



**HAL**  
open science

## Vieillesse cellulaire : faits et théories

Cendrine Buder

► **To cite this version:**

Cendrine Buder. Vieillesse cellulaire : faits et théories. Sciences pharmaceutiques. 1998. dumas-01342929

**HAL Id: dumas-01342929**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01342929>**

Submitted on 19 Sep 2016

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



*N<sup>e</sup> exemplaire*

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année : 1998

N° d'ordre : **7028**

# **VIEILLISSEMENT CELLULAIRE : FAITS ET THEORIES**

**THESE**  
**Présentée pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie**

**Diplôme d'Etat**

par

**Melle Cendrine BUDER**

*[Données à caractère personnel]*

Thèse soutenue publiquement le 30 Juin 1998 à 17h00

Devant le jury composé de :

**P. GUIRAUD, Maître de Conférence HDR**

**Président du jury**

**R. STEIMAN, Professeur de Biologie Cellulaire**

**M.T. LECCIA, Docteur en Médecine, Assistant Chef de Clinique en Dermatologie**

**Y. RANC, Docteur en Pharmacie**

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE  
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur A. FAVIER

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

AGNIUS-DELORD	<i>Claudine</i>	<i>Physique Pharmacie</i>
ALARY	<i>Josette</i>	<i>Chimie Analytique</i>
BAKRI	<i>Abdelaziz</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>
BENOIT-GUYOD	<i>Jean-Louis</i>	<i>Chimie Toxicologie et Eco-toxicologie</i>
CALOP	<i>Jean</i>	<i>Pharmacie Clinique et Bio-technique</i>
CUSSAC	<i>Max</i>	<i>Chimie Thérapeutique</i>
DEMENGE	<i>Pierre</i>	<i>Physiologie/Pharmacologie</i>
DROUET	<i>Emmanuel</i>	<i>Microbiologie-Immunologie</i>
FAVIER	<i>Alain</i>	<i>Biochimie</i>
GOULON	<i>Chantal</i>	<i>Physique-Pharmacie</i>
GRILLOT	<i>Renée</i>	<i>Parasitologie</i>
LECLERC	<i>Gérard</i>	<i>Chimie Organique</i>
MARIOTTE	<i>Anne-Marie</i>	<i>Pharmacognosie</i>
ROCHAT	<i>Jacques</i>	<i>Hygiène environnement Droit et Economie Pharmaceutiques</i>
ROUSSEL	<i>Anne-Marie</i>	<i>Biochimie</i>
SEIGLE-MURANDI	<i>Françoise</i>	<i>Botanique et Cryptogamie</i>
STEIMAN	<i>Régine</i>	<i>Biologie Cellulaire</i>
WOUESSIDJEWÉ	<i>Denis</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>

*Je remercie Madame Pascale GUIRAUD, Maître de Conférence à l'UFR de Pharmacie de Grenoble, d'avoir bien voulu accepter la présidence de ce jury, et de m'avoir aidée pour l'élaboration de cette thèse.*

*Merci à Madame Régine STEIMAN, Professeur de Biologie Cellulaire à l'UFR de Pharmacie de Grenoble, pour m'avoir dirigée au cours de la réalisation de ce travail, ainsi que pour l'enseignement qu'elle m'a prodigué.*

*Merci à Madame Marie-Thérèse LECCIA, Assistant Chef de Clinique en Dermatologie au CHU de Grenoble, et à Monsieur Yves RANC, Docteur en Pharmacie, de m'avoir accordé du temps pour participer à ce jury.*

*Merci à ma famille et à mes amis pour leurs conseils, leur écoute, et leur soutien tout au long de ce travail.*

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année : 1998

N° d'ordre :

**VIEILLISSEMENT CELLULAIRE :  
FAITS ET THEORIES**

**THESE**

**Présentée pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie**

**Diplôme d'Etat**

par

**M<sup>lle</sup> Cendrine BUDER**

*[Données à caractère personnel]*

Thèse soutenue publiquement le 30 Juin 1998 à 17h00

Devant le jury composé de :

Madame P. GUIRAUD, Maître de Conférence HDR      Président du jury  
Madame le Professeur R. STEIMAN                      Maître de thèse  
Madame le Docteur M.T. LECCIA, Assistant Chef de Service en Dermatologie  
Monsieur Y. RANC, Docteur en Pharmacie

# SOMMAIRE

Page :

**INTRODUCTION.....14**

**PARTIE I :**

**Le vieillissement au niveau cellulaire : faits observés au niveau des organites et de certains processus physiologiques .....19**

**PARTIE II :**

**Les théories du mécanisme du vieillissement cellulaire .....75**

**PARTIE III :**

**Pathologies modèles du vieillissement cellulaire .....140**

**CONCLUSION .....158**

**BIBLIOGRAPHIE .....160**

# PLAN DÉTAILLÉ

## INTRODUCTION

### PARTIE I

**Le vieillissement au niveau cellulaire : faits observés au niveau des organites et de certains processus physiologiques**

Page :

1- <u>GÉNÉRALITÉS</u> .....	19
2- <u>PROLIFÉRATION CELLULAIRE</u> .....	23
3- <u>CYCLE CELLULAIRE</u> .....	27
3.1- Rappel concernant le cycle cellulaire	
3.2- Cycle cellulaire et vieillissement	
4- <u>MODIFICATIONS MÉTABOLIQUES</u> .....	29
4.1- Métabolisme des protéines	
4.1.1- Généralités	
4.1.2- Oxydation	
4.1.3- Pontage - Glycosylation	
4.1.4- Enzymes et vieillissement	
a- Niveaux d'enzymes, activité	
b- Changements de composition en isoenzymes	
c- Induction enzymatique	
d- Propriétés cinétiques et autres	
4.2- Métabolisme des lipides	
4.3- Métabolisme des hydrates de carbone	

5- <u>LA MEMBRANE</u> .....	39
5.1- Description	
5.2- Vieillessement membranaire	
5.2.1- Nombre de villosités	
5.2.2- Modification de sa composition	
a- Composition en phospholipides	
---> Métabolisme des AGPI - Rôle des peroxysomes	
---> Lipoperoxydation	
b- Altération des protéines membranaires	
5.2.3- Modifications des propriétés membranaires	
a- Fluidité	
b- Perméabilité	
c- Adhésivité	
6- <u>LE CYTOPLASME</u> .....	46
6.1- Description	
6.2- Vieillessement cytoplasmique	
6.2.1- Les lipofuscines	
a- Origine des lipofuscines	
b- Propriétés et composition des lipofuscines	
c- Caractéristiques de l'accumulation des lipofuscines	
d- Rôle de la protéine bcl2	
e- Pigments céroïdes	
6.2.2- Les microfibrilles	
6.2.3- Cytoplasme des cellules nerveuses	
7- <u>LES MITOCHONDRIES</u> .....	50
7.1- Description	
7.2- Vieillessement mitochondrial	
7.2.1- Généralités (morphologie, nombre ...)	
7.2.2- Production de radicaux libres oxygénés	
7.2.3- Altération de l'ADNmt et conséquences sur la chaîne respiratoire	
8- <u>LE NOYAU</u> .....	56
8.1- Description	
8.2- Vieillessement nucléaire	
8.2.1 - Généralités (morphologie, contenu ...)	
8.2.2 - Polyploïdie	
8.2.3 - L'ADN nucléaire	
a- Mutations somatiques	
b-Téломères	

9- <u>LE RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE</u> .....	60
9.1- Description	
9.2- Vieillessement du réticulum endoplasmique	
10- <u>L' APPAREIL DE GOLGI</u> .....	62
10.1- Description	
10.2- Vieillessement Golgien	
11- <u>LES LYSOSOMES</u> .....	64
11.1- Description	
11.2- Vieillessement lysosomal	
11.2.1 - Généralités	
11.2.2 - Enzymes lysosomiales	
12- <u>LES PEROXYSOMES</u> .....	66
12.1- Description	
12.2- Vieillessement peroxysomal	
13- <u>COMMUNICATION ENTRE LES CELLULES</u> .....	67
13.1- Récepteurs	
13.2- Homéostasie calcique	
14- <u>L'APOPTOSE</u> .....	72
<u>CONCLUSION</u> .....	74

## PARTIE II

### Les théories du mécanisme de vieillissement cellulaire

Page :

<u>INTRODUCTION</u> .....	75
<u>A- THÉORIE RADICALAIRE</u> .....	76
<u>1- ORIGINE DES RADICAUX LIBRES</u> .....	77
1.1- Historique	
1.2- Définition des radicaux libres	
1.3- La chaîne de transfert des électrons comme site de formation des radicaux superoxydes	
1.4- Production d'autres espèces activées de l'oxygène	
1.5- Autres mécanismes de production endogène de radicaux libres	
1.6- L'oxygène singulet	
<u>2- SYSTEMES DE DÉFENSE CONTRE LES RADICAUX LIBRES</u> .....	85
2.1- Systèmes de défense enzymatique	
2.1.1- La superoxyde dismutase	
2.1.2- La catalase	
2.1.3- La glutathion peroxydase et la glutathion transferase	
2.2- Systèmes de défense non enzymatiques	
2.2.1- Acide ascorbique (Vitamine C)	
2.2.2- Alpha tocophérol (Vitamine E)	
2.2.3- Carotènes	
2.2.4- Glutathion	
2.2.5- Coenzyme Q	
2.2.6- Acide urique	
2.2.7- Mélanines	
2.2.8- Le Sélénium et autres oligoéléments	
<u>3- TOXICITÉ DES RADICAUX LIBRES</u> .....	91
3.1- Toxicité des superoxydes	
3.2- Toxicité des hydroperoxydes et de leurs dérivés radicalaires	

<u>4-ALTÉRATIONS DES CONSTITUANTS CELLULAIRES DUES AUX RADICAUX LIBRES</u> .....	93
4.1- Altérations des lipides	
4.2- Altérations des protéines	
4.3- Altérations de l'ADN	
4.3.1- Lésions générales	
4.3.2- Altérations des télomères	
4.3.3- Altérations de l'ADN mitochondrial	
<u>5- ALTÉRATION D'UN PROCESSUS PHYSIOLOGIQUE : L'IMMUNITÉ, ET LES RADICAUX LIBRES</u> .....	102
<u>6- SOUTIENS DE LA THÉORIE RADICALE</u> .....	102
6.1- Etudes de Cutler	
6.2- Rayonnements UV	
6.3- Etudes diététiques et longévité	
6.3.1- Réduction calorique	
6.3.2- Apport d'antioxydants et restriction en prooxydants	
6.4- Antioxydants : protecteurs des pathologies liées au vieillissement ?	
6.5- Variations des moyens de défense avec l'âge	
6.6- Antigène de sénescence	
<u>CONCLUSION</u> .....	112
<u>B- AUTRES THÉORIES</u> .....	114
<u>1- THÉORIE DE LA RESTRICTION DES CODONS</u> .....	114
<u>2- THÉORIE DES CATASTROPHES D'ERREURS</u> .....	115
<u>3- THÉORIE DES MUTATIONS SOMATIQUES</u> .....	117
3.1- Définition, origines, études	
3.2- Protéine p53	
3.3- Réparation de l'ADN	

Page :

4- <u>THÉORIE DU VIEILLISSEMENT PROGRAMMÉ</u> .....	124
4.1- Théorie générale	
4.1.1- Etudes de Hayflick	
4.1.2- Autres études	
4.1.3- Notion de gérontogènes virtuels	
4.2- Théorie de la pléiotropie antagoniste	
5- <u>THÉORIE THERMODYNAMIQUE</u> .....	130
6- <u>THÉORIE DU SOMA JETABLE</u> .....	131
7- <u>THÉORIE DES TÉLOMÈRES</u> .....	131
8- <u>LES THÉORIES SYSTÉMIQUES</u> .....	133
8.1- Théorie immunitaire	
8.2- Théorie neuroendocrine	
<u>CONCLUSION</u> .....	138

## **PARTIE III**

### **Pathologies modèles du vieillissement cellulaire**

Page :

<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	140
<b>1- <u>LES SYNDROMES PROGÉROIDES</u></b> .....	140
1.1- Le syndrome de Down (Trisomie 21).....	141
1.1.1- Généralités	
1.1.2- Caractéristiques pathologiques	
1.1.3- Recherches génétiques	
1.2- Le syndrome de Werner .....	146
1.2.1- Caractéristiques pathologiques	
1.2.2- Anomalies génétiques et cellulaires	
1.3- Le syndrome de Cockayne .....	150
1.4- La Progéria .....	151
<b>2- <u>AUTRES PATHOLOGIES</u></b> .....	154
2.1- Syndromes endocriniens	
2.2- Cancer	
2.3- Maladies dégénératives	
<b><u>CONCLUSION</u></b> .....	157

## **CONCLUSION GÉNÉRALE**

## **BIBLIOGRAPHIE**

## **Abréviations utilisées dans le texte :**

ADN : acide désoxyribonucléique  
ADNmt : ADN mitochondrial  
ADNn : ADN nucléaire  
AGI : acides gras insaturés  
AGS : acides gras saturés  
AGPI : acides gras polyinsaturés  
ARN : acide ribonucléique  
ARNm : ARN messenger  
ARNt : ARN de transfert  
ATP : adénosine triphosphate  
Ca : calcium  
D : Dalton  
DPC : doublement de population cellulaire  
DSTA : démence sénile de type Alzheimer  
G6PD : glucose - 6 - phosphate deshydrogénase  
GSH : glutathion réduit  
GSSG : glutathion oxydé  
Mg : magnésium  
8-OHdG : 8- hydroxydéoxyguanosine  
pb : paire de bases  
REL : réticulum endoplasmique lisse  
RER : réticulum endoplasmique rugueux  
SOD : superoxyde dismutase

Patient SW ou cellules SW : patient atteint du syndrome de Werner ; cellules de patient atteint du syndrome de Werner.

Patient SC ou cellules SC : patient atteint du syndrome de Cockayne ; cellules de patient atteint du syndrome de Cockayne.

## INTRODUCTION

Pourquoi étudier le vieillissement ? Dans les pays industrialisés et les pays en voie de développement, la proportion de personnes âgées dans la population ne cesse d'augmenter depuis l'après guerre. L'espérance de vie dans ces pays a fait un bond en avant spectaculaire.

En France, l'espérance de vie moyenne est de 73 ans pour les hommes et de plus de 81 ans pour les femmes (Dodet, 1994).

Le nombre de centenaires est passé, en quelque décennies, de quelques centaines à plusieurs milliers.

Selon l'ONU, le nombre de personnes de 60 ans et plus devrait atteindre 600 millions vers l'an 2000, et 1 milliard en 2025.

Or ces changements démographiques vont entraîner : une augmentation de la population de personnes dépendantes et de la quantité de personnes atteintes de maladies dégénératives. Il va donc falloir prendre en compte de nouveaux problèmes de Santé Publique (nouvelles solutions pour assurer le bien-être de ces populations ; adaptation des dépenses de santé publique, etc....) (Treton, 1995).

Les biologistes qui travaillent dans le domaine du vieillissement ont comme grands objectifs de prolonger la vie et d'assurer une meilleure qualité de vie tout au long de celle - ci.

La gériatrie est l'étude des processus de vieillissement. Alors qu'est ce que le vieillissement ?

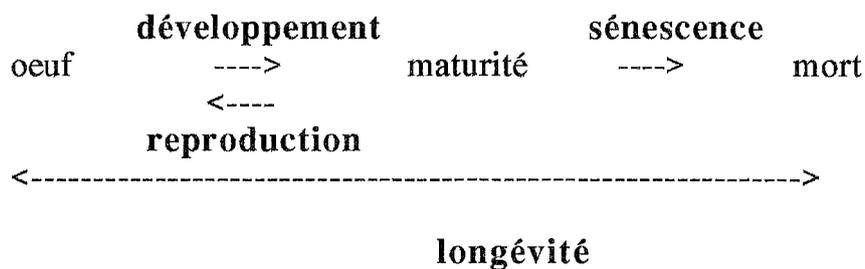
Selon le Dictionnaire des Termes de Médecine (Garnier / Delamare, 1989) :

“ Sénescence = vieillissement = affaiblissement déterminé par l'âge”

Si l'on s'intéresse à la physiologie, le vieillissement peut être défini comme la somme de tous les changements que subit un organisme vivant avec le temps.

Chez l'être humain, on peut le définir comme un phénomène d'involution morphologique et fonctionnelle qui progresse de façon inéluctable. Il affecte la plupart des systèmes et organes, entraîne une baisse graduelle de performances qui conduit à l'incapacité fonctionnelle et à la mort.

Au niveau des organes et des systèmes physiologiques, le vieillissement représente la détérioration progressive des processus physiologiques qui assurent normalement la constance du milieu intérieur. Ce phénomène biologique commence à se manifester après la maturation sexuelle (Maddox, 1997).



J. Treton et Y. Courtois (1986) pensent qu'il n'y a pas, au plan de l'organisme humain, de passage brutal de la croissance à la maturité, puis de l'âge adulte à la vieillesse : "Il y a un processus biologique continu, la sénescence, qui est à l'oeuvre dès le début de notre existence, et qui modifie constamment, à notre insu, la structure et le fonctionnement de notre être".

Depuis les deux dernières décennies, nous savons que chez les vertébrés supérieurs, les différentes étapes de l'existence s'enchaînent pour former un véritable "programme de développement" au cours duquel les stades se succèdent en s'influençant les uns les autres.

Les changements dus au vieillissement ne surviennent pas en même temps à tous les stades de l'organisation fonctionnelle et ils n'affectent pas toutes les fonctions au même degré.

On admet en général qu'un individu devient vieux à partir de 65 ans. Mais on n'a pas réellement défini de marqueurs aussi nets pour ce stade que ceux qui désignent le début d'autres périodes (ex. : les premières règles à la puberté). Ainsi, le vieillissement commence à un point mal défini, et, progresse à un rythme qui est différent d'un individu à l'autre.

Donc, "l'hétérogénéité physiologique" est une caractéristique constante de la population âgée (Timiras, 1997).

Le vieillissement est l'accumulation de changements responsables d'altérations qui accompagnent l'âge avancé et l'augmentation progressive associée des risques de maladies et de mort (Harman, 1991).

Mais le vieillissement doit être distingué des maladies. Les changements dus au vieillissement ne sont pas des maladies. Ce sont des déperditions naturelles de fonctions (ex. : rides, alopécie, presbytie, perte de mémoire, ...). Certains n'augmentent pas notre vulnérabilité à mourir. D'autres déclin "normaux" des organes accroissent la vulnérabilité aux changements pathologiques (ex. : déclin du système immunitaire) (Maddox, 1997).

En fait, le vieillissement est un phénomène normal et universel. Il est néanmoins associé à une augmentation de la fréquence et de la gravité des maladies, des accidents et du stress. Il n'est pas facile de séparer les effets du vieillissement lui-même de ceux qui résultent des maladies. Dans l'état actuel des connaissances, on ne peut que faire des hypothèses quant aux rôles respectifs de ces facteurs.

On peut tout de même déjà dire que la démence n'est pas une conséquence normale et inévitable du vieillissement et doit donc être considérée comme un processus pathologique.

Il est certain qu'il s'agit d'une période de la vie où les maladies sont de plus en plus nombreuses et où il est de moins en moins facile d'établir une distinction entre le vieillissement "normal", phénomène universel, et les maladies spécifiques qui affectent les personnes à des degrés divers.

Finalement, on peut considérer le vieillissement comme un processus :

- **universel** : commun à tous les organismes vivants
- **progressif** : toujours en marche, quoique parfois très lent
- **nuisible** : de nature à réduire la compétence fonctionnelle
- **irréversible** : rarement susceptible d'être corrigé

Alors que la maladie peut être plutôt définie comme un processus sélectif, discontinu, parfois nuisible à la santé, souvent susceptible d'être traité.

Ici on va s'attacher à étudier le processus de vieillissement en soi. Cette approche tient compte du fait que les progrès de la recherche biomédicale, de même que la victoire sur plusieurs maladies, ne représentent qu'un des nombreux facteurs qui expliquent l'amélioration de l'espérance de vie (Timiras, 1997).

Visible au premier coup d'oeil, le vieillissement peut prendre des formes très variées d'un individu à l'autre. Les effets du vieillissement peuvent affecter différemment les divers systèmes physiologiques, qui sont néanmoins interdépendants. Mais, ces manifestations sont toujours le reflet d'un phénomène qui affecte les cellules (et par conséquent les tissus, organes et systèmes) d'où l'intérêt de la compréhension du phénomène au coeur même de la cellule (Treton et Courtois, 1986).

L'étude du vieillissement cellulaire s'intéresse au rôle fondamental des molécules dans les cellules et à celui des cellules dans les tissus. Elle vise à découvrir les principes universels capables d'en expliquer le processus.

La dégénérescence cellulaire peut être définie comme une détérioration progressive avec modifications de structures et perte de fonctions. Elle conduit à la mort cellulaire.

Le fonctionnement cellulaire est d'une grande complexité, et il est très difficile de distinguer une cellule normale d'une cellule anormale et plus encore, une cellule vieillissante d'une cellule adulte normale.

Si on considère le vieillissement comme une simple modification progressive de la structure accompagnée d'une défaillance fonctionnelle, il est alors très délicat de discerner les changements cellulaires qui sont dus à l'âge de ceux qui résultent de lésions. Dans les deux cas, la mort cellulaire s'ensuivra.

Pour définir des critères permettant de distinguer ces différents états, il faut utiliser des techniques évoluées de biologie cellulaire et moléculaire grâce auxquelles on observe des changements biochimiques, fonctionnels et structuraux (Timiras, 1997).

Dans le Dictionnaire des Sciences ( Serre et Farouki,1997), la définition du vieillissement très complète résume les différents aspects (faits et origines) de ce processus au niveau de la cellule que nous développerons par la suite : "(...) le vieillissement se caractérise par une usure des composants de l'organisme qu'il ne peut **progressivement** plus compenser. Des **erreurs** s'accumulent à la suite de mutations du matériel génétique qui empêchent le bon fonctionnement de la cellule. L'assemblage de macromolécules (acides nucléiques, protéines et lipides), leur localisation et leur trafic à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule se fait de manière erronée. Les composants cellulaires se trouvent oxydés par des espèces moléculaires très réactives comme les **radicaux libres** et leur fonction s'en trouve perturbée.

Les **mitochondries** (...), dans lesquelles a lieu une partie importante de la production d'énergie des cellules eucaryotes (...), se dégradent et les cellules s'affaiblissent. Avec le temps, les mécanismes qui permettent de **corriger** les erreurs ou qui assurent la **défense** contre les agressions du milieu sont débordés.

Les cellules possèdent une **capacité de prolifération** qui correspond à la longévité de chaque espèce. Le nombre de divisions cellulaires possibles diminue depuis le développement de l'embryon jusqu'à la vie adulte. Cette diminution s'accompagne du **raccourcissement des extrémités des chromosomes** (les télomères) ..."

Quelle est la cause du phénomène de vieillissement ?

Cette question peut être considérée comme le but fondamental de la gérontologie. Elle équivaut à se demander "quelle est la cause du développement?" et "comment le vieillissement peut-il être arrêté ou ralenti?".

Pour A. Weisman (1892), le vieillissement se produit au bénéfice de l'espèce: "il faut faire disparaître les animaux les moins bien adaptés pour laisser les ressources limitées aux jeunes."

Hayflick et Morhead (1961) en découvrant que les cellules normales, animales et humaines ont une capacité limitée à se reproduire et à fonctionner, émettent une raison fondamentale à la "finitude" des animaux. Le ralentissement ou même l'arrêt de la multiplication cellulaire en milieu de culture, n'est attribuable ni à une déficience de ce milieu, ni à la présence de substances toxiques, ni à un artefact d'ordre méthodologique. On pense plutôt qu'il manifeste l'existence d'une sénescence cellulaire intrinsèque.

Le manque de données fiables durant des années ont encouragé le développement de nombreuses théories pour tenter d'expliquer le mécanisme du vieillissement. La quantité d'hypothèses existantes est due aussi au fait que les changements biologiques liés à l'âge affectent pratiquement toutes les composantes des systèmes vivants, de la molécule à l'organisme entier.

Il est assez peu probable que le vieillissement découle d'un événement unique. Il semble plutôt s'agir d'un ensemble complexe d'interactions à différents niveaux.

Comme moyens d'étude, les chercheurs déclenchent expérimentalement le vieillissement chez l'animal. Ces techniques utilisent souvent des méthodes basées sur le raisonnement propre à chacune des théories du vieillissement.

Par exemple :

- exposition de l'animal au stress c'est à dire à des pressions environnementales excessives. Le stress stimule ou inhibe les systèmes neuroendocriniens, le système immunitaire et la production de radicaux libres...

- injection de substances médicamenteuses

- inoculation de virus, de particules virales ou de prions afin de reproduire certaines maladies dégénératives.

On se sert le plus souvent de mammifères car leur vieillissement ressemble davantage à celui de l'homme (Timiras, 1997).

Dans ce travail, nous allons dans un premier temps décrire les changements survenant au niveau de la cellule au cours du vieillissement. Puis, nous étudierons les théories proposées pour expliquer ces phénomènes. Nous verrons les mécanismes liés aux agressions par, en particulier, les radicaux libres, d'une part, et d'autre part des processus d'origine génétique ou provenant du déclin de grands systèmes physiologiques. Enfin, nous évoquerons quelques pathologies ayant des points communs avec le processus de vieillissement.

# PARTIE I

## Le vieillissement au niveau cellulaire : faits observés au niveau des organites et de certains processus physiologiques

### 1- GÉNÉRALITÉS

A l'intérieur de la cellule, les molécules et les organites ont des taux de vieillissement différents et une modification, même minime, causée par la sénescence peut avoir des conséquences fonctionnelles et biochimiques graves sur la cellule entière (Figures 1 et 2).

Plusieurs processus et caractéristiques du vieillissement sont communs à plusieurs (sinon tous) types de cellules.

Des études *in vitro* sur le vieillissement ont utilisé deux sortes de cellules:

- des cultures foetales ou néonatales qui montrent les changements du vieillissement dans certaines conditions de culture.
- des cultures de cellules de donneurs d'âges différents.

En général, il est clair que les changements caractéristiques du vieillissement *in vivo* sont exprimés dans les cellules en culture. Des analyses détaillées de ces changements *in vivo* montrent qu'ils ont la même trajectoire apparente que le vieillissement *in vitro* et apparaissent couplés fortement à la capacité de prolifération cellulaire.

Les modifications générales des cellules au cours du vieillissement *in vitro* sont :

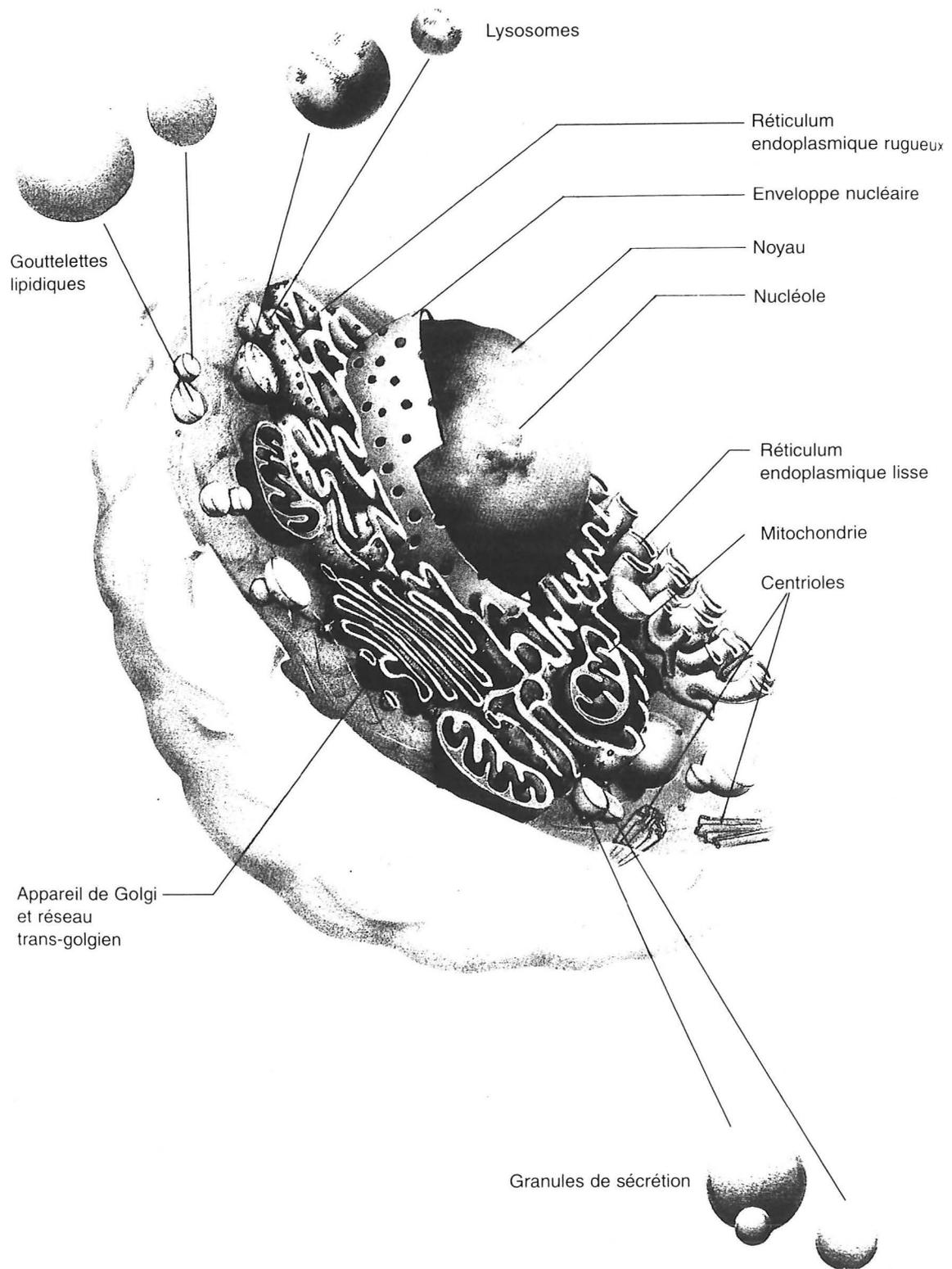
- un agrandissement de la surface, de la taille de la cellule : sa membrane augmente et devient plus sinueuse.
- des modifications dégénératives des mitochondries, des altérations de leur membrane, de la capacité de production d'énergie, des modifications du génome mitochondrial.
- une accumulation de déchets : lipofuscines.
- des modifications d'activités enzymatiques
- une perte de capacité de production de substances sécrétées par les cellules mitotiques (ex. : cellules digestives qui sécrètent la pepsine, l'acide chlorhydrique...). Donc, une perte de fonction spécialisée.

Les organites chargés de la fabrication de différentes substances (enzymes, glycoprotéines...) disparaissent progressivement des cellules sécrétrices. De plus, de nombreux intervenants doivent être présents pour effectuer cette synthèse : enzymes, cofacteurs, ARNt.... Or il semble que certains de ces agents puissent faire défaut dans les cellules vieillissantes. Cette perte fonctionnelle peut aussi provenir d'une perte de certaines parties du génome (Ladislas, 1989).

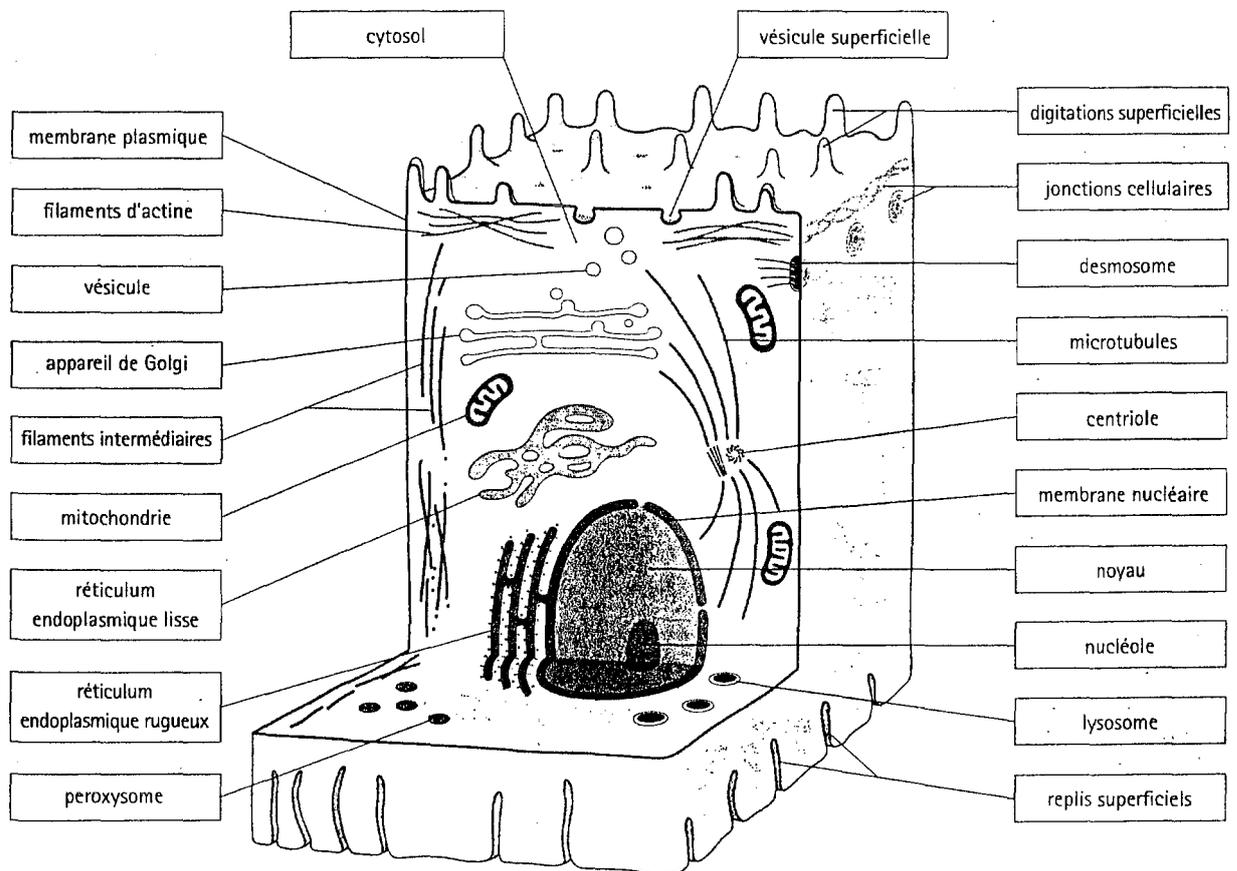
En ce qui concerne le vieillissement des neurones, on constate des changements dégénératifs tels que :

- une diminution du nombre des dendrites et d'épines dendritiques
- une accumulation intra et intercellulaire de substances anormales (lipofuscines, protéines neurofibrillaires et amyloïdes...)
- des perturbations du fonctionnement synaptique et de la neurotransmission
- une diminution du nombre de synapses
- des atteintes de structure pré- et post- synaptiques modifiant la synthèse, la libération et les liaisons de neurotransmetteurs.

Il semble que le déclin de nos capacités physiques et mentales soit attribuable à des modifications fonctionnelles des neurones plus qu'à leur mort (Timiras, 1997).



**Figure1 : La cellule** (*Gartner et Hiatt, 1997*)



**Figure 2 : Structure cellulaire**  
*Schéma représentant les principaux constituants de la cellule et leur distribution*  
*(Stevens et Lowe, 1997)*

## 2- PROLIFÉRATION CELLULAIRE

- Les premières études faites par Carrel et Ebeling (1921) suggéraient que les cellules isolées de l'organisme, étaient potentiellement immortelles.

Toutes les cellules de l'organisme ne sont pas capables de se diviser. Nos cellules peuvent être divisées en trois catégories :

. les cellules dites mitotiques, sont capables de se diviser pendant toute la vie de l'individu, et ce avec une vitesse plus ou moins grande.

Ex. : cellules de la paroi gastro-intestinale ; couche kératinisée du revêtement cutané = cellules de l'épiderme ; certaines cellules de la rate, de la moelle osseuse qui produisent les globules rouges et les globules blancs = les cellules souches. La durée de vie de ces cellules est de quelques semaines à quelques mois.

. les cellules dites post-mitotiques. Une fois différenciées au cours du développement de l'organisme, elles ne se divisent plus. Quand elles meurent, elles ne sont pas remplacées. Ex. : les neurones.

. entre ces deux types de cellules, on en connaît d'autres qui, bien que quiescentes dans l'organisme adulte, sont capables en présence d'un stimulus adéquat d'entrer en division. Ex. : les hépatocytes ou les cellules de tissu conjonctif comme la peau.

En ce qui concerne les modifications liées à la sénescence, des différences sont observées pour ces trois types cellulaires (Zeni, 1986 ; Ladislas, 1989).

- Les cellules mitotiques sont constamment renouvelées : elles se divisent, se différencient et sont remplacées mais les changements relatifs à l'âge apparaissent avant leur destruction.

Pour les cellules postmitotiques, lorsque les tissus sont endommagés, elles meurent et ne sont pas remplacées.

Tous les types de cellules sont touchés par la sénescence et perdent leur capacité proliférative après certaines périodes *in vivo*, et *in vitro* et ceci même lorsqu'elles sont transplantées sur des hôtes jeunes (Ladislas, 1989).

- Les méthodes de culture cellulaire permettent de contrôler les conditions des milieux de croissance des cellules et aussi de distinguer plus facilement les facteurs extrinsèques et intrinsèques du vieillissement .

Plusieurs expériences ont montré que des lignées de cellules somatiques ont un potentiel de doublement limité *in vitro*, et qu'elles finissent par vieillir et mourir même lorsque les conditions de cultures sont optimales.

Au cours du temps, l'activité proliférative décroît, le temps requis pour le doublement augmente et ce ralentissement de croissance finit par causer l'arrêt définitif de la multiplication cellulaire.

Ces faits ont été observés entre autres sur des cultures de fibroblastes. La capacité de doublement des fibroblastes varie avec l'âge du donneur. Ainsi, des cellules de tissu pulmonaire embryonnaire présentent des changements dégénératifs après 50 doublements alors que ces changements apparaissent après 20 doublements seulement pour les cellules de tissu pulmonaire d'un sujet adulte. (Ladislav, 1995 ; Courtois, 1995).

- L'expérience de Hayflick (1985) démontre la survie limitée des cellules normales en culture (Figure 3). Un prélèvement tissulaire (biopsie cutanée par exemple) est placé à l'intérieur d'un récipient dans un milieu approprié permettant aux cellules de proliférer (A). Puis, lorsque les cellules ont recouvert la surface du récipient, stade à partir duquel elles cessent la multiplication, on les disperse à l'aide de trypsine et on les réensemence par moitié dans deux autres récipients (B). Après prolifération, on renouvelle l'étape précédente et on remplit deux nouveaux récipients (C).

