L 'apoptose dérive-t-elle de la mort nucléaire programmée mise en œuvre par les protistes ?

Denis Hermann, Bernard Mignotte

▶ **To cite this version:**

Denis Hermann, Bernard Mignotte. L 'apoptose dérive-t-elle de la mort nucléaire programmée mise en œuvre par les protistes ?. Médecine/Sciences, 1994. hal-03038652

HAL Id: hal-03038652
https://hal.uvsq.fr/hal-03038652

Submitted on 3 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

m/s HYPOTHÈSE
médecine/sciences 1994; 10: 687-95

L'apoptose dérive-t-elle de la mort nucléaire programmée mise en œuvre par les protistes ?

Herman Denis, Bernard Mignotte

Pendant la phase sexuée de leur cycle vital, certains protistes détruisent un ou plusieurs de leurs noyaux. Beaucoup de métazoaires détruisent certaines de leurs cellules. Ces destructions ont lieu durant l'embryogenèse et la vie adulte. Elles sont connues sous le nom de mort cellulaire programmée ou apoptose. Il y a des traits communs entre la mort nucléaire et la mort cellulaire programmées. On peut donner à ces ressemblances une interprétation évolutive, en supposant que lors de la conversion des animaux unicellulaires en animaux multicellulaires, la mort programmée de noyaux se transforma en mort programmée de cellules. Les divers groupes de métazoaires ont peut-être gardé souvenir de cet événement lointain, sous la forme de similitudes dans la manière de déclencher et de réaliser l'apoptose. L'étude de ce phénomène pourrait en être facilitée. Il serait possible de transposer aux mammifères et à l'homme les résultats fournis par la dissection génétique de l'apoptose chez des espèces qui se prêtent à ce type d'analyse.

Les cellules des métazoaires peuvent mourir de plusieurs causes : maladie, accident, vieillesse. Infections et traumatismes affectent les cellules à tout moment de leur vie. La sénescence s'installe quand les cellules perdent l'aptitude à se diviser, qui entretenait leur jouvence. Ces diverses formes de mort cellulaire sont de nature à compromettre la survie de l'organisme tout entier et contribuent à limiter sa longévité.

Les cellules peuvent aussi se suicider. Cette forme de mort est mieux connue sous le nom d'apoptose. Elle n'a qu'une influence très indirecte sur la longévité des organismes. Jusqu'à récemment, l'apoptose n'avait guère attiré l'attention des chercheurs [1]. Depuis quelques années, les choses ont changé. L'apoptose est à la mode, comme le montrent les multiples mises au point publiées à son sujet dans cette revue [2-7]. Toutefois, l'origine du phénomène n'a pas jusqu'ici reçu l'intérêt qu'il nous semble mériter. Nous essayons dans ces lignes de quelque peu combler cette lacune. En abordant l'apoptose sous l'angle évolutif, notre dessein n'est pas simplement de satisfaire une légitime curiosité de biologistes. L'enjeu est bien plus important. Nous voulons mieux comprendre les processus complexes qui gouvernent la mort des cellules pendant l'embryogenèse et le vieillissement des organismes supérieurs. Chez l'homme, l'étude de la mort cellulaire présente un intérêt médical évident.

Apoptose et mort cellulaire programmée

Pour certains auteurs, apoptose est synonyme de mort cellulaire programmée. Ces termes désignent une mort « naturelle » des cellules, par opposition à une mort accidentelle ou pathologique, telle que la nécrose, qui est provoquée par des traumatismes divers [8-12]. En fait, les deux termes ne sont peut-être pas équivalents [12]. Pour éviter toute confusion, il nous semble prudent d'appeler mort cellulaire programmée une élimination active de

cellules pendant l'embryogenèse et la vie adulte [19]. L'apoptose serait une forme particulière de mort programmée, qui s'accompagne de modifications caractéristiques dans la morphologie et la physiologie cellulaires. Cependant, toute cellule qui se suicide ne manifeste pas nécessairement l'ensemble des symptômes apoptotiques [5, 12] : lobulation de l'enveloppe nucléaire ; condensation et dégradation de la chromatine par attaque des liens internucléosomiques ; fragmentation du noyau, puis de la cellule [5, 8, 13].

La mort programmée remplit de multiples fonctions. Elle a notamment un rôle morphogénétique et un rôle homéostatique. Chez le nématode *Caenorhabditis*, un nombre fixe de cellules (131) meurt pendant le développement d'un hermaphrodite, ce qui représente 12 % des 1090 cellules somatiques que forment l'embryon puis la larve [19]. De nombreuses cellules périssent pendant la métamorphose des insectes et des amphibiens [9, 14]. Chez les vertébrés, la mort cellulaire programmée contribue au modelage des membres ainsi qu'à la maturation du système nerveux [10]. Elle élimine aussi les cellules qui peuvent nuire à l'organisme, comme celles dont l'ADN est endommagé, celles qui deviennent tumorales et les lymphocytes qui produisent des auto-anticorps [2, 10, 11, 15].

Ancienneté de la mort cellulaire programmée

La mort programmée fait partie du cycle vital d'animaux très divers *(figure 1)*. Par exemple, on a décrit chez l'hydre d'eau douce (qui est un cnidaire) un processus « apoptotique » dont le rôle serait d'aider les ovocytes à s'accroître en englobant les débris de cellules nourricières, riches en éléments nutritifs [7]. En fait, il se pourrait que la mort programmée existe dans tous les groupes zoologiques.

Pour donner une valeur évolutive aux observations décrites dans la littérature *(figure 1)*, il faudrait être certain que la mort cellulaire programmée constitue un caractère homologue, donc acquis par l'ancêtre commun de tous les animaux et conservé par ses descendants [18]. C'est l'analyse moléculaire des phénomènes qui permettra de se faire une conviction. On conclura à l'homologie de la mort programmée dans deux groupes zoologiques différents si plusieurs gènes apparentés gouvernent son déclenchement et son exécution [18]. Si tel était le cas chez tous les animaux étudiés *(figure 1)*, on pourrait unifier le concept de mort cellulaire programmée. Cela résoudrait les problèmes sémantiques évoqués plus haut.

Un élément de réponse existe en ce qui concerne les nématodes et les vertébrés. Les produits de deux gènes homologues entraînent la mort programmée des cellules chez *Caenorhabditis* et le rat : Ced-3 et ICE *(interleukin-1β-converting enzyme)* [19]. La protéine ICE est une protéase à cystéine qui convertit le précurseur inactif de l'interleukine 1-β en cytokine fonctionnelle [19]. On n'a pas encore identifié le substrat des protéines Ced-3 et ICE dans le processus d'apoptose.

Il y a une autre ressemblance entre la mort cellulaire programmée de *Caenorhabditis* et celle des vertébrés. Le produit du gène *ced-9* protège les cellules de *Caenorhabditis* contre la mort programmée [20, 21]. Un gène de mammifère *(bcl-2)* remplit une fonction analogue [22]. La protéine Bcl-2 est fonctionnelle quand on la fait apparaître dans les cellules de *Caenorhabditis* : elle réduit le nombre de cellules qui meurent durant l'embryogenèse [23]. De fait, *bcl-2* et *ced-9* sont homologues [24]. On est donc tenté de considérer comme homologues l'apoptose des vertébrés et la mort cellulaire programmée des nématodes. Cela voudrait dire que la mort programmée serait apparue chez un animal primitif, ancêtre commun des cœlomates et des pseudocœlomates *(figure 1)*.

