l'apoptose. En effet, il a été montré que le TNF pouvait avoir un double rôle sur les cellules exprimant TNF-R1, d'une part en induisant la mort des lymphocytes auto-réactifs mais aussi d'autre part en contribuant à la prolifération et donc à l'expansion clonale, au cours d'une infection, des lymphocytes ayant acquis une spécificité antigénique conduisant à leur différenciation en lymphocytes effecteurs [44]. De manière similaire, Fas et TRAIL-R1/2 interviennent dans la maturation et la sélection des lymphocytes T et B et ont un rôle dans la réponse immunitaire cytotoxique (élimination par apoptose des cellules infectées par des parasites intracellulaires par le couple FasL/Fas). Le récepteur DR6 quant à lui est impliqué dans la maturation des cellules dendritiques (DeRosa et al., 2008). Enfin, DR3, Fas et leurs ligands respectifs TL1A et FasL sont connus pour participer à la stimulation des lymphocytes T au cours de la réponse immunitaire en agissant notamment sur les cellules dendritiques [45;46]

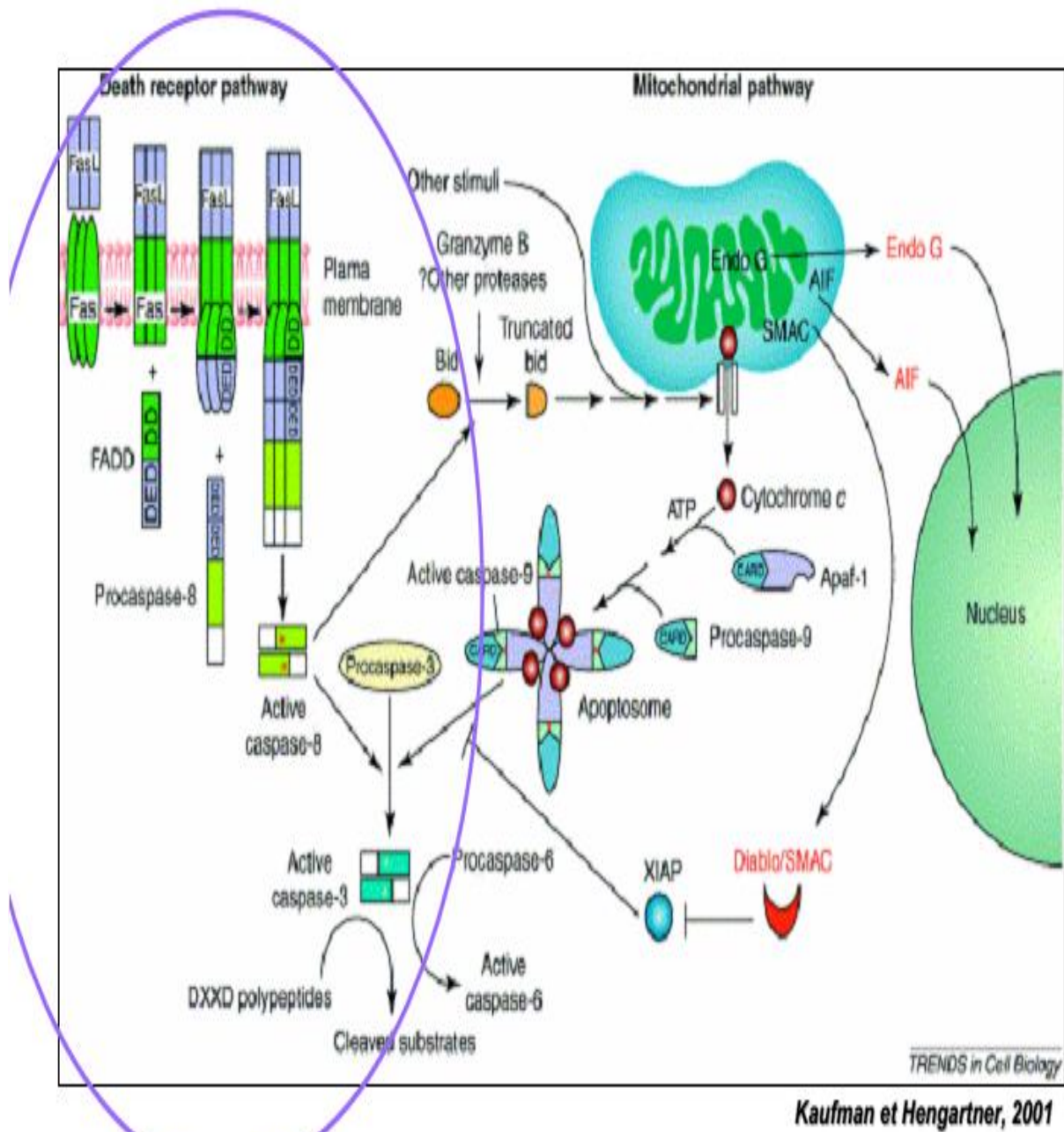
3-2 Contrôle de la tumorigenèse :

Fas et TRAIL-R1/2 Ces deux récepteurs auraient un rôle dans l'immunosurveillance tumorale. En effet, il a été montré que les cellules tumorales sont plus sensibles à l'apoptose médiée par TRAIL que les cellules normales [47]. De plus, les souris mutantes pour TRAIL ou Fas (Knock Out) développent plus fréquemment des tumeurs primaires et des métastases en comparaison avec des souris sauvages [48,49]. Ce phénotype associé à la perte de TRAIL et Fas implique que ces deux protéines participent à l'induction spécifique de l'apoptose des cellules tumorales *in vivo*. Une explication vient du fait que les cellules NK (Natural Killer), les lymphocytes B, les monocytes et les cellules dendritiques sous certaines stimulations (en particulier par les interférons de type I et II) expriment le ligand TRAIL à leur surface et pourraient donc induire spécifiquement l'apoptose des cellules anormales dont les cellules tumorales [50 ;51 ;52]. Récemment, il a été montré que FasL avait également une efficacité proapoptotique accrue à l'état membranaire par rapport à un état sécrété [53]. En outre, les souris exprimant uniquement une forme membranaire de FasL présentent une réduction de la tumorigenèse hépatique par rapport aux souris exprimant la forme sécrétée de FasL suggérant que FasL et TRAIL ont des modes d'action similaires dans le contrôle de la tumorigenèse [53] .

3-3 Fonctions indépendantes du système immunitaire

Plus récemment, il a été montré que certains récepteurs de mort étaient exprimés dans des tissus indépendants du système immunitaire et qu'ils y jouaient des rôles essentiels. Ainsi, le récepteur TNF-R1 est exprimé dans les cellules du colon et favorise leur survie [54]. D'autre part, le récepteur DR3 participerait à la différenciation des ostéoblastes et à la régulation de l'angiogenèse [55 ;56]. Enfin, le récepteur p75NTR se distingue des autres récepteurs de mort de par son rôle majeur dans le système nerveux. Il est en effet impliqué dans le contrôle de la mort des neurones du système sympathique et des motoneurones [57 ;58].

La voie des « récepteurs de mort » ou voie extrinsèque



Rôle important dans la mise en place d'un système immunitaire fonctionnel

Figure 13 : schéma montrant la signalisation de la voie extrinsèque

4-Protéines régulatrices de la voie extrinsèque

4-1 Le rôle des Decoy Receptor

Les Decoy Receptor (DcR) ou récepteurs leurres – TRAIL-R3, TRAIL-R4, DcR3 et l'OPG : ont une structure identique aux récepteurs de mort à ceci près qu'ils n'ont pas de domaine intracellulaire et sont donc incapables de transduire un signal pro-apoptotique [59,40 ;60] Ils modulent donc l'effet des récepteurs de mort et entrant en compétition avec leurs ligands [60]. Ainsi, TRAIL-R3 et l'OPG diminuent la sensibilité des lymphocytes périphériques à l'apoptose médiée par TRAIL [59 ;61]. Par ailleurs, DcR3 bloque l'apoptose des cellules endothéliales médiées par le ligand TL1A ce qui entraîne une stimulation de l'angiogenèse. En effet, il a été montré que DcR3 induit in vitro et in vivo l'apparition de nouveaux vaisseaux sanguins [56]. Enfin, TRAIL-R4 est exprimé de manière ubiquitaire et permettrait de protéger les cellules saines de l'apoptose médiée par TRAIL. De plus, TRAIL-R4 est capable de bloquer l'apoptose via deux mécanismes : d'une part en fixant TRAIL et en l'empêchant de fixer TRAIL-R2 mais aussi d'autre part en liant TRAIL-R2 via son domaine PLAD masquant alors le site de fixation de TRAIL sur TRAIL-R2 [62] .Cette deuxième hypothèse a été émise suite à l'observation que des cellules surexprimant TRAIL-R2 et un mutant de TRAIL-R4 incapable de fixer TRAIL sont résistantes à la mort médiée par TRAIL [62].

Certaines tumeurs expriment fortement les récepteurs leurres. Elles deviennent alors insensibles à la mort médiée par TRAIL, ce qui favorise la progression tumorale. En ce sens, l'expression des DcR a récemment été caractérisée comme un facteur pronostic dans les tumeurs mammaires et colorectales [63 ;64]

4-2. Protéines régulatrices à domaine DED

Par interaction homotypique impliquant leur domaine DED, les protéines c-FLIP, TRAF1, TRAF2 et RIP sont capables de s'associer à FADD et de moduler l'activité du DISC . C-FLIP (Cellular FLICE/Caspase 8 Inhibitory Protein) est un homologue de la caspase 8 comportant un domaine DED et un site catalytique inactif. C-FLIP est exprimé sous 3 formes : une forme longue (c-FLIPL), et deux formes courtes (c-FLIPS et c-FLIPR). Alors que les formes courtes sont décrites pour interagir avec FADD et la pro-caspase 8, inhiber l'interaction FADD/Caspase 8, et donc avoir un rôle anti-apoptotique [65] .

Le rôle de la protéine c-FLIPL est controversé. En effet, certaines études décrivent c-FLIPL comme un facteur pro- apoptotique [66 ;67] et d'autres au contraire comme un facteur anti-apoptotique [68] .Ces deux fonctions antagonistes de c-FLIPL peuvent s'expliquer par son taux d'expression. Lorsqu'elle est fortement exprimée, c-FLIPL entrerait en compétition avec la caspase 8, empêcherait sa fixation sur FADD, et donc l'induction de l'apoptose ; au contraire, à un taux plus faible, c-FLIPL serait toujours adressé au DISC et interagirait avec la caspase 8.

C-FLIPL modifierait la conformation du domaine catalytique de la procaspase 8 lui permettant d'acquérir une activité caspase suffisante pour cliver des substrats synthétiques in vitro et pour son auto-activation par protéolyse [66 ; 69].

Par ailleurs, c-FLIP participe au recrutement des protéines RIP et TRAF1/2 au sein du DISC [70]. L'activité kinase des protéines RIP et TRAF1/2 est à l'origine de l'activation de la voie JNK (c-Jun N-Terminal protein Kinase) qui aboutit à l'activation de nombreux facteurs de transcription tels que c-Jun, JunD

et c-Myc[71 ;72] . Ces derniers activent la transcription de gènes pro-apoptotiques, tels que TNF α , FasL ou encore PUMA aboutissant à une boucle d'amplification positive du signal pro-apoptotique [73 ;74] .RIP et TRAF1/2 peuvent aussi conduire à la phosphorylation de la protéine I κ B qui séquestre sous forme non-phosphorylée, le facteur de transcription NF κ B dans le cytoplasme.

Ainsi, la phosphorylation d'I κ B permet la libération de NF κ B qui, sous forme dimérique, est transloqué dans le noyau et active la transcription de multiples gènes tels que les IAPs, des protéines inhibitrices de la voie mitochondriale et les gènes TRAF1/2 conduisant à une boucle d'amplification d'un signal anti-apoptotique [74 ;44].

4-3. Les protéines accessoires régulatrices du DISC

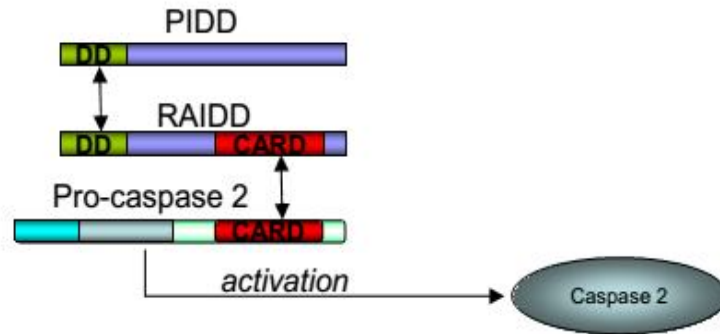
D'autres protéines sont capables d'interagir avec le DISC : Daxx, FLASH et FAF-1 . Daxx et FLASH stimulent respectivement l'activation de la voie JNK et de la caspase 8 [76]. FAF-1 (Fas Associated Factor 1) interagit avec Fas, stimule l'activation de la caspase 8 et au contraire, bloque l'activation de la voie NF κ B [77 ;78] .

Il est également à noter que le processus d'oligomérisation des récepteurs de mort est dépendant de leur phosphorylation contrôlée notamment par la protéine phosphatase FAP-1 (Fas Associated Phosphatase 1) et de la protéine kinase Fyn [79].

B- La voie intrinsèque ou "voie mitochondriale"

Les membres de la famille de Bcl-2 participent à la voie intrinsèque en agissant sur la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (MOMP : Mitochondrial outermembrane permeabilization) qui conduit au relargage du cytochrome c de la mitochondrie. Le cytochrome c libéré dans le cytosol s'associe avec Apaf-1 (Apoptotic Protease- activating factor), la protéine qui permet le recrutement ATP-dépendant de la pro-caspase-9 par l'intermédiaire des domaines CARD présents à la fois sur la caspase-9 et sur Apaf-1. Le complexe ainsi formé est appelé apoptosome et permet l'activation de la caspase-9 [80]. Par ailleurs, comme son pro domaine n'est pas clivé suite à son activation, la caspase-9 reste liée à l'apoptosome au niveau duquel elle active directement la caspase-3. La caspase-2 est également activée par la voie intrinsèque mais plus spécifiquement en réponse à des dommages à l'ADN déclenchés soit directement par les radiations ionisantes ou indirectement par l'étoposide qui, en inhibant la topoisomérase II, favorise les cassures de l'ADN [81]. Dans ces conditions, le suppresseur de tumeur p53 est activé et induit l'expression de PIDD (p53-induced protein with a DD). Par interaction avec le DD, PIDD recrute RAIDD (RIP (Receptor interacting protein)-associated ICH-1/CED-3 homologous death protein with death domain) qui à son tour recrute la procaspase-2 par l'intermédiaire du domaine CARD présent à la fois sur RAIDD et sur la pro- 12 caspase-2. Le complexe multimoléculaire formé, nommé PIDDosome, sert de plateforme d'activation pour la caspase-2 [82]. Des études in vitro indiquent qu'une fois activée la caspase-2 peut activer la caspase-8 et participer à la perméabilisation des membranes mitochondriales par l'intermédiaire du clivage de Bid [83].

Le PIDDosome



L'Apoptosome

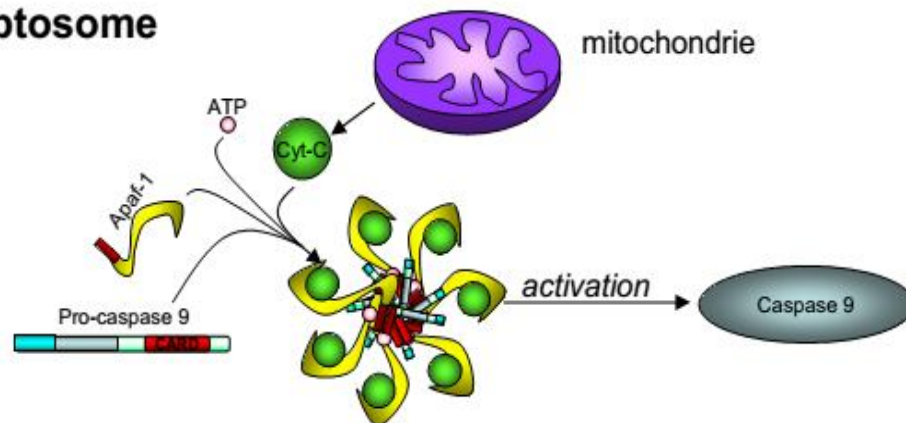


Figure 14 : schémas simplifiés montrant la signalisation de PIDDosome et Apoptosome

1 -Les stimuli induisant cette voie :

Les stimuli capables d'induire la voie intrinsèque sont variés. En effet, cette voie peut être induite soit de manière directe suite à des dommages mitochondriaux induits par des UV, un choc thermique ou bien une privation en facteur de croissance qui vont entraîner le relargage du cytochrome C, la formation de l'apoptosome et l'apoptose ; soit de manière indirecte suite à un stress génotoxique ou bien à l'induction de la voie des récepteurs de mort. Dans ce deuxième cas, l'induction de la voie mitochondriale est liée à l'activité des procaspases 8/10.

2 - La famille des protéines Bcl-2

La voie intrinsèque implique une famille de protéine particulière : les protéines de la famille Bcl-2 (B-cell Lymphoma) qui régulent la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie. Cette famille comprend des protéines à fonction et structure variable (nombre de domaines BH pour Bcl-2 Homology) que l'on peut diviser en trois classes : les inducteurs de l'apoptose ou BH3-only protein (Bim, PUMA, Noxa, Bik, Bmf, Bad, Hrk et Bid), les effecteurs de l'apoptose (Bak, Bax, Bok), et les inhibiteurs de l'apoptose (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, Mcl-1, A1).

Les protéines de la famille Bcl-2 sont des régulateurs clés de l'apoptose puisque leur principale fonction est de contrôler la perméabilité membranaire de la mitochondrie et particulièrement, la libération de protéines apoptotiques par cette organelle. Ils sont donc des acteurs principaux de la voie intrinsèque de l'apoptose. La protéine Bcl-2 a été la première identifiée en lien avec le lymphome folliculaire humain d'où son nom B-cell lymphoma-2 l'inverse des oncogènes connus, il ne favorise pas la prolifération cellulaire, mais bloque la mort cellulaire [84]. Chez les mammifères il existe une grande famille de protéines Bcl-2 avec environ 25 membres [85 ;36] qui peuvent être divisées en deux classes : ceux qui inhibent l'apoptose et ceux qui la favorisent.

2-1- Structure

Ces protéines se caractérisent par la présence d'au moins un domaine homologue à Bcl-2 (BH domain). Il existe 4 domaines BH conservés notés BH-1 à BH-4. La famille de protéines Bcl-2 peut être divisée en 2 groupes, basés sur leurs caractéristiques structurales et leur rôle dans l'apoptose (Figure15) :

- Les protéines anti-apoptotiques comme Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, MCL-1 qui se caractérisent par la présence de 4 domaines BH (BH-1 à BH-4).

- Les protéines pro-apoptotiques comme Bax, Bak, Bok qui contiennent trois domaines BH (BH-1 à BH-3). Certaines de ces protéines ne contiennent que le domaine BH-3 comme Bid, Bim, Bik, Bad, Noxa, Puma, et Hrk. La plupart de ces protéines possède un domaine transmembranaire potentiel en C terminal, et sont donc typiquement associées aux membranes des organelles telles que celles de la mitochondrie (membrane externe mitochondriale ou MEM), le réticulum endoplasmique (RE) et le noyau [86;87]. Par exemple, Bcl-2 réside principalement sur la face cytoplasmique du RE, et en moindre quantité sur la MEM et l'enveloppe nucléaire [88 ;86] alors que Bcl-xL est plus prédominante sur la MEM [89 ;90]. Au contraire, Bak va s'incruster au niveau de la MEM qu'après activation. Ces protéines peuvent former des homo-dimères et/ou hétérodimères, essentiellement à travers l'interaction entre leurs domaines BH3 [91 ;92].

Protéines anti-apoptotiques BH1-4 : Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-w, MCL-1



Protéines pro-apoptotiques

- BH1-3 : Bax, Bak, Bok



- BH3 seul : Bid, Bim, Bik, Bad, Noxa, Puma, Hrk, etc.

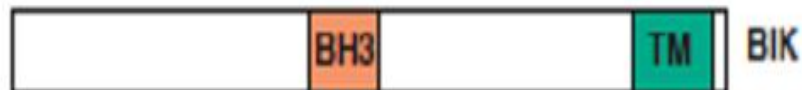


Figure 15 : Protéines de la famille Bcl-2 [135] .

2-2- Mode d'action des protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2

Ces protéines vont principalement agir au niveau de l'intégrité de la membrane mitochondriale et vont donc influencer sur la libération de facteurs pro-apoptotiques tels que le cytochrome c ou encore l'AIF (Apoptosis Inducing Factor). La mitochondrie est donc au centre de la décision vie/mort de la cellule. Ces protéines peuvent aussi interagir avec les protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2 et inhiber leur fonction.

	Groupe I	Groupe II	Groupe III
Protéines	Bcl-2, Bcl-xL	Bax, Bak	Bid, Bad, Bim, Bmf, Noxa
Motifs	BH1 à BH4	BH1 à BH3	BH3
Localisation	Membrane externe de la mitochondrie	Cytoplasme puis membrane mitochondriale (→ sortie cytochrome-c)	
Rôles	Anti-apoptotique Prévient la libération du cytochrome-c	Pro-apoptique Formation pores dans membrane mitochondrie	Pro-apoptotique Favorise activation de Bax Inhibe fonction de Bcl-2

Tableau 4 : Caractéristiques des différents groupes de protéines de la famille Bcl-2 [38]

2-2-1- Bax et Bak

La première protéine pro-apoptotique, Bax, fut identifiée par son interaction avec la protéine anti-apoptotique Bcl-2 [91.] Bcl-2 s'associerait avec Bax pour exercer son activité répressive sur la mort mais le contraire est également vrai puisque Bax peut s'associer avec Bcl-2 pour exercer son activité pro-apoptotique. Ainsi la décision de vivre ou mourir, résiderait dans l'équilibre entre « protéines de vie / protéines de mort » [93] [91] ont aussi proposé un modèle de « rhéostat » selon lequel le ratio Bcl-2 / Bax fixerait le seuil de sensibilité ou de résistance à l'apoptose. Plusieurs scénarios ont été proposés quant à l'implication de Bax dans la libération des protéines pro-apoptotiques par la mitochondrie . Sans rentrer dans les détails, Bax pourrait induire l'ouverture d'un important pore non spécifique, le MPTP (Mitochondrial Permeability Transition Pore), un complexe multi-protéique présent dans la MEM [94 ;95].

Cela entraînerait une diminution du potentiel transmembranaire mitochondrial suivie d'une entrée massive d'eau et de molécules de faibles masses moléculaires responsables du gonflement de la mitochondrie. Il s'en suivrait une dislocation de la MEM et donc une libération des protéines inter-membranaires pro-apoptotiques.. Cependant, il a aussi été montré que Bax pouvait induire cette libération sans dislocation de la MEM, et indépendamment des MPTP[96 ;97]Après la survenue d'un signal de mort, Bax subit un changement de conformation et une relocalisation au niveau de la mitochondrie .Il s'associerait alors avec d'autres Bax pour former des homo-oligomères dans la MEM. Ces oligomères constitueraient des pores qui provoqueraient la fuite des protéines présentes dans l'espace inter-membranaire mitochondrial [98 ;99].

Un mode d'activation identique est retrouvé chez son homologue fonctionnel, Bak, déjà présent au niveau de la MEM. En parallèle, Bax et Bak sont aussi impliqués dans l'apoptose via le relargage du calcium (Ca^{2+}) par le RE. En effet, les mitochondries mais surtout le RE constituent un lieu de stockage pour le Ca^{2+} servant à réguler sa concentration[100]. C'est pourquoi, une altération des membranes de ces organites ou de la membrane plasmique peut conduire à une élévation incontrôlée de cette concentration et provoquer la mort cellulaire [101]. L'activation de l'IP3R (inositol 1,4,5-trisphosphate receptor), situé à la surface du RE, cause la libération du Ca^{2+} par le RE dans le cytosol. Ce Ca^{2+} est rapidement capté par la mitochondrie, localisée à proximité du RE [100]. Dans une cellule viable, les protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-xL localisés au niveau de la membrane du RE, maintiennent l'homéostasie calcique dans la cellule en régulant l'activité des IP3R (Rong et al., 2009). Mais dans des conditions d'apoptose, Bax et Bak vont inactiver la fonction inhibitrice de Bcl-2 et Bcl-xL sur IP3R, et ainsi stimuler la libération du Ca^{2+} [102 ;103] La recapture massive du Ca^{2+} par les mitochondries provoque une dépolarisation de la membrane mitochondriale, un arrêt des synthèses d'ATP et l'ouverture du MPTP entraînant ainsi les changements morphologiques décrits précédemment et la libération des protéines proapoptotiques [104 ; 105]La libération massive de Ca^{2+} entraîne également d'autres modifications dans la cellule indépendantes de la mitochondrie, aboutissant à la mort de cette dernière par apoptose.

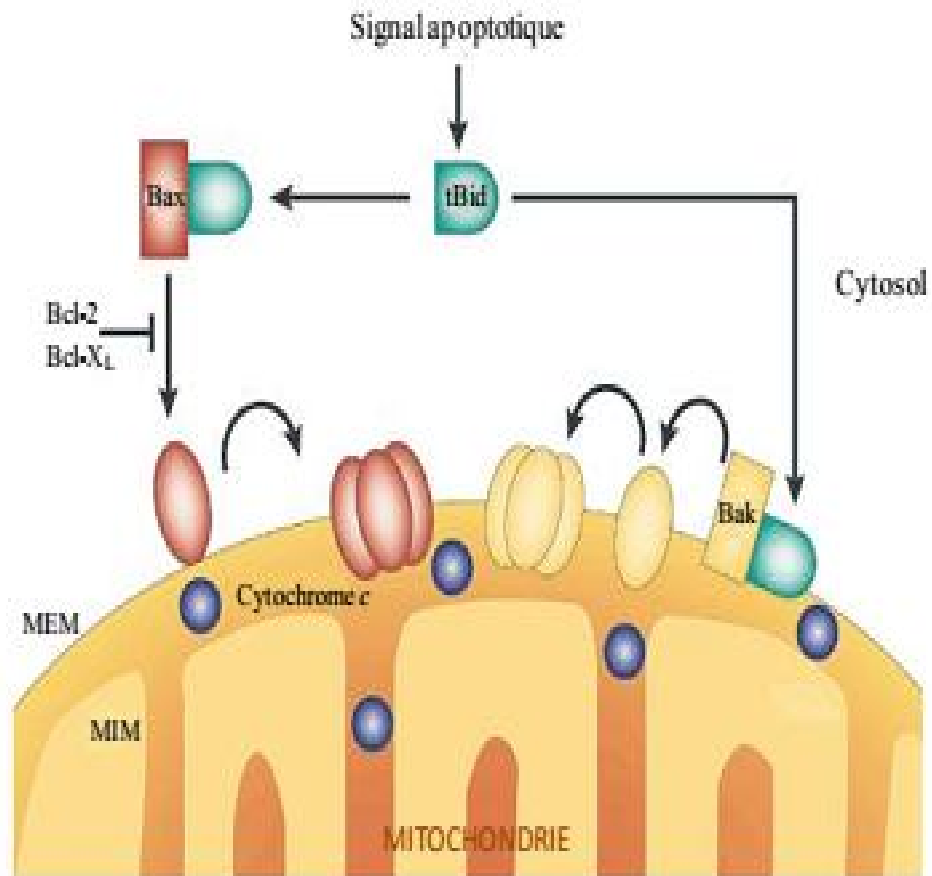


Figure 16 : Activation de Bax et Bak par tBid [101]..

Après avoir interagi avec tBid, Bax subit un changement de conformation, s'insère dans la membrane externe, s'oligomérisé et libère le cytochrome c et d'autres facteurs de mort à partir de l'espace intermembranaire mitochondrial. tBid peut aussi se transloquer dans la mitochondrie où il active Bak lequel est constitutivement ancré à la membrane mitochondriale. Bak subit aussi un changement de conformation, s'oligomérisé et entraîne la perméabilisation de la membrane mitochondriale. Les protéines anti-apoptotiques Bcl-XL et Bcl-2 inhibent le changement de conformation de Bax et/ou son insertion.

2-2-2 Protéines BH-3 only

Les membres de la famille BH-3 only agissent en tant que « sentinelles » et sont activés en réponse à divers stress cellulaires. Ils ont tous le même but c'est-à-dire permettre l'activation des protéines pro-apoptotiques à multidomaines notamment Bax et Bak. Ils sont séparés en 2 classes suivant leur capacité à interagir avec les protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 ou avec les protéines pro-apoptotique de cette même famille. En effet, il a été montré que les protéines anti-apoptotiques Bcl-xL, Bcl-w et Bcl-2 changent de localisation et/ou de conformation durant l'apoptose, les rendant ainsi inactives. Ce changement serait dû à leur liaison avec les protéines BH-3 only comme par exemple Bcl-w avec Bim et Bcl-xL avec Bad [106 ;107] D'autre part, tBid, une forme de Bid activée par clivage par la caspase 8, se lie aux protéines pro-apoptotiques Bak et Bax déclenchant leur activation et leur oligomérisation pour former les canaux mitochondriaux [108] .Dans ce cas, Bid constituerait un lien entre les voies extrinsèque et intrinsèque de l'apoptose.

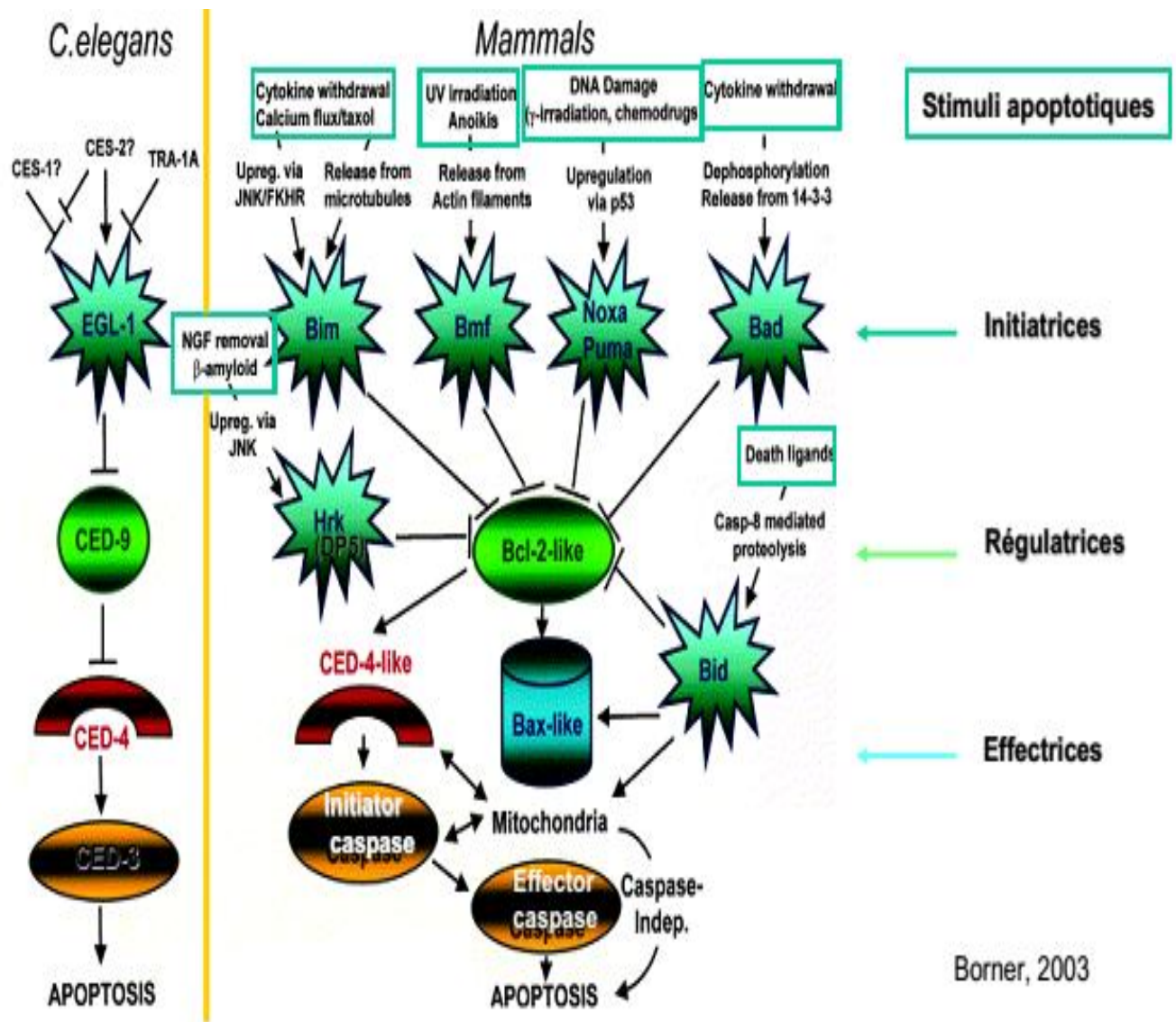


Figure 17 ; Protéines régulatrices de la voie extrinsèque

2-3- Libération extra-mitochondriale de facteurs pro-apoptotiques

La mitochondrie est considérée comme un centre décisionnel de vie ou de mort. Si les signaux de mort sont plus importants que ceux de vie alors la MEM est perméabilisée par un mécanisme qui n'est pas encore bien défini et qui est encore un sujet de controverse comme décrit précédemment. La mitochondrie renferme des protéines pour la plupart impliquées dans le bon fonctionnement de cette dernière mais lorsque la cellule reçoit un signal de mort, ces protéines peuvent être libérées dans le cytosol et avoir un tout autre rôle : déclencher la mort de la cellule.

A- Le cytochrome c

Le cytochrome C est un composant essentiel de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale et participe activement à la production d'énergie dans la cellule et au maintien du potentiel membranaire mitochondrial. Il est associé à la membrane interne mitochondriale via sa liaison à un phospholipide anionique spécifique des mitochondries, la cardiolipine. Suite à un signal de mort, le cytochrome c se détache de la membrane pour devenir soluble dans l'espace inter-membranaire mitochondrial, puis est libéré dans le cytoplasme suite à la perméabilisation de la MEM [109]. En se liant à Apaf-1, le cytochrome c va provoquer l'activation d'une cascade de caspases conduisant à la mort de la cellule [115]. La chute du potentiel transmembranaire mitochondrial accompagne souvent la libération du cytochrome c. Cependant, [111] ont montré qu'après libération du cytochrome c, la cellule pouvait conserver son potentiel transmembranaire. Ceci indique que soit le cytochrome c n'est pas libéré dans sa totalité ou soit qu'il est re-capté librement par la mitochondrie pour participer au transport d'électrons [114]. [111] spéculent sur le fait que les cellules maintiennent un potentiel transmembranaire et une concentration en ATP normale jusqu'à ce que les caspases soient activées. En effet, l'ATP est requis pour l'oligomérisation d'Apaf-1 et donc, la création de l'apoptosome.

B- Apoptosis Inducing Factor AIF

L'Apoptosis Inducing Factor ou AIF est une flavoprotéine à activité NADH oxydase, ancrée au niveau de la membrane interne mitochondriale [111]. où elle exerce une fonction vitale dans la bioénergétique et la défense anti-oxydante [112 ;113] C'est une protéine phylogénétiquement ancienne avec des orthologues chez les Archae, les eubactéries, les métazoaires, les champignons et les plantes. En réponse à un stimulus de mort cellulaire spécifique, le processus de libération de l'AIF est le même que celui du cytochrome c, c'est-à-dire décrochage de la membrane et libération dans le cytosol [111] .Il va alors migrer au niveau du noyau et se lier à l'ADN par des interactions électrostatiques [116]. Il induit une condensation de la chromatine et une dégradation de l'ADN en gros fragments de l'ordre de 50 Kpb [112] induisant la mort de la cellule. [117] ont montré que l'AIF nécessitait une association avec la cyclophiline A pour former une DNase active.

C- Endonucléase G

Cette protéine interviendrait dans les processus de régénérations intracellulaires tels que la réparation de l'ADN nucléaire endommagé et la réplication de l'ADN mitochondrial [118 ;119.] Lors d'un signal apoptotique, elle est libérée dans le cytosol en même temps que les autres protéines mitochondriales responsables de l'apoptose. Elle induirait une fragmentation oligonucléosomale de l'ADN, aboutissant à la mort de la cellule [120] .Cependant, il est possible qu'il existe d'autres protéines qui agiraient avec elle pour aboutir à ce résultat. La mort cellulaire induite par l'endonucléase G ou l'AIF ne fait pas intervenir les caspases et représente donc une voie d'apoptose caspases-indépendante.

D- Smac/DIABLO et Hight temperature requirement : HtrA2/Omi

Ces deux protéines mitochondriales, libérées lors de la perméabilisation de la membrane extramembranaire (MEM) sont impliquées dans la régulation de l'activité de certaines caspases. L'activité catalytique des caspases activées peut être directement inhibée par la famille d'inhibiteur de caspases, les protéines IAP. Cependant, cette inhibition peut être levée grâce aux protéines Smac/DIABLO et HtrA2/Omi qui vont interagir avec ces protéines via des domaines spécifiques et vont donc permettre le déroulement de l'apoptose. Contrairement à Smac/DIABLO dont l'action anti-IAP repose sur une liaison stœchiométrique et réversible, HtrA2/Omi agit de façon catalytique et irréversible [120 ;121 ;122].