Après 50 à 60 doublements de population cellulaire (DPC) environ, la culture s'arrête. Ce nombre de DPC décroît régulièrement avec l'âge du donneur.

En fait, il semble que l'individu meure avant que les cellules à division rapide aient épuisé leur capacité de division. Chez le vieillard, les cellules sont encore capables de se diviser mais ces cellules présentent des modifications qui sont caractéristiques du vieillissement. Ce sont ces modifications que l'on retrouve à la fin de la culture cellulaire. La perte de division serait en quelque sorte l'aboutissement final d'un processus qui a débuté bien avant.

Il faut quand même se méfier de l'extrapolation de ces résultats aux cellules *in vivo* et noter qu'ils ne concernent que les cellules mitotiques (cf. Partie II, B.4.1.1).

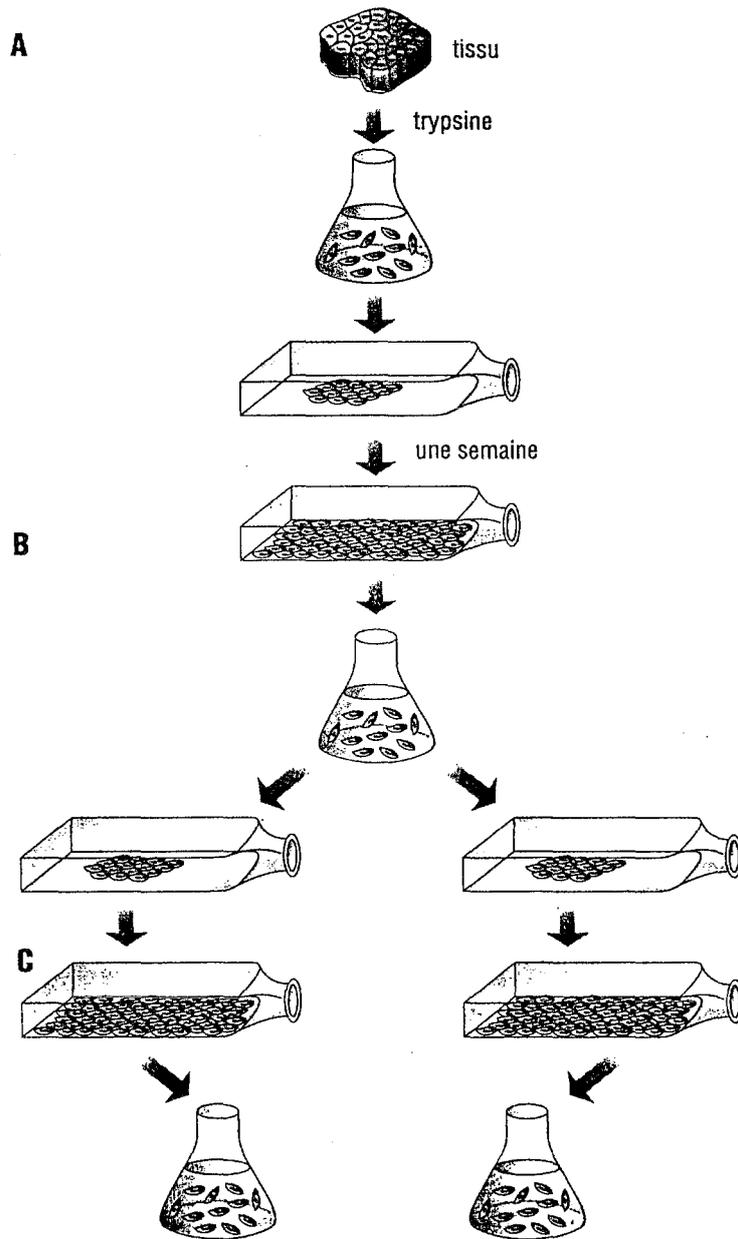


Figure 3 : L'expérience de Hayflick (*Ladislav, 1995*)

Il y a un déclin, associé à l'âge, de l'activité mitotique et du taux de prolifération chez une grande variété de tissus humains *in vivo* (Buetow, 1985).

Si on considère que la capacité de division cellulaire est un indice de l'état fonctionnel de la cellule, on peut dire que la perte de cette fonction au cours du vieillissement est un signe de défaillance fonctionnelle.

Ceci est soutenu par des études *in vitro* qui montrent l'apparition d'un certain nombre de changements morphologiques et biochimiques vers la fin de la vie répliquative des cellules, avec entre autres : une hétérogénéité de l'activité cellulaire cyclique, une augmentation du nombre de lysosomes avec formation de vacuoles autophagiques et de corps résiduels, des lobes au niveau des noyaux, un gonflement des mitochondries, des réponses anormales à des stimuli extérieurs ...ces différents points sont développés ci-après (Timiras, 1997).

#### - Réponse aux signaux de croissance

Les études *in vitro* montrent qu'avec l'âge, les cellules sont de plus en plus réfractaires aux signaux mitogéniques.

Les cellules diploïdes jeunes *in vitro* répondent vigoureusement au sérum ou à une combinaison définie de facteurs de croissance par la synthèse d'ADN et la mitose (Cristofalo et al., 1989). Des changements intrinsèques au niveau des récepteurs de facteurs de croissance ont été montrés.

Les cellules répondent aux mitogènes par l'action intracellulaire d'évènements secondaires dont, le renouvellement des phospholipides, l'activation de la protéine kinase C, la mobilisation du calcium. Des altérations dans les voies de transduction des photorécepteurs ont été montrées pour chacune de ces voies

L'expression de gènes régulateurs comme *c-fos* ou les gènes des cyclines est diminuée.

*In vivo*, on observe une décroissance de la réponse mitogénique aux signaux de croissance (Brooks-Frederick et al., 1993).

### 3- CYCLE CELLULAIRE

#### 3.1- Rappel concernant le cycle de division cellulaire

Il se fait en quatre phases (Figure 4) :

- phase G1 : temps qui s'écoule entre la fin d'une mitose et le début de la synthèse de l'ADN. Durée : environ 1 heure.
- phase S : synthèse de l'ADN. Durée : environ 16 heures.
- phase G2 : phase prémitotique. Temps qui s'écoule entre la fin de la synthèse de l'ADN et le début de la mitose suivante. Durée : environ 4 heures.
- phase M : mitose. Temps qui s'écoule entre la condensation des chromosomes à la prophase et la séparation des deux cellules filles à la télophase. Durée : environ 30 minutes à 1 heure.

#### 3.2- Cycle cellulaire et vieillissement

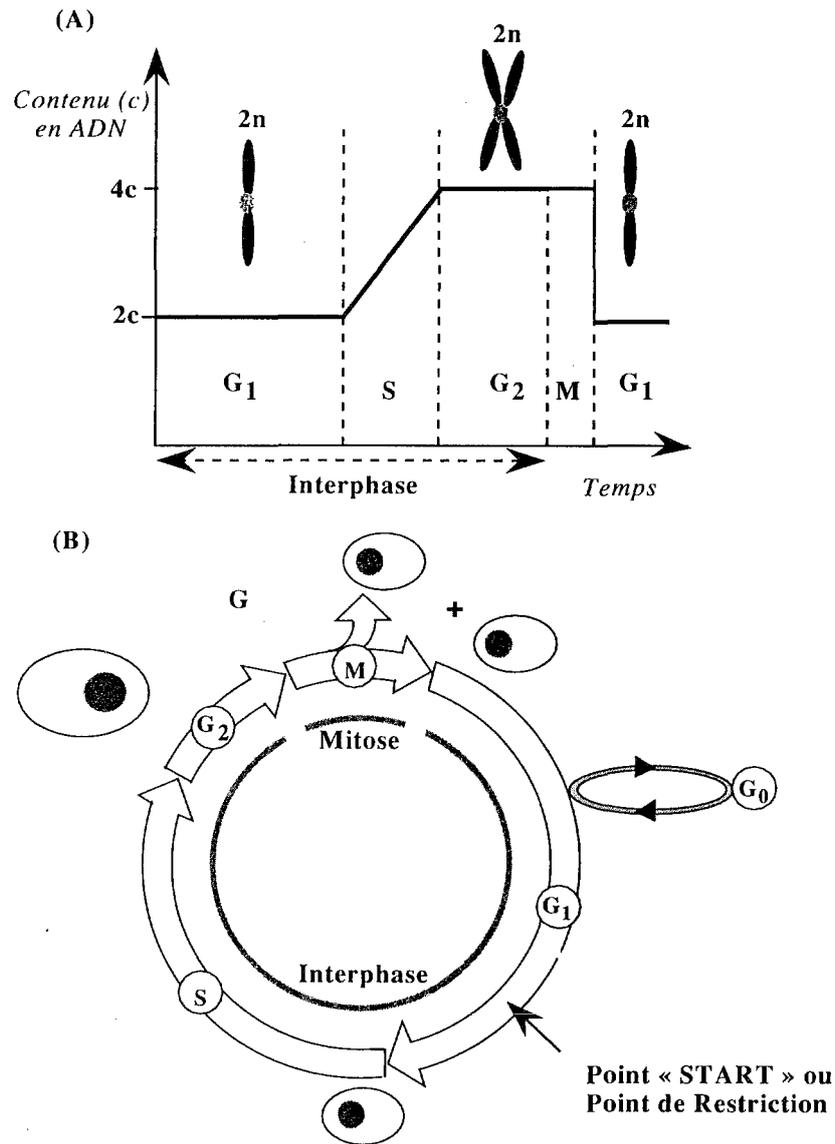
Des études ont été menées par l'équipe de Macieira-Coelho (1966) sur des fibroblastes jeunes et âgés :

- la longueur du cycle de division est très hétérogène après le 40<sup>ème</sup> passage
- le temps de doublement de population est augmenté pour les cellules âgées
- on observe un allongement des phases G1 et G2 pour les vieilles sénescents

La durée de la phase G1 augmente de façon hétérogène alors que la durée de la phase S ne change pas pour des cultures sénescents de fibroblastes (Grove et Cristofalo, 1977).

Ainsi, la diminution de capacité de prolifération semble résulter d'un allongement de la durée du cycle cellulaire et d'une diminution de la proportion de cellules qui se divisent. Ces phénomènes sont dus à une progression retardée ou à un arrêt permanent au cours de la phase G1. Donc, c'est le système de régulation d'entrée en phase S qui change durant le vieillissement *in vitro*. Il a été montré que les cellules qui se divisent lentement ou ne se divisent pas sont bloquées en fin de phase G1 (Olashaw *et al.*, 1983). Ces résultats *in vitro* sont compatibles avec les phénomènes décrits *in vivo* par Baserga (1977).

Une marque de sénescence dans une culture est l'incapacité des cellules à répliquer leur ADN. Ceci pourrait suggérer des changements dans la machinerie de synthèse de l'ADN des cellules vieilles. Mais on a observé que le virus 40 du singe (SV40) peut initier un cycle additionnel de la synthèse de l'ADN dans des vieilles cellules donc, cette machinerie est encore capable de fonctionner. (Gorman et Cristofalo, 1985).



**Figure 4 : Représentations schématiques du cycle cellulaire d'une cellule d'eucaryote supérieur**

A. Changements quantitatifs du contenu en ADN, alors que le nombre de chromosomes demeure constant.

B. Durée relative de chacune des phases constituant l'interphase. On a représenté également la possibilité que des cellules en G<sub>1</sub> sortent du cycle, arrêtent leur progression et entrent en quiescence (G<sub>0</sub>). Sous l'action d'un stimulus, les cellules peuvent à nouveau entrer dans le cycle (Petit et al., 1997).

## 4- MODIFICATIONS MÉTABOLIQUES

### 4.1- Métabolisme protéique :

#### 4.1.1- Généralités

De nombreuses études ont conclu que la demi-vie de protéines est augmentée chez les animaux âgés.

Un des changements les plus précoces observé dans le vieillissement *in vitro* de cellules en culture est le déclin de la synthèse protéique. Le taux d'incorporation de précurseurs radioactifs, tels que des acides aminés, dans les protéines diminue (Razin et al. , 1977).

Les résultats montrent globalement une diminution de la synthèse des protéines avec l'âge dans plusieurs tissus de rat.

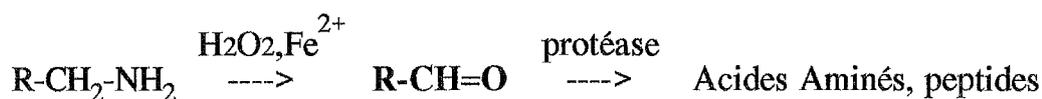
Chez l'homme, les quelques études publiées suggèrent un ralentissement général de la synthèse.

En ce qui concerne la dégradation des protéines, on a constaté des taux de dégradation protéique de plus en plus élevés dans des fibroblastes sénescents. Certains chercheurs ont associé ce phénomène à une réponse cellulaire à un taux accru de production de molécules défectueuses (en accord avec la théorie d'Orgel, cf. Partie II, B.2). Au fur et à mesure que nous vieillissons, les protéines de longue durée de vie s'altèrent : elles deviennent progressivement plus brunes, plus fluorescentes, moins solubles et sont le siège de plus en plus de liaisons croisées. Les protéines concernées sont aussi bien des enzymes, que des protéines de structure (ceci par des mécanismes décrits ci-après).

Il n'est toutefois pas évident que ces changements métaboliques soient responsables de pathologies : il est possible qu'une quantité suffisante de protéines normales soit maintenue chez les sujets âgés (Friguet, 1995).

#### 4.1.2- Oxydation

Le taux d'oxydation des protéines se mesure par le taux de carbonyles :



(Détails de la réaction, figure 5)

Dans le cerveau humain, le contenu en protéines oxydées augmentent exponentiellement avec l'âge et spécialement dans le cortex frontal et un peu dans le cortex occipital (Benzi et Moretti, 1995).

Dans le cortex cérébral de rongeurs âgés, on observe un taux significativement plus élevé de protéines oxydées (comme le contenu en protéines carbonylées) et de protéases que dans le cortex des jeunes animaux.

L'augmentation liée à l'âge de l'oxydation des protéines n'est pas restreinte au cerveau, elle se produit aussi dans les cultures de fibroblastes, ou encore dans les érythrocytes humains, dans le foie de rats. Ce phénomène est encore plus évident dans le vieillissement prématuré, comme la Progeria (Figure 6).

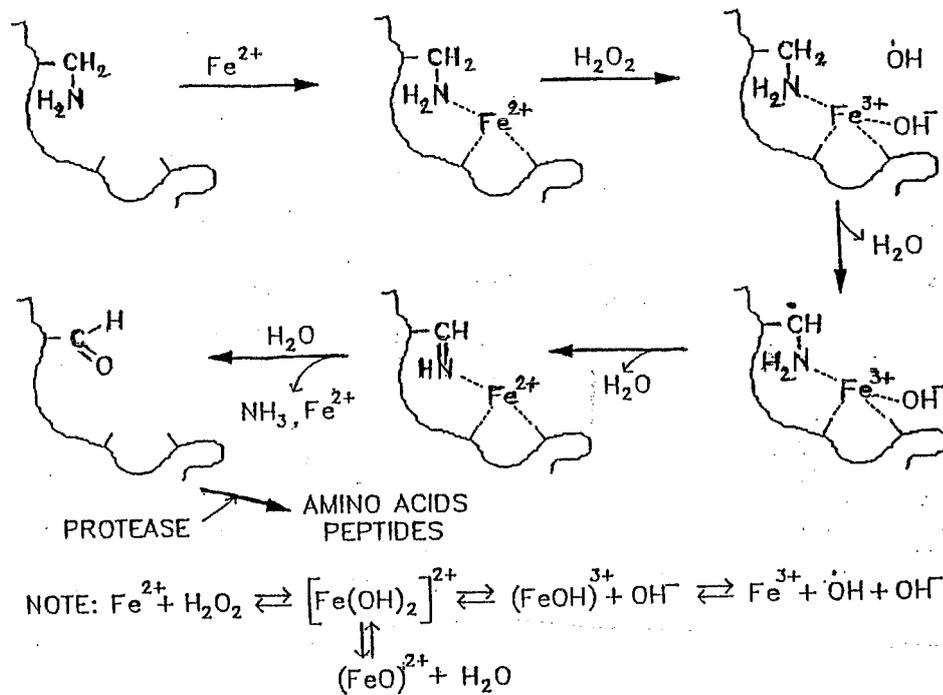
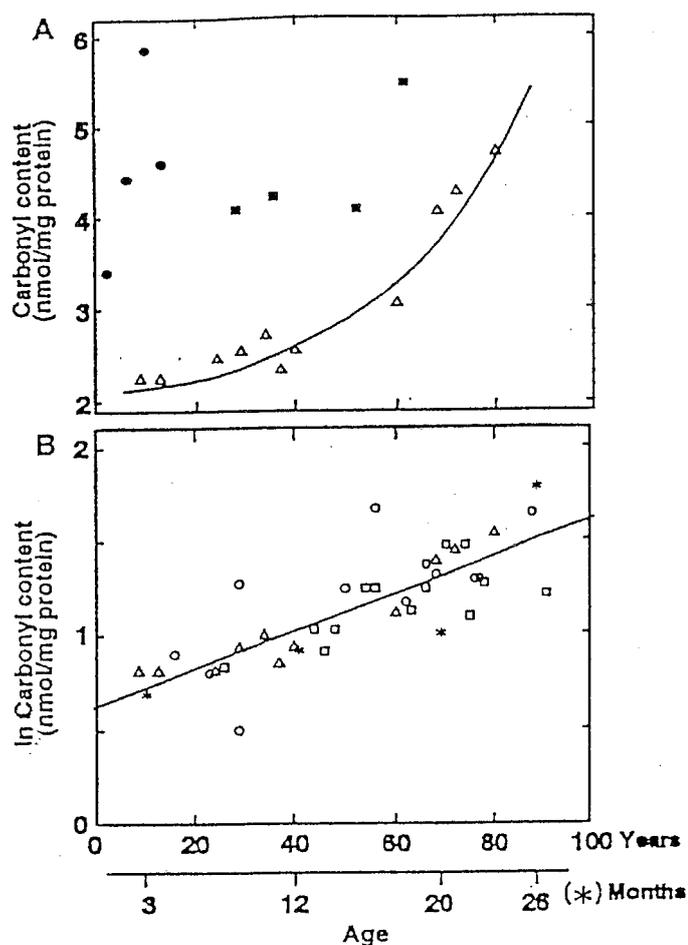


Figure 5 : Mécanisme d'oxydation d'un groupement amine d'un résidu lysine de protéine catalysé par le fer (Stadtman, 1992).

Le protéasome est connu pour être le principal système protéolytique impliqué dans la dégradation des protéines oxydées (Conconi et Friguet, 1997, Grune et al., 1997). Il comprend plusieurs enzymes dont les plus spécifiques sont : la chymotrypsine-like, la trypsine-like et la peptidylglutamyl peptide hydrolase. Avec l'âge, le taux de protéasome n'est pas affecté (Shibatani et al., 1996). Par contre, les changements relatifs à l'âge ont des conséquences sur la composition des sous unités protéosomales (Shibatani et al., 1996 ; Shibatani et Ward, 1996). De plus, chez le rat âgé on a mis en évidence une baisse de 50 % de l'activité de la peptidylglutamyl hydrolase. Cette enzyme, comme la trypsine-like, est sensible aux réactions d'oxydation. Toutefois, il semble exister des systèmes de protection antioxydants (Ex. : la protéine HSP90) dans les protéasomes pour prévenir l'inactivation de ces enzymes lors d'un stress oxydatif (Conconi et Friguet, 1997).

En minimisant l'aggregation des protéines et les cross-link, et en supprimant les fragments de protéines potentiellement toxiques, le protéasome joue un rôle clé dans les défenses antioxydantes (Grune et al., 1997).



**Figure 6 : Changements relatifs à l'âge dans la quantité de protéines oxydées.**

*A : Contenu en carbonyle de culture de fibroblastes humains de la peau d'un individu normal ( $\Delta$ ), d'un patient atteint de progéria ( $\bullet$ ), d'un patient atteint du syndrome de Werner ( $\blacksquare$ ).*

*B : Tracé semilog du contenu en protéines carbonylées en fonction de l'âge, de fibroblastes en culture d'un individu normal ( $\Delta$ ), du lobe occipital de tissu de cerveau humain ( $\diamond$ ), de membrane de cristallin humain ( $\square$ ), d'hépatocytes de rats (\*). (0 à 100 ans pour les prélèvements humains ; 0 à 26 mois pour les rats). (Friguet, 1995).*

Il n'existe pas de système de réparation des protéines oxydées. Celles-ci sont donc dégradées par des protéases. Par exemple, dans les globules rouges, on a mis en évidence un complexe protéasique de 670 kD nommé MOP (macroxyprotéinase) (Friguet, 1995).

L'activité protéase diminue avec l'âge (Figure 7). Cette réduction peut entraver la suppression des protéines altérées.

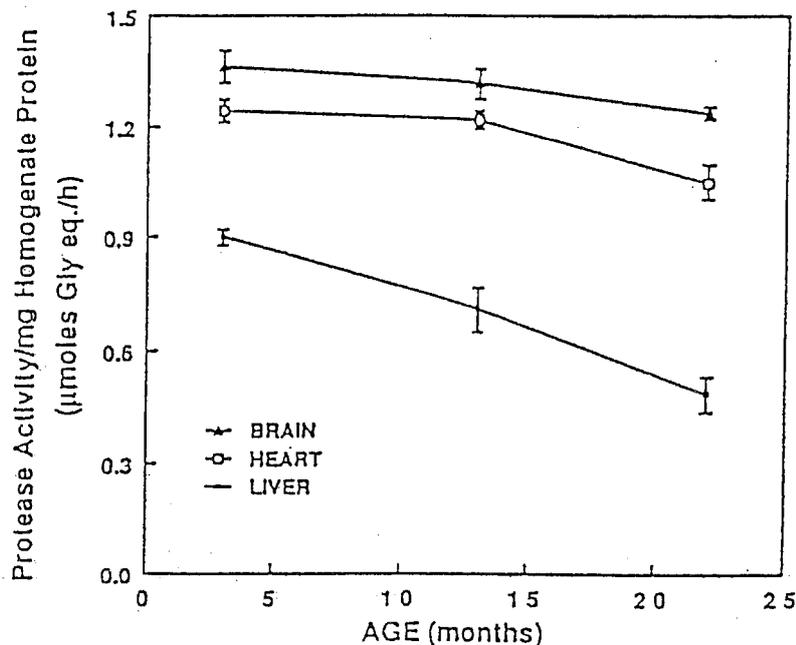


Figure 7 : Activité protéasique d'un homogénat de cerveau, de coeur, et de foie de rats âgés de 3, 13, et 23 mois (Agarwal et Sohal, 1994).

#### 4.1.3- Pontage - Glycosylation

La glycosylation est une modification biochimique courante des protéines de structure, survenant dans la plupart des cas au niveau des résidus lysines des protéines (ces réactions se produisent en grande quantité au niveau du collagène, protéine de structure de base de l'organisme).

Avec le temps, plusieurs macromolécules développent des liens transversaux avec d'autres molécules identiques ou différentes. On parle de phénomène de pontage. Ces liens ou ponts modifient leurs propriétés physiques et chimiques.

Des agents de pontage possédant des groupements électriquement chargés sont produits au cours du métabolisme normal. Au début de la vie, ces groupements ionisés sont rapidement stabilisés par des processus métaboliques normaux, mais avec l'âge, ils ont tendance à s'accumuler davantage. Ils réagissent de façon irréversible avec des macromolécules comme l'ADN ou les protéines, les rendant moins actives et réduisant leur efficacité fonctionnelle.

Ex. : le radical hydroxyle entraîne un clivage des chaînes polypeptidiques et des pontages protéine-protéine.

Les liens transversaux qui se créent lors de pontage ne sont pas causés uniquement par des groupements ionisés, mais aussi par des molécules inertes comme le glucose. La glycosylation non enzymatique (ou glycation des protéines) serait une des causes de la production de liens transversaux dans des macromolécules. Cette réaction est nommée réaction de Maillard ou réaction de brunissement (Figure 8). Il s'agit d'une réaction entre du glucose (groupement aldéhyde) et une protéine (groupement amine). Il se forme des produits de condensation (bases de Schiff = imine), instables, qui se transforment rapidement en produits d'Amadori. Ces produits se déshydratent lentement et subissent un réarrangement irréversible pour devenir des composés organiques jaunes fluorescents appelés PGA : produits finaux de glycosylation avancée (ou AGE = Advanced Glycation End-products).

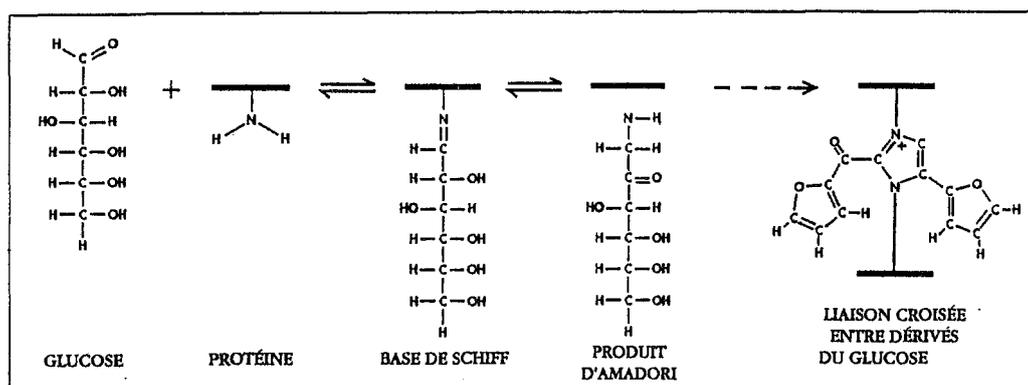


Figure 8 : Réaction de Maillard

Ces réactions concernent toutes les protéines de l'organisme à des degrés divers. Les propriétés des protéines glyquées sont différentes des protéines d'origine, donc elles ne peuvent plus assurer normalement leur rôle biologique. D'autre part, l'interaction, AGE-pigments / cellules peut induire entre autres des mutations au niveau de l'ADN, et aussi altérer les mécanismes de réparation, réplication et transcription de l'ADN.

La réaction de Maillard est nocive, progressive et irréversible. Ce phénomène fait partie des mécanismes de vieillissement (surtout cutané) et entraîne l'accumulation d'altérations.

Des taux élevés d'AGE dans les tissus sont corrélés avec le développement des complications rétinienne, rénale, neurologiques et vasculaires du diabète, semblables au vieillissement (Brownlee, 1994).

Les AGE sont aussi présents au niveau des dépôts protéiques dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Ladislas, 1995 ; Sell et al., 1996).

#### 4.1.4- Enzymes et vieillissement

Parmi les changements les plus importants au niveau enzymatique, on peut citer l'augmentation de la plupart des enzymes lysosomiales (cf. Partie I, 11.2.2) et la présence d'enzymes altérées ou modifiées dans les cellules âgées.

Holliday et Tarrant (1972) ont découvert des enzymes altérées ou modifiées dans les cellules sénescents.

Pour observer l'apparition d'enzymes modifiées, on peut étudier la vitesse de dégradation de l'enzyme à la chaleur. Des changements dans les propriétés de résistance à la chaleur d'une enzyme traduit un changement de sa structure.

D'autre part, par des méthodes immunochimiques, on peut mesurer l'activité des enzymes.

##### a- *Niveaux d'enzymes - Activités*

Les changements des niveaux d'enzymes et de leur activité ont été parmi les premiers phénomènes biochimiques à être mis en évidence au cours du vieillissement. Mais les données recueillies à ce sujet sont souvent contradictoires.

Les changements des niveaux des enzymes ou de leurs propriétés sont susceptibles de modifier le fonctionnement d'un organisme vivant. Les enzymes étant responsables de fonctions spécifiques, on peut souligner la relation étroite entre les différentes phases de la vie (différenciation, développement, maturité sexuelle et vieillesse) et l'activité d'enzymes spécifiques.

Au cours du vieillissement, et selon l'espèce animale étudiée, les activités des diverses enzymes augmentent, diminuent ou restent inchangées. Mais en fait, très peu d'enzymes évoluent de façon nette.

Parmi ces changements :

- on note la variation d'activité des enzymes peroxysomales (cf. Partie I, 5.2.2 et 12.2), des enzymes lysosomiales (cf. Partie I, 11.2.2), et des protéases (cf. Partie I, 4.1.2).

- la glutamine synthétase est une enzyme clé dans le métabolisme cérébral de l'azote puisqu'elle synthétise la glutamine à partir du glutamate, de l'ammoniaque et d'ATP. Ainsi, un niveau bas peut mener à une augmentation de glutamate et d'ammoniaque, deux composés potentiellement neurotoxiques. Son activité diminue avec l'âge (Benzi et Moretti, 1995).

- on a démontré que la glucose 6 phosphate deshydrogénase (G6PD) et aussi la superoxyde dismutase (SOD) sont modifiées au cours du vieillissement (inactivation par la chaleur plus importante pour les enzymes des vieilles cellules que pour les jeunes).(Machado et *al.*, 1991).

- chez la souris, à vieillissement accéléré, on constate une baisse de la GPx et du taux de glutathion réduit (Benzi et Moretti, 1995).

Avec l'âge, on observe donc une baisse de l'activité de plusieurs enzymes. Le mécanisme exact à l'origine de cette perte d'activité n'est toujours pas bien compris dans la plupart des cas. Aucun changement n'a été trouvé au niveau du poids moléculaire, des paramètres cinétiques ou de la mobilité électrophorétique de l'enzyme active (Reiss er Gershon, 1976).

Des études ont été réalisées sur l'enzyme malique (Gordillo et *al.*, 1988), sur la G6PD (Gordilo et *al.*, 1989) et sur la SOD pour comprendre ce phénomène.

- l'enzyme malique vieille est 36 % moins active que la jeune.

La G6PD vieille est environ 40 % moins active que la jeune (Figure 9).

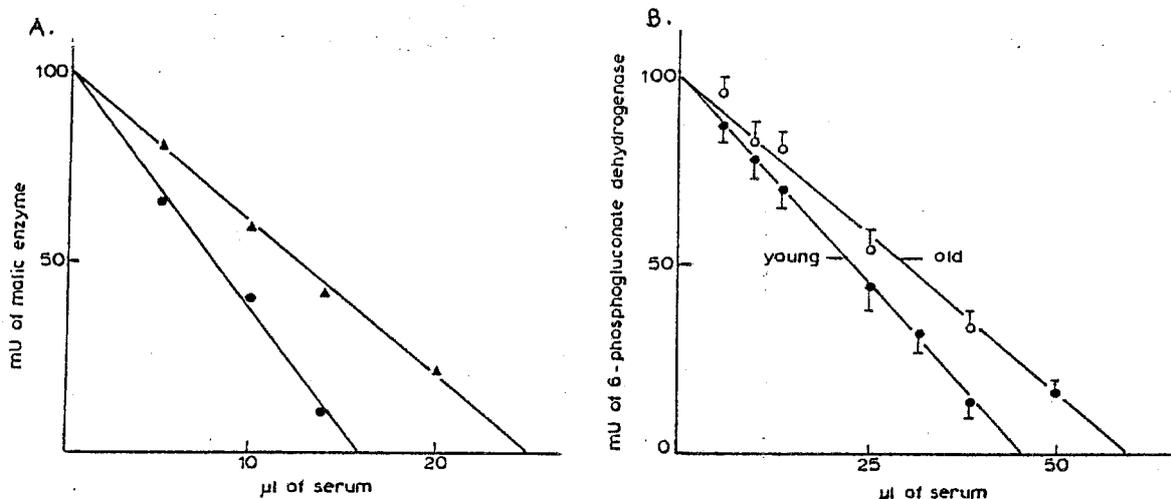
- l'enzyme malique vieille a un résidu histidine en moins que la jeune.

La G6PD a 11 résidus lysine en moins que la jeune.

- pour la SOD, les résultats sont similaires à ceux de l'enzyme malique.

Ces modifications de résidus durant le vieillissement qui semblent être en partie la cause de la perte d'activité des enzymes, peuvent être créées par oxydation. Les études montrent parfois une diminution ou parfois une constance de l'activité de la SOD avec l'âge dans le cerveau de rongeurs.

D'autres résultats indiquent une inactivation ou une diminution de l'activité pour la SOD (Somville et Remacle, 1980) et pour la lactate deshydrogénase (Lewis et Tarrant, 1972). On rappelle que ces deux enzymes font partie de l'édifice de réparation et de protection de la cellule.



**Figure 9 : Perte d'activité de l'enzyme malique et de la G6PD avec l'âge.**  
 A. L'immunoprécipitation donne une estimation de la quantité d'enzyme malique immunoprécipitable. La quantité d'anticorps nécessaire pour inactiver 50 % d'extrait tissulaire est différente selon l'âge du donneur (extrait de foie). Il faut 36 % d'Ac en plus pour inactiver le même nombre de milli-unités d'enzyme d'un foie vieux que d'un foie jeune. Cela suggère soit que l'extrait de foie âgé contient plus d'enzyme capable d'immunoprécipitation soit que les enzymes âgées sont moins actives que les jeunes. La conclusion est que le foie âgé contient soit une forme moins active ou une mixture de formes actives et inactives. Donc, l'enzyme malique est altérée et s'accumule avec le temps.

B. Pour la G6PD : perte d'environ 40 % d'activité durant le vieillissement. (Machado et al., 1991).

Ainsi des modifications (oxydation) post-traductionnelles des protéines entraînent des altérations de leur activité. On observera entre autres des conséquences sur le métabolisme. Par exemple, des observations sur des rats on mis en évidence une modification de leur métabolisme avec l'âge. En particulier, l'activité de certaines enzymes lipogéniques et gluconéogéniques du foie et du cerveau changent :

- diminution de l'activité de l'enzyme NADP-malique et de l'ATPcitrate lyase.
- augmentation de l'activité de l'aspartate aminotransférase et de la malate deshydrogénase du cytoplasme.

D'autre part, l'activité de la monoamine oxydase B augmente avec l'âge dans différentes régions du cerveau de rat et de l'homme. Cela est dû à une augmentation de la protéine enzymatique plutôt qu'à un changement de ses propriétés catalytiques (Cette modification est particulièrement marquée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer). Comme la MAO B est trouvée principalement dans les cellules gliales, cette élévation pourrait être associée essentiellement à la prolifération des astrocytes, qui accompagne la perte neuronale dans le vieillissement (et particulièrement dans la maladie d'Alzheimer) (Benzi et Moretti, 1995).

#### b- *Changements de composition en isoenzymes*

Les isoenzymes sont des protéines fonctionnellement apparentées, qui existent sous plusieurs formes moléculaires chez un même individu ou une même espèce. Par exemple, la lactate deshydrogénase (LDH), est un tétramère formé de deux types de sous unités. On distingue la forme M, prédominante dans le muscle squelettique et la forme H, prédominante dans le coeur. Ces sous unités sont contrôlées par deux gènes différents.

Il existe plusieurs combinaisons des deux sous unités qui donnent naissance à plusieurs isoenzymes : M4, M3H, M2H2, H4.

Or durant le vieillissement, il se produit des changements dans la proportion de ces isoenzymes. Ainsi, chez le rat âgé, la proportion en M4-LDH dans le coeur, les muscles squelettiques et le cerveau est beaucoup plus basse que chez les animaux plus jeunes, et on observe une augmentation de la H4-LDH avec l'âge.

Cette modification est à l'origine des changements dans des fonctions métaboliques. Par exemple, la baisse du taux de M4-LDH pourrait être à l'origine d'une moindre capacité des tissus animaux âgés à faire face aux conditions anaérobies.

De même, chez le nématode âgé "*Turbatrix aceti* " ce phénomène a lieu : la composition en isoenzymes de l'isocitrate lyase est différente de celle des jeunes. Dans le foie de rat : les cellules jeunes contiennent des isoenzymes de type A de l'alanine amino transférase cytoplasmique, alors que dans les vieilles cellules on trouve des isotypes B seulement.

Les sous unités sont sous le contrôle de gènes qui sont activés et réprimés de façon séquentielle au cours des différents âges. Il existe de très nombreux autres exemples.

En ce qui concerne la glucose-6-phosphate deshydrogénase, différentes formes de cette enzyme ont été mises en évidence :

Tétramère ----> Dimère ----> Dimère ----> Monomère ----> Dégénération  
actif <---- actif <---- thermolabile <---- actif

Le passage d'une forme à l'autre peut être attribué à des modifications de l'activité de gènes régulateurs correspondant, sous l'influence de signaux provenant d'un programme endogène (Hamarsy, 1986 ; Timiras, 1997).

### *c- Induction enzymatique*

L'induction est un processus adaptatif.

Chez l'animal vieillissant, le niveau d'induction peut diminuer, augmenter ou rester stable.

En fait, il peut se produire:

- . des modifications au niveau de la période de latence adaptative (ou temps de déclenchement) avec ou sans changement de degré d'induction
- . des modifications du degré d'induction, sans changement du temps de latence
- . à la fois des modifications de la latence et du degré d'induction
- . aucun changement du mode d'induction

En réalité, l'image générale est une baisse de l'intensité de la réponse adaptative et un allongement du temps de latence chez l'animal âgé.

En ce qui concerne la stimulation par des hormones : une réponse tissulaire modifiée pourrait indiquer un changement du nombre de récepteurs ou de leur propriétés physico-chimiques, ou encore une modification des facteurs intervenant dans la régulation hormonale de l'expression génétique (Timiras, 1997).

### *d- Propriétés cinétiques et autres*

Des études ont été effectuées concernant les propriétés cinétiques, le poids moléculaire, la mobilité électrophorétique, la stabilité thermique et l'antigénécité des enzymes en fonction de l'âge. Malgré certaines disparités dans les caractéristiques moléculaires de quelques enzymes, la plupart ne présente pas de différences importantes entre jeunes et vieilles enzymes.

Certains changements chez quelques animaux semblent provenir de modifications de la forme des molécules, sans modification de liens covalents. C'est le cas pour l'aldolase A qui n'est pas identique dans le muscle de jeunes lapins ou de lapins âgés (Hamarsy, 1986 ; Timiras, 1997).

#### 4.2- Métabolisme lipidique :

Des expérimentations ont révélé une hausse significative du contenu en lipides des cellules vieillissantes (Kritchevsky et Howard, 1966 ; Hay et Strehler, 1967). En ce qui concerne la synthèse des lipides, Razin et *al.* (1977) ont montré qu'elle est affectée à un moindre degré par rapport à la synthèse protéique. Les lipides membranaires sont altérés principalement (cf. Partie I, 5.2.2).