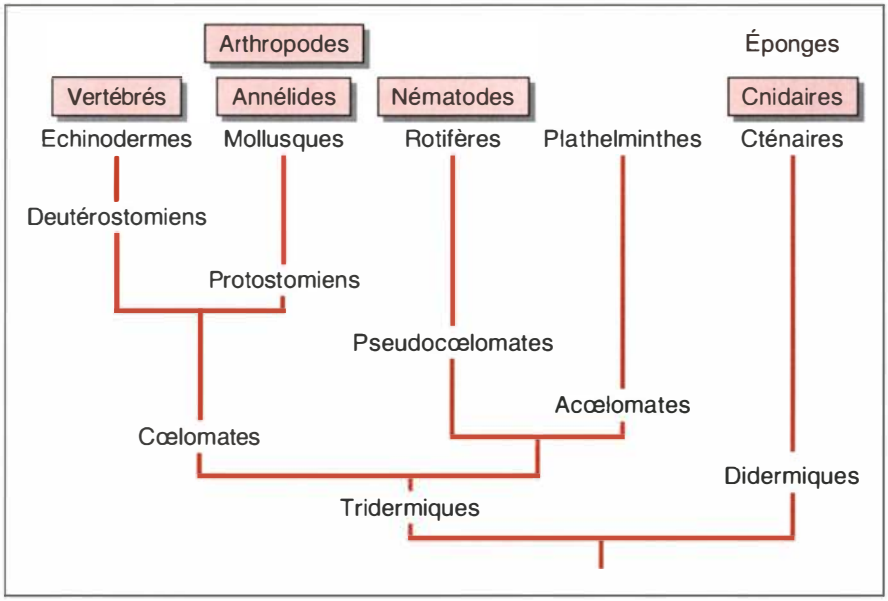

Figure 1. ***Distribution phylogénétique de la mort cellulaire programmée.*** *Le schéma représente un arbre phylogénétique simplifié. Il ne groupe que 11 phylums (embranchements) de métazoaires, sur les 30 à 35 qui existent. L'arbre est construit en utilisant comme critères le nombre et l'organisation des feuillets que comporte l'embryon. Les didermiques comportent deux feuillets embryonnaires, tandis que les tridermiques en comprennent trois. Les tridermiques se partagent en cœlomates, dont le mésoderme est organisé en vésicules closes, et acœlomates/pseudocœlomates, dont le mésoderme ne forme pas de cavités. Les cœlomates se divisent en deutérostomiens et protostomiens, suivant la manière dont se déroule la mise en place des feuillets durant la gastrulation. Sont encadrés les groupes où l'on a pu mettre en évidence une mort cellulaire programmée. (D'après Ellis* et al. *[4] et Margulis [16].)*

Nature de la mort cellulaire programmée

Une hypothèse simple consiste à considérer la mort cellulaire programmée comme une mitose avortée. Suivant cette conception, toute cellule de métazoaire peut exécuter deux programmes génétiques distincts qui engagent son avenir immédiat : un programme de division ou un programme de mort [4, 10]. Il y aurait donc un lien fonctionnel entre la prolifération et la mort cellulaire programmée [15]. Dans beaucoup de cas, le choix entre mitose ou suicide se fait après que la cellule a franchi un point du cycle mitotique que l'on appelle point de restriction ou point R *(figure 2)* [10]. Une fois franchi ce pas, la cellule prépare activement la division, à moins que des facteurs internes ou externes ne l'obligent à réaliser une mitose abortive, qui provoquera sa destruction [10]. Il existe des variations en ce qui concerne la phase du cycle mitotique où la cellule entre en apoptose [5]. Dans certaines cellules, la bifurcation pourrait avoir lieu avant le point R [29]. Dans d'autres cellules, elle se ferait bien après. Par exemple, la castration fait entrer en apoptose les cellules de la prostate après qu'elles ont entamé ou terminé la réplication de leur ADN [30].

Cette hypothèse ouvre des perspectives intéressantes, en particulier pour ce qui concerne l'origine de la mort cellulaire programmée. Les métazoaires archaïques devaient employer des moyens simples pour contrôler l'entrée en mitose ou faire dévier le cours normal de celle-ci vers une mort prématurée. Chez les organismes unicellulaires, le franchissement du point R dépend surtout de la taille de la cellule, donc de la quantité de nutriments disponibles [31]. On peut penser qu'il en allait de même chez les métazoaires primitifs [32]. Le cycle cellulaire était donc gouverné par des facteurs trophiques plutôt que par des signaux émanant d'autres cellules de l'organisme. Chez *Caenorhabditis*, les cellules disposent apparemment d'une grande autonomie pour déterminer le nombre de divisions qu'elles exécutent au cours du développement embryonnaire et larvaire [33]. Tout indique que la mort programmée jouit d'une semblable indépendance : les cellules se suicident sans y être incitées par des signaux extracellulaires [9].

A mesure qu'ils évoluaient, les animaux apprirent à mieux maîtriser la prolifération et la destruction de leurs cellules. C'est indispensable pour déterminer la taille et la forme des différents organes qu'élabore l'embryon. C'est tout aussi indispensable chez l'adulte, afin de renouveler les cellules qui disparaissent, et d'éliminer celles qui deviennent dangereuses pour la survie de l'organisme. De fait, l'étude des métazoaires révèle une corrélation entre la complexité structurale et le nombre d'oncogènes et de suppresseurs de tumeurs qui gouvernent l'activité mitotique des cellules [34]. Il est donc probable que des contrôles supplémentaires se sont peu à peu ajoutés aux programmes ancestraux de division et de mort.

Mécanisme de l'apoptose

Si l'apoptose consiste réellement en une mitose modifiée, il paraît normal que certains gènes interviennent dans le contrôle des deux processus. C'est ce que l'on observe chez les vertébrés. Par exemple, *p53* se comporte normalement comme un suppresseur de tumeurs : il réfrène la prolifération des cellules [13]. Mais le produit de *p53* peut aussi déclencher l'apoptose quand l'ADN nucléaire a subi des dommages *(figure 2)* [15, 28]. Il empêcherait donc la propagation de cellules dont les gènes sont trop fortement mutés [13]. Par ailleurs, les produits de plusieurs proto-oncogènes *(c-fos, c-myc* et *c-rel)* subordonnent l'entrée en mitose ou en apoptose à des signaux produits par d'autres cellules, situées à proximité ou à distance *(figure 2) (m/s n° 1, vol. 10, p. 104)* [3, 5, 6, 25, 35, 36]. Il y aurait donc dans la membrane plasmique des récepteurs