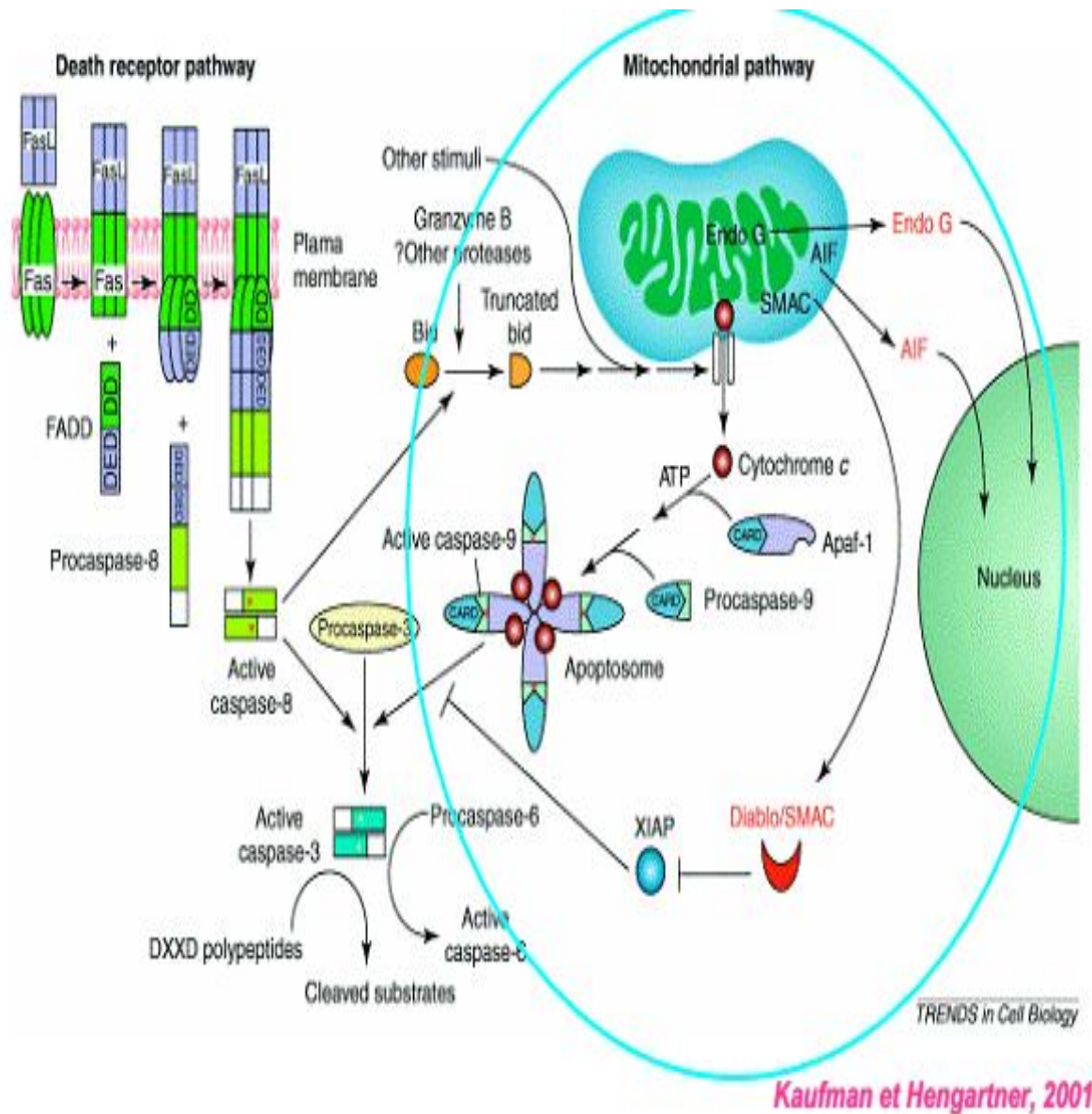


Figure 18 : schéma montrant la signalisation de la voie intrinsèque

2-4 Le cas particulier de l'apoptose caspase-indépendante

Les stimuli apoptotiques sont capables d'induire la mort cellulaire même dans un contexte où l'activation des caspases est bloquée. Morphologiquement, cette mort est similaire à l'apoptose caspase dépendante et elle a été observée dans plusieurs contextes *in vitro* et *in vivo* :

- Sur des cultures cellulaires traitées avec un inhibiteur général des caspases (z-VAD-fmk) ou surexprimant XIAP
- Sur des cellules déficientes pour l'un des membres du complexe central de l'apoptose : l'apoptosome (apaf-1, caspase 9 ou cytochrome C)
- Ou bien encore chez les souris mutantes (Knock Out) pour la protéine apaf-1 qui présentent un retard dans la formation des espaces interdigitaux mais en aucun cas une inhibition totale du processus [127 ;126 ;125 ;124 ;128]

L'ensemble de ces éléments suggère qu'il existe un programme apoptotique caspase indépendant également appelé nécroptose capable de compenser une déficience des voies classiques d'activation des caspases.

La signalisation conduisant à la mort cellulaire par nécroptose est encore assez mal connue mais on distingue une étape d'initiation compensant une déficience d'activation des caspases initiatrices, et une étape de finalisation du processus capable de remplacer l'action des caspases effectrices. Dans un contexte où les caspases sont bloquées, il a été montré que la fixation du ligand TNF (Tumor Necrosis Factor) sur les récepteurs de mort TNF-R1 entraîne l'activation de la phospholipase A2 (PLA2) qui permet la formation de ROS (Reactive Oxygen Species) dans le cytosol. Un autre mécanisme d'initiation de la nécroptose par les récepteurs de mort implique le récepteur Fas et la protéine adaptatrice FADD. Après oligomérisation de Fas en présence de son ligand

FasL, la protéine FADD est recrutée et permet l'activation de la protéine kinase RIP1. Cette dernière est à l'origine de la destruction du complexe mitochondrial composé de l'adénine nucléotide translocase/Cyclophiline D conduisant à un dysfonctionnement mitochondrial [129 ;130] .

Ce dysfonctionnement ainsi que les ROS portent atteinte à l'intégrité de la membrane mitochondriale et seraient à l'origine de la perméabilisation de sa membrane externe[131]. La seconde étape de la nécroptose est liée à la libération de protéines de l'espace intermembranaire mitochondrial dans le cytosol : cytochrome C, smac/DIABLO, HtrA2/Omi, Endonucléase G (Endo G), et le facteur d'induction de l'apoptose (AIF) [132.133.134.120.112]. Alors que smac/DIABLO et le cytochrome C vont induire l'activation des caspases et l'induction d'une apoptose caspase dépendante par les mécanismes décrits précédemment ; AIF, l'endoG et HtrA2/Omi vont mimer les actions normalement remplies par les caspases et conduire à une apoptose caspase-indépendante. Ainsi, les protéines AIF et l'Endo G sont transloquées dans le noyau et induisent la condensation de la chromatine et la fragmentation de l'ADN [119 ;120]. En parallèle, la sérine protéase HtrA2/Omi va dégrader des substrats cytosquelettiques tels que l'actine et les tubulines α et β [136] , l'ensemble conduisant à la formation des corps apoptotiques.

2-5 Rôle de la voie intrinsèque

De manière générale, la voie intrinsèque permet l'élimination de toute cellule ayant subi des dommages importants au niveau mitochondrial ou encore au niveau ADN. Cette voie peut donc a priori être activée dans tous les types cellulaires. Toutefois, il est à noter que tous les types cellulaires ne réagissent pas de la même manière à un stimulus donné : par exemple alors que certaines cellules vont mourir suite à une privation en facteur de croissance, d'autres vont être capables de résister à cette privation et d'y survivre si elle est temporaire.

C- Les caspases

1-Structure et classification :

Les caspases sont des cystéines protéases possédant un résidu cystéine dans leur séquence nécessaire à l'activité catalytique. Elles clivent spécifiquement leurs substrats après un résidu d'acide aspartique. Parmi les 13 caspases identifiées chez l'homme, certaines sont impliquées dans les phénomènes d'inflammation ou de différenciation (caspases-1,-4,-5,-12 et 14) tandis que les caspases-2,-3,-6,-7,-8,-9,-10 participent à l'apoptose [137]. Elles possèdent un pro domaine en N-terminal de longueur variable et un domaine catalytique en C terminal composé d'une petite sous-unité (10-12 kDa) et d'une grande sous-unité (17-20 kDa) portant le site catalytique [138].

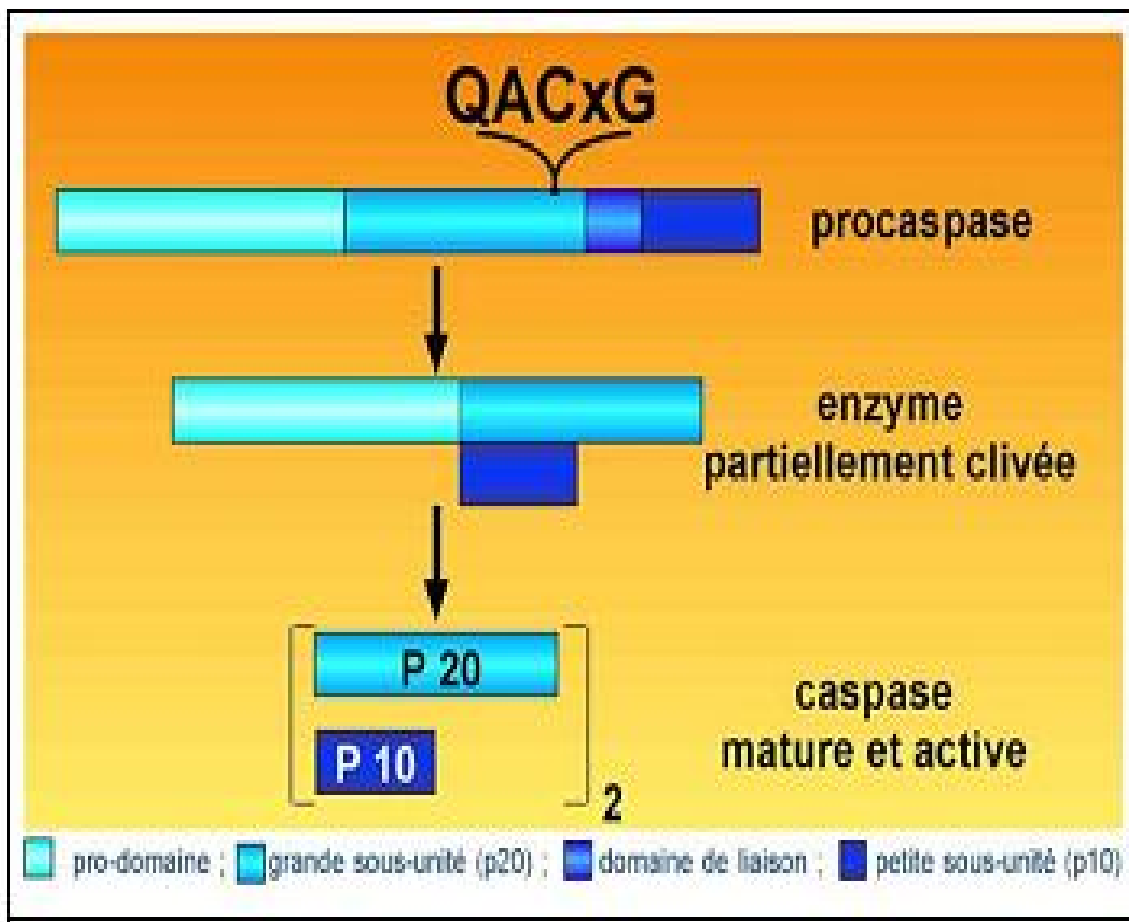


Figure 19 : Structure et activation des caspases

Les caspases de l'apoptose peuvent être divisées en deux catégories, les caspases initiatrices (caspases-2, 8, 9 et 10) possédant un long pro-domaine N-terminal et qui sont activées précocement dans la cascade apoptotique et les caspases effectrices (3, 6 et 7) qui ont un domaine N-terminal court et qui sont activées dans la phase exécutive de l'apoptose [139] .

2- Mode d'activation :

Elles sont synthétisées en tant que pro-enzymes inactives : sous forme de monomères pour les caspases initiatrices et de dimères pour les caspases effectrices [140]. La protéolyse au niveau de sites de clivage internes permet de libérer le site catalytique des caspases. La forme active des caspases est constituée de l'association de la petite et de la grande sous-unité formant un hétérodimère [141.] Ainsi, pour les caspases effectrices le clivage protéolytique semble indispensable pour l'activation. A l'inverse, pour les caspases initiatrices la dimérisation des proformes monomériques inactives est suffisante à l'activation tandis que le clivage semble seulement stabiliser les dimères actifs formés [141 :141 ;142]. Le mode d'activation préférentiel des caspases initiatrices implique leur recrutement au niveau de plateforme de signalisation. Ce recrutement est possible grâce à des domaines particuliers présents au niveau du prodomaine des caspases initiatrices tels que le domaine CARD (Caspase Recruitment Domain) pour les caspases-9 et -2 ou le domaine DED (Death Effector Domain) pour les caspases-8 et -10 [144].

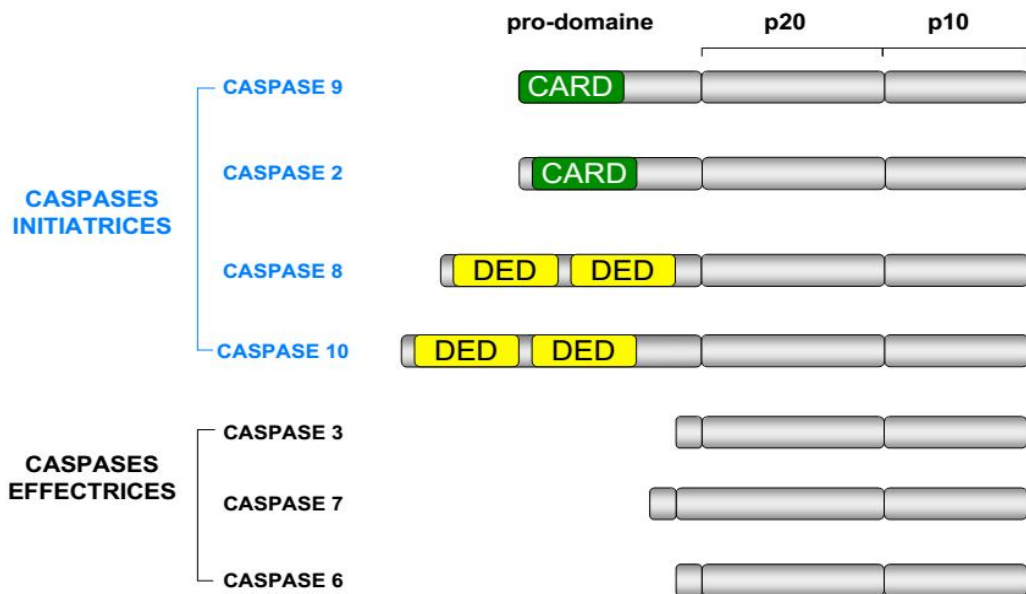


Figure 20 : Caspases initiatrices et exécutrices. Les deux sites de clivages sont représentés par des flèches. Les pro-domaines des caspases initiatrices contiennent des motifs d'interaction homotypique CARD et DED. La dyade histidine-cystéine.

Le recrutement des caspases initiatrices au sein de ces complexes favorise leur oligomérisation et leur activation vraisemblablement par modifications conformationnelles. Les caspases initiatrices une fois activées peuvent cliver et activer les caspases effectrices. De plus, il existe une boucle d'amplification positive de la cascade des caspases qui permet l'activation de caspases en amont de la signalisation par des caspases activées en aval. Par exemple la caspase-8 peut être clivée par les caspases effectrices -3 et 6 *in vitro* [147] .

3- Les caspases effectrices et leurs substrats

Activées par les caspases initiatrices, les caspases exécutrices 3, 6 et 7 achèvent la cascade apoptotique et participent à la phase terminale de l'apoptose. Ainsi elles sont responsables du phénotype apoptotique puisqu'elles clivent et dégradent de nombreux substrats essentiels à la survie cellulaire. Par

exemple, le clivage des lamines structurant le noyau contribue à la condensation de la chromatine. En clivant des composants ou des protéines régulatrices du cytosquelette telles que l'actine ou la gelsoline, les caspases effectrices participent à la désorganisation des structures cellulaires [145]. De plus, les caspases effectrices inactivent des protéines nécessaires au maintien de l'intégrité du génome, provoquant les phénomènes de fragmentation de l'ADN. Par exemple le clivage de ICAD (Inhibitor of CAD/DFF45) permet la libération de CAD (Caspase-Activated deoxyribonuclease), une nucléase responsable de la fragmentation de l'ADN. De même, le clivage de PARP (Poly-(ADP-Ribose) Polymérase) ou de la DNA-PKcs inhibe leur activité de réparation de l'ADN, favorisant les cassures de l'ADN [144;131]. Finalement, malgré un rôle prépondérant des caspases effectrices dans la phase d'exécution de l'apoptose, il semblerait que les caspases-3 et -7 exercent une boucle de rétrocontrôle positif permettant l'amplification des événements mitochondriaux. En effet, des cellules déficientes à la fois en caspase-3 et en caspases-7 présentent un défaut dans l'induction des événements mitochondriaux en réponse aux radiations UV [148].

4- La régulation des caspases

4-1 Inhibiteur des caspases

Il existe des inhibiteurs synthétiques spécifiques de certaines caspases permettant d'étudier les mécanismes moléculaires des voies de mort cellulaire tels que Z-VAD-fmk ou encore Ac-DEVD-CHO (Schotte et al., 1999). Cependant, il existe également des inhibiteurs naturels présents dans les cellules afin d'empêcher une activation inopinée des caspases. Voici les plus connus :

- La famille des IAPs (Inhibitors of Apoptosis Proteins). Chez l'homme au moins 5 protéines de cette famille ont été identifiées : cIAP-1 (Rothe et al., 1995), cIAP-2, XIAP [150 ;152], NAIP [151] et la survivine. La famille des IAPs a ANALYSE pour fonction de bloquer les processus de mort, même à des stades relativement avancés. Ils peuvent bloquer l'activation des pro-caspases, et inhiber l'activité des caspases matures via un domaine leur permettant de se lier directement aux caspases. Lors du déclenchement de l'apoptose, ces protéines peuvent aussi être inhibées par des protéines libérées par la mitochondrie dans le cytosol, en même temps que le cytochrome c. Ce sont les protéines Smac /DIABLO [121] et HtrA2/Omi [133 ;122]. Elles se lient aux IAPs empêchant ainsi leur action protectrice, et permettent aux pro-caspases de s'activer [151].

- Les inhibiteurs viraux : CrmA (cytokine response modifier A), une protéine synthétisée par le virus de la vaccine, fut le premier inhibiteur de caspase découvert.. Elle inhibe fortement l'activité protéolytique des caspases 8 et 10 et dans une moindre mesure celle des caspases 3, 6 et 7 [153]. FLIP, identifiée chez le virus de l'herpès possède deux domaines DED qui lui permettent d'entrer en compétition avec la pro-caspase 8 pour la fixation sur le domaine DED de la protéine adaptatrice FADD [154].

4-2 Protéines kinases régulatrices des caspases :

Outre les IAPs, l'activité mais aussi la fonction des caspases peuvent être modulées par phosphorylation. En effet, en cas de stimulation des cellules par des facteurs de croissance ou bien au cours de la mitose, la caspase 9 est phosphorylée et inhibée par les protéines kinases Akt et ERK (Extracellular Regulated Kinase), ou par la Protéine Kinase C ζ [155 ;156 ;157.] Suite à des stimuli similaires, les caspases 2, 3 et 8 peuvent également être inhibées par

phosphorylation suite à l'action des protéines kinases : CaMKII, CK2, p38 MAPK, Src, Fyn, Lyn et SHP1. Certaines phosphorylations vont au contraire stimuler l'activité des caspases en condition apoptotique : c'est le cas de la protéine kinase c-Abl et de la protéine kinase PKC δ qui ont pour cible les caspases 9 et 3 [158].

De manière intéressante, la phosphorylation des caspases peut également conduire à un changement de fonction. En effet, il a été montré que la caspase 2 pouvait également être associée à un phénomène de réparation de l'ADN [159]. Un modèle émergent implique la protéine kinase ATM (Ataxia Telangectasia Mutated) activée en cas de stress génotoxique, comme régulateur central de la balance apoptose/réparation de l'ADN. En cas de stress important, ATM induirait p53, la formation du PIDDosme dans le cytosol et l'induction d'une apoptose caspase 2 dépendante. Au contraire, en cas de dommages ADN mineurs, ATM permettrait l'activation de sérine/thréonine kinase nucléaires : les DNAPKcs ayant pour cible la caspase 2. Cette dernière serait alors recrutée par un PIDDosome nucléaire (composé de PIDD et des DNA-PKCs) qui participerait à la réparation de l'ADN et à la survie cellulaire. Dans ce cas, la caspase 2 est également activée sans pour autant conduire à l'apoptose [159]. Il est possible que ce phénomène non-apoptotique soit lié à la séquestration nucléaire de la phospho-caspase 2 qui l'empêcherait d'agir sur ses substrats cytosoliques [158]. L'activation des caspases 2, 3 et 9 a également été associée à un phénomène non-apoptotique : la différenciation érythrocytaire.

Dans les dernières phases de différenciation des érythroblastes en érythrocytes sous l'action de l'érythropoïétine, les caspases 2, 3 et 9 sont activées et clivent certains de leurs substrats pro-apoptotiques nucléaires tels que

la Lamine B. Ce clivage est important pour permettre l'énucléation des érythrocytes mais insuffisant pour induire l'apoptose [160] .

Dans ce cas, la protection contre l'apoptose n'est pas liée à une phosphorylation des caspases mais à l'intervention de protéines chaperones : les protéines de choc thermique (Hsp) [161].

4-3 Les protéines chaperones

Parmi les protéines de choc thermique, les protéines Hsp27, Hsp90 et Hsp70 ont un rôle anti-apoptotique via la protection de certaines protéines. Ainsi, elles sont capables de bloquer l'activation de la caspase 9 : soit en inhibant la formation de l'apoptosome par interaction avec Apaf-1, soit plus indirectement en stabilisant les sérine/thréonine kinases responsables de la phosphorylation inhibitrice de la caspase 9 : Akt et PKC. Hsp27, Hsp90 et

Hsp70 peuvent également inhiber la voie pro-apoptotique JNK et au contraire favoriser l'activation de la voie anti-apoptotique NFκB [162] .La fonction anti-apoptotique des protéines chaperones est souvent associée à un rôle dans la différenciation cellulaire [162] .Ainsi la protéine Hsp70 intervient dans la différenciation érythrocytaire en protégeant un substrat de la caspase 3 : GATA1. GATA1 est un facteur de transcription capable d'induire la production de facteurs antiapoptotiques et impliqué dans la différenciation des érythrocytes sous l'action de l'érythropoïétine (EPO). Il a été montré qu'en cas de privation en facteur de croissance, ou d'induction de la voie des récepteurs de mort Fas, GATA-1 est clivé et inactivé par la caspase 3. Au contraire, malgré l'activation de la caspase 3, GATA-1 n'est pas clivé dans les dernières étapes de la différenciation érythrocytaire [161]. Ce phénomène s'explique par l'interaction de GATA-1 avec la protéine Hsp70. Cette dernière est capable de fixer GATA-1

au niveau nucléaire après stimulation à l'EPO et d'empêcher son clivage par la caspase 3. Au contraire, en absence de stimulation par l'EPO, Hsp70 est transloquée dans le cytosol et permet le clivage de GATA1, l'arrêt de la différenciation et l'induction de la mort cellulaire [160]. De manière similaire, les protéines Hsp27 et Hsp90 seraient impliquées dans la différenciation des cellules de la lignée rouge, des cellules musculaires et des kératinocytes [162].

D- La voie du réticulum endoplasmique (RE)

Le RE est un organite intracellulaire dispersé dans le cytoplasme des cellules eucaryotes et formé d'un réseau membraneux de citernes et de tubules qui communiquent entre eux. Il représente à lui seul plus de la moitié des membranes cellulaires et sa taille varie d'une cellule à l'autre selon l'activité et les besoins de la cellule en protéines. La structure du RE s'établit dans la continuité de la membrane nucléaire et sa lumière constitue un environnement favorable à la synthèse, aux modifications, au repliement et à la maturation des protéines sécrétées, des protéines de la membrane plasmique et des organites intracellulaires. Au cours du processus de production des protéines natives, celles-ci vont être soumises à des contrôles de qualité stricts qui vont s'assurer du bon repliement et de la conformation correcte des protéines. Si ces contrôles sont un succès, les protéines nouvellement synthétisées pourront être transportées à leur destination finale alors que s'ils échouent, les protéines incorrectement repliées ou modifiées seront dégradées par la voie du protéasome [163]. Produites en excès, les protéines normales ou mal conformées ne pourront pas toutes être transportées ou éliminées et finiront par s'accumuler dans la lumière du RE. Les capacités du RE peuvent être dépassées lors de la synthèse brutale de protéines en grande quantité ce qui conduit à une accumulation de

protéines, notamment des immunoglobulines dans les plasmocytes au cours d'une infection virale ou de l'insuline dans les cellules β -pancréatiques lors d'une hyperglycémie. Le RE, grâce à des pompes calciques ATP-dépendantes ancrées dans sa membrane, est le principal site de réserve calcique de la cellule. Sa lumière présente un environnement oxydatif optimal à la création de ponts disulfures, notamment par la Protein Disulfide Isomerase (PDI), et à la conformation correcte des protéines [163]. Par ailleurs, la lumière du RE contient de nombreuses protéines chaperonnes et des enzymes spécialisées dans le repliement des protéines dépendantes, pour la majorité, du calcium. Parmi les protéines chaperonnes, la Binding Immunoglobulin Protein (BiP), aussi 26 connue sous le nom de Glucose Regulated Protein 78 (GRP78), la Glucose Regulated Protein 94 (GRP94), la calréticuline, la calnexine et la protéine EDEM (ER DegradationEnhancing α -Mannosidase-like lectin) stabilisent les intermédiaires incomplètement matures mais détectent également les protéines malformées et les orientent vers la dégradation [164 ;165 ;166] De nombreuses situations perturbent la maturation protéique, induisant l'accumulation de protéines mal repliées dans la lumière du RE, produisant alors une situation de stress appelée stress du RE. Ainsi les anomalies de statut redox, les troubles de l'homéostasie du calcium intra-réticulaire (causés par des inhibiteurs des ATPases calciques tels que la thapsigargine), la carence en glucose, les infections virales, la surcharge en cholestérol, les anomalies de glycosylation des protéines (induites par la tunicamycine) ou certains inhibiteurs enzymatiques interfèrent avec les processus de maturation post-traductionnelle des protéines natives et peuvent induire leur accumulation [167] .Toutes les situations conduisant à une altération de la fonction du RE empêchent la conformation correcte des protéines. Celles-ci ne peuvent plus se diriger vers l'appareil de

Golgi et elles s'accumulent dans la lumière du RE obligeant alors la cellule à déclencher une réponse adaptative appelée réponse UPR dont l'objectif est de diminuer la quantité de protéines dans la lumière du RE. La réponse UPR joue un rôle physiologique particulièrement important dans le maintien de l'homéostasie des cellules et plus particulièrement dans celles ayant une activité de synthèse protéique élevée.

La réponse UPR, lorsqu'elle est activée, a plusieurs conséquences. Elle permet d'adapter les fonctions cellulaires aux modifications de l'environnement et de rétablir une fonction normale du RE en réduisant la synthèse globale des protéines limitant ainsi l'arrivée de nouvelles protéines dans la lumière du RE, en induisant la synthèse de protéines chaperonnes impliquées dans le processus de repliement et en augmentant l'activité de dégradation protéasomale. Cependant, si ce processus adaptatif échoue et que le stress se prolonge, les voies induisant l'apoptose seront alors activées [168].

1 -La réponse Unfolded Protein Response : UPR

La réponse UPR est constituée de trois voies de signalisation impliquant trois protéines transmembranaires : IRE1 α (Inositol Requiring Enzyme 1 α), le facteur de transcription ATF6 (Activated Transcription Factor 6) et la protéine kinase PERK (Protein kinase RNA (PKR)-like Endoplasmic Reticulum Kinase). Dans des conditions physiologiques, la protéine chaperonne BiP, appartenant à la famille des protéines de choc thermique (Heat Shock Protein), est liée aux domaines luminaux de ces trois médiateurs. Lorsqu'un stress survient, BiP se lie aux protéines mal conformées qui se sont accumulées dans la lumière du RE et les dirigent vers la voie ERAD (Endoplasmic-Reticulum Associated Degradation) pour être dégradées par le protéasome. Les protéines transmembranaires ainsi libérées sont activées et entraînent l'activation de voies

de régulation traductionnelle et transcriptionnelle [169 ;170] .BiP possède une affinité plus élevée pour les protéines mal conformées que pour les trois transducteurs. Ceci fait de lui un régulateur majeur de la réponse UPR [171] .Néanmoins, des études récentes tendent à nuancer cette théorie en proposant une interaction directe entre IRE1 α et les protéines mal conformées [172.]

L'activation de la voie PERK conduit à la diminution de la traduction des ARNm. Lors d'un stress du RE, la protéine kinase PERK s'oligodimérise ce qui induit une autophosphorylation de son domaine kinase. Elle peut ainsi phosphoryler le facteur d'initiation de la traduction eIF2 α (eukaryotic Initiation Factor 2 α) et le rendre inactif. La traduction de la majeure partie des ARNm est atténuée et la synthèse globale des protéines est réduite. Certains ARNm sont, au contraire, sélectivement traduits au cours de cette réponse grâce à leurs cadres ouverts de lecture situés dans la région 5' non traduite. C'est le cas du facteur ATF4 (Activated Transcription Factor 4) qui active la transcription de gènes codant des protéines de la réponse UPR tels que BiP et GRP94 ainsi que des protéines du programme de mort cellulaire, comme CHOP (C/EBP HOMologous Protein) [173] dont les gènes cibles codent GADD34 (Growth Arrest and DNA Damage inducible protein 34) qui joue un rôle dans la régulation de l'apoptose.

L'induction de la voie IRE1 α entraîne une régulation transcriptionnelle de la réponse UPR. Après oligodimérisation et autophosphorylation, IRE1 α acquiert une activité RNase permettant l'épissage non conventionnel de 26 nucléotides de l'ARNm codant pour le facteur de transcription XBP1 (X-box Binding Protein 1) [174] .Une fois l'ARNm traduit, la protéine XBP1 est transloquée dans le noyau et se fixe sur les éléments de réponse aux stress du RE (ER stress Response Element [ERSE])

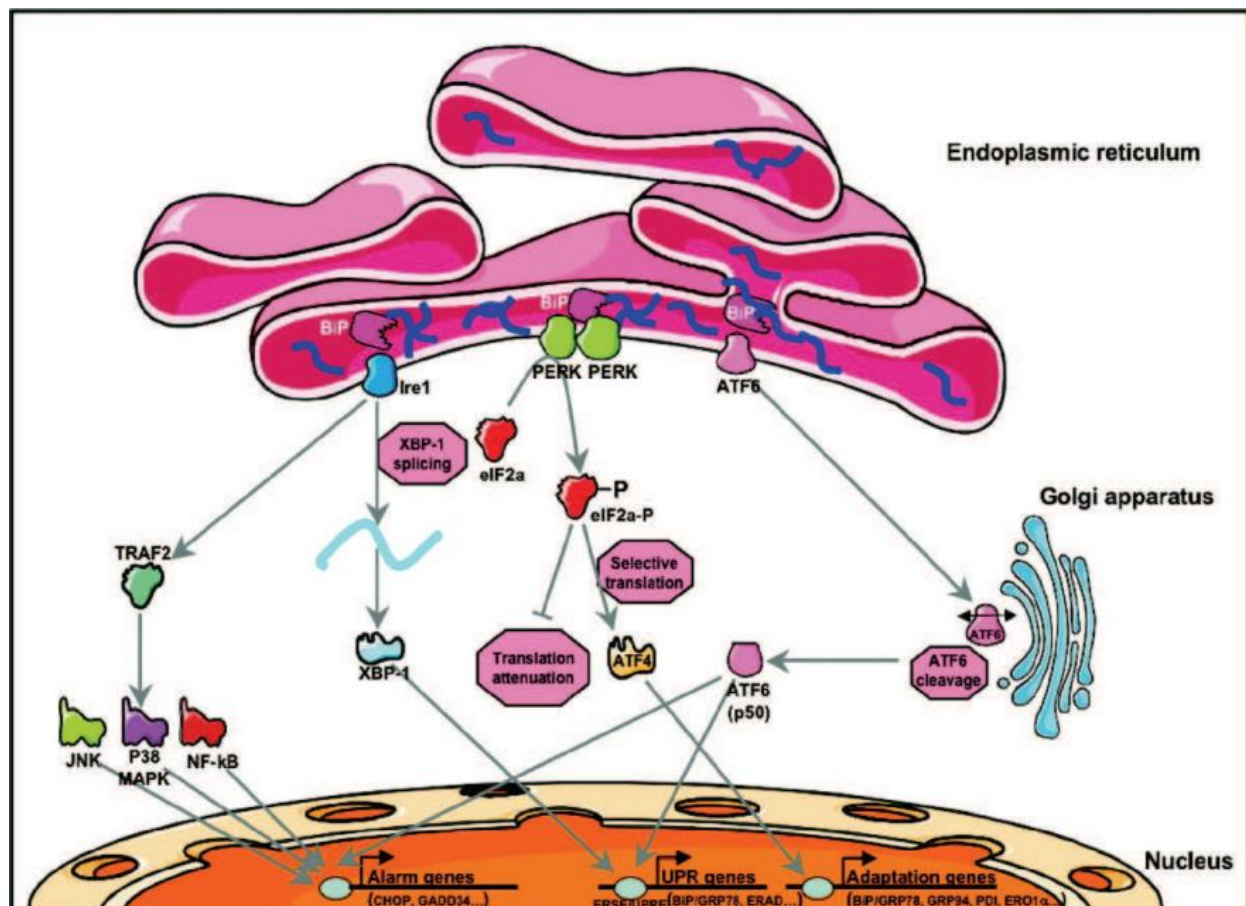


Figure 21: Représentation schématique de la réponse UPR (Unfolded Protein Response).

lors de l'accumulation de protéines mal conformées (représentées en bleu sur la figure) dans la lumière du RE, la protéine chaperonne GRP78/BiP se lie préférentiellement à ces protéines malformées et libère les facteurs transactivateurs de la réponse UPR ATF6, IRE1 α et PERK. ATF6 est un facteur transcriptionnel qui sera clivé dans l'appareil de Golgi, puis migrera dans le noyau pour transcrire les gènes codant les protéines chaperonnes comme BiP, GRP94 ou la calnexine. IRE1 α possède une activité RNase qui va permettre l'épissage de l'ARNm du facteur transcriptionnel XBP1, qui lui aussi va permettre la transcription de gènes de l'UPR. Enfin, PERK activée va phosphoryler eIF2 α qui va bloquer la traduction des ARNm, limitant ainsi la synthèse protéique globale, à l'exception du facteur transcriptionnel ATF4, impliqué également dans la transcription de gènes de l'UPR et de gènes de l'apoptose, comme CHOP. ATF6 : Activating Transcription Factor 6 ; CHOP : C/EBP Homologous Protein ; eIF2 α : eucaryotic Initiation Factor 2 α ; GRP : Glucose Regulated Protein ; IRE1 α : Inositol Requiring Enzyme 1 α ; PERK : PKR-like Endoplasmic Reticulum Kinase ; XBP-1 : X-box Binding Protein 1.[167].

induisant ainsi la transcription de gènes codant des protéines impliquées dans la réponse UPR comme BiP, GRP94, PDI et ORP150 (Oxygen Regulated Protein 150 kD) ainsi que des enzymes intervenant dans la maturation et la dégradation protéique telles que la protéine EDEM [175]. L'activation de la voie ATF6 engendre également une régulation transcriptionnelle. Lors d'un stress du RE, ATF6 quitte la membrane du RE et migre, via des vésicules, jusqu'à l'appareil de Golgi où il est clivé par les protéases S1P (site-1 protease) et S2P (site-2 protease). Ce clivage libère une portion cytosolique active de ATF6 (ATF6 p50) capable de se fixer sur les ERSE des gènes codant les chaperonnes impliquées dans la maturation des protéines [176 ;177]. Les conséquences de l'activation concomitante de ces voies à la fois cytoprotectrices et pro-apoptotiques sur la survie cellulaire vont dépendre de leurs intensités respectives, de leur durée mais également du type cellulaire dans lequel survient la réponse UPR.

2- Stress du RE et apoptose

L'activation du stress du RE permet le maintien de l'homéostasie cellulaire mais lorsque le stress est intense et prolongé, la réponse UPR induit un programme de mort cellulaire par apoptose. Les signaux apoptotiques sont initiés dans le RE par différents mécanismes. La voie apoptotique la plus décrite lors d'un stress du RE est celle impliquant le facteur de transcription CHOP, également appelé GADD153 (Growth Arrest and DNA Damage inducible protein 153), qui est régulé par les facteurs ATF4 et probablement ATF6 [178] et XBP1 [179]. Il a été montré, dans des modèles murins, que la délétion du gène Chop protège partiellement de la mort cellulaire médiée par un stress du RE, de la toxicité rénale induite par des inducteurs pharmacologiques du stress

du RE et de l'apoptose des cellules neuronales induite par l'ischémie [180]. CHOP peut induire ses effets pro-apoptotiques en activant la transcription de gènes codant des protéines régulant positivement l'apoptose, tels que DR5 (Death Receptor 5), Bim et TRB3 (Tribbles-Related Protein 3) [181 ;182 ;184], ou en réprimant la transcription de gènes protecteurs. L'activation de l'apoptose peut également être dépendante de la voie IRE1 α . Le domaine cytosolique de IRE1 α interagit avec la protéine 29 adaptatrice TRAF2 (TNF Receptor-Associated Factor 2). Cette association permet le recrutement de ASK1 (Apoptosis Signal-regulating Kinase 1) puis l'activation de JNK [183]. JNK induit l'apoptose en activant les protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2 (B-cell lymphoma-2), telles que Bim, et en inhibant les protéines antiapoptotiques comme Bcl-2 [185]. JNK induit également le relargage du cytochrome c qui permet l'activation de la cascade apoptotique initiée par la caspase 9 [185 ;186]. Dans des conditions physiologiques, l'apoptose induite par le stress du RE a un rôle bénéfique car elle pourrait éliminer les dernières cellules endommagées qui, malgré l'action de la réponse UPR, n'ont pas pu retrouver une fonction normale. L'apoptose peut également servir de mécanisme de défense contre les agents infectieux tels que *Mycobacterium tuberculosis*. Cependant, si l'apoptose induite par le stress du RE persiste, elle peut devenir pathologique.