#### 4.3- Métabolisme des hydrates de carbone :

Si on maintient la concentration en glucose constante dans un milieu de culture, on note un taux de glycogène beaucoup plus élevé dans les cellules âgées que dans les jeunes (Robbins et *al.* , 1970).

Ces modifications vont s'expliquer en partie par les changements décrits ci-dessous, qui ont lieu au niveau des divers organites et molécules .

### 5- LES MEMBRANES

#### 5.1- Description :

La membrane plasmique entoure la cellule. Elle est composée de protéines et de lipides reliés entre eux par des liaisons non covalentes.

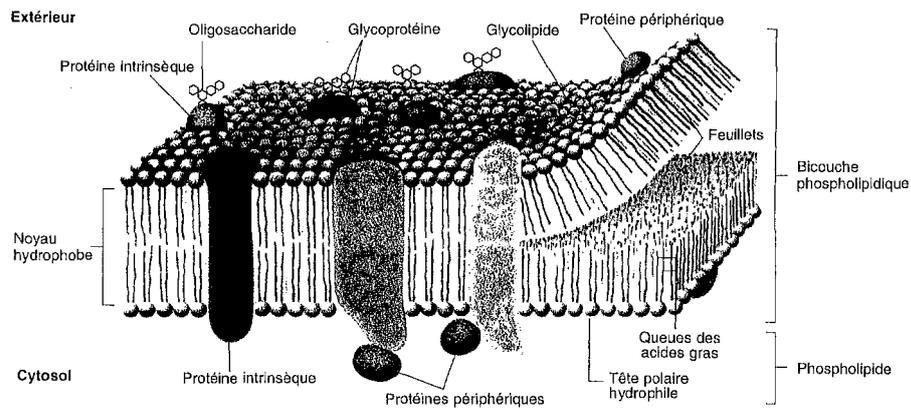
C'est une double couche lipidique dans laquelle sont incluses des protéines (transporteurs, enzymes,...).

Sa structure est asymétrique (différence de composition entre les deux couches de lipides).

Les chaînes d'acides gras hydrophobes sont tournées vers l'intérieur de la membrane, et les extrémités polaires vers le milieu aqueux environnant (Figure 10).

Des membranes à l'intérieur de la cellule forment des structures indépendantes ou entourent des organites (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi...).

La surface cellulaire présente de nombreuses villosités qui interviennent dans les phénomènes de transports membranaires et constituent une réserve de surface pour le mouvement et la division cellulaire.



**Figure 10 : Schéma d'une membrane biologique typique.**

*La bicouche phospholipidique comprend deux feuillets de molécules de phospholipides dont les chaînes d'acide gras polaires forment le coeur hydrophobe de la bicouche ; les têtes polaires hydrophiles des phospholipides en bordent les deux faces. Une ou plusieurs protéines intrinsèques sont enchâssés dans la bicouche lipidique. Des protéines périphériques sont associées à la membrane, surtout par des interactions spécifiques de protéine à protéine. Les oligosaccharides sont surtout fixés à la membrane par l'intermédiaire de protéines membranaires, mais peuvent aussi y être liés à l'intervention de lipides, constituant alors les glycolipides (Lodish et al., 1997).*

La membrane est une structure semi-perméable au sein de laquelle se déroulent des processus de transports actifs qui régulent les entrées et les sorties de certains ions. Les grosses molécules ou les molécules qui ne sont pas liposolubles pénètrent dans la cellule par des pores ou par des protéines membranaires qui ont un rôle de "transporteurs" ou "canaux" (diffusion facilitée). Les petites molécules entrent par des mécanismes de transports passifs.

On trouve aussi au niveau des membranes des sites récepteurs. Des substances spécifiques peuvent s'y lier puis être internalisées (endocytose).

Les rôles des membranes sont :

- de délimiter l'ampleur de la cellule
- de servir de barrière qui maintient les différences nécessaires entre l'intérieur de la cellule et son milieu environnant.
- de permettre les échanges entre le cytoplasme et le milieu extérieur, donc un rôle de transfert de substances et d'information de cellule à cellule (Petit et al., 1997).

## 5.2- Vieillessement membranaire :

### 5.2.1- Nombre de villosités

Le nombre de villosités augmente avec l'âge dans certains types de cellules *in vivo*, et *in vitro* lors des derniers doublements de populations. Ceci se fait peut être dans le but de compenser la baisse de communication intercellulaire (Timiras, 1997).

### 5.2.2- Modifications des constituants membranaires

Y.Courtois (1974) a montré une différence de composition de plusieurs constituants des membranes entre cellules jeunes et cellules âgées.

Par exemple, les membranes des cellules âgées sont plus riches en mucopolysaccharides alors que celles des cellules jeunes contiennent une grande quantité de glycopeptides particuliers.

Mais surtout, la composition des deux principaux constituants (lipides et protéines) subit des variations importantes avec l'âge.

#### a- *Composition en phospholipides en fonction de l'âge :*

\* Métabolisme des AGPI (acides gras polyinsaturés) - Rôle des peroxysomes :

Des modifications significatives relatives à l'âge ont été observées pour la sphingomyéline, dont la proportion augmente au cours du temps dans les membranes corticales et nucléaires au niveau de la rétine.

Le pourcentage de phosphatidylcholine présente lui une baisse régulière avec l'âge, essentiellement dans les membranes épithéliales (Merchant et *al.*, 1991).

La relation inverse entre le contenu en sphingomyéline et en phosphatidylcholine a été démontrée au niveau des membranes du réticulum sarcoplasmique des muscles et d'autres systèmes.

On pense que la fluidité membranaire est régulée par le rapport de ces deux phospholipides.

La composition en AGPI est régulée par des mécanismes biochimiques comme leur synthèse et leur dégradation. L'âge semble avoir des effets sur ces mécanismes (Merchant et *al.*, 1991 ; Borchman et *al.*, 1994 ; Maddox, 1997) :

#### . *Age et biosynthèse*

La delta-désaturase est une enzyme limitante dans la biosynthèse des AGPI.

Dans le foie de rat, l'activité de cette enzyme au cours du vieillissement décroît de plus de 50 % entre 4 et 22 mois d'âge.

D'autres observations de cerveau et de foie de rats précisent que l'effet du vieillissement sur cette fonction de biosynthèse des AGPI n'est pas un phénomène linéaire. Il existe un plateau chez l'animal adulte pour l'activité hépatique (la synthèse des AGPI est principalement hépatique, au niveau du réticulum endoplasmique).

### *. Age et dégradation peroxysomale des AGPI*

La dégradation a lieu dans les peroxysomes et les mitochondries par bêta-oxydation.

Au cours du vieillissement, on constate dans le foie des souris une diminution de plus de 40 % de l'activité de dégradation des acides stéariques, oléiques, linoléiques, alpha-linoléniques, arachidoniques et docosahexaénoïques.

Il a été prouvé que ce changement est directement lié à une baisse de l'activité de l'acyl-CoA oxydase, enzyme limitante de la bêta-oxydation.

Des études chez des rongeurs permettent d'impliquer le peroxysome dans le mécanisme d'altération des compositions membranaires au cours du vieillissement.

Ceci par deux modes d'action :

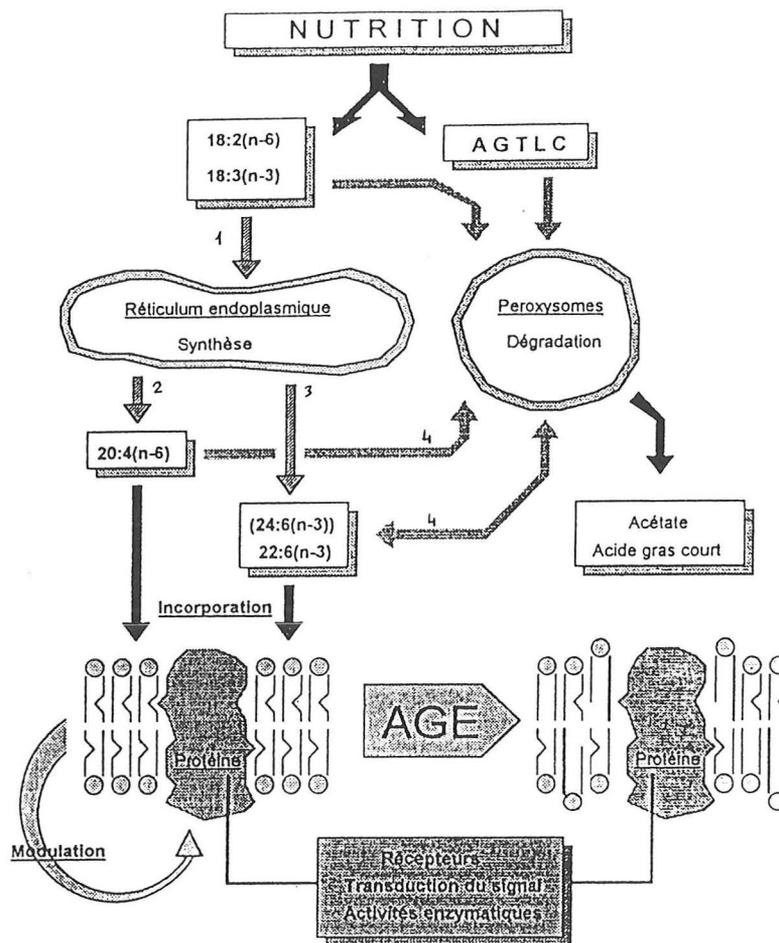
- au niveau de l'homéostasie en AGPI, en particulier pour l'acide docosahexaénoïque (= 22:6 (n-3) ) dont la synthèse terminale implique l'intervention des peroxysomes. De ce fait, la diminution de l'activité peroxysomale avec l'âge s'accompagne d'une diminution de la synthèse de cet acide gras. La composition de la rétine (tissu le plus riche en 22:6 (n-3) ) a été étudié durant la sénescence, et leurs résultats confirment ces faits.

- l'accumulation des acides gras à très longues chaînes (AGTLC) dans les membranes. Le peroxysome participe à la dégradation des AGTLC. Si son activité diminue avec l'âge, il se produit une accumulation de ces acides gras dans l'organisme. En effet, dans les maladies peroxysomales affectant la bêta-oxydation, on observe une quantité de plus en plus importante des AGTLC dans le sang et les organes. Une des pathologies correspond à un déficit en AcylCoA oxydase et les patients présentent des analogies frappantes avec des caractéristiques associées au vieillissement normal.

Tout au long de la vie de l'animal, l'équilibre entre les voies de synthèse et de dégradation est donc préservé qualitativement. Par contre, la capacité quantitative de métabolisation des AGPI diminue en raison de la décroissance simultanée de l'activité de la bêta-désaturase microsomale et de l'acylCoA-oxydase peroxysomale. Au niveau des membranes, la conséquence est une accumulation en AGTLC, en particulier au niveau de la rétine et du cerveau.

Ainsi la structure (composition, fluidité et microenvironnement des protéines) et l'activité membranaire sont altérées chez l'animal âgé, et les peroxysomes semblent jouer un rôle important dans le vieillissement (Perichon et Bourre, 1996).(Figure 11).

Des recherches montrent que le rapport AGI/AGS dans les membranes mitochondriales de rats âgés semble diminuer avec l'âge. Et, si on considère les différents types d'acides gras, certains sont en quantité très augmentée chez les animaux âgés.



**Figure 11 : Schéma de l'implication des peroxysomes dans les modifications liées au vieillissement de la membrane.**

La nutrition apporte les précurseurs des AGPI n-6 et n-3. Ceux-ci subissent, dans le réticulum endoplasmique, des étapes de synthèse (1, 2, 3) pour former les AGPI membranaires (20:4(n-6) et 22:6(n-3)). Ces AGPI sont ensuite incorporés dans les membranes. Il en résulte la détermination d'une composition membranaire donnée qui est capable de moduler l'activité des protéines membranaires et par conséquent, la fonction membranaire. Le peroxysome participe à la régulation du taux cellulaire en AGPI en les oxydant (4). Il assure spécifiquement la dégradation des AGTLC apportés soit par la nutrition soit par l'activité de synthèse endogène au niveau du réticulum endoplasmique. Le peroxysome prévient donc l'accumulation des AGTLC dans l'organisme. Chez l'animal jeune, l'ensemble synthèse/dégradation fonctionne normalement. Il en résulte une composition, une structure et une fonction membranaire optimales (en bas à gauche). En vieillissant, la capacité métabolique du couple synthèse/dégradation diminue. Le contrôle des AGPI et des AGTLC est moins efficace. Le taux d'AGPI comme le 22:6(n-3) diminue au niveau des membranes et les AGTLC peuvent s'accumuler. La structure et l'activité membranaire sont altérées chez l'animal âgé (en bas à droite). (Perichon et Bourre, 1996).

### \* Lipoperoxydation

Les AGPI sont sensibles aux réactions d'oxydation par les radicaux libres. L'intensité de la lipoperoxydation s'accroît avec l'âge (Partie II, A.4.1). On retrouve des lipides peroxydés en grande quantité chez les sujets atteints du syndrome de Down (syndrome de vieillissement accéléré). Et ils s'accumulent progressivement au cours du vieillissement chez des sujets sains.

#### b- Altération des protéines membranaires :

Sous l'action des radicaux libres les protéines membranaires sont oxydées (cf. Partie I, 4.1.2 et Partie II, A.4.2).

La quantité de protéines carbonylées et les changements d'activité de la glutamine synthétase (GS) ont été utilisés pour quantifier l'oxydation des protéines dans le cerveau. Mais ces biomarqueurs ne permettent pas de distinguer absolument les altérations oxydatives des protéines des membranes cellulaires. Par contre les techniques d'EPR (electron paramagnetic resonance ou RPE = résonance paramagnétique électronique) fournissent des moyens d'études des perturbations biophysiques membranaires induites par le stress oxydatif. Ainsi, ces techniques ont permis de mesurer le taux de peroxydation des protéines membranaires (des érythrocytes et de synaptosomes).

Chez les rats et les gerbilles vieillissants, on observe des modifications dans la quantité de protéines oxydées. On constate, par exemple, des différences quantitatives significatives entre jeunes et vieux animaux au niveau des membranes de synaptosomes (vésicules contenues dans la synapse et participant à la synthèse d'acétylcholine).

De plus, ces changements peuvent être accélérés *in vivo* par des conditions d'hyperoxie.

Ceci implique une déficience des défenses antioxydantes et de la capacité de réparation dans le néocortex des animaux âgés.

De nombreux résultats expérimentaux mènent à la conclusion que les protéines tissulaires sont progressivement oxydées avec l'âge.

Les résultats révèlent donc une augmentation avec l'âge de la quantité en protéines carbonylées. D'autre part, on conclue à une perte de plasticité biologique due aux réactions de stress oxydatif de la membrane, dans les cellules du cerveau et probablement aussi dans toutes les autres cellules différenciées.

De plus, le taux de protéases diminue dans le cerveau âgé, indiquant certainement une déficience de la capacité physiologique de l'organisme âgé à détruire ou remplacer des protéines altérées par oxydation, ceci participant aussi à leur accumulation (Hensley et *al.*, 1995).

### 5.2.3- Modifications des propriétés membranaires

#### a- *Fluidité*

Mead (1976) a montré qu'il se produit une diminution de la fluidité des membranes dans les cellules postmitotiques des organismes âgés.

Elle se traduit, par exemple, *in vivo*, par la modification de la forme des cellules endothéliales des grosses artères. *In vitro*, on observe des modifications de la forme des fibroblastes et des changements au niveau des interactions entre cellules et support de la culture.

La composition en lipides d'une membrane va déterminer sa fluidité.

Une membrane devient moins fluide quand le nombre de double liaisons dans les chaînes d'acides gras des lipides décroît. Cette baisse du degré d'insaturation en effet diminue la mobilité des molécules lipidiques.

Les radicaux libres peuvent conduire à de telles modifications.

La fluidité de la membrane est influencée aussi par : la teneur en cholestérol, en phospholipides et en protéines.

Un changement de fluidité membranaire est susceptible de modifier les réponses cellulaires dans lesquelles interviennent des phénomènes d'excitabilité, de transport, et de liaison aux protéines. Donc, les réponses aux stimuli exogènes et endogènes sont altérées (Courtois, 1974)..

#### b- *Perméabilité*

Si les molécules constituant la membrane sont altérées (ex : lipoperoxydation), la perméabilité de la membrane sera aussi altérée.

La saturation des chaînes d'acides gras va par exemple entraîner une diminution de l'activité des pompes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  et une modification de la force ionique du cytoplasme, d'où l'altération des mécanismes de biosynthèse cytosoliques (Turk et Milo, 1974).

#### c- *Adhésivité*

On observe un phénomène d'adhésivité fréquent chez les cellules jeunes (formation d'agrégats en culture) alors que cette propriété semble altérée pour les cellules âgées (du fait certainement de modifications de composition en glycopeptides) (Courtois, 1974).

## 6- LE CYTOPLASME

### 6.1- Description

Il est compris entre le plasmalemme et la membrane nucléaire dans les cellules eucaryotes.

C'est le territoire où baignent de nombreux organites et où se produisent de nombreuses réactions : glycolyse, synthèses protéiques ...

Dans le cytoplasme, se trouvent les éléments responsables de la contractilité, de la motilité et de la forme cellulaire : microfilaments et microtubules constituant le cytosquelette (structures protéiques) (Petit et *al.*, 1997).

### 6.2- Vieillessement cytoplasmique

#### 6.2.1- Les lipofuscines :

Une caractéristique du vieillissement des cellules postmitotiques est en particulier l'accumulation de granules de lipofuscines dans le cytoplasme. Ces pigments constituent un marqueur du vieillissement.

L'origine de ces dépôts lipoprotéiques est liée aux réactions de peroxydation lipidique. Ils se forment au cours du processus intracellulaire d'autophagie : les acides gras peroxydés vont s'accumuler dans les lysosomes qui ne peuvent pas les dégrader. Ceci va entraîner la destruction de ces organites et la formation de dépôts lipopigmentaires.

Les lipofuscines se trouvent en grande quantité dans les neurones et les cellules myocardiques des personnes âgées. Elles ne s'accumulent pas dans tous les tissus de la même manière (Monserrat et *al.*, 1995).

#### a- *Origine des lipofuscines :*

Une hypothèse a été émise en ce qui concerne l'origine des lipofuscines. Elles proviendraient de l'interaction de deux processus :

- . la production cellulaire normale d'espèces réactives oxygénées, principalement par la mitochondrie
- . la dégradation autophagique de diverses structures cellulaires et d'organites.

Il a été suggéré qu'une certaine quantité de peroxyde d'hydrogène formé dans la cellule échappe à la dégradation par la catalase et la glutathion peroxydase, et diffuse vers le compartiment lysosomal. A ce niveau, des métaux de transition capables de réaction redox, principalement le fer, provenant de la dégradation de différentes métalloprotéines durant le processus d'autophagocytose normal, existeraient à basse concentration. Les conditions sont alors favorables à la peroxydation (réaction de Fenton).

Les mitochondries peuvent aussi produire des superoxydes et du peroxyde d'hydrogène et ainsi augmenter le stress oxydatif intralysosomal.

Un modèle d'oxydation de protéines et de lipides de fraction mitochondriale-lysosomiale de foie de rats a été établi. L'étude de la formation de lipides peroxydés, de protéines carbonylées et de composés autofluorescents (type lipofuscines) dans ce modèle, démontre que les lipofuscines se forment dans les lysosomes. Cette formation se fait à la suite de réactions oxydatives catalysées par le fer et, impliquant les matériaux autophagocytés.

Ainsi, les lipofuscines seraient un mélange complexe de diverses biomolécules altérées par oxydation, polymérisées et non dégradables (Riga, 1995 ; Yin *et al.*, 1995 ; Cataldo *et al.*, 1996).

#### *b- Propriétés et composition des lipofuscines :*

Les lipofuscines sont autofluorescentes.

Les granules de lipofuscines représentent chimiquement des pigments très hétérogènes contenant les composants principaux d'une cellule vivante : protéines, lipides, carbohydrates et des traces d'autres composants cellulaires.

Des études indiquent que le mannose est le sucre, en général, le plus souvent détecté dans ces granules, chez le rat et chez l'homme. On trouve aussi de l'acétylglucosamine, de l'acétylgalactosamine, du galactose et du fructose. Des différences notables ont été mises en évidence dans la composition en saccharides des granules des différents types cellulaires chez le rat et chez l'homme, mais aussi à l'intérieur du même type de cellules des deux espèces.

Ces granules contiennent des enzymes hydrolytiques lysosomiales. Ce qui montre leur appartenance à la catégorie des lysosomes.

Elles renferment aussi des enzymes mitochondriales, ce qui rend compte de la dégradation des mitochondries endommagées, par les lysosomes.

La structure interne des lipofuscines est généralement polymorphe et augmente en complexité avec l'âge avancé (homogène ---> hétérogène).

Les lipofuscines changent de propriétés physiques (fluorescence) et chimiques (aussi bien leur solubilité, que leur stabilité, activité enzymatique et morphologie) en fonction de l'âge.

Quatre types de distributions topographiques dans la cellule ont été mis en évidence dans les neurones et les névroglies des différentes régions du cerveau.

On note que les lipofuscines ont une relation inverse avec les corps de Nissl (= grosses granulations cytoplasmiques basophiles qui, en microscopie électronique, correspondent à des amas de polyribosomes et de saccules de réticulum endoplasmique granuleux) : chez les individus âgés, le pourcentage de volume cellulaire occupé par les lipofuscines augmente avec le temps, alors que pour les corps de Nissl, il diminue (Riga, 1995).

*c- Caractéristiques de l'accumulation des lipofuscines :*

Généralement absentes ou difficilement détectables durant la vie foetale, néonatale et les premières périodes de la vie, les lipofuscines s'accumulent progressivement au cours des différents stades adultes et du vieillissement.

Il s'agit d'un phénomène universel : on les retrouve dans les cellules postmitotiques de longue vie de toutes les espèces étudiées (des nématodes, mouches, et grenouilles jusqu'aux mammifères : souris, rats, cochons d'Inde, primates et hommes).

Cette accumulation est une caractéristique de base du vieillissement. Elle représente le changement intracellulaire relatif au vieillissement le plus spécifique des cellules postmitotiques de longue vie : neurones, cellules myocardiques, et fibres musculaires lisses.

D'autres cellules particulières, tissus et organes contiennent aussi des quantités variables de lipofuscines en fonction de l'âge :

- . tous les types de cellules gliales du système nerveux central
- . les composants du système endocrinien : hypophyse, thyroïde, glandes surrénales, testicules, ovaires.
- . l'épithélium pigmentaire de la rétine
- . foie, reins
- . différents types de tissus et cellules en culture : fibroblastes diploïdes humains, cellules de neuroblastomes de souris, cellules neuronales de rats, cellules gliales diploïdes humaines.

L'accumulation de ces pigments, dépendant directement du taux métabolique, représente l'indicateur de la longue activité fonctionnelle, répétitive du réseau neuronal.

La formation des lipofuscines est intracellulaire (intracytoplasmique) et provient de mécanisme d'autophagocytose. Ainsi, ces pigments peuvent être considérés comme une manifestation normale de biologie cellulaire, comme une conséquence du vieillissement au niveau intracellulaire.

On note que des localisations extracellulaires très rares ont tout de même été observées. Il existe des possibilités de transfert intercellulaire de lipofuscines dans les neuroglies voisines, bien avant la mort neuronale.

Cette formation de pigments est un phénomène intrinsèque. Elle entraîne une diminution de la masse cytoplasmique des cellules, ainsi que du nombre de mitochondries et de la quantité de RER, et elle s'accompagne d'une vacuolisation du cytoplasme. Les conséquences de l'accumulation des lipofuscines pour l'activité cellulaire ne sont pas clairement établies. Il est possible que les agrégats de ces pigments diminuent la plasticité des cellules, les rendant ainsi moins aptes à maintenir leurs propriétés. Et cette accumulation interfère sur le transport de vésicules intracellulaires.

Toutefois, en dépit du fait que le caractère délétère de l'accumulation des lipofuscines ne soit pas évident et jusqu'ici pas réellement prouvé, des investigations morphologiques récentes au niveau du cerveau démontrent son caractère néfaste (on a relié l'accumulation de lipofuscines à la perte neuronale durant la vieillesse) (Amano *et al.*, 1995 ; Riga, 1995 ; Cataldo *et al.*, 1996).

#### d- Rôle de la protéine bcl2

On a étudié l'expression de la protéine bcl2 dans le cerveau vieillissant et dans diverses maladies neurodégénératives humaines. Dans tous les cas, on constate que sa concentration est très augmentée à l'intérieur des lipofuscines des neurones ainsi que dans les lipofuscines gliales et vasculaires.

bcl2 est capable de protéger les structures neuronales en diminuant la production d'espèces réactives de l'oxygène. Bien que le mécanisme exact soit inconnu, cette molécule semble agir comme un piègeur direct des radicaux libres.

Puisque le stress oxydatif est directement impliqué dans la genèse de lipofuscines et est impliqué dans la pathogenèse du cerveau vieillissant et des maladies neurodégénératives, la surexpression de bcl2 dans les lipofuscines pourrait être un mécanisme pour contrebalancer les dommages dus aux radicaux libres, ou bien, l'accumulation de bcl2 pourrait indiquer un processus de séquestration/inactivation de cette protéine.

D'autres études seront nécessaires pour clarifier le rôle de cette protéine dans la dégénérescence neuronale (Migheli *et al.*, 1994 ; cf. Partie I, 13).

#### e- Les pigments céroïdes

Des lipopigments s'accumulent dans les cellules comme produits finaux intracellulaires des agressions de l'environnement ou de conditions intrinsèques : il s'agit des pigments céroïdes (Montserrat *et al.*, 1995 ; Riga, 1995).

Il est très difficile de faire la différence entre les lipofuscines et ces pigments. De plus, à certains moments de leur évolution, ces entités manifestent des propriétés physiques, biochimiques, histochimiques et morphologiques identiques pour la plupart et peuvent coexister dans les mêmes cellules postmitotiques chez un sujet âgé. Toutefois, la distinction entre ces deux catégories de pigments est très importante au point de vue scientifique et permet d'ouvrir de nouvelles voies dans la recherche sur les lipopigments.

Ainsi, les pigments céroïdes sont caractérisés par :

- . une accumulation qui n'est pas un phénomène universel et obligatoire.
- . leur apparition suite à des conditions pathologiques diverses (génétiques ou extrinsèques), ainsi ces pigments peuvent être considérés comme des marqueurs de désordres intrinsèques et/ou de stress agressifs de l'environnement.

- . leur accumulation rapide et ubiquitaire (le taux d'accumulation est rapide comparé à celui des lipofuscines mais peut passer de très rapide à très lent en fonction de l'agent causal).

- . l'hétérophagocytose comme mécanisme de production essentiel (car les précurseurs sont des composés étrangers à la cellule où ils sont trouvés).

- . les effets néfastes de leur accumulation sont évidents.

- . leur localisation au niveau intracellulaire ou extracellulaire.

### 6.2.2- Les microfibrilles

Dans les cellules jeunes, quelques microfibrilles sont présentes dans le cytoplasme, proche de la membrane cellulaire. Quand les cellules vieillissent, ces filaments sont visibles en quantité plus importante et répartis dans l'ensemble du cytoplasme (Lipetz et Cristofalo, 1972).

### 6.2.3- Cytoplasme des cellules nerveuses

Au niveau du cytoplasme des cellules nerveuses, on observe des enchevêtrements neurofibrillaires. Ce sont des amas intracellulaires d'éléments fibreux entrelacés, souvent des faisceaux en forme de flamme qui traversent tout le corps cellulaire. On les rencontre au cours du vieillissement normal, en particulier au niveau de l'hippocampe (Timiras, 1997).

## 7- LES MITOCHONDRIES

### 7.1- Description

Ce sont des organites cellulaires de forme sphérique ou filamenteuse. Elles présentent de nombreux replis internes ou crêtes (Figure 12).

Quand la cellule est au repos, les mitochondries sont disséminées uniformément dans le cytoplasme. Au moment de la division cellulaire, elles sont regroupées près du fuseau achromatique. On les retrouve en général dans les régions cellulaires nécessitant de l'adénosine triphosphate (ATP).

La membrane externe comprend entre autres : des enzymes qui interviennent dans le métabolisme des lipides, des chaînes de transport d'électrons .

La membrane interne renferme des ATPases, des enzymes transporteurs de métabolites, les constituants de la chaîne respiratoire.

La chaîne respiratoire est constituée de cinq complexes protéiques enzymatiques et de cofacteurs. Elle permet la phosphorylation oxydative qui aboutit à la production d'ATP.

La matrice contient des ions Ca, Mg, phosphates, de l'ADP, de l'ATP, du coenzyme A, des enzymes (pour l'oxydation de substrats et pour la réplication, la transcription et la traduction de l'information mitochondriale), de l'ADN et des mitoribosomes. Sa composition en protéines est spéciale : "cocktail" d'enzymes ou de coenzymes qui interviennent dans la production d'énergie.

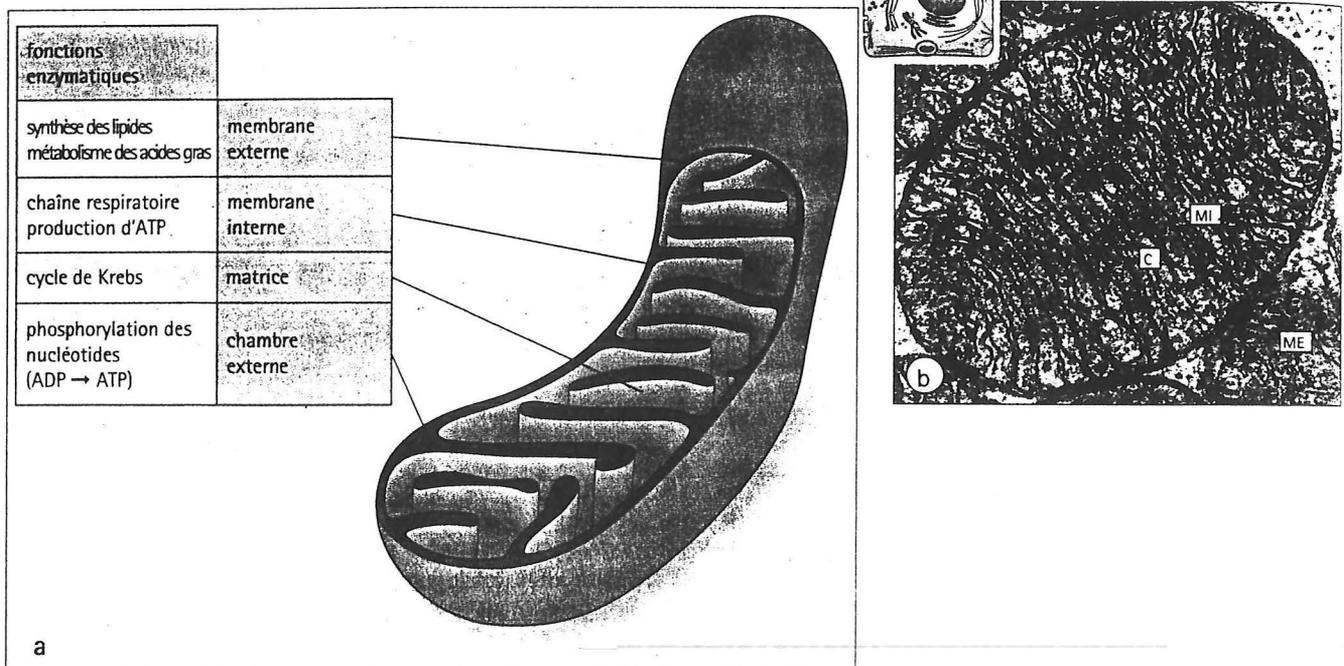
Les mitochondries proviendraient à l'origine de bactéries et ceci expliquerait pourquoi ces organites contiennent leur propre ADN et que celui-ci a des propriétés propres (Ex. : sa réplication est indépendante du cycle cellulaire).

L'ADN mitochondrial est circulaire, à double chaîne. Il est  $10^5$  fois plus petit que l'ADN nucléaire, et n'est pas lié à des molécules d'histones. Sa duplication est sous contrôle nucléaire. Il intervient pour 5 % des synthèses de la cellule (quelque ARN et protéines).

Rôles de la mitochondrie (Luft et Landau, 1995 ; Treton, 1996 ; Petit et *al.*, 1997) :

- production d'ATP. Ces organites cytoplasmiques sont de véritables "centrales d'énergie". Elles permettent d'extraire par oxydation l'énergie contenue dans les liaisons chimiques des substances nutritives, à travers les réactions du cycle de Krebs et celles de la chaîne respiratoire. Cette énergie est alors emmagasinée dans les liaisons phosphates de molécules d'ATP.

- oxydation des acides cétoniques
- échanges avec le cytosol
- synthèse de constituants mitochondriaux



**Figure 12 : La Mitochondrie.**

*a. Schéma de l'organisation structurale et tableau détaillant la localisation et les fonctions des enzymes.*

*b. Mitochondrie en microscopie électronique. ME = membrane externe ; MI = membrane interne ; C = crêtes (Stevens et Lowe, 1997).*

## 7.2- Vieillesse mitochondriale

### 7.2.1- Généralités (morphologie, nombre ...)

En ce qui concerne le nombre des mitochondries, il n'y a pas de différences significatives entre cellules jeunes ou âgées (Lipetz et Cristofalo, 1972).

Par contre, les mitochondries des cellules vieillissantes changent de forme. Elles augmentent de volume et de surface.

Dans les cellules jeunes, elles sont allongées comme des bâtonnets. Dans les vieilles, elles sont rondes et plus larges.

L'image au microscope électronique de ces organites dans les cellules âgées révèle une profonde modification des systèmes lamellaires. Ce phénomène peut être à l'origine de perturbations de leur capacité à produire de l'énergie.

Les crêtes transversales et régulières des mitochondries des cellules jeunes sont moins fréquentes et on observe quelques crêtes tubulaires.

La matrice, dense et homogène des mitochondries des cellules jeunes, est légère, écumeuse et avec des vacuoles dans celles des cellules âgées.

On observe un déclin des enzymes clés (respiration, production d'énergie) La membrane mitochondriale subit aussi des modifications. La membrane interne semble devenir plus fragile et plus perméable. Les membranes des mitochondries de rats âgés contiennent une plus grande quantité de lipides peroxydés et moins d'AGPI entraînant une baisse de la fluidité membranaire.

Tout cela va se traduire par des altérations des échanges entre cytoplasme et mitochondries. Il s'en suit des modifications par exemple du métabolisme du glucose.

La plupart des pigments qui s'accumulent avec l'âge dérivent de mitochondries lésées (Miquel et al. , 1980).

### 7.2.2- Production de radicaux libres oxygénés

Les mitochondries des animaux âgés produisent plus d'espèces réactives de l'oxygène que celles des jeunes animaux. Cela a été prouvé pour les insectes et les mammifères (cf. Partie II, A, 4.3.3).

La production d'ions superoxyde est significativement plus importante dans les mitochondries de cerveaux de rats âgés que dans celles de jeunes rats (Benzi et Moretti, 1995).

### 7.2.3- Altérations de l'ADNmt et conséquences sur la chaîne respiratoire

- Il semble se produire une décroissance de la quantité totale d'ADNmt avec l'âge. La concentration en ARNm et ARNr mitochondriale diminue avec l'âge dans le cerveau de rats. On associe ce phénomène à une baisse de 50 % des taux de transcription.

Avec l'âge, on observe une extension dans les cellules somatiques de la taille des délétions et des mutations de l'ADNmt. Ces délétions s'accumulent dans le temps (Wei, 1992 ; Ozawa, 1993 ; Kadenbach et al., 1995). Ces délétions de l'ADNmt surviennent de manière relativement spécifique dans les muscles et dans les cellules nerveuses chez la personne âgée. Le niveau des délétions est plus important dans les cellules de grande taille et dans les cellules à fort métabolisme énergétique.

Corral-Debrinsky et al. (1992) et Soong et al. (1992) ont mis en évidence l'existence d'une délétion de 4977 pb dans l'ADNmt des cellules du système nerveux central qui augmente quantitativement avec l'âge.

Dans les cellules du myocarde, une délétion de 7436 paires de bases a été découverte et sa fréquence est relativement importante (3 à 9 % de l'ADN normal) chez les sujets de plus de 80 ans. De plus, on observe en parallèle une augmentation du taux de 8 hydroxydéoxyguanosine (8-OHdG).

Une délétion 5 kb dans l'ADNmt s'accumule avec l'âge dans le cerveau humain et les muscles squelettiques.

Dans le muscle cardiaque, les délétions de l'ADNmt, spécialement une délétion 3,6 kb, s'accumule après 35 ans, de même pour une délétion 3 kb dans le muscle squelettique.

Les maladies associées à des altérations de l'ADNmt progressent avec l'âge, et cette progression est associée à une hausse de la proportion de gènes délétés.

L'accumulation des délétions avec l'âge peut aussi être associée à une duplication de la région contrôle de l'ADNmt (boucle D). Ceci indique que les mécanismes de surveillance de la structure de l'ADNmt s'étiolent avec le temps (Arnheim et al., 1992 ; Lee et al., 1994 ; Richter, 1995 ; Wallace et al., 1995 ; Barreau et al., 1996).

- L'ADNmt code pour treize chaînes polypeptidiques hydrophobes de quatre complexes enzymatiques de la membrane interne mitochondriale impliqués dans la phosphorylation oxydative. Sept de ces treize chaînes sont des sous unités du complexe I (NADH CoenzQ réductase) de la chaîne respiratoire. La fréquence des mutations va donc affecter ces enzymes. Une baisse de l'activité du complexe I, et un peu du complexe IV (cytochrome oxydase) a en effet été démontrée dans les tissus animaux âgés et dans les biopsies d'individus âgés (muscles squelettiques et foie), alors que l'activité du complexe II et III reste stable.

On note que la plupart des sous unités des complexes I et IV sont codées par l'ADNmt alors que celles des complexes II sont exclusivement codées par l'ADN nucléaire.

Des expérimentations sur des membranes mitochondriales de plaquettes humaines ont montré que l'activité du complexe I ne change pas significativement avec l'âge. Par contre, on observe une baisse de sa sensibilité à un inhibiteur spécifique, la rotenone, de façon plus ou moins marquée avec l'âge.

