

UE7
Cours n 9
C. LAMAZE
24 .11.11

Elise GODEAU (partie1)
Guillaume MERGENTHALER (partie2)

Le rôle de l'endocytose dans les processus pathologiques

SOMMAIRE :

I. L'endocytose à récepteurs : la voie des clathrines

A. Les acteurs de cette voie :

- 1) La clathrine
- 2) Les adaptateurs
- 3) Les récepteurs spécifiques

B. Formation d'une vésicule de clathrine

II. Autres voies d'endocytose

A. Micro-domaine lipidique (Raft)

B. A quoi servent ces différentes endocytoses ?

- 1) Interféron
- 2) TGF bêta
- 3) Exemple clinique

C. Cavéoline

Introduction :

Définition :

L'endocytose est un phénomène **membranaire**, indispensable à la vie de la cellule, car il permet **l'internalisation** de molécules spécifiques par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques dans la cellule.

Le foie (endocytose des HDL notamment) et le cerveau (transmission synaptique) sont les 2 organes pratiquant le plus l'endocytose.

On distingue plusieurs processus d'endocytose:

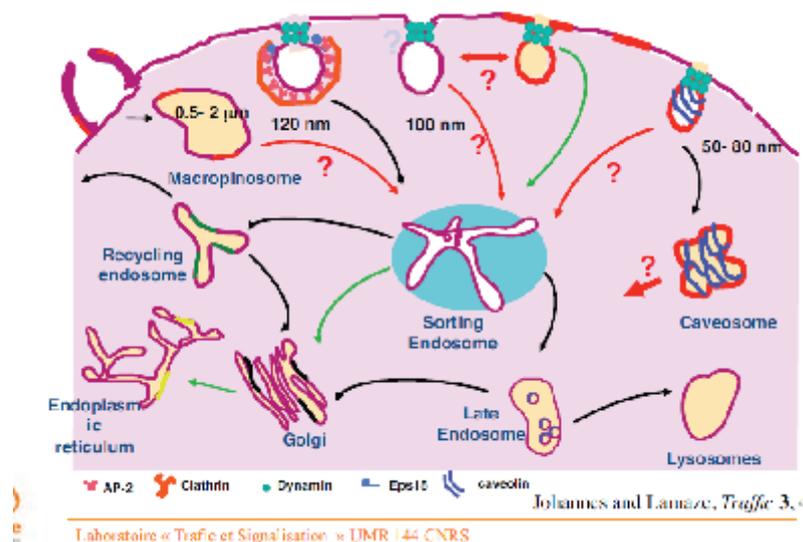
→ la **phagocytose** : (*phagein=manger*) consistant en ingestion de grosses particules solides et de cellules par des vésicules de diamètre > ou égal à 250 nm : les phagosomes. Réalisée par les macrophages et les PNN.

→ la **pinocytose** : (*pinein=boire*) qui est l'ingestion de particules non solides (fluides ou macromolécules) par des particules de diamètre environ égal à 150 nm. C'est-à-dire l'endocytose en phase liquide, réalisée par toutes les cellules

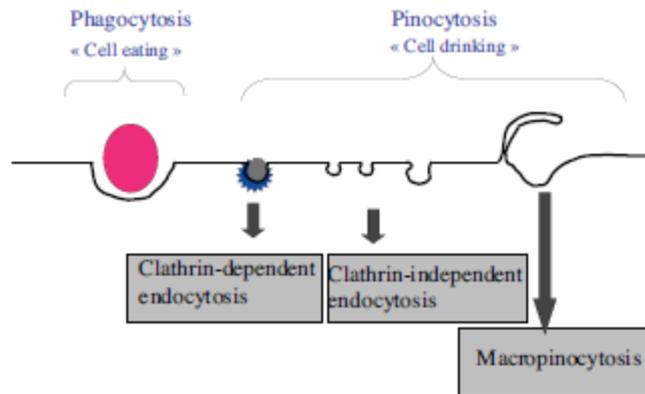
- **l'endocytose à de récepteurs (la voie des clathrines)** : endocytose sélective par l'intermédiaire de récepteurs membranaires