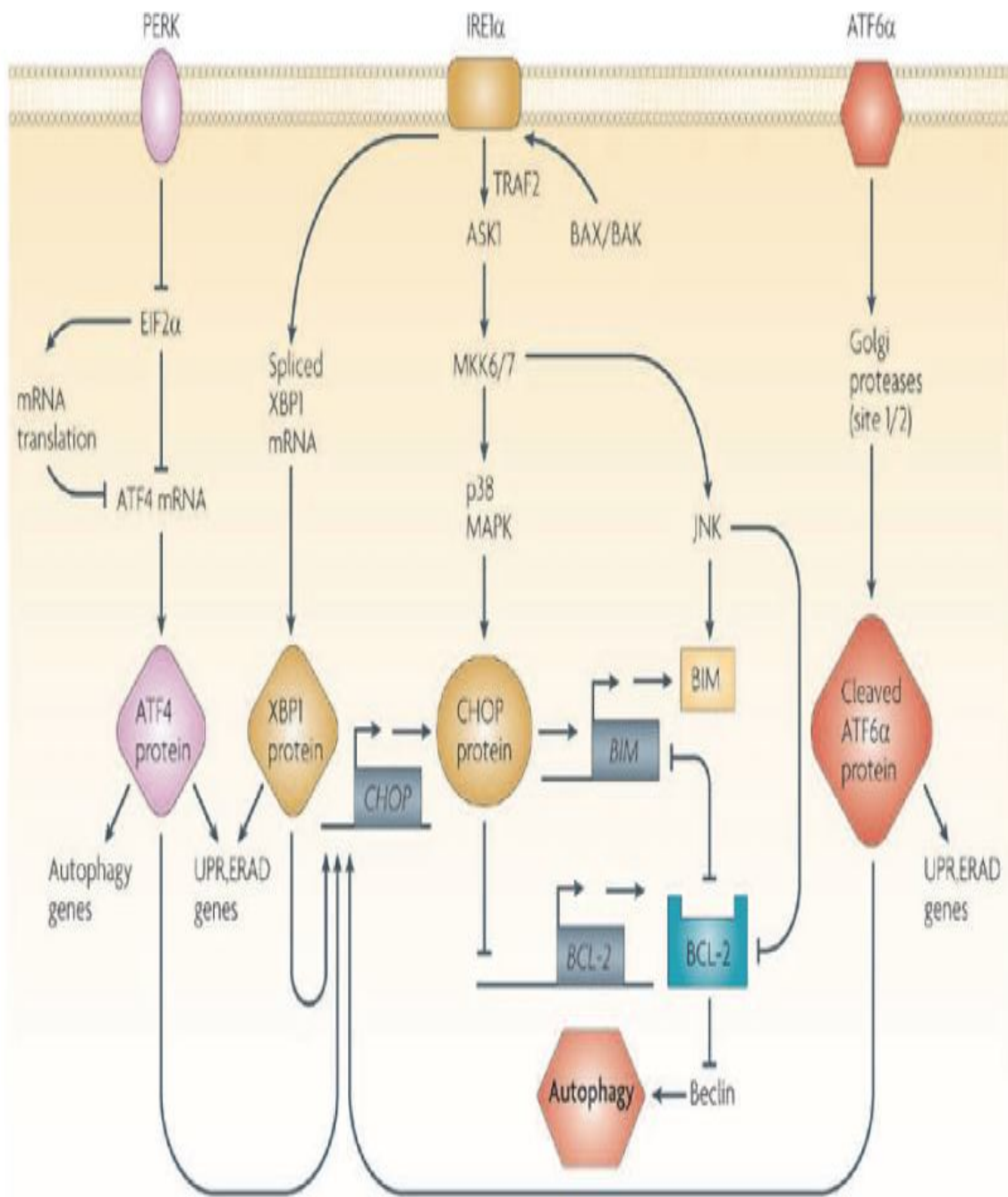


Figure 22 : Relations entre la réponse UPR et les voies de mort cellulaire. [278]..

7- Apoptose chez les organismes unicellulaire

Longtemps, l'apoptose a été considérée comme étant l'apanage des organismes pluricellulaires, mais la démonstration de son existence chez les unicellulaires et en particulier les protozoaires, a été faite au cours de la dernière décennie [19]. Si l'apoptose joue un rôle primordial dans le développement et la croissance chez les pluricellulaires, elle apparaît tout aussi importante chez les unicellulaires [189 ; 190]. En effet, ces derniers doivent contrôler l'immunité induite par leur présence chez l'organisme hôte afin de survivre. Pour ce faire, deux possibilités s'offrent à eux. La première consiste à influencer sur les cellules de l'immunité de son hôte et la seconde, vise à réguler sa propre croissance [188; 19].

De ce fait, la modulation de l'apoptose apparaît comme une arme importante chez les protozoaires parasites de l'homme. *Cryptosporidium parvum*, *Microsporidium nosema* ; *Leishmania spp*, *Trypanosoma cruzi*, *Theileria spp*, *Toxoplasma gondii* et *Plasmodium spp* : ont tous démontré leur capacité d'inhiber la réponse apoptotique de leur cellule hôte [191 ;192] . Différents mécanismes d'induction de l'apoptose sont utilisés par les protozoaires. Par exemple, *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi* et *Plasmodium spp* utilisent aussi bien la voie extrinsèque (par l'intermédiaire des lymphocytes – T cytotoxique pour CTL) que la voie intrinsèque (par le biais des activateurs de cellules de mort pour AICD) [193] .

La machinerie de mort cellulaire chez les eucaryotes unicellulaires semble être similaire à celle des métazoaires mais moins complexe et plus ancienne. Chez les métazoaires, il existe deux voies principales d'apoptose dépendantes

des caspases: la voie extrinsèque via les récepteurs de mort et la voie intrinsèque via les mitochondries. Il existe également une voie indépendante des caspases dont les principaux acteurs sont l'AIF et l'endonucléase G. Chez les eucaryotes unicellulaires, des gènes codant des homologues de protéines de métazoaires impliquées dans ces différentes voies ont été identifiés . Néanmoins, tout reste à découvrir concernant la transduction du signal de mort et la réalisation du programme de mort aboutissant au « suicide » de ces organismes. Parmi ces protéines homologues, citons tout d'abord les récepteurs « Fas-like », qui ont été identifiés à la surface de quelques espèces de ciliés tel que *Tetrahymena thermophila* [194 ;195].Cependant, la majorité des eucaryotes unicellulaires ne présentent pas de récepteurs spécialisés capables de percevoir un signal suicidaire. En revanche, ce signal semble être exécuté par des protéines sensibles aux changements physico-chimiques de l'environnement. Elles sont localisées dans la membrane plasmique et seraient capables de déclencher les voies de signalisation activées par le stress ou des agents toxiques via un changement de l'homéostasie du Ca^{2+} et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO).

En d'autres termes, ces protéines transformeraient un signal suicidaire extracellulaire en signal intracellulaire qui conduirait à l'induction de l'apoptose . Il a été montré que chez les eucaryotes unicellulaires comme d'ailleurs chez les organismes multicellulaires, une augmentation de la concentration en Ca^{2+} intracellulaire et des ERO peut déclencher une apoptose dépendante de la mitochondrie avec libération de facteur pro-apoptotiques [196 ;197 ;198 ;199].

Citons également les protéines à activité caspase ou les caspases-like présentes chez de nombreux eucaryotes unicellulaires et qui semblent avoir la même fonction que les caspases dans l'apoptose.. Par exemple chez *Leishmania*

donovani [200] ont mis en évidence la présence d'une caspase-3 like (métacaspase). Il s'est avéré que l'augmentation de l'activité de cette protéase était accompagnée d'une libération par la mitochondrie (les kinetoplastides possèdent une seule mitochondrie) de cytochrome c et de l'activation de nucléases nucléaires aboutissant à la dégradation de l'ADN. Ces protéases caspase-like feront l'objet d'une description plus approfondie ci-dessous. Enfin, nous pouvons citer, l'AIF et l'endonucléase G. En effet, des homologues de l'AIF ont été identifiés chez *S. cerevisiae* et *S. pombe* [201] ainsi que chez *D. discoideum* (Arnoult et al., 2001) tandis que des homologues de l'endonucléase G ont été identifiés chez *S. cerevisiae* [202],

Leishmania infantum et *T. brucei* [205]. Ces protéines auraient les mêmes fonctions que celles de leurs homologues mammaliens. Notons également la présence chez *S. cerevisiae*, d'un homologue de HtrA2/omi [203].

Une mort par autophagie a également été observée chez plusieurs eucaryotes unicellulaires. En effet, suite à différents traitements, les caractéristiques morphologiques de cette apoptose, notamment la présence de vacuoles autophagiques, ont été observées chez *S. cerevisiae* [204].

Chez *D. discoideum* [206] *T. thermophila* [207] *L. donovani* [208] *Acanthamoeba castellanii* [209] *T. cruzi* [210] et *Blastocystis hominis* [211] Les gènes ATG sont les principaux acteurs de l'autophagie et donc de la mort cellulaire autophagique. Chez les eucaryotes unicellulaires, des homologues de ces gènes ont été découverts. Chez la levure *S. cerevisiae*, 30 gènes ATG ont été identifiés comme étant impliqués dans l'autophagie [212] Un seul gène, TbATG8, a été identifié chez *T. brucei* [213] . cet apoptose a été jugée comme jouant un rôle important dans la prolifération et la différenciation des protozoaires *Entamoeba invadens* [215] et *Acanthamoeba* [214].

7-1- Métacaspases dans l'apoptose des eucaryotes unicellulaires

Les métacaspases (MCAs) ou caspases-like constituent une nouvelle famille de protéines homologues aux caspases, récemment identifiées par Uren et al. (2000). Elles ont été identifiées chez les plantes, champignons et protozoaires. Les MCAs sont des cystéine peptidases appartenant à la famille C14 du clan CD qui inclue les caspases (chez les métazoaires) et les paracaspases (chez les métazoaires et *Dictyostelium discoideum*) [217]. Les MCAs possèdent la dyade histidine-cystéine caractéristique du domaine catalytique des caspases, mais cependant elles ont une similarité de séquence faible avec celles des caspases. Les MCAs de levures et de quelques plantes contiennent une région riche en proline à leur extrémité amino-terminale. Les MCAs de plantes peuvent être séparées en deux sous-groupes « type I » ou « type II » selon la présence d'une extension amino-terminale ou d'une insertion entre les sous unités putatives p20 et p10 [216] .

Chez les eucaryotes pluricellulaires, comme décrit précédemment, les caspases jouent un rôle central dans les mécanismes moléculaires de l'apoptose et sont responsables de nombreux changements biochimiques et morphologiques qui l'accompagnent. Pourtant aucun gène codant des caspases n'a pu être identifié chez les plantes, champignons et protozoaires parasites. Or, puisque des caractéristiques morphologiques semblables à l'apoptose ont été décrites lors de la mort cellulaire de plusieurs organismes unicellulaires et certaines plantes, il est probable que les MCAs puissent jouer un rôle similaire à celui des caspases chez ces organismes.

D'ailleurs il a été montré récemment que les MCAs de *S. cerevisiae* nommée YCA1 [218] du champignon *Podospora anserina* nommées PaMCA1 et PaMCA2 (Hamann et al., 2007), de la plante *Norway. spruce* nommée mcII-Pa [219] et de *L. donovani* nommée LdMC [220], seraient impliquées directement dans la MCP de ces organismes.

En utilisant un système hétérologue en levure, il a été montré que les MCAs AtMCP1b, AtMCP2b et AtMC8 de la plante *A. thaliana* [221 ;222], que la MCA LmjMCA de *L. major* (Gonzalez et al., 2007) et que la MCA TbMCA4 de *T. brucei* [223] sont impliquées dans l'apoptose puisque'ils sont capables d'induire la mort de *Saccharomyces* par complémentation. Plusieurs de ces MCAs s'auto-cliveraient pour être activées tout comme les caspases [223 ;225]. Cependant, elles n'ont pas la même spécificité enzymatique que les caspases. En effet, ces protéases sont incapables de couper des substrats spécifiques de caspases (acide aspartique en position P1) mais en revanche elles présentent une forte activité enzymatique avec des substrats contenant une arginine ou une lysine en position P1 [225]. De plus, l'activité enzymatique de ces protéines n'est pas modifiée en présence d'inhibiteurs spécifiques de caspases, incluant le Z-VAD-fmk. Par contre ces protéases sont hautement sensibles aux inhibiteurs de protéases arginine ou lysine spécifique telles que la leupeptine et l'antipaine. .

8. Marqueurs apoptotiques

8-1. Les modifications morphologiques, biochimiques et moléculaires de l'apoptose.

A- Modifications Morphologiques :

L'une des premières altérations subies par la cellule est la déshydratation. La perte de l'eau intracellulaire conduit à la condensation du cytoplasme. Les cellules, originellement rondes, peuvent s'allonger ou prendre une forme irrégulière, et diminuent de taille. Un changement caractéristique de l'apoptose est la condensation de la chromatine nucléaire. La membrane nucléaire se désintègre ensuite, les protéines lamines (protéines de la membrane nucléaire) sont dégradées et le noyau se fragmente (caryorrhexis). Les fragments nucléaires sont dispersés dans tout le cytoplasme puis "empaquetés" avec du cytoplasme dans des fragments de membrane cytoplasmique en formant ainsi des corps apoptotiques. Ceux-ci vont se détacher peu à peu : la cellule "bourgeonne" .

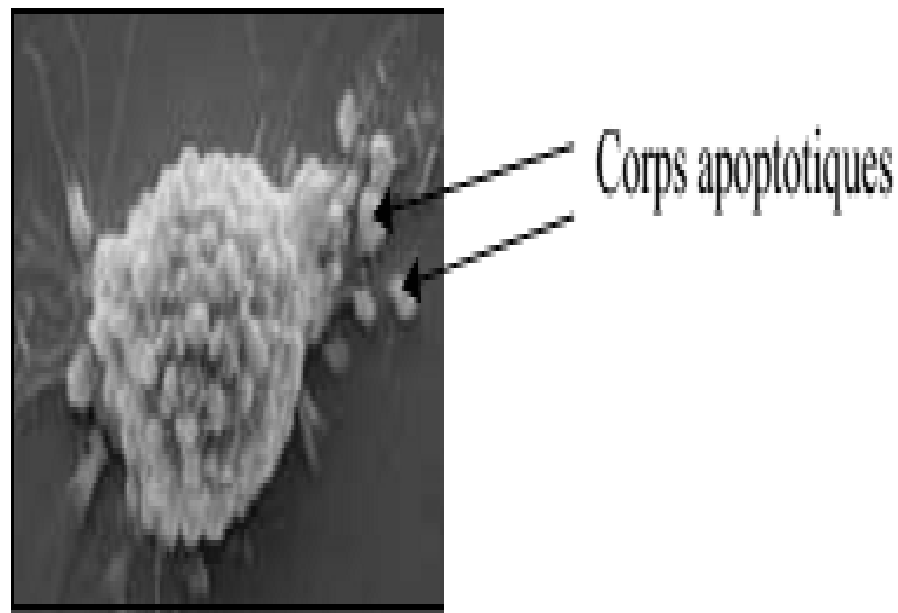


Figure 23: Cellules Hela induite en apoptose par $\text{TNF}\alpha$

La perte des structures de surface telles que les pseudopodes et les microvillosités (microtubules) est aussi caractéristique de l'apoptose. [226] .

B- Modifications biochimiques et moléculaires :

Une importante modification est le changement de ratio entre les protéines inhibitrices (Bcl-2, Bcl-xL...) et promotrices (Bax, Bik, Bad...) de l'apoptose, de la famille Bcl-2 [228 ;227]. De plus, la perte de potentiel mitochondrial transmembranaire observée tôt lors de l'apoptose, l'apparition d'intermédiaires réactifs oxydants (ROI : Reactive Oxydative Intermediates) et la libération du cytochrome-c par la mitochondrie et de calcium Ca^{2+} (augmentation de la concentration intracellulaire de cet ion) semblent être des conséquences de l'ouverture de pores dans la membrane mitochondriale. L'intégrité structurale et la plupart des fonctions de transport de la membrane plasmique sont conservées

au moins durant la phase initiale de l'apoptose. Cependant, la perméabilité de la membrane plasmique à certains fluorochromes tels que la 7-aminoactinomycine-D ou Hoechst 33342, est augmentée [229 ;230.]L'un des changements caractéristiques de la membrane plasmique est la perte de l'asymétrie phospholipidique conduisant à l'exposition de phosphatidylsérine sur la face externe . Cette modification survient tôt lors de l'apoptose, qu'elle soit médiée par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire (voie des récepteurs de mort cellulaire), ou des agents génotoxiques déclenchant la mort cellulaire via des dommages de l'ADN (voie mitochondriale).

L'activation en cascade de sérine protéases et de caspases (= cystéine protéases) conduit à la dégradation de certaines protéines appelées "substrats de mort" (Poly-ADP-ribose-polymérase (PARP), lamines, actine...). La cellule peut ainsi perdre ses microvillosités du fait de la dégradation de la F-actine [Endersen et al. 1995].

L'activation d'endonucléases est également une caractéristique de l'apoptose. Initialement, l'ADN est clivé au niveau des sites d'attachement des boucles de chromatine à la matrice nucléaire (fragments de 50 à 300 kpb). Puis, l'ADN est préférentiellement clivé au niveau des nucléosomes [231].

8-2- les techniques de la mise en évidence et de la quantification de l'apoptose

La détection qualitative ou quantitative des modifications cellulaires (morphologiques et biochimiques) repose sur certaines caractéristiques des cellules apoptotiques [232].Elles peuvent s'observer en utilisant la microscopie à fluorescence. La mise en évidence du potentiel mitochondrial se fait à l'aide d'un fluorochrome cationique de la famille des carbocyanines, le JC-1 (5,5',6,

6'-tetrachloro-1,1',3, 3' tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide ; Mitochondrial Membrane Potential Detection Kit), dont la fluorescence varie en fonction de sa concentration. Une perte de potentiel de la mitochondrie va entraîner une diminution de la concentration du JC-1. Ce marqueur fluoresce en vert à de faibles concentrations (absorption à 510 nm et d'émission à 520 nm) et dans le rouge (585 nm et 585 nm) à de plus fortes concentrations. La perte de la fluorescence orange-rouge indique la dépolarisation d'une région à haut potentiel négatif telle que la membrane mitochondriale [233].

Pour observer la fragmentation internucléosomale de l'ADN, on applique la méthode TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labelling) ; une enzyme, la TdT, catalyse l'addition de nucléotides marqués (FITC) à l'extrémité 3'OH des fragments d'ADN produits au cours du processus d'apoptose. Le principe de ce test repose sur la particularité de la fragmentation de l'ADN observée au cours de l'apoptose. En effet, les endonucléases activées par des signaux pro-apoptotiques et la présence de calcium fragmentent l'ADN entre les nucléosomes produisant des bouts francs. L'enzyme Terminal deoxytransferase reconnaît spécifiquement les bouts francs et permet leur polymérisation. Ainsi, en incubant cette enzyme en présence des bases (dUTP) marquées à la fluoroscéine, les bouts francs sont mis en évidence par une fluorescence verte. [234].

Le marquage à l'annexine V-FITC et l'analyse en cytométrie permettent la mise en évidence de l'externalisation des phosphatidylsérines à la surface des cellules entrant en apoptose. L'annexine V est un anticoagulant qui en présence de calcium se fixe aux phosphatidylsérines. L'annexine V étant liée au fluorochrome FITC (Fluorescein iso thio cyanate Ex 490 nm ; Em 520 nm),

l'exposition des phosphatidylsérines est observée par lecture au microscope à fluorescence. Les cellules exposant les phosphatidylsérines apparaissent en cercle vert [235]. Quant à l'activation de protéases spécifiques, les caspases, leur mise en évidence s'effectue à l'aide du kit caspase 3 activity assay, du M30 CytoDeath, et du monoclonal anti-Parp (polyADP-ribose polymérase) 94 [236]. Le tableau ci-dessous, résume les principales techniques de mise en évidence de l'apoptose.

Marqueur	Technique	Principe	Avantages	Inconvénients
Corps apoptotiques	DIC/NIC	Représentation dynamique des cellules	Image en 3D Ajout de marqueurs auxiliaires	Echantillon transparent
	CMF	Détermination de la taille et de la granulosité des cellules	Méthode quantitative Ajout de marqueurs auxiliaires	Coûteuse
	MET	Observation de l'ultra structure des cellules	Bonne résolution (0.1nm)	Equipement coûteux Préparation des cellules délicate
	Marqueurs en phase liquide	Marquage du milieu extérieur internalisé lors de la pinocytose	Distinction apoptose et nécrose primaire	
Externalisation des PS	CMF	Double marquage AnV/IP	Méthode quantitative Distinction apoptose-nécrose secondaire et nécrose primaire	Technique <i>in vitro</i>
	Tomographie	Technique d'imagerie	Marquage en temps réel Technique <i>in vivo</i>	
Fragmentation de l'ADN	Gel d'agarose Champ pulsé	Electrophorèse	Réalisation facile	Peu sensible
	TUNEL	Marquage des exterminés 3'	Sensible, quantitative	Faux positif (ADN en réparation)
Activation des caspases	Substrats fluorogéniques	Emission de fluorescence après clivage	Quantifiable	Substrat parfois peu spécifique
	Western Blot	Marquage du domaine actif p20 Marquage du pro domaine p10		
MMP	Western Blot	Libération du cytochrome c Translocation tBid		
	JC1	Mesure du $\Delta\psi_m$	Quantifiable	

Tableau5 :les principales techniques pour la mise en evidence de l'apoptose [237]



Apoptose et paludisme

III-APOPTOSE ET PALUDISME

Malgré les efforts entrepris par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'éradication du paludisme dans le monde, cette maladie parasitaire demeure toujours la plus importante et la plus répandue des maladies transmissibles dans les pays tropicaux et subtropicaux en voie de développement avec 2 à 3 milliards d'individus exposés (soit 34 à 40% de la population mondiale). Constituant un frein au développement socio-économique, le paludisme représente une cause majeure de morbidité et de mortalité entraînant chaque année selon les estimations, 300 à 660 millions de cas et 1,5 à 2,7 millions de décès (dont 90% surviennent en Afrique subsaharienne) [Totino et al. 2009 ; Hay et al 2009 ; WHO 2006 ; Snow et al. 2005]. Les enfants en bas âge sont les plus touchés avec un décès toutes les 30 secondes, 150 à 300 décès par heure et 3000 décès déplorés chaque jour [Bremam 2009 ; Greenwood et al 2005]. Les enfants de moins de 5 ans, les femmes enceintes (particulièrement les primipares) et les personnes âgées constituent les personnes à risque pour le paludisme [Rosenthal 2008; Greenwood et al. 2005]. Le paludisme représente aussi un sérieux risque pour la santé des voyageurs non - immuns venant des pays industrialisés qui visitent les zones d'endémie palustre [Marangi et al 2009; Sicard S et al. 2009; de Gentile, 2008].

A-Données épidémiologiques du paludisme

1- L'agent pathogène et répartition géographique

Le paludisme ou « malaria » est une maladie parasitaire causée par un hématozoaire appartenant au genre *Plasmodium*, transmise à l'homme essentiellement par des moustiques femelles du genre *Anopheles*. Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium* inféodés à diverses espèces animales mais seulement 4 espèces sont responsables du paludisme humain. Il s'agit de *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) ; *Plasmodium malariae* (*P. malariae*) ; *Plasmodium ovale* (*P. ovale*) et *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) qui diffèrent entre elles par des critères biologiques, cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques. Récemment, *Plasmodium knowlesi*, généralement retrouvé dans la nature chez les singes macaques, a été identifié comme étant la cinquième espèce de *Plasmodium* causant le paludisme dans les populations humaines en Asie du Sud-Est [238]. Quatre-vingt-quinze pourcent (95%) des cas de paludisme recensés à travers le monde sont assurés par *P. falciparum* et *P. vivax*. Les infections à *P. falciparum* sont très répandues dans les grandes régions de l'Afrique subsaharienne et dans les pays d'Asie de l'Est. Près de 60% des accès palustres dans le monde sont dus à *P. falciparum* [239]. *P. vivax* et *P. ovale*, quant à elles, sont responsables des rechutes tardives plusieurs mois et/ou années après l'épisode initial de la maladie. De ces 5 espèces, *P. falciparum* est l'agent causal des formes cliniques potentiellement mortelles du paludisme. C'est la forme qui présente une résistance clinique à la plupart des antipaludiques disponibles sur le marché [240]. De plus en plus, *P. vivax* est impliqué dans des cas de paludisme grave et de chimiorésistance. Bien qu'une similitude élevée soit retrouvée entre les gènes fonctionnels de *P. falciparum* et de *P. vivax*, il existe cependant, plusieurs traits caractéristiques distincts entre ces deux parasites [240].

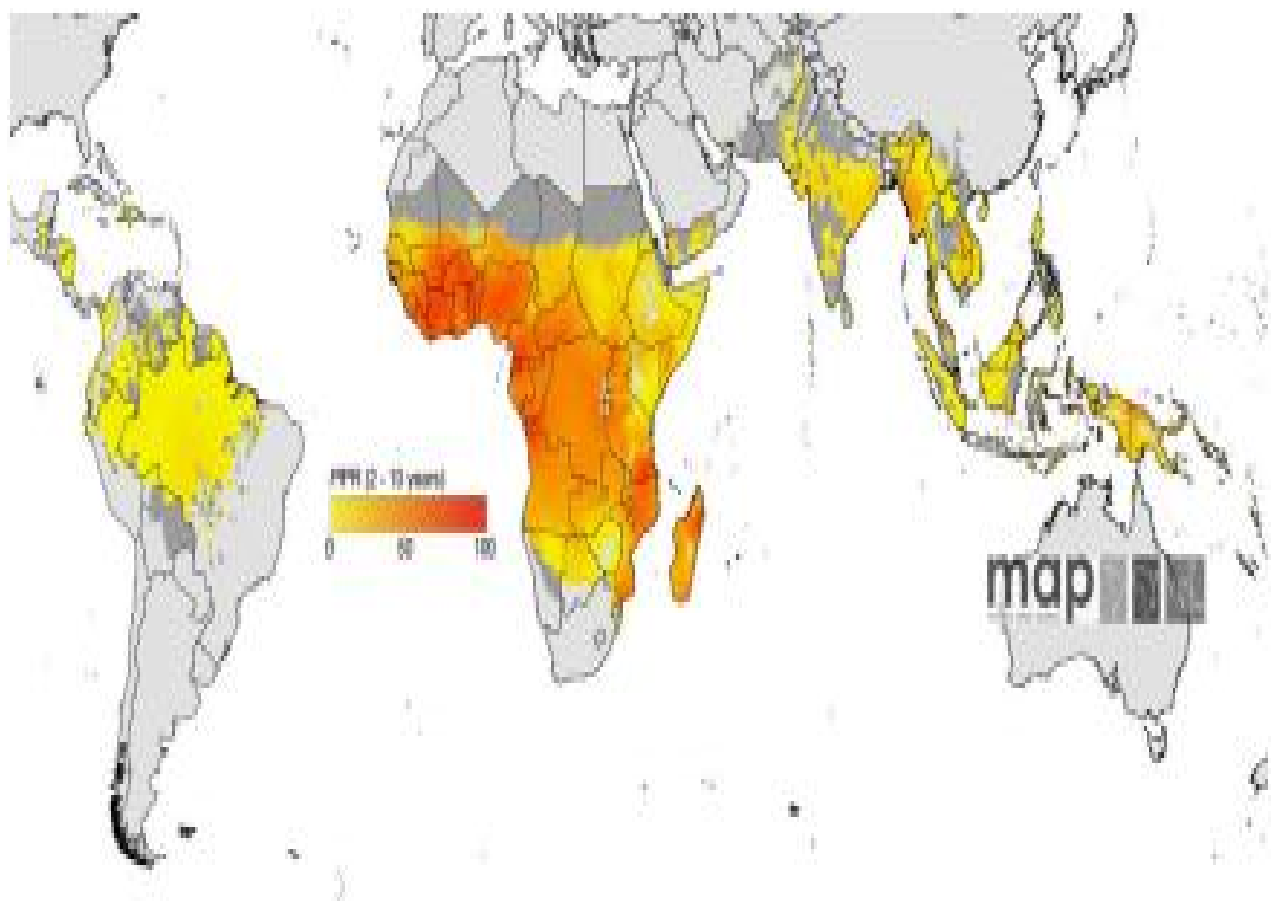


Figure 24 : Distribution spatiale du paludisme à *Plasmodium falciparum* [239]

Le contrôle de ce fléau mondial qu'est le paludisme, se heurte à la résistance du parasite à la plupart des antipaludiques disponibles sur le marché d'une part, et du vecteur (anophèles femelle) aux insecticides d'autre part .

Cette résistance des anophèles aux insecticides a profondément perturbé les programmes nationaux et régionaux de lutte antivectorielle. En outre, l'augmentation de la résistance des souches de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine (CQ) et à la sulfadoxine – pyriméthamine (SP) en Asie, Afrique et

Amérique du Sud a emmené des problèmes dans la prise en charge des cas cliniques de paludisme dans de nombreux pays [241]. L'apparition et la propagation des souches résistantes de *Plasmodium* aux principaux antipaludiques a pour conséquence l'augmentation notable de la morbidité et de la mortalité palustre incluant les anémies sévères, faibles poids à la naissance, accroissement du portage des gamétocytes, modification de la distribution avec un impact économique important [242], requérant la recherche de nouvelles approches préventives et thérapeutique.

La répartition du paludisme dans le monde dépend en partie de la compétence vectorielle et de la capacité vectorielle. Ainsi donc, le développement des 5 espèces de *Plasmodium* inféodées à l'homme est possible partout où il y a des vecteurs compétents et où les conditions climatiques permettent l'accomplissement de leur cycle sporogonique [239]. Cependant, il est à noter que *P. vivax* ne peut se développer qu'en présence de l'antigène globulaire Duffy. L'invasion de l'hématie nécessite la présence du récepteur de l'antigène Duffy [243]. C'est la raison pour laquelle les sujets mélando-africains sont naturellement réfractaires à *P. vivax*, car ils en sont dépourvus.

Selon l'OMS, le paludisme était endémique dans 109 pays dont 45 dans la seule région Africaine en 2008. La répartition géographique de l'épidémiologie du paludisme est très hétérogène et extrêmement variable d'un continent à l'autre, d'un pays à l'autre, mais également au sein d'un même pays. Cette répartition géographique est fortement influencée par la distribution des anophèles vecteurs, la capacité vectorielle, les caractéristiques biologiques des différentes espèces de *Plasmodium*, les conditions climatiques etc. Il n'y a pas de transmission dans les zones tempérées et au-dessus de 2500 mètres d'altitude.

Ainsi, les zones tropicale et subtropicale sont plus favorables au développement du parasite contrairement à la zone tempérée où le paludisme est éradiqué. Cependant, avec le réchauffement climatique, des cas de paludisme autochtones ont été évoqués en Europe .Donc, il est légitime de s'attendre à un allongement de la durée de transmission et une modification des aires de distribution du parasite et des vecteurs .

2-Vecteur

Le vecteur du paludisme humain est l'anophèle femelle, moustique appartenant à l'ordre des Diptères, à la famille des Culicidae, à la sous famille des Anophelinae et au genre Anopheles. Du grec « anôphelès », signifie « inutile » par la combinaison du « an » traduisant le privatif et de « ôphelès » qui signifie « utile ».

La transmission de la maladie à l'homme se fait principalement par la piqûre infestante du moustique pendant son repas sanguin, et seule la femelle est hématophage. L'essentiel des piqûres ont lieu à partir du coucher du soleil avec un maximum d'activité entre 23 heures et 6 heures [244].

Dans la littérature, environ 500 à 600 espèces d'anophèles sont décrites, mais seules soixante - dix à quatre-vingt (10%) d'entre elles sont vectrices de parasites (dont Plasmodium) à l'homme .

Les principaux vecteurs du paludisme sont, pour l'Afrique : *Anopheles gambiae* ss., *An. arabiensis*, *An. funestus*, *An. nili* et *An. moucheti*. D'autres tels que : *An. melas*, *An. merus*, *An. paludis*, *An. pharoensis*, *An. hancocki* sont des vecteurs d'importance locale, dits "secondaires" (pour l'Afrique centrale). Pour la zone américaine : *An. darlingi*, *An. albimanus*, *An. pseudopunctipennis*, *An.*

quadrimaculatus .Chacune de ces espèces a des exigences écologiques particulières. Par exemple, *A. gambiae* se développe plutôt dans de petites collections d'eaux claires, ensoleillées et sans végétation tandis qu'*An. arabiensis*, colonise les environnements plus secs jusqu'en bordure du Sahara. Quant aux autres espèces, *An. funestus* peuple les marais à végétation dressée ; *An. nili* se développe sur les bords des rivières à courant rapide et *An. moucheti* se développe dans les fleuves à courant lent, dans le bloc forestier d'Afrique centrale. D'autres espèces telles que *An. melas* et *An. merus*, se développent dans les eaux saumâtres des zones côtières .Au Malawi, des observations cytogénétiques et moléculaires ont permis la mise en évidence d'une nouvelle sous – espèce d'*Anopheles giles*, un des vecteurs majeurs de paludisme en Afrique, provisoirement nommé *funestus-like* .

Le développement, la longévité et la distribution des anophèles dépendent du climat et de la température avec un optimum entre 20 et 30°C pour une durée de vie de l'ordre de 30 jours . Les femelles s'accouplent généralement une seule fois au cours de leur vie au contraire des mâles et conservent le sperme dans des spermathèques tout au long de leur vie pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Pour cela, elles ont besoin d'un repas sanguin (prélevé chez l'homme et certains mammifères) tous les 2 à 3 jours pour la maturation des œufs et la ponte (cycle gonotrophique). Hormis ce besoin, les moustiques adultes (mâles et femelles) se nourrissent principalement de nectar. La recherche de l'hôte se fait à distance en remontant les émissions de gaz carboniques (CO₂), puis à proximité en fonction des odeurs corporelles. Elles représentent un hôte définitif pour les parasites du genre *Plasmodium* tandis que l'homme constitue l'hôte intermédiaire [245].

Au Maroc, L'anophèle *A.maculipennis labranchiae* est le principal vecteur incriminé dans la transmission du paludisme .C'est un moustique très ubiquiste qu'on retrouve sur les plaines maritimes méditerranéennes et atlantiques, jusqu'au sud d'Agadir. Son aire de distribution continentale recouvre pratiquement tout le territoire, englobant les chaînes de montagnes du Rif et du Moyen Atlas. Sa limite sud pourrait être représentée par le versant nord du Haut Atlas.Sa limite sud pourrait être représentée par le versant nord du Haut Atlas. Il constitue l'espèce dominante dans le nord-ouest du pays et représente le seul peuplement anophélien dans la plaine du Rharb.

A.sergenti est considéré comme vecteur secondaire du paludisme, responsable de la transmission dans le sud du pays. Il constitue l'essentiel du peuplement anophélien de la zone présaharienne du Maroc et remonte jusqu'aux pentes méridionales du Rif. Il existe d'autres espèces d'anophèles de moindre importance dont le rôle dans la transmission du paludisme n'a jamais été prouvé. Les épreuves de sensibilité à l'insecticide DDT pratiquées sur *A.labranchiae* au stade imago entre 1960 et 1996 avaient montré une sensibilité anophélienne normale au DDT, l'insecticide le plus utilisé dans la plupart des régions du Royaume, et une tolérance de vigueur dans quelques zones agricoles où des insecticides étaient employés d'une façon importante. Les tests de sensibilité au tétraméthos effectuels en 1994-1995 et 1996 sur les larves de *A.labranchiae* avaient révélé également une sensibilité normale.

3-Cycle biologique du plasmodium

Les plasmodies sont des parasites intracellulaires obligatoires des vertébrés transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un anophèle femelle. Le cycle biologique de transmission du Plasmodium est un processus complexe nécessitant l'interaction entre l'hôte vertébré (homme = hôte intermédiaire) hébergeant la multiplication asexuée (schizogonie), le parasite, le moustique vecteur (hôte définitif) chez lequel se déroule la reproduction sexuée (sporogonie) et un environnement propice.

Selon Robert V et al., 2002 ; on peut schématiser cette transmission en quatre phases cycliques :1) le développement du parasite chez l'homme jusqu'au stade gamétocyte qui comprend deux cycles asexués dont le premier se passe dans les cellules du foie (cycle schizogonique exo-érythrocytaire intra-hépatique) au cours duquel on n'observe pas de manifestations cliniques (phase d'incubation) et l'autre, intra-érythrocytaire (cycle schizogonique intra-érythrocytaire) correspondant à la phase de manifestations cliniques, 2) la transmission du parasite de l'homme au moustique vecteur, 3) le développement du parasite au sein du moustique vecteur (cycle sporogonique) et 4) la transmission du moustique vecteur à l'homme[246].

3.1. Cycles asexués chez l'hôte vertébré (Homme)

Encore appelé phase asexuée ou schizogonie, le cycle chez l'homme comporte deux phases : une phase tissulaire ou exo-érythrocytaire et une phase sanguine ou intra-érythrocytaire.