Les sous unités hydrophobes du complexe I, codées par l'ADNmt, sont entre autre responsables de la sensibilité à la rotenone (et autres inhibiteurs). Elles sont essentielles pour le fonctionnement des enzymes et principalement pour le mécanisme de fixation du Coenzyme Q et de conservation de l'énergie à travers la translocation de protons. Donc, des mutations de l'ADNmt peuvent altérer l'expression de ces sous unités et mener à une diminution de la conservation de l'énergie. Elles n'empêchent pas le fonctionnement de la chaîne respiratoire : les mutations affectant la conservation de l'énergie dans le complexe I ne peuvent être létales pour les cellules, contrairement à une altération du transfert des électrons du complexe I qui pourrait mener à une perte d'activité de la chaîne respiratoire complète (Bittles, 1992 ; Pich et *al.*, 1996).

- La capacité de phosphorylation oxydative décline avec l'âge à cause de l'accumulation d'ADNmt défectueux, d'ADN nucléaire défectueux ou des deux. La peroxydation semble altérer aussi les cardiolipides qui jouent un rôle majeur en facilitant l'activité des enzymes clés dans la membrane interne des mitochondries.

Le contenu en cardiolipides diminue avec l'âge dans de nombreux tissus dont le coeur, le cerveau, le foie. Cela est accompagné par une diminution de l'activité de la cytochrome c oxydase.

Comme un signe du processus de vieillissement, le nombre de cytochrome oxydases inactives des fibres musculaires squelettiques et cardiaques augmente avec l'âge.

Des changements liés à l'âge concernant le taux d'ubiquinones ont été révélés dans plusieurs tissus.

La quantité des enzymes mitochondriales change aussi. Des études histochimiques ont révélé une augmentation avec l'âge du nombre de cellules manquant de cytochrome oxydase dans différents tissus (coeur, diaphragme, muscle,...).(Luft et Landau, 1995 ; Richter, 1995).

N.B : Les délétions sont rares dans les cellules à division rapide telles que les cellules du sang, les lymphocytes d'origine splénique...

La mise en évidence de ces délétions se fait par des techniques de PCR (polymerase chain reaction) (Richter, 1995).

On peut donc déjà dire que le vieillissement peut être associé à un déclin de la phosphorylation oxydative en dessous d'un certain seuil spécifique des organes et à des dommages de l'ADNmt. Une conséquence morphologique peut être l'augmentation avec l'âge des granules de lipofuscines (Luft et Landau, 1995 ; Richter, 1995).

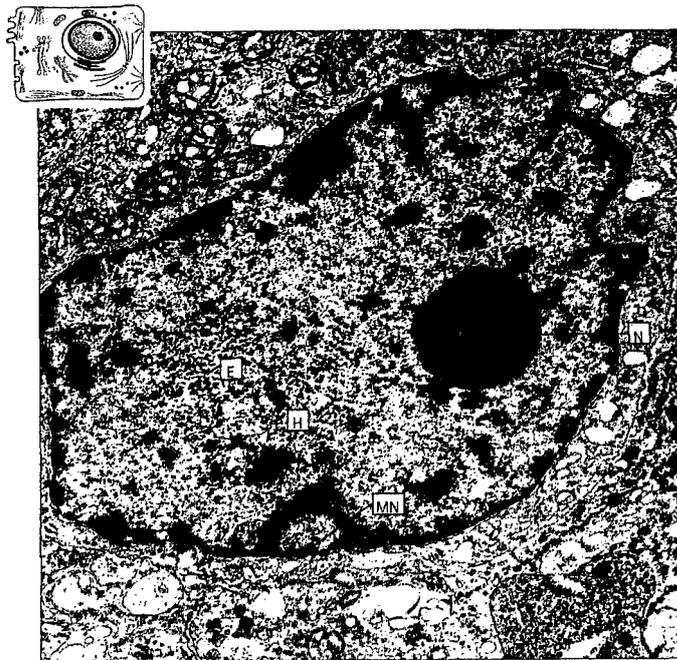
## 8- LE NOYAU

### 8.1- Description :

Les cellules eucaryotes sont caractérisées par la présence d'un noyau entouré par une enveloppe nucléaire (Figure 13).

Le noyau occupe le centre de la cellule. Il est rejeté parfois à la périphérie pour des raisons fonctionnelles (ex : dans les cellules musculaires). Il a une forme sphérique.

Le noyau contient la chromatine, les nucléoles et le nucléoplasme.(Petit et *al.*, 1997).



**Figure 13 : Le noyau en microscopie électronique.**

*MN = membrane nucléaire ; N = nucléole ; H = hétérochromatine (très colorée); E = euchromatine (claire).*(Stevens et Lowe, 1997).

## 8.2- Vieillesse nucléaire

### 8.2.1- Généralités (morphologie, contenu,...)

Mitsui et Schneider (1976) ont mis en évidence une augmentation de taille des noyaux de fibroblastes humains en fonction du nombre de passages *in vitro*.

Dans les cellules âgées, les noyaux sont fortement lobés et de forme irrégulière contrastant avec les formes plus arrondies des cellules jeunes (Lipetz et Cristofalo, 1972).

Ce pourrait être un mécanisme destiné à accroître la surface de la membrane nucléaire dans le but de maintenir un rapport nucléo-cytoplasmique optimal dans les cellules qui augmentent en taille avec l'âge.

La distribution de la chromatine dans les fibroblastes humains ne semble pas changer avec le nombre de passage.

Il y a une réduction avec l'âge de la quantité d'hétérochromatine adjacente au noyau. Par contre l'euchromatine prédomine dans les noyaux de cellules âgées, ce qui reflète une augmentation compensatoire de l'activité synthétique (les cellules à euchromatine abondante sont plus actives que celles à hétérochromatine).

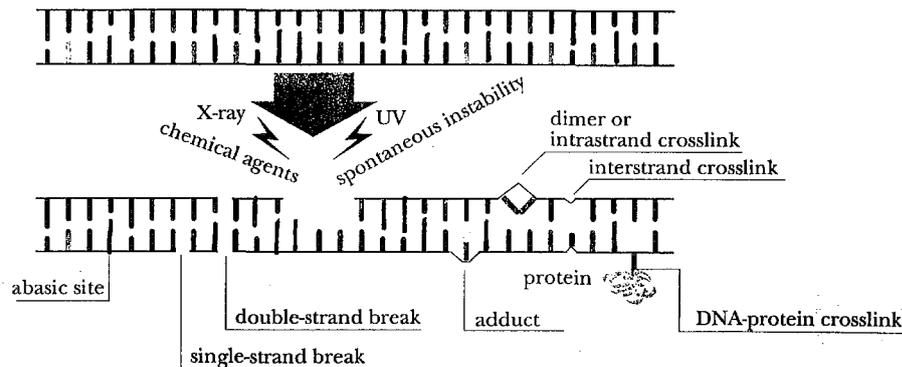
### 8.2.2- Polyplôidie

En même temps que la morphologie nucléaire se modifie, les noyaux deviennent énormes et polyplôides (nombre de chromosomes  $> 2n$ ). La majorité des cellules deviennent incapables de se diviser et meurent (Remacle, 1983). Des chercheurs ont essayé d'expliquer ce phénomène : il semblerait que les chromosomes se répliquent mais sans pouvoir se séparer à cause d'altérations des centrioles.

### 8.2.3- ADN nucléaire

#### a- *Mutations somatiques*

- On peut observer au niveau du matériel génétique, une augmentation des aberrations chromosomiques. Les lésions de l'ADN sont des modifications accidentelles ou provoquées qui aboutissent à une anomalie de la constitution physique ou chimique de l'ADN. Il peut s'agir d'altérations de bases (substitution, addition, perte, pontage...) ou de ruptures de chaînes (rupture simple brin ou double brin).



**Figure 14 : Différents types de dommages de l'ADN**  
(Vermeulen *et al.*, 1996)

Puisque le cerveau est bien protégé de l'environnement extérieur, les facteurs endogènes causant des dommages de l'ADN peuvent jouer un rôle plus important que les facteurs exogènes.

On répertorie trois sources majeures endogènes de dommages de l'ADN, résultant de processus métaboliques et de réactions non enzymatiques (Lindahl, 1993) :

- > hydrolyse de l'ADN (dépuration et désamination)
- > oxydation de l'ADN. Ex : lésion de base --> 8-OHdG
- > alkylation de l'ADN. Ex : lésion de base --> 7-méthyl guanine

De plus, les mutations de l'ADN peuvent être introduites par "infidélité" des ADN polymérase active durant le remplacement de brins ( ceci faisant partie du processus de réparation).

- Si les dommages de l'ADN contribuent au vieillissement cellulaire, on peut s'attendre à trouver une accumulation des lésions de l'ADN dans les cellules qui ont une longue durée de vie (comme les neurones), ou une division lente.

Les neurones sont un modèle unique pour étudier les dommages génétiques et leur réparation au cours du vieillissement. La majorité des neurones perdent leur capacité de division peu après la naissance, ce qui rend la durée de vie de ces cellules particulières du cerveau, similaire à la durée de vie de l'ensemble de l'organisme. Ainsi, on peut spéculer sur l'impact des altérations de l'ADN des cellules du cerveau pendant le vieillissement.

La plupart des études sur ces phénomènes dans le cerveau s'intéressent aux cassures simple brin. Certains résultats indiquent que ces dommages s'accumulent avec l'âge dans le cerveau, alors que d'autres ne rapportent aucun changement (Mullaart *et al.*, 1990 ; Bernstein et Bernstein, 1991; Subbo Gao et Loeb, 1992).

Une augmentation dans le cerveau de souris de la quantité de 7-méthyl guanine relative à l'âge a été rapportée (Tan *et al.*, 1990).

- Alors que la plupart des altérations de l'ADN sont réparées, certaines s'accumulent.

Par exemple, on observe sur des lymphocytes humains une perte de chromosomes au cours du temps.

Ou encore, plusieurs scientifiques ont prouvé l'augmentation avec l'âge de la fréquence des mutations au niveau de différents locus .

Ce phénomène d'accumulation se répercute sur la transcription de l'ARN. Il s'en suit une diminution de la synthèse de la plupart des protéines avec l'âge (Bernstein,1991).

La réparation est donc essentielle pour maintenir les fonctions et les activités cellulaires.

Contrairement à la réplication de l'ADN, la réparation de l'ADN n'est pas complètement arrêtée dans les neurones. En général, les dommages de l'ADN peuvent être réparés par l'excision d'un nucléotide ou d'une base.

Le cerveau contient un nombre important d'enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN (ADN polymérases).

Jusqu'à ce jour, il n'y a pas d'évidence en ce qui concerne un changement de l'activité de réparation de l'ADN dans le cerveau avec l'âge. Quelques études à ce sujet montrent un déclin de la réparation de cassures "simple brin" spontanées.

L'accumulation de dommages de l'ADN dans les neurones pourrait être une conséquence du déclin de l'activité de réparation ou d'un manque de fidélité totale de la machinerie de réparation (cf. Partie II, B, 3).(Holmes et *al.*, 1992 ; Barnett et King, 1995 ; Bohr et Anson, 1995 ; Evans et *al.*, 1995).

#### b- Télomères

Ils sont constitués d'une séquence unique répétitive de six nucléotides (TTAGGG/CCCTAA) à l'extrémité des chromosomes. Cette séquence est nécessaire pour la réplication, et primordiale pour la stabilité des chromosomes.

Or des études ont révélé que les télomères ont tendance à raccourcir à chaque cycle de division cellulaire, (Harley et *al.*,1990 ; Hastie et *al.*, 1990 ; Kim et *al.*, 1995) cette dernière cessant au-delà d'un certain degré de raccourcissement

Dans les fibroblastes, les télomères sont plus courts chez un sujet âgé que chez un sujet jeune, et, plus court également chez un sujet atteint du syndrome de Werner que chez un sujet sain (Kruk et *al.*, 1995).

Dans les systèmes embryonnaires, ces raccourcissements sont compensés par la synthèse de novo d'ADN télomérique via une télomérase. Cette enzyme a une activité qui évolue avec l'âge. Ceci pourrait être une explication à l'altération des télomères dans le temps (cf. Partie II, B.7).

## 9-LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

### 9.1- Description

Organite en forme de lames ou de vésicules. Membrane intracellulaire en continuité avec la membrane nucléaire (Figure 15).

Elle permet d'augmenter la surface d'échanges.

On distingue :

. le réticulum endoplasmique rugueux (RER), lié à des ribosomes.

Il intervient dans la synthèse de certaines protéines de membranes ou d'organites et de protéines sécrétées par la cellule.

. le réticulum endoplasmique lisse (REL), qui constitue un lieu de synthèse et de catabolisme des acides gras et des phospholipides (Petit et *al.*, 1997).

### 9.2- Vieillessement du réticulum endoplasmique

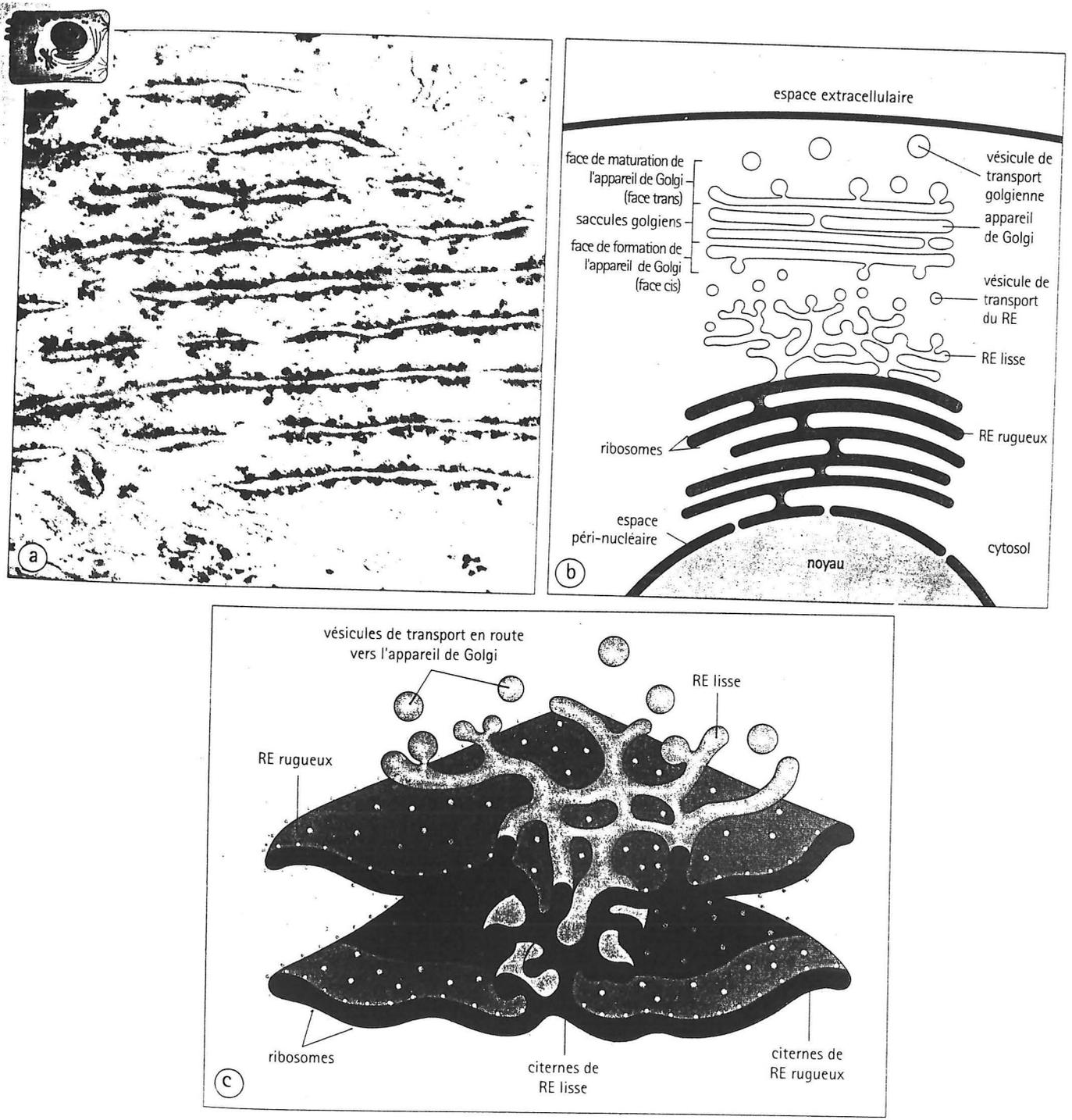
Des données contradictoires existent sur ce sujet.

Les études biochimiques ne montrent que peu de modifications de ces organites avec l'âge.

Les cellules jeunes contiennent un RE renflé, rempli de substances amorphes, dense aux électrons. Le RE est alors essentiellement rugueux.

Avec l'âge, les cavités du RE paraissent progressivement de moins en moins larges et du RE lisse commence à apparaître.

Dans les cellules âgées, le RE est beaucoup plus étroit et moins rempli. De plus, le RE lisse est en quantité beaucoup plus importante que le RER (ceci aurait peut être un rôle dans l'autophagie : le REL interviendrait dans la séquestration de composants cytoplasmiques avant la digestion). Ces modifications pourraient expliquer une baisse de la capacité de synthèse de protéines avec l'âge (Timiras, 1997).



**Figure 15 : Réticulum endoplasmique (= RE)**

*a. Réticulum endoplasmique rugueux en microscopie électronique composé de sacs membranaires parsemés de ribosomes sur la face cytosolique.*

*b. Rapports entre RE et appareil de Golgi. La lumière du RER est en continuité avec l'espace périnucléaire et la lumière du REL, tandis que l'appareil de Golgi constitue un système de membranes séparé. La communication entre le RE et l'appareil de Golgi est assurée par de petites vésicules du RE qui s'en séparent, se déplacent dans le cytosol et fusionnent avec les membranes golgiennes.*

*c. Rapports spatiaux entre le RER et le REL (Stevens et Lowe, 1997).*

## **10- L'APPAREIL DE GOLGI**

### **10.1- Description**

Ces organites sont caractéristiques des cellules eucaryotes ; formés d'un grand nombre de vésicules. Une partie de ces vésicules sont longues, aplaties et courbes. Elles sont associées à de plus petites vésicules, formant ainsi un dictyosome (Figure 16).

Ces dictyosomes sont répartis près du noyau.

A une extrémité des dictyosomes on trouve des vésicules de transition venant du réticulum endoplasmique, et à l'autre un grand nombre de vésicules de sécrétion.

L'appareil de Golgi est très riche en enzymes (ex. : glycosyl transférase, triphosphatase, phosphonucléotidase, arylsulfatase, peroxydase...).

Il intervient dans le remaniement des protéines synthétisées au niveau du RE (ex.: glycosylation) et dans le tri de macromolécules (fixation de marqueurs sur ces molécules).

Il a un grand rôle dans la production de protéines qui seront sécrétées par la cellule et dans la fabrication des membranes.

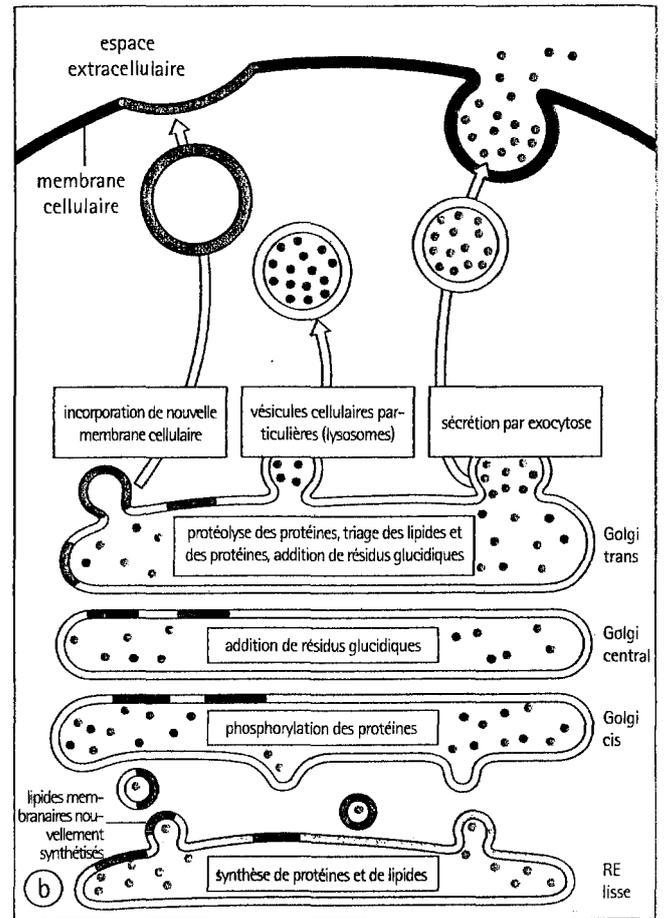
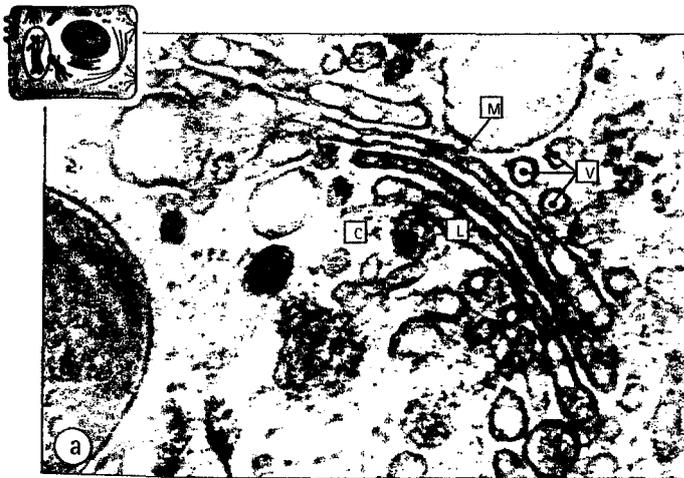
Il participe au processus d'exocytose (Hamarsy, 1986 ; Petit et al., 1997).

### **10.2- Vieillesse Golgienne**

Le volume de ces organites augmente dans les cellules vieillissantes du rat.

Dans les cellules jeunes, ils sont peu apparents alors qu'ils sont beaucoup plus développés, avec des saccules dilatés et entourés de nombreuses vésicules golgiennes dans les vieilles cellules (Timiras, 1997).

Peu d'informations existent quant au vieillissement de ces organites et des conséquences de ce phénomène. Un déclin de leur fonctionnement conduirait certainement à la production de protéines défectueuses.



**Figure 16 : Appareil de Golgi**

*a. Au microscope électronique, l'appareil apparaît sous forme de citernes aplaties limitées par des membranes (M), séparant la lumière (L) de l'appareil de Golgi du cytosol (C). On peut voir des vésicules de transfert (V) en provenance du RE se dirigeant vers l'appareil de Golgi.*

*b. L'appareil de Golgi a trois parties fonctionnelles : la face regardant le noyau, face cis, reçoit les vésicules de transfert venant du RE lisse et phosphoryle certaines protéines ; la partie centrale du Golgi ajoute des résidus glucidiques aux lipides et aux peptides pour former des oligosaccharides complexes ; le réseau trans du Golgi effectue des étapes protéolytiques, ajoute des résidus glucidiques et répartit diverses macromolécules dans des vésicules spécifiques qui quittent la face trans par bourgeonnement. Le triage est effectué par des récepteurs protéiques membranaires spécifiques qui reconnaissent les groupes signaux des molécules et les dirigent dans les vésicules appropriées. Les lipides de la membrane nouvellement synthétisés dans le RE lisse cheminent dans la cellule via l'appareil de Golgi (Stevens et Lowe, 1997).*

## 11- LYSOSOMES

### 11.1- Description

Ce sont des organites caractéristiques des cellules eucaryotes.

Ils sont formés à partir de l'appareil de Golgi.

Ce sont des corps sphériques entourés d'une membrane, situés dans le cytoplasme.

On différencie les vésicules golgiennes qui contiennent uniquement des enzymes lytiques, des lysosomes qui viennent de la fusion d'une vésicule golgienne et d'une autre vésicule (ex. : hétérophagosome = vésicule golgienne + vésicule avec des éléments extracellulaires ; autophagosome = vésicule golgienne + vésicule avec éléments intracellulaires).

Rôle des lysosomes :

Ces vésicules contiennent un ensemble d'enzymes hydrolytiques de digestion de matériaux intra et extracellulaires. Parmi elles, les hydrolases acides qui permettent l'hydrolyse de polymères protéiques, glucidiques et lipidiques.

Ces organites ont donc un rôle de digestion (hétérophagie si produits d'origine exogène et autophagie si produits d'origine cellulaire).

Les enzymes lysosomiales peuvent être sécrétées à l'extérieur de la cellule.

Ils interviennent donc dans la défense (nettoyage) de l'organisme, le renouvellement des structures cellulaires, et dans certaines synthèses ( hormones T4 et T3).

L'autophagie est impliquée essentiellement dans le renouvellement des constituants cellulaires, et la régulation des taux d'hormones.

La digestion extracellulaire joue un rôle important dans le remaniement tissulaire de l'os (Petit *et al.*, 1997).

### 11.2- Vieillesse lysosomial

#### 11.2.1- Généralités

Dans les cellules âgées, on observe une augmentation significative du nombre de lysosomes par rapport aux cellules jeunes.

Des études menées par Robbins *et al.* (1970), ont permis de mettre en évidence des changements avec l'âge des lysosomes dans des fibroblastes de peau d'embryon humain en culture :

. Après le 6ème passage, certains lysosomes montrent une accumulation périphérique de matériel dense aux électrons et une augmentation significative de taille.

. A partir du 15ème passage, le nombre de lysosomes s'élève de façon marquée.

. A partir du 22<sup>ème</sup> passage, des corps résiduels dégénérescents occupent très largement le cytoplasme de la plupart des cellules. Ces corps résiduels sont en fait dus à des lysosomes qui ne parviennent pas à dégrader entièrement les substances qu'ils contiennent.

La cause provient entre autre d'un déficit en lipase entraînant l'accumulation de graisses (Ex : dans les cellules nerveuses : les corps de myéline), menant à un encombrement cellulaire.

Le processus de digestion intracellulaire semble donc souffrir dans les cellules âgées et de ce fait entraîne l'accumulation de déchets.

Les mêmes transformations lysosomiales ont été observées sur l'ensemble des cellules humaines diploïdes.

Hoschild (1971) avait proposé une hypothèse de mécanisme de dégénérescence cellulaire : l'activité lysosomiale croissante avec l'âge amènerait à un engorgement de lysosomes et à une fuite des enzymes lysosomiales dans le cytoplasme. Ces enzymes endommageraient l'ADN et d'autres structures.

#### 11.2.2- Enzymes lysosomiales

- L'activité de la phosphatase acide et de la bêta glucuronidase est significativement plus élevée dans les cellules âgées WI-38 que dans les cellules jeunes (Cristofalo, 1972).

De même, ces modifications d'activité sont observées lorsqu'on compare des cellules dérivant de poumons d'homme adulte et des cellules dérivant de poumon foetal.

D'autres expérimentations ont prouvé que la plus grande proportion de l'activité de ces deux enzymes se situe dans la fraction lysosomiale et que l'activité croissante est en partie attribuée à une hausse de la mobilité des enzymes lysosomiales (Cristofalo et *al.*, 1967).

- Changements liés à l'âge dans l'activité des cathepsines B, L et D :

Les cathepsines B, L et D sont trois protéinases lysosomiales typiques qui sont retrouvées dans de nombreux types de cellules de mammifères incluant les cellules neuronales. On étudie leur localisation et leur activité avec l'âge dans les ganglions trigéminaux du rat par immunohistochimie et analyses quantitatives.

Chez le rat jeune, ces enzymes sont largement et régulièrement distribuées à travers le cytoplasme comme de grossières granules.

Chez le rat âgé, elles sont localisées au niveau de sites cytoplasmiques précis des neurones comme de grossiers agrégats.

La distribution cellulaire des trois cathepsines chez le rat âgé correspond à celle des lipofuscines.

Au microscope électronique, on a pu prouver que la redistribution de ces enzymes avec l'âge est due à leur importante accumulation dans les autolysosomes.

Le taux de cathepsines B et L déterminé par la mesure de leur activité chez les rats jeunes est respectivement de 1,8 et 1,7 fois plus élevé que celui de rats âgés (pour la cathepsine D, aucune différence significative n'a été observée).

Ces études démontrent que les systèmes lysosomiaux sont altérés avec l'âge dans les neurones des ganglions du nerf trijumeau.

Récemment, on a établi une relation significative entre le désordre, la destruction de ces systèmes et les maladies dégénératives comme la maladie d'Alzheimer (Amano et *al.*, 1995 ; Cataldo et *al.*, 1996).

## 12- LES PEROXYSOMES

### 12.1- Description

Ils sont présents chez les cellules eucaryotes .

Ce sont de petits corpuscules sphériques.

Leur diamètre est variable selon le type cellulaire (de 0,2 à 1,7  $\mu\text{m}$ ).

Ils sont parfois dispersés ou parfois accolés (globuline) aux mitochondries et aux vésicules du RE.

Leur matrice contient une cinquantaine d'enzymes.

Ces organites sont spécialisés dans le métabolisme de l'oxygène et l'oxydation de substrats (ac. urique, acides aminés, ...).

Ces organites ont un rôle dans la dégradation des purines des acides nucléiques et, dans la dégradation des lipides (AGTLC) qui aboutit à la synthèse d'acétyl CoA et de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Béta-oxydation). Ce peroxyde d'hydrogène est détruit dans les peroxysomes grâce à la présence de catalases (Perichon et Bourre, 1996 ; Petit et *al.*, 1997).

### 12.2- Vieillessement peroxysomal

L'activité de certaines enzymes peroxysomales (en particulier : les enzymes intervenant dans la synthèse de 22:6 (n-3), l'acylCoA oxydase et les catalases) est altérée avec l'âge, entraînant des conséquences principalement sur la composition en AGPI et donc sur les membranes (cf. Partie I, 5.2.2). (Cristofalo, 1972 ; Timiras, 1997).

## 13- COMMUNICATION ENTRE LES CELLULES

### 13.1- Récepteurs

Des études ont été menées sur la composition en phospholipides de la membrane des cellules cardiaques de rats et la stimulation de leurs récepteurs alpha1 et bêta adrénergiques.

Des expérimentations sur des récepteurs adrénergiques de membranes reconstituées ont prouvé que la composition en lipides de la membrane est importante pour l'intégrité structurale à la fois des récepteurs alpha1 et bêta adrénergiques (Schreeve et Valliere, 1992).

-> Des altérations de la composition en acides gras des principaux phospholipides du muscle cardiaque de rat, la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine, ont été observées durant le vieillissement.

Des altérations avec l'âge de la réponse cardiovasculaire aux agonistes alpha1 et bêta adrénergiques ont été rapportées (Bunag et Teravainen, 1991).

-> D'autre part, lors d'études précédentes, les altérations relatives à l'âge des liaisons caractéristiques des récepteurs adrénergiques, de la densité des sites de fixation et de l'affinité des agonistes ou antagonistes de ces récepteurs ont été comparées (Kimball et al. , 1991).

Il s'avère que l'environnement lipidique des récepteurs adrénergiques alpha 1 et bêta est important pour l'intégrité structurale et le fonctionnement de ces protéines et peut jouer un rôle dans leur réponse aux agonistes adrénergiques.

D'après les résultats, des altérations profondes dans la composition en AGPI des phospholipides coïncident avec la "dérégulation" des récepteurs adrénergiques au cours du vieillissement. La quantité d'acide linoléique (18:2(n-6)) dans la phosphatidylcholine est diminuée. L'acide arachidonique (20:4(n-6)) augmente dans la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine (Benediktsdottir et al., 1995).

Des travaux récents ont mis en évidence qu'un défaut au niveau des récepteurs adrénergiques de myocytes cardiaques isolées de rats vieillissants peut être responsable de la détérioration de la réponse norépinéphrique qui se produit avec l'âge (Sakai et al. , 1991).

-> D'autres études rapportent une diminution de l'affinité des antagonistes bêta adrénergiques avec l'âge chez le rat et une diminution de l'affinité des agonistes .

-> La composition en acides gras peut être modifiée par une diète en ces composés et par des facteurs tels que l'activité des désaturases, la retroconversion peroxyssomale, le taux de turn-over, le transport et l'incorporation dans les phospholipides. La régulation de ces facteurs peut changer pendant le vieillissement (Manionqui et al. , 1993).

-> Des recherches suggèrent l'existence d'une réponse anormale à des stimuli extérieurs tels que certains facteurs de croissance des cellules en fin de vie répliative. Ces anomalies ont été attribuées à une réduction des sites de liaison, certainement secondaire à des anomalies de la membrane plasmique. Ex : la fibronectine est une glycoprotéine associée aux membranes. Elle est moins abondante dans les cultures sénescentes de tissu pulmonaire foetal.

-> De plus, chez les individus âgés et chez les sujets atteints du syndrome de Down, la capacité de formation de complexes récepteurs-ligands semble réduite.

-> La régulation de plusieurs réponses physiologiques et comportementales sont altérées au cours du vieillissement. La plupart de ces réponses sont sous contrôle d'hormones ou de neurotransmetteurs. Différentes études ont prouvé des changements dans les sécrétions neuroendocrines : celles-ci augmenteraient avec l'âge (Roth, 1995).

Bien que dans certains cas la réaction des tissus cibles ne soit pas modifiée ou alors augmente avec l'âge, la majorité des résultats publiés rapportent une baisse de la réponse maximale ou de la sensibilité aux diverses hormones et neurotransmetteurs. Généralement, ces agents initient leur action en se liant à des récepteurs spécifiques (la plupart sont membranaires).

Les changements au niveau des réactions tissulaires aux hormones ou neurotransmetteurs peuvent être considérés essentiellement comme une conséquence d'altérations des récepteurs ou de leur nombre, ou à des variations de leur affinité.

Deux exemples :

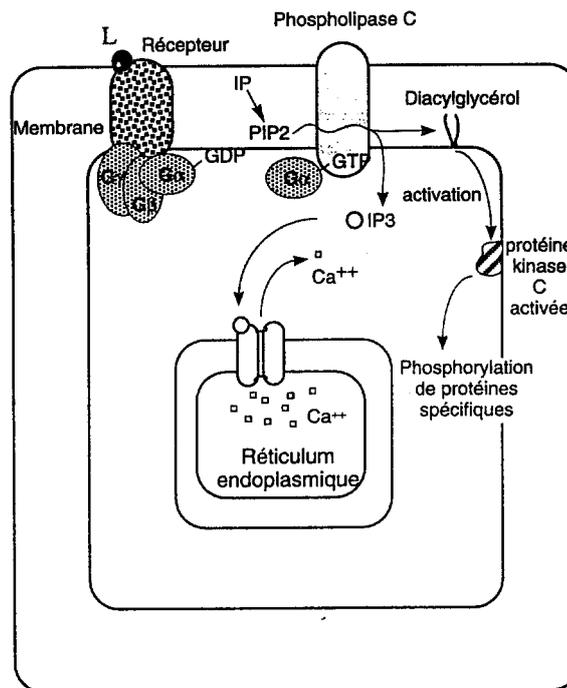
- La voie striée dopaminergique : elle régule la fonction motrice. Elle se détériore avec l'âge essentiellement à cause de la perte de récepteurs. Ce phénomène est du à la fois à la mort de certains neurones contenant des récepteurs et à la diminution d'expression des gènes des récepteurs dans les neurones survivants.

- La réduction de sécrétion en IP3 et de la sécrétion de Ca n'est pas due principalement à la perte de récepteurs alpha1 adrénergiques ou muscariniques, mais plutôt à la détérioration du mécanisme de couplage / découplage des récepteurs et des protéines G avec l'âge. Ceci s'accompagne d'une baisse de GTP, d'une activité réduite de la GTPase et du passage des formes de récepteurs de haute à faible affinité (Roth, 1995).

## 13.2- Homéostasie calcique

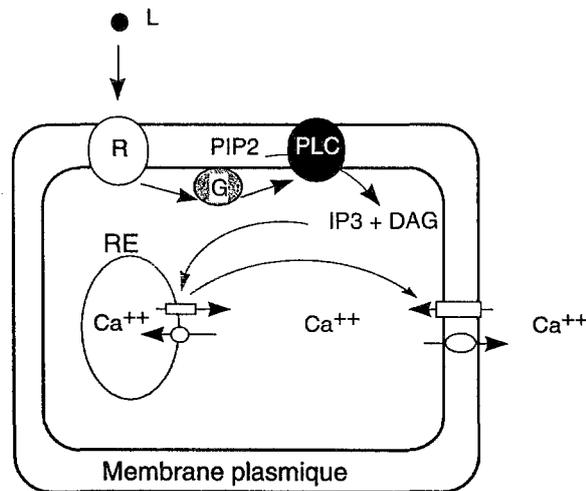
- La communication entre les cellules, proches ou éloignées, est essentielle et indispensable pour assurer leur bon fonctionnement et la capacité d'adaptation de l'organisme. Cette communication se fait par l'envoi de messages d'une cellule à l'autre, qui modifient leur comportement. Cela implique l'aptitude de la cellule à recevoir le message au travers de récepteurs adéquats, spécifiquement adaptés. Certains de ces récepteurs se trouvent ancrés dans la membrane cellulaire, d'autres à l'intérieur de la cellule. Tous possèdent seulement quelques voies communes pour faire passer ensuite le message de l'extérieur de la cellule vers le noyau (centre de décision de la cellule). Ces quelques voies ont en commun la production d'une brusque variation de la quantité de Ca à l'état libre dans la cellule (Figures 17 et 18).

L'intérieur de la cellule est pauvre en Ca par rapport au milieu extracellulaire. Pratiquement toute action ou modification d'état cellulaire est précédée par une brusque augmentation du taux de Ca libre intracellulaire. Celle-ci résulte de l'ouverture de canaux calciques dans la membrane cellulaire, permettant l'afflux de Ca vers l'intérieur, et, aussi de la libération des réserves intracellulaires.



**Figure 17 : Transduction d'un signal via la phospholipase**

Certains récepteurs activés par la liaison du ligand (L) stimulent, via des protéines G, l'activité de la phospholipase C. Celle-ci transforme l'inositol 4,5-biphosphate (PIP2) en inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) et diacyl glycérol. Ce dernier active une famille de protéines, les protéines kinases C, responsables de la phosphorylation d'autres protéines. L'IP3 se fixe à son récepteur dans la membrane du réticulum endoplasmique et provoque la libération du calcium. Celui-ci, en forte concentration dans le cytosol, modifie l'activité de nombreuses enzymes (Petit et al., 1997).



**Figure 18 : Augmentation de la concentration cytosolique du calcium suite à une activation de la phospholipase C.**

*La libération dans le cytoplasme du calcium stocké dans le RE et dans la mitochondrie provoque à son tour une entrée de calcium dans la cellule par des canaux de la membrane plasmique. On parle de "calcium capacitif" pour qualifier ce phénomène (Petit et al., 1997).*

Par la suite, il est essentiel pour la cellule de retrouver très rapidement son taux originel de calcium libre, faute de quoi sa survie est menacée. La hausse brutale et soutenue de la teneur en Ca libre peut déclencher le "suicide programmé" de la cellule : l'apoptose. Ce phénomène pourrait être impliqué dans la perte des neurones ou d'autres cellules de l'organisme vieillissant.