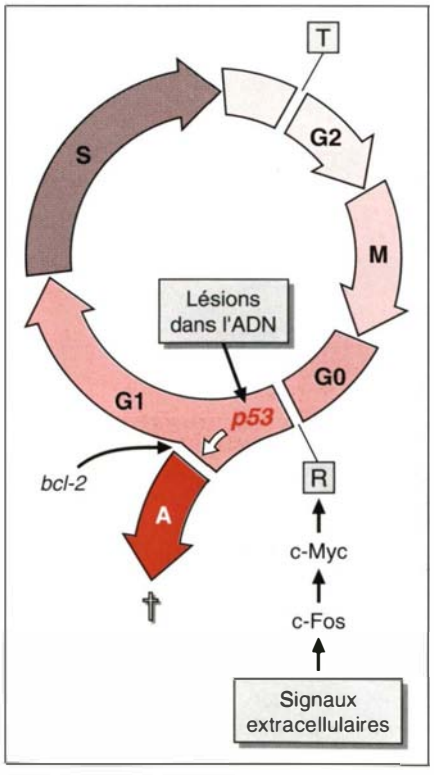

Figure 2. ***Relations hypothétiques entre l'apoptose et le cycle cellulaire chez les vertébrés.*** *Après la mitose (phase M), la cellule entre dans une phase de repos (quelquefois appelée G_0). Au point de restriction (R), elle fait un choix. Elle s'engage, soit dans la voie qui mène à une nouvelle division (phase G_1), soit dans celle qui mène à l'apoptose (phase A). Si la cellule réalise un cycle normal, elle réplique ses chromosomes (phase S). Durant la phase G_2, un autre contrôle intervient, que l'on appelle point de transition (T). L'entrée en apoptose dépend de l'action de plusieurs proto-oncogènes* (c-fos, c-myc et bcl-2) *et d'au moins un suppresseur de tumeurs :* p53. *Le produit de* p53 *favorise le déclenchement de l'apoptose, tandis que celui de* bcl-2 *l'inhibe. Le rôle de* p53 *est plus complexe que ne l'indique le schéma. En tant que suppresseur de tumeurs, le produit de* p53 *freine aussi la prolifération des cellules, en empêchant le franchissement du point R. La protéine* p53 *percevrait les lésions qu'a subi l'ADN, tout en participant peut-être à leur réparation [26]. Cette protéine agit en tant que facteur de transcription. Elle active entre autres un gène* (cyp 1 *ou* WAF 1) *dont le produit inhibe indirectement la synthèse de l'ADN [27, 28]. (D'après Solary* et al. *[5], Hucker [10] et Harrington* et al. *[25]. modifié.)*

qui perçoivent des ordres de mitose ou de mort. Suivant son état physiologique, la cellule réceptrice choisit de se diviser ou de mourir [2].

D'autres récepteurs sont apparemment voués à la seule transmission de signaux d'apoptose. C'est le cas, chez les mammifères, pour le récepteur de l'antigène superficiel Fas, que possèdent divers types de cellules, et notamment certains lymphocytes [2, 5]. Ce récepteur appartient à la famille des récepteurs des TNF-NGF *(tumor necrosis factor-nerve growth factor)* [5, 37]. Pour qu'une cellule exprimant Fas entre en apoptose, il suffit que le récepteur soit occupé par un anticorps dirigé contre l'antigène Fas *(m/s n° 11, vol. 9, p. 1279)* [5, 37], ou par le ligand naturel de celui-ci [37]. Le ligand de Fas est une protéine membranaire appartenant à la famille des TNF [37]. Dans le système Fas, une cellule donne et une autre reçoit par contact direct un ordre de suicide, qui est une sorte de « baiser de mort ».

On est loin d'avoir identifié tous les gènes qui gouvernent le déclenchement et l'exécution de l'apoptose chez les mammifères. Jusqu'à présent, la génétique n'a livré que peu d'indications [10]. La biochimie donne quelques renseignements : quand l'apoptose se déclenche au point R, elle est supprimée par les inhibiteurs de la synthèse de l'ARN ou des protéines [2, 9, 11]. Ces expériences montrent que dans de nombreux types cellulaires, le déroulement de l'apoptose implique la mise en activité de gènes, sans désigner lesquels. La génétique somatique offre des perspectives intéressantes, qui ont été jusqu'ici peu exploitées [38].

Dans le déclenchement de l'apoptose, un facteur crucial serait la production de substances oxydantes (radicaux oxygène et hydroxyle, eau oxygénée), qui détériorent l'ADN, les protéines ainsi que les lipides membranaires [39]. Ces dérivés sont produits principalement dans les mitochondries [39]. C'est en piégeant les radicaux libres que la protéine Bcl-2 protégerait les cellules contre l'apoptose *(m/s n° 2, vol. 10, p. 208)* [39]. A cet égard, Bcl-2 occupe dans la cellule une position stratégique. Elle est localisée dans les