3.2. Phase tissulaire ou cycle exo-érythrocytaire

Pendant le repas sanguin, les moustiques du genre *Anophèle* femelles infestés inoculent à l'homme des sporozoïtes dans un capillaire sanguin par leur salive. Le nombre de sporozoïtes inoculés est estimé entre 20 et 200. Ces sporozoïtes, formes extracellulaires issus d'un processus complexe de développement chez le moustique et qui sont destinés à infecter les cellules du foie des mammifères restent environ une demi-heure dans la peau, la lymphe et le sang. Au cours de leur migration vers le foie, beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les cellules du foie. Dans les hépatocytes, les sporozoïtes se multiplient et évoluent en schizontes pré-érythrocytaires ou « corps bleus » (formes multinucléées) après 1 à 2 semaines de maturation. Ces schizontes éclatent et libèrent dans le sang des milliers de mérozoïtes variant selon l'espèce (40 000 pour *P. falciparum*, 15 000 pour *P. ovale*, 10 000 pour *P. vivax* et environ 2 000 pour *P. malariae*) qui initieront la phase érythrocytaire. Il faut noter que la schizogonie hépatique est unique dans le cycle du fait que les hépatocytes ne peuvent être infectés que par des sporozoïtes. A l'image d'autres stades invasifs des Apicomplexa, les sporozoïtes pénètrent activement dans les cellules hôtes. Des expériences indiquent que les sporozoïtes passent d'abord par plusieurs cellules de l'hôte et hépatocytes avant leur développement] L'invasion des hépatocytes se fait soit à travers la membrane plasmique ou soit par la formation d'une vacuole essentielle à sa différenciation. Des travaux scientifiques montrent que cette invasion des hépatocytes par des sporozoïtes est médiée par l'interaction entre la « Circumsporozoïte Protein » pour CSP (protéine majeure exprimée à la surface des sporozoïtes) ; la « Thrombospondin – Related Anonymous Protein » pour

TRAP ; exprimée également à la surface des sporozoïtes ; les CD81 (tétraspanine) ; cell-traversal protein for ookinetes and sporozoites (CelTOS), et les glycosaminoglycanes (GAG) des sinusoides hépatiques [247] .Siau et al ont montré in vitro qu'un changement de température est nécessaire à l'infectiosité des hépatocytes par les sporozoïtes [248]. De ces expériences, on peut émettre l'hypothèse que l'infectiosité des hépatocytes est favorisée entre autre, par le changement de température de l'anophèle femelle (<37°C dans les glandes salivaires) à l'hôte vertébré (37°C). Au cours de la phase hépatique, certains parasites restent quiescents dans les hépatocytes, sans se transformer en corps bleu donnant ainsi naissance à des hypnozoïtes responsables des accès de reviviscence tardifs à distance de la piqûre initiale observés dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale* . Contrairement à *P. ovale* et *P. vivax*, *P. falciparum* et *P. malariae* ne possèdent pas de formes de persistance hépatique (hypnozoïtes), l'évolution se faisant d'un seul tenant. Cette phase de multiplication est asymptomatique (période d'incubation) et dure de 8 à 15 jours selon les espèces.

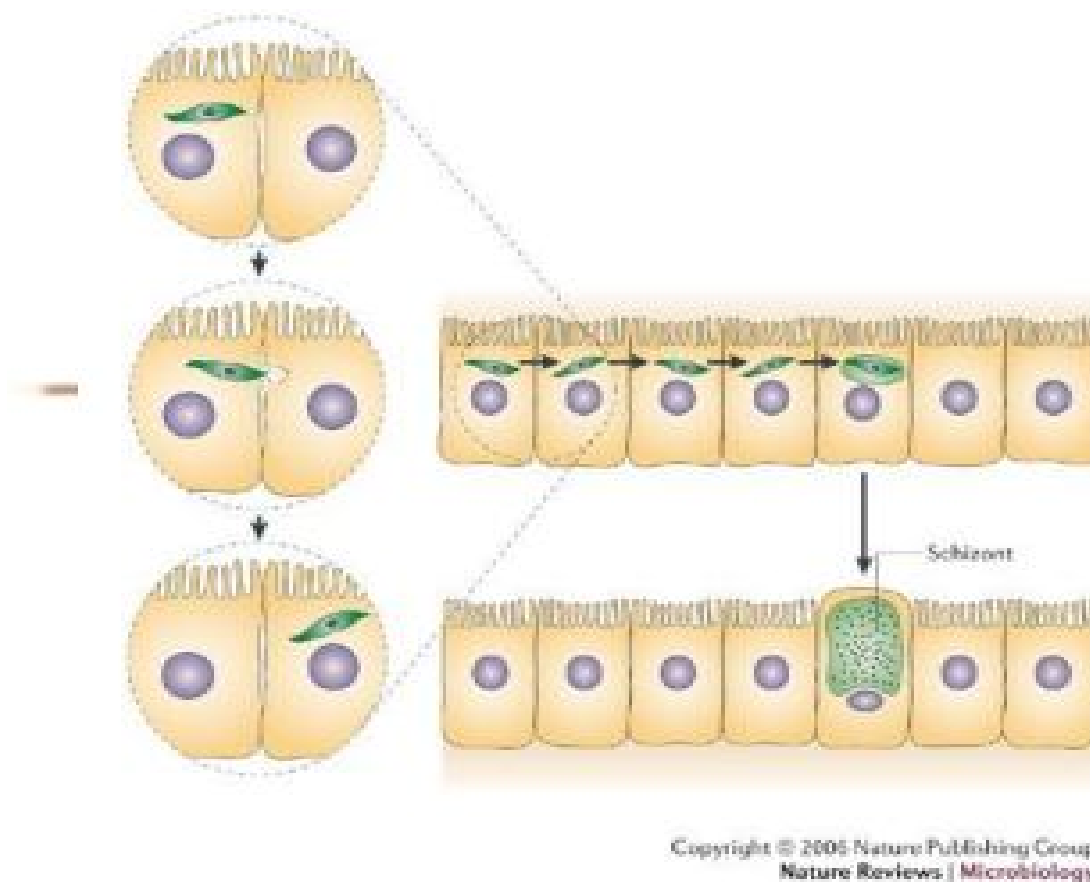


Figure 25 : Développement des schizontes hépatiques de *P. falciparum* [249] .

3.3. Phase sanguine ou cycle asexué intra-érythrocytaire

La phase érythrocytaire est initiée par l'invasion aléatoire des hématies saines par des mérozoïtes (formes extracellulaires du parasite) libérés suite à la rupture des schizontes hépatiques. C'est un processus complexe faisant intervenir de multiples interactions entre ligands et récepteurs. L'invasion des hématies qui se fait grâce à un processus parasitaire actif (endocytose) ; dure environ 30 secondes et se passe en cinq phases :

a) – la phase de contact entre le manteau glycoprotéique du mérozoïte (Merozoite Surface Protein 1 pour MSP1) et la surface de l'hématie ;

b)- une phase de réorientation de la région apicale du mérozoïte au contact de la membrane de l'hématie ;

c)- libération d'une sérine protéase « merozoite surface sheddase » suivie de l'amorce de l'invagination de l'hématie;

d)- invagination avec détachement progressif du manteau glycoprotéique

e)- endocytose avec formation de la vacuole parasitophore .Au sein de la vacuole parasitophore, le parasite se différencie en trophozoïte jeune, puis en trophozoïte âgé, stade à partir duquel une intense phase répllicative de l'ADN commence. Il donne alors naissance au schizonte érythrocytaire, ce dernier après segmentation montre une forme caractéristique de rosace, puis libère des mérozoïtes au nombre de 16 à 32 pour *P. falciparum* ; 16 à 20 *P. vivax* ; 8 à 16 pour *P. ovale* et 6 à 12 pour *P. malariae*) qui rapidement réinfectent de nouvelles hématies saines . Spécifiquement l'infection de l'érythrocyte humain par *Plasmodium vivax* nécessite obligatoirement la présence d'un antigène à la surface des globules rouges ; appelé,

« Duffy tigen Receptor for Chemokines (DARC). L'interaction entre *P. vivax* et l'érythrocyte est médiée par une protéine de liaison ; le « Duffy – Binding Protein » (PvDBP) [243]. Chaque cycle schizogonique (ou endoérythrocytaire) dure 48 heures (fièvre tierce) pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* ou 72 heures (fièvre quarte) pour *P. malariae*. Seule cette phase sanguine est responsable des manifestations cliniques observées au cours du paludisme. Après plusieurs schizogonies, un petit pourcentage de mérozoïtes ne

se multiplient pas après invasion des érythrocytes, mais plutôt, se différencient dans les hématies parasitées en formes sexuées (gamétocytes). Ces gamétocytes (mâles et femelles) ne peuvent poursuivre leur développement que s'ils sont ingérés au cours d'un repas sanguin par un anophèle femelle .

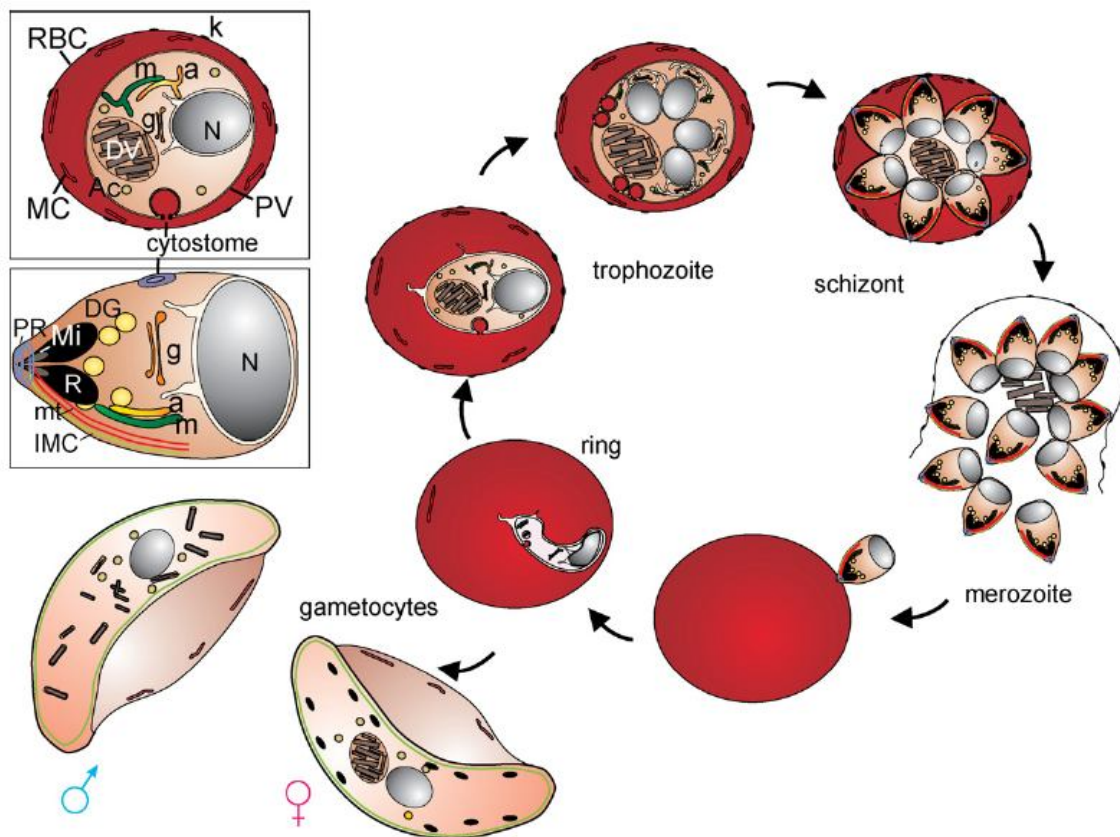


Figure 26 : cycle biologique du plasmodium

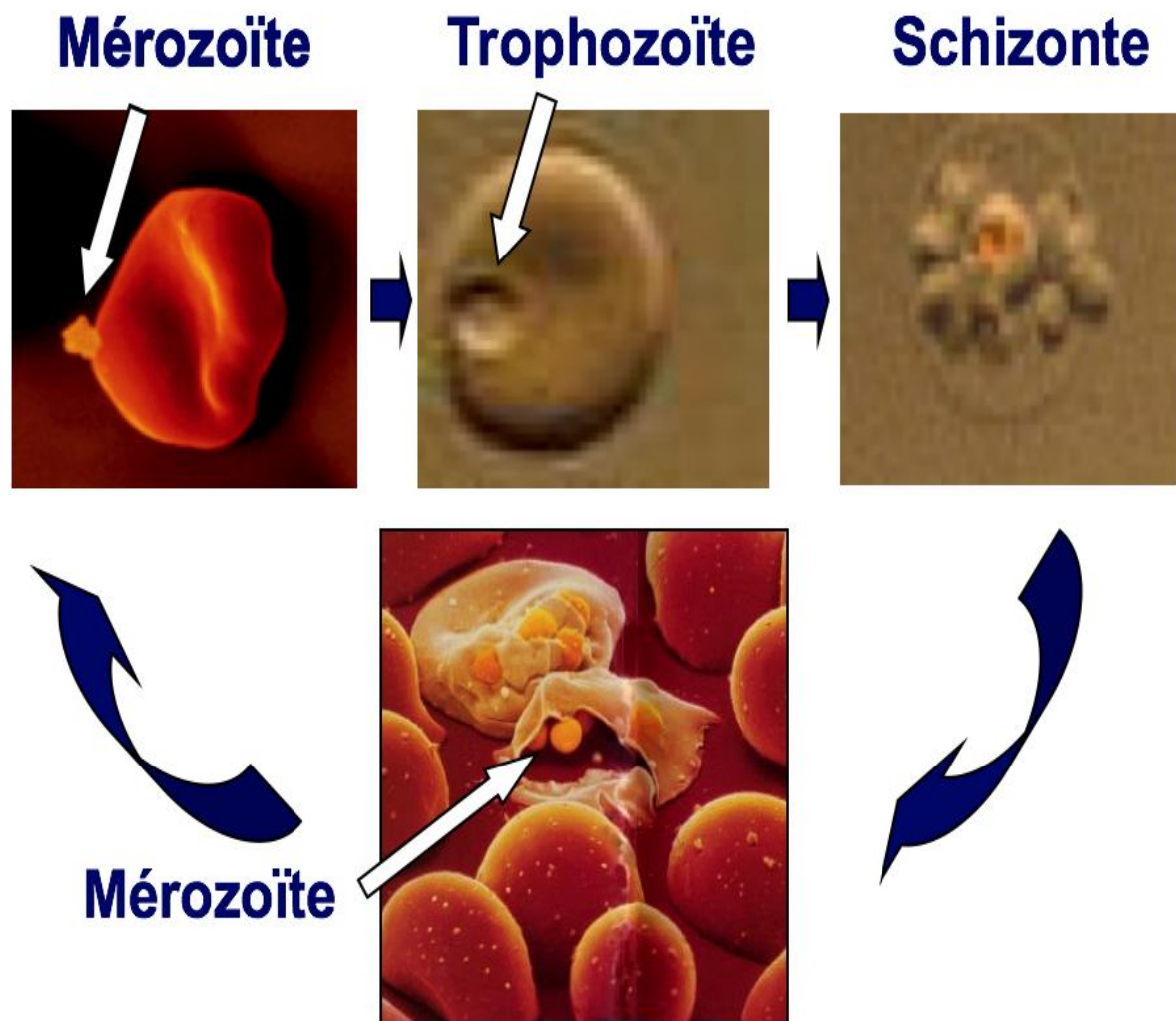


Figure 27 : Phase sanguine ou cycle asexué intra-érythrocytaire du *Plasmodium falciparum*

Les étapes de l'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte

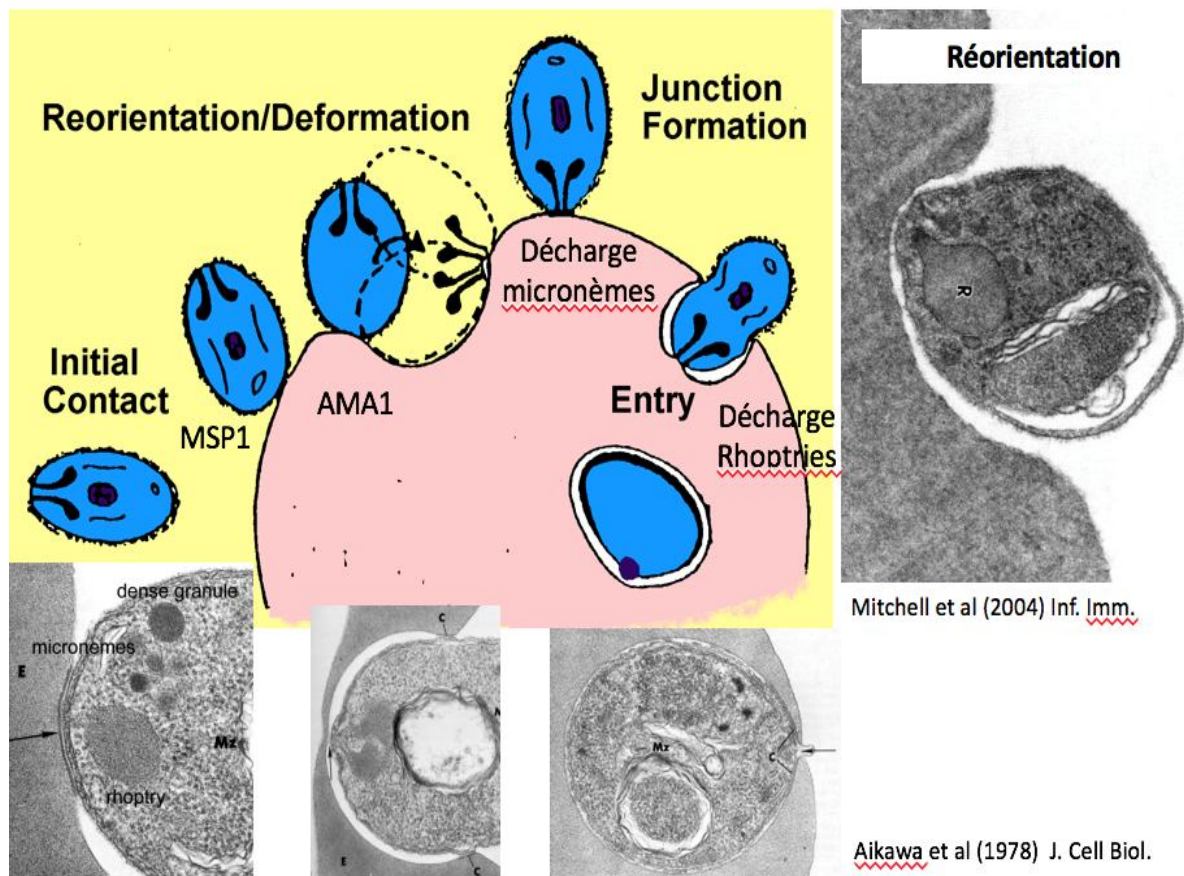


Figure 28 : Libération des mérozoïtes hépatiques dans la circulation sanguine

3.4. Cycle chez l'Anophèle femelle (cycle sexué ou sporogonie)

La transmission de Plasmodium nécessite son développement chez le vecteur . De ce fait, le cycle sexué ou sporogonique où le parasite passe par plusieurs stades de développement successifs se déroule chez les femelles de certaines espèces d'anophèles . Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère les différents stades du parasite. Les éléments asexués (mérozoïtes, trophozoïtes et schizontes) sont digérés dans l'estomac du moustique. Seuls les gamétocytes mâles (microgamétocytes) et gamétocytes femelles (macrogamétocytes) poursuivront leur développement.. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes .Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés .Il en résulte un zygote appelé ookinète .Selon Hirai et al, l'étape de la fertilisation est considérée comme étant le talon d'Achille du cycle représentant ainsi, une cible vaccinale . Environ 24 heures après la formation du zygote, l'ookinète mature mobile traverse d'abord la matrice péritrophique (ligne orange ovalaire au sein du moustique), puis l'épithélium stomacal avant de se différencier en oocystes . Cette phase diploïde est brève et s'achève par une division méiotique laquelle est suivie de plusieurs mitoses aboutissant au développement de sporoblastes, puis de sporozoïtes après une dizaine de jours .L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments haploïdes (5000 à 10 000 sporozoïtes) mobiles dans l'hémolymphe et gagnent préférentiellement les glandes salivaires de l'anophèle par leurs propres moyens d'où ils pourront être à nouveau injectés avec la salive lors d'une nouvelle piqûre infestante . La reconnaissance et l'invasion des glandes salivaires du moustique se fait à travers l'interaction entre les protéines de surface de ces glandes salivaires et la TRAP exprimée à la surface des sporozoïtes [250].



Figure 29 : Cycle sporogonique du *P. falciparum* chez l'anophèle femelle [279]

La durée du cycle sporogonique, le passage obligatoire pour la transmission du parasite d'un hôte à un autre, varie de 10 à 40 jours en fonction de la température extérieure et de l'espèce plasmodiale. Des expériences montrent que la sporogonie peut être interrompue si la charge parasitaire d'entrée est élevée.

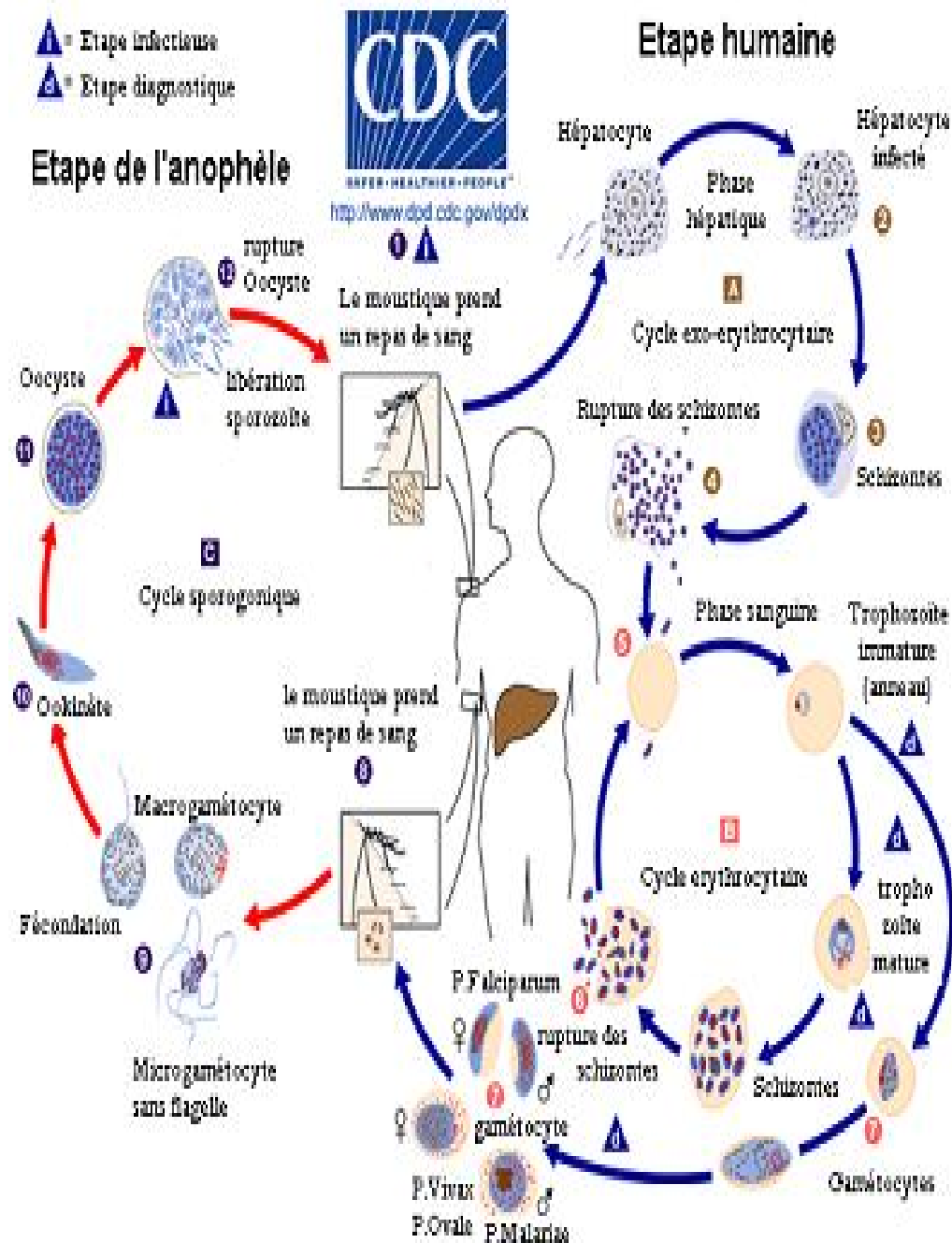


Figure 30 : Cycle biologique des Plasmodium chez l'homme résumant les différentes phases [http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/ malaria_LifeCycle.GIF]

4-Manifestations cliniques

Après piqure par l'insecte, il faut au moins un délai d'incubation de 7 jours pour qu'il y ait apparition des manifestations. L'infection par l'agent du paludisme chez l'homme se manifeste par plusieurs tableaux cliniques allant du plus simple au plus grave selon l'espèce plasmodiale en cause, le terrain et l'âge du patient.

4-1. Accès palustre simple:

Les premiers symptômes cliniques apparaissent 7 à 30 jours après une piqure infectante d'une Anophèle femelle. L'accès palustre simple commence par des frissons, des maux de tête, malaise et parfois des vomissements. Cette phase dite (la phase froide) dure 15 minutes à 1 heure et elle est suivie par une deuxième phase chaude caractérisée par une élévation importante de la fièvre pouvant durer de 1 à 4 heures. Ensuite la température commence à baisser et le patient présente des sueurs abondantes. Ces signes peuvent alterner en un cycle caractéristique à trois phases qui se répète tous les jours (*P. knowlesi*), tous les deux jours (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*) ou trois jours (*P. malariae*), et qui coïncide avec la libération de mérozoïtes et surtout de l'hémozoïne par rupture des globules rouges.

Néanmoins, la périodicité des symptômes n'est pas toujours aussi marquée et les symptômes peuvent être observés plus ou moins simultanément .

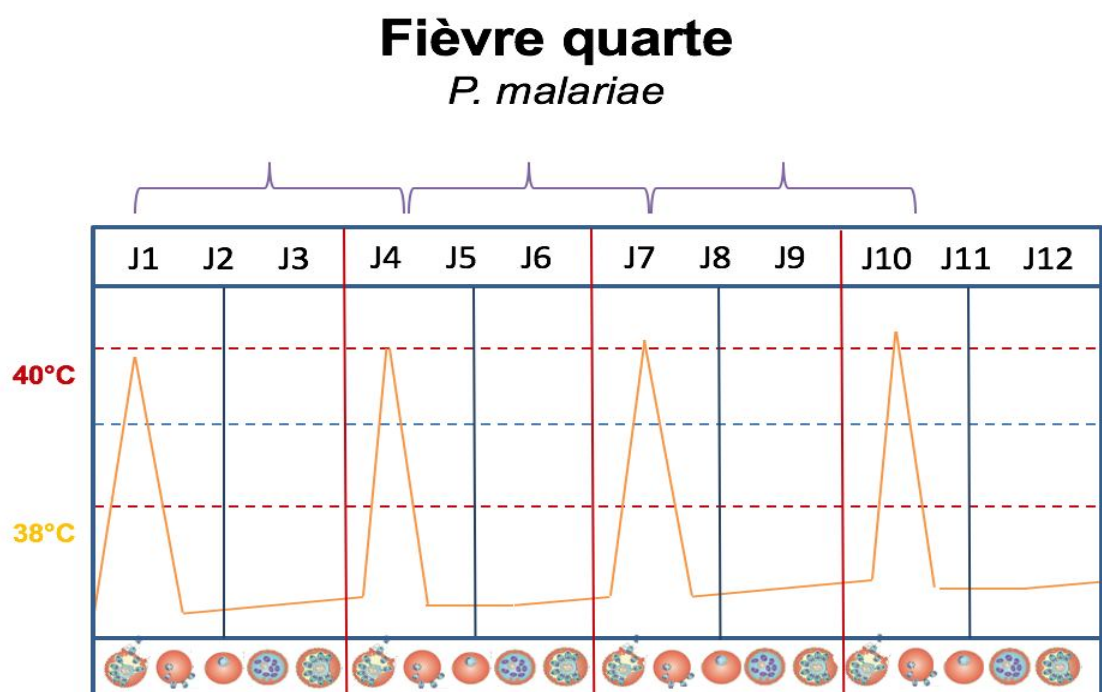
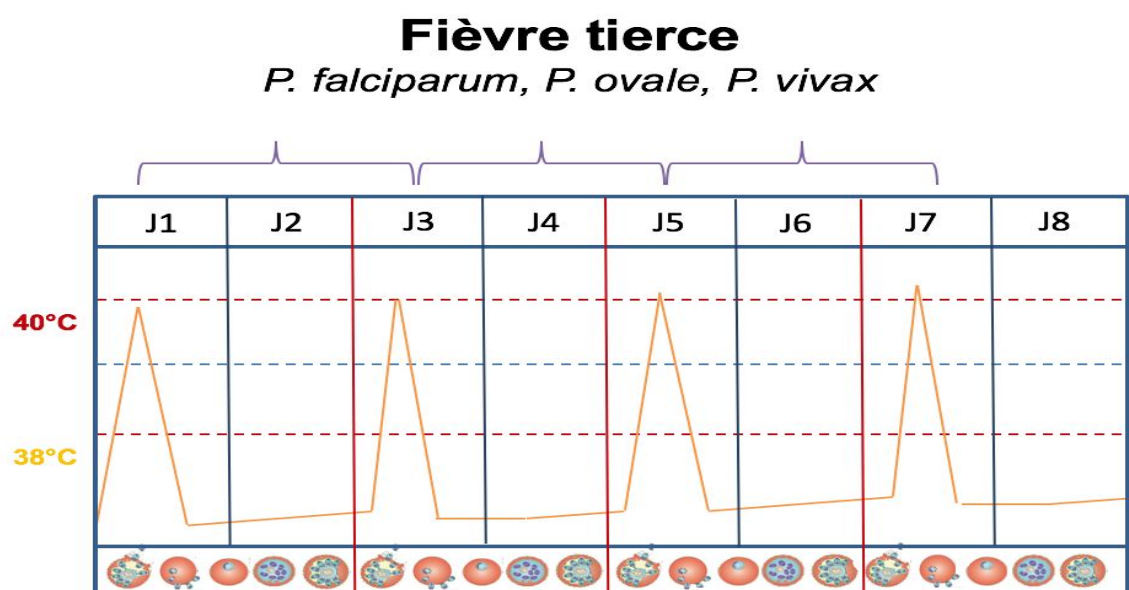


Figure 31 : Fièvre tierce et fièvre quarte au cours de l'accès palustre

4-2. Accès grave ou pernicieux:

La gravité du paludisme à *P. falciparum* varie d'une zone à l'autre et il est possible que des parasites plus ou moins virulents puissent exister. Il n'existe pas, pour l'instant, de marqueur de virulence pouvant être utilisé pour typer les isolats sauvages de parasites, mais plusieurs associations entre certains génotypes MSP1 et MSP2 et des cas de paludisme grave ont été décrits .

Les complications graves du paludisme sont dues à *P. falciparum* chez un sujet non immun (jeune enfant en zone d'endémie, femme enceinte, expatrié, voyageur) et sont potentiellement mortelles. Le décès, quand il survient, est secondaire à la défaillance aiguë d'une ou de plusieurs grandes fonctions, et ce, parfois même si la mise en place d'un traitement étiologique s'avère efficace. Seule l'instauration rapide d'une réanimation adaptée peut alors sauver le malade. Par conséquent, la connaissance des critères OMS 2000 de gravité du paludisme est d'une importance capitale pour l'identification des patients qui nécessitent une hospitalisation en urgence ou dans une Unité de Soins Intensifs. Un paludisme grave peut donc prendre différentes formes cliniques dont la plus importante est l'atteinte cérébrale entraînant 10 à 20% de mortalité [251].

On regroupe sous le terme de neuropaludisme (cerebral malaria chez les anglo-saxons) toutes les manifestations neurologiques, conséquences de l'atteinte cérébrale au cours de l'accès palustre. Il associe des troubles de la conscience (pouvant aller jusqu'au coma), prostration, convulsions avec des perturbations viscérales multiples (anémie sévère, insuffisance rénale, œdème pulmonaire...).

Non traité, le neuropaludisme est mortel en deux ou trois jours. Même avec une prise en charge adaptée, la mortalité reste lourde (10 à 30 %). Lorsqu'elle est obtenue, la guérison se fait généralement sans séquelle, sauf chez l'enfant (5 à 10 % de séquelles définitives). Plusieurs complications neurologiques sont associées au paludisme cérébral. Des études de cohorte réalisées au Mali, au Kenya et au Bangladesh ont révélé d'importantes séquelles neurologiques constituées de : céphalées récurrentes ; retard mental, retard de langage, dyspraxie bucco-faciale, diplégie, syndrome frontal, dystonie, épilepsie, troubles du comportement et de l'attention. Le pronostic global repose essentiellement sur la rapidité du diagnostic et de la prise en charge

Critères cliniques	Critères biologiques
Prostration : extrême faiblesse	Acidose : bicarbonates < 15 mmol/l ± pH < 7,35
Trouble de la conscience : score de Glasgow modifié à < 10	Hyperlactatémie : lactates plasmatiques > 5 mmol/l
Convulsions répétées	Hyperparasitémie : parasitémie > 4 % chez le non immun
Collapsus cardiovasculaire : pression artérielle systolique < 80 mmHg en	Hypoglycémie : glycémie < 2 mmol/l
présence de signes périphériques d'insuffisance circulatoire	Anémie sévère : hémoglobine plasmatique < 5 g/dl
Détresse respiratoire	Insuffisance rénale : créatininémie > 265 µmol/l avec diurèse < 400 ml/24 h après réhydratation
Œdème pulmonaire : définition Ictère : clinique ou bilirubine totale > 50 µmol/l radiologique	
Saignement anormal : définition clinique sans autre précision	
Hémoglobininurie macroscopique	

Tableau 6 : Les critères de gravité du paludisme chez l'adulte selon l'OMS 2000

5-Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique du paludisme est une urgence, défini par la présence de formes asexuées de Plasmodium à l'examen microscopique. Il impose de respecter les procédures techniques qui ont un impact direct sur la qualité et sur les performances de l'analyse.

5.1. Diagnostic de présomption

En plus des signes cliniques (fièvre) et de notion de séjour en zone d'endémie, certains signes biologiques, surtout hématologiques, peuvent être évocateurs du paludisme. L'anémie contemporaine des accès fébriles se situe aux environs de 3 à 4 millions de GR/mm³. Elle serait très élevée lors de la crise hémolytique de la fièvre bilieuse hémoglobino-urique. Les hématies montrent plusieurs anomalies morphologiques liées à l'hémolyse (anisocytose, poïkilocytose, polychromatophilie, granulations basophiles). L'anémie hémolytique est un bon signe d'orientation mais elle peut manquer, surtout au début d'un accès de primo-invasion. Elle est le plus souvent présente chez un sujet présentant des accès de reviviscence ou une rechute.

La thrombopénie est une anomalie fréquente et précoce au cours du paludisme, indépendamment de l'accès plasmodial en cause et du tableau clinique. C'est un très bon signe d'orientation mais sa valeur pronostique est encore controversée.

5-2. Diagnostic spécifique

Le diagnostic biologique du paludisme est une urgence, il se fait par la recherche directe du parasite, ses antigènes ou ses acides nucléiques (ADN ou ARN). Le diagnostic sérologique est plus rarement indiqué et n'est pas adapté à l'urgence vue le retard d'apparition des anticorps.

a. Le prélèvement

La prise de sang doit être faite immédiatement sans attendre un frisson ou un pic thermique. Elle se fait par ponction capillaire avec confection extemporanée de lames au chevet du malade ou par ponction veineuse sur tube contenant un anticoagulant (EDTA) et doit être transporté sans délai au laboratoire .

b. Les techniques directes

Les deux techniques classiquement utilisées pour affirmer le diagnostic du paludisme sont la goutte épaisse et le frottis sanguin. Leur étude se fait en microscopie optique . Leurs performances en termes de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté .

b-1 Le frottis sanguin

Le frottis mince, coloré au May-Grunwald-Giemsa selon la technique classique de Romanovsky permet la découverte de parasites bien étalés et lisibles, facilitent le diagnostic d'espèce et la détection d'un parasitisme mixte éventuel. Son inconvénient est son faible seuil de détection et la lecture est longue lorsque les parasites sont rares .

	Trophozoïte	Schizonte	Gamétocytes
<i>P. falciparum</i>	- Annulaire jeune à 2 masses nucléaires - 2 trophozoïtes annulaires dans la même hématie : polyparasitisme fréquent	-Schizonte jeune	En « faux », en « banane », ou en « cigare »
<i>P. malariae</i>	- Annulaire jeune - Annulaire âgé	- Schizonte quadrilatère en « bande équatoriale» - Rosacé dont les noyaux (6 à 8) régulièrement disposés : « corps en marguerite »	Sphériques
<i>P. vivax</i>	- Annulaire jeune - Annulaire âgé	- Amiboïde - Rosace : noyaux et pigment irrégulièrement disposés	Sphériques à cytoplasme bleu (femelles) et à cytoplasme lilas (males)
<i>P. ovale</i>	- Annulaire - Polyparasitisme fréquent	Schizonte ne prenant jamais l'aspect franchement amiboïde de <i>P.vivax</i>	Sphériques

Tableau 7 : les principaux aspects morphologiques des espèces plasmodiales observés en microscopie optique.

Sur le fortis sanguin, le taux de parasitémie est déterminé par le pourcentage d'hématies infectées. Le *P. falciparum* infecte les hématies de tout âge, le taux de parasitémie peut être élevé..Par contre le *P. ovale* infectant surtout les hématies jeunes se présente avec habituellement avec des parasitémies faibles.