Des études ont permis l'observation de ce phénomène au niveau des globules blancs du sang circulant. L'activation de récepteurs à l'élastine, situés sur ces cellules, provoque une augmentation du Ca libre intracellulaire.

Chez des sujets âgés, on constate que la vitesse à laquelle s'effectue la régulation du Ca libre intracellulaire est beaucoup plus lente que pour des sujets jeunes.

En fait, l'ouverture des canaux calciques est assurée mais pas le retour à la valeur normale du taux de Ca.

La nature exacte de cette perte d'homéostasie calcique n'est pas connue avec précision. Toutefois le "découplage" similaire d'autres récepteurs a été signalé, ce qui suppose probablement qu'il s'agit d'un mécanisme général lié au vieillissement. (Parmi les causes de ce "découplage", les modifications membranaires ou encore les modifications du génome sont les plus probables).

De plus, le rôle de ces récepteurs étant d'assurer la bonne intégration fonctionnelle des cellules dans la matrice extra-cellulaire, (en particulier au contact des fibres d'élastine ou des lames basales), leur "découplage" coupe en quelque sorte la cellule de son environnement (Ladislav, 1995).

- Interaction matrice extra-cellulaire (MEC) / cellules :

La MEC interagit avec les cellules qui la produisent par l'intermédiaire de récepteurs (intégrines, récepteurs de l'élastine ...) et peut ainsi influencer la cellule et le déroulement de son programme de synthèse.

Or les produits de dégradation de la matrice, qui s'accumulent avec l'âge, interagissent aussi avec ces récepteurs (Figure 19). Par exemple, des peptides d'élastine peuvent provoquer une augmentation de la concentration en  $Ca^{++}$  libre intracellulaire (Ladislas, 1995).

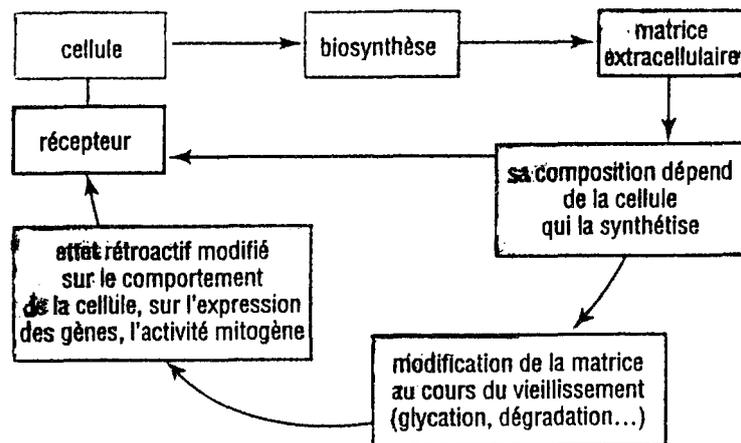


Figure 19 : Le circuit cellules - matrice extracellulaire.

La cellule met en route son "programme" de synthèse des composants de la matrice, qui s'autostructurent autour des cellules pour former les tissus. La matrice contacte à son tour les cellules qui la produisent par l'intermédiaire de récepteurs (intégrines, récepteurs de l'élastine-laminine, etc) et peut ainsi influencer la cellule et le déroulement de son programme de synthèse. Par ailleurs, des produits de dégradation de la matrice, qui s'accumulent avec l'âge, interagissent aussi avec les récepteurs et peuvent induire des cercles vicieux, intensifiant la dégradation de la matrice ou déviant le programme de synthèse de son déroulement normal (Ladislas, 1995).

## 14- L'APOPTOSE

La mort cellulaire par apoptose ou, mort cellulaire programmée, est, en opposition à la mort cellulaire par nécrose, un mécanisme de protection par élimination sélective de certaines cellules. Il s'agit de cellules endommagées, devenues inutiles, voire dangereuses pour l'organisme : les cellules sénescents, préneoplasiques, superflues, qui pourraient affecter le fonctionnement normal de l'organisme et/ou promouvoir les transformations cellulaires. Les corps apoptotiques formés attirent les macrophages qui ingurgitent et détruisent leur cadavre.

L'apoptose est un phénomène normal de la différenciation et de la maturation des organismes, le nombre de divisions de chaque type cellulaire étant étroitement fixé .

C'est un processus clé chez l'embryon chez qui il permet d'éliminer les cellules excédentaires (Ex. : permet la formation des doigts par l'élimination des cellules des membranes embryonnaires interdigitales).

Dans le thymus, l'apoptose intervient dans la destruction des lymphocytes T reconnaissant le *soi* (évitant ainsi les réactions auto-immunes).

L'induction de l'apoptose est un des moyens de protéger l'organisme contre les cellules ayant des comportements anarchiques ou contenant de l'ADN endommagé (ce type de cellules apparaît au cours du vieillissement), et donc contre le risque de développer des maladies dégénératives ou des cancers. L'apoptose joue un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité du génome par élimination sélective de cellules hautement mutées (Cherbonnel-Lasserre et Dosanjh, 1997 ; James et *al.*, 1998 ; Lodish et *al.*, 1997 ).

Le maintien de l'homéostasie du nombre de cellules dans les tissus reflète un équilibre entre le taux de prolifération cellulaire et le taux de mort cellulaire. Dans des conditions pathologiques, telles que l'exposition à des agents cytotoxiques ou génotoxiques, il se produit un déséquilibre de ces taux (James et *al.*, 1998).

L'apoptose est régulée par de nombreux signaux.

- Le gène *bcl-2*, qui exprime la protéine *bcl-2*, va à l'encontre de ce processus. Il permet de prévenir la destruction de cellules indispensables. Mais, une expression inattendue de ce gène entraîne la prolifération de cellules normalement appelées à disparaître (Lodish et *al.*, 1997).

Il en est de même pour le gène *bcl-xL* qui exprime la protéine *bcl-xL*.

La surexpression des gènes *bcl-2* et *bcl-xL* favorise l'augmentation de la mutagénèse suite à un stress oxydatif dans les cellules (Cherbonnel-Lasserre et Dosanjh, 1997).

- Le gène *bax* régule l'apoptose. L'expression de la protéine *bax* est beaucoup plus importante dans les cellules âgées que dans les cellules jeunes. L'activation de ce gène interviendrait, d'après certaines études, dans la mort neuronale associée au développement et au vieillissement du système nerveux central (Obonai et *al.*, 1998). Dans la maladie d'Alzheimer, on pense que l'apoptose pourrait participer à la cascade de réactions conduisant à la dégénérescence des neurones (Luquin et *al.*, 1997).

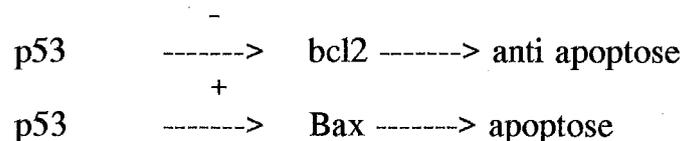
- Les caspases sont des constituants essentiels de ce processus. Leur activation initie l'apoptose. Il en existe plusieurs, et elles ont chacune des rôles spécifiques (Sanghavi et al., 1998 ; Woo et al., 1998).

- On retient que, dans les lymphocytes, les gènes fas/fasL1 et bax déclenchent l'apoptose, alors que les gènes bcl-2 et bcl-xL l'inhibent (Aggarwal et Gupta, 1998).

- Les gènes p105B et p53 interviennent dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la sénescence et de l'apoptose. L'inhibition simultanée de leur expression entraîne la prolifération des cellules sans apoptose (Bennett et al., 1998) Il est bien établi que le gène p53 est très souvent muté dans de nombreux types de cancers, entraînant une inactivation ou une dérégulation du phénomène d'apoptose.

Au cours du vieillissement, l'apparition spontanée de cancers pourrait aussi être facilitée par des mutations au niveau de gènes régulateurs de l'apoptose.

Les différents gènes de régulation ont des interactions les uns sur les autres. Par exemple :



Le gène p53 a un rôle important dans la régulation de ce processus en réprimant le gène bcl2 ou en activant le gène Bax.

## CONCLUSION

Avec le temps, les cellules mitotiques perdent leur capacité de prolifération. Des altérations morphologiques et fonctionnelles sont observables au niveau des cellules et se manifestent petit à petit, avant qu'elles ne perdent totalement leur pouvoir mitotique, puis disparaissent par apoptose.

Les faits évoqués jusqu'ici constituent des conséquences du vieillissement au niveau cellulaire. De nombreuses recherches depuis plusieurs années tentent de découvrir le ou les mécanismes à l'origine de l'apparition de ces modifications relatives à l'âge, ou du moins d'établir un lien de cause à effet entre ces différents phénomènes. Ainsi, plusieurs gérontologues ont établi des théories concernant le processus de vieillissement cellulaire.

## **PARTIE II**

### **Les théories du mécanisme de vieillissement cellulaire**

Deux grandes classes de théories du vieillissement, qui d'ailleurs ne sont pas exclusives l'une de l'autre, ont été développées par les gérontologues jusqu'ici.

D'une part les théories dites "stochastiques", c'est à dire pour lesquelles le vieillissement est un mécanisme d'accumulation aléatoire, au cours du temps, d'altérations moléculaires et cellulaires. D'autre part, les théories déterministes qui mettent en cause une programmation du vieillissement inscrit dans le génome.

Chacune des théories proposées est soutenue par un certain nombre de données expérimentales et contredite par d'autres.

La plupart de ces hypothèses ne sont pas mutuellement exclusives. Certaines peuvent se concevoir simultanément.

Les manifestations des changements biologiques au cours du temps affectent tous les composants du système vivant, de la molécule jusqu'à l'ensemble de l'organisme. L'observation de ces changements a permis de construire des théories sur les événements qui ont lieu au cours du temps au niveau des molécules, des organites, de la cellule, des tissus, des organes et de l'ensemble de l'animal.

Il est important d'explorer une à une les théories existantes afin de mieux comprendre les processus individuels pouvant être à la base du phénomène global du vieillissement.

## A-THÉORIE RADICALAIRE

La théorie radicalaire du vieillissement a été initialement proposée par Harman en 1956.

Elle fait partie à la fois des théories déterministes (vieillissement programmé) et stochastique (vieillissement du à une succession d'erreurs au niveau biochimique, se produisant au hasard).

Elle repose sur l'hypothèse selon laquelle les organismes aérobies feraient l'objet d'un déséquilibre croissant avec le temps entre la production et la destruction des radicaux libres.

Dans l'organisme, les radicaux libres sont produits à différents niveaux au cours du métabolisme cellulaire ; des systèmes antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques) permettent de maintenir un équilibre redox dans la cellule et de réduire considérablement le risque de dégâts oxydatifs qui pourraient être engendrés par ces composés très réactifs. S'ils échappent à ces systèmes, ou si ces systèmes sont "débordés", les radicaux libres interagissent avec les constituants cellulaires (macromolécules : ADN, protéines, lipides) et les altèrent. Il se produit des réactions de toxicité en chaîne.

Ainsi le vieillissement d'un tissu ou d'un organe résulterait, d'après Harman, d'une surproduction locale de radicaux libres et de leurs dérivés toxiques, par diminution du niveau de protection avec l'âge.

Ou encore, si l'on considère que le niveau de production des radicaux libres et des systèmes antioxydants de défense restent à peu près stables avec le temps, le vieillissement découlerait des lésions cellulaires irréversibles induites par les radicaux libres. Ces lésions en s'accumulant au cours du temps entraîneraient en effet des dysfonctionnements des structures biologiques.

Le rôle des radicaux libres en pathologie et en toxicologie est à ce jour bien établi. En particulier : dans l'athérosclérose, dans le syndrome d'ischémie reperfusion, dans les phénomènes inflammatoires, dans les intoxications par des xénobiotiques, ou encore l'exposition aux radiations ionisantes (Zeni, 1986 ; Chaudière, 1995).

# 1- ORIGINE DES RADICAUX LIBRES

## 1.1- Historique

La première démonstration de l'existence chimique des radicaux libres a été faite avec la mise en évidence du radical  $\text{NO}^\circ$  en 1845.

Les réactions de Fenton, découvertes en 1894, sont actuellement considérées comme l'un des mécanismes les plus importants des dommages oxydatifs dans la cellule vivante.

Quarante ans plus tard, on met en évidence la toxicité du peroxyde d'hydrogène du fait de cette réaction.

En 1946, Michaelis émet l'idée que les radicaux libres sont des intermédiaires obligatoires dans le métabolisme cellulaire.

Et petit à petit, le concept de stress oxydatif dans les organismes aérobies apparaît avec la découverte des systèmes de protections antioxydantes (En 1969, Mc Cord et Fridovitch découvrent la superoxyde dismutase) (Chaudière, 1994).

## 1.2- Définition des radicaux libres

On a tendance à assimiler aux radicaux libres : le radical hydroxyle ( $\text{HO}^\circ$ ), l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\circ-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ). En fait, l'ensemble de ces composés forment les espèces réactives de l'oxygène. Seuls les deux premiers sont véritablement des radicaux libres.

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent se former :

-soit par gain d'énergie :  
irradiations, UV en montagne...

Ex. : l'oxygène singulet,  $^1\text{O}_2$

-soit par gain d'électron :

De ce fait, des atomes et des molécules se retrouvent de façon transitoire avec un électron non apparié sur leur orbitale externe, c'est à dire dans un état instable (en effet pour être stable un atome ou une molécule doit posséder autant d'électrons que de charges positives présentes dans le noyau). Ces espèces chimiques très réactives constituent les radicaux libres : "espèce chimique destabilisée par la présence anormale d'un électron célibataire sur sa couche externe, et tendant à revenir très rapidement à un état stable."

### 1.3- La chaîne de transfert des électrons comme site de formation des radicaux superoxydes

La mitochondrie est la source d'énergie de la cellule. Elle est responsable de l'oxydation des aliments en acétylCoA à partir de l'acide pyruvique provenant de la glycolyse, de la dégradation de certains acides aminés, et de l'hydrolyse des triglycérides.

Dans la matrice mitochondriale, on observe la dégradation des radicaux acétyls en  $\text{CO}_2$  et atomes d'hydrogène, grâce aux décarboxylations et aux déshydrogénations du cycle de Krebs.

Dans la membrane interne mitochondriale se produisent les réactions de la phosphorylation oxydative.

Les électrons provenant des atomes d'hydrogène enlevés aux substances oxydées sont transportés jusqu'à l'oxygène moléculaire par la chaîne respiratoire.

N.B. : l'oxygène ordinaire est l'oxygène triplet (2 électrons avec des spins non appariés) relativement stable.

Le transport des électrons se fait grâce à des réactions d'oxydo-réduction dans la membrane interne. Les macromolécules concernées sont des protéines de transport de protons et d'électrons que l'on nomme :

- le complexe I : NADH coenzyme Q réductase, ou ubiquinone oxydoréductase, ou NADH deshydrogénase
- le complexe II : succinate, ubiquinone oxydoréductase
- le complexe III : coenzyme QH<sub>2</sub> cytochrome c réductase (ou ferricytochrome c réductase)
- le complexe IV : ferrocyclochrome c oxydase, ou cytochrome oxydase
- le complexe V : ATP synthétase

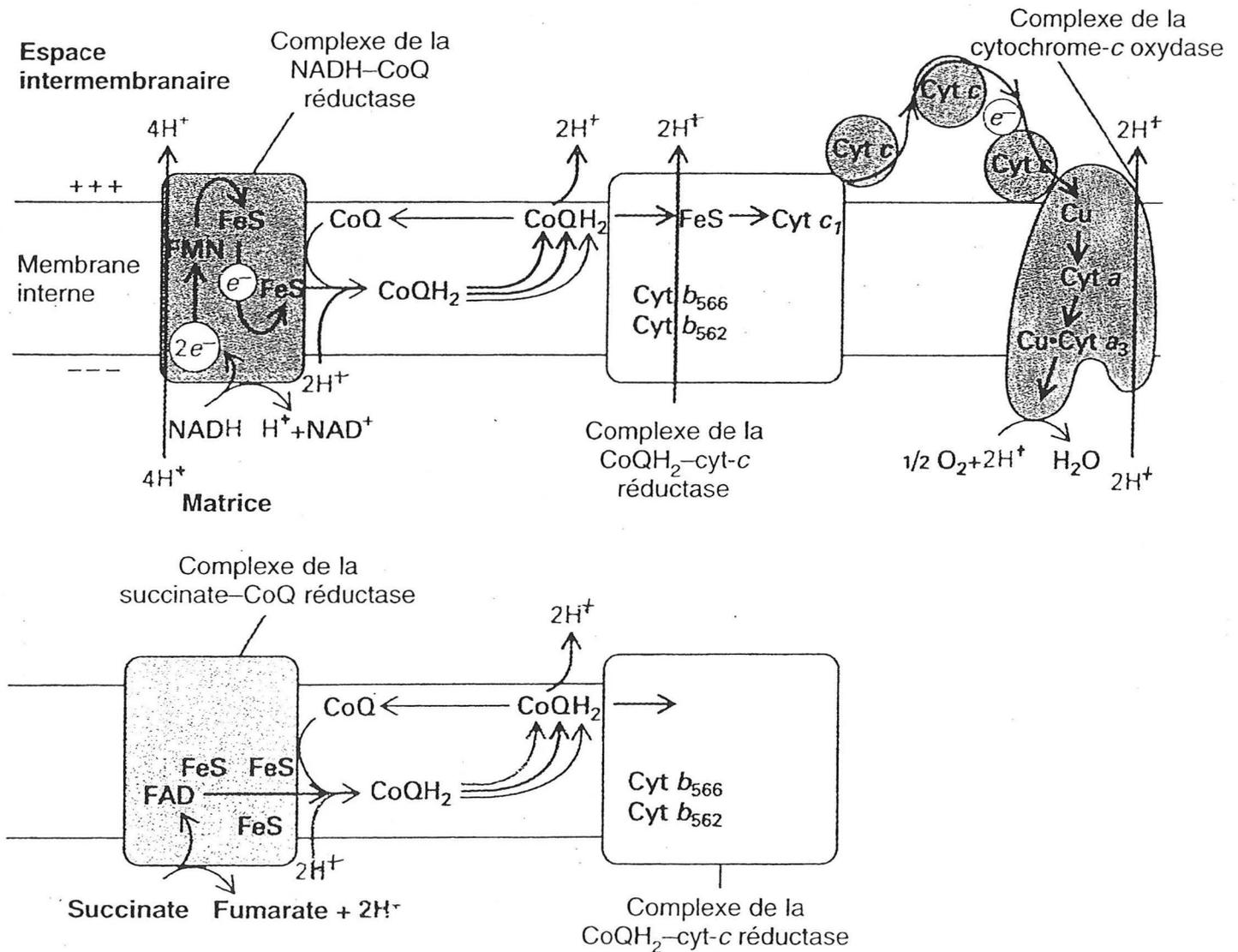
L'ensemble de ces molécules constituent la chaîne respiratoire.

Le mouvement des électrons est couplé à la translocation des protons de la matrice vers l'espace intermembranaire. Ce phénomène se produit au niveau de trois sites de la chaîne respiratoire :

- . entre la NADH deshydrogénase et le coenzyme Q
- . entre le cytochrome b et le cytochrome c<sub>1</sub>
- . entre le cytochrome a et la cytochrome aa<sub>3</sub>.

Les protons sont alors prisonniers dans l'espace intermembranaire. Il se crée alors une inégalité de charges entre l'espace intermembranaire et la matrice, d'où la formation d'un gradient de pH et d'un gradient de charges.

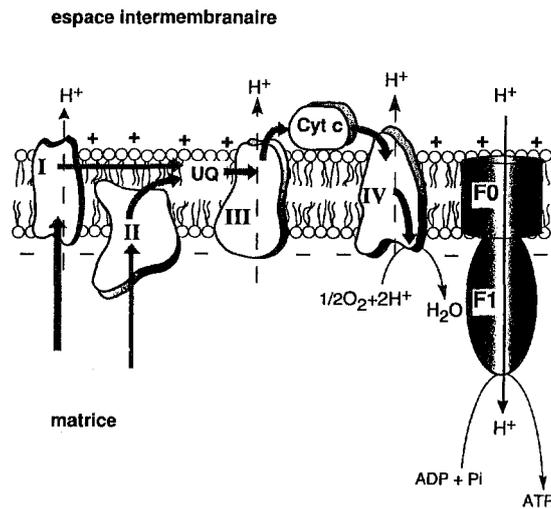
Les protons reviendront vers la matrice grâce à une ATPase. Et ainsi, l'ADP est phosphorylé en ATP. L'énergie perdue par les électrons au cours de leur cheminement est récupérée et mise en réserve par cette réaction (Figures 20 et 21).



**Figure 20 : Trajet des électrons et transport de protons dans la membrane mitochondriale interne**

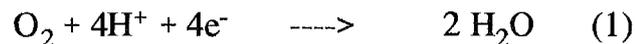
Le transfert d'une paire d'électrons d'une molécule de NADH à une molécule de CoQ aboutit à l'éjection de quatre protons de la matrice vers l'espace intermembranaire par le complexe de la NADH-CoQ réductase. Pour chaque électron transféré du CoQH<sub>2</sub> au cytochrome c, deux protons sont pompés de la matrice dans l'espace intermembranaire. Le cytochrome c diffuse dans l'espace intermembranaire, transportant un à un les électrons du complexe de la cytochrome c oxydase.

Le complexe de la succinate-CoQ réductase (en bas) oxyde le succinate en fumarate et réduit CoQ en CoQH<sub>2</sub>; celui-ci cède ses électrons au complexe de la CoQH<sub>2</sub>-cytochrome-c réductase (Lodish et al., 1997).



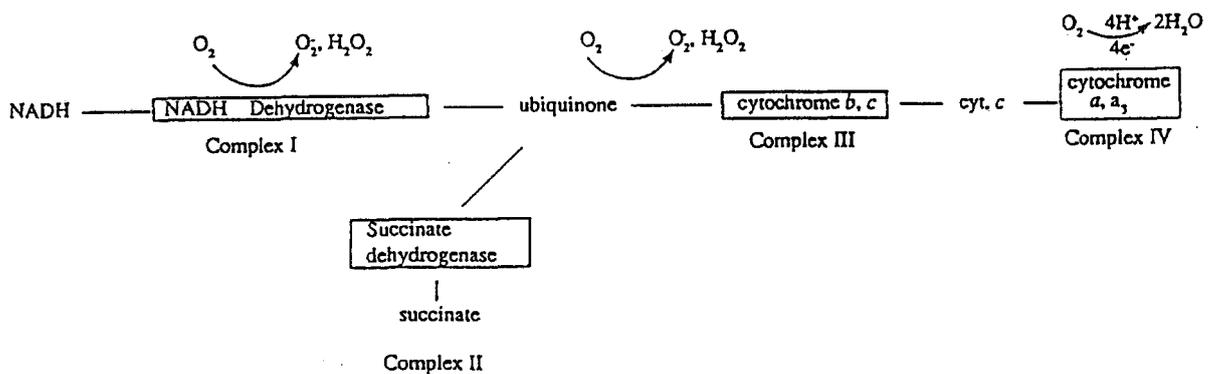
**Figure 21 : Translocation des protons et phosphorylation de l'ADP.**  
*Au cours du transport des électrons à l'oxygène, il y a translocation de protons de la matrice vers l'espace intermembranaire. Cette translocation se fait en trois sites. La translocation des protons de la matrice vers l'espace intermembranaire engendre un gradient électrochimique ; le retour des protons dans la matrice serait responsable de la phosphorylation de l'ADP au niveau des ATPases ( Petit et al., 1997).*

Le cytochrome aa3 du complexe IV retient tous les intermédiaires de l'oxygène réduits partiellement jusqu'à ce qu'il soit complètement réduit en eau (oxygène avec 4 e<sup>-</sup>) :



Cependant, les autres éléments de la chaîne respiratoire (ubiquinone et cytochrome b) peuvent transférer leur électrons directement à l'oxygène, mais ne retiennent pas les intermédiaires partiellement réduit. Parce que l'oxygène n'accepte qu'un électron à la fois, le radical superoxyde (oxygène avec un e<sup>-</sup>) est relâché (Benzi et Moretti, 1995) :





**Figure 22 : Représentation schématique de l'organisation de la chaîne respiratoire en quatre complexes liés par des transporteurs solubles (ubiquinone et cytochrome c) - Sites de production de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> - (Sohal et Brunk, 1992).**

N.B.: Dans la famille des cytochromes b, il faut souligner que le cytochrome b566 est étroitement impliqué dans le processus de transfert d'énergie dans le complexe III, oscillant continuellement entre un état de potentiel très bas (- 30 mV) et un état beaucoup plus élevé (+245 mV). Le potentiel bas peut jouer un rôle primordial dans la formation des anions superoxydes car :

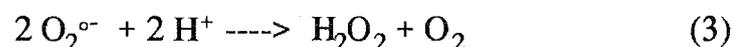
- une augmentation de son potentiel redox inhibe le transfert univalent des électrons vers l'oxygène.

- l'intervention d'espèces moléculaires avec un potentiel de - 30mV favorise la libération de radicaux superoxydes.

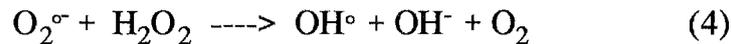
Ainsi, la fuite d'électrons au niveau du cytb566 apparaît comme une réelle source de production de radicaux libres oxygénés venant s'ajouter à celle due aux autres étapes du flux d'électrons de la chaîne respiratoire (Benzi et Moretti, 1995).

#### 1.4- Production d'autres espèces activées de l'oxygène :

Le radical superoxyde par des réactions de dismutation va conduire à la formation de peroxyde d'hydrogène, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (oxygène avec 2 e<sup>-</sup>) :

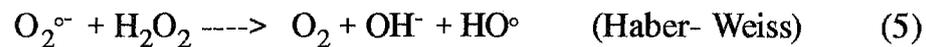
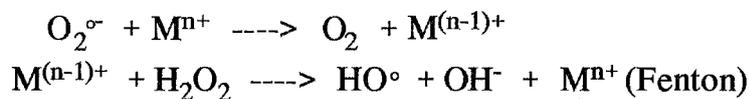


Le peroxyde d'hydrogène peut être réduit par l'anion superoxyde, ce qui mène au radical hydroxyle, HO° (oxygène avec 3 e<sup>-</sup>) :



Cette réaction est très lente au pH physiologique et requiert des concentrations stables des deux partenaires.

Les ions métalliques accélèrent cette réaction, ils servent de catalyseurs :



M<sup>n+</sup> = Fe III, Cu II

Il s'agit de la réaction de Fenton et de la réaction d'Haber - Weiss.

Du fait de cette réaction le peroxyde d'hydrogène est très dangereux, puisqu'il permet la formation du radical hydroxyle, le plus réactif et donc le plus toxique des radicaux oxygénés.

On note que dans les conditions normales, la capacité du fer libre à stimuler cette réaction *in vivo* est très limitée. Cependant, des préjudices tissulaires, tels que : ischémie, traumatisme..., peuvent favoriser cette réaction en libérant des quantités importantes de fer des cellules endommagées dans l'environnement proche.

Bilan :

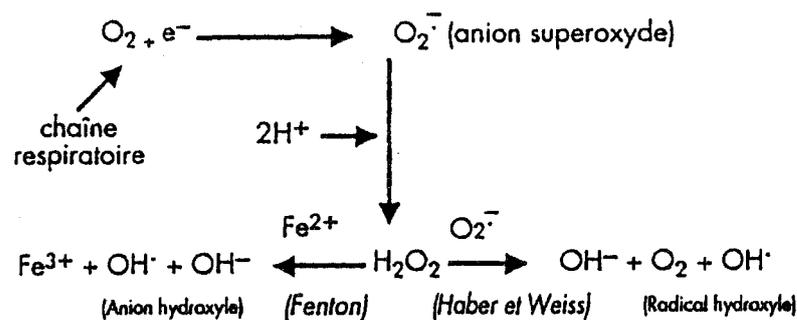
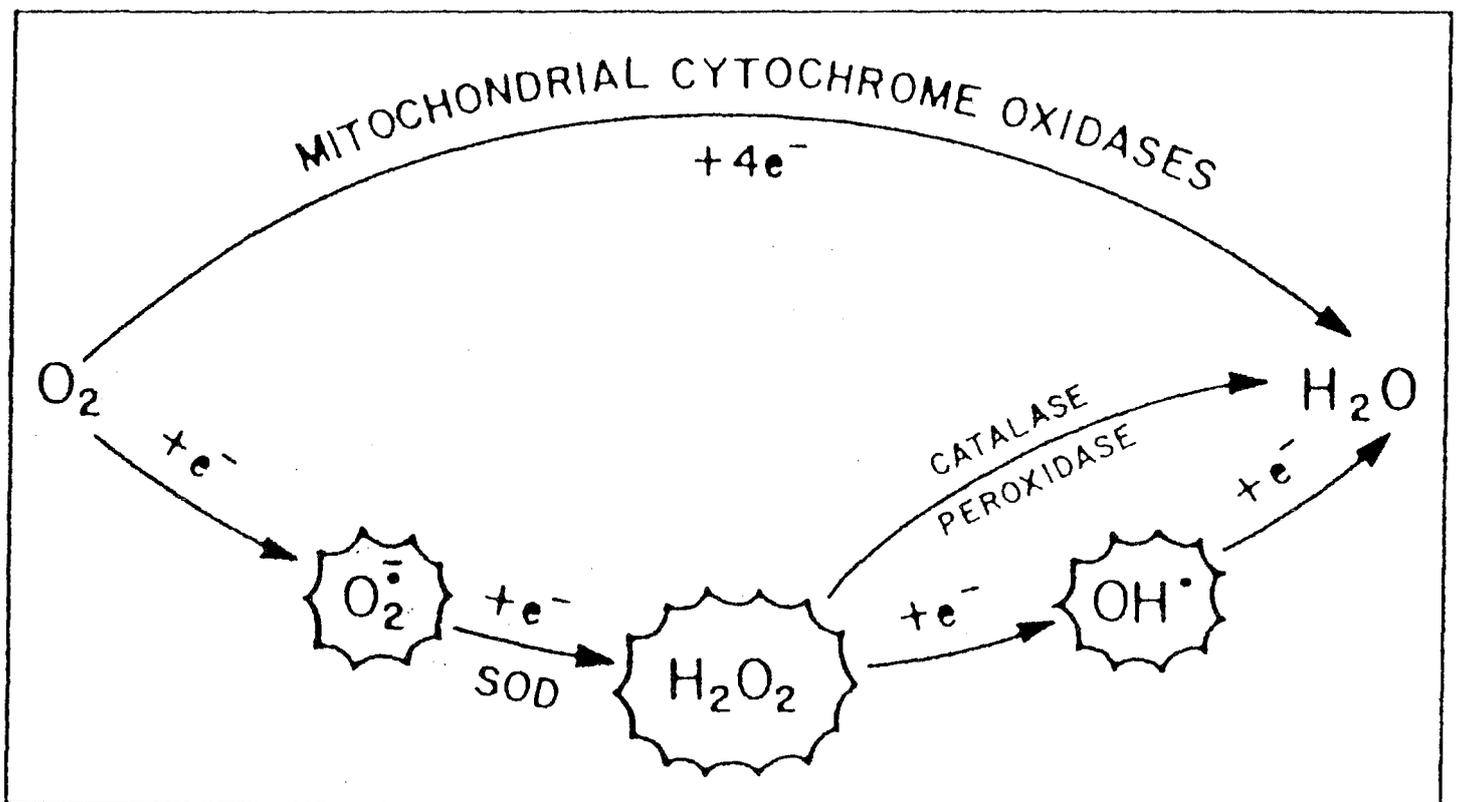


Figure 23 : Voies métaboliques pour la génération de radicaux superoxydes, de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle.

En conclusion, l'oxygène de l'air est réduit en eau de deux façons :

- une voie tétravalente
- une voie monovalente avec apparition de radicaux libres .



**Figure 24 :**

*Le complexe cytochrome oxydase réduit l'oxygène moléculaire par l'addition simultanée de 4 électrons et 4 protons, produisant de l'eau et générant de l'ATP sans production d'intermédiaires libres oxygénés toxiques. Cependant, 1 à 5 % de l'oxygène "s'échappe" de ce cheminement et subit une réduction univalente qui génère le radical superoxyde (qui sera à l'origine d'autres espèces radicalaires).*

## 1.5- Autres mécanismes de production endogène de radicaux libres :

a- des mécanismes enzymatiques, à partir de l'oxygène, via l'action de :

- la NADPH oxydase des polynucléaires activés (phagocytose)

Elle catalyse la réaction (2).

La formation d'ion superoxyde conduira à la formation des autres espèces activées de l'oxygène, comme le montrent les réactions (3), et (5).

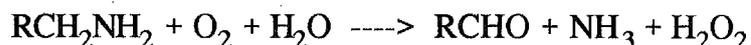
- la xanthine oxydase

Parmi les sous produits de l'oxydation des xanthines (bases puriques) par cette enzyme, on trouve du peroxyde d'hydrogène et des ions superoxydes.

- la cyclooxygénase - la lipooxygénase

Elles utilisent l'acide arachidonique des membranes.

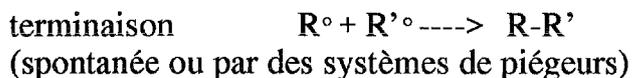
- la monoamine oxydase: formation de  $H_2O_2$  par désamination oxydative des monoamines (ex. : catecholamine, sérotonine) :



b- autooxydation de molécules de bas poids moléculaires

L'autooxydation de petites molécules est à l'origine de la production d'ions superoxydes et de peroxyde d'hydrogène. Ces molécules sont essentiellement les transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire et en particulier les ubiquinones.

c- des réactions radicalaires en chaîne :



La formation de radicaux libres oxygénés peut donc être associée au métabolisme cellulaire normal. L'ion superoxyde, comme les hydroperoxydes sont produits normalement à partir de diverses sources physiologiques dans l'environnement aérobie des tissus et des cellules des mammifères.

L'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux peroxydés sont maintenus dans les compartiments intra et extra cellulaires des organismes aérobies dans des conditions strictes de concentrations au moyen d'un puissant système de régulation. Diverses situations de dérégulation peuvent induire un stress oxydatif. Par exemple : intoxication, exposition à des radiations ionisantes, inflammation, ischémie... Ces situations peuvent traduire une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène, ou une atteinte des systèmes de défense ou bien les deux (Chaudière, 1994 ; Benzi et Moretti, 1995 ; Lestienne, 1995).

### 1.6- L'oxygène singulet

Il est généré par l'intervention d'ions métalliques quand l'un des deux électrons non appariés de la molécule d'oxygène acquiert suffisamment d'énergie pour subir une inversion de spin.

Il existe deux formes distinctes d'oxygène singulet,  $\Delta$  et  $\Sigma$ , selon que les électrons excités forment une paire d'électrons dans la même orbitale ou demeurent inappariés dans des orbitales différentes. La forme  $\Delta$  est plus stable que la forme  $\Sigma$ .

C'est un composé hautement électrophile, et il réagit avec des composés riches en électrons tels que : la méthionine, le tryptophane et les molécules contenant des doubles liaisons (Benzi et Moretti, 1995).

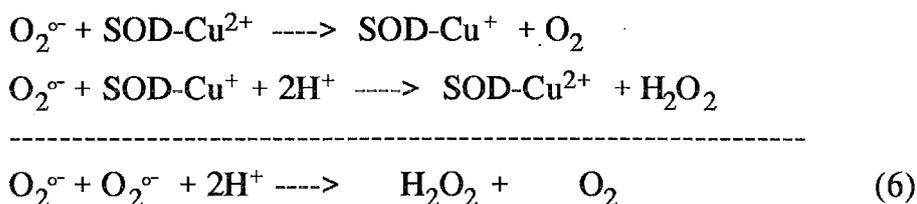
## 2-SYSTEMES DE DÉFENSES CONTRE LES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres sont des espèces chimiques très toxiques pour la cellule, c'est pourquoi il existe des systèmes permettant de les neutraliser.

### 2.1-Systèmes de défense enzymatiques

#### 2.1.1- La superoxyde dismutase (SOD)

Il s'agit d'une métalloprotéine qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde.



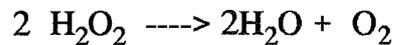
La forme Cu/Zn prédominante est cytoplasmique.

Autre forme existante : SOD Mn, mitochondriale. Elle intervient sur le radical superoxyde dérivant de la chaîne de transport des électrons.

On note que le peroxyde d'hydrogène produit est très dangereux puisque s'il n'est pas converti rapidement en eau, il sera pris en charge par des complexes d'ions métalliques et transformé en HO°, le plus toxique des radicaux (cf. réaction 5), d'où la nécessité d'intervention rapide d'autres enzymes.

### 2.1.2- La catalase

Elle se sert du peroxyde d'hydrogène comme accepteur d'hydrogène. Elle catalyse la dégradation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en oxygène moléculaire et en eau.



Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes.

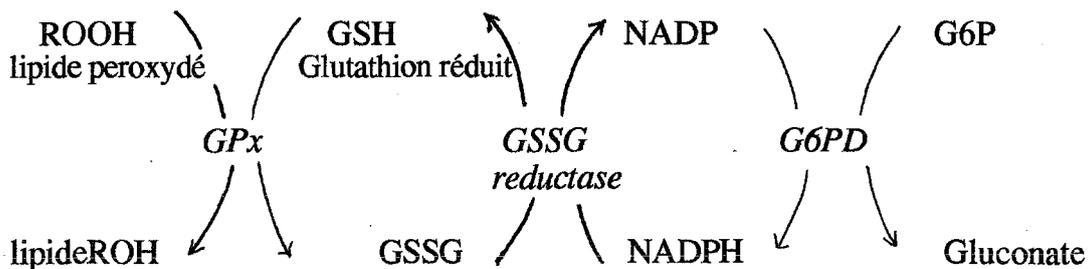
Elle est particulièrement active dans le foie, les reins et les érythrocytes mais faiblement seulement dans le cerveau.

### 2.1.3- Glutathion peroxydase (GPx)- Glutathion transférase

La GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène par le glutathion. Elle peut aussi utiliser les hydroperoxydes organiques comme accepteurs d'électrons. Elle est essentiellement cytosolique. C'est une enzyme à Se et son fonctionnement dépend de la réserve en glutathion réduit.