- **les voies indépendantes des clathrines** : les **cavéoles** se formant à partir de radeaux lipidiques de la membrane plasmique, la **voie du récepteur de l'IL2...**

- **la macropinocytose**



Endocytic mechanisms



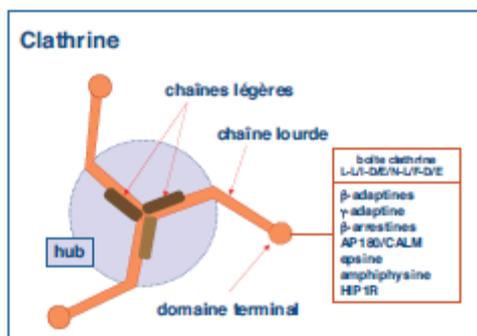
Fonctions de l'endocytose

- capter les nutriments : par exemple, le cholestérol présent sous forme de LDL ou de HDL est ingéré par les cellules pour assurer la synthèse de la membrane plasmique.
- limitation des stimulations hormonales par l'internalisation des récepteurs à l'EGF notamment.
- communication entre les cellules : typiquement la synapse
- permet l'élimination des cellules mortes (par les macrophages)
- rôle immunologique
- régule la composition de la membrane plasmique

I-L'endocytose à récepteurs : la voie des clathrines :

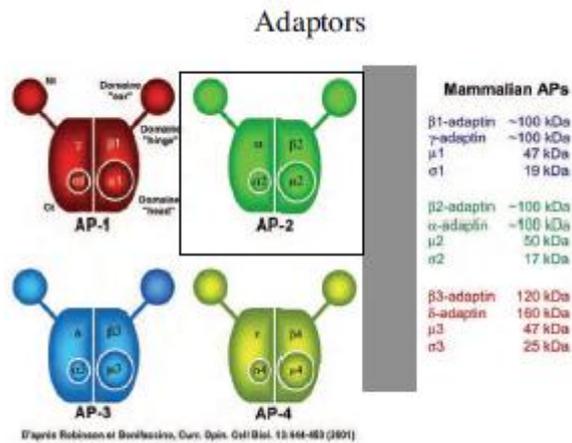
A-Les acteurs de cette voie :

1-La clathrine



La clathrine est une protéine structurale formant l'enveloppe de certaines vésicules. C'est une molécule de 120kDa, composée de 3 chaînes lourdes avec 3 domaines terminaux et 3 chaînes légères. Elle a une forme de **triskèle** (trépieds) permettant la formation de cages de clathrine composées d'hexagones et pentagones, très rigides. Les triskèles s'auto assemblent in vitro. Elle permet l'invagination de la membrane et la formation de vésicules d'endocytose.

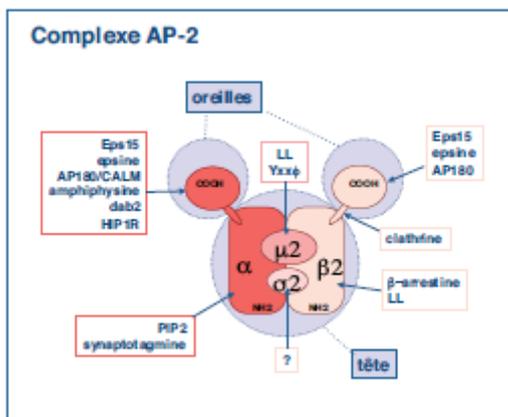
2-Les adaptateurs : AP1-AP2-AP3-AP4 (AP=protéine d'assemblage)



Adaptors recognize signals on proteins

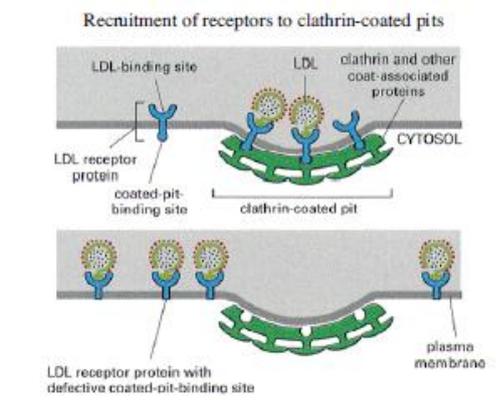
Ces protéines permettent l'augmentation de la formation des cages de clathrine et la régulation de la taille de ces cages. Ils sont caractérisés pas des localisations spécifiques