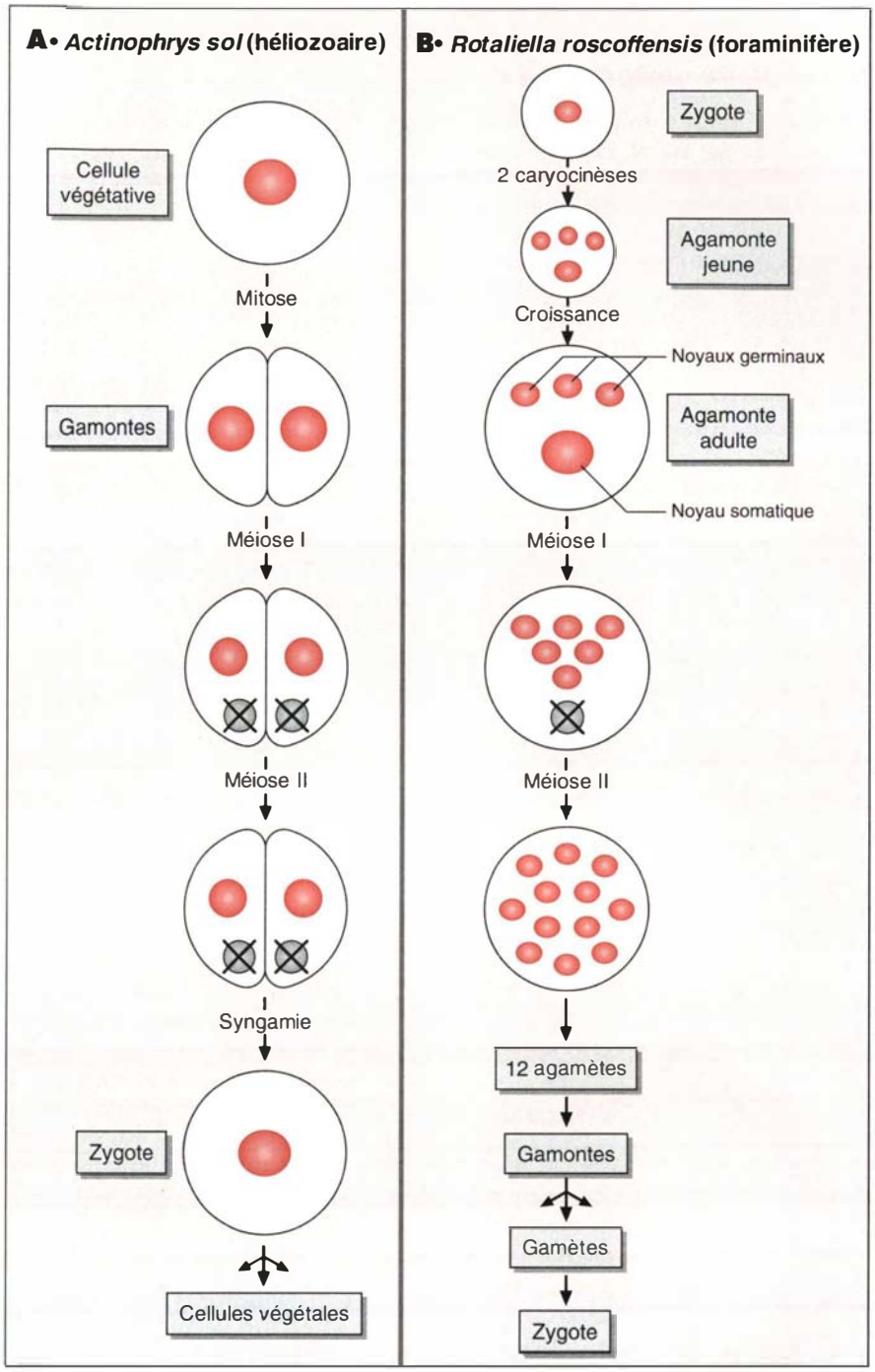

Figure 3. ***Deux exemples de mort nucléaire chez les protistes.*** *Les schémas font référence aux phénomènes nucléaires. Ils ne tiennent pas compte des particularités cytoplasmiques. Chez* Actinophrys sol ***(A)****, la mort nucléaire survient pendant la méiose. Celle-ci a lieu simultanément dans deux cellules sœurs incluses dans un kyste. Chaque division méiotique produit deux noyaux, dont l'un migre en périphérie de la cellule, puis disparaît. Chez* Rotaliella roscoffensis ***(B)****, la mort nucléaire est également liée à la méiose. Deux divisions nucléaires (caryocinèses) convertissent le zygote en une cellule tétranucléée. Un noyau, dit somatique, se différencie des trois autres, appelés germinaux. Le noyau somatique sera détruit, tandis que les noyaux germinaux subiront la méiose après une période de croissance, durant laquelle l'animal construit des logettes de plus en plus grandes, communiquant entre elles et entourées d'une thèque. (Schéma A : d'après Belar [43], modifié. Schéma B : d'après Grell [45], modifié.)*

membranes des mitochondries, du réticulum endoplasmique et du noyau [39]. Elle peut ainsi barrer la route aux substances toxiques d'origine mitochondriale.

Un autre argument plaide en faveur d'une liaison entre l'apoptose et le métabolisme mitochondrial. Le gène *ced-9* (l'homologue de *bcl-2* chez Caenorhabditis) se trouve à proximité d'un gène *(cyt-1)* censé spécifier un transporteur d'électrons mitochondrial : le cytochrome b_{580} [24]. Ces deux gènes pourraient même avoir un promoteur commun [24]. Il est possible que cyt-1 intervienne dans le contrôle de la mort cellulaire programmée. Cependant, il faut se garder de tirer des conclusions définitives. Tous les auteurs ne sont pas d'accord pour attribuer aux mitochondries un rôle déterminant dans le déclenchement de l'apoptose [40].

Puisque les nématodes et les vertébrés possèdent des homologues fonctionnels et structuraux de *bcl-2* [22, 24], ce gène devait déjà exister chez l'ancêtre commun de ces animaux *(figure 2)*. Il se pourrait que le gène *bcl-2* ait une origine beaucoup plus ancienne [7]. Son apparition remonterait à l'époque où des eucaryotes archaïques munirent leur cytoplasme de mitochondries, en captant des bactéries aptes à utiliser l'oxygène pour la production d'énergie métabolique [16].

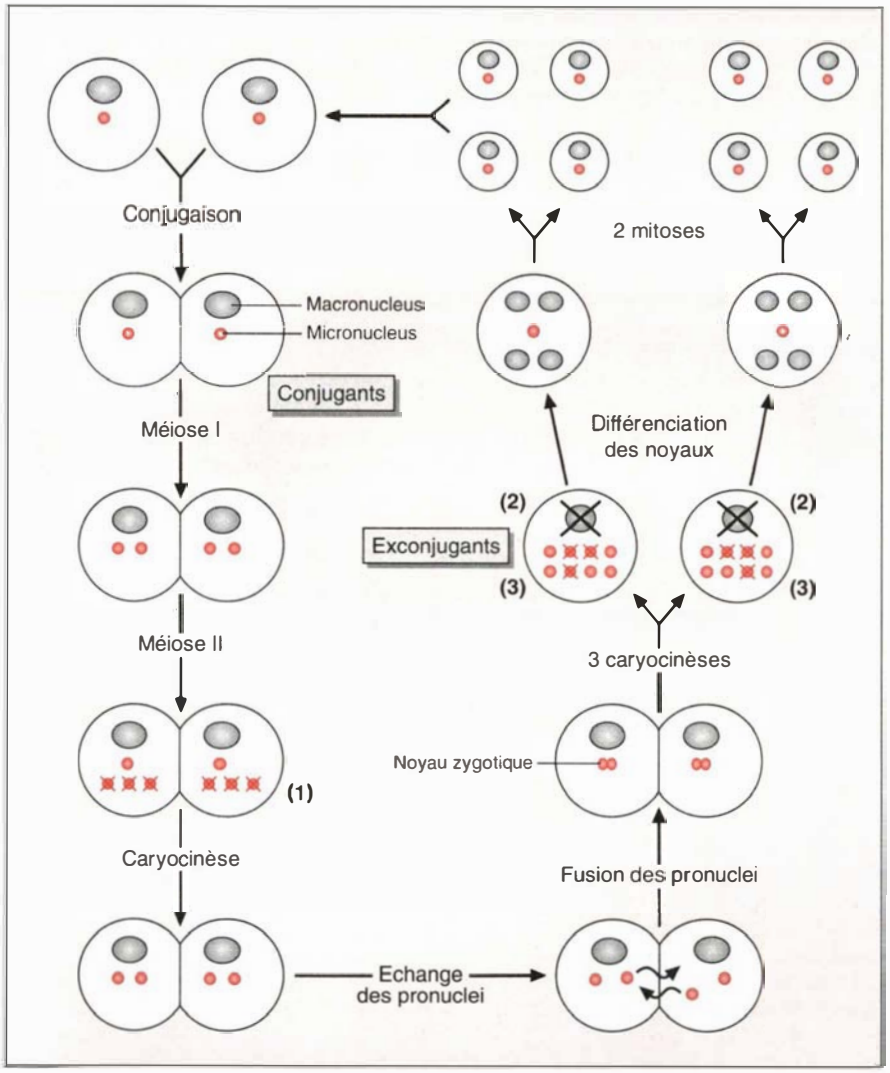

Figure 4. ***Un exemple de mort nucléaire chez un cilié.*** *Le schéma représente le cycle vital de* Paramecium caudatum. *Ce protozoaire possède deux types de noyaux : somatique et germinal. Le noyau somatique est le macronucleus. Le noyau germinal est le micronucleus. Lorsque deux cellules se conjuguent, elles font disparaître quatorze noyaux : six noyaux haploïdes engendrés lors de la méiose (1), les deux macronuclei formés lors de la conjugaison précédente (2), ainsi que six noyaux diploïdes issus des trois premières divisions postzygotiques (3). (D'après Wenrich [47], modifié.)*