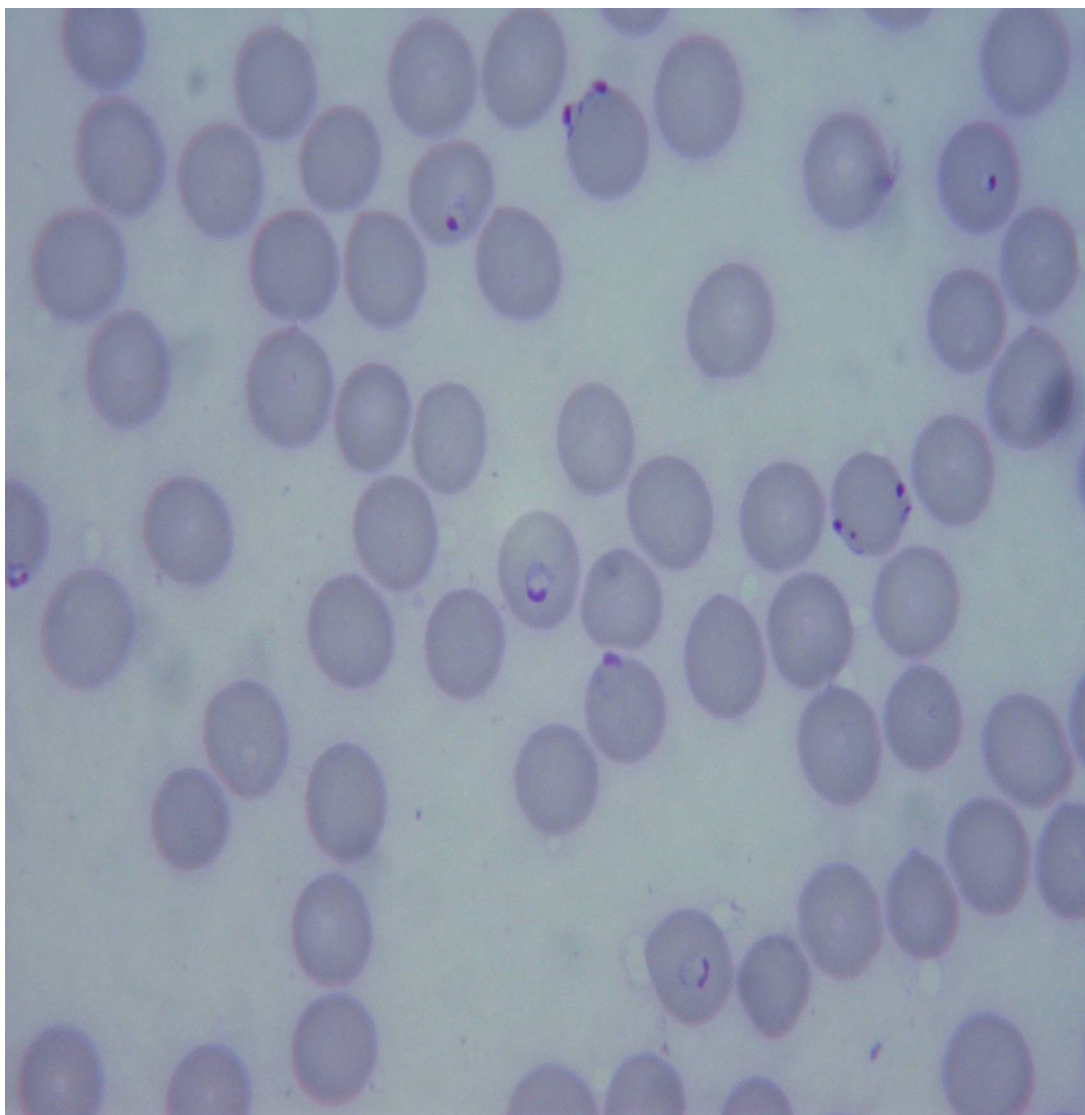


Figure 32 : Trophozoites de *Plasmodium Falciparum*. Frottis mince photo du service de laboratoire de parasitologie Mycologie- HMIMV RABAT

b-2. La goutte épaisse :

Permet la concentration des parasites sur une petite surface de la lame. Elle consiste à poser une petite goutte de sang sur une lame porte objet. L'étalement se fait à l'aide de l'angle d'une autre lame par des mouvements en spirale jusqu'à obtention d'un étalement circulaire fin. Si le prélèvement est capillaire, réalisé au bout du doigt et récupéré sans anticoagulant, ces mouvements d'étalement doivent être répétés plusieurs fois pour défibriner la préparation . S'il s'agit d'un prélèvement veineux récupéré sur anticoagulant, quelques mouvements permettant un bon étalement suffiront pour la confection de la goutte épaisse. Après séchage, la lame est trempée dans un flacon contenant l'eau ou mieux une solution hémolysante et fixante à base de saponine, de méthanol et de formaldéhyde. Cette solution permet une déshémoglobination rapide sans qu'il y ait un détachement de la couche fine blanchâtre qui persiste sur la lame et qui est censée contenir d'éventuels éléments parasitaires. La coloration se fait par le Giemsa et la lecture se fait à l'huile à immersion au grossissement x1000 .

C'est une technique permettant d'augmenter d'un facteur de 20 à 30 le volume du sang par unité de surface observée et donc d'améliorer théoriquement la sensibilité. Comme les hématies sont lysées, la parasitémie est estimée par le nombre de parasites pour 500 leucocytes. La goutte épaisse calibrée, qui consiste à étaler un volume précis de 2µl de sang sur la lame, permet d'obtenir la parasitémie par µl de sang $\times 84$. La goutte épaisse est rendue négative après observation de 100 champs microscopiques selon l'OMS .

- Avantages : Permet une numération relativement précise.
- Inconvénients : L'identification des espèces est difficile pour des lecteurs peu entraînés

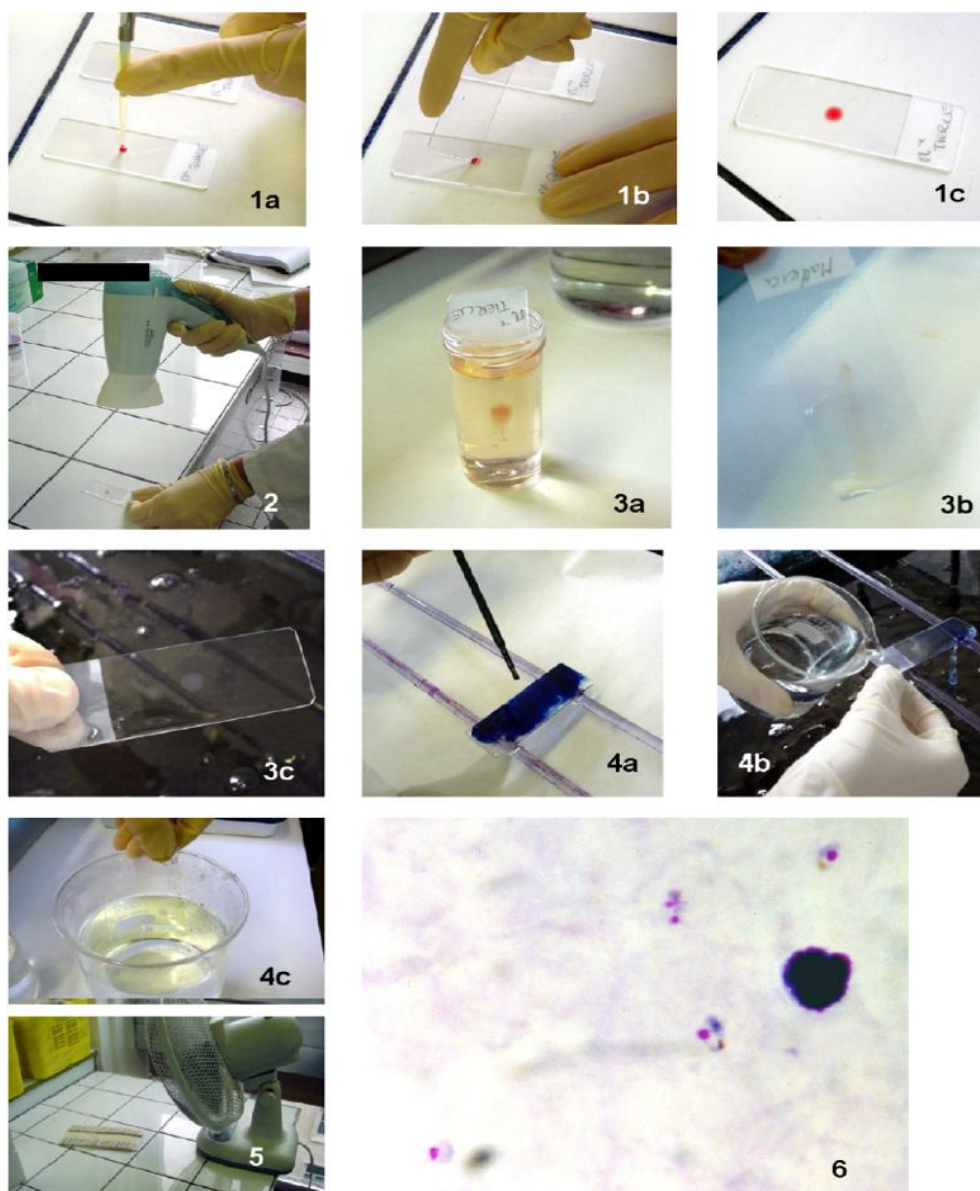


Figure 33 : : étape de la technique de la goutte épaisse au laboratoire

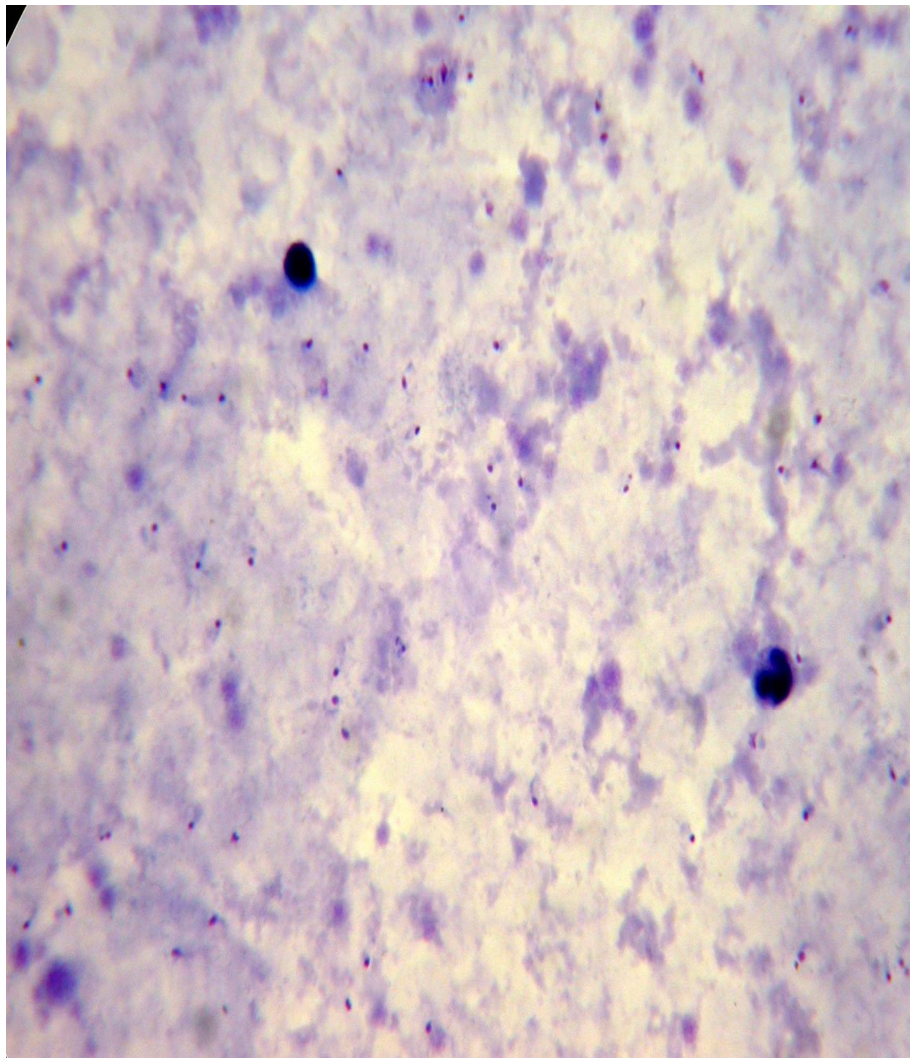


Figure 34 : Trophozoites de *Plasmodium Falciparum*. Goutte épaisse photo prise au service de laboratoire de parasitologie Mycologie- HMIMV RABAT

Diagnosis of malaria using thick bloodsmears: definition and evaluation of a faster protocol with improved readability

M. THELLIER, A. DATRY, O. ALFA Cissé, C. SAN, S. BILIGUI, O. SILVIE and M. DANIS

**Département des Maladies Infectieuses, Parasitaires Tropicales et Santé publique, Centre Hospitalo-Universitaire Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France*

La Goutte Epaisse Rapide

Equipement.

- ◊ Un microscope, des lames dégraissées, un pot de 20 mL (type ECBU)

Réactifs

- ◊ Saponine (S 7900 ; Sigma, St Louis, MO) ; lors d'un changement de lot ou de fournisseur, il faudra toujours tester l'efficacité de la lyse en fonction de la concentration en g/l de saponine utilisée (de 3 à 6 g/l en général),
- ◊ 35% Formaldehyde-10% Methanol en solution aqueuse (Soyons Chimie Biotechnologie, Soyons France) ;
- ◊ Giemsa-R

Préparation et conservation de la solution :

Pour 100 ml de solution hémolysante, on mélange dans un bêcher

- ◊ 40 ml de sérum physiologique,
 - ◊ 0.5 g de Saponine,
 - ◊ 1.5 ml de solution aqueuse de 35% Formaldehyde-10% Méthanol,
- Le volume est ensuite ajusté à 100 ml avec du sérum physiologique.
- ◊ Conservation 4°C, jusqu'à un an.

Réalisation technique

1- Une goutte de 2 µL de sang total bien homogénéisée est déposée sur une lame d'examen microscopique puis immédiatement étalée à l'aide d'un coin de lame pour obtenir une préparation homogène de 5 à 7 mm de diamètre (photos 1a, 1b et 1c).

2- La lame est séchée à l'étuve à 37° C ou au sèche-cheveux **2 min** (photo 2).

3- Dès que la goutte est sèche, la lame est plongée dans le réactif de lyse (pot de 20 mL). **Après 2 min**, il faut surveiller attentivement la lyse. Elle doit être complète (disparition de toute trace d'hémoglobine avec obtention d'une pellicule blanche sur la lame) mais non excessive (altération des parasites et des GB). On s'assure de la qualité de l'hémolyse au-dessus d'une surface blanche, évier par exemple (photos 3a, 3b et 3c).

4- Dès que l'hémolyse est complète, la lame est rincée **délicatement** à l'eau du robinet (dans un bêcher) puis colorée au Giemsa R ou au RAL 555.

5- Coloration : sans fixation préalable recouvrir **délicatement** la lame d'eau du robinet puis, à l'aide de la pastette (pipette en plastique) déposer délicatement **8 gouttes de Giemsa R** (en encadrant le dépôt). Agiter **délicatement** (par basculement) pour mélanger. **Laisser agir 45 secondes**. Rincer délicatement à l'eau du robinet.

6- Séchage au ventilateur puis lecture ... (photos 6a et 6b)

7- L'intégralité de la goutte doit être lue, ce qui nécessite 15 – 25 minutes en fonction de l'expérience du microscopiste.

Pour tous renseignements :

Dr Marc Thellier, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75013 Paris, France. Email : marc.thellier@psl.aphp.fr

Figure 35 : Technique de la goutte épaisse rapide

c- Les techniques immunochromatographiques ou Test de diagnostic Rapide (TDR)

Elles sont basées sur la détection des antigènes (Ag) spécifiques de *Plasmodium* spp dans le sang à partir des anticorps (Ac) monoclonaux spécifiques d'une ou plusieurs espèces de *Plasmodium*. Trois protéines spécifiques de certaines formes parasitaires de *plasmodium* appelées Ag pour la circonstance sont détectées par les TDR avec en général apparition de deux bandes rouges (*P. falciparum* seul) ou trois bandes rouges (*P. falciparum* et autres *Plasmodiums*) selon les tests, témoignant ainsi de la présence d'une ou de plusieurs espèces de *plasmodium* dans le sang à tester (Figure 7).

Ces tests ont l'avantage d'être simple d'usage, permettent de rendre les résultats dans un délai relativement court (moins de 20 minutes), permettent une meilleure standardisation des résultats. Leur sensibilité varie selon fabricants et les études mais certains ont une sensibilité et une spécificité que l'OMS (2006) juge acceptables (> 95%). Mais ils ne sont pas quantitatifs et ont des caractéristiques liées aux types d'Ag ciblés dont on devrait tenir compte au moment du choix du type de TDR.

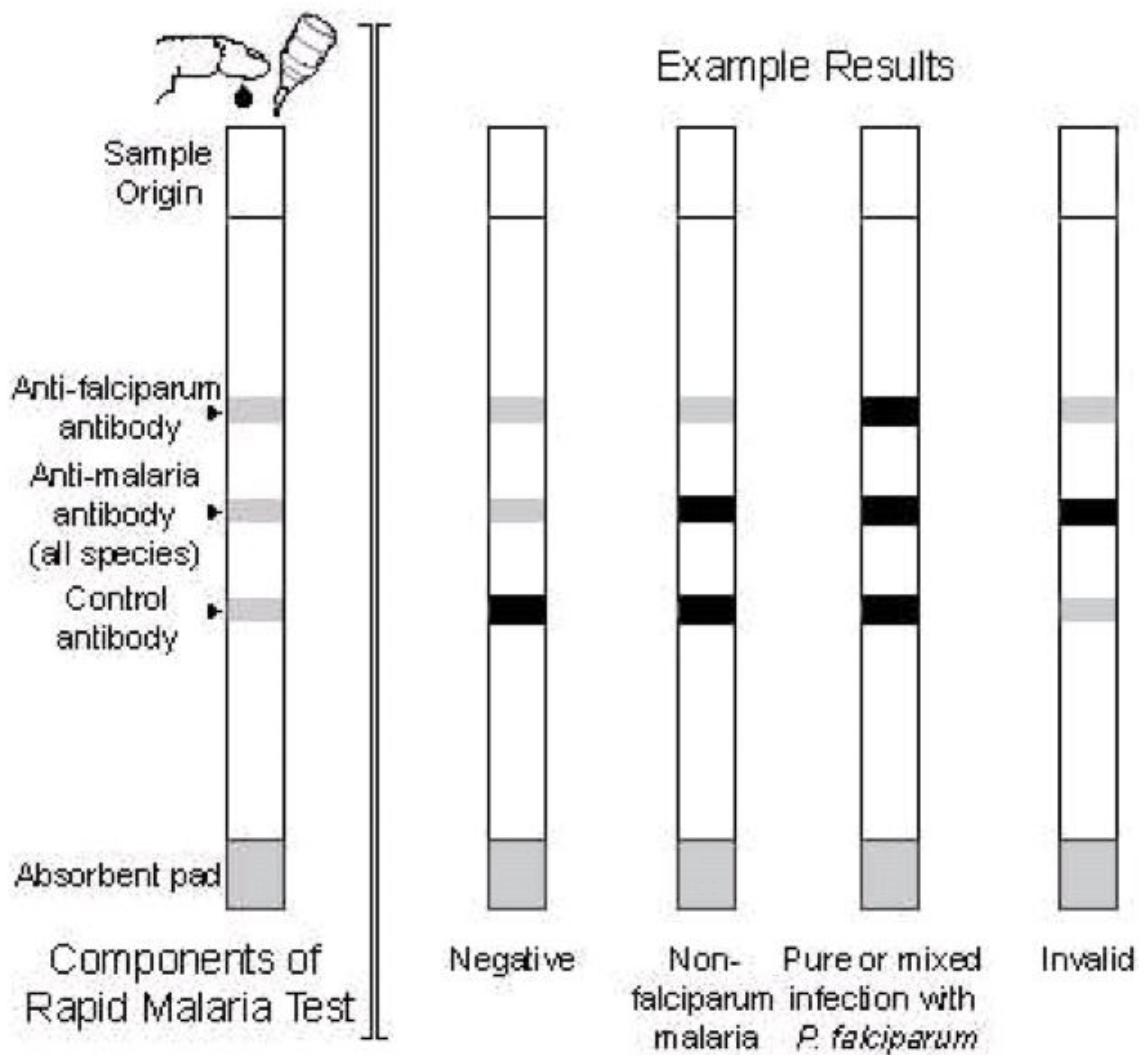


Figure 36 : Principe du TDR

6 Traitement et prévention :

6.1. Traitement spécifique

Le traitement rapide et efficace des cas de paludisme est un élément fondamental de la lutte antipaludique pour sauver des vies (surtout les enfants de moins de cinq ans) en Afrique subsaharienne où, la plupart des infections paludéennes sont dues à *P. falciparum* et donc sont potentiellement mortelles . Il

implique des mesures complémentaires aussi bien que des médicaments antipaludiques. Les patients infectés par *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale* peuvent être traités en dehors des formations sanitaires en externe. Il est important que les patients infectés par *P. falciparum* reçoivent rapidement un traitement antipaludique sans délai, et ils doivent être admis généralement dans un hôpital pour être observés afin de détecter d'éventuelles complications. Ceci est particulièrement vrai pour les enfants de moins de cinq ans, les femmes enceintes et les sujets non-immuns provenant de pays impaludés. Le traitement du paludisme fait appel à différents antipaludiques qui possèdent des mécanismes d'action différents. L'arsenal thérapeutique utilisé dans le traitement du paludisme est très réduit à cause de la chimiorésistance. Par conséquent, le choix du traitement est basé sur la fréquence des cas de résistances dans la zone considérée, et sur l'importance d'éventuels effets indésirables provoqués par certains antipaludiques. Les antipaludiques sont classés soit en fonction de leur origine naturelle (quinine et dérivés du qinghaosu issus des plantes) ou de synthèse (notamment les amino-4-quinoléines). Ils peuvent également être classés selon leur action sur diverses formes évolutives du parasite chez l'homme . Parmi eux, on distingue les schizontocides, actifs sur les stades asexués intra-érythrocytaires et les gamétocytocides (amino-8-quinoléines), actifs aussi bien sur les gamétocytes sanguins que sur les stades intra-hépatiques (hypnozoïtes). Enfin, ils peuvent être classés suivant leur mode d'action rapide (quinines et amino-4-quinoléines) pour lesquels l'apparition de la chimiorésistance est longue ; et les antipaludiques d'action lente (antifoliques et antifoliniques) dont l'usage génère beaucoup plus vite la chimiorésistance rendant inefficaces certains traitements [252].

Tableau 1 : Médicaments antipaludiques [Danis 2003 ; Olivier et al, 2008]

Origine	Dérivés	Molécules	Action	Site d'action
Antipaludiques naturels	Alcaloïdes du quiquina	Quinine Quinidine Cinchonine Cinchonidine	Schizontocides sanguins (action rapide)	Vacuole digestive
	Qinghaousu (armoise)	Artémisinine Artémether Artésunate	Schizontocides sanguins (action rapide)	Vacuole digestive
Antipaludiques de synthèses	Amino-4-quinoléines	Chloroquine Amodiaquine Aopyroquine	Schizontocides sanguins (action rapide)	Vacuole digestive
	Aryl-Amino-Alcools	Méfloquine Halofantrine	Schizontocides sanguins (action rapide)	Vacuole digestive
	Antifoliques et antifoliniques	Sulfamides (sulfadoxine, sulfaméthoxazole) Sulfones (dapsone) Pyriméthamine Proguanil	Schizontocides sanguins et sporontocides (action lente)	Cytoplasme
	Naphtoquinone	Atovaquone	Schizontocides sanguins (action lente)	Mitochondrie
	Antibiotiques et divers	Cyclines (tétracycline, doxycycline) Macrolides Fluoroquinolones Hydroxynaphtoquinones	Schizontocides sanguins	Ribosome
	Amino-8-quinoléines	Primaquine Tafénoquine Quinocide Bulaquine Pamaquine Plasmocide	Gamétocytocides et schizontocides tissulaires	Mitochondrie

Tableau 8 : Médicament antipaludique

En réponse à l'augmentation croissante de la résistance de *P. falciparum* principalement aux antipaludiques, l'OMS a recommandé aux pays d'endémie palustre qui observent une résistance aux monothérapies classiques, telles la chloroquine (CQ), l'amodiaquine (AQ) ou la sulfadoxine-pyriméthamine (SP), d'utiliser des combinaisons thérapeutiques (CT ou ACT en anglais), de préférence celles qui contiennent des dérivés de l'artémisinine, contre le paludisme à *P. falciparum* non compliqué [253] . L'antipaludique à associer aux dérivés de l'artémisinine doit avoir une efficacité thérapeutique en monothérapie

supérieure à 80% dans la zone cible. Les options thérapeutiques actuellement recommandées par l'OMS sont les suivantes: artéméter-luméfantrine (AL); artésunate plus amodiaquine (AS + AQ); artésunate plus sulfadoxine-pyriméthamine (AS + SP); artésunate plus méfloquine (AS + MQ) ; dihydroartémisinine associée à la pipéraquine (DP) . En outre, on évoque la possibilité d'association de l'artésunate à la primaquine en combinaison thérapeutique [253] . La standardisation à large échelle de cette association en zone d'endémie palustre pourrait entraîner de graves effets secondaires compte tenu de la prévalence élevée du déficit en G6PD . Il est bien connu que le paludisme aigu et chronique peut entraîner une anémie. De ce fait, le traitement d'un accès palustre simple avec cette association (AS + PQ ou AS + dapsons) sur terrain de déficit en G6PD, peut conduire à la mort par anémie sévère et/ou insuffisance rénale . La généralisation de telles combinaisons thérapeutiques, exigerait par mesure de sécurité, la mise en place des moyens de détection efficaces et simples des déficits en G6PD dans les pays d'endémie palustre. Des études de sécurité et de tolérance de l'artéméter-luméfantrine menées auprès des milliers de patients n'ont révélé que des effets secondaires mineurs ou modérés, même après administrations répétées. Sa biodisponibilité est améliorée lorsqu'elle est administrée avec un repas riche en lipides . Ces différentes études montrent l'innocuité de l'association AL chez les enfants. Qu'en est-il chez la femme enceinte ? Une étude d'embryotoxicité d'une dose des dérivés de l'artémisinine (artésunate, dihydroartémisinine, artéether et artémether) administrée aux rats et singes (12 mg/kg pendant 12 jours ou plus) dans la période d'organogénèse a entraîné des malformations et des morts d'embryons]. Chez l'humain, l'étude auprès de 62 femmes enceintes soudanaises ayant reçu de l'artésunate au cours du premier trimestre de la grossesse avec suivi

prospectif de leurs enfants au cours de la première année de naissance n'a rien révélé de particulier. Bien que ces résultats soient encourageants, ils ne doivent pas être extrapolés vu le nombre très limité de l'effectif de femmes suivies.

Comme dans la prise en charge des affections bactériennes, l'association médicamenteuse d'antipaludiques vise à améliorer l'efficacité du traitement (dans certains cas, par synergie potentialisatrice ou par effet additif de deux médicaments ou plus). La combinaison thérapeutique reste en théorie, le moyen le plus satisfaisant pour retarder l'émergence des résistances aux différentes composantes de l'association. Les dérivés de l'artémisinine tel que l'artésunate ont une demi-vie très courte avec une activité antiplasmodiale très rapide. D'où l'importance de les protéger contre la résistance en les associant avec d'autres médicaments antipaludiques [254]. Idéalement le régime thérapeutique doit être sûr et bien toléré (pas d'effets secondaires sérieux, ni d'évènements fatals adverses), stable (pas de problème de stockage en terme d'humidité et de température), efficace (taux de guérison au moins égale à 75 à 90%), pouvant être administré par voie orale, rectale ou parentérale (régime utilisable en toute circonstance), disponible en monodose (pour minimiser l'inobservance du traitement, possibilité d'administration par des illettrés à domicile, ou à défaut un régime simple court ≤ 3 jours), efficace contre tous les stades de développement du parasite (l'effet gamétocytocide pourrait réduire la transmission si le médicament est utilisé à large spectre), non susceptible d'induire la résistance (le médicament doit en tout cas minimiser le développement ou le taux d'acquisition de la résistance par les parasites), avoir un mode d'action indépendant et accessible à tous (coût et disponibilité géographique [254]). L'utilisation de l'artémisinine dans la prise en charge du

paludisme simple offre un gain sur la mortalité en empêchant la maturation des parasites, responsables de la cytoadhérence facteur de gravité, par la destruction des formes jeunes .

6.2 Chimio prophylaxie :

Actuellement, le contrôle du paludisme repose essentiellement sur la prise en charge correcte des cas, le développement de nouvelles molécules antipaludiques, la prévention et la lutte anti-vectorielle. Compte tenu de l'échec des différents programmes d'éradication du paludisme et les difficultés de mise en œuvre des mesures collectives de prévention, la prévention du paludisme n'est envisageable qu'à l'échelle individuelle bien ciblée. Elle s'adresse prioritairement en zone d'endémie palustre aux couches vulnérables (enfants de moins de 5 ans, femmes enceintes et les personnes âgées) et aux sujets non – immuns se rendant en zone impaludée. Pour être efficace cette prévention doit associer une protection contre les piqûres de moustiques (port de vêtements longs dès le coucher du soleil, utilisation de répulsifs sur les parties découvertes du corps, utilisation de supports imprégnés d'insecticide ...) et une chimio prophylaxie médicamenteuse adaptée au cas par cas en fonction du contexte épidémiologique (intensité de la transmission et niveau local de résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques) de la zone en question. La prescription d'une chimio prophylaxie relève d'une consultation spécialisée et personnalisée excluant toute « formule passe partout ». En outre, il est important de signaler que même l'observation scrupuleuse de ces mesures préventives, n'assure pas une protection à 100% contre le paludisme. Elle ne constitue qu'un traitement préventif des accès cliniques et n'empêche pas l'impaludation. Aussi, elle ne met pas à l'abri d'un accès de reviviscence tardif à *P. vivax* ou *P. ovale*.

En zone d'endémie palustre d'Afrique subsaharienne, la sulfadoxine – pyriméthamine (SP) est recommandée pour le traitement préventif intermittent chez les femmes enceintes (TPIp), des nourrissons (TPIi) et des enfants (TPIc) [255] au détriment de la chloroquine qui était efficace, moins chère et bien tolérée. L'émergence et la propagation des souches de *P. falciparum* résistantes à la SP dans nombre de pays doit inciter à la recherche d'alternatives de chimioprophylaxie chez ces couches de populations ci-dessus vulnérables.

Zone	Caractéristiques	Recommandations
1	<i>P.falciparum</i> absent ou sensible à la chloroquine	Chloroquine seule ou pas de prophylaxie
2	Résistance à la chloroquine (Amérique centrale, Asie centrale et du Sud – Est)	Association Chloroquine 100 mg + Proguanil 200 mg : 1 comp/jour
3	Multirésistance (Afrique Sub- saharienne, Amérique Latine et certains pays du Sud-Est Asiatique)	- Premier choix : Méfloquine (250 mg, une fois/semaine) - Deuxième choix : Association Chloroquine 100 mg + Proguanil 200 mg : 1 cp/jour
Zones particulières des frontières du Cambodge/Myanmar/Thaïlande		Doxycycline (100 mg/jour)

Tableau9 : Chimioprophylaxie du Paludisme

B-L'apport de l'apoptose dans le paludisme

L'idée de la possibilité d'un mécanisme de l'apoptose chez Plasmodium est apparue dès 1995 à partir d'analogies observées entre la résistance aux médicaments de Plasmodium et des cellules cancéreuses. Ensuite, cette réflexion s'est traduite par la première démonstration de la fragmentation oligonucléosomale de l'ADN des formes intra-érythrocytaires chloroquinosensibles de *P. falciparum* en 1997 [18]. L'hypothèse de l'analogie faite avec les cellules cancéreuses s'est vérifiée, car seuls les clones sensibles à

la chloroquine ont présenté une fragmentation inter nucléosomale de l'ADN tandis que les clones chloroquinorésistants sont restés refractaires [18] .

Depuis cette importante observation, d'autres sont venues élargir progressivement nos champs de connaissances sur le sujet. Plus tard, une description classique des signes d'apoptose associant la condensation de la chromatine, la fragmentation de l'ADN et l'externalisation des phosphatidylsérines a été faite pendant le cycle sporogonique de *Plasmodium berghei* (stade ookinète) chez le moustique [20].

En effet, cela s'explique par le fait que le passage des formes sexuées de Plasmodium chez le moustique est une étape difficile pour le parasite ; étape qui s'accompagne de modifications physiologiques (adaptation à un milieu et une température défavorables), morphologiques (transformation des gamétocytes en oocystes puis en sporozoïtes) et spatiales (passage du tube digestif du moustique vers les glandes salivaires). Ces étapes s'accompagnent d'une forte mortalité et la place de l'apoptose dans cette régulation a été étudiée chez *P. Berghei*.

Ces travaux ont démontré que plusieurs caractéristiques de l'apoptose pouvaient être retrouvées au stade ookinète et que cette apoptose pouvait être reliée à une activité de type caspasique. De plus, l'utilisation de substances inhibitrices des caspases a entraîné une baisse de la mortalité des ookinètes, confirmant la place de cette activité enzymatique essentielle à la définition de l'apoptose [19].

Plus récemment, différents aspects typiques de l'apoptose, c'est-à-dire l'exposition des phosphatidylsérines, la dépolarisation mitochondriale et la fragmentation nucléaire par la méthode TUNEL ont été mises en évidence chez *P. falciparum* [256] . L'action apoptotique de la température (40°C pendant 20 à 24 heures) et de certaines drogues (chloroquine, S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) ou staurosporine ; atovaquone, S-nitro-N-acetyl-D, L-penicillamine) en culture sur *P. falciparum* a été étudiée. [257] .

Quelques années plus tard, après la mise en évidence de l'existence d'une forme de mort cellulaire chez *P. falciparum*, des orthologues des caspases (protéines caspase-like) ont été découverts chez les champignons, les plantes et les protozoaires. Ces protéines caspase-like ont été nommées « métacaspases ». Des récents travaux ont décrit la première réelle métacaspase de *P. falciparum* (PfMCA1) et son rôle dans l'apoptose a été démontré.

1-Place de l'apoptose dans l'accès palustre grave

Le neuropaludisme (ou accès pernicieux = « cérébral malaria » des anglo-saxons) est la complication majeure du paludisme à *P. falciparum*. La physiopathologie du neuropaludisme, très complexe, n'est pas entièrement élucidée et certains phénomènes, comme l'absence de relation évidente entre taux de parasitémie et risque cérébral, n'admettent pas

encore d'explication complètement satisfaisante bien que Dondorp trouve une forte corrélation entre la sévérité de la maladie et la biomasse de parasites séquestrés [258] . Néanmoins des études anatomopathologiques post-mortem, réalisées chez des patients décédés de neuropaludisme, tentent d'élucider sa physiopathologie. Plusieurs théories probablement complémentaires, sont incriminées dans la survenue du paludisme grave.

Essentiellement, l'adhésion des globules rouges parasités aux cellules endothéliales des microvaisseaux des organes vitaux (cerveau, placenta, poumons, rein, cœur, foie...) par l'intermédiaire des protéines parasitaires et des molécules d'adhésion exprimées en leur surface, joue un rôle clé dans la physiopathologie du paludisme sévère [242,258] .

L'accès grave serait associé à un phénomène de séquestration des globules rouges parasités qui adhèrent aux cellules endothéliales de l'hôte (cytoadhérence) ou aux globules rouges non parasités (rosetting) via des structures appelées « knobs » situées à la surface du globule rouge parasité .

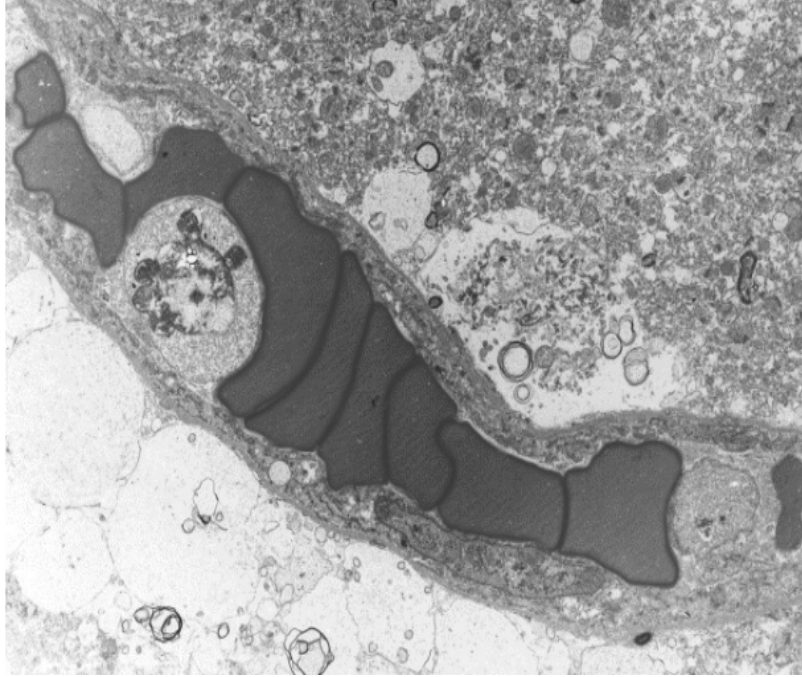


Figure 37 : la séquestration résultat mécanique de la cytoadherence

Au cours du cycle intraérythrocytaire, la prolifération et la maturation des formes parasites sont accompagnées par la production de protéines parasites qui interagissent avec des structures membranaires de l'érythrocyte (actine, spectrine) pour former des protubérances à la surface du globule rouge appelées « knobs » .