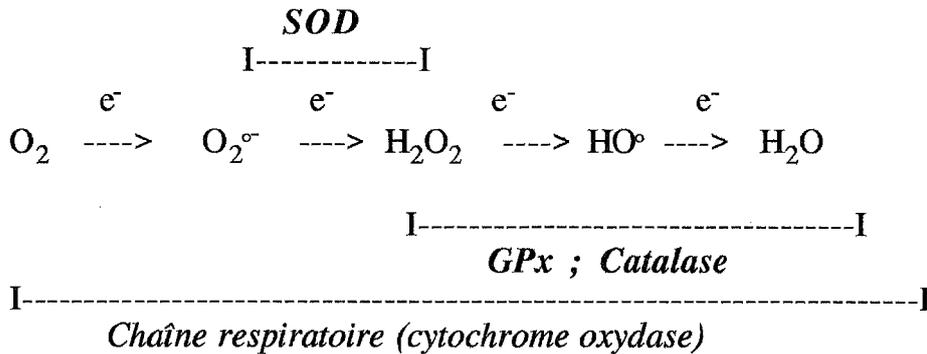
Si l'activité de la SOD augmente sans une augmentation concomitante de l'activité de la GPx et de la concentration en glutathion réduit, le peroxyde d'hydrogène s'accumule et se transforme en HO° (réaction 5).

Les glutathion transférases réagissent avec les hydroperoxydes organiques.



La glutathion réductase (GSSG réductase) et la glucose-6-phosphate deshydrogénase (G6PD) constituent des enzymes secondaires de défense (elles maintiennent une réserve de métabolites indispensables au fonctionnement des enzymes primaires de défense).

Bilan :



(ou cf. Figure 24).

## 2.2-Systèmes de défense non enzymatiques

### 2.2.1- Acide ascorbique ou vitamine C

Antioxydant hydrosoluble.

Il peut interrompre de façon efficace les réactions radicalaires en chaîne en cédant des atomes d'hydrogène à divers radicaux libres.

Piégeur (= Scavenger) vis à vis de l'oxygène singulet.

Il réagit rapidement avec l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène.

Il régénère la vitamine E à partir du radical de cette molécule.

Son action est particulièrement importante à la surface des kératinocytes.

Cependant, l'ascorbate peut aussi devenir un déclencheur des radicaux libres en présence de Fe ou de Cu "libre" ( ions métalliques liés à de petites molécules ou à des surfaces macromoléculaires, par opposition aux formes liées aux enzymes qui ne sont généralement pas accessibles aux peroxydes).

### 2.2.2- Alpha tocophérol ou vitamine E

Vitamine liposoluble.

Son rôle est très important dans la prévention de la lipoperoxydation.

Elle agit en cédant un atome d'hydrogène à des radicaux peroxylys lipidiques. Le radical de la vitamine E qui en résulte a une réactivité faible.

Un certain nombre d'agents réducteurs comme la vitamine C peuvent régénérer la vitamine E en réagissant avec son radical.

Si la concentration de radicaux lipidiques est trop élevée, la réduction des radicaux de la vitamine E n'arrive plus à compenser l'oxydation de la vitamine. Le radical est alors détruit de façon irréversible.

Lorsque des radicaux libres sont générés initialement dans le compartiment aqueux, la vitamine C agit comme la défense primaire et disparaît très rapidement. La vitamine E dans le plasma sanguin est consommée plus lentement, et celle des globules rouges commence à diminuer seulement après la déplétion de la majorité des antioxydants aqueux.

### 2.2.3- Carotènes

Précurseurs de la vitamine A.

Le bêta carotène est un puissant neutralisateur de l'oxygène singulet grâce à un mécanisme de transfert d'énergie, la molécule d'oxygène singulet est convertie en oxygène triplet.

Le carotène accède alors à l'état de triplet, état excité. Il libère son énergie de façon inoffensive sous forme de chaleur. Il agit donc comme un catalyseur, il n'est pas consommé dans la réaction.

### 2.2.4- Glutathion

Cofacteur de la GPx et antioxydant indépendant.

Il réagit avec le superoxyde et réduit les groupes sulfhydryls des protéines.

### 2.2.5- Coenzyme Q

Composant redox des systèmes membranaires de transports d'électrons.

Il est efficace dans la prévention de la lipoperoxydation (action synergique avec la vitamine E).

### 2.2.6- Acide urique

Antioxydant produit par le métabolisme des purines.

Piégeur de l'oxygène singulet.

Il inhibe la peroxydation des lipides.

Séquestre le Fer et le Cuivre et bloque donc leur capacité à induire des réactions radicalaires.

### 2.2.7- Mélanines

Elles appartiennent au système pigmentaire de la peau. Elles sont synthétisées par les mélanocytes et distribuées dans les kératinocytes.

L'eumélanine est efficace dans la photoprotection grâce à une forte capacité d'absorption, de diffusion et de réflexion des UV d'une part, et a un rôle de capteur des radicaux libres d'autre part.

(La phaeomélanine n'est pas un scavenger des radicaux libres et elle favoriserait même les réactions radicalaires).

### 2.2.8- Le Sélénium et autres oligoéléments

Le Sélénium joue un rôle de piègeur de radicaux libres.

Il a été démontré que la production de GPx est proportionnelle à la concentration du Se dans l'alimentation (mais le rapport entre la quantité de Se dans l'organisme et l'activité de la GPx n'est pas proportionnel).

L'intérêt d'une supplémentation en Se a été démontrée dans la prévention du vieillissement accéléré (trisomie 21), et des pathologies oxydatives (maladies cardiovasculaires, certains cancers, démences ...).

D'autres oligoéléments comme le Zn, le Mn et le Cu ont un rôle protecteur contre les réactions radicalaires.

Il existe d'autres molécules piégeant les radicaux libres dans l'organisme comme: la caeruloplasmine, la bilirubine (Figure 26)...

Tous ces systèmes antioxydants interagissent entre eux (Figures 27).

De leur disponibilité et de leur efficacité va dépendre la neutralisation des radicaux libres et donc la protection des constituants cellulaires (Heritier, 1990 ; Harman, 1992 ; Jadot, 1994 ; Chaudière, 1995).

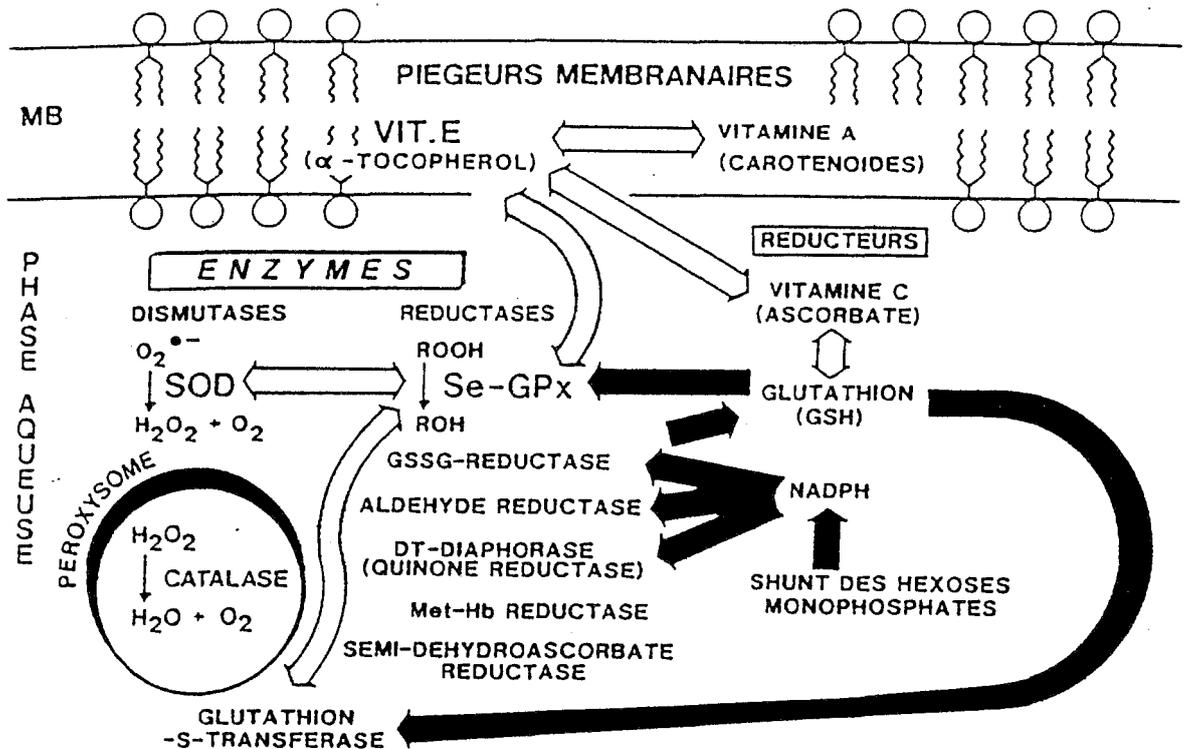
Superoxide anion radical	Superoxide dismutases (SOD)
	Reduced glutathione
	Tyrosamine
Hydrogen peroxide	Vitamin C (ascorbate)
	Glutathione peroxidase
Hydroxyl radical	Catalase
	Benzoate
	Butanol ethanol
	DNA bases (guanine, cytosine, uracil)
	Mannitol
	Melatonin
	Methionine
	Reduced PUFA
	Uric acid
	Vitamin C
Singlet oxygen	$\alpha$ -tocopherol
	$\beta$ -carotene
	Bilirubin
	Cholesterol
	Histidine
	Reduced glutathione
	Reduced PUFA

**Figure 26 : Radicaux libres et antioxydants.**

*La production de radicaux libres est contrebalancée par un système de défense élaboré qui utilise une variété de composés endogènes et exogènes.*

*La plupart des antioxydants piègent les radicaux, alors que d'autres (enzymes) les métabolisent en autres composés.*

*PUFA = polyinsaturated fatty acids. (Reiter, 1995).*



**Figure 27: Systèmes de protection de la cellule.**  
 Représentation simplifiée des systèmes de protection cellulaire contre les peroxydes. Les flèches vides matérialisent les effets de synergie et de protections mutuelles, tandis que les traits pleins matérialisent les contraintes métaboliques ou de compartimentation (Chaudière, 1995).

### 3-TOXICITÉ DES RADICAUX LIBRES

#### 3.1- Toxicité des superoxydes

Les superoxydes ont une réactivité considérable et une demi vie courte. L'ion superoxyde a une toxicité intrinsèque par transformation non enzymatique en oxygène singulet et en servant de précurseur à des espèces encore plus réactives et oxydantes tels que le radical hydroxyl  $HO^\bullet$ . Cette réaction peut se faire par l'intermédiaire de métaux (cf. réaction 5).

D'autre part, il peut :

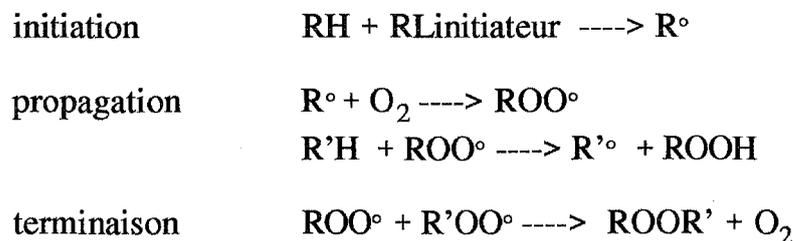
- inactiver des enzymes antioxydantes (catalase, GPx)
- inactiver des enzymes impliquées dans la neurotransmission (glutamine synthétase)
- inactiver des enzymes impliquées dans la transmission de signal (adenylate cyclase)
- inactiver des enzymes impliquées dans le transfert d'énergie (créatine phosphokinase, NADH deshydrogénase, ATPase)

-  $O_2^{\circ}$  réagit très rapidement avec NO pour produire du peroxyde d'azote (ONOO) qui par des réactions de protonations se comporte comme un puissant oxydant. L'ion superoxyde peut donc agir comme un antagoniste du NO et ainsi potentialiser les effets cytotoxiques dans les cellules vasculaires ou autres (NO = protecteur vasculaire) (Chaudière, 1994 ; Benzi et Moretti, 1995).

### 3.2- Toxicité des hydroperoxydes et de leurs dérivés radicalaires

La cytotoxicité des hydroperoxydes vient majoritairement de leur capacité à se décomposer en radicaux libres qui peuvent stimuler l'autooxydation des molécules organiques portant un atome d'hydrogène labile.

On peut décomposer ce mécanisme d'autooxydation en trois étapes:



Dans les cellules aérobies, les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires subissent facilement de telles réactions en chaîne.

De même, certains résidus aminoacides sensibles tels que la cystéine, l'histidine, la méthionine ou le tryptophane, peuvent être oxydés.

Les mitochondries sont sévèrement affectées par les hydroperoxydes qui sont des inhibiteurs de la phosphorylation oxydative et qui altèrent la perméabilité de leurs membranes à différents cations.

Les hydroperoxydes induisent des cassures des brins d'ADN et la formation entre autres de 8-hydroxy déoxyguanosine (8-OHdG). Ce composé mutagène va provoquer des substitutions dans l'ADN : G (guanine) --> T (thymine) , A (adénine) --> C (cytosine).

Les peroxydes produits en présence de métaux (II), au lieu de se reinsérer dans la chaîne de réaction, se décomposent souvent en aldéhydes et en époxydes cytotoxiques. De telles espèces peuvent inactiver de nombreuses enzymes. De plus, ces aldéhydes peuvent former des liaisons au niveau des groupements aminés des protéines ou des phospholipides, ce qui aboutit à la formation de polymères lipidoprotéiques. La dégradation lysosomiale de tels polymères conduit à des résidus fluorescents indigestibles que l'on appelle lipofuscines (cf. Partie I, 6.2.1).

Par ailleurs, les peroxydes affectent l'homéostasie Ca/Na à l'intérieur des cellules et des tissus.

La Na-K ATPase est sévèrement affectée et spécialement par les lipides peroxydés.

L'homéostasie du Ca est aussi altérée. On peut observer une activation des canaux calciques entraînant une augmentation rapide de la concentration en Ca intracellulaire puis une diminution en dessous des valeurs normales.

L'augmentation de la concentration intracellulaire de Ca peut entre autre induire une neurotoxicité et un dysfonctionnement de la phosphorylation oxydative (Chaudière, 1994 ; Benzi et Moretti, 1995).

#### **4- ALTÉRATIONS DES CONSTITUANTS CELLULAIRES DUES AUX RADICAUX LIBRES**

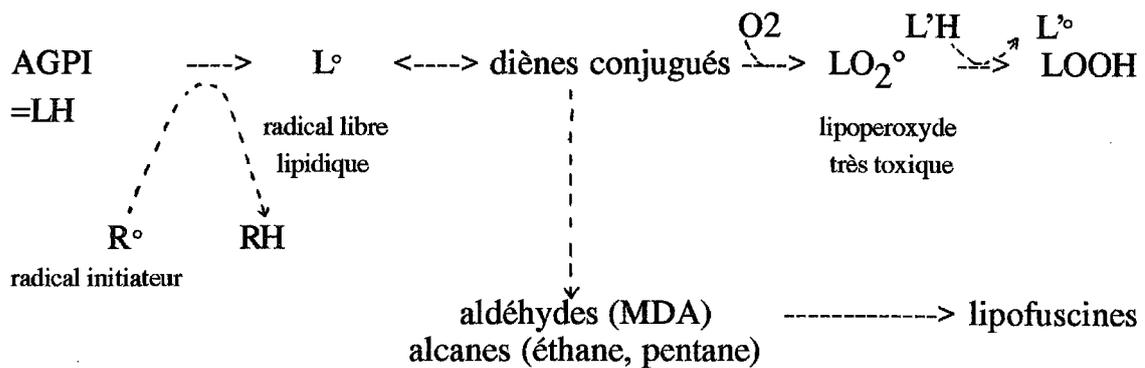
Les altérations moléculaires induites par les radicaux libres en s'accumulant pourraient être à l'origine des changements du vieillissement.

##### **4.1- Altérations des lipides**

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) de la membrane cellulaire constituent une cible très vulnérable des radicaux libres.

Sous l'action d'un radical, ces composés sont susceptibles de subir l'arrachement d'un proton pour former un radical lipidique. Ce dernier réagit avec de l'oxygène pour aboutir à la formation d'un radical peroxy. Celui-ci est capable d'arracher à son tour un proton à un autre acide gras polyinsaturé, d'où le déclenchement de réactions en chaîne.

Le radical lipidique peut aussi se convertir en diènes conjugués qui se dégradent en dérivés toxiques tels que des aldéhydes (malonedialdéhyde = MDA) ou autres composés (alcane : pentane, éthane), les aldéhydes pouvant conduire aux lipofuscines.



Le taux d'autooxydation des AGPI augmente avec le degré d'insaturation des membranes, ce qui rend les plaquettes, les neurones et les cellules endothéliales particulièrement prédisposés à ce type de réactions.

La peroxydation des lipides désorganise les membranes cellulaires jusqu'à entrainer des perturbations de la perméabilité de ces cellules et donc leur dysfonctionnement.

Dans le cerveau, le vieillissement est associé à une altération des propriétés des membranes neuronales ainsi qu'à celle du fonctionnement des récepteurs.

L'intensité du phénomène de peroxydation peut être suivi par le taux de malonedialdéhydes, ou de lipofuscines. Ces composés sont des pigments lipidiques qui s'accumulent dans certains tissus riches en AGPI (coeur, cerveau, testicules...) au niveau des lysosomes et un peu dans les mitochondries. Ces pigments semblent correspondre aux produits finaux de dégradation des membranes, ne pouvant être totalement métabolisés par la cellule (cf. Partie I, 6.2.1).

Des expériences ont montré qu'une déficience en vitamine E accompagnée d'une hyperoxygénation entraîne une augmentation du taux d'accumulation des lipofuscines. Il semble qu'il y ait des arguments pour considérer que la quantité d'antioxydants apportée par l'alimentation et la production de lipofuscines soient liées ; mais il n'y a pas de preuves directes que la diminution de la formation des pigments soit reliée à une augmentation de la durée de vie.

Tant que la vitamine E est présente, elle prévient le déclenchement des réactions en chaîne. Si une déplétion en vitamine E a lieu, les membranes sont oxydées. Elles changent de structure et des produits de l'oxydation sont libérés (dont des produits cytotoxiques comme l'hydrononéal).

On observe alors une modification de la perméabilité aux ions.

On peut donc envisager une relation entre les radicaux libres et les changements se produisant au cours du vieillissement via les réactions de lipoperoxydations (Chaudière, 1994 ; Reiter, 1995 ; Timiras, 1997).

#### 4.2- Altérations des protéines

- Les réactions de peroxydation ont lieu aussi au niveau des protéines. Les molécules produites à la suite de l'oxydation des acides aminés par les radicaux libres, comme la cystéine par exemple, réagissent avec les groupements thiols pour donner des disulfures. Ceux-ci peuvent être réduits et ainsi la lésion est réparée.

L'oxydation de la méthionine produit le sulfoxyde ; cette altération est réparée par des réductases spécifiques.

Mais plusieurs acides aminés peuvent être oxydés de façon irréversible (en particulier : l'histidine, le tryptophane, la tyrosine).

La modification de certains résidus au niveau de certaines enzymes au cours du vieillissement peut être due à ces réactions d'oxydation (les protéines avec des groupements sulfhydryls sont les plus sensibles). Or ces modifications peuvent être à l'origine de perte d'activité.

Par exemple, la modification du résidu histidine de l'enzyme malique diminue son activité.

Comme on l'a vu dans la première partie, l'altération de protéines membranaires entraîne une désorganisation de la membrane cellulaire et de fait une perte des qualités physiques et fonctionnelles de la cellule.

- Les hémoprotéines, comme l'hémoglobine ou la myoglobine, par réaction avec les hydroperoxydes, donnent naissance à des molécules hautement oxydantes capables de produire des radicaux d'acides aminés dans les molécules d'hèmes ou encore d'oxyder les protéines voisines. Ainsi des réactions en chaîne des radicaux libres se déclenchent dans les membranes.

L'activation des hémoprotéines par les hydroperoxydes peut aussi entraîner une libération de fer par clivage oxydatif des porphyrines. Le fer peut alors catalyser la production du radical hydroxyle (cf réaction 5) par exemple, ou d'autres réactions comme l'oxydation des chaînes latérales d'histidine, de proline ou d'arginine.

- Toutes les protéines susceptibles de réagir aux réactions d'oxydation pourraient voir leur activité enzymatique ou biologique altérée. Ces protéines défectueuses peuvent parfois être réparées ou, dégradées et remplacées. Mais elles peuvent aussi persister et s'accumuler, jouant ainsi un rôle dans le processus de vieillissement.

- Le phénomène de pontage est à l'origine d'altérations des propriétés des nombreuses macromolécules impliquées dans ces liaisons (cf. Partie I, 4.1.3). Les espèces actives de l'oxygène favorisent la formation de ces ponts. En fait, l'oxygène et les catalyseurs des réactions oxydatives (Fe, Cu) accélèrent la réaction de Maillard.

La probabilité de pontage augmente lorsque les molécules sont très rapprochées et c'est pourquoi les membranes sont particulièrement sensibles. Mais le pontage s'observe aussi au niveau des protéines intracellulaires (enzymes) et des acides nucléiques (ADN).

Le pontage engendré dans les protéines et les acides nucléiques par cette réaction pourrait contribuer de façon importante au déclin fonctionnel des cellules au cours du vieillissement (Hensley et *al.*, 1995 ; Kowalt et Kirkwood, 1996 ; Timiras, 1997).

### 4.3- Altérations de l'ADN

#### 4.3.1- Lésions générales

En 1959, Szilard avance l'idée que les changements somatiques se produisant avec le temps au sein de l'ADN pourraient être à l'origine du vieillissement (cf. Partie II, B,3).

Parmi les sources endogènes de dommages de l'ADN, on trouve les radicaux libres qui produisent des dommages oxydatifs. Et en particulier le radical hydroxyle  $HO^\circ$ . L'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène n'entraînent pas habituellement de dommages dans l'ADN (Reiter, 1995).

*attaque par  $HO^\circ$*       *attaque par  $O_2^\circ$ - ou  $H_2O_2$*

nombreux dommages <----- ADN -----> aucun dommage

Les réactions radicalaires peuvent entraîner l'hydroxylation ou autres modifications des bases de l'ADN, comme par exemple une perte de bases méthylées. Or, ces bases méthylées ont un rôle important dans la régulation de l'expression génétique et dans la différenciation qui caractérise les organismes multicellulaires.

La déméthylation de bases occasionne une perte irréversible de l'activité des cellules différenciées ainsi qu'une perte de l'homéostasie.

Le déclin de la capacité de l'ADN à servir de "modèle" pour l'expression génétique peut constituer une cause primordiale du processus de vieillissement. Comme on l'a vu dans la première partie (8.2.3), le taux d'aberrations chromosomiques augmente avec l'âge.

On note que les dommages de l'ADN, dans les cellules pouvant se diviser, peuvent causer leur mort, mais ne contribuent pas significativement au vieillissement puisque ces cellules seront remplacées (Holmes et *al.*, 1992 ; Chicca et *al.*, 1996).

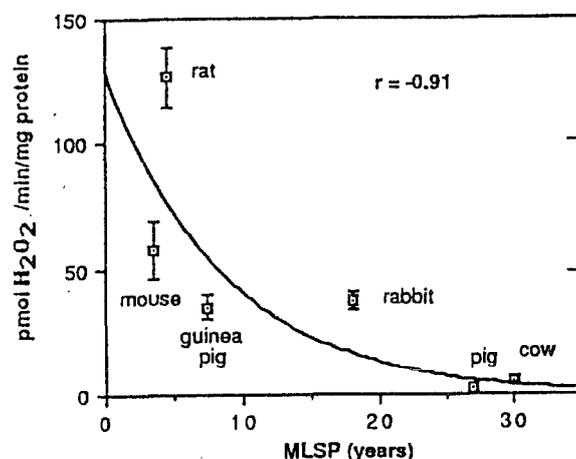
Les dommages de l'ADN active la protéine p53 qui entraîne un blocage du cycle cellulaire voire l'apoptose de la cellule (cf. Partie IIB, 3).

De nombreuses études ont été menées pour établir une corrélation entre les dommages de l'ADN, la réparation de l'ADN et la longévité d'une espèce.

- les études de Hart et Setlow (1974), de Tice et Setlow (1985), et de Bernstein et Bernstein (1991) ont montré la corrélation positive entre le taux de réparation de l'ADN et la durée de vie chez différentes espèces.

- Sohal et *al.* (1990) ont démontré la corrélation inverse entre le taux de production de substances prooxydantes ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ), c'est à dire le taux de production de dommages endogènes de l'ADN, et la durée de vie, chez différentes espèces (Figure 28).

- les sujets atteints de maladies génétiques qui se traduisent par un taux de dommages de l'ADN anormalement élevé ou par une déficience dans le système de réparation de l'ADN, présentent des signes de vieillissement prématuré. (Ex : syndrome de Down, syndrome de Cokayne, syndrome de Werner, Xeroderma pigmentosum (Holmes et *al.*, 1992 ; Chicca et *al.*, 1996).



**Figure 28: Relation entre le taux de peroxyde d'hydrogène libéré par les mitochondries du foie et la durée de vie maximum potentielle de différentes espèces animales.**

*MLSP : maximum life span potential (Sohal et Brunk, 1992).*

#### 4.3.2- Altérations des télomères

On rappelle que le raccourcissement des télomères entraîne à partir d'un certain seuil, la perte de capacité mitotique et perturbe la stabilité du génome (cf. Partie I, 8.2.3, et Partie II, B.7).

Le raccourcissement des télomères peut être produit par des conditions hyperoxiques (Von Zglinicki *et al.*, 1995).

Les radicaux libres provoqueraient des cassures monobrins de l'ADN télomérique.

Donc, les radicaux libres pourraient intervenir dans l'arrêt de la prolifération cellulaire via leur action délétère au niveau des télomères (Bohr et Anson, 1995; Kruk *et al.*, 1995).

#### 4.3.3- Altérations de l'ADN mitochondrial (ADNmt)

Harman (1981) émet l'idée qu'un site possible d'attaque radicalaire est l'ADNmt dans tous les types de cellules. Miquel et son équipe (1980) suggèrent que le vieillissement résulte des changements du génome mitochondrial des cellules différenciées.

Des mutations spécifiques s'accumulent avec l'âge au sein de l'ADNmt.

Cette molécule est particulièrement sensible aux mutagènes endogènes et environnementaux.

Les mitochondries consomment à peu près 90% de l'oxygène du corps, et constituent une source particulièrement importante d'espèces activées de l'oxygène. En effet, environ 1 à 2 % de l'oxygène métabolisé par la mitochondrie est converti en ion superoxyde (Chance *et al.*, 1979). Et en plus de la production "normale" de radicaux de l'oxygène, des radicaux libres sont aussi formés en présence de certains composants ou dans certains états pathologiques. L'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène peuvent produire des dommages moléculaires considérables.

L'ADNmt n'est pas protégé par des histones et est rattaché transitoirement à la membrane mitochondriale où une grande quantité de radicaux libres est produite.

Les systèmes de réparation de l'ADN sont moins efficaces que dans le noyau.

Chez les mammifères, l'ADNmt est particulièrement sensible aux dommages oxydatifs. Il mute beaucoup plus rapidement que l'ADN nucléaire. La quantité de bases oxydées est 16 fois plus élevée que dans l'ADN nucléaire (Hruszkewycz et Bergtold, 1990 ; Richter, 1992).

L'altération des gènes mitochondriaux pourrait avoir un rôle significatif dans le processus de vieillissement. De nombreuses études ont mis en évidence une corrélation positive entre le vieillissement naturel ou pathologique et les modifications de l'ADNmt :

- l'équipe d'Ozawa (1990) a démontré l'accumulation de mutations de l'ADNmt au cours du temps dans les organismes humains.

- des délétions spécifiques de l'ADNmt sont visibles au sein de tissus âgés. Ces délétions ont lieu plus abondamment dans les tissus utilisant des grandes quantités d'énergies (muscle > foie par exemple).

- le taux de dommages oxydatifs au niveau des bases de l'ADNmt, aussi bien que d'autres modifications chimiques du génome mitochondrial, augmentent avec l'âge (Gupta et *al.*, 1990 ; Richter, 1992, 1995) (cf. Partie I, 7.2.3).

- il existe des corrélations entre les altérations du génome mitochondrial et les maladies dégénératives héréditaires neuromusculaires, ainsi qu'entre les altérations du génome mitochondrial et le cancer. Ces altérations sont fréquemment des délétions.

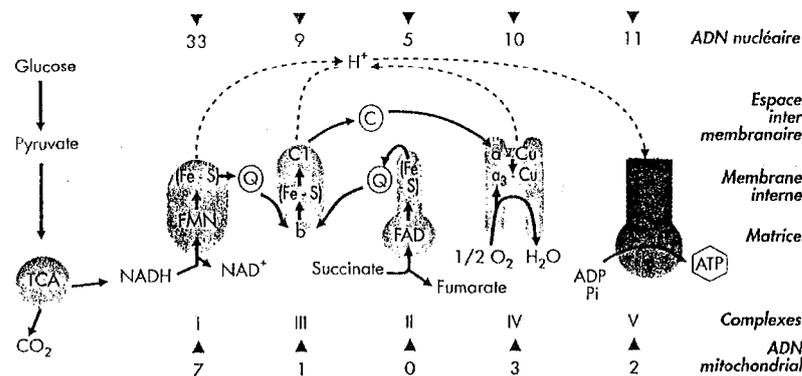
Ces dommages oxydatifs vont avoir des conséquences sur le fonctionnement des mitochondries et en particulier sur leur capacité à synthétiser de l'ATP.

Dans les cellules postmitotiques le déclin de la phosphorylation oxydative lié à l'âge peut être d'autant plus préjudiciable que ces cellules (neurones) ont un taux de respiration très élevé et un turnover des mitochondries très lent.

D'après la théorie mitochondriale du vieillissement, l'accumulation de mutations somatiques dans l'ADNmt due aux attaques radicalaires, est le facteur clé du déclin de la performance des cellules qui caractérise la sénescence.

D'autre part, les composés de la chaîne de transport d'électrons, dont la synthèse est dépendante du génome mitochondrial (Figure 29), sont relativement plus vulnérables aux altérations que ceux dépendant du génome nucléaire (toujours à cause de la proximité du site de production des espèces réactives de l'oxygène).

Ainsi, il pourrait se produire un déséquilibre entre les composants de la chaîne respiratoire d'origine mitochondriale ou nucléaire, créant des conditions qui augmentent la possibilité d'autooxydation de certains transporteurs d'électrons et la formation d'ions superoxyde. Comme support de cette hypothèse on a démontré un déclin de l'activité cytochrome oxydase avec l'âge chez les mammifères.



**Figure 29 : Représentation simplifiée des cinq complexes de la chaîne respiratoire indiquant l'origine génétique des protéines la composant.**  
 ADNn : gènes nucléaires ; ADNmt : gènes mitochondriaux ; complexe I : NADH déshydrogénase ; complexe II : succinate déshydrogénase ; complexe III : ubiquinone cytochrome c réductase ; complexe IV : cytochrome c oxydase ; complexe V : ATP synthétase ; Q : ubiquinone ; C : cytochrome c ; TCA : cycle tricarboxylique (Krebs). (Lestienne, 1995).

Il est donc possible que deux mécanismes différents, c'est à dire les dommages oxydatifs directs de la membrane ou les altérations des composants de la chaîne respiratoire provenant de l'ADNmt, soient responsables de l'augmentation liée à l'âge de la libération de peroxyde d'hydrogène.

Or cette libération d' $H_2O_2$  dans le cytoplasme où il peut agir de façon néfaste en oxydant les protéines, (en affectant la distribution ionique ou la régulation des gènes, et en générant des radicaux libres), peut appuyer l'hypothèse de l'implication de la mitochondrie dans le processus de vieillissement.

Des études sur différentes espèces de mammifères ont établi la corrélation négative entre la production de  $O_2$  et d' $H_2O_2$  dans la mitochondrie et l'espérance de vie.

En résumé, il faut retenir que (Sohal et Brunk, 1992 ; Sohal et Dubey, 1994) :

- l'ADNmt est plus sensible aux dommages oxydatifs que l'ADN nucléaire.
- les radicaux oxygénés causent des modifications de bases et des cassures de brins au niveau de l'ADNmt *in vitro*, et des délétions *in vivo*.
- la production de radicaux libres par la mitochondrie augmente avec l'âge (Figure 30).
- les modifications de l'ADNmt augmentent avec l'âge (et en particulier le niveau de 8-OHdG).
- les mitochondries dans beaucoup voire tous les organes d'un individu âgé sont moins performantes que chez un individu jeune.

En fait, s'il est clair que les mitochondries et leur ADN ont une sensibilité particulière aux phénomènes de mutations et au dysfonctionnement énergétique qui augmentent avec l'âge, il n'est pas encore prouvé que les altérations qui en découlent soient des causes du vieillissement. Elles en seraient peut être même la conséquence.

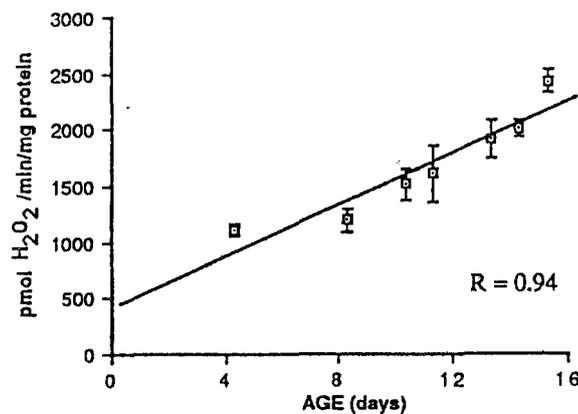


Figure 30 : Taux de production de peroxyde d'hydrogène par les mitochondries de mouches d'âges différents (Sohal et Sohal, 1991)

## **5-ALTÉRATION D'UN PROCESSUS PHYSIOLOGIQUE : L'IMMUNITÉ, ET LES RADICAUX LIBRES**

Le stress oxydatif par ses effets délétères au niveau cellulaire pourrait jouer un rôle dans la dérégulation du système immunitaire. Les réactions radicalaires vont provoquer :

- la synthèse de "néo antigènes"
- interférer dans la communication entre les cellules et dans les phénomènes de transduction
- affecter la sécrétion de cytokines et de prostaglandines
- induire l'activation de la guanylate cyclase

et de tout ceci résulte l'altération du programme normal de maturation des cellules, de sélection de clones et de l'expansion de cellules immunocompétentes.

Il a été suggéré que l'augmentation des manifestations autoimmunes avec l'âge pourrait être due à une diminution disproportionnée de la fonction des cellules T suppresses "radiosensitives", par rapport aux autres cellules de l'immunité. Ce déclin cellulaire aurait pour origine la hausse du niveau de réactions radicalaires avec l'âge.

Il semble exister un lien entre les phénomènes de stress oxydatif (théorie radicalaire) et l'intégrité du système immunitaire (théorie immunologique). Ces deux processus concourraient à la détérioration de l'organisme. Ces hypothèses sont soutenues par diverses expérimentations de supplémentation diététique en vitamine E (Brohée, Nève, 1994).

Une étude a été réalisée sur des souris mâles NZB, une espèce prédisposée aux réactions autoimmunes. La supplémentation de leur nourriture en vitamine E augmente la moyenne de leur espérance de vie.

(On note que les composantes du système immunitaire ne sont pas toutes affectées par le vieillissement. De même, la modification de l'une d'entre elles n'affecte pas nécessairement l'ensemble des réactions immunes).

## **6- SOUTIENS DE LA THÉORIE RADICALAIRE**

### **6.1-Etudes de Cutler**

Cutler (1992) a montré chez les mammifères une corrélation entre la longévité et le niveau d'activité métabolique spécifique de l'espèce.

Plus le métabolisme d'une espèce est élevé, plus sa longévité est courte.

Le métabolisme de base est la quantité d'énergie libérée dans l'organisme au repos, par unité de temps, à l'occasion du catabolisme des aliments et d'autres processus physiologiques.

La musaraigne possède le métabolisme le plus élevé de tous les mammifères. Elle a une durée de vie d'un an.

La chauve-souris a un métabolisme beaucoup plus faible, et a une longévité de plus de 15 ans.

Des espèces à vie courte comme les souris, les rats ont une consommation d'oxygène au repos beaucoup plus élevée que celle d'animaux qui vivent longtemps comme : les éléphants ou les hommes.

Un métabolisme plus élevé favoriserait l'accumulation d'erreurs dans le noyau (altération de l'ADN) et de lésions cellulaires (comme celles causées par les radicaux libres) réduisant ainsi la durée de vie (Timiras, 1997).

## 6.2- Rayonnements UV

Les mutations de l'ADNmt correspondant à une délétion 4977pb commence à apparaître à partir de la trentaine dans les tissus humains normaux. Cet âge auquel les mutations peuvent être détectées est abaissé pour une peau exposée au soleil par rapport à une peau non exposée.

De même, l'incidence des mutations est significativement plus importante pour une peau exposée que pour une non exposée (Figure 31).

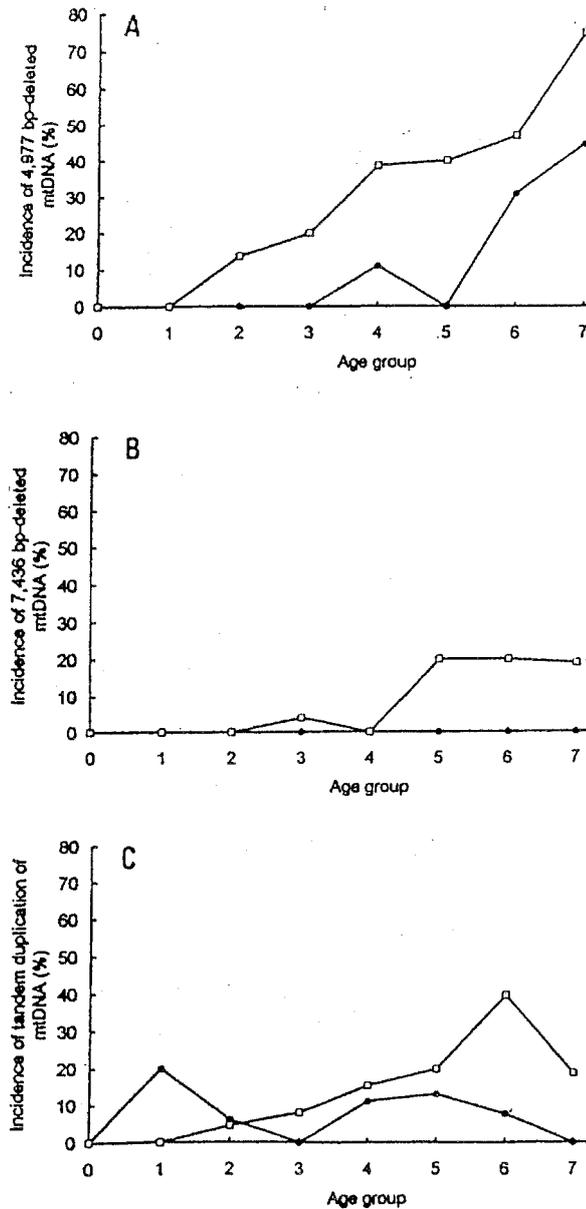
Les UVA et les UVB peuvent provoquer des coupures simple brin au niveau de l'ADN des cellules cutanées *in vitro*.