La mort programmée chez les protistes

Certains protistes détruisent leurs noyaux par un processus qui ressemble à la mort cellulaire programmée. La mort nucléaire est liée à la reproduction sexuée. Elle se produit chez certains héliozoaires *(Actinophrys, Actinosphaerium)*, foraminifères *(Rotaliella, Rubratella)* et ciliés *(Paramecium, Euplotes, Tetrahymena)* [41-47]. Chez tous ces protistes, la méiose est un phénomène exclusivement nucléaire *(figures 3 et 4)*.

Chez *Actinophrys sol*, l'élimination de noyaux a lieu pendant la méiose. Lors de chaque division méiotique, un des deux noyaux fils est détruit *(figure 3)*. Cela fait qu'un gamonte ne produit qu'un seul gamète [43, 44]. Suivant des observations anciennes, *Actinosphaerium eichhorni* procéderait à deux éliminations successives de noyaux, l'une avant, l'autre après la méiose [45]. Les cellules végétatives de cet organisme renferment plusieurs centaines de noyaux. Ce sont donc des plasmodes. Quand ils entrent en phase sexuée, les plasmodes éliminent presque tous les noyaux qu'ils contiennent, puis se divisent en autant de gamontes qu'il subsiste de noyaux. Chaque cellule uninucléée subit alors la méiose. Elle engendre un seul gamète en détruisant les noyaux excédentaires, comme le fait *A. sol.*

Certains foraminifères possèdent deux types de noyaux, dont l'un n'a qu'une existence éphémère [41, 46]. Chez *Rotaliella roscoffensis*, le noyau du zygote se divise deux fois *(figure 3)*. Cela engendre un agamonte tétranucléé. Un des noyaux devient plus grand que ses frères. C'est le noyau somatique. Les petits noyaux sont appelés germinaux. Après une période de croissance cellulaire, ils subissent la méiose, tan-

clis que le noyau somatique disparaît [46]. Il existe de nombreuses variations sur ce thème [41, 42, 46]. Par exemple, *Rubratella intermedia* exécute deux destructions nucléaires. Le noyau zygotique se divise deux fois, mais un des quatre noyaux fils dégénère. Chacun des trois noyaux survivants subit encore une division. On obtient ainsi une cellule à six noyaux, dont un seul devient somatique et sera éliminé lors de la méiose [46]. D'autres espèces produisent des centaines de noyaux germinaux et des dizaines de noyaux somatiques, voués à la destruction [41].

Chez les ciliés, le dualisme nucléaire est très répandu [41, 42]. Une même cellule contient un ou plusieurs noyaux germinaux, appelés micronuclei, et un ou plusieurs noyaux somatiques, appelés *macronuclei* [41, 42]. La conjugaison s'accompagne de destructions nucléaires. *Paramecium caudatum* opère trois éliminations de noyaux *(figure 4)* [47]. La première a lieu dans les conjugants. Chaque micronucleus subit la méiose, mais trois des quatre noyaux haploïdes sont détruits. La deuxième élimination concerne les *macronuclei*, qui se désintègrent lorsque les conjugants se sont séparés. La troisième élimination affecte les produits de division du noyau zygotique. Celui-ci se divise trois fois dans chacun des exconjugants. Sur les huit noyaux ainsi engendrés, trois disparaissent.

Certains protistes coloniaux comme *Volvox* éliminent au cours de la méiose non pas des noyaux, mais des cellules. Les volvocales sont des haplontes : la méiose a lieu dans le zygote, peu de temps après la fécondation [48-50]. Chez *V. carteri*, trois des quatre noyaux haploïdes sont expulsés dans de petites cellules que l'on peut assimiler à des globules polaires [48]. Les noyaux éliminés se condensent rapidement [48]. Ils pourraient donc être programmés pour un suicide. Un sort différent est réservé au noyau des globules polaires qu'émettent à la fin de la méiose les ovocytes des métazoaires. Ces noyaux ne paraissent pas destinés à s'auto-détruire. Les globules polaires sont viables : dans plusieurs groupes animaux (plathelminthes, gastéropodes), ils peuvent être fécondés [51]. Il arrive même qu'ils donnent naissance à des embryons de petite taille [51].

Mort nucléaire et mort cellulaire

Y a-t-il quelque chose de commun entre les diverses formes de mort nucléaire observées chez les protistes ? Il existe plusieurs points de ressemblance, mais ces similitudes sont plutôt superficielles. En premier lieu, les destructions de noyaux ne se produisent que dans des cellules plurinucléées. Cette observation ne fait que traduire une évidence : si une cellule ne possède qu'un seul noyau, elle ne peut pas l'éliminer sous peine de mourir. En deuxième lieu, tous les types de mort nucléaire sont liés plus ou moins étroitement à la méiose *(figures 3 et 4)*. Enfin, la disparition des noyaux est due à des facteurs cytoplasmiques, dont la nature reste inconnue. Chez *A. sol*, la cellule en méiose supprime le noyau situé en périphérie, mais conserve le noyau central [43, 44]. Certains ciliés ne préservent qu'un seul noyau issu de la méiose : celui qui se trouve dans le cône adoral, à proximité de la zone de contact entre les conjugants [41].

Une étude plus poussée montre que la mort nucléaire fait intervenir des mécanismes variés. Chez *A. sol*, les noyaux sont résorbés à l'intérieur d'une vacuole d'autolyse [44]. Il s'agit d'une autophagie, peut-être provoquée par des enzymes d'origine lysosomique. Chez les foraminifères, la mort nucléaire suit un cours différent. Quand la méiose se déclenche, le noyau somatique subit des modifications. Celui de *R. roscoffensis* condense ses chromosomes et se garnit d'un fuseau (qui est intranucléaire, comme chez de nombreux protistes [42]). C'est un début de méiose qui avorte : l'enveloppe nucléaire se rompt, si bien que les chromosomes sont libérés dans le cytoplasme, où ils disparaissent [46]. Tout cela ne ressemble guère à une apoptose, telle qu'on la décrit habituellement [5, 8]. Chez les ciliés, il y a davantage de similitude entre l'apoptose et la mort nucléaire. C'est particulièrement vrai en ce qui concerne les *macronuclei*. La destruction de ceux-ci s'accompagne d'une lobulation de l'enveloppe nucléaire, puis d'un morcellement des noyaux [52]. Elle entraîne aussi une fragmentation de la chromatine au niveau des liens entre les nucléosomes [53].