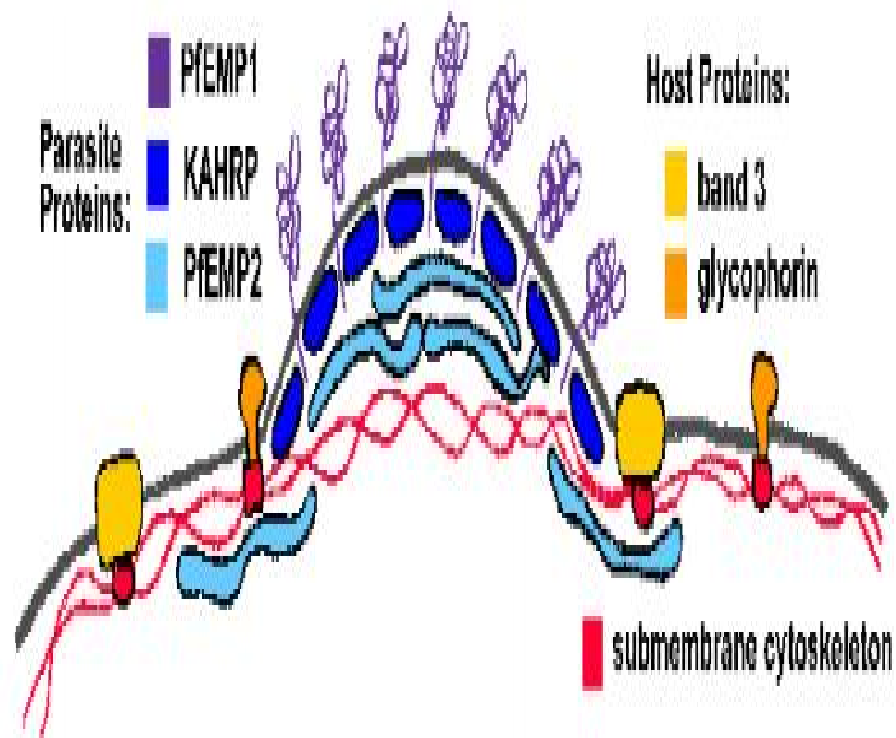
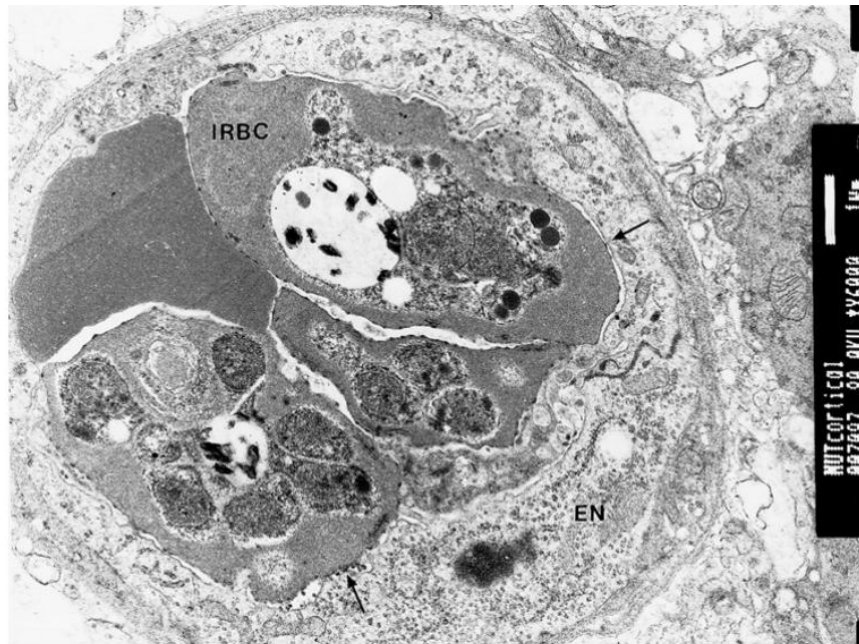


Figure 38 : La structure des Knobs

Ces complexes protéiques parasites permettent aux stades matures de *P. falciparum* d'échapper à la clairance splénique par séquestration dans les capillaires et veinules post-capillaires de différents organes de l'hôte mais principalement au niveau cérébral.



Ho M, White N J Am J Physiol Cell Physiol
1999;276:C1231-C1242

AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY
Cell Physiology

Figure 39:. Cytoadérence entre les érythrocytes infectés (IRBC) et les cellules endothéliales (EN) montrant les Knobs (flèches) aux points de fixation. [From E. Pongponratn and D. Ferguson, with permission (unpublished observations).].

Ce phénomène de séquestration parasitaire, lié à la cytoadhérence, a pour conséquence l'activation d'une cascade de phénomènes biologiques à l'origine de la pathogenèse de l'atteinte cérébrale de l'accès palustre grave. La cytoadhérence à l'endothélium ainsi que le rosetting réduisent la lumière des capillaires entraînant une occlusion du flux sanguin tissulaire et une hypoperfusion d'organes. L'hypoxie tissulaire et la diminution de l'élimination des produits métaboliques qui en résulte provoquent une atteinte d'organe ainsi qu'une augmentation de la lactactémie à l'origine de l'état de choc et de l'acidose métabolique [259] .

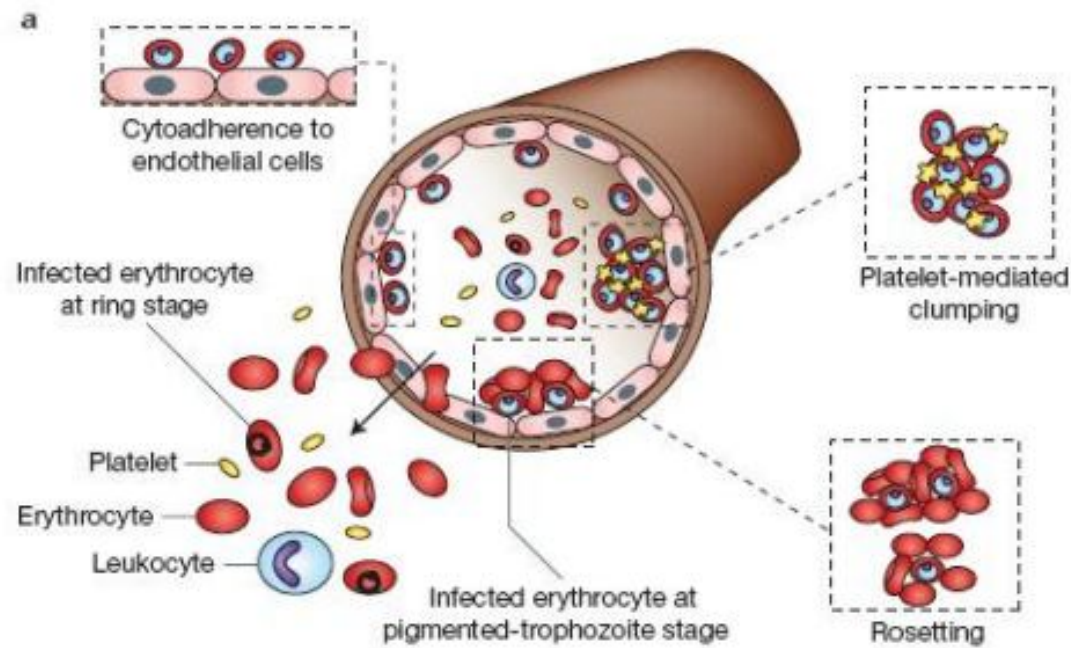


Figure 40 : Schéma du processus d'adhérence des érythrocytes parasités à l'endothélium vasculaire [268]

L'obstruction des capillaires et la production de toxines parasites (glycophosphoinositol [GPI]) induisent également une réaction inflammatoire locale liée au recrutement et à l'activation de polynucléaires neutrophiles, monocytes et plaquettes. La production par ces cellules immunitaires de médiateurs pro-inflammatoires tels que le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 participe à la pathogenèse de l'accès grave via l'augmentation de l'expression de récepteurs endothéliaux impliqués dans la séquestration parasitaire et par l'altération du métabolisme du monoxyde d'azote qui joue un rôle dans l'homéostasie de la barrière hémato-encéphalique [259] .

Enfin, l'activation des cellules endothéliales après cytoadhérence parasitaire est un autre mécanisme physiopathologique de l'accès grave. L'activation des plaquettes, la

libération de facteurs tissulaires endothéliales et la sécrétion de granules de Weibel-Palade contenant du facteur de *von Willebrand* et de l'angiotensine-2 résultent de l'activation de l'endothélium et favorisent un état pro coagulant et l'altération de l'hémostase qui menace l'intégrité de la barrière endothéliale . Par conséquent, l'obstruction du flux sanguin des capillaires issue de la séquestration des formes matures parasites induit une hypoxie tissulaire à l'origine de l'atteinte viscérale lors d'un accès palustre grave. La réaction inflammatoire locale engendrée accompagnée par une altération de l'hémostase amplifie l'atteinte d'organes en perturbant l'homéostasie de la barrière hémato-encéphalique qui se rompt suite à l'apoptose des cellules endothéliales. Ce mécanisme physiopathologique de l'accès grave est retrouvé lors de l'atteinte cérébrale par *P. falciparum* .

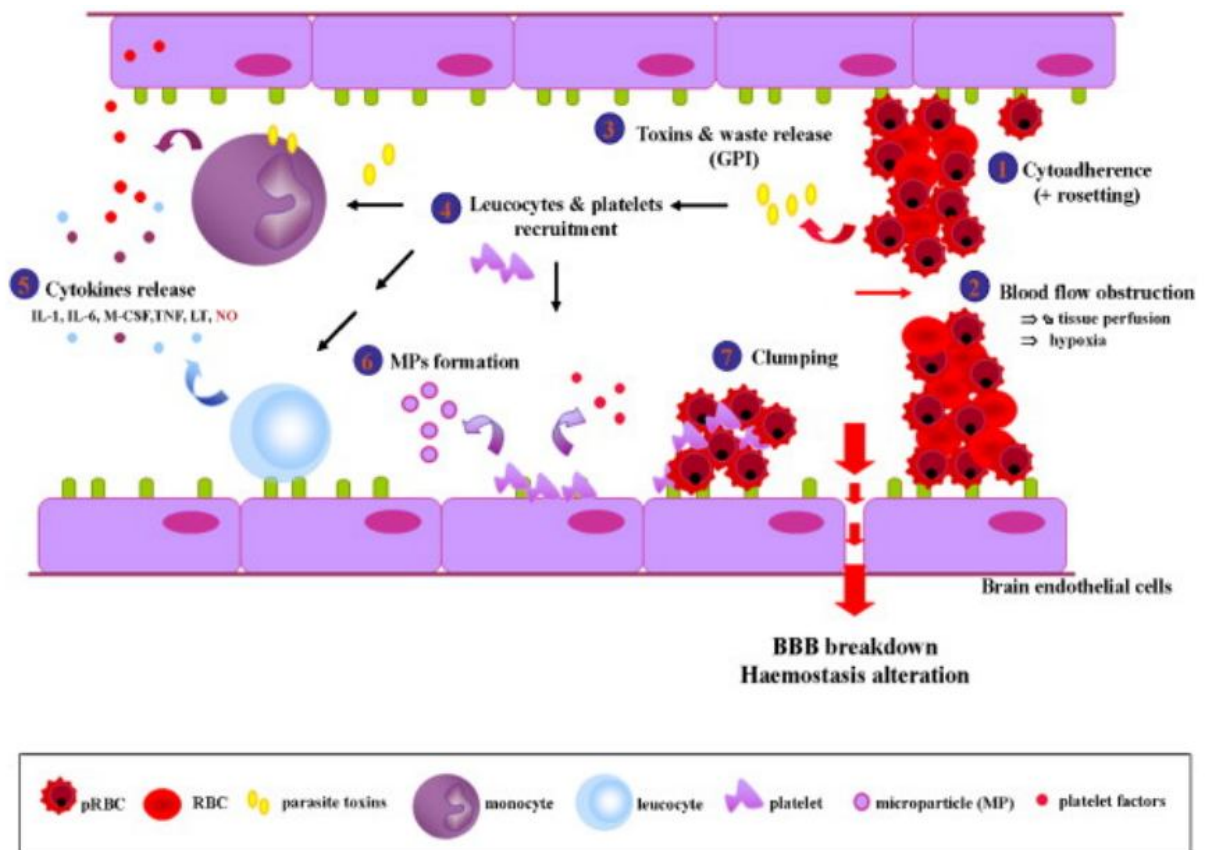


Figure 41 :: Cytoadérence des érythrocytes parasités à l'endothélium vasculaire

P. falciparum erythrocyte membrane protein 1 (PfEMP1) semble jouer un rôle clé dans le phénomène de cytoadhérence parasitaire et constitue donc une cible thérapeutique potentielle dans le traitement de l'accès grave . Cette protéine parasitaire de 300—500 kDa, exprimée dans les « knobs » à la surface du globule rouge parasité, interagit avec des récepteurs spécifiques des cellules de l'hôte lors de la séquestration parasitaire.   l'heure actuelle, une douzaine de récepteurs de l'hôte ont été identifiés comme intervenant dans la séquestration parasitaire : héparane sulfate (HS), récepteur de complément 1 (CR1), antigène du groupe sanguin (ABO), chondroïtine sulfate (CSA), PECAM/CD31, ICAM-

1, CD36, thrombospondine (TSP), VCAM-1, E-sélectine, immunoglobuline non immune (Ig) et le récepteur à la protéine C (EPCR) . Même si l'ensemble de ces récepteurs ont été décrits dans l'accès grave, *P. falciparum* ne possèdent pas un phénotype d'adhésion pour tous ces récepteurs et, par conséquent, ils n'ont pas tous la même importance en fonction de la présentation clinique et biologique de l'accès palustre. Alors que les récepteurs HS et CSA ont plus particulièrement été décrits dans le paludisme gestationnel, ABO, CR1 et Ig semblent impliqués dans le phénomène de rosetting. CD36 est un récepteur constitutif de l'endothélium dont le rôle est controversé .ICAM-1 et plus récemment EPCR sont actuellement, d'après les résultats de récentes études in vitro, les récepteurs potentiellement impliqués dans l'accès grave et plus particulièrement dans l'atteinte cérébrale chez l'enfant de moins de 5 ans en Afrique subsaharienne . L'identification du récepteur impliqué dans la survenue d'un accès grave permettrait de développer de nouvelles thérapeutiques contre la séquestration parasitaire.

Dans le génome de *P. falciparum*, la protéine PfEMP1 est codée par une soixantaine de gènes appartenant à la famille des gènes var. Ce groupe de gènes, principalement situé dans les régions subtelomériques du chromosome, est caractérisé par une fréquence élevée de recombinaison génique à l'origine d'une grande diversification du répertoire des gènes var. La conséquence directe de ce polymorphisme génique est une grande variation antigénique de PfEMP1 qui permet au parasite d'échapper au système immunitaire de l'hôte et d'avoir un grand nombre de phénotype d'adhésion associé à la séquestration parasitaire .

Cette variation antigénique et phénotypique de PfEMP1 est associée à la composition variable du domaine d'adhésion de la protéine en N-terminal composé d'une succession de domaines protéiques tels que les domaines duffy bindinglike (DBL) et les régions inter-domaine riche en cystéine (CIDR). De par leur localisation génomique, leur sens de transcription et leur nombre, les gènes var ont été classés en différents groupes : A, B, C, B/A, B/C, var1, var2csa, var3 et var4 . Des études de terrain en zone d'endémie et des études in vitro ont mis en évidence l'implication des gènes var du groupe A, B et B/A dans le neuropaludisme en zone d'endémie . Dans différents génomes de souches de *P. falciparum*, des études d'alignement de 399 séquences protéiques de PfEMP1 des différents groupes cités précédemment ont mis en évidence 23 domaines protéiques conservés appelés domaine cassette (DC) dont certains comme DC8, DC13, DC4 et DC5 sont devenus des candidats potentiels pour l'élaboration d'un vaccin [259] .

Ces processus physiopathologiques suscités (l'infection parasitaire des globules rouges, la destruction des globules rouges parasités et non parasités, l'obstruction qui diminue le flux microcirculatoire, le processus inflammatoire) s'associent pour entraîner la diminution de l'oxygénation des tissus vitaux à l'origine des manifestations cliniques observées au cours du paludisme grave. Cette ischémie tissulaire s'observe également au niveau de la rétine au cours du paludisme , considérée du point de vue vasculaire comme étant le reflet de la circulation cérébrale .A ce titre, la rétinopathie palustre a été identifiée comme un important signe clinique diagnostic et de pronostique de neuropaludisme [242]. Une étude réalisée chez 880 enfants Tanzaniens souffrant de neuropaludisme a révélé que 60% de ces enfants, présentaient une rétinopathie palustre avec un taux de létalité élevé .

Il est vrai que la séquestration des GRP par le biais de la cytoadhérence détermine principalement la physiopathologie du paludisme grave, mais cependant, toute fixation des GRP n'entraîne pas obligatoirement une manifestation de gravité. En effet, la plupart de ces infections donnent lieu à des phénotypes de paludisme non compliqué ou paludisme simple .

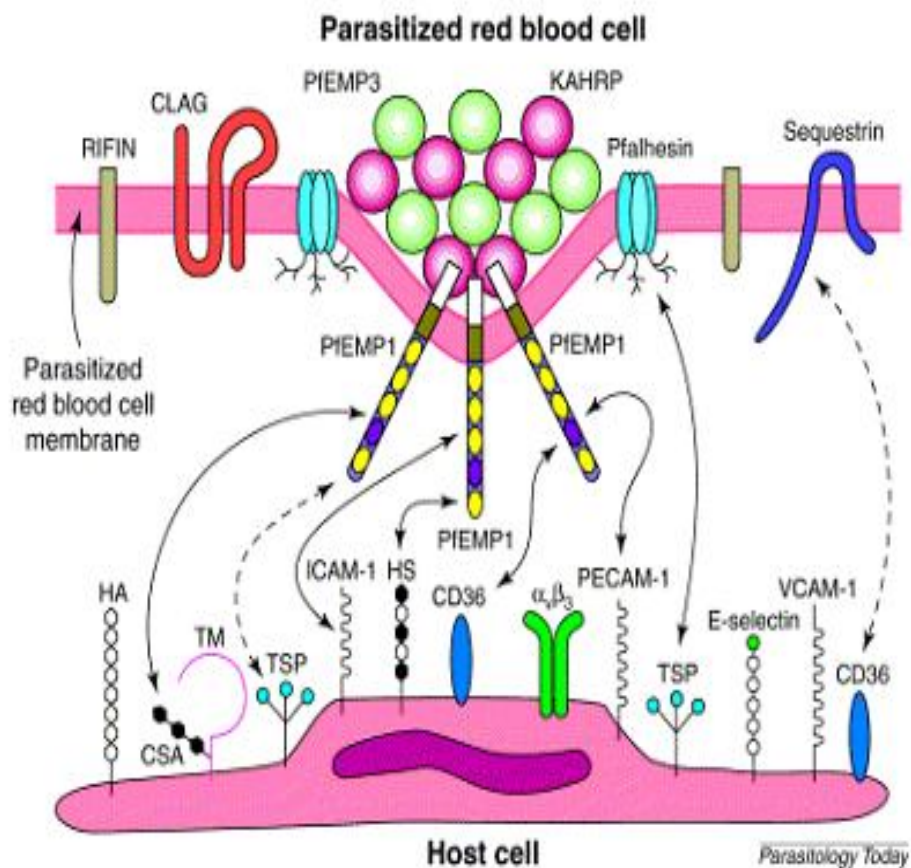


Figure 42 : Représentation schématique des mécanismes moléculaires de la cytoadhérence des GRP à l'endothélium vasculaire de l'hôte [280].

Actuellement, il est largement connu que le stress oxydatif [188] et l'ischémie cérébrale sont une cause importante d'apoptose des cellules cérébrales.

La séquestration des GRP avec des formes parasitaires matures au cours de l'infection palustre entraîne une diminution du flux sanguin au niveau des microvaisseaux se traduisant par une hypoxie tissulaire, des réactions inflammatoires et métaboliques (la surproduction de NO par exemple . Cette ischémie a pour conséquence la mort par apoptose des cellules jouxtant la zone d'ischémie comme cela a été décrit dans l'infection palustre murine et humaine .

A la lumière de ces observations qui précèdent, on peut conclure à un lien de causalité entre neuropaludisme et apoptose des cellules cérébrales d'où la nécessité de disposer d'un traitement adjuvant neuroprotecteur.

2- Rôle des métacaspases

2-1 historique des métacaspases :

Les métacaspases furent découvertes pour la première fois par Aravind au début du 21^{ème} siècle et sont décrit comme des orthologues des caspases . C'est dans cette perspective que Uren et ses collègues ont décrit des paracaspases pour les animaux et les myxomycètes et métacaspases pour les plantes, les champignons et les protéozoaires . Les caspases sont limitées uniquement aux métazoaires tandis que les métacaspases, qui en sont absentes, représenteraient l'ancêtre commun. La proximité phylogénétique présentée par ces deux familles a fait que les métacaspases se sont imposées comme des candidats naturels pour les processus de mort cellulaire.

De nombreuses études ont ainsi cherchées à démontrer le rôle de la métacaspase de levure Yca1p lors de l'apoptose comme processus adaptatif pour la survie des colonies faisant de cet organisme un paradigme pour la compréhension de ce phénomène . Il a été démontré qu'une multitude de stimuli étaient susceptibles de déclencher la mort cellulaire chez la levure, parmi lesquels le stress oxydant , le stress hyperosmotique , le traitement à l'acide acétique ou encore la privation en inositol . Toutefois, l'implication de Yca1p dans ces différents phénomènes n'est pas systématique . De plus, il apparaît que même dans le cas d'une association, l'activité protéase de Yca1p n'est pas toujours le mécanisme déclencheur [216].

De manière intéressante, il a été montré chez d'autres organismes tel que les plantes, et notamment chez *Arabidopsis thaliana*, que deux types de métacaspases étaient exprimés AtMC1 et AtMC2, dont l'une (AtMC1) présente une activité pro-apoptotique et l'autre (AtMC2) une activité anti-apoptotique . Cet ensemble d'observations démontrent la complexité des processus liés aux métacaspases et leur implication directe dans la mort cellulaire programmée en tant que protéase de type caspase est encore soumise à débat .

Les métacaspases sont des protéases à cystéine avec une similitude structurelle aux caspases et possédant une dyade cystéine catalytique histidine. Les caspases et les métacaspases appartiennent à la famille C14 et Clan CD avec des probables différences dans leurs substrats spécifiques. Trois métacaspases ont été décrits dans le génome de deux majeurs parasites du paludisme humain, *Plasmodium falciparum* (PfMCA1-3) et vivax (PvMCA1-3). Chez le parasite de la souris, *Plasmodium berghei* (PbMCA1-3). PxMCA1, est la Seule l'enzyme qui présente histidine et cystéine catalytique dyade. Des études réalisées sur la

métacaspase du *Plasmodium falciparum* ont révélé des phénomènes d'apoptose de type fragmentation de l'ADN du parasite en réponse au traitement de chloroquine ont été décrit il y'a une décennie .

Il a été spéculé que la résistance à la chloroquine a été lié à l'inhibition de l'apoptose. Plutard des études menées chez le *plasmodium berghei* révèle des caractéristiques de l'apoptose incluant la condensation de la chromatine, fragmentation de l'ADN et extériorisation des phosphatidylserine étaient démontré peu d'années après . Par ailleurs des protéines présentant des activités de type caspase ont aussi été identifié dans le cytoplasme des ookinètes, formes présentes chez le moustique, et plus de 50% des parasites ingérés lors de la piqure meurent naturellement par apoptose chez l'anophèle avant leur entrée dans l'intestin du moustique (cible métacaspase). C'est dans cette perspective qu' il démontre également l'indubitable intérêt, l'originalité et le fort potentiel que peuvent représenter le métacaspases de *Plasmodium* dans la lutte contre le paludisme si leur rôle pro-apoptotique est démontré. Des résultats satisfaisants pourraient fournir de nouvelles perspectives dans la lutte contre les maladies tropicales. [216].

2-2 Structure des métacaspases

La structure des métacaspases Des études in silico ont révélé que la structure des métacaspases était très proche des caspases. Les métacaspases possèdent un prodomaine en N-terminal, une grande sous-unité P20, où se trouve la dyade catalytique histidine et cystéine, et une petite sous-unité P10 en Cterminal à l'instar des caspases [216].

Ainsi, les métacaspases ont été classées en trois catégories en fonction de la présence ou de l'absence du prodomaine. Les métacaspases de type I présentent un prodomaine en N-terminal riche en motifs proline répétés et en zinc et sont retrouvées chez les champignons, chez les protozoaires et chez les plantes. Les métacaspases de type II se caractérisent par l'absence du prodomaine, mais présentent tout de même une petite séquence appelée « séquence linker » qui relie la grande sous-unité et la petite sous-unité, et sont présentes chez les plantes, particulièrement chez les plantes vertes, les glaucophytes et les rhodophytes, en plus du type 1 des métacaspases [216].

Récemment, un troisième type (métacaspase type III) a été identifié chez les algues photosynthétiques et les bactéries, qui se caractérise par un échange du domaine putatif P20/P10 [260]. Les métacaspases ont une préférence pour les substrats contenant des résidus basiques lysine et arginine dont l'activité est calcium dépendante, comme cela a été démontré dans de nombreuses études [261] .

Des études phylogénétiques ont tenté de retracer l'histoire commune de ces protéases. Elles ont émis l'hypothèse que les métacaspases, les paracaspases et les caspases ont co-évolué à partir d'un gène ancestral, dont l'origine serait le Transfert Horizontal de Gènes (HGT) entre un endosymbiote mitochondrial, les protobactéries- α et les premiers eucaryotes. De plus, les caspases, les paracaspases et les métacaspases de type I proviendraient d'un ancêtre commun dont l'origine serait un transfert horizontal de gènes entre les endosymbiotes et un hôte eucaryote.

Les métacaspases de type II proviendraient d'un second transfert horizontal de gènes d'un plaste à partir d'une cyanobactérie par endosymbiose [262]. Une comparaison entre les caspases, les paracaspases et les métacaspases est montrée dans la Figure

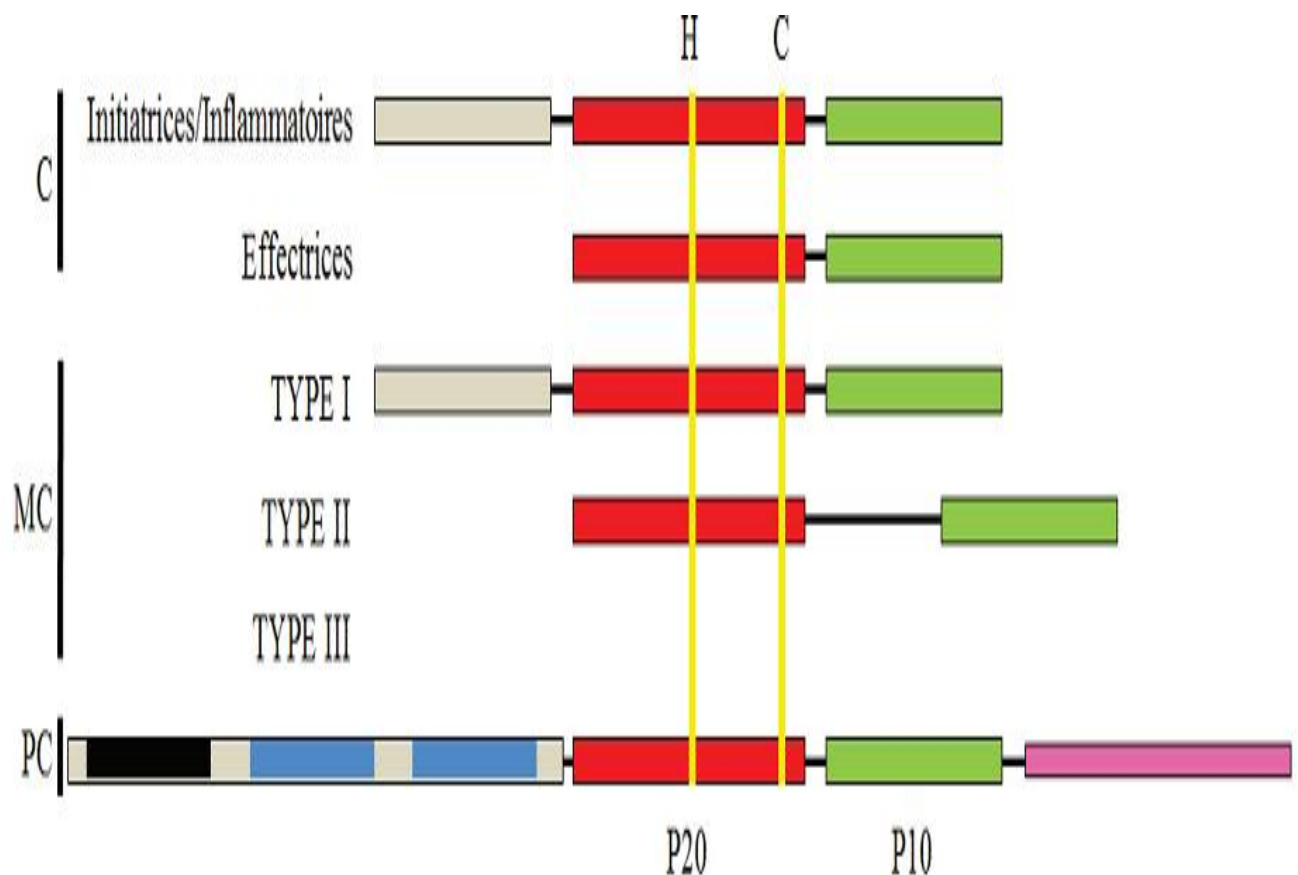


Figure 42 : Représentation schématique des propriétés structurales des caspases, métacaspases et paracaspases .

2-3 Métacaspases des Plasmodium

L'annotation du génome des Plasmodium humains (*P. falciparum* et *P. vivax*) et le Plasmodium murin (*P. berghei*) révèlent chacun la présence des trois gènes codant les métacaspases : dans le génome de *P. falciparum* (PfMCA1 (PF_0289), PfMCA2 (PF14_0363) et PfMCA3 (PF14_0160) et dans le génome de *P. vivax* (PvMC1 (Pv114725), PvMC2 (Pv118575) et PvMC3 (Pv08564), et dans le génome de *P. berghei* (PbMC1(PB001074), PbMC2 (PB000485) et PbMC3 (PB000564). Des études d'alignements de séquences ont révélé que

seuls PfMCA1, PvMC1 et PbMC1 possèdent les résidus histidine et cystéine dans la dyade catalytique Figure 20 . Parmi ces trois enzymes, seule la PfMCA1 appartenant au type I des métacaspases est la plus étudiée et son rôle dans l'apoptose a été démontré . Une étude sur l'activité protéolytique de PfMCA1 chez la levure a mis en évidence une activité apoptotique du domaine catalytique de PfMCA1 par une mort cellulaire des levures. De plus, un phénomène d'auto-clivage de la protéine après son expression a été rapporté et cette activité était calcium dépendante [263] .

Cependant, le rôle des métacaspases dans la mort cellulaire programmée chez ces organismes unicellulaires fait l'objet des débats controversés. Ces métacaspases ont été démontrées non seulement jouer un rôle dans la mort cellulaire programmée (PCD), mais également dans le processus de contrôle de la prolifération cellulaire, la biogénèse mitochondriale démontrée par l'expression hétérologue de la métacaspase 4 de *T. brucei* chez *S. cerevisiae* et d'autre part la prolifération cellulaire chez *L. major* [264] . Mais de manière intéressante, ces métacaspases sont absentes chez les métazoaires. De ce fait, elles peuvent être des bonnes cibles thérapeutiques pour de nombreuses pathologies parasitaires telles que les trypanosomoses, les leishmanioses et le paludisme.

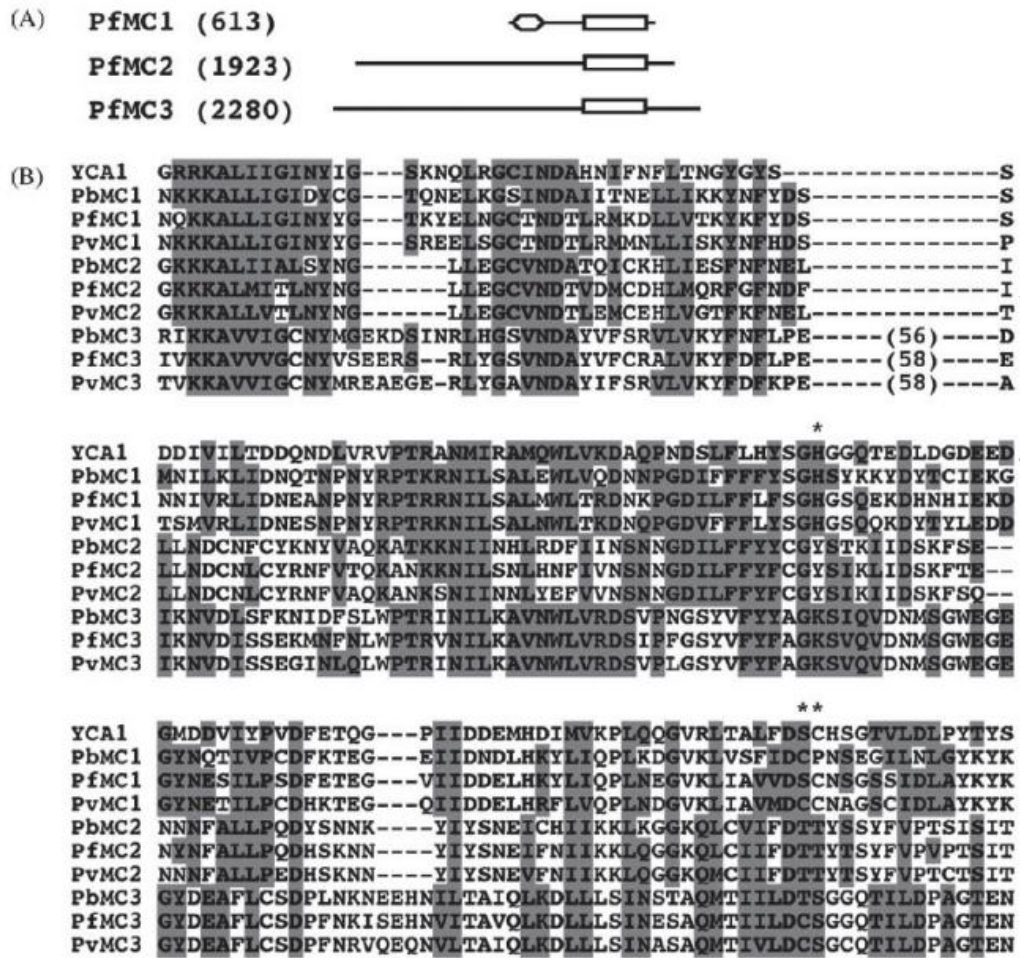
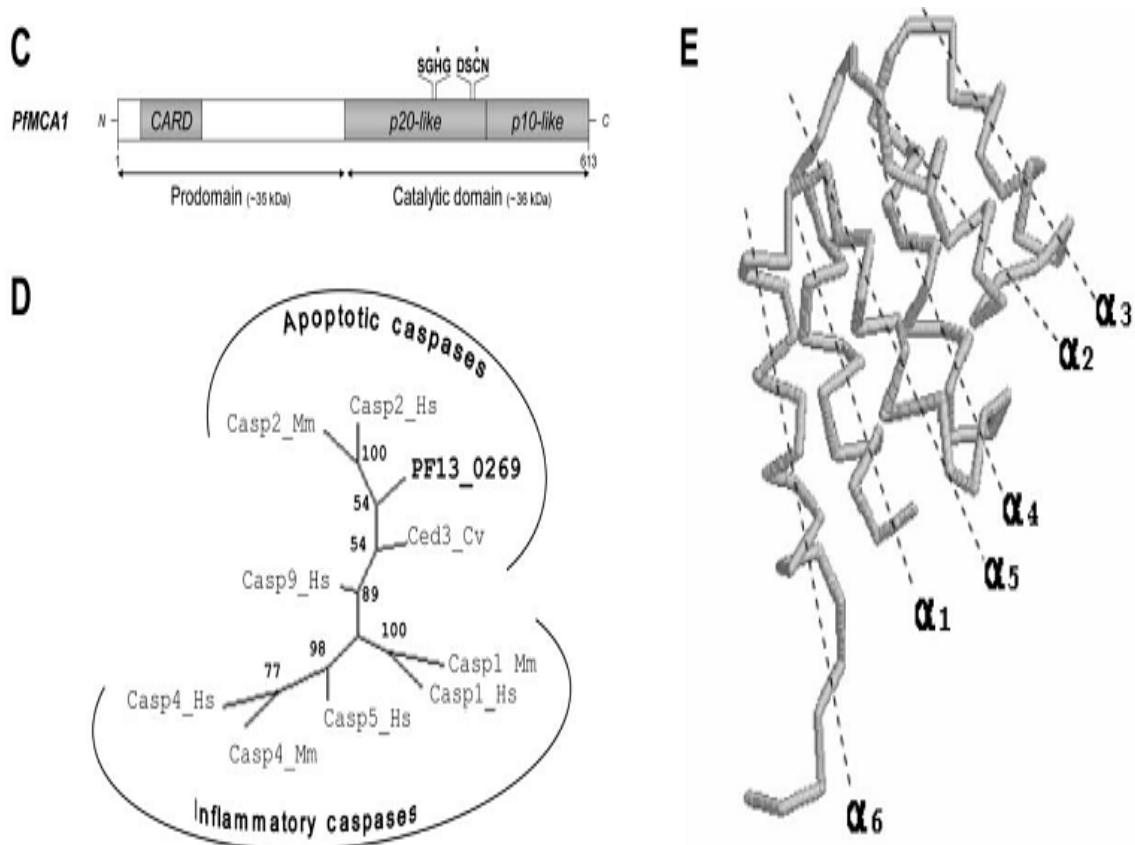


Figure .44 : Représentation schématique des protéines de PxMC1, PxMC2, et PxMC3 des Plasmodium (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. berghei*)

A) Les trois métacaspases de *P. falciparum* : le rectangle indique le domaine C14_peptidase conservé et le losange le domaine C2 (calcium).

B) Alignement multiple (Clustal W) du domaine C14_peptidase conservé entre PxMC1, PxMC2, et PxMC3 des Plasmodium et la métacaspase 1 de levure *S. cerevisiae* (Yca1). Les astérisques indiquent la position des résidus histidine et cystéine de la dyade catalytique. (D'après Le Chat et al., 2007).



C, Représentation schématique de la structure primaire prédite de PfMCA1. Prodomaine prédit portant un putatif CARD et domaine catalytique contenant le p20-like et le p10-like. Les résidus SGHG et DSCN sont indiqués.