- AP1 : appareil de Golgi
- AP2 : membranaire
- AP3 : endosomes tardifs
- AP4 : lysosomes

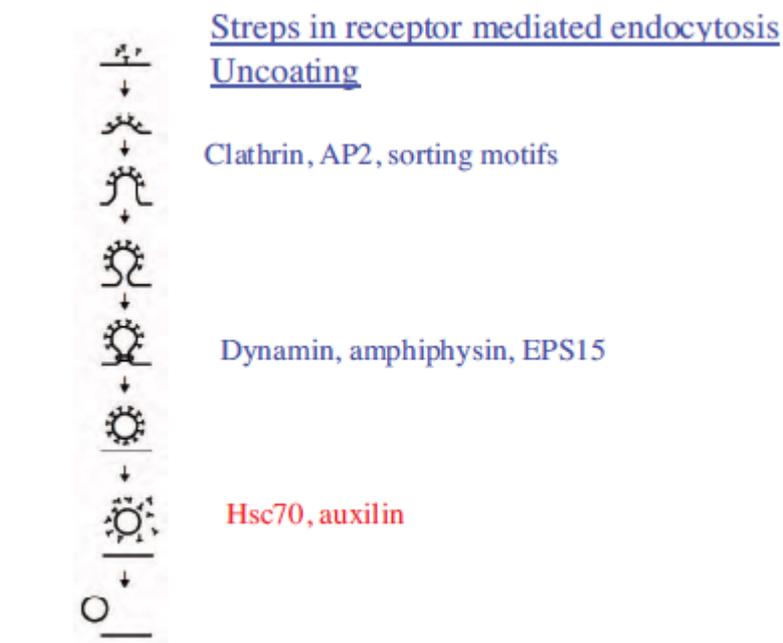


AP2, est un hétérodimère (alpha, bêta, sigma, mu) est une molécule essentielle à l'endocytose. Elle permet la colocalisation membranaire. Elle interagit avec lipides, les molécules membranaires et les clathrine

3-les récepteurs spécifiques



B-Formation d'une vésicule de clathrine :

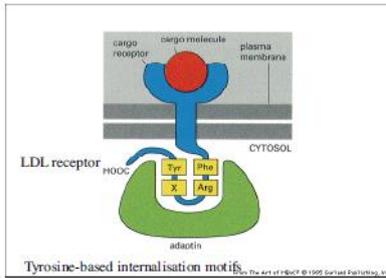


-recrutement : adressage spécifique de la molécule dans les puits d'endocytose

Il existe des signaux d'endocytose permettant la liaison des clathrines aux protéines d'assemblage et donc le ciblage intracellulaire.

Il en existe plusieurs types. Par exemple, les récepteurs des LDL, de la transferrine et du mannitol6phosphate est un signal de 4 acides aminés, situé dans la partie intracellulaire des récepteurs : une tyrosine,X,X,un acide aminé aromatique)

Internalisation signals



Une des causes de l'hypercholestérolémie familiale est la mutation de la Tyrosine (1^{er} acide aminé) du signal d'endocytose, empêchant la reconnaissance du récepteur par les protéines d'assemblage. L'internalisation du LDL cholestérol dans la cellule ne pouvant pas se faire, le LDL s'accumule dans la circulation.