Existe-t-il une parenté quelconque entre mort nucléaire et mort cellulaire ? Les résultats obtenus chez les ciliés apportent un début de réponse. S'ils étaient confirmés par une analyse moléculaire plus approfondie, on devrait considérer comme possible une filiation entre les deux formes de mort programmée : la mort nucléaire mise en œuvre par les protistes et la mort cellulaire mise en œuvre par les métazoaires. Une telle filiation susciterait de nombreux problèmes. En particulier, il faudrait essayer de comprendre comment la mort programmée a pu se maintenir lors du passage de l'état unicellulaire à l'état pluricellulaire. Deux changements majeurs sont requis. Premièrement, la mort programmée de noyaux doit se convertir en mort programmée de cellules. Deuxièmement, la mort programmée doit se dissocier de la méiose pour s'associer au cycle mitotique.

Conversion de la mort nucléaire en mort cellulaire : une hypothèse

Essayons de bâtir un scénario vraisemblable qui décrive la conversion de la mort nucléaire chez les protistes en mort cellulaire programmée chez les métazoaires. Deux théories principales ont été proposées pour expliquer l'apparition des animaux multicellulaires [18]. L'une fait intervenir des protistes uninucléés, qui se réunissent en colonies. L'autre fait appel à des protistes plurinucléés (plasmodes), dont le cytoplasme se scinde [18]. La seconde théorie laisse entrevoir comment la mort programmée a pu franchir le cap du passage à l'état pluricellulaire. Il est possible que la mort programmée soit restée en usage chez les organismes plasmodiaux censés servir d'intermédiaires entre les protistes isolés et les métazoaires, parce

que de tels organismes peuvent éliminer un ou plusieurs de leurs noyaux, sans compromettre leur survie.

Nous supposons que chez les protistes dont dérivent les métazoaires, ainsi que chez les formes de transition plasmodiales, la mort programmée avait lieu durant la gamétogenèse femelle *(figure 5)*. L'élimination de noyaux avait pour effet de diminuer le nombre, mais d'accroître la taille des gamètes (ovules). Dans le premier cas, trois des quatre noyaux issus de la méiose étaient éliminés, comme cela se produit chez certains protistes *(figure 4)*. Dans le second cas, la mort programmée précédait l'entrée en méiose : les gamontes femelles détruisaient une partie de leurs noyaux avant de fragmenter leur cytoplasme. C'est apparemment ce qui se passe chez *A. eichhorni* [45].

Voyons maintenant comment la mort programmée a pu subsister quand les plasmodes se convertirent en colonies, puis en métazoaires primitifs. Il faut que la mort programmée se disjoigne complètement de la méiose et passe de la phase sexuée à la phase végétative du cycle vital. La transition devient envisageable si l'on admet que le passage à l'étape coloniale se fit de manière progressive : au début de leur croissance, les colonies conservaient une organisation plasmodiale. A ce stade, elles éliminaient une partie de leurs noyaux *(figure 5)*. Une étape évolutive ultérieure rendit la cellularisation du cytoplasme plus précoce, raccourcissant le stade plasmodial *(figure 5)*. La mort programmée de noyaux se convertit en mort pro-