D, arbre phylogénétique pour les CARDs. L'arbre montre la relation entre les CARDs apoptotiques et inflammatoires avec le CARD putatif identifié dans PfMCA1. L'arbre a été construit en utilisant la méthode de parcimonie maximale et a été bootstrapé 1000 fois (les valeurs bootstrap des branches sont données, seules les valeurs supérieures à 50% sont montrées).

E, modélisation de la carte PfMCA1. La vue du modèle de PfMCA1 CARD est basée sur sa similitude avec RAIDD CARD (identification de banque de données de protéine, 3CRD); les 6 hélices- α sont indiquées et étiquetées (α_1 - α_6). L'axe des α -hélices est indiqué par une ligne pointillée. Les numéros d'accès sont Casp3_Hs (P42574), Casp9_Hs (P55211), PF13_0289 (ABC84559), Meta1_Pb (CAD88480), PF14_0363 (NP_702252), Meta2_Pb (CAD88481), AtMCA2 (AAP84707), TbMCA3 (CAD24804), Casp1_Mm (P29594), Casp2_Hs (P42575), Casp4_Mm (P70343) et Casp5_Hs (P51878).

2-4 Métacaspase 1 de *Plasmodium falciparum* (PfMCA1) cible thérapeutique contre le paludisme

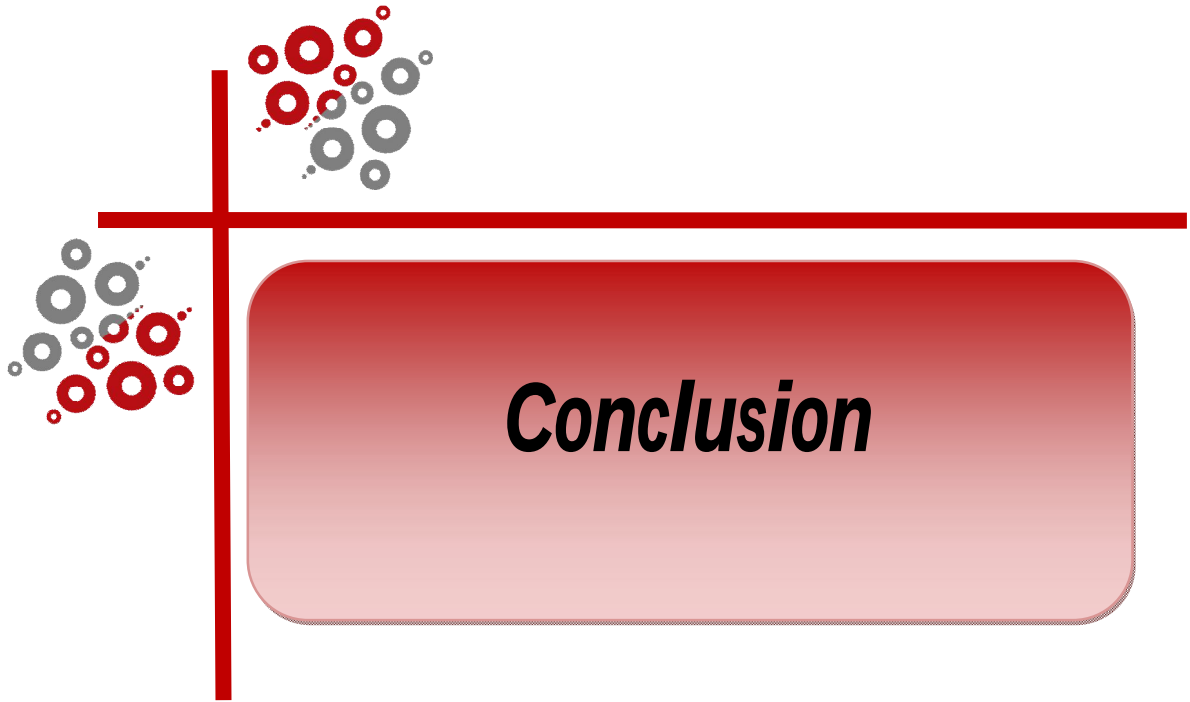
Le gène de la métacaspase 1 de *P. falciparum* (PfMCA1) est long de 1 842 paires de bases et code une protéine de 613 acides aminés avec une masse prédite à 71,6 kDa [21] . Pour les *Plasmodium*, aucune structure des métacaspases n'a encore été déterminée. Toutefois, les précédents travaux ont été basés sur des modèles moléculaires *in silico* pour prédire les différentes structures de PfMCA1. Cependant des études d'expression hétérologues de PfMCA1 chez les bactéries, les levures et les cellules COS7 (cellules de singes) ont démontré le rôle de PfMCA1 dans l'apoptose et une activité protéolytique à l'instar des caspases [21 ; 261] . Ainsi, ces récents travaux ont mis en évidence le rôle essentiel de l'apoptose dans le développement des parasites unicellulaires, même si des controverses persistent sur la réelle nature de cette mort [265 ;266]. La connaissance des régulateurs de cette protéine, ainsi que le détail des mécanismes par lesquels PfMCA1 induit la mort cellulaire, permettrait de traiter la maladie en agissant sur ces mécanismes de mort intrinsèque du parasite. Par ailleurs, le mécanisme d'auto-clivage des métacaspases suite à leur expression a largement été rapporté chez plusieurs protozoaires (*T. brucei*, *L. major* et *P. falciparum*) [21 ;267] . Ce phénomène d'auto-clivage complexe reste encore très peu élucidé et rend difficile les études de détermination de structure de PfMCA1, afin de réaliser le docking moléculaire à la recherche des nouvelles molécules candidates thérapeutiques.

2-5 Traitements adjuvants : à la recherche de nouvelles molécules

On sait que le neuropaludisme, complication majeure du paludisme grave, entraîne une létalité de 15 à 20% et une proportion importante de séquelles neuro-cognitives malgré un traitement adéquat [268 ;269 ;270] . Plus de la moitié de ces décès surviennent dans les 24 premières heures [271] . Des études montrent également que l'adhésion des globules rouges parasités observée au cours du neuropaludisme induit une ischémie cérébrale et une apoptose des neurones chez 20% de patients avec des manifestations neurologiques [272] .A la lumière de ces données, on peut formuler l'hypothèse que la survenue de la majorité des décès dans les 24 premières heures est due aux conséquences de l'obstruction des microvaisseaux et à l'absence d'effet de l'anti-paludique pendant cette période. D'où la nécessité d'un neuroprotecteur afin de permettre à l'anti-paludique d'agir. L'érythropoïétine (EPO), appartenant à la famille des cytokines de type I, est connue pour ses effets sur l'érythropoïèse [273] ; sur la neuroprotection par passage de la barrière hémato-encéphalique justifiant son utilisation dans les accidents vasculaires cérébraux ischémiques [274] ; anti-inflammatoire ; immuno-modulateur ; anti-apoptotique et anti-oxydant [274] et effet protecteur des cellules rétinienne chez des rats diabétiques [275] . L'érythropoïétine est largement utilisée dans le paludisme grave du modèle murin. Utilisée par voie systémique au début des manifestations neurologiques chez la souris infectée par *Plasmodium berghei* ANKA, l'EPO recombinante humaine protège plus de 60% des souris du décès, avec moins d'hémorragies périvasculaires cérébrales. En revanche, elle n'a d'effet ni sur la parasitémie ni sur l'apoptose cérébrale et la régulation de NO. Elle agirait par immunomodulation de la sécrétion du TNF – α et de l'IFN - γ dont les niveaux sont élevés chez des patients atteints de neuropaludisme, d'où son effet anti-inflammatoire . Très peu de données existent sur les effets de l'EPO dans le

paludisme grave humain. Les premières données chez l'homme sont fournies par Picot et al qui ont réalisé au Mali (Bamako) une étude prospective ouverte aux patients souffrant de paludisme grave. Cette étude a été menée sur 35 patients comateux avec un score de Blantyre inférieur à 3. Elle avait pour but d'évaluer l'innocuité à court terme (sept jours) de l'érythropoïétine à des doses élevées de 1500U/kg/jour pendant trois jours associés à la quinine. Aucun des effets secondaires attendus de l'EPO n'a été observé durant les 7 jours de suivi. Il n'a pas été noté non plus une augmentation significative du taux de létalité (7 /35) par rapport à d'autres études qui ont des taux variant entre 16 et 22% . Une autre étude récente montre également que des niveaux plasmatiques élevés d'EPO observés chez des enfants souffrant de neuropaludisme étaient associés à un meilleur résultat [276] . Ces données fournissent la première preuve de l'innocuité à court terme de l'EPO à des doses élevées combinées à la quinine chez l'humain [251] .

Une étude récente en 2018 a caractérisée par la biochimie la métacaspase-2 (PfMCA-2) de *P.falciparum*. Des dosage enzymatique ont montré que PfMCA-2 clivait efficacement le peptide spécifique de l'arginine / lysine, mais pas le substrat spécifique des caspases. De façon constante, l'activité de PfMCA-2 était sensible à l'inhibiteur effecteur des caspases, Z-FA-FMK, et légèrement inhibée par l'aprotinine et E-64. Cependant, les inhibiteurs généraux de la caspase tels que Z-VAD-FMK et Z-DEVD-FMK n'ont eu aucun effet sur l'activité de PfMCA-2. Z-FA-FMK inhibe la croissance du parasite avec une valeur IC₅₀ de 2,7µM avec les changements morphologiques notables. [281] Ainsi la métacaspase-2 de *P.falciparum*.(PfMCA2) constitue une nouvelle cible thérapeutique contre le paludisme en voie d'étude.



IV-CONCLUSION

L'apoptose est définie comme un processus normal se produisant durant le développement et dans divers tissus de l'organisme adulte. Les mécanismes responsables de l'apoptose sont impliqués dans de nombreux aspects de maladies humaines. La réponse apoptotique est en fait l'intégration de multiples voies de signalisation différentes et complexes qui vont communiquer, bifurquer et s'autoréguler. La mitochondrie a pris une place essentielle dans la description de l'apoptose de ses mécanismes de régulation.

L'apoptose a été initialement comprise comme un phénomène de régulation au sein d'un organisme pluricellulaire, mais la démonstration de son existence chez les unicellulaires et en particulier les protozoaires a été faite au cours de la dernière décennie, ce qui a permis d'ouvrir un champs d'études parmi les plus passionnants de la relation hôte-parasite notamment au cours du Paludisme.

L'accès palustre grave à *P. falciparum* représente encore une cause importante de mortalité en zone intertropicale notamment chez les enfants de moins de 5 ans.

Une meilleure connaissance des mécanismes de l'apoptose et de la spécificité tissulaire des métacaspases dans le plasmodium permettent d'envisager dans l'avenir le développement d'inhibiteurs synthétiques comme des candidats sérieux à l'intervention thérapeutique.

Des études récentes ont démontré l'efficacité de l'érythropoïétine pour le traitement du neuropaludisme.

La surveillance des résistances et la recherche de nouveaux traitements sont les enjeux de demain.



Résumé

RESUME

Titre : Apport de l'apoptose dans le paludisme

Auteur : IMANE OUIAZZA

Mots clés : apoptose-paludisme-caspase-

Le concept d'apoptose a été introduit en 1972 par Kerr, Wyllie et Currie pour décrire une forme de mort cellulaire différente de la nécrose, seule forme de mort cellulaire connue et bien individualisée jusqu'à cette date. Contrairement à la nécrose en effet, L'apoptose se caractérise par une rétraction de la cellule, une agglomération autour du noyau d'organites cytoplasmiques encore intacts et une modification particulière de la chromatine nucléaire qui se condense en volumineux amas, ensemble d'altérations rapidement suivi de la fragmentation de la cellule en corps apoptotiques qui se détachent alors du tissu pour être phagocytés par les macrophages ou les cellules voisines. Le choix par Kerr et ses collègues du mot apoptose, qui vient du grec, rappelle cette dernière particularité : il signifie en effet chute et, avec un brin de poésie, comme le remarque Kerr, la cellule en apoptose se détache de ses voisines comme les pétales qui se détachent de la fleur ou les feuilles qui tombent des branches en automne.

Depuis un peu plus d'une décennie, des chercheurs se sont intéressés à la place que pourrait occuper l'apoptose dans la biologie des parasites et la physiopathologie des maladies parasitaires, notamment le Paludisme. Un champ d'exploration passionnant et complexe s'est ouvert, d'où pourront peut-être émerger de nouveaux concepts.

Dans notre travail nous allons étudier le rôle de l'apoptose dans le Paludisme, particulièrement dans l'accès grave ceci en décrivant la mort apoptotique et ses mécanismes lors le paludisme. Une meilleure connaissance des mécanismes de l'apoptose et de la spécificité tissulaire des caspases chez le *Plasmodium* permettront d'envisager une meilleure compréhension de la physiopathologie du neuropaludisme et d'envisager par la suite d'apporter de nouveaux moyens thérapeutique contre le neuropaludisme.

Abstract

Title: Contribution of apoptosis in malaria

Author : IMANE OUIAZZA

Keywords : apoptosis-malaria-caspase

The concept of apoptosis was introduced in 1972 by Kerr, Wyllie and Currie to describe a form of cell death other than necrosis, the only form of cell death known and well individualized to date. In contrast to necrosis, apoptosis is characterized by a retraction of the cell, an agglomeration around the nucleus of cytoplasmic organelles still intact and a particular modification of the nuclear chromatin which condenses into bulky masses, set of alterations rapidly. followed by fragmentation of the cell into apoptotic bodies which then become detached from the tissue to be phagocytosed by macrophages or neighboring cells. The choice by Kerr and his colleagues of the word apoptosis, which comes from the Greek, is reminiscent of this last peculiarity: it actually signifies a fall and, with a touch of poetry, as Kerr observes, the cell in apoptosis detaches itself from its neighbors like the petals that stand out from the flower or the leaves that fall from the branches in autumn.

For a little over a decade, researchers have investigated the place that apoptosis might occupy in the biology of parasites and the pathophysiology of parasitic diseases, including malaria. A fascinating and complex field of exploration has opened, from which new concepts may emerge.

In our work we will study the role of apoptosis in malaria, particularly in severe access, by describing apoptotic death and its mechanisms in malaria. A better understanding of the mechanisms of apoptosis and the tissue specificity of caspases in Plasmodium will allow a better understanding of the pathophysiology of neuropaludism and consider further to provide new therapeutic means against cerebral malaria.

الملخص

العنوان: إسهام الاستماتة في داء الملاريا

المؤلف: إيمان وعزى

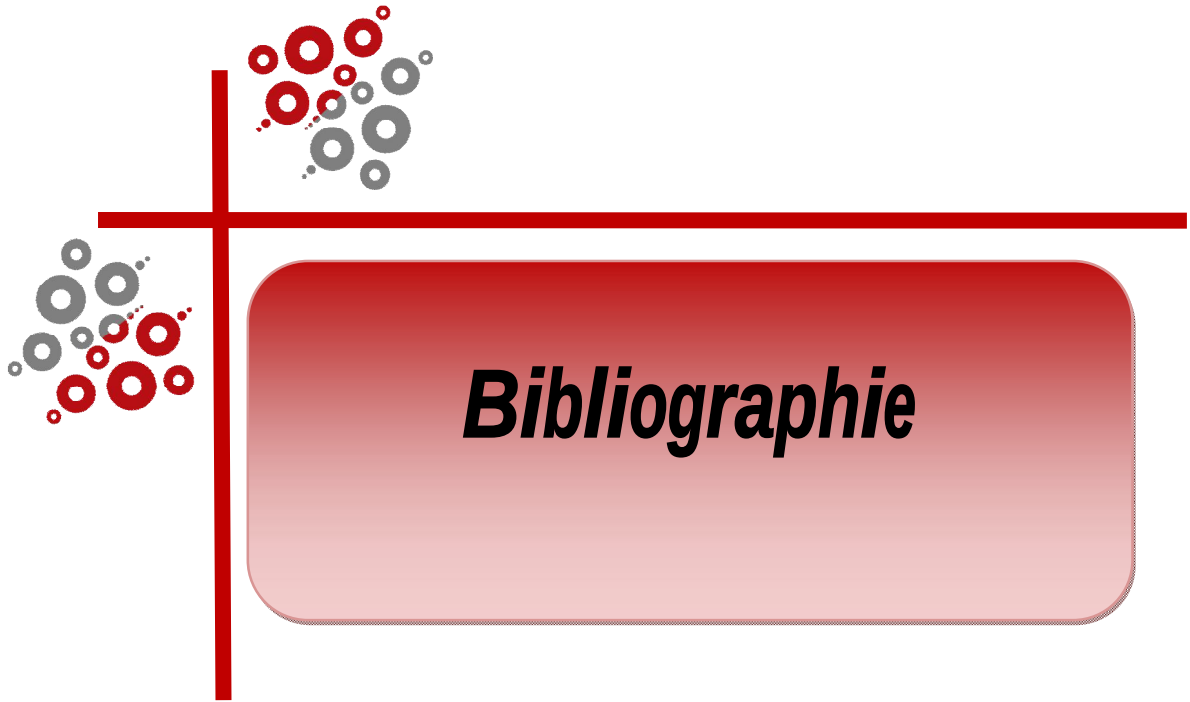
الكلمات الأساسية: استماتة- ملاريا- كاسباز

لقد أُدخل مفهوم الاستماتة سنة 1972 من لدن كيير وويلي وكيري من أجل وصف شكل الموت الخلوي المختلف عن النخر الذي كان شكل الموت الخلوي الوحيد المعروف إلى حدود ذلك التاريخ. في الواقع وبخلاف النخر تتميز الاستماتة بانكماش الخلية وتكوم حول النواة وعضيات الجبلة المُحِيطِيَّة التي لازالت سالمة، وتحول خاص للكروماتين النووي الذي يتكثف إلى كتل ضخمة، يتبع بسرعة مجموع هذه التحولات تَشْدُفُ الخلية إلى جسم استماتي ينفصل من النسيج ليتم بلعمته من لدن البلعميات أو الخلايا المجاورة. استوحى كيير وزملاؤه كلمة استماتة من اليونانية، فهي تدل على الخصائص الخاصة السابقة الذكر، لكنها تعني في الواقع السقوط، مع لمسة من الشعر، كما لاحظ كيير، يتم فصل الخلية المستميتة عن جيرانها مثل البتلة المنفصلة عن الزهرة أو الأوراق التي تسقط من الفروع في الخريف.

اهتم الباحثون لمدة تزيد قليلا عن عشر سنوات، بالمكانة التي تحتلها الاستماتة في بيولوجيا الطفيليات والفيزيولوجيا المرضية للأمراض الطفيلية، خاصة الملاريا، ليفتح مجال استكشاف واسع مشوق ومعقد قد تظهر منه مفاهيم جديدة.

سنقوم في عملنا هذا بدراسة دور الاستماتة في داء الملاريا، خصوصا في النوبة الوخيمة عن طريق وصف الموت الاستماتي وآلياته في داء الملاريا.

تمكن المعرفة الحقة لآليات الاستماتة وللخصائص النسيجية الكاسبازات عند المتصورة من فهم أفضل للفيزيولوجيا المرضية للملاريا العصبية، و النضر في وقت لاحق لتوفير وسائل علاجية جديدة ضده.



Bibliographie

- [1] Kerr J.E.R., Wyllie A.H., Currie A.R., Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *Br. J. Cancer* 26 (1972) 239-257.
- [2] Biava C., Mukhlova-Montiel M., Electron micro- scopic observations on Councilman-like acido- philic bodies and other forms of acidophilic changes in human liver cells, *Am. J. Pathol.* 46 (1965) 775-802.
- [3] Wyllie A.H., Kerr J.E.R., Currie A.R., Cell death: the significance of apoptosis, *Int. Rev. Cytol.* 68 (1980) 251-306.
- [4] Wyllie A.H., Glucocorticoid-induced thymo- cyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation, *Nature* 284 (1980) 555- 556
- [5] Wyllie A., An endonuclease at last, *Nature* 391 (1998) 20-21.
- [6] Ellis H.M., Horvitz H.R., Genetic control of pro- grammed cell death in the nematode *C. elegans*, *Cell* 44 (1986) 817-829.
- [7] Hengartner M.O., Ellis R.E., Horvitz H.R., *C. elegans* gene *ced-9* protects cells from pro- grammed cell death, *Nature* 356 (1992) 494-499.
- [8] Vaux D.L., Cory S., Adams J.M., *Bcl-2* gene promotes haemopoietic cell survival and coope- rates with *c-myc* to immortalize pre-B cells, *Nature* 335 (1988) 440-442.
- [9] Vaux D.L., Weissman I.L., Kim S.K., Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis ele- gans* by human *bcl-2*, *Science* 258 (1992) 1955- 1957

- [10] Hockenbery D., Nunez G., Milliman C., Schreiber R.D., Korsmeyer S.J., Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death, *Nature* 348 (1990) 334- 336.
- [11] Hengartner M.O., Horvitz H.R., C. elegans cell survival gene ced-9 encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene bcl- 2, *Cell* 76 (1994) 665-676.
- [12] Yuan J., Shaham S., Ledoux S., Ellis H.M., Horvitz H.R., The C. elegans cell death gene ced- 3 encodes a protein similar to mammalian interleukin-113 converting enzyme, *Cell* 75 (1993) 641 - 652.
- [13] Cohen G.M., Caspases: the executioners of apoptosis, *Biochem. J.* 326 (1997) 1-16.
- [14] Alnemri E.S., Livingston D.J., Nicholson D.W., Salvesen G., Thornberry N.A., Wong W.W., Yuan J., Human ICE/CED-3 protease nomenclature, *Cell* 87 (1996) 171.
- [15] Tan X., Wang J.Y.J., The caspase-RB connection in cell death, *Trends Cell Biol.* 8 (1998) 11-20.
- [16] Williams G.T., Smith C.A., Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death, *Cell* 74 (1993) 777-779.
- [17] Gerard Friedman, le concept d'apoptose, revue française des laboratoires mars 1999 num 311 elsevier paris
- [18] PICOT S, BURNOD J, B R ACCHI V et Coll - Apoptosis related to chloroquine sensitivity of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997 ; 91 : 590-1.

- [19] Picot S (2006). Apoptose et mort cellulaire programmée, un nouveau paradigme de la relation hôte/parasite = Apoptosis and programmed cell death. Host parasite relationship new paradigm. *Med Trop* 66; 2: 111-117.
- [20] Hurd H, Grant KM, Arambage SC (2006). Apoptosis-like death as a feature of malaria infection in mosquitoes. *Parasitology*. 132 Suppl: S33-47. Review.
- [21] Meslin B, Barnadas C, Boni V, Latour C, De Monbrison F, Kaiser K, Picot S (2007). Features of apoptosis in *Plasmodium falciparum* erythrocytic stage through a putative role of PfMCA1 metacaspase-like protein. *J Infect Dis*. 15; 195(12):1852-9.
- [22] AMEISEN JC - Looking for death at the core of life in the light of evolution. *Cell Death Differ* 2004 ; 11 : 4 - 10 .
- [23] Clarke P (2009). Control of apoptosis and autophagy by cellular signalling pathways. *FEBS J*. 2009 Sep 29.
- [24] Bredesen DE (2008). Programmed cell death mechanisms in neurological disease. *Curr Mol Med*. 8 (3):173-86
- [25] Hajra KM, Liu JR (2004). Apoptosome dysfunction in human cancer. *Apoptosis*. 9(6):691-704. Review.
- [26] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES et al (2009). Nomenclature Committee on Cell Death 2009 (2009). Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ*. 2009 Jan; 16(1):3-11.

- [27] Clarke PG (1990). Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol (Berl)*. 181(3):195-213. Review.
- [28] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES et (2005). Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat Rev Cancer*. 5(11):886-97. Review.
- [29] Bursch W (2001). The autophagosomal-lysosomal compartment in programmed cell death. *Cell Death and Differentiation*. 2001; 8:569–581.
- [30] Bursch W, Karwan A, Mayer M, Dornetshuber J, Fröhwein U, Schulte-Hermann R, Fazi B, Di Sano F, Piredda L, Piacentini M, Petrovski G, Fésüs L, Gerner C (2008). Cell death and autophagy: cytokines, drugs, and nutritional factors. *Toxicology*. 30; 254(3):147-57. Epub 2008 Jul 23. Review.
- [31] Gozuacik D, Kimchi A (2007). Autophagy and cell death. *Curr Top Dev Biol*. 78:217-45. Review
- [32] Boya P, Gonzalez-Polo RA, Poncet D, Andreau K, Vieira HL, Roumier T, Perfettini JL, Kroemer G (2003). Mitochondrial membrane permeabilization is a critical step of lysosome-initiated apoptosis induced by hydroxychloroquine. *Oncogene*. 22(25):3927-36.
- [33] Orrenius S. : Mitochondrial regulation of apoptotic cell death, *Toxicol. Lett* 2004, 149 : 19-23.
- [34] Borner, C. : The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions, *Mol. Immunol*. 2003, 39 : 615-47.

- [35] Ouellet, M. : Analyse fonctionnelle d'homologues végétaux de Bax Inhibitor-1 et développement d'un modèle de mort cellulaire programmée induite par Bax chez des cultures cellulaires de *Nicotiana tabacum*, 130 p Maîtrise Biochimie : Université Laval Québec : 2004 ; 6
- [36] Reed J.C. : Mechanisms of apoptosis, *Am. J. Pathol.* 2000, 157 : 1415-1430
- [37] Zha J., Weiler S., Oh K.J., Wei M.C., Korsmeyer S.J. : Posttranslational N-myristoylation of BID as a molecular switch for targeting mitochondria and apoptosis, *Science* 2000, 290 : 1761-1765
- [38] Adolphe M., Barlovatz-Meimon G., Guillouzo C., Ronot X. : Culture de cellules animales, Paris : INSERM, 2003, 898 p
- [39] Ricci J.E., INSERM U526, Faculté de médecine de Nice Les mécanismes moléculaires de l'apoptose, 2000 : <http://www.123bio.net/revues/jericci/iapoptose.html>
- [40] Lavrik, I., A. Golks, and P. H. Krammer, 2005, Death receptor signaling: *J Cell Sci*, v. 118, p. 265-7.
- [41] Schulte, M., K. Reiss, M. Lettau, T. Maretzky, A. Ludwig, D. Hartmann, B. de Strooper, O. Janssen, and P. Saftig, 2007, ADAM10 regulates FasL cell surface expression and modulates FasL-induced cytotoxicity and activation-induced cell death: *Cell Death Differ*, v. 14, p. 1040-9.
- [42] Nikolaev, A., T. McLaughlin, D. D. O'Leary, and M. Tessier-Lavigne, 2009, APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases: *Nature*, v. 457, p. 981-9.

- [43]** Strasser, A., P. J. Jost, and S. Nagata, 2009, The many roles of FAS receptor signaling in the immune system: *Immunity*, v. 30, p. 180-92.
- [44]** Micheau, O., and J. Tschopp, 2003, Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes: *Cell*, v. 114, p. 181-90.
- [45]** Legge, K. L., and T. J. Braciale, 2005, Lymph node dendritic cells control CD8⁺ T cell responses through regulated FasL expression: *Immunity*, v. 23, p. 649-59.
- [46]** Migone, T. S., J. Zhang, X. Luo, L. Zhuang, C. Chen, B. Hu, J. S. Hong, J. W. Perry, S. F. Chen, J. X. Zhou, Y. H. Cho, S. Ullrich, P. Kanakaraj, J. Carrell, E. Boyd, H. S. Olsen, G. Hu, L. Pukac, D. Liu, J. Ni, S. Kim, R. Gentz, P. Feng, P. A. Moore, S. M. Ruben, and P. Wei, 2002, TL1A is a TNF-like ligand for DR3 and TR6/DcR3 and functions as a T cell costimulator: *Immunity*, v. 16, p. 479-92.
- [47]** Wiley, S. R., K. Schooley, P. J. Smolak, W. S. Din, C. P. Huang, J. K. Nicholl, G. R. Sutherland, T. D. Smith, C. Rauch, C. A. Smith, and et al., 1995, Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis: *Immunity*, v. 3, p. 673-82.
- [48]** Cretney, E., K. Takeda, H. Yagita, M. Glaccum, J. J. Peschon, and M. J. Smyth, 2002, Increased susceptibility to tumor initiation and metastasis in TNF-related apoptosis-inducing liganddeficient mice: *J Immunol*, v. 168, p. 1356-61.

- [49] Nagata, Y., K. H. Lan, X. Zhou, M. Tan, F. J. Esteva, A. A. Sahin, K. S. Klos, P. Li, B. P. Monia, N. T. Nguyen, G. N. Hortobagyi, M. C. Hung, and D. Yu, 2004, PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients: *Cancer Cell*, v. 6, p. 117-27.
- [50] Fanger, N. A., C. R. Maliszewski, K. Schooley, and T. S. Griffith, 1999, Human dendritic cells mediate cellular apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): *J Exp Med*, v. 190, p. 1155-64.
- [51] Griffith, T. S., S. R. Wiley, M. Z. Kubin, L. M. Sedger, C. R. Maliszewski, and N. A. Fanger, 1999, Monocyte-mediated tumoricidal activity via the tumor necrosis factor-related cytokine, TRAIL: *J Exp Med*, v. 189, p. 1343-54.
- [52] Holoch, P. A., and T. S. Griffith, 2009, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): A new path to anti-cancer therapies: *Eur J Pharmacol*.
- [53] LA, O. R., L. Tai, L. Lee, E. A. Kruse, S. Grabow, W. D. Fairlie, N. M. Haynes, D. M. Tarlinton, J. G. Zhang, G. T. Belz, M. J. Smyth, P. Bouillet, L. Robb, and A. Strasser, 2009, Membrane-bound Fas ligand only is essential for Fas-induced apoptosis: *Nature*, v. 461, p. 659-63.
- [54] Edelblum, K. L., J. A. Goettel, T. Koyama, S. J. McElroy, F. Yan, and D. B. Polk, 2008, TNFR1 promotes tumor necrosis factor-mediated mouse colon epithelial cell survival through RAF activation of NF-kappaB: *J Biol Chem*, v. 283, p. 29485-94.

- [55] Borysenko, C. W., V. Garcia-Palacios, R. D. Griswold, Y. Li, A. K. Iyer, B. B. Yaroslavskiy, A. C. Sharrow, and H. C. Blair, 2006, Death receptor-3 mediates apoptosis in human osteoblasts under narrowly regulated conditions: *J Cell Physiol*, v. 209, p. 1021-8.
- [56] Yang, C. R., S. L. Hsieh, C. M. Teng, F. M. Ho, W. L. Su, and W. W. Lin, 2004, Soluble decoy receptor 3 induces angiogenesis by neutralization of TL1A, a cytokine belonging to tumor necrosis factor superfamily and exhibiting angiostatic action: *Cancer Res*, v. 64, p. 1122-9.
- [57] Brennan, C., K. Rivas-Plata, and S. C. Landis, 1999, The p75 neurotrophin receptor influences NT-3 responsiveness of sympathetic neurons in vivo: *Nat Neurosci*, v. 2, p. 699-705.
- [58] Wiese, S., F. Metzger, B. Holtmann, and M. Sendtner, 1999, The role of p75NTR in modulating neurotrophin survival effects in developing motoneurons: *Eur J Neurosci*, v. 11, p. 1668-76.
- [59] Emery, J. G., P. McDonnell, M. B. Burke, K. C. Deen, S. Lyn, C. Silverman, E. Dul, E. R. Appelbaum, C. Eichman, R. DiPrinzio, R. A. Dodds, I. E. James, M. Rosenberg, J. C. Lee, and P. R. Young, 1998, Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL: *J Biol Chem*, v. 273, p. 14363-7.
- [60] Merino, D., N. Lalaoui, A. Morizot, P. Schneider, E. Solary, and O. Micheau, 2006, Differential inhibition of TRAIL-mediated DR5-DISC formation by decoy receptors 1 and 2: *Mol Cell Biol*, v. 26, p. 7046-55.

- [61]** Sheridan, J. P., S. A. Marsters, R. M. Pitti, A. Gurney, M. Skubatch, D. Baldwin, L. Ramakrishnan, C. L. Gray, K. Baker, W. I. Wood, A. D. Goddard, P. Godowski, and A. Ashkenazi, 1997, Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors: *Science*, v. 277, p. 818-21.
- [62]** Clancy, L., K. Mruk, K. Archer, M. Woelfel, J. Mongkolsapaya, G. Screaton, M. J. Lenardo, and F. K. Chan, 2005, Preligand assembly domain-mediated ligand-independent association between TRAIL receptor 4 (TR4) and TR2 regulates TRAIL-induced apoptosis: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 102, p. 18099-104.
- [63]** Ganten, T. M., J. Sykora, R. Koschny, E. Batke, S. Aulmann, U. Mansmann, W. Stremmel, H. P. Sinn, and H. Walczak, 2009, Prognostic significance of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor expression in patients with breast cancer: *J Mol Med*, v. 87, p. 995-1007.
- [64]** Granci, V., F. Bibeau, A. Kramar, F. Boissiere-Michot, S. Thezenas, A. Thirion, C. Gongora, P. Martineau, M. Del Rio, and M. Ychou, 2008, Prognostic significance of TRAIL-R1 and TRAIL-R3 expression in metastatic colorectal carcinomas: *Eur J Cancer*, v. 44, p. 2312-8.
- [65]** Krueger, A., I. Schmitz, S. Baumann, P. H. Krammer, and S. Kirchhoff, 2001, Cellular FLICE-inhibitory protein splice variants inhibit different steps of caspase-8 activation at the CD95 death-inducing signaling complex: *J Biol Chem*, v. 276, p. 20633-40.

- [66]** Micheau, O., M. Thome, P. Schneider, N. Holler, J. Tschopp, D. W. Nicholson, C. Briand, and M. G. Grutter, 2002, The long form of FLIP is an activator of caspase-8 at the Fas death-inducing signaling complex: *J Biol Chem*, v. 277, p. 45162-71.
- [67]** Shu, H. B., D. R. Halpin, and D. V. Goeddel, 1997, Casper is a FADD- and caspase-related inducer of apoptosis: *Immunity*, v. 6, p. 751-63.
- [68]** Irmeler, M., M. Thome, M. Hahne, P. Schneider, K. Hofmann, V. Steiner, J. L. Bodmer, M. Schroter, K. Burns, C. Mattmann, D. Rimoldi, L. E. French, and J. Tschopp, 1997, Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP: *Nature*, v. 388, p. 190-5.
- [69]** Yu, J. W., P. D. Jeffrey, and Y. Shi, 2009, Mechanism of procaspase-8 activation by c-FLIPL: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 106, p. 8169-74.
- [70]** Yu, J. W., and Y. Shi, 2008, FLIP and the death effector domain family: *Oncogene*, v. 27, p. 6216-27.
- [71]** Dhanasekaran, D. N., and E. P. Reddy, 2008, JNK signaling in apoptosis: *Oncogene*, v. 27, p. 6245-51.
- [72]** Wilson, D. J., K. A. Fortner, D. H. Lynch, R. R. Mattingly, I. G. Macara, J. A. Posada, and R. C. Budd, 1996, JNK, but not MAPK, activation is associated with Fas-mediated apoptosis in human T cells: *Eur J Immunol*, v. 26, p. 989-94.

- [73]** Cazanave, S. C., J. L. Mott, N. A. Elmi, S. F. Bronk, N. W. Werneburg, Y. Akazawa, A. Kahraman, S. P. Garrison, G. P. Zambetti, M. R. Charlton, and G. J. Gores, 2009, JNK1-dependent PUMA expression contributes to hepatocyte lipoapoptosis: *J Biol Chem*, v. 284, p. 26591-602.
- [74]** Dhanasekaran, D. N., and E. P. Reddy, 2008, JNK signaling in apoptosis: *Oncogene*, v. 27, p. 6245-51.
- [75]** Bharti, A. C., and B. B. Aggarwal, 2002, Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy: *Biochem Pharmacol*, v. 64, p. 883-8.
- [76]** Peter, M. E., and P. H. Krammer, 2003, The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond: *Cell Death Differ*, v. 10, p. 26-35.
- [77]** Park, M. Y., H. D. Jang, S. Y. Lee, K. J. Lee, and E. Kim, 2004b, Fas-associated factor-1 inhibits nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) activity by interfering with nuclear translocation of the RelA (p65) subunit of NF-kappaB: *J Biol Chem*, v. 279, p. 2544-9.
- [78]** Ryu, S. W., S. J. Lee, M. Y. Park, J. I. Jun, Y. K. Jung, and E. Kim, 2003, Fas-associated factor 1, FAF1, is a member of Fas death-inducing signaling complex: *J Biol Chem*, v. 278, p. 24003-10.
- [79]** Gloire, G., E. Charlier, and J. Piette, 2008, Regulation of CD95/APO-1/Fas-induced apoptosis by protein phosphatases: *Biochem Pharmacol*, v. 76, p. 1451-8.

- [80]** Segui, B., Andrieu-Abadie, N., Adam-Klages, S., Meilhac, O., Kreder, D., Garcia, V., Bruno, A. P., Jaffrezou, J. P., Salvayre, R., Kronke, M., and Levade, T. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 37251–37258
- [81]** 2. Fadeel, B., Orrenius, S., and Zhivotovsky, B. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266, 699–717
- [82]** Tinel, A. and Tschopp, J. (2004) The PIDDosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. *Science*, 304, 843-846.
- [83]** Lassus, P., Opitz-Araya, X. and Lazebnik, Y. (2002) Requirement for caspase-2 in stressinduced apoptosis before mitochondrial permeabilization. *Science*, 297, 1352-1354.
- [84]** Vaux, D. L., et al. (1988). "Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells." *Nature* 335(6189): 440-2.
- [85]** Adams, J. M. and S. Cory (1998). "The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival." *Science* 281(5381): 1322-6.
- [86]** Krajewski, S., et al. (1993). "Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes." *Cancer Res* 53(19): 4701-14.
- [87]** Akao, Y., et al. (1994). "Multiple subcellular localization of bcl-2: detection in nuclear outer membrane, endoplasmic reticulum membrane, and mitochondrial membranes." *Cancer Res* 54(9): 2468-71.