Les UV entraînent au niveau de la peau des réactions photochimiques. Il se produit une réaction photochimique primaire : modifications des états énergétiques d'atomes et de molécules par absorption de l'énergie des photons, d'où l'apparition d'états atomiques excités (singulet ou triplet) et de radicaux libres.

Puis il se produit des réactions photochimiques secondaires : les radicaux libres et les atomes excités interagissent avec les molécules du milieu environnant. On observe alors des phénomènes de lipoperoxydation, altérations de l'ADN, altérations de la matrice extracellulaire, et autres modifications qualitativement et quantitativement similaires à celles du vieillissement biologique.

On parle de vieillissement cutané photoinduit (ou actinique).

Toutefois les effets produits par les radicaux libres endogènes ne sont pas identiques à ceux résultant de radicaux similaires produits par exposition aux UV. Il existe même des marqueurs spécifiques du vieillissement cellulaire causé par les UV.



**Figure 31 : incidence de lésions de l'ADNmt**

A. Incidence de la lésion 4977 pb de l'ADNmt. B. Incidence de la lésion 7436 pb de l'ADNmt. C. Incidence de la duplication de la boucle D de l'ADNmt. dans la peau exposée (□) et non exposée (●) de sujets d'âges différents. Groupe 0 : 0 à 10 ans ; 1 : 11 à 20 ans ; 2 : 21 à 30 ans ; 3 : 31 à 40 ans ; 4 : 41 à 50 ans ; 5 : 51 à 60 ans ; 6 : 61 à 70 ans ; 7 : 71 à 90 ans. Aucun des sujets ne présentait de mutation 7436 bp dans la peau non exposée. L'incidence des mutations dans la peau exposée est toujours significativement plus élevée que pour la peau non exposée ( $p < 0,05$ ). (Yang et al., 1995).

### 6.3-Etudes diététiques et longévité

En procédant à des modifications diététiques, il est possible d'augmenter les défenses naturelles contre les radicaux libres et donc normalement la longévité d'après la théorie radicalaire.

#### 6.3.1- Réduction calorique

Une réduction calorique est accompagnée d'une diminution proportionnelle du flux d'oxygène à travers les cellules et les tissus ainsi que d'une diminution de l'utilisation de l'oxygène dans les mitochondries. Ceci entraîne une diminution de la production d'espèces activées de l'oxygène.

Des études ont prouvé qu'une réduction de la consommation de calories est associée à la fois à une augmentation de la moyenne et du maximum d'espérance de vie.

Par exemple, si on diminue de 40% la consommation calorique chez le rat, en maintenant les apports en nutriments essentiels, la moyenne d'espérance de vie augmente de 40 % et le maximum de 47% (Yu et al. ,1982).

Toutefois, d'autres études montrent que des restrictions caloriques à court terme (10 semaines), n'affectent pas les indicateurs de la capacité antioxydante, le stress oxydatif et les concentrations de vitamine E, A et du bêta-carotène dans le sang. (Wierik et al., 1995).

#### 6.3.2- Apport d'antioxydants en restriction en prooxydants

Si les dommages oxydatifs ont un rôle primordial dans le mécanisme de vieillissement, l'apport de substances antioxydantes de même que la diminution dans l'alimentation de composés qui favorisent les réactions radicalaires tels que: le Cu, les lipides polyinsaturés, les acides aminés facilement oxydables, devrait permettre l'augmentation de la durée de vie.

- Expérimentalement, il apparaît qu'une augmentation de la consommation alimentaire d'acides aminés facilement oxydables influe sur l'espérance de vie. Si on ajoute 1% (par kg de poids) d'histidine ou de lysine à une diète semi-synthétique contenant 20 % (par kg de poids) de caséine comme seule source de protéines, la moyenne d'espérance de vie diminue respectivement de 5 et 6%. Et si on remplace la caséine par des protéines de graines de soja (contenant une quantité plus faible d'acides aminés facilement oxydables), l'espérance de vie augmente de 13% (Harman,1978).

- Certaines recherches ont montré cette relation entre antioxydants et longévité (Bernstein et Bernstein,1991) ou la relation inverse entre prooxydants et longévité.

Mais par ailleurs, Bozavic et Enesco (1986) ont classé les antioxydants en cinq groupes et seuls deux d'entre eux sont capables d'influer positivement sur la durée de vie des espèces.

- Des diètes antioxydantes semblent augmenter la moyenne de durée de vie (Harman, 1986). Par exemple, l'addition de 1% (par kg de poids) de 2 mercaptoéthylamine à la nourriture d'une souris mâle LAF1, commencée rapidement après le sevrage, augmente la moyenne d'espérance de vie de 30% (Jadot, 1994).

- Une déficience d'apport en antioxydant peut provoquer des changements évoquant ceux qui accompagnent le vieillissement. Si on compare les tissus au niveau des surrénales de rats jeunes soumis à une alimentation déficiente en vitamine E et ceux de rats âgés, on observe des altérations remarquablement similaires (augmentation de la formation de lipides peroxydés et du contenu en protéines carbonylées, soit une augmentation des phénomènes d'oxydation des lipides et des protéines). Il en est de même au niveau cérébral (Azhar et al., 1995 ; Bertoni-Freddari, 1995).

- L'apport d'antioxydants freine les réactions radicalaires :

\* Des lymphocytes humains sont cultivés *in vitro* et exposés à des systèmes générateurs de radicaux libres. Si on ajoute de la vitamine E à cette culture, on observe une diminution du taux de lipides membranaires peroxydés (Bendich, 1990).

\* Le PBN (N-tert-alpha-phenyl-butyl-nitron) est un puissant piègeur de radicaux libres. Lorsqu'on l'injecte de façon chronique à des souris SAMP8, présentant un vieillissement accéléré, un allongement de leur durée de vie est observable après trois mois.

De même, des rongeurs âgés présentent des troubles biochimiques au niveau cérébral et des troubles du comportement. On leur administre du PBN pendant 14 jours et leurs troubles disparaissent, ils deviennent biochimiquement et comportementalement indiscernables des jeunes rongeurs (Edamatsu et al., 1995).

\* l'association de vitamine C et E chez le patient âgé, affecté d'accident vasculaire cérébral, a été testée. L'administration quotidienne de 1200 mg de vitamine C et de 300 mg de vitamine E pendant 21 jours diminue significativement le taux de malondialdéhyde (marqueur de la peroxydation lipidique et du vieillissement). (Courtière et al., 1989).

\* les antioxydants et les composés qui bloquent les sucres réactifs et les intermédiaires dicarbonylés ont été testés sur un plan pharmacologique en tant qu'inhibiteurs de la formation des AGE.

Une restriction calorique chez le rat entraîne une augmentation de la durée de l'espérance de vie parallèlement à une diminution de l'accumulation des AGE (Baynes, 1995).

\* Il existe à l'heure actuelle divers médicaments antioxydants.

Ex : Bio-Selenium<sup>R</sup>, Betaselen<sup>R</sup>, Selenium ACE<sup>R</sup>,...

Ils contiennent un antioxydant minéral ou organique, seul ou en association.

Des études cliniques, réalisées avec des associations d'antioxydants, menées en double aveugle contre placebo, ont mis en évidence une diminution significative des phénomènes de lipoperoxydation (Jadot et *al.*, 1991).

\* les fumeurs inhalent des concentrations extrêmement élevées de radicaux libres présents dans les phases gazeuse et goudronneuse de la fumée de cigarette. Ces radicaux libres vont promouvoir la lipoperoxydation dans les cellules de l'organisme. Le débit de pentane dans l'haleine est un bon indicateur de cette réaction :

- ce débit est accru chez des fumeurs présentant des taux plasmatiques normaux de vitamine E et de Se par rapport aux non fumeurs

- la supplémentation en vitamine E diminue le taux de pentane dans l'haleine chez des sujets sains

- chez certains fumeurs les taux de GPx dépendant du Se sont plus bas que pour d'autres

- lorsque les fumeurs reçoivent une supplémentation en vitamine E, le débit de pentane diminue significativement (même s'il reste toujours supérieur à celui des non fumeurs). De plus, ce supplément permet de normaliser les concentrations de GPx (Hoshino et *al.*, 1990).

Toutefois, il faut se méfier puisqu'il a été montré qu'une diète supplémentée en antioxydants peut diminuer la synthèse endogène d'antioxydants et donc annuler l'effet bénéfique attendu de la supplémentation.

De plus, il faut noter qu'un antioxydant deviendra toxique au-delà d'un certain niveau de consommation. Par exemple, le BHT (butylated hydroxytoluene) a un effet adverse marqué sur la fonction mitochondriale, chez la souris, à un taux supérieur à 0,5% de son poids (Horrum et *al.*, 1987).

Les études nous apprennent que la diminution des réactions radicalaires endogènes par les antioxydants ou par la modification de l'alimentation s'accompagne d'une augmentation de la moyenne d'espérance de vie mais n'a que très peu d'effets, voire pas du tout, sur la durée de vie maximum.

Ceci peut s'expliquer par le fait que la fonction mitochondriale est diminuée par les antioxydants à des concentrations inférieures à celles nécessaires pour ralentir les réactions radicalaires (Fleming et *al.*, 1982).

#### 6.4- Antioxydants : protecteurs des pathologies liées au vieillissement ?

Les thérapeutiques antioxydantes sont encore peu connues chez l'homme. Chez l'animal, les nombreux résultats obtenus sont significatifs mais pas forcément transposables à l'homme.

Des études épidémiologiques menées aux Etats Unis nous indiquent que l'addition de substances antioxydantes dans les conserves alimentaires a fait diminuer considérablement le risque de cancers.

De même, les populations qui ont une nourriture bien équilibrée (riche en vitamines et en oligoéléments essentiels) sont moins atteintes par des affections qui sont en relation étroite avec le vieillissement.

L'hypothèse d'une action spécifique des antioxydants freinant le vieillissement serait probable et est appuyée par les observations suivantes :

- des molécules telles que le bêta carotène agissent sur la lipoperoxydation
- les médicaments "antioxydants" ont prouvé leur effet bénéfique dans diverses maladies dégénératives qui sont directement impliquées dans le vieillissement.
- dans le domaine du vieillissement cérébral pathologique, quand on administre de la Cu-SOD (encapsulée dans des liposomes) à des malades atteints de la maladie d'Alzheimer, on obtient des résultats prometteurs. Les professeurs J.Richard et P.Tissot (Genève) ont montré des effets bénéfiques de cette molécule avec entre autres une baisse significative des lipoperoxydes.
- le cristallin de l'oeil est continuellement exposé à la lumière et à l'oxygène ambiant. Il est très sensible à la peroxydation lipidique induite par la lumière. Il est admis que l'oxydation, en particulier au niveau de la membrane cellulaire du cristallin, est un évènement précoce et important dans l'évolution de la plupart des cataractes séniles. Les produits de la peroxydation lipidique sont significativement accrus de deux à quatre fois dans la cataracte sénile de l'homme ou dans la cataracte induite chez le lapin et le rat.

Etudes animales réalisées :

\* des cristallins de rats isolés sont soumis à des radiations. On observe des lésions de membranes immédiatement après l'irradiation et une dégénérescence cellulaire progressive après 24 heures.

L'addition de vitamine E au milieu a permis d'abaisser le degré et l'étendue de la formation de cataracte.

\* des cristallins isolés sont maintenus dans un milieu liquide et exposés à la lumière pendant 21 heures. Le taux de peroxydation lipidique est alors quintuplé par rapport aux témoins. Si on ajoute de la vitamine E, cette augmentation n'a pas lieu.

Etudes chez l'homme :

\* des études épidémiologiques ont montré une corrélation entre l'apport nutritionnel en antioxydants et l'incidence des cataractes séniles.

\* les personnes prenant régulièrement un supplément de vitamine E ont un risque de développer une cataracte nettement abaissé par rapport à ceux qui n'en prennent pas. De même, ces résultats s'observent pour des gens se supplémentant en vitamine C.

La vitamine E a un rôle protecteur dans la cataractogénèse par piégeage des radicaux libres avant qu'ils ne puissent endommager les membranes cellulaires ou autres macromolécules.

En France, une grande étude appelée SUVIMAX (S. Herberg, coordinateur du projet) a débuté il y a quelque années (1994). Elle doit répondre à la question : quel est l'impact d'une supplémentation antioxydante sur la prévention des grandes pathologies? C'est à dire qu'il s'agit d'étudier les effets d'une supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants (béta-carotène, vitamine E, vitamine C, Se et Zn) sur l'incidence des cancers, des maladies cardiovasculaires, de la cataracte, des infections et sur la morbidité ressentie (Jadot, 1994).

### 6.5- Variations des moyens de défenses avec l'âge

La théorie radicalaire suggère que le système de protection contre les radicaux libres devient défectueux avec l'âge (Harman, 1956).

En ce qui concerne le niveau des enzymes de protection antioxydantes, il a été démontré qu'au-delà de 60 ans, les taux de glutathion peroxydases plasmatiques et érythrocytaires chutent de manière continue. Chez l'homme, le taux de GSH chute de 50% entre 20 et 65 ans.

De plus, on retrouve un point commun à trois pathologies associées à un processus de vieillissement accéléré : une déficience en GSH (Chaudière, 1995).

- les sujets diabétiques présentent un vieillissement vasculaire précoce. On constate chez eux une chute de GSH et une augmentation de GSSG .

- la cataracte correspond à un vieillissement précoce du cristallin. Dans la cataracte humaine on observe aussi une diminution importante de ce taux.

- le SIDA, vieillissement à immunodéficiência associée ; les sujets séropositifs ont un taux de GSH plasmatique très diminué.

Le taux de GSH diminue dans le cerveau de rats âgés, la GPx reste constante, et le taux de GSSG baisse très faiblement. Ainsi l'index redox du glutathion est abaissé lors du vieillissement.

Cette déplétion en GSH peut affecter divers enzymes : la glutathion synthétase, la glutathion peroxydase, la glutathion transferase,....rendant les cellules plus sensibles aux attaques radicalaires.

L'inéfficacité de réponse chez l'animal âgé à un stress oxydatif peut entraîner l'augmentation des dommages de l'ADN et des systèmes de transcription et de traduction.

On peut donc penser que la chute avec l'âge des taux de glutathion réduit joue un rôle dans le processus de vieillissement.

Mais cette variation ne s'applique pas du tout à tous les systèmes protecteurs, et les résultats concernant les taux d'antioxydants en fonction de l'âge sont très variables d'une molécule à l'autre.

Les changements du vieillissement physiologique concernant la SOD dans le cerveau sont très controversés. Des études suggèrent un déclin avec l'âge, principalement de la forme Cu/Zn. Cependant, d'autres études ne rapportent aucun changement de cette forme et une augmentation de la Mn-SOD.

Les fluctuations d'activités des enzymes de défense avec l'âge ne suivent pas de règle générale (Barnett et King, 1995).

Plusieurs études menées sur différentes espèces n'ont révélé aucun déclin significatif dans les défenses antioxydantes avec l'âge. Elles n'ont pas permis non plus d'établir de lien entre les défenses antioxydantes et la longévité chez ces espèces (Sohal et Sohal, 1990). D'autres études montrent une diminution avec l'âge (cf. Partie I, 4.1).

Il est important de noter toutefois que l'inductibilité de ces enzymes est souvent bien différente chez un sujet âgé ou chez un sujet jeune. C'est le cas par exemple pour la SOD lymphocytaire : après incubation des cellules avec du paraquat *in vitro*, l'induction de l'activité de l'enzyme est de + 85% pour des sujets entre 20 et 40 ans alors qu'elle n'est que de + 8% pour des sujets entre 65 et 79 ans.

Ces altérations d'activités peuvent provenir de modifications post traductionnelles telles que des erreurs de résidus acides aminés, des changements de conformation....

Il s'en suit une diminution de la capacité de l'organisme à faire face à un stress oxydatif (Machado et al., 1991 ; Azhar et al., 1995).

## 6.6- Antigène de sénescence

- La distinction des cellules vieillissantes des autres cellules par les mononucléaires (phagocytes) dépend de l'apparition d'un néoantigène à la surface des cellules sénescents, qui agit comme un signal spécifique pour la "fin" de ces cellules.

Les résultats d'une étude sur des érythrocytes mettent en évidence que l'antigène de la sénescence est formé dans les membranes de ces cellules suite à un stress oxydatif.

La formation de cet antigène est accompagnée de dommages oxydatifs au niveau des protéines membranaires menant à la formation de protéines carbonylées.

L'incubation aérobie d'érythrocytes dans des conditions imitant un vieillissement accéléré *in vitro* induit la libération progressive de fer et la formation de méthémoglobine.

Cette libération de fer aboutit à la formation de l'antigène de sénescence.

Aucune libération ne se produit dans les conditions anaérobies et l'antigène ne se forme pas.

La diminution progressive et marquée du contenu en fer libre se produit dans les érythrocytes âgées .

Des agents oxydants (ex : la phénylhydrazine) induisent à la fois la libération de fer et la production de l'antigène de sénescence.

- La ferrozine est chélateur du fer ( $Fe^{2+}$ ).

La présence de ferrozine durant l'incubation aérobie prévient les altérations des protéines membranaires, suggérant que la libération de fer est liée aux dommages oxydatifs des protéines et que de tels dommages conduisent finalement à l'apparition de l'antigène de sénescence.

N.B. : On remarque que le fer libéré à partir de l'hémoglobine est sous forme  $Fe^{3+}$ , or la ferrozine chélate le fer  $Fe^{2+}$ . Il est possible que les agents réducteurs à haute concentration dans les globules rouges puissent réduire immédiatement le fer, le rendant ainsi accessible à la ferrozine.

Donc, le fer est un composé redox actif, capable d'induire la formation de l'antigène de sénescence par une oxydation modérée des protéines membranaires. Le mécanisme de cette oxydation a beaucoup été étudié. Brièvement, un cation capable de réactions d'oxydo-réduction se lie à un site de fixation de cation sur les protéines. La réaction avec de l'oxygène ou du peroxyde d'hydrogène génère des radicaux libres oxygénés qui oxydent les résidus acides aminés au niveau ou près du site de fixation du cation. Il est probable que le fer libéré se lie de cette façon sur les protéines et entraîne ainsi des dommages oxydatifs.

En conclusion, la libération de fer de l'hémoglobine peut constituer un facteur majeur dans le vieillissement physiologique des érythrocytes.

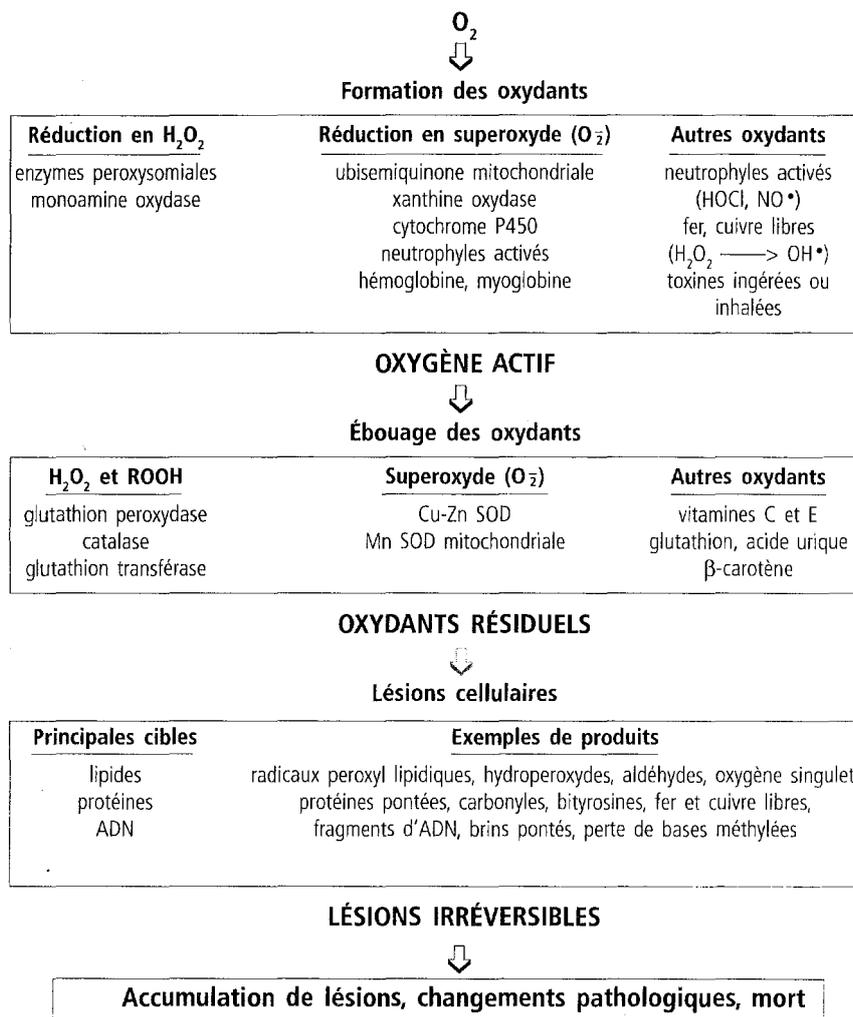
Une oxydation légère mais continue de l'hémoglobine peut produire une libération continue de fer ayant pour conséquence des modifications oxydatives des protéines membranaires. Ces événements peuvent entraîner la formation de l'antigène de sénescence et la fixation d'Ig (Signorini et *al.*, 1995).

## CONCLUSION

Jusqu'à aujourd'hui, de nombreuses données ont été apportées sur l'implication des radicaux libres dans divers processus biologiques.

Les mutations au niveau de gènes essentiels, en association avec les altérations au niveau des protéines et des lipides, générées par les attaques radicalaires peuvent entraîner la dégradation des éléments structuraux de cellules, de tissus ou d'organes menant à un déclin des fonctions biologiques et éventuellement à la maladie et à la mort (Figure 32). La longévité semble pouvoir être améliorée en se protégeant des radicaux libres (antioxydants).

On ne peut toutefois pas encore affirmer que les réactions radicalaires sont exclusivement à l'origine du processus de vieillissement (Kowald et Kirkwood, 1996).



**Figure 32 : Schéma illustrant comment les radicaux libres et les antioxydants peuvent influencer le vieillissement**  
(Timiras, 1997)

## B - AUTRES THÉORIES

### 1- THÉORIE DE LA RESTRICTION DES CODONS

L'ensemble de l'information génétique contenue dans l'ADN sert à diriger la structure et le fonctionnement de l'organisme. Mais une partie seulement est utilisée par la cellule à un moment donné. Pour cela, l'ADN est transcrit en préARNm dans le noyau. Puis, l'ARNm mûre est obtenu par excision des introns et par épissage. Il sera traduit en protéine dans le cytoplasme. Cette lecture est assurée principalement par les ARN de transfert (ARNt) et les aminoacyl ARNt synthétases. L'unité de lecture est le codon (ou triplet) sur la molécule d'ARNm. Un codon est constitué par 3 nucléotides et code pour un acide aminé.

Processus d'aminocéthylation :  $AA + \text{ARNt} \xrightarrow{\text{ARNt synthetase}} AA\text{-ARNt}$

Il existe une grande spécificité de l'enzyme synthétase pour un acide aminé donné. De même, que pour un ARNt donné.

Plusieurs ARNt peuvent être spécifiques d'un même acide aminé. Ces ARNt sont dits isoaccepteurs.

Des changements au niveau de ces molécules pourraient être à l'origine de modifications des taux de traduction.

La théorie de la restriction des codons propose l'hypothèse qu'avec l'âge, la fidélité ou l'exactitude de la traduction diminue et ceci à cause de la baisse de capacité de la cellule à décoder les triplets de la molécule d'ARNm.

Des variations au niveau des taux d'isoaccepteurs, au niveau de l'aminocéthylation ou encore dans la spécificité des enzymes pourraient être à l'origine d'altérations du décodage et de l'apparition de protéines défectueuses (ex. : par incorporation de faux acides aminés).

La traduction est un facteur clé dans la maintenance de l'activité normale des cellules.

Des données expérimentales soutiennent cette hypothèse :

- des changements quantitatifs des ARNt et de leur synthétases ont été mis en évidence au cours du développement d'insectes *Tenebrio molitor* .
- des modifications quantitatives des isoaccepteurs et d'ARNt se produisent au cours du vieillissement du nématode *Turbatrix aceti* .
- l'ARNt de *Drosophila melanogaster* de 35 jours ne peut pas être aminocéthylé aussi efficacement que celui de la mouche de 5 jours.

- l'aminocéthylation est réduite dans les cellules du parenchyme hépatique de rats âgés.

- les isoaccepteurs d'ARNt qui proviennent de fibroblastes humains sont en quantité moindre dans les cellules sénescents que dans les cellules jeunes.

Toutefois, il manque beaucoup d'appuis à cette théorie et ces faits ne peuvent expliquer à eux seuls le processus de vieillissement (Zeni, 1986 ; Timiras, 1997).

## 2- THÉORIE DES CATASTROPHES D'ERREURS

- Medvedev (1972) fut le premier à suggérer que des erreurs dans le transfert de l'information de l'ADN aux protéines pouvaient être à l'origine du vieillissement cellulaire.

La théorie d'Orgel proposée en 1963 émet l'hypothèse que le vieillissement peut être la conséquence de l'accumulation avec l'âge de protéines défectueuses.

La synthèse de ces protéines défectueuses serait due à des erreurs de transcription, telles que l'incorporation de faux nucléotides dans l'ARNm, ou de traduction, telle que l'incorporation de faux acides aminés.

Or si des erreurs semblables se produisent au niveau des protéines responsables de la transcription (ARN polymérase), et de la traduction (ARNt synthétase), le phénomène de synthèse de protéines défectueuses sera alors amplifié.

De même, Orgel précise que cette accumulation d'erreurs s'accroît de façon exponentielle à cause de l'altération des processus de contrôle de qualité et de réparation du matériel génétique (cf. théorie des mutations).

Cette perte dans la fidélité de synthèse conduirait à un dysfonctionnement de la cellule et même à sa mort (Kahn, 1996).

- Des expérimentations menées par Holliday et Tarant (1972) ont permis de soutenir cette théorie. Ils ont montré l'accumulation d'enzymes inactives : la glucose 6 phosphate deshydrogénase, la 6 phosphogluconate deshydrogénase et la lactate deshydrogénase, dans des cultures vieillissantes de fibroblastes humains (inactives : augmentation de la fraction thermolabile et diminution de la spécificité de substrats).

Ces études ont été confirmées sur des fibroblastes humains et une augmentation avec l'âge des formes inactives de l'aldolase dans le foie de souris a été observée.

Diverses recherches ont prouvé que des enzymes fonctionnellement altérées ont tendance à s'accumuler dans différents tissus animaux avec l'âge.

- Toutefois, des chercheurs ont expliqué cette inactivation non pas par des erreurs au niveau de la synthèse mais par une diminution de cette synthèse de protéines (cf. Partie I, 4.1).

D'autre part, Houben et Remacle (1978) avaient expliqué l'apparition de modifications structurales et du fonctionnement des enzymes au cours du vieillissement, par des mécanismes se produisant après leur biosynthèse, post-traductionnelles (par exemple : modification de leur conformation).

C'est le cas de l'aldolase A de muscles de jeunes lapins qui a une conformation différente de celle d'animaux âgés.

D'autres résultats vont à l'encontre de cette théorie :

- . pour certaines enzymes le taux d'activité reste constant avec le temps et même augmente parfois.

- . l'incorporation d'analogues d'acides aminés et de bases d'ARN lors de la synthèse des protéines dans des cultures de drosophiles et de fibroblastes humains n'ont pas d'action sur leur durée de vie.

- . les travaux de Wright et Hayflick (1975) consistèrent en la fusion de cellules humaines âgées énucléées et de cellules jeunes entières. Si les changements dégénératifs du vieillissement étaient d'origine cytoplasmique, comme le suggère la théorie d'Orgel, le cytoplasme des cellules jeunes aurait permis de régénérer les cellules vieilles, ce qui n'a pas été le cas.

De plus, de jeunes cellules avec un vieux cytoplasme et de jeunes cellules avec leur cytoplasme grandissent autant.

Donc la sénescence cellulaire serait plutôt due à des événements sous contrôle nucléaire que cytoplasmique.

- . s'il survenait des erreurs lors de la transcription ou de la traduction, on devrait retrouver des défauts dans toutes les protéines, ce qui n'est pas le cas chez l'animal âgé.

- Plus tard, Orgel revoit sa théorie et tout en maintenant le concept d'une propagation en chaîne de facteurs défavorables à la cellule, il propose différentes origines à ce processus de dégradation : erreurs de synthèse des protéines mais aussi, mutations de l'ADN nucléaire et mitochondrial, dommages au niveau de membranes par les radicaux libres, pontages entre les molécules ....

Cette théorie regroupe donc une série d'hypothèses concernant le facteur déclenchant de la déficience cellulaire. Tous ces facteurs pourraient être reliés les uns aux autres.

Plusieurs auteurs font le rapprochement entre cette théorie et celle des mutations somatiques (Hayflick, 1985 ; Hamarsy, 1986 ; Treton et Courtois, 1986 ; Zeni, 1986).

### 3- THÉORIE DES MUTATIONS SOMATIQUES

#### 3.1- Définition, origines, études

Les mutations résultent au moment de la division cellulaire de la modification brutale d'un segment plus ou moins étendu de la molécule d'ADN qui constitue le chromosome. Il existe des mutations ponctuelles (fraction de gène), génétiques (plusieurs gènes), ou segmentaires (volumineux segment de gène).

Elles peuvent se faire par délétion, insertion, duplication, ou encore translocation.

Des études chez l'homme indiquent que la fréquence d'hétéropléidie, de cassures et de réarrangements structuraux de chromosomes est six fois plus élevée chez les sujets de 60 ans que chez les adultes jeunes (non fumeurs).

En 1959, Szilard propose une théorie selon laquelle les mutations qui surviennent au hasard et spontanément entraînent des erreurs de synthèse au niveau du génome. Il en découle une diminution de la production d'enzymes fonctionnelles qui, au delà d'un taux critique, conduit à la sénescence cellulaire.

Pour Szilard, les gènes sont touchés par un événement mutationnel de façon récessive. Et une paire de chromosomes doit être atteinte à un niveau particulier et dans un nombre suffisant de cellules pour induire l'expression phénotypique. D'autres postulèrent pour des mutations dominantes comme cause du vieillissement.

Cette théorie s'appuie principalement sur des études d'irradiations (Curtis et Miller, 1971). Les rayons X sont mutagènes.

. La fréquence des aberrations chromosomiques est plus élevée dans les cellules du foie des souris irradiées que dans celles des souris non irradiées. Et l'irradiation entraîne un raccourcissement de la durée de vie (effet dose dépendant).

. Les aberrations dans les cellules de souris d'une souche de vie courte sont quantitativement beaucoup plus importantes que pour des souris d'une souche de vie longue.

Mais, cela ne s'est pas vérifié pour toutes les espèces étudiées.

Il a été montré que la longévité de certaines espèces pouvait être aussi augmentée par irradiation.

De plus, les vieux animaux irradiés devraient présenter des signes de vieillissement accéléré comme les animaux traités par des agents mutagènes, mais ce n'est pas le cas (Hayflick, 1985).

Des travaux de Curtis ont aussi mis en évidence que l'irradiation par des neutrons de cellules ne se divisant pas peut produire des aberrations dans plus de 50 % des cellules sans que la durée de vie de celles - ci ne soit affectée.

Divers agents chimiques qui altèrent la structure de l'ADN sont sans effet sur la longévité. L'exposition de fibroblastes de poumons foetaux humains à la colchicine entraîne la formation de 60 % de cellules tétraploïdes ( avec 4 jeux de chromosomes). Mais ces dernières ont le même taux de croissance et la même durée de vie que les cellules diploïdes.

De plus, si ces mutations peuvent avoir des effets très néfastes sur les cellules qui ne se divisent pas (ex. : cellules nerveuses), elles sont relativement moins "dangereuses" quand elles touchent des cellules qui se divisent, puisque celles - ci sont remplacées au profit de cellules saines.

L'hypothèse de Szilard prédit que les organismes diploïdes vivraient plus longtemps que leurs homologues haploïdes qui n'ont qu'une série de chromosomes.

. Chez les guêpes *Habrabracon* , il existe des mâles haploïdes et des mâles diploïdes. Or les deux variétés ont une durée de vie identique. Les mâles diploïdes sont moins sensibles aux radiations ionisantes que les haploïdes puisqu'ils ont un plus grand nombre de chromosomes réparables. Pourtant cela ne leur procure pas une meilleure résistance.

. Chez l'humain, les femmes ont deux chromosomes sexuels identiques (XX) alors que les hommes ont un chromosome X et un chromosome Y. Dans d'autres espèces, c'est le contraire. Mais dans la plupart des espèces c'est la femme qui vit le plus longtemps, donc quelque soit la composition chromosomique. Ces observations vont à l'encontre de la théorie des mutations (et prouvent l'absence d'influence des chromosomes sexuels).

### 3.2- Protéine p53

La théorie des mutations somatiques peut être soutenue par les observations concernant le gène p53 (suppresseur de tumeur). Ce gène code pour une phosphoprotéine nucléaire de 53000 D (p53) qui peut fonctionner comme un inhibiteur de la croissance cellulaire. Un mécanisme par lequel p53 est supposée agir sur la régulation de la croissance a été envisagé : cette protéine se lierait à l'ADN de façon spécifique par rapport à une séquence et en activant la transcription de gènes inhibant la croissance tels que le gène codant p21. La protéine p21 kDa inhibe entre autre l'activité des protéines kinases dépendantes des cyclines.

Dans une cellule normale, le gène p53 est inactif. Si les cellules sont atteintes de lésions de l'ADN on peut observer à l'activation du gène p53. Ceci induit l'augmentation de l'expression de la protéine p53 et la transcription de différents gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN.

Dans certaines conditions, qui ne sont pas encore complètement comprises, l'activation de p53 peut mener à l'apoptose.

Les cellules de mammifères traitées par des agents qui entraînent des dommages de l'ADN présentent une augmentation du taux de p53, un arrêt en phase G1 du cycle cellulaire et une réponse apoptotique dépendante de p53.

Des scientifiques ont suggéré l'hypothèse que p53 est un composant de contrôle du cycle cellulaire qui inhibe la progression des cellules à travers le cycle jusqu'à ce que les dommages de l'ADN soient réparés ou pour que la cellule soit dirigée vers l'apoptose.

Cette proposition a été faite suite aux observations suivantes :

- la surexpression de p53 inhibe la prolifération cellulaire
- au contraire, l'inhibition de la fonction p53 permet l'extension de la durée de vie proliférative des fibroblastes humains.

Toutefois des études prouvent que p53 n'a pas de rôle direct sur l'efficacité de réparation de l'ADN. Et cette hypothèse suppose qu'une cellule déficiente en p53 va avoir une réponse apoptotique anormale et présenter un phénotype mutant, ce qui n'est pas pour l'instant démontré.

On a examiné l'expression et l'activité de p53 au cours du vieillissement. Mais les résultats ne sont pas clairs. Des taux identiques d'ARNm de p53 et de protéines p53 sont exprimés dans les cellules jeunes et les cellules vieilles.

Mais l'activité de fixation à l'ADN *in vitro* et l'activité de transcription de p53 *in vivo* sont fortement augmentées dans la cellule âgée.

Les résultats de nombreuses recherches, en tous cas, prouvent l'implication de l'activation d'une protéine dans le contrôle du cycle cellulaire durant le vieillissement, en l'absence d'une élévation de son expression.

L'expression de p21 augmente 10 à 20 fois quand les fibroblastes diploïdes humains perdent leur capacité de réplication (Atadja *et al.*, 1995 ; Sand *et al.*, 1995 ; Sobczak, 1995 ; Yeargin *et al.*, 1995).

### 3.3- Réparation de l'ADN

Cette hypothèse implique d'autre part que des anomalies au niveau des mécanismes de réparation de l'ADN, qui favoriseraient l'accumulation de mutations, pourraient être en partie responsable de la sénescence (l'accumulation de mutations serait alors une conséquence plus qu'une cause du vieillissement).

Il existe d'ailleurs une relation entre la longévité des espèces et leur capacité de réparation de l'ADN. Par exemple, chez la souris, la déficience de ces systèmes comparée à leur haute performance chez l'homme pourrait expliquer la sénescence accélérée de ces petits mammifères.

Ou encore l'activité de la poly(ADP-ribose) polymérase, enzyme qui contribue à la réparation de l'ADN, est plus élevée chez les mammifères à longévité supérieure. Elle permet de mieux préserver l'intégrité et la stabilité du génome au cours d'une longue vie.

En fait, on ne sait pas exactement si cette augmentation des mutations est due à une susceptibilité accrue de l'ADN aux dommages ou à une baisse de la capacité de réparation de l'ADN avec l'âge (Grist *et al.*, 1992 ; Evans *et al.*, 1995).

Toutefois, certaines expérimentations peuvent être invoquées pour supporter le rôle de la réparation de l'ADN dans le processus de vieillissement.

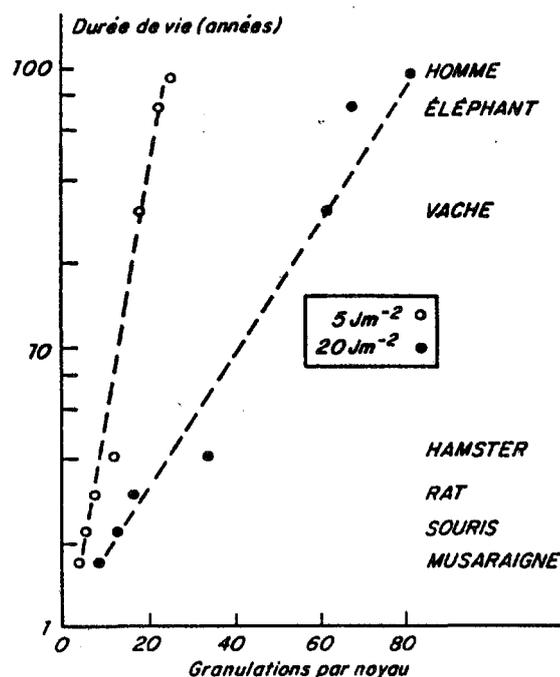
. Les recherches de Hart et Setlow publiées en 1974, montrent une relation entre la capacité de réparation de l'ADN de fibroblastes (cellules jeunes de tissu de soutien fibreux) prélevés chez des animaux appartenant à diverses espèces, et des durées de vie différentes.