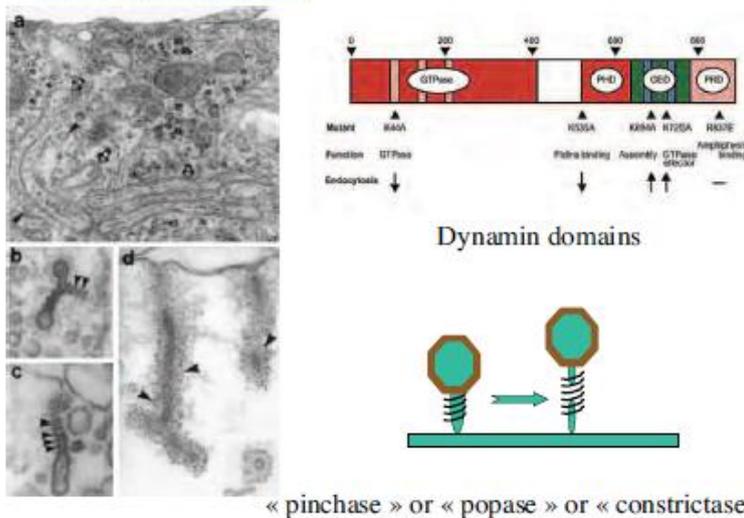
-**formation de puits recouverts** : assemblage spontané sur la face cytoplasmique, d'un réseau de mailles hexagonales de clathrine → formation d'un manteau de clathrine (coated vesicule)

-le matériel est englobé dans une portion de membrane plasmique qui s'invagine puis s'individualise en une vésicule d'endocytose

-fermeture de la vésicule d'endocytose

-**détachement** des vésicules de clathrines par la **dynamine**. La dynamine est une GTPase, l'hydrolyse du GTP lui permet de changer de conformation, se transformer en twister dont on pense que la forme permet le clivage de la vésicule de clathrine. De plus, l'inactivation de la dynamine inhibe l'endocytose.

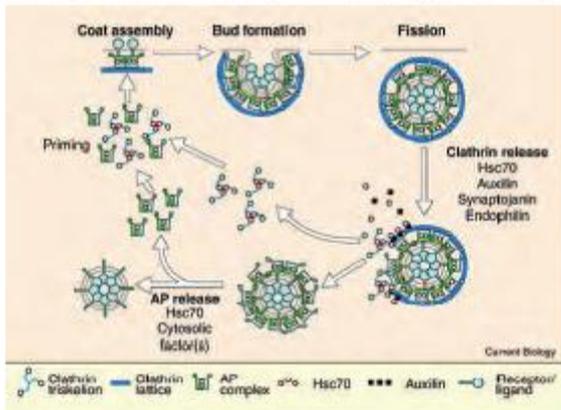
Dynamine is a GTPase : Forms oligomers rings in the neck of forming vesicles



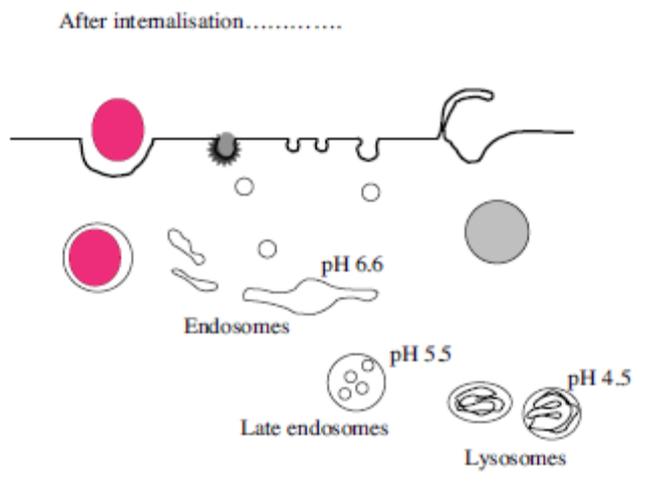
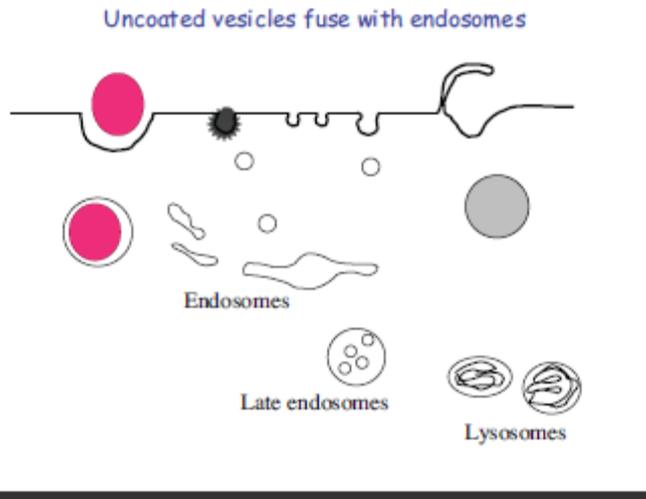
Chez la drosophile, on a observé une mutation thermosensible de la dynamine. En effet quand la température dépasse les 25 degrés, les drosophiles s'immobilisent, du fait d'une accumulation des puits de clathrine au niveau de la jc neuro musculaire secondaire a un défaut de dynamine.