- [88]** Monaghan, P., et al. (1992). "Ultrastructural localization of bcl-2 protein." *J Histochem Cytochem* 40(12): 1819-25
- [89]** Kaufmann, T., et al. (2003). "Characterization of the signal that directs Bcl-x(L), but not Bcl-2, to the mitochondrial outer membrane." *J Cell Biol* 160(1): 53-64.
- [90]** Wilson-Annan, J., et al. (2003). "Proapoptotic BH3-only proteins trigger membrane integration of prosurvival Bcl-w and neutralize its activity." *J Cell Biol* 162(5): 877-87.
- [91]** Oltvai, Z. N., et al. (1993). "Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death." *Cell* 74(4): 609-19.
- [92]** Chittenden, T., et al. (1995). "A conserved domain in Bak, distinct from BH1 and BH2, mediates cell death and protein binding functions." *Embo J* 14(22): 5589-96.
- [93]** Yang, E. and S. J. Korsmeyer (1996). "Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death." *Blood* 88(2): 386-401.
- [94]** Marzo, I., et al. (1998). "The central role of the mitochondrial megachannel in apoptosis: evidence obtained with intact cells, isolated mitochondria, and purified protein complexes." *Biomed Pharmacother* 52(6): 248-51.
- [95]** Hausler, T., et al. (1997). "Conservation of mitochondrial targeting sequence function in mitochondrial and hydrogenosomal proteins from the early-branching eukaryotes *Crithidia*, *Trypanosoma* and *Trichomonas*." *Eur J Cell Biol* 73(3): 240-51.

- [96]** Eskes, R., et al. (1998). "Bax-induced cytochrome C release from mitochondria is independent of the permeability transition pore but highly dependent on Mg²⁺ ions." *J Cell Biol* 143(1): 217-24.
- [97]** Kuwana, T., et al. (2002). "Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane." *Cell* 111(3): 331-42.
- [98]** Antonsson, B., et al. (2000). "Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria." *Biochem J* 345 Pt 2: 271-8.
- [99]** Er, E., et al. (2006). "Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax." *Biochim Biophys Acta* 1757(9-10): 1301-11.
- [100]** Rizzuto, R., et al. (1993). "Microdomains with high Ca²⁺ close to IP₃-sensitive channels that are sensed by neighboring mitochondria." *Science* 262(5134): 744-7.
- [101]** Scorrano, L., et al. (2003). "BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca²⁺: a control point for apoptosis." *Science* 300(5616): 135-9.
- [102]** Rong, Y. P., et al. (2009). "The BH4 domain of Bcl-2 inhibits ER calcium release and apoptosis by binding the regulatory and coupling domain of the IP₃ receptor." *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(34): 14397-402.
- [103]** Oakes, S. A., et al. (2005). "Proapoptotic BAX and BAK regulate the type 1 inositol trisphosphate receptor and calcium leak from the endoplasmic reticulum." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(1): 105-10.

- [104]** Bernardi, P., et al. (1999). "Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues." *Eur J Biochem* 264(3): 687-701.
- [105]** Boehning, D., et al. (2003). "Cytochrome c binds to inositol (1,4,5) trisphosphate receptors, amplifying calcium-dependent apoptosis." *Nat Cell Biol* 5(12): 1051-61
- [106]** Wilson-Annan, J., et al. (2003). "Proapoptotic BH3-only proteins trigger membrane integration of prosurvival Bcl-w and neutralize its activity." *J Cell Biol* 162(5): 877-87.
- [107]** Jeong, S. Y., et al. (2004). "Bcl-x(L) sequesters its C-terminal membrane anchor in soluble, cytosolic homodimers." *Embo J* 23(10): 2146-55.
- [108]** Desagher, S., et al. (1999). "Bid-induced conformational change of Bax is responsible for mitochondrial cytochrome c release during apoptosis." *J Cell Biol* 144(5): 891-901.
- [109]** Ott, M., et al. (2002). "Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process." *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(3): 1259-63.
- [110]** Goldstein, J. C., et al. (2000). "The coordinate release of cytochrome c during apoptosis is rapid, complete and kinetically invariant." *Nat Cell Biol* 2(3): 156-62.
- [111]** Norberg, E., et al. (2010) "Mitochondrial regulation of cell death: processing of apoptosis-inducing factor (AIF)." *Biochem Biophys Res Commun* 396(1): 95-100.
- [112]** Susin, S. A., et al. (1999). "Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor." *Nature* 397(6718): 441-6.

- [113]** Miramar, M. D., et al. (2001). "NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor." *J Biol Chem* 276(19): 16391-8
- [114]** Kluck, R. M., et al. (1999). "The pro-apoptotic proteins, Bid and Bax, cause a limited permeabilization of the mitochondrial outer membrane that is enhanced by cytosol." *J Cell Biol* 147(4): 809-22.
- [115]** Li, P., et al. (1997). "Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade." *Cell* 91(4): 479-89.
- [116]** Vahsen, N., et al. (2006). "Physical interaction of apoptosis-inducing factor with DNA and RNA." *Oncogene* 25(12): 1763-74.
- [117]** Cande, C., et al. (2004). "AIF and cyclophilin A cooperate in apoptosis-associated chromatinolysis." *Oncogene* 23(8): 1514-21.
- [118]** Cote, J. and A. Ruiz-Carrillo (1993). "Primers for mitochondrial DNA replication generated by endonuclease G." *Science* 261(5122): 765-9.
- [119]** Lorenzo, H. K. and S. A. Susin (2004). "Mitochondrial effectors in caspase-independent cell death." *FEBS Lett* 557(1-3): 14-20.
- [120]** Li, L. Y., et al. (2001). "Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria." *Nature* 412(6842): 95-9.
- [121]** Srinivasula, S. M., et al. (2000). "Molecular determinants of the caspase-promoting activity of Smac/DIABLO and its role in the death receptor pathway." *J Biol Chem* 275(46): 36152-7.

- [122] Srinivasula, S. M., et al. (2003). "Inhibitor of apoptosis proteins are substrates for the mitochondrial serine protease Omi/HtrA2." *J Biol Chem* 278(34): 31469-72.
- [123] Althaus, J., et al. (2007). "The serine protease Omi/HtrA2 is involved in XIAP cleavage and in neuronal cell death following focal cerebral ischemia/reperfusion." *Neurochem Int* 50(1): 172-80.
- [124] Denmeade, S. R., X. S. Lin, B. Tombal, and J. T. Isaacs, 1999, Inhibition of caspase activity does not prevent the signaling phase of apoptosis in prostate cancer cells: *Prostate*, v. 39, p. 269-79.
- [125] Hakem, R., A. Hakem, G. S. Duncan, J. T. Henderson, M. Woo, M. S. Soengas, A. Elia, J. L. de la Pompa, D. Kagi, W. Khoo, J. Potter, R. Yoshida, S. A. Kaufman, S. W. Lowe, J. M. Penninger, and T. W. Mak, 1998, Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo: *Cell*, v. 94, p. 339-52.
- [126] Hirsch, T., P. Marchetti, S. A. Susin, B. Dallaporta, N. Zamzami, I. Marzo, M. Geuskens, and G. Kroemer, 1997, The apoptosis-necrosis paradox. Apoptogenic proteases activated after mitochondrial permeability transition determine the mode of cell death: *Oncogene*, v. 15, p. 1573-81.
- [127] Li, K., Y. Li, J. M. Shelton, J. A. Richardson, E. Spencer, Z. J. Chen, X. Wang, and R. S. Williams, 2000, Cytochrome c deficiency causes embryonic lethality and attenuates stress-induced apoptosis: *Cell*, v. 101, p. 389-99.

- [128]** Yoshida, H., Y. Y. Kong, R. Yoshida, A. J. Elia, A. Hakem, R. Hakem, J. M. Penninger, and T. W. Mak, 1998, Apaf1 is required for mitochondrial pathways of apoptosis and brain development: *Cell*, v. 94, p. 739-50.
- [129]** Holler, N., R. Zaru, O. Micheau, M. Thome, A. Attinger, S. Valitutti, J. L. Bodmer, P. Schneider, B. Seed, and J. Tschopp, 2000, Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule: *Nat Immunol*, v. 1, p. 489-95.
- [130]** Temkin, V., Q. Huang, H. Liu, H. Osada, and R. M. Pope, 2006, Inhibition of ADP/ATP exchange in receptor-interacting protein-mediated necrosis: *Mol Cell Biol*, v. 26, p. 2215-25.
- [131]** Tait, S. W., and D. R. Green, 2008, Caspase-independent cell death: leaving the set without the final cut: *Oncogene*, v. 27, p. 6452-61.
- [132]** Du, C., M. Fang, Y. Li, L. Li, and X. Wang, 2000, Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition: *Cell*, v. 102, p. 33-42.
- [133]** Suzuki, Y., Y. Imai, H. Nakayama, K. Takahashi, K. Takio, and R. Takahashi, 2001, A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death: *Mol Cell*, v. 8, p. 613-21.
- [134]** Verhagen, A. M., P. G. Ekert, M. Pakusch, J. Silke, L. M. Connolly, G. E. Reid, R. L. Moritz, R. J. Simpson, and D. L. Vaux, 2000, Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins: *Cell*, v. 102, p. 43-53.

- [135]** Lomonosova, E., and G. Chinnadurai, 2008, BH3-only proteins in apoptosis and beyond: an overview: *Oncogene*, v. 27 Suppl 1, p. S2-19.
- [136]** Vande Walle, L., P. Van Damme, M. Lamkanfi, X. Saelens, J. Vandekerckhove, K. Gevaert, and P. Vandenabeele, 2007, Proteome-wide Identification of HtrA2/Omi Substrates: *J Proteome Res*, v. 6, p. 1006-15.
- [137]** Kroemer, G. and Martin, S.J. (2005) Caspase-independent cell death. *Nat Med*, 11, 725-730.
- [138]** Fuentes-Prior, P. and Salvesen, G.S. (2004) The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J*, 384, 201-232.
- [139]** Thornberry, N.A. and Lazebnik, Y. (1998) Caspases: enemies within. *Science*, 281, 1312-1316.
- [140]** Boatright, K.M. and Salvesen, G.S. (2003) Mechanisms of caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*, 15, 725-731.
- [141]** Boatright, K.M., Renatus, M., Scott, F.L., Sperandio, S., Shin, H., Pedersen, I.M., Ricci, J.E., Edris, W.A., Sutherlin, D.P., Green, D.R. and Salvesen, G.S. (2003) A unified model for apical caspase activation. *Mol Cell*, 11, 529-541.
- [142]** Chang, D.W., Xing, Z., Capacio, V.L., Peter, M.E. and Yang, X. (2003) Interdimer processing mechanism of procaspase-8 activation. *Embo J*, 22, 4132-4142.

- [143]** Donepudi, M., Mac Sweeney, A., Briand, C. and Grutter, M.G. (2003) Insights into the regulatory mechanism for caspase-8 activation. *Mol Cell*, 11, 543-549.
- [144]** Bao, Q. and Shi, Y. (2007) Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases. *Cell Death Differ*, 14, 56-65.
- [145]** Kothakota, S., Azuma, T., Reinhard, C., Klippel, A., Tang, J., Chu, K., McGarry, T.J.,
- [146]** Kirschner, M.W., Kohts, K., Kwiatkowski, D.J. and Williams, L.T. (1997) Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological change in apoptosis. *Science*, 278, 294-298.
- [147]** Sohn, D., Schulze-Osthoff, K. and Janicke, R.U. (2005) Caspase-8 can be activated by interchain proteolysis without receptor-triggered dimerization during drug-induced apoptosis. *J Biol Chem*, 280, 5267-5273.
- [148]** Lakhani, S.A., Masud, A., Kuida, K., Porter, G.A., Jr., Booth, C.J., Mehal, W.Z., Inayat, I. and Flavell, R.A. (2006) Caspases 3 and 7: key mediators of mitochondrial events of apoptosis. *Science*, 311, 847-851.
- [149]** Schotte, P., Declercq, W., Van Huffel, S., Vandenabeele, P. and Beyaert, R. (1999) Nonspecific effects of methyl ketone peptide inhibitors of caspases. *FEBS Lett*, 442, 117-121.
- [150]** Uren, A. G., et al. (1996). "Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors." *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(10): 4974-8.

- [151]** Liston, P., et al. (1996). "Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes." *Nature* 379(6563): 349-53.
- [152]** Liston, P., et al. (1997). "Life and death decisions: the role of the IAPs in modulating programmed cell death." *Apoptosis* 2(5): 423-41.
- [153]** Zhou, Q., et al. (1997). "Target protease specificity of the viral serpin CrmA. Analysis of five caspases." *J Biol Chem* 272(12): 7797-800.
- [154]** Irmeler, M., et al. (1997). "Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP." *Nature* 388(6638): 1905.
- [155]** Allan, L. A., N. Morrice, S. Brady, G. Magee, S. Pathak, and P. R. Clarke, 2003, Inhibition of caspase-9 through phosphorylation at Thr 125 by ERK MAPK: *Nat Cell Biol*, v. 5, p. 647-54.
- [156]** Brady, S. C., L. A. Allan, and P. R. Clarke, 2005, Regulation of caspase 9 through phosphorylation by protein kinase C zeta in response to hyperosmotic stress: *Mol Cell Biol*, v. 25, p. 10543-55.
- [157]** Cardone, M. H., N. Roy, H. R. Stennicke, G. S. Salvesen, T. F. Franke, E. Stanbridge, S. Frisch, and J. C. Reed, 1998, Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation: *Science*, v. 282, p. 1318-21.
- [158]** Kurokawa, M., and S. Kornbluth, 2009, Caspases and kinases in a death grip: *Cell*, v. 138, p. 838-54.
- [159]** Shi, M., C. J. Vivian, K. J. Lee, C. Ge, K. Morotomi-Yano, C. Manzl, F. Bock, S. Sato, C. Tomomori-Sato, R. Zhu, J. S. Haug, S. K. Swanson, M. P. Washburn, D. J. Chen, B. P. Chen, A. Villunger, L. Florens, and C. Du, 2009, DNA-PKcs-PIDDosome: a nuclear caspase-2-activating complex with role in G2/M checkpoint maintenance: *Cell*, v. 136, p. 508-20.

- [160]** Ribeil, J. A., Y. Zermati, J. Vandekerckhove, S. Cathelin, J. Kersual, M. Dussiot, S. Coulon, I. C. Moura, A. Zeuner, T. Kirkegaard-Sorensen, B. Varet, E. Solary, C. Garrido, and O. Hermine, 2007, Hsp70 regulates erythropoiesis by preventing caspase-3-mediated cleavage of GATA-1: *Nature*, v. 445, p. 102-5.
- [161]** Zermati, Y., C. Garrido, S. Amsellem, S. Fishelson, D. Bouscary, F. Valensi, B. Varet, E. Solary, and O. Hermine, 2001, Caspase activation is required for terminal erythroid differentiation: *J Exp Med*, v. 193, p. 247-54.
- [162]** Lanneau, D., A. de Thonel, S. Maurel, C. Didelot, and C. Garrido, 2007, Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27: *Prion*, v. 1, p. 53-60.
- [163]** Ellgaard L and Helenius A. (2003). Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol Cell Biol*4, 181-91.
- [164]** Hatahet F and Ruddock LW. (2009). Protein disulfide isomerase: a critical evaluation of its function in disulfide bond formation. *Antioxid Redox Signal*11, 2807-50.
- [165]** Little E, Ramakrishnan M, Roy B, Gazit G and Lee AS. (1994). The glucose-regulated proteins (GRP78 and GRP94): functions, gene regulation, and applications. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*4, 1-18.
- [165] Ni M and Lee AS. (2007). ER chaperones in mammalian development and human diseases. *FEBS Lett*581, 3641-51.

- [166]** Coe H and Michalak M. (2009). Calcium binding chaperones of the endoplasmic reticulum. *Gen Physiol Biophys*28 Spec No Focus, F96-F103.
- [167]** Pallet N, Bouvier N, Beaune P, Legendre C, Thervet E and Anglicheau D. (2009). [Endoplasmic reticulum stress in kidney diseases: a question of life and death?]. *Nephrol Ther*5, 173-80.
- [168]** Xu C, Bailly-Maitre B and Reed JC. (2005). Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest*115, 2656-64.
- [169]** Zhang K and Kaufman RJ. (2004). Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*279, 25935-8.
- [170]** Ron D and Walter P. (2007). Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*8, 519-29.
- [171]** Luo S, Mao C, Lee B and Lee AS. (2006). GRP78/BiP is required for cell proliferation and protecting the inner cell mass from apoptosis during early mouse embryonic development. *Mol Cell Biol*26, 5688-97.
- [172]** Walter P and Ron D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*334, 1081-6.
- [173]** Oyadomari S and Mori M. (2004). Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*11, 381-9.
- [174]** Yoshida H. (2007a). Unconventional splicing of XBP-1 mRNA in the unfolded protein response. *Antioxid Redox Signal*9, 2323-33.

- [175]** Hosokawa N, Wada I, Hasegawa K, Yorihuzi T, Tremblay LO, Herscovics A and Nagata K. (2001). A novel ER alpha-mannosidase-like protein accelerates ER-associated degradation. *EMBO Rep*2, 415-22.
- [176]** Zhang K and Kaufman RJ. (2004). Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*279, 25935-8.
- [177]** Ron D and Walter P. (2007). Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*8, 519-29.
- [178]** Oyadomari S and Mori M. (2004). Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*11, 381-9.
- [179]** Tabas I and Ron D. (2011). Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nat Cell Biol*13, 184-90.
- [180]** Scheuner D and Kaufman RJ. (2008). The unfolded protein response: a pathway that links insulin demand with beta-cell failure and diabetes. *Endocr Rev*29, 317-33.
- [181]** Yamaguchi H and Wang HG. (2004). CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *J Biol Chem*279, 45495-502.
- [182]** Puthalakath H, O'Reilly LA, Gunn P, Lee L, Kelly PN, Huntington ND, Hughes PD,

- [183]** Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A and Ichijo H. (2002). ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev* 16,
- [184]** Ohoka N, Yoshii S, Hattori T, Onozaki K and Hayashi H. (2005). TRB3, a novel ER stress-inducible gene, is induced via ATF4-CHOP pathway and is involved in cell death. *EMBO J* 24, 1243-55.1345-55.
- [185]** Liu J and Lin A. (2005). Role of JNK activation in apoptosis: a double-edged sword. *Cell Res* 15, 36-42.
- [186]** Kim I, Xu W and Reed JC. (2008). Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 7, 1013-30.
- [187]** Dhanasekaran DN and Reddy EP. (2008). JNK signaling in apoptosis. *Oncogene* 27, 6245-51.
- [188]** Liu Y, Li J, Xu H, Zhang Y, Liu Y, Liu X (2009b). Mitochondria-mediated tumstatin peptide-induced HepG2 cell apoptosis. *Int J Mol Med*. 24(5):653-9.
- [189]** Arambage SC, Grant KM, Pardo I, Ranford-Cartwright L, Hurd H. Malaria ookinetes exhibit multiple markers for apoptosis-like programmed cell death in vitro. *Parasit Vectors*. 2009 Jul 15; 2(1):32

- [190]** Totino PR, Daniel-Ribeiro CT, Corte-Real S, de Fátima Ferreira-da-Cruz M (2008). Plasmodium falciparum: erythrocytic stages die by autophagic-like cell death under drug pressure. *Exp Parasitol.* 118(4):478-86.
- [191]** Carmen JC, Sinai AP (2007). Suicide prevention: disruption of apoptotic pathways by protozoan parasites. *Mol Microbiol.* 2007 May; 64(4):904-16. Review.
- [192]** Helmers AJ, Lovegrove FE, Harlan JM, Kain KC, Liles WC (2008). Failure of two distinct anti-apoptotic approaches to reduce mortality in experimental cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 79(6):823-5.
- [193]** Schluter D, Meyer T, Kwok LY, Montesinos-Rongen M, Lutjen S, Strack A, Schmitz ML, and Deckert M (2002). Phenotype and regulation of persistent intracerebral T cells in murine Toxoplasma encephalitis. *J. Immunol.* 169:315–322.
- [194]** Jaso-Friedmann, L., et al.(2000). "Role of nonspecific cytotoxic cells in the induction of programmed cell death of pathogenic protozoans: participation of the Fas ligand-Fas receptor system." *Exp Parasitol* 96(2): 75-88.
- [195]** Xu, D. H., et al.(2006). "Apoptosis in Ichthyophthirius multifiliis associated with expression of the Fas receptor of theronts." *J Fish Dis* 29(4): 225-32.

- [196]** Ridgley, E. L., et al.(1999). "Reactive oxygen species activate a Ca^{2+} -dependent cell death pathway in the unicellular organism *Trypanosoma brucei brucei*." *Biochem J* 340 (Pt 1): 33-40.
- [197]** Mukherjee, S. B., et al.(2002). "Increase in cytosolic Ca^{2+} levels through the activation of non-selective cation channels induced by oxidative stress causes mitochondrial depolarization leading to apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes." *J Biol Chem* 277(27): 24717-27.
- [198]** Lemasters, J. J., et al. (2009). "Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death." *Biochim Biophys Acta* 1787(11): 1395-401.
- [199]** Sharon, A., et al.(2009). "Fungal apoptosis: function, genes and gene function." *FEMS Microbiol Rev* 33(5): 833-54.
- [200]** Sen, N., et al. (2004). "Camptothecin-induced imbalance in intracellular cation homeostasis regulates programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*." *J Biol Chem* 279(50): 52366-75
- [201]** Wissing, S., et al.(2004). "An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast." *J Cell Biol* 166(7): 969-74.
- [202]** Fahrenkrog, B., et al.(2004). "The *S. cerevisiae* HtrA-like protein Nma111p is a nuclear serine protease that mediates yeast apoptosis." *J Cell Sci* 117(Pt 1): 115-26.

- [203]** Padmanabhan, N., et al.(2009). "The yeast HtrA orthologue Ynm3 is a protease with chaperone activity that aids survival under heat stress." *Mol Biol Cell* 20(1): 68-77.
- [204]** Kraft, C., et al.(2009). "Selective types of autophagy in yeast." *Biochim Biophys Acta* 1793(9): 1404-12.
- [205]** Gannavaram, S., et al.(2008). "Conservation of the pro-apoptotic nuclease activity of endonuclease G in unicellular trypanosomatid parasites." *J Cell Sci* 121(Pt 1): 99-109.
- [206]** Tresse, E., et al. (2008). "Autophagy and autophagic cell death in *Dictyostelium*." *Methods Enzymol* 451: 343-58.
- [207]** Christensen, S. T., et al. (1998). "Staurosporine-induced cell death in *Tetrahymena thermophila* has mixed characteristics of both apoptotic and autophagic degeneration." *Cell Biol Int* 22(7-8): 591-8.
- [208]** Bera, A., et al. (2003). "Induction of autophagic cell death in *Leishmania donovani* by antimicrobial peptides." *Mol Biochem Parasitol* 127(1): 23-35.
- [209]** Moon, E.-K., et al. (2009). "Autophagy protein 8 mediating autophagosome in encysting *Acanthamoeba*." *Molecular and Biochemical Parasitology* 168(1): 43-48.
- [210]** Menna-Barreto, R. F., et al. (2009). "Naphthoimidazoles promote different death phenotypes in *Trypanosoma cruzi*." *Parasitology* 136(5): 499-510.

- [211] Yin, J., et al. (2010b) "Autophagy is involved in starvation response and cell death in *Blastocystis*." *Microbiology* 156(Pt 3): 665-77.
- [212] Suzuki, K. and Y. Ohsumi (2007). "Molecular machinery of autophagosome formation in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*." *FEBS Lett* 581(11): 2156-61.
- [213] Koopmann, R., et al. (2009). "Trypanosoma brucei ATG8: structural insights into autophagic-like mechanisms in protozoa." *Autophagy* 5(8): 1085-91.
- [214] Moon, E.-K., et al. (2009). "Autophagy protein 8 mediating autophagosome in encysting *Acanthamoeba*." *Molecular and Biochemical Parasitology* 168(1): 43-48.
- [215] Picazarri, K., et al. (2008). "Analysis of autophagy in the enteric protozoan parasite *Entamoeba*." *Methods Enzymol* 451: 359-71.
- [216] Uren, A. G., et al. (2000). "Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma." *Mol Cell* 6(4): 961-7.
- [217] Mottram, J. C., et al. (2003). "Clan CD cysteine peptidases of parasitic protozoa." *Trends in Parasitology* 19(4): 182-187.
- [218] Silva, R. D., et al. (2005). "Hyperosmotic stress induces metacaspase- and mitochondria-dependent apoptosis in *Saccharomyces cerevisiae*." *Mol Microbiol* 58(3): 824-34.

- [219] Hamann, A., et al. (2007). "Deletion of putative apoptosis factors leads to lifespan extension in the fungal ageing model *Podospora anserina*." *Mol Microbiol* 65(4): 948-58.
- [220] Lee, N., et al.(2007). "Characterization of metacaspases with trypsin-like activity and their putative role in programmed cell death in the protozoan parasite *Leishmania*." *Eukaryot Cell* 6(10): 1745-57.
- [221] Warton, A. and B. M. Honigberg(1979). "Structure of trichomonads as revealed by scanning electron microscopy." *J Protozool* 26(1): 56-62.
- [222] He, R., et al.(2008). "Metacaspase-8 modulates programmed cell death induced by ultraviolet light and H₂O₂ in *Arabidopsis*." *J Biol Chem* 283(2): 774-83.
- [223] [223] González, I. J., et al. (2007). "*Leishmania* major metacaspase can replace yeast metacaspase in programmed cell death and has arginine-specific cysteine peptidase activity." *International Journal for Parasitology* 37(2): 161-172.
- [224] Szallies, A., et al.(2002). "A metacaspase of *Trypanosoma brucei* causes loss of respiration competence and clonal death in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *FEBS Letters* 517(1-3): 144-150.
- [225] Madeo, F., et al.(2002). "A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast." *Mol Cell* 9(4): 911-7.
- [226] Al-Rubeai M. , Singh R.P. : Apoptosis in cell culture, *Curr. Opin. Biotech.* 1998(b), 9 : 152-156
- [227] Golstein P. : Controlling cell death, *Science* 1997, 275(5303) : 1081

- [228] Kumar S. : The Bcl-2 family of proteins and activation of the ICE-CED-3 family of proteases: a balancing act in apoptosis ? , Cell Death Diff. 1997, 4(1): 2-3.
- [229] Frey T. : Nucleic acid dyes for detection of apoptosis in live cells, Cytometry 1995, 21 : 265-274.
- [230] Ormerod M.G., Sun X.M., Snowden R.T., Davies R., Fearhead H., Cohen G. : Increased membrane permeability of apoptotic thymocytes: A flow cytometric study, Cytometry 1993, 14 : 595-602.
- [231] Al-Rubeai M. : Apoptosis, Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 1998(a), 62, 193 p.
- [232] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES et al (2009) Nomenclature Committee on Cell Death 2009 (2009). Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. Cell Death Differ. 2009 Jan; 16(1):3-11.
- [233] Korper S, Nolte F, Rojewski MT, Thiel E, Schrezenmeier H (2003). The K⁺ channel openers diazoxide and NS1619 induce depolarization of mitochondria and have differential effects on cell Ca²⁺ in CD34⁺ cell line KG-1a. Exp Hematol. 31(9):815-23.
- [234] Vermes, I. and Haanan, C. (1994) Apoptosis and programmed cell death in health and disease. Adv. Clin. Chem. 31, 177.
- [235] Martin SJ, Reutelingsperger CP, McGahon AJ, et al (1995). Early redistribution of plasma membrane phosphatidyl-sérine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhibition by overexpression of Bcl-2 and Abl. J Exp Med. 182(5):1545-1556.

- [236] Slee EA, Adrain C, and Maritin SJ (1999). Serial Killers: ordering caspase activation events in apoptosis. *Cell Death and Differ.* 6:1067-1074.
- [237] Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 .
- [238] Bronner U, Divis PC, Farnert A, Singh B (2009). Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo: a case report. *Malar J.* 8 (1):15.
- [239] Hay SI, Guerra CA, Gething PW, Patil AP, Tatem AJ, Noor AM, Kabaria CW, Manh BH, Elyazar IR, Brooker S, Smith DL, Moyeed RA, Snow RW (2009). A world malaria map: *Plasmodium falciparum* endemicity in 2007. *PLoS Med.* 6(3):e1000048. 193.
- [240] Das A, Sharma M, Gupta B, Dash AP (2009). *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*: so similar, yet very different. *Parasitol Res.* 105(4):1169-71.
- [241] Plowe CV (2009). The evolution of drug-resistant malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 103 Suppl 1:S11-4.!
- [242] Pongtavornpinyo W, Hastings IM, Dondorp A, White LJ, Maude RJ, Saralamba S, Day NP, White NJ and Boni MF (2009). Probability of emergence of antimalarial resistance in different stages of the parasite life cycle *Journal compilation 2009 Blackwell Publishing Ltd* 2 (2009) 52–61.
- [243] Rayner JC (2009). The merozoite has landed: reticulocyte-binding-like ligands and the specificity of erythrocyte recognition. *Trends Parasitol.* 25(3):104-6.

- [244] Rodríguez M, Pérez L, Caicedo JC, Prieto G, Arroyo JA, Kaur H, Suárez-Mutis M, de La Hoz F, Lines J, Alexander N (2009). Composition and biting activity of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in the Amazon region of Colombia. *J Med Entomol.* 46(2):307-15.
- [245] Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V (2007). Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. *Med Mal Infect.* 37(3):153-61.
- [246] Robert V, Le Goff G, Arieu F, Duchemin JB (2002). A possible alternative method for collecting mosquito larvae in rice fields. *Malar J.* 1:4
- [247] Silvie O, Mota MM, Matuschewski K, Prudêncio M (2008). Interactions of the malaria parasite and its mammalian host. *Curr Opin Microbiol.* 2008 Aug; 11(4):352-9. Review.
- [248] [248] Siau A, Silvie O, Franetich JF, Yalaoui S, Marinach C, Hannoun L, van Gemert GJ, Luty AJ, Bischoff E, David PH, Snounou G, Vaquero C, Froissard P, Mazier D (2008). Temperature shift and host cell contact up-regulate sporozoite expression of *Plasmodium falciparum* genes involved in hepatocyte infection. *PLoS Pathog.* 4(8):e1000121.
- [249] [249] Prudêncio M, Rodriguez A, Mota MM (2006). The silent path to thousands of merozoites: the *Plasmodium* liver stage. *Nat Rev Microbiol.* 4(11):849-56. Review.
- [250] Ghosh AK, Jacobs-Lorena M (2009). *Plasmodium* sporozoite invasion of the mosquito salivary gland. *Curr Opin Microbiol.* 12 (4):394-400.

- [251] Picot S, Bienvenu AL, Konate S, Sissoko S, Barry A, Diarra E, Bamba K, Djimdé A, Doumbo OK (2009b). Safety of epoietin beta-quinine drug combination in children with cerebral malaria in Mali. *Malar J*.8:169.
- [252] Ollivier L, Michel R, Carlotti MP, Mahé P, Romand O, Todesco A, Migliani R, Boutin JP (2008). Chemoprophylaxis compliance in a French battalion after returning from malaria-endemic area. *J Travel Med*. 15(5):355-7.
- [253] White NJ (2008). *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis*. 46 (2):172-3.
- [254] WHO (2006a). Guidelines for treatment of malaria (WHO/HTM/MAL/2006.1108) (<http://www.who.int/malaria/treatmentguidelines>). Geneva, World Health Organization, 2006.
- [255] Clarke SE, Jukes MCH, Kiambo Njagi H, et al. (2008). Effect of intermittent preventive treatment of malaria on health and education in schoolchildren: a cluster-randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 372, 127-138.
- [256] Meslin B, Barnadas C, Boni V, Latour C, De Monbrison F, Kaiser K, Picot S (2007). Features of apoptosis in *Plasmodium falciparum* erythrocytic stage through a putative role of PfMCA1 metacaspase-like protein. *J Infect Dis*. 15; 195(12):1852-9.

- [257] Porter H, Gamette MJ, Cortes-Hernandez DG, Jensen JB (2008). Asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* exhibit signs of secondary necrosis, but not classical apoptosis after exposure to febrile temperature (40 C). *J Parasitol.* 94(2):473-80.
- [258] Dondorp AM (2008). Clinical significance of sequestration in adults with severe malaria. *Transfus Clin Biol.* 15(1-2):56-7
- [259] N. Argy, S. Houzé Paludisme grave : de la physiopathologie aux nouveautés thérapeutiques Severe malaria: Physiopathology to new therapies. *Journal des Anti-infectieux* (2014) 16, 13—17.
- [260] McLuskey K, Mottram JC. Comparative structural analysis of the caspase family with other clan CD cysteine peptidases. *Biochem J.* 1 mars 2015;466(2):219-32.]
- [261] Meslin B, Beavogui AH, Fasel N, Picot S. *Plasmodium falciparum* metacaspase PfMCA-1 triggers a z-VAD-fmk inhibitable protease to promote cell death. *PloS One.* 2011;6(8):e23867.
- [262] Chowdhury I, Tharakan B, Bhat GK. Caspases - an update. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* sept 2008;151(1):10-27.
- [263] Meslin B, Beavogui AH, Fasel N, Picot S. *Plasmodium falciparum* metacaspase PfMCA-1 triggers a z-VAD-fmk inhibitable protease to promote cell death. *PloS One.* 2011;6(8):e23867.
- [264] Wanderley JLM, Barcinski MA. Apoptosis and apoptotic mimicry: the *Leishmania* connection. *Cell Mol Life Sci CMLS.* mai 2010;67(10):165-79.

- [265] Engelbrecht D, Coetzer TL. Turning up the heat: heat stress induces markers of programmed cell death in *Plasmodium falciparum* in vitro. *Cell Death Dis.* 2013;4:e971
- [266] Totino PRR, Daniel-Ribeiro CT, Corte-Real S, de Fátima Ferreira-da-Cruz M. *Plasmodium falciparum*: erythrocytic stages die by autophagic-like cell death under drug pressure. *Exp Parasitol.* avr 2008;118(4):478-86.
- [267] Zalila H, González IJ, El-Fadili AK, Delgado MB, Desponds C, Schaff C, et al. Processing of metacaspase into a cytoplasmic catalytic domain mediating cell death in *Leishmania major*. *Mol Microbiol.* janv 2011;79(1):222-39.
- [268] Rowe JA, Claessens A, Corrigan RA, Arman M (2009a). Adhesion of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Expert Rev Mol Med.* 11:e16. Review.
- [269] Mishra SK, Newton CR (2009). Diagnosis and management of the neurological complications of *falciparum* malaria. *Nat Rev Neurol.* 5(4):189-98. Review.
- [270] Soumaré M, Seydi M, Diop SA, Diop BM, Sow PS (2008). Cerebral malaria in adults at the Infectious Diseases Clinic in the Fann Hospital in Dakar, Senegal]. *Bull Soc Pathol Exot.* 101(1):20-1.
- [271] Pamba A, Maitland K (2004). Fluid management of severe *falciparum* malaria in African children. *Trop Doct.* 2004 Apr; 34(2):67-70. Review.

- [272] Touré FS, Ouwe-Missi-Oukem-Boyer O, Bisvigou U, Moussa O, Rogier C, Pino P, Mazier D, Bisser S (2008). Apoptosis: a potential triggering mechanism of neurological manifestation in *Plasmodium falciparum* malaria. *Parasite Immunol.* 2008 Jan; 30(1):4751.
- [273] Nagasaki K, Ikoma T, Katsuda S, Tonegawa T, Tanaka J, Ohyama M, Hayashida K, Nakamura T, Sato H, Ito S, Sasaki N, Agui T (2009). Amelioration of anemia in the ICGN mouse, a renal anemia model, with a subcutaneous bolus injection of erythropoietin adsorbed to hydroxyapatite matrix. *J Vet Med Sci.* 71(10):1365-71.
- [274] Sirén AL, Fasshauer T, Bartels C, Ehrenreich H (2009). Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system. *Neurotherapeutics.* 6(1):108-27. Review.
- [275] Zhang J, Wu Y, Jin Y, Ji F, Sinclair SH, Luo Y, Xu G, Lu L, Dai W, Yanoff M, Li W, Xu GT (2008). Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49(2):732-42.
- [276] Casals-Pascual C, Idro R, Picot S, Roberts DJ, Newton CR. Can erythropoietin be used to prevent brain damage in cerebral malaria? *Trends Parasitol.* 25(1):30-6. Review.
- [277] Martinou, J. C. and D. R. Green (2001). "Breaking the mitochondrial barrier." *Nat Rev Mol Cell Biol* 2(1): 63-7.

- [278] Kim I, Xu W and Reed JC. (2008). Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat RevDrugDiscov* 7,1013-30.
- [279] Ghosh, R., Lipson, K. L., Sargent, K. E., Mercurio, A. M., Hunt, J. S., Ron, D., and Urano, F. (2010) Transcriptional regulation of VEGF-A by the unfolded protein response pathway. *PLoS One* 5, e9575
- [280] COOKE BM, WAHLGREN M, COPPEL RL. *Falciparum malaria: sticking up, standing out and out-standing. Parasitol Today* 2000 ;16 : 416-20.
- [281] Vandana, Agam P. Singh, Jitendra Singh, RubySharma, Mymoona Akhter, Pradyumna K. Mishra, Ajay K.Saxena, Rajnikant Dixit, Brijesh Rathi, Anju Katyal, KailashC (2018) . Biochemical characterization of unusual cystein protease of *P. falciparum*, metacaspase-2 (MCA-2) *MOLBIO* 11106

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أبأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
 - وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
 - وأن أمارس مهنتي بوانع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
 - وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
 - وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
 - وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
 - وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
 - وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
 - وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
 - بكل هذا أتعهد عن كامل اختياري ومقسما بشريفي.
- والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 251

سنة : 2018

إسهام الإستماتة في داء الملاريا

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: إيمان وعزى

المزودة في: 16 أبريل 1992

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: استماتة - ملاريا - كاسباز.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: بدر الدين ليموني

أستاذ في علم الطفيليات والفطريات

مشرف

السيد: مراد بوشريك

أستاذ في علم الطفيليات والفطريات

السيد: عز الدين إبراهيمي

أستاذ في التكنولوجيا الحيوية

أعضاء

السيد: عمر الشقيري

أستاذ في البيولوجيا الجزيئية

السيد: محمد معيوط

أستاذ في حقوق الصيدلة