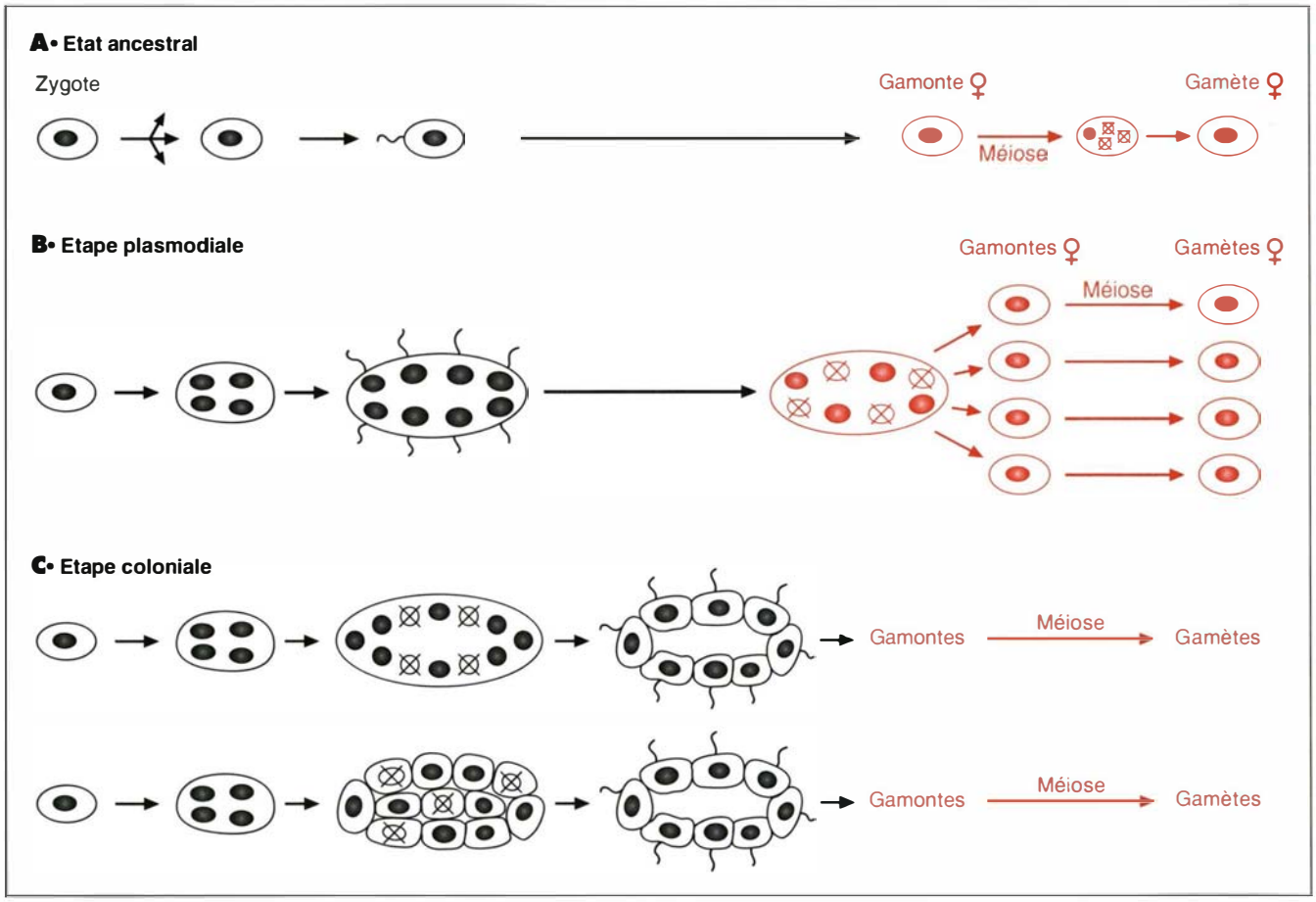

Figure 5. ***Transition hypothétique entre mort nucléaire et mort cellulaire programmées.*** *Le schéma proposé envisage une conversion des protozoaires en métazoaires en passant par des formes intermédiaires de type plasmodial [18]. Le cycle vital de tous ces animaux fait alterner une phase végétative (figurée en noir) avec une phase sexuée (figurée en rouge), qui convertit les cellules végétatives en gamètes. Pour simplifier les choses, seule la gamétogenèse femelle est représentée. On suppose que les protozoaires ancestraux* ***(A)*** *détruisent trois des quatre noyaux issus de la méiose femelle, si bien qu'un gamonte n'engendre qu'un seul gros gamète. Chez les organismes plasmodiaux* ***(B)****, une première vague de morts nucléaires a lieu avant que la méiose ne commence. Les plasmodes femelles éliminent une partie de leurs noyaux, puis se scindent en autant de cellules qu'il reste de noyaux. Cela réduit le nombre, mais accroît la taille des ovules que produit chaque plasmode. Chez les organismes coloniaux* ***(C)****, la mort programmée se déplace de la phase sexuée à la phase végétative du cycle vital. Dans une étape évolutive transitoire, le zygote donne naissance à un plasmode. Avant de se cellulariser, celui-ci élimine certains de ses noyaux. Dans une étape ultérieure, le plasmode se cellularise plus précocement. Au lieu de noyaux, ce sont maintenant des cellules qui sont éliminées pendant la croissance de l'organisme.*

grammée de cellules. Ces destructions préfigurent celles qui ont lieu pendant le développement des métazoaires [9-11].

On connaît chez les métazoaires actuels des exemples de mort nucléaire. Certaines formes sont liées à la méiose. Chez plusieurs amphibiens, les ovocytes contiennent de nombreux noyaux qu'ils détruisent pendant leur accroissement, à l'exception d'un seul [50, 54]. D'autres types de mort nucléaire affectent des cellules somatiques en différenciation terminale. C'est ainsi que dans le cristallin des vertébrés, les cellules fibreuses éliminent leur noyau par un processus qui ressemble à l'apoptose [55]. On peut difficilement imaginer que cette forme de mort nucléaire dérive directement de celle qu'on observe chez les protistes. Il s'agirait plutôt d'une apoptose modifiée, qui fait périr le noyau plus précocement que le cytoplasme. En tout cas, l'exemple du cristallin laisse penser que mort nucléaire et mort cellulaire programmées peuvent se convertir l'une en l'autre.

Conclusion

L'hypothèse que nous présentons fait appel à un mécanisme simple, cause présumée de nombreuses innovations évolutives : un changement de chronologie [18, 56-58]. Cela transforme une mort programmée de noyaux dans un organisme unicellulaire en une mort programmée de cellules dans un organisme pluricellulaire *(figure 5)*. L'hypothèse proposée repose sur des bases expérimentales encore peu solides [52, 53]. Elle serait renforcée s'il s'avérait que des gènes homologues gouvernent la mort nucléaire programmée chez les protistes et la mort cellulaire programmée chez les métazoaires.

Dans le schéma évolutif présenté, certaines étapes apparaissent plus plausibles que d'autres. La première étape est la plus facile à comprendre *(figure 5)*. On voit bien quel avantage un organisme plasmodial peut avoir à détruire certains de ses noyaux avant d'entamer la gamétogenèse. Il produira des ovules et des œufs de grande taille, ce qui accroît les chances de survie de sa progéniture.

Les étapes suivantes sont plus difficiles à concevoir. Quel avantage un plasmode ou une colonie en croissance peut-il retirer à détruire une partie de ses noyaux ou de ses cellules ? Il est malaisé de répondre à cette question. Chez les animaux actuels, les morts programmées ont avant tout un rôle morphogénétique [9]. Un tel rôle ne paraît guère envisageable pour des organismes archaïques de structure plasmodiale ou coloniale. Il est possible que la mort programmée remplissait dans les plasmodes et les colonies une fonction de « nettoyage », consistant à éliminer les noyaux ou les cellules qui ont mal répliqué leurs chromosomes, ou dont l'ADN est endommagé. Une telle fonction existe chez certains métazoaires actuels, et notamment les vertébrés [15]. C'est peut-être pour remplir cette fonction que la mort programmée s'est associée au déroulement du cycle mitotique, en se branchant sur des mécanismes de contrôle préexistants ■

RÉFÉRENCES

1. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972 ; 26 : 239-57.

2. Golstein P. Mort programmée et terrain cellulaire. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 681-8.

3. Piechaczyck M. Myc : le paradoxe d'un oncogène induisant la mort cellulaire programmée. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 586-7.

4. Kahn A, Briand P. L'apoptose, une mort programmée ou une prolifération avortée ? *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 663-5.

5. Solary E, Bertrand R, Pommier Y. Le rôle de l'apoptose dans la genèse et le traitement du cancer. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 667-75.

6. Abbadie C. C-rel : Un nouvel oncogène impliqué dans l'apoptose. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 104-5.

7. Kahn A. Bcl-2, inhibe-t-il l'apoptose en s'opposant à l'actioin des radicaux oxygènes ? *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 208-9.

8. Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death : the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980 ; 68 : 251-306.

9. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 1991 ; 7 : 663-98.

10. Ucker DS. Death by suicide : one way to go in mammalian cellular development ? *New Biol* 1991 ; 3 : 103-9.

11. Raff MC. Social control on cell survival and cell death. *Nature* 1992 ; 356 : 397-400.

12. Schwartz LM, Smith SW, Jones MEE, Osborne BA. Do all programmed cell deaths occur *via* apoptosis ? *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 980-4.

13. Clarke PGH. Developmental cell death : morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol* 1990 ; 181 : 195-213.

14. Kerr JFR, Harmon B, Searle J. An electron-microscope study of cell deletion in the anuran tadpole tail during spontaneous metamorphosis with special reference to apoptosis of striated muscle fibres. *J Cell Sci* 1974 ; 14 : 571-85.

15. Lane DP. A death in the life cycle of p53. *Nature* 1993 ; 362 : 786-7.

16. Margulis L. *Symbiosis in cell evolution.* New York : Freeman, 1993.

17. Tardent P. The differentiation of germ cells in Cnidaria. In : Halvorson HO, Monroy A, eds. *The origin and evolution of sex.* New York : Liss, 1985 : 163-97.

18. Denis H, Mignot JP. L'origine des métazoaires. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 551-63.

19. Miura M, Zhu H, Rotello R, Hartwieg EA, Yuan J. Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-Iß-converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell* 1993 ; 75 : 653-60.

20. Hengartner MO, Ellis RE, Horvitz HR. *Caenorhabidis elegans* gene *ced-9* protects cells form programmed cell death. *Nature* 1992 ; 356 : 494-9.

21. Labouesse M. C. elegans, les prouesses d'un petit animal intelligent. *médecine/sciences* 1994 : 10 : 337-41.

22. Allsopp TE, Wyatt S, Paterson HF, Davies AM. The proto-oncogene *bcl-2* can selectively rescue neurotrophic factor-dependent neurons from apoptosis. *Cell* 1993 ; 73 : 295-307.

23. Vaux DL, Weissman IL, Kim SK. Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* by human *blc-2*. *Science* 1992 ; 258 : 1955-7.