-Désassemblage par l'intermédiaire de l'Auxilline

Uncoating involves HSC70, Auxilin, Synaptojanin, endophilin



-fusion avec l'endosome précoce – puis endosome tardif...
Ou recyclage de l'AP2 et de la clathrine.



II. AUTRES VOIES D'ENDOCYTOSE

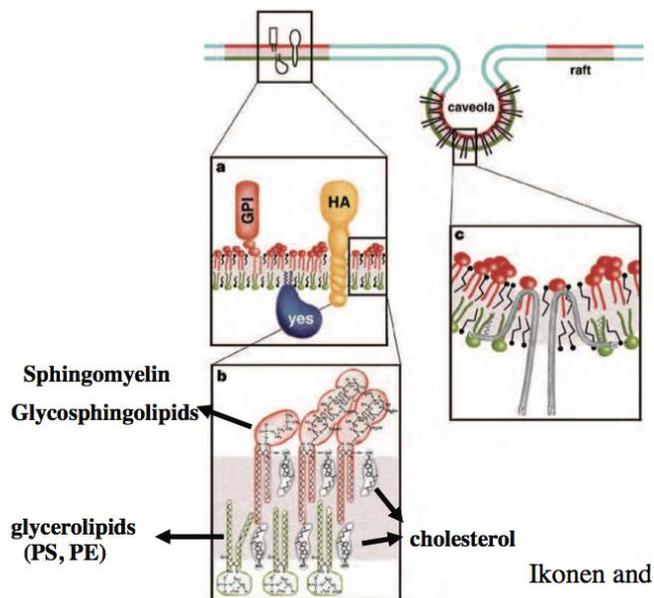
A. Micro-domaine lipidique (Raft)

Depuis 10 ans on sait que la représentation de la membrane cellulaire en tant que bicouche lipidique est fautive, en fait c'est beaucoup plus hétérogène, cependant l'étude de ces lipides est rendue difficile par le fait que les lipides n'ont pas d'ADN et ne sont pas immunogènes (il est donc impossible d'utiliser des anticorps).

L'hétérogénéité est due au fait que certains lipides ont des chaînes longues et sont regroupés, tandis que d'autres ont des chaînes courtes et sont plus fluides dans les membranes.

Les phases liquides ordonnées vont créer des **micro-domaines** (longs de quelques nanomètres) et en fonction de leur affinité pour les lipides, on va pouvoir séquestrer ou exclure des protéines.

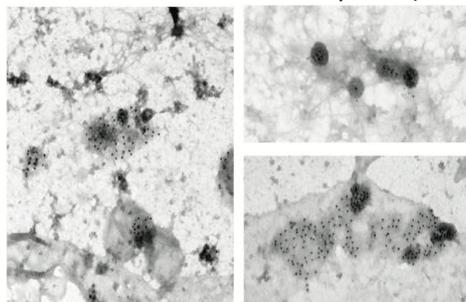
Cette organisation va permettre de compartimentaliser la membrane.



- Le récepteur de l'IL2 :

L'interleukine 2 est une cytokine sécrétée par les lymphocytes T. Elle est utilisée en thérapeutique pour les cancers avancés du rein.

On peut voir au microscope électronique que les IL-2 (marquées par des grains d'or) ne sont pas localisées au niveau des récepteurs associés à la clathrine. L'endocytose se fait donc sans clathrine. (On utilise le récepteur de la transferrine comme contrôle positif)



	In flat lattices (%)	In coated pits (%)	Others (%)
IL2 receptors	0.6	1.2	98
Tf receptors	60	6.5	33

Ainsi le récepteur de l'IL-2 passe par une voie d'endocytose indépendante de la clathrine, qui fait intervenir les micro-domaines lipidiques, en effet le récepteur est concentré sur la membrane grâce à son **association plus ou moins spécifique** à ces micro-domaines.

Les lipides s'organisent pour former des puits, et ensuite l'endocytose a lieu.

▪ Toxines :

Certaines toxines de bactéries (toxine de *Vibrio cholerae* pour le choléra, toxine de *Shigella dysenteriae*) qui sont intracellulaires strictes, ont leur propre voie d'endocytose, elle se lie sur un lipide, les lipides forment alors des micro-domaines, et par réaction physico-chimique il y a formation d'une vésicule.

Il en est de même pour certains virus.

B. A quoi servent ces différentes endocytoses ?

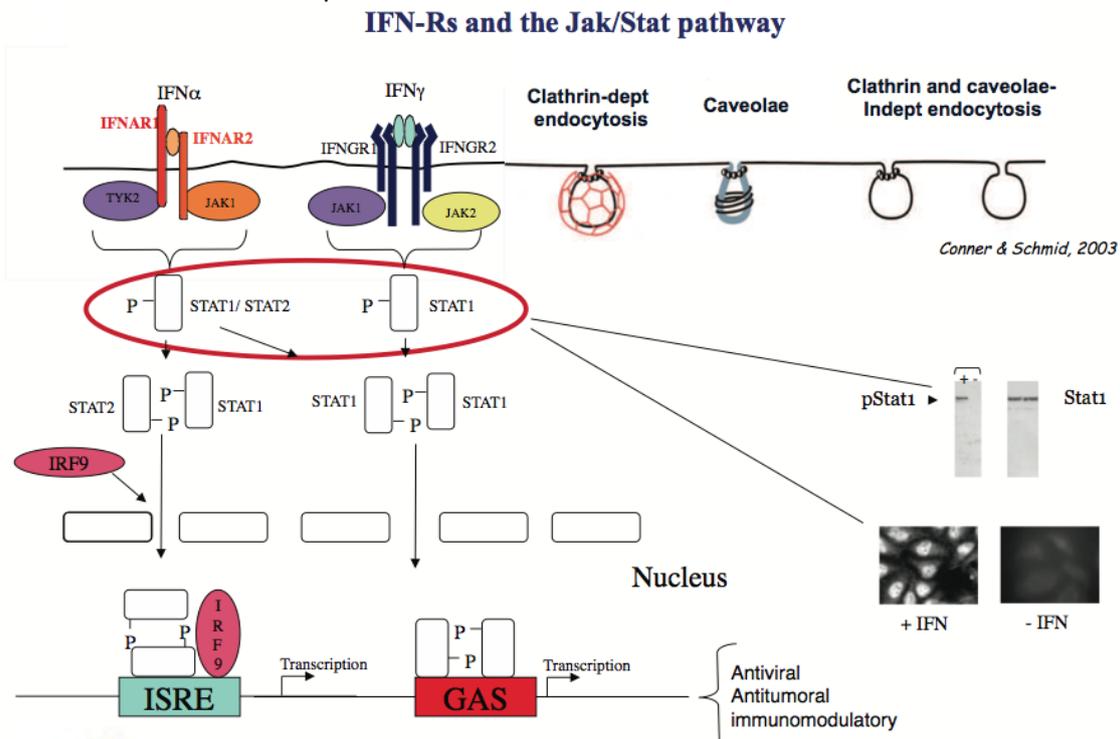
En bloquant l'endocytose d'un récepteur (tel que celui de l'EGF par exemple), la cascade de signalisation est complètement perturbée.