24. Hendgartner MO, Horowitz HR. *C. elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene bcl-2. *Cell* 1994 ; 76 : 665-76.

25. Harrington EA, Fanidi A, Evan GI. Oncogenes and cell death. *Curr up Gener Dev* 1994 ; 4 : 1120-9.

26. Bakalkin G, Yakovleva T, Selivanova G, Magnusson KP, Szekely L, Kiseleva E, Klein G, Terenin L, Wiman KG. p53 binds

single-stranded DNA ends and catalyzes DNA renaturation and strand transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 413-7.

27. Marx J. How p53 suppresses cell growth. *Science* 1993 ; 262 : 1644-5.

28. Kahn A. Cycle cellulaire, cancer, sénescence et p53. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 206-7.

29. Vaux DL, Weissman IL. Neither macromolecular synthesis nor Myc is required for cell death *via* the mechanism that can be controlled by Bcl-2. *Mol Cell Biol* 1993 ; 13 : 7000-5.

30. Colombel M, Olsson CA, Ng PY, Buttyan R. Hormone-regulated apoptosis results from reentry of differentiated prostate cells onto a defective cell cycle. *Cancer Res* 1992 ; 52 : 4313-9.

31. Cross FR. *DAF 1*, a mutant gene affecting size control, pheromone arrest, and cell cycle kinetics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 : 4675-84.

32. Denis H, Lacroix JC. L'origine de la lignée germinale et de la mortalité cellulaire. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 695-702.

33. Gilbert SF. *Developmental biology*. Sunderland : Sinauer, 1991.

34. Hoffmann FM, Sternberg PW, Herkowitz I. Learning about cancer genes through invertebrate genetics. *Curr Op Genet Dev* 1992 ; 2 : 45-52.

35. Amati B, Littlewood TD, Evan GI, Land H. The c-Myc protein induces cell cycle progression and apoptosis through dimerization with Max. *EMBO J* 1993 ; 12 : 5083-7.

36. Abbadie C, Kabrun N, Bouali F, Smardova J, Stéhelin D, Vandenbunder B, Enrietto PJ. High levels of *c-rel* expression are associated with programmed cell death in the developing avian embryo and in bone marrow cells *in vitro*. *Cell* 1993 ; 75 : 899-912.

37. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the *tumor necrosis factor* family. *Cell* 1993 ; 75 : 1169-78.

38. Nickas G, Meyers J, Hebshi LD, Ashwell JD, Gold DP, Sydora B, Ucker DS. Susceptibility to cell death is a dominant phenotype : triggering of activation-driven T-cell death independent of the T-cell antigen receptor complex. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 379-85.

39. Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 1993 ; 75 : 241-51.

40. Jacobson MD, Burne JF, King MP, Miyashita T, Reed JC, Reff ME. Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature* 1993 ; 361 : 365-9.

41. Grell KG. *Protozoology*. Berlin : Springer, 1973.

42. Raikov IB. *The protozoan nucleus. Morphology and evolution*. Vienne : Springer, 1982.

43. Belar K. Untersuchungen an *Actinophrys sol* Ehrenberg. I. Die Morphologie des Formwechsels. *Arch Protistenk* 1923 ; 46 : 1-96.

44. Mignot JP. Étude ultrastructurale de la pédogamie chez *Actinophrys sol* (héliozoaire) II. Les divisions de maturation. *Protistologica* 1980 ; 16 : 205-25.

45. Hertwig R. Ueber Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium eichhorni*. *Abhandl königl Bayer Akad Wiss Math-Phys Cl* 1898 ; 19 : 633-734.

46. Grell KG. Cytogenetic systems and evolution in Foraminifera. *J Foram Res* 1979 ; 9 : 1-13.

47. Wenrich DH. Sex in Protozoa. A comparative review. In : Wenrich DH, Lewis IF, Raper JR, eds. *Sex in microorganisms*. Washington : American Association for the Advancement of Science, 1954 : 134-265.

48. Starr RC. Meiosis in *Volvox carteri* f. *nagariensis*. *Arch Protistenk* 1975 ; 117 : 487-91.

49. Mignot JP. Les cœnobes chez les volvocales : un exemple de passage des unicellulaires aux pluricellulaires. *Ann Biol* 1985 ; 24 : 1-26.

50. Denis H, Collenot A. L'origine et l'évolution de la reproduction sexuée. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 1392-403.

51. Wilson EB. *The cell in development and heredity*. New York : Macmillan, 1925.

52. Karadzhan BP, Kaikov IB. Ultrastructural and autoradiographic investigation of the resorption of the old macronucleus and of the development of the new macronucleus following conjugation in *Didinium nasutum*. *Protistologica* 1979 ; 15 : 507-19.

53. Davis MC, Ward JG, Herrick G, Allis CD. Programmed nuclear death : apoptotic-like degradation of specific nuclei in conjugating *Tetrahymena*. *Dev Biol* 1992 ; 154 : 419-32.

54. MacGregor HC, del Pino EM. Ribosomal gene amplification in multinucleate oocytes of the egg brooding Hylid frog *Flectonotus pygmaeus*. *Chromosoma* 1982 ; 85 : 475-88.

55. Counis MF, Chaudun E, Allinquant B, Muel AS, Sanwal M, Skidmore C, Courtois Y. The lens : a model for chromatin degradation studies in terminally differentiating cells. *Int J Biochem* 1989 ; 21 : 235-42.

56. de Beer G. *Embryos and ancestors*. Londres : Oxford University Press, 1958.

57. Gould SJ. *Ontogeny and phylogeny*. Cambridge : Harvard University Press, 1977.

58. McKinney ML, McNamara KJ. *Heterochrony. The Evolution of Ontogeny*. New York : Plenum Press, 1991.

Summary

Does apoptosis derive from programmed death of nuclei occuring in protists ?

During the sexual phase of their life cycle, some protists eliminate one or several of their nuclei. During embryonic and adult life many metazoans eliminate some of their cells, a process called programmed cell death or apoptosis. The two forms of programmed death have several properties in common. The authors propose an evolutionary interpretation of these similarities. They assume that the conversion of unicellular animals into multicellular animals was accompanied by a conversion of programmed death of nuclei into programmed death of cells. The various metazoan groups may have conserved a trace of this remote event. Similar mechanisms might trigger and bring about apoptosis in different groups. If this were the case, the study of apoptosis would be facilitated. It would be possible to transpose to mammals and man the results provided by the genetic dissection of apoptosis in species which lend themselves to this kind of study.

Remerciements

Les auteurs remercient Janine Beisson, Pascale Briand, Alain Collenot, Pierre Golstein, Isabelle Guénal, Jean-Claude Lacroix, Jean-Pierre Mignot, Jean-Claude Mounolou, Linda Sperling et Jean-Luc Vayssière pour leurs conseils pendant la préparation du manuscrit de cet article.

Herman Denis
Professeur à l'université Pierre-et-Marie-Curie.
Bernard Mignotte
Professeur à l'université de Versailles-Saint-Quentin. Centre de génétique moléculaire Cnrs, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

TIRÉS A PART

M. Denis