1. Interféron

INF-alpha : 50% des hépatites C répondent bien au traitement par IFN-alpha

INF-beta : il est utilisé comme anti-inflammatoire pour la sclérose en plaque

La voie de signalisation liée à l'interféron est celle de **Jak-Stat**. Jak est un kinase et Stat fait le lien entre l'interféron et la transcription.



L'endocytose du récepteur à l'IFN-alpha se fait par la voie des puits de **clathrine** (à la fois pour le trafic et pour la signalisation)

L'endocytose du récepteur à l'IFN-gamma se fait par l'intermédiaire des **micro-domaines lipidiques**.

Ainsi il existe une spécificité du signal entre IFN-a et IFN-g.

De plus le trafic membranaire contrôle et donne de la spécificité à la signalisation : sans interféron, Stat ne va pas dans le noyau et n'entraîne pas de transcription.

Petite parenthèse : le paradoxe de la signalisation : il n'y a même pas 10 voies de signalisation dans la cellule, or il existe des millions de ligands, récepteurs, conséquences au niveau du signal.

Comment avec si peu de molécules on peut avoir une variété aussi importante de conséquences ?

2. TGF beta

Pour l'endocytose du récepteur au TGF beta, il y a 2 choix : clathrine ou cavéole.

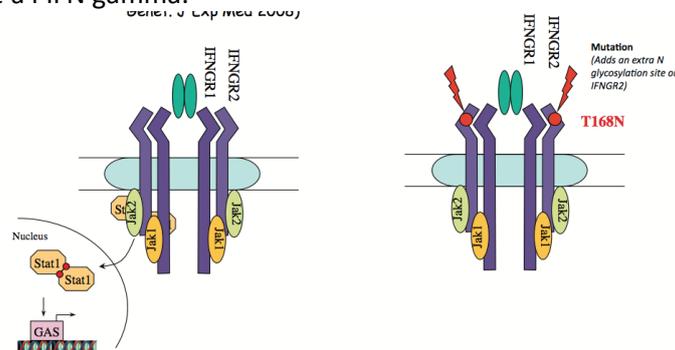
En fonction de la voie d'entrée, le récepteur aura un signal différent :

- par la voie **clathrine** ça entraîne l'**apoptose**
- par la voie **cavéole** ça entraîne la **dégradation**

3. Exemple clinique

La mutation du récepteur à l'IFN gamma entraîne une absence de réponse à l'IFN gamma responsable d'une réponse immunitaire déficiente et donc une sensibilité accrue à certaines infections notamment les infections mycobactériennes chez l'enfant (tuberculose)

La mutation de la chaîne 2 du récepteur (un acide aspartique est remplacé par une asparagine) entraîne une modification de la conformation du récepteur : apparition d'une 7^e chaîne d'oligosaccharides (le récepteur normal ayant 6 chaînes). Cette modification entraîne un arrêt complet de la réponse à l'IFN gamma.



Quel est le mécanisme ?

- Le récepteur muté est endocyté normalement ? OUI
- Mais la phosphorylation de Stat1 ne se fait pas : dans les conditions normales Stat1 rentre dans le noyau, et en cas de mutation Stat1 reste cytosolique.

En introduisant une enzyme qui coupe le sucre supplémentaire à la surface du récepteur muté, on retrouve une activation de la voie Stat.

→ En traitant avec cette enzyme on récupère la translocation de Stat dans le noyau.

Le récepteur sauvage/normal est concentré au niveau de la membrane, est endocyté et permet la signalisation.

Alors que le récepteur muté traverse la membrane de manière passive et n'est donc pas capable de s'arrêter et de recruter les kinases (Jak). Le mutant ne s'associe pas aux micro-domaines lipidiques.

->Le récepteur doit être associé aux micro-domaines lipidiques pour avoir une action

C- CAVEOLE

Ce type d'endocytose a lieu dans des cellules soumises à des stress mécaniques répétés.

Il correspond à 3 types cellulaires :

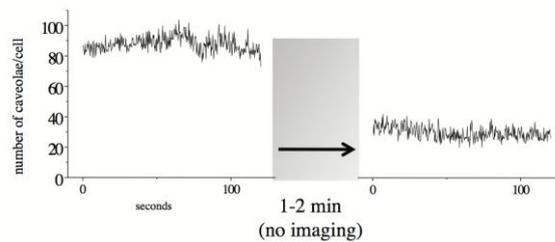
- les adipocytes
- les cellules endothéliales (flux de cisaillement)
- les cellules musculaires squelettiques

Au repos, il existe une **tension de membrane**. En cas de stress mécanique, il y a une augmentation de cette tension de membrane, et il faut apporter des vésicules de membrane pour que la cellule n'explose pas. L'endocytose est impliquée dans ce mécanisme de protection.

Expérience :

On soumet une cellule à un stress mécanique (choc hypo-osmotique), celle-ci va gonfler.

Par microscopie TIRF (pour visualiser la membrane) : on voit la disparition des cavéoles de la membrane et les cavéoles restantes deviennent immobiles.



Expérience :

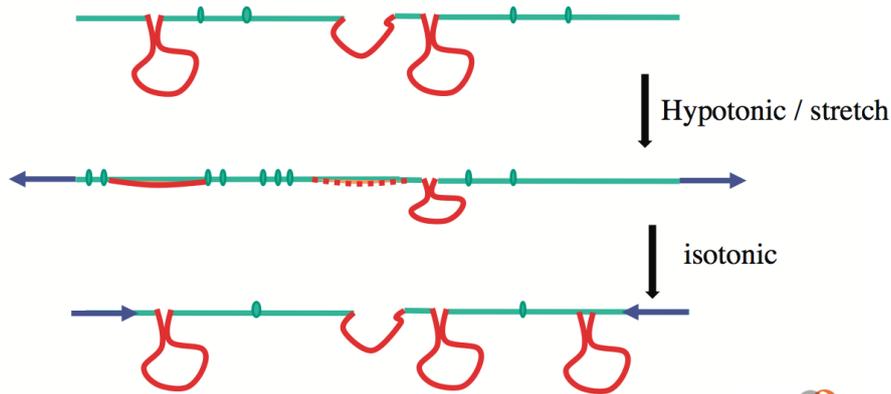
Étirement de cellule : les cavéoles disparaissent de la même façon.

Comment les cavéoles disparaissent-elles ?

- Par endocytose ? NON
- Par phénomène passif dû à l'étirement de la membrane ? OUI

La cavéole va se déplier pour apporter un excès de membrane afin d'éviter la rupture.

Afin de confirmer, on reprend l'expérience 1 : en revenant à un milieu iso-osmotique on observe la reformation des cavéoles.



Dans les cellules sans cavéole, on peut voir que la tension de surface augmente très fortement lors d'un stress mécanique.

▪ Pathologie :

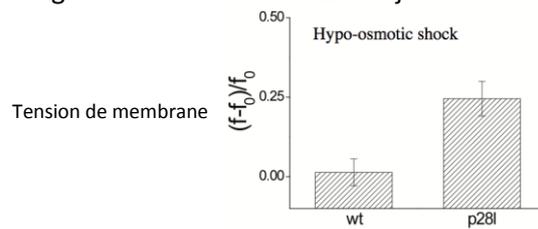
Des mutations de la cavéoline entraînent :

- myopathie de Duchenne
- dystrophie/myopathie des ceintures (bassin pelvien et épaules)

La mutation de la cavéoline **empêche l'assemblage de cavéoles** à la membrane, elles sont séquestrées au niveau de l'appareil de Golgi.

Expérience :

On soumet la cellule musculaire à un choc osmotique : la tension de membrane reste normale chez le sujet normal, et elle augmente fortement chez le sujet muté.



Donc on pense que c'est ce qui se passe, la mutation empêche la localisation membranaire des cavéoles et ainsi lors d'un étirement, la cellule qui aurait besoin d'un excès de membrane va exploser, et la maladie apparaît lorsqu'il y a plus de destruction que de reconstruction musculaire.