Après exposition à des doses toxiques de rayons UV et addition ultérieure de thymidine marquée, on étudie la réparation de l'ADN altéré. En conclusion, il existe une relation étroite entre le degré de synthèse d'ADN néoformé, traduisant la capacité de réparation du génome, et la durée de vie des espèces. En fait, on observe une relation linéaire entre la capacité de réparation de l'ADN et la longévité (Figure 33).

. On a cherché ensuite à montrer une atténuation de l'efficacité des systèmes de réparation de l'ADN dans les cellules âgées ou dans des cultures vieillissantes. Les résultats ne sont alors pas suffisamment clairs pour pouvoir établir une véritable corrélation entre la réparation de l'ensemble du génome et le processus de sénescence (Tice et Setlow, 1985).

. On a constaté un déclin de 0,6 % par an de la capacité de réparation des lésions induites par des UV dans les fibroblastes primaires de la peau, accompagné d'une augmentation de 0,6 % par an de la mutabilité de ces cellules après UV (Sage, 1995).

. Certaines maladies génétiques induisant des signes de vieillissement prématuré et une hypersensibilité aux UV sont caractérisées par des défauts dans le système de réparation de l'ADN. Ex. : Xeroderma pigmentosum ; Syndrome de Cockayne (cf. Partie III, 1.3) (Barnett et King, 1995).



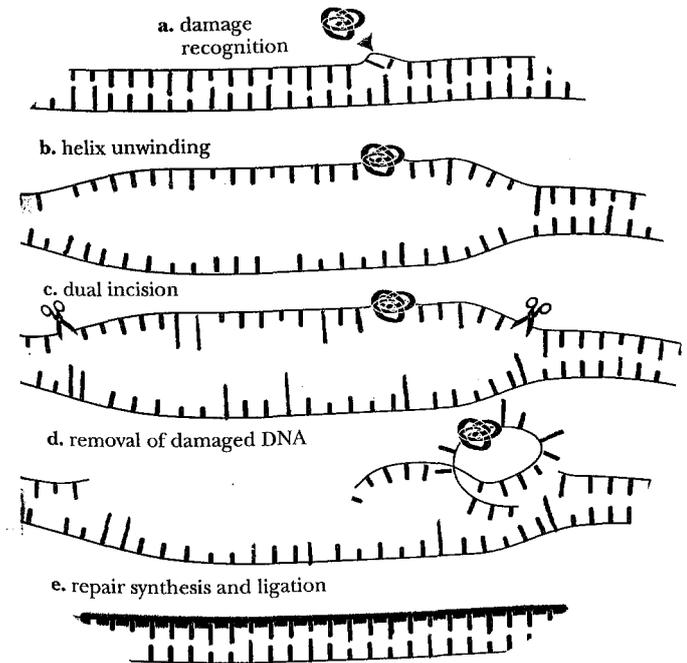
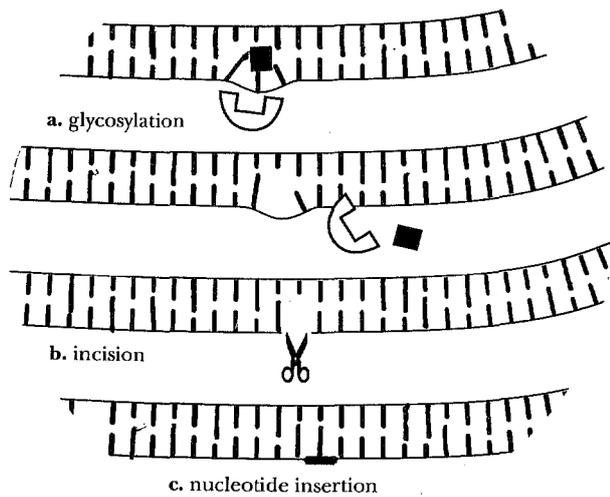
**Figure 33 : Longévité et capacité de réparation de l'ADN.**

Des fibroblastes jeunes (cellules de tissu de soutien) de diverses espèces animales ont été mis en culture, ensuite exposés à l'action nocive de rayons UV à deux doses d'intensité. Ces traitements ont produit des altérations de l'ADN des noyaux, d'autant plus graves que la dose était plus élevée. De la thymidine marquée a été ajoutée à la culture. Ce composé fournit de la thymine, une des bases formant l'ADN. Ce produit doit donc être incorporé en dehors du programme normal, pour permettre la réparation de la molécule d'ADN endommagée. L'incorporation se traduit par l'apparition de grains radioactifs sur les cellules endommagées. Le nombre de granules par noyau indique la quantité de la substance incorporée pour la réparation de l'ADN. La figure montre, pour les deux doses de radioactivité et donc les deux degrés de dommages, l'intensité des processus de réparation par synthèse hors programme normal. A l'échelle logarithmique, celle-ci correspond à la durée de vie maximale de l'espèce considérée (Hart et Setlow).

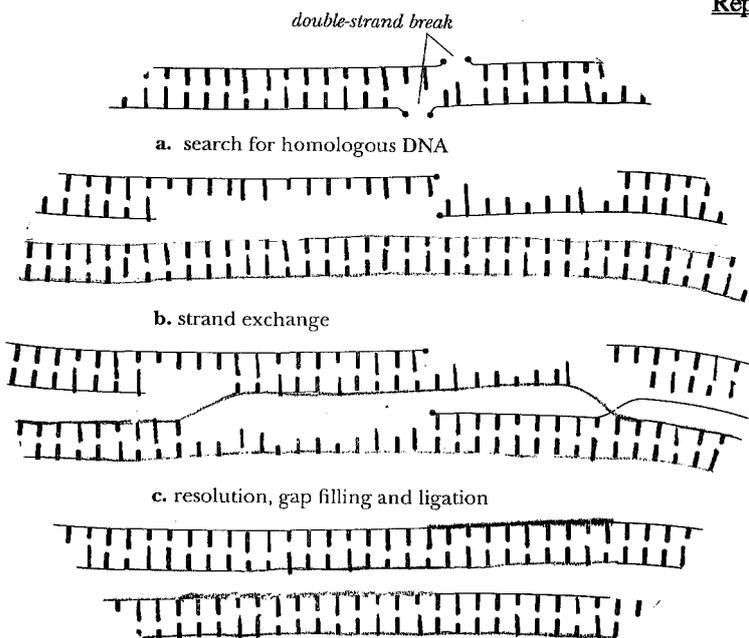
Cependant ces études n'avaient pas pris en considération la récente découverte de l'hétérogénéité des mécanismes de réparation de l'ADN (Figure 34).

En fait, on n'avait pas jusque là de techniques suffisamment efficaces pour détecter des changements aussi petits au niveau de l'ADN (sur des gènes précis et non sur l'ensemble de l'ADN). De plus, on utilisait toujours comme agent causal de mutations, les UV, qui ne donnent pas forcément les mêmes dommages que le vieillissement.

Les nouvelles techniques permettent d'étudier la réparation de l'ADN au niveau d'un gène, d'un brin ou même d'un nucléotide.

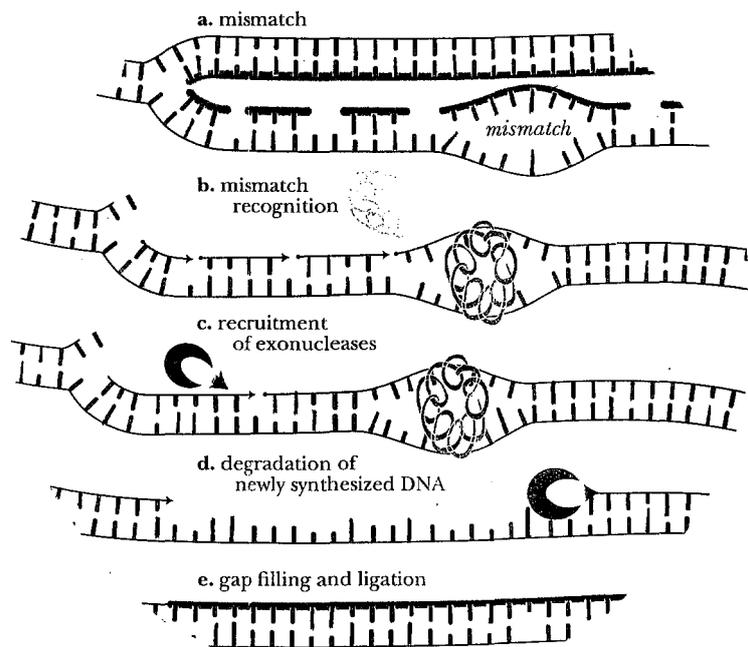


**Réparation par excision de base**



**Réparation de cassure double brin**

**Réparation par excision de nucléotide**



**Réparation d'erreur**

**Figure 34 : Différents mécanismes de réparation de l'ADN**  
(Vermeulen et al., 1996)

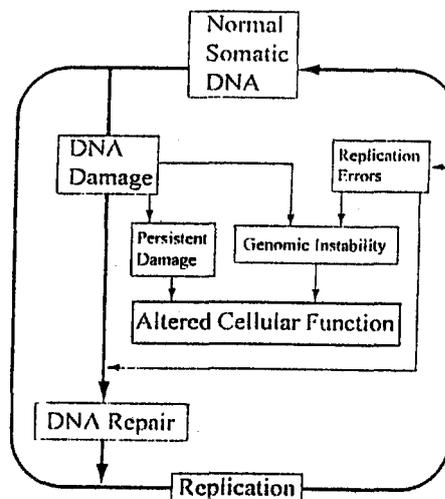
Les études ont donc montré qu'il existe une hétérogénéité considérable de réparation de l'ADN (Bohr, 1991) et que certaines mutations localisées peuvent être dues à une déficience localisée à un niveau du système de réparation de l'ADN.

Lors d'études récentes, il a été prouvé qu'il se produit des changements dans les structures fines de réparation de l'ADN (réparation spécifique de gènes) durant la différenciation. Or, il se produit des changements dans l'expression des gènes, avec l'âge, d'autant plus que durant la différenciation, donc, on peut s'attendre à ce que des modifications au niveau des structures fines de réparation de l'ADN aient lieu lors de la sénescence.

Une étude a montré le rôle possible de réparation de gènes préférentiels dans le vieillissement (Wei, 1992). Les résultats prouvent la diminution de capacité de réparation de l'ADN avec l'âge avancé.

En ce qui concerne la notion de perte de capacité de réparation de l'ADN mitochondrial avec l'âge, elle remonte aux expériences avec les radiations qui induisent des dimères de pyridines (Clayton *et al.*, 1974). En fait, bien qu'il ait été confirmé que l'ADNmt ne peut pas réparer ces lésions (Le Doux *et al.*, 1993), il est évident maintenant que d'autres lésions peuvent l'être dans l'ADNmt. Plusieurs enzymes de réparation ont été détectées dans les mitochondries des mammifères (Ex.:uracile DNA glycosylase, endonucléases...). Par l'utilisation des nouvelles techniques évoquées précédemment, une variété d'activité de réparation de l'ADNmt (réparation spécifique de gènes) a été observée.

Puisque les dommages oxydatifs se produisent en grande quantité dans l'ADNmt, il est important d'observer que les mitochondries sont très efficaces pour supprimer, par exemple, les lésions 8-OHdG (Bohr, 1995).



**Figure 35 : Altérations de l'ADN et conséquences.**

*Des altérations de l'ADN peuvent se produire à cause de dommages ou d'erreurs dans la réplication. Si ces altérations ne sont pas corrigées par les systèmes de réparation de l'ADN, elles peuvent mener à l'altération des fonctions cellulaires, dont certaines pourraient conduire au phénotype de sénescence. (L'instabilité du génome inclue les mutations somatiques. Les dommages persistants incluent les modifications de bases, les crosslinks, les cassures simple et double brins) (Bohr et Anson, 1995).*

## 4- THÉORIE DU VIEILLISSEMENT PROGRAMMÉ

La durée de vie maximale des espèces animales est remarquablement constante et spécifique des espèces (ex. : drosophile : environ 1 mois ; souris : 2 - 3 ans ; homme : environ 115 ans).

### 4.1- Théorie générale

Selon cette théorie déterministe, le programme génétique des cellules préciserait leur sénescence et leur mort.

Le vieillissement serait régi par quelques gènes. Ces gènes seraient responsables d'expressions ou de répressions qui s'enchaînent au cours de la vie. Ils détermineraient le moment à partir duquel d'autres gènes seraient activés ou inactivés. Ainsi, les changements fonctionnels et morphologiques qui accompagnent le processus de vieillissement seraient une continuation progressive du développement qui génère l'organisme adulte (de la fécondation jusqu'à la mort).

Ces modifications, telles que : le blanchissement des cheveux, la ménopause, la diminution des capacités physiques....., seraient donc des phénomènes naturels et programmés.

Le déclenchement ainsi que la durée des phases de développement et de reproduction dépendraient d'un jeu unique de gènes qui sont successivement activés et réprimés.

#### 4.1.1- Etudes de Hayflick

- Cette théorie s'appuie au départ sur les études menées par Hayflick et Moorhead (1961). Ils ont montré que les fibroblastes humains placés en culture perdent leur capacité à proliférer après un certain nombre de doublements qui dépend de l'âge du donneur. Les cellules gardent la mémoire du nombre de divisions effectuées. En effet, si on les congèle pendant plusieurs années dans de l'azote liquide, lorsqu'on les remet dans les conditions adéquates de prolifération, elles effectuent le nombre de divisions qu'il leur restait à accomplir.

Hayflick a donc apporté la notion d'horloge cellulaire (qui compte le nombre de divisions et non pas le temps chronologique).

Il existe une corrélation claire entre la longévité maximale de plusieurs espèces et leur nombre maximal de doublements de population cellulaire (DPC).

Donc le génome contrôle le vieillissement en envoyant un "message" qui arrête la division cellulaire.

- Toutefois, Il faut se méfier de l'extrapolation du modèle de Hayflick à la situation *in vivo*. Lorsqu'on cultive les fibroblastes à l'intérieur d'un gel de collagène (c'est à dire en culture tridimensionnelle et non plus sur une surface plane ou monocouche), la vitesse de prolifération est fortement ralentie. Or cette méthode de culture est beaucoup plus proche de la réalité biologique. Dans l'organisme, et par exemple dans la peau, les fibroblastes se trouvent à l'intérieur de la matrice extra - cellulaire riche en collagène. Ainsi on retrouve un système tridimensionnel avec sûrement le même phénomène de ralentissement de la prolifération cellulaire. Cela expliquerait que les fibroblastes d'une personne âgée ont encore une capacité de division cellulaire (en effet, les tissus d'une personne âgée ont toujours le pouvoir de cicatrisation même si cela se réalise plus lentement que chez un sujet jeune).

Parmi les restrictions de ces données, on remarque aussi que seule une partie des cellules de l'organisme correspond à ce modèle de cellules en mitose continue (ex : les kératinocytes, les cellules de la muqueuse intestinale, ... ). Néanmoins, les hépatocytes, par exemple, ou encore les fibroblastes des tissus interstitiels sont à mitose intermittente. Leur prolifération est en effet déclenchée par un signal tel qu'une excision du tissu les contenant. D'autres qui sont les cellules post mitotiques (neurones) cessent de proliférer après la maturation de l'individu.

Le vieillissement de ces cellules ne peut donc pas s'expliquer par un mécanisme qui bloque la division cellulaire (Courtois, 1995).

- D'autre part, certaines maladies d'origine génétique se caractérisent par un raccourcissement de la durée de vie des cellules du malade mises en culture (l'espérance de vie du patient étant elle même diminuée). Autrement dit, la durée de vie est raccourcie à la suite de l'expression d'un gène mutant (Ex : la progérie ou encore le syndrome de Werner où des gènes sont surexprimés de la même façon d'ailleurs que chez la personne âgée) (Dodet, 1994).

#### 4.1.2- Autres études

- Des résultats de manipulations génétiques soutiennent cette théorie (Karlsson et al., 1996) :

- . pour des hybrides cellulaires entre cellules mortelles et immortelles, le vieillissement est le plus souvent le caractère dominant.

- . par modification du génome (transformation maligne ou virale par exemple), on peut passer du vieillissement obligatoire à la "vie éternelle" en culture cellulaire.

- . l'obtention de cellules hybrides sénescents par l'introduction de fragments de chromosomes humains 1,7, et 11 dans des cellules immortalisées suggère la présence de gènes inducteurs de sénescence sur ces chromosomes.

- De plus, on retiendra les études portant sur la longévité et l'hérédité. Le dicton populaire selon lequel l'espérance de vie est plus grande lorsque ses parents ont vécu jusqu'à un âge avancé s'est vérifié par plusieurs investigations :

. en 1934, on a montré qu'environ la moitié des sujets de plus de 90 ans avaient des parents qui avaient vécu jusqu'à un âge avancé.

. en 1974, une corrélation positive est établie entre l'âge de décès des parents et celui de leur descendants.

. l'INSERM a prouvé que la famille de J. Calment (qui a vécu jusqu'à 120 ans) fait preuve d'une exceptionnelle robustesse qui se traduit par une faible mortalité infantile et une prévalence élevée de cas de longévité (Dodet, 1994).

- Jusqu'à présent on a pu identifier des gènes contrôlant la longévité chez les invertébrés. C'est le cas pour le nématode *Caenorhabditis elegans* chez qui on a mis en évidence un gène dont l'expression est différente dans les variétés à longévité supérieure ou normale. La mutation d'un seul gène permet d'augmenter la longévité moyenne d'environ 60 %.

De même Jazwinski a identifié plusieurs gènes qui prolongent la vie de la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*).

Pour *Podospora anserina*, on a trouvé deux gènes mutants entraînant l'arrêt de la croissance de ce filament et, chez *Neurospora crassa*, un autre champignon, il existe des mutants qui ont perdu la capacité de germination conidienne.

(On note qu'à l'origine de ces mutants peuvent se trouver différents mécanismes dont les réactions radicalaires) (Ladislas, 1995).

Ces données confirment l'origine génétique du processus de vieillissement.

- Toutefois, cette théorie implique que certains gènes restés silencieux pendant tout un temps se manifestent au cours du vieillissement ou que certains cessent de s'exprimer.

Or peu de travaux ont pu démontrer ces faits. Pour l'instant, on a mis en évidence l'expression de gènes de la globine spécifiques durant la phase embryonnaire et leur arrêt au cours du développement, puis l'apparition de l'expression d'autres gènes de la globine chez l'adulte jeune.

Des études sur des gènes impliqués réellement dans les fonctions reliées au vieillissement apporteront peut être un appui plus satisfaisant (Ex : gènes de la monoamine oxydase de l'hypophyse) (Treton et Courtois, 1986).

- Jusqu'à aujourd'hui, les recherches ont permis d'impliquer les chromosomes 1 et 4 comme des sites pour les gènes reliés à la sénescence (Ning et al., 1991). Cependant, il n'est pas clair que la présence de ces chromosomes induisent un état d'arrêt de la croissance identique à la sénescence quand elle se produit normalement.

Le nombre de gènes isolés comme marqueurs du vieillissement ne cesse d'augmenter. Il n'est pas prouvé que les gènes exprimés différemment avec l'âge sont des régulateurs du processus de sénescence ou une conséquence en aval d'un changement d'ordre plus élevé, qui alors entrainerait alors l'apparition d'un nouveau phénotype mais dysfonctionnel.

- Les gènes responsables de la synthèse de plusieurs enzymes ne semblent pas subir de changement dans la séquence de leurs bases au cours de la vie. Les changements des niveaux enzymatiques observés semblent plutôt dus à des modifications de l'activité directrice des gènes correspondants sous l'effet de facteurs extrinsèques et intrinsèques (dont les hormones, par exemple).

- Wright et Shay (1992) ont suggéré que la sénescence pourrait être régulée par des gènes essentiels proches des extrémités des chromosomes, non pas comme le résultat d'une perte physique mais par l'activation ou l'inactivation des séquences télomériques par des changements dans la condensation de la chromatine locale adjacente.

En fait, quel que soit le mécanisme de vieillissement, des gènes sont impliqués dans ce processus. Il s'agit certainement de gènes "normaux" responsables de la régulation du développement et de la prolifération cellulaire ainsi que du maintien de l'intégrité cellulaire (Karlsson et *al.*, 1996).

#### 4.1.3- Notion de gérontogènes virtuels

Le fait que la longévité d'un organisme soit intrinsèquement limitée et hautement spécifique des espèces implique des notions de régulation génétique.

Le terme de gérontogène fait référence à des éléments génétiques qui ont un rôle dans la régulation du vieillissement et de la durée de vie. Ces gènes seraient entre autre impliqués dans des mécanismes d'homéostasie.

Mais à l'origine ces gènes ne seraient pas sélectionnés comme des gènes réels du vieillissement et c'est pourquoi on parle plus précisément de gènes virtuels. Certaines évidences expérimentales sont disponibles et suggèrent que des ensembles de gènes participant au maintien et à la réparation des différentes fonctions cellulaires sont les premiers "candidats qualifiés" comme gérontogènes virtuels.

Donc, le terme de gérontogènes ne fait pas référence à une réalité physique de gènes réels du vieillissement mais à une propriété fonctionnelle émergente d'un certain nombre de gènes qui peuvent influencer le vieillissement. En science, le terme de virtuel est utilisé pour des entités qu'il est utile de considérer comme étant présentes bien qu'elles n'aient pas d'existence physique.

Ici, il s'agirait de plusieurs gènes dont les fonctions sont fortement couplées et dont les actions combinées et les interactions ressemblent à l'effet d'un seul gène. Bien que la différenciation et le développement soient de bons exemples de systèmes hautement compliqués impliquant plusieurs gènes, le concept de gènes virtuels ne peut leur être appliqué car ces processus sous contrôle génétique direct ont évolué comme le résultat d'une sélection naturelle. Cette situation est contraire au vieillissement où aucune sélection naturelle pour des gènes spécifiques n'est envisagée. L'idée de gènes virtuels est en accord avec l'explication évolutionniste du processus de vieillissement, comme un phénomène se développant, du à un manque de maintien et de réparation dans le temps plus qu'à un processus actif et adaptatif.

Chaque gènes peut potentiellement affecter la survie d'un organisme. Il faut exclure des gérontogènes les gènes qui induisent la mort de l'organisme sans être impliqués dans la sénescence.

On peut restreindre les gérontogènes à un ensemble de gènes impliqués dans le maintien et la réparation des composants cellulaires (Figure 35). Ceci parce que la plupart des théories du vieillissement considèrent les défauts progressifs des mécanismes d'homéostasie comme un facteur crucial dans la dégénérescence. Pour connaître ces gènes, les scientifiques étudient les mécanismes permettant d'augmenter la longévité, les gènes spécifiques des vieilles cellules et les organismes transgéniques. La génétique inverse est utilisée pour rechercher l'existence d'allèles associés à la longévité. Deux études réalisées en France et au Japon ont montré une relation entre certains allèles du locus HLA et la longévité (Rattan, 1995)(cf. théorie immunitaire).

GÈNES DE LONGÉVITÉ ET DE SÉNESCENCE	
Famille de gènes candidats	Gènes identifiés/gènes candidats
<b>Régulateurs de la prolifération cellulaire</b>	
Gènes impliqués dans l'arrêt de la prolifération (activés dans les cellules sénescentes)	Anti-oncogènes : <i>Rb</i> , <i>p53</i> et gènes agissant en amont et en aval <i>Sd1</i> ( <i>Senescent Derived Inhibitor of DNA Synthesis</i> ) = <i>WAF1/Cip1</i>  Gènes spécifiques de l'arrêt de la prolifération cellulaire : <i>Gas</i> ( <i>Growth Arrest genes</i> ) Gène de la prohibitine Gènes <i>SAG</i> ( <i>Senescence Associated Genes</i> )
Inducteurs de la prolifération (inhibés dans les cellules sénescents)	<i>c-fos</i>
<b>Gènes impliqués dans le maintien de l'intégrité cellulaire</b>	
Détoxification des radicaux libres	Gène de la SOD Gène de la catalase
Réparation de l'ADN	Gène de l'hélicase
<b>Gènes de prédisposition/résistance aux maladies</b>	
	Gène <i>ApoE epsilon 2</i> : corrélation positive avec une grande longévité Gène <i>ApoE epsilon 4</i> : corrélation négative Gène <i>ACE</i> , allèle D : corrélation positive

Figure 35 : Gènes de longévité et sénescence  
(Dodet, 1994)

## 4.2- Théorie de la pléiotropie antagoniste

Elle stipule que des gènes qui ont une action bénéfique au début de la vie et au cours du développement peuvent s'avérer nuisibles passé un certain âge.

-un allèle mutant a été mis en évidence chez *Caenorhabditis elegans*. Il augmente sa longévité de 60 %. Mais cet allèle diminue de 75 % la fertilité de ces espèces.

- Chez la femme, l'exposition prolongée à un oestrogène peut augmenter sa fertilité mais augmenter le risque de cancer du sein.

Les glucocorticoïdes ont des effets de cytotoxicité sur les neurones de l'hippocampe et de l'hypothalamus dont la variation avec l'âge soutient cette théorie (Hamarsy, 1986).

- Finch et Rose (1995) ont distingué deux catégories de gènes du vieillissement en fonction de leurs contraintes évolutives. Dans la première catégorie, les allèles qui ont un effet bénéfique aux premières âges, ont des effets antagonistes et délétères aux âges ultérieurs (pléiotropie antagoniste). Dans la deuxième catégorie, les gènes ont des actions spécifiques de l'âge.

Toutefois, cette hypothèse a été très peu développée.

## 5- THÉORIE THERMODYNAMIQUE

Proposée par O.Toussaint et *al.*(1991), cette théorie se base sur les études de Hayflick et Bayreuther : les fibroblastes en culture passent par différents stades morphologiques dont le dernier est la dégénérescence cellulaire. Ce processus discontinu semble lié à un programme génétique (et/ou au nombre de divisions cellulaires). Ce programme pourrait s'accélérer sous l'action de divers facteurs : rayons UV, hydroperoxydes, champs magnétiques, substances telles que la mitomycine (antimitotique) ...

Cette théorie est à la fois stochastique et déterministe.

Le vieillissement serait une réorganisation progressive du fonctionnement des cellules qui dépend des interactions entre les divers facteurs externes ou internes défavorables. Les cellules doivent continuellement s'adapter et ceci en utilisant de l'énergie. Afin d'assurer sa survie face à une diminution de son potentiel énergétique (par diminution de l'apport alimentaire, par altérations des mitochondries...) ou face à un stress (oxydatif, chimique) demandant une quantité d'énergie supérieure à celle dont elle dispose, la cellule devra se réorganiser.

Il se produira une baisse de la production d'énergie qui aura pour conséquence une augmentation des taux d'erreurs à l'intérieur du système jusqu'à un seuil critique d'altérations. Donc la cellule est un système caractérisé par une entropie qui va en augmentant après un certain nombre de stress et finit par passer de façon irréversible par différents niveaux critiques qui correspondraient à la sénescence.

## 6- THÉORIE DU SOMA JETABLE

Elle a été proposée en 1986 et 1991 par Tom Kirkwood.

L'énergie produite à partir des aliments doit être utilisée d'une façon optimale pour les besoins de croissance, de reproduction et de maintenance de l'organisme. La limitation de l'énergie totale disponible oblige l'organisme à optimiser sa distribution entre ses différents besoins. En fait, il existerait un équilibre entre le maintien et la réparation des cellules somatiques d'une part, et la reproduction et la fertilité d'autre part. Cette théorie suggère que les ressources énergétiques sont consacrées en priorité aux cellules reproductrices, au détriment du maintien et de la survie des cellules somatiques.

Elle s'applique uniquement aux espèces à reproduction sexuée (séparation nette des cellules somatiques et des cellules germinales).

Elle se réfère, à la base, à la théorie de la pléiotropie antagoniste. Ces deux théories se basent sur le fait que la sénescence des organismes doit apparaître et évoluer en même temps que la sélection pour la fertilité et l'adaptabilité.

En présence d'une forte mortalité imposée par l'environnement, il est peu économique d'investir dans la maintenance, il faut plutôt investir dans une progéniture nombreuse pour augmenter les chances de survie de l'espèce.

Cette hypothèse suggère l'existence de gènes qui gouverneraient surtout des mécanismes de régulation synergétiques, impliqués dans des systèmes de maintenance (réparation de l'ADN, systèmes anti-oxydants ...).

Elle allie donc les processus stochastiques (dégâts produits par l'environnement) et les processus génétiques (programmation).

## 7- THÉORIE DES TÉLOMÈRES

La diminution avec l'âge de la capacité de réparation des télomères, associée au raccourcissement des télomères peuvent causer un déséquilibre dans l'homéostasie des chromosomes. Ceci favoriserait l'instabilité du génome, menant au vieillissement cellulaire (Kruk et al. , 1995).

C'est en 1986, que H. Cooke évoque le rôle du raccourcissement des télomères dans la sénescence cellulaire et particulièrement dans la limite de capacité proliférative des cellules somatiques.

Depuis, le raccourcissement des télomères a été prouvé durant le vieillissement cellulaire en culture et dans le vieillissement *in vivo*.

On a montré la relation entre la perte de télomères et la sénescence : chez une levure mutante, chez qui on a supprimé le système de maintenance des télomères, on impose la fin de vie.

Les télomères humains sont programmés pour subir un raccourcissement graduel d'environ 100 pb par cycle de division et quand plusieurs kilobases d'ADN télomériques sont perdus, les cellules cessent de se diviser (Bodnar, 1998; DeLange, 1998).

Un important biomarqueur de la perte de capacité à synthétiser l'ADN dans les cellules vieilles est donc le raccourcissement des télomères. Cette observation suggère la perte d'activité télomérase (Harley et al., 1992). En effet, cette enzyme ajoute de nouvelles séquences télomériques aux extrémités des chromosomes, prévenant ainsi leur raccourcissement jusqu'au point critique de la perte de la capacité à se diviser.

Des études concernant l'activité de cette enzyme ont été faites (Kim et al., 1995):

- sur des cultures de cellules dérivées de 18 tissus humains :
  - . aucune des populations mortelles n'est positive pour la télomérase
  - . 98 des 100 populations immortelles sont positives
- sur des biopsies humaines :
  - . biopsie de tissu normal : aucun résultat positif
  - . pour 90 sur 101 biopsies de tumeurs : résultats positifs

De plus, les populations de cellules immortelles, telles que les cellules cancéreuses, ont la capacité de produire de l'enzyme télomérase.

Les cellules souches ont une activité télomérase beaucoup plus faible que les cellules tumorales ; et même beaucoup de cellules prolifératives normales manquent totalement de l'enzyme.

Bodnar et al. ont très récemment (publication en Janvier 1998) testé l'effet d'une activation imposée de télomérases dans des cellules humaines normales. Leur approche a été possible par la découverte de la sous unité "reverse transcriptase" de la télomérase (TRT) de deux eucaryotes unicellulaires et par l'identification suivante d'un équivalent chez l'homme (hTRT).

La plupart des cellules somatiques humaines n'expriment pas cette sous unité mais contiennent tous les autres composants de l'enzyme. Donc, c'est l'expression du gène hTRT qui mène à la reconstitution de l'activité enzymatique. Ce type de gène est dit "ortholog", c'est-à-dire indispensable pour l'expression d'une enzyme fonctionnelle.

Le travail de Bodnar et *al.* a consisté à examiner le potentiel de prolifération de cellules humaines primaires chez qui on a forcé l'expression de la télomérase à partir du gène hTERT transfecté.

Leurs résultats indiquent clairement que :

- l'activation de la télomérase entraîne une addition de la séquence TTAGGG répétitive normale des cellules humaines.

- les cellules avec une telle élongation artificielle de télomères montrent une spectaculaire modification de leur potentiel de croissance. Alors que les cellules utilisées dans l'expérience normalement vieillissent après un nombre bien défini de divisions cellulaires, les cellules transfectées continuent à se diviser.

La plupart des lignées cellulaires étudiées ont continué jusqu'à 20 doublements de population au delà de leur sénescence normale.

- ces cellules non seulement continuent à se diviser mais en plus montrent un caryotype normal et maintiennent une morphologie "jeune".

Ces résultats sont similaires pour trois types de cellules primaires : cellules épithéliales rétinienne, fibroblastes de la peau, cellules endothéliales vasculaires.

Comment le raccourcissement des télomères est-il détecté ? Quel est le signal en aval ? Ces questions restent encore à élucider.

De plus, on ne peut pas encore affirmer que la manipulation de la télomérase *in vivo* permettrait de "rajeunir" les cellules.

Ces données sont importantes puisqu'elles nous prouvent que l'activation de la télomérase dans les tumeurs humaines, entraîne le "contournement" de la sénescence, et donc, est une condition pour la progression des tumeurs (DeLange, 1998).

## 8- LES THÉORIES SYSTÉMIQUES

On ne peut pas ignorer l'influence et les conséquences des modifications avec le temps des systèmes physiologiques de régulation et de défense de l'organisme sur les cellules, tissus et organes cibles. Même si ces processus ne peuvent constituer une origine fondamentale et exclusive du phénomène de vieillissement cellulaire, ils ont néanmoins un rôle certain qui doit être évoqué.

### 8.1- Théorie immunitaire

- Les réactions immunes sont souvent très complexes et font intervenir plusieurs facteurs humoraux, plusieurs types de cellules, tissus et organes.

Le système immunitaire a pour rôle de distinguer ce qui est *soi* de ce qui est *non soi*.

Il doit nous défendre contre les microorganismes pathogènes et savoir différencier les cellules transformées (tumoraux) des cellules normales.

Les tissus constituant le système immunitaire sont : la moelle osseuse, le thymus, la rate, les ganglions lymphatiques, les vaisseaux lymphatiques et le système réticuloendothélial.

Les mécanismes immunitaires se divisent en deux grands groupes :

- . l'immunité humorale avec synthèse et libération par les lymphocytes B d'anti-corps qui neutralisent l'anti-gène.

- . l'immunité cellulaire assurée par les lymphocytes T (cytotoxiques ou produisant des lymphokines), et les monocytes.

De nombreuses autres cellules interviennent dans les réactions immunitaires : les cellules mémoires, les granulocytes, les cellules tueuses, ainsi que des produits de sécrétion dont les facteurs thymiques (Zeni, 1986 ; Timiras, 1997).

- Avec l'âge, le système immunitaire se dérèglerait et serait responsable de réactions autoimmunes beaucoup plus fréquentes par augmentation de la production d'auto-anticorps. De plus, il y aurait un épuisement progressif des clones lymphocytaires (du fait du concept de limite cellulaire de Hayflick).(Zeni, 1986).

Chez l'homme, le niveau des Ac circulants commence à décliner dès l'atteinte de la maturité sexuelle. Cette baisse des taux sériques est peut être liée à une moindre réponse humorale lors d'une stimulation antigénique.

Chez l'animal âgé, il faut en effet une dose dix fois plus forte pour obtenir une réponse d'anticorps maximale à l'égard d'exposition antigénique primaire.

On observe une augmentation des taux d'autoanticorps avec l'âge, aussi bien chez la souris que chez l'homme.

En ce qui concerne l'immunité cellulaire, on note une baisse des réactions d'hypersensibilité retardée avec l'âge (ceci a été mis en évidence par divers immunogènes : tuberculine, streptokinase ...).

En fait, certaines réactions sont diminuées et d'autres inchangées.

Donc d'une part les défenses contre les corps étrangers diminuent et d'autre part les autoaggressions augmentent, d'où l'augmentation aussi de la fréquence ou de la gravité de certains états pathologiques avec l'âge (cancers, infections bactériennes, virales...). Passé 25 ans, on observe une hausse exponentielle de l'incidence des maladies infectieuses, des cancers, des maladies autoimmunes .... (Timiras, 1997).

- Des hypothèses concernant le rôle du thymus dans le processus de vieillissement ont été émises.

- . Le thymus, organe où se développent les lymphocytes T, s'involue avec l'âge (diminution de son poids et passage à un état fibreux).

- . Les souris athymiques présentent des signes de vieillissement prématuré.

. L'autoimmunité consiste en la production d'anticorps ou de lymphocytes T cytotoxiques dirigés contre *soi*. Or cette perte de distinction entre le *soi* et le *non soi* peut perturber le fonctionnement de chaque cellule, tissu ou organe. Normalement, les lymphocytes T inutiles ou potentiellement nuisibles sont détruits par le thymus (= processus de délétion clonale).

Comme cet organe s'involue avec l'âge, ce phénomène de destruction ne se fait plus. Les lymphocytes autoréactifs survivent et il s'en suit une augmentation de l'incidence des maladies autoimmunes (Hayflick, 1985 ; Timiras, 1997).

- Si la dégénérescence de l'immunité diminue la longévité, alors le fait de retarder ce déclin devrait entraîner une augmentation de la durée de vie.

. Des souris traitées avec une substance qui prévient la hausse du nombre et de l'activité des lymphocytes T supresseurs ont une durée de vie allongée.

. Il en est de même pour des souris traitées avec un extrait dialysable de leucocytes humains qui stimule la fonction immunitaire.

. On observe une augmentation spectaculaire de la longévité maximale chez des souris, des rats et des porcs adultes traités par un extrait de tissu thymique prélevé au tout début du développement foetal.

Il existe donc plusieurs indications faisant penser que le dysfonctionnement immunitaire au cours du vieillissement est un facteur limitant de la longévité humaine (Charpentier et *al.*, 1980 ; Timiras, 1997).

- D'autre part, plusieurs mécanismes du système immunitaire sont codés par un ensemble de gènes appelé : complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ces gènes codent pour différentes substances qui jouent un rôle dans la médiation cellulaire ou humorale (Ex : le complément, les récepteurs de surface des lymphocytes ...).

Chez l'homme, les loci du CMH sont appelés antigènes des leucocytes humains (HLA).

Le CMH semble influencer sur la longévité. En effet, le pourcentage de femmes porteuses de l'allèle HLA-B8 diminue avec l'âge. Donc, ces femmes ont une espérance de vie plus courte que celle ayant un allèle différent à ce locus.

De plus, le génotype HLA est un important facteur de susceptibilité à certaines maladies liées au vieillissement (polyarthrite rhumatoïde, sclérose en plaque, diabète ...).

En fait ici, plus que d'origine immunitaire du vieillissement, on pourrait parler d'origine génétique.

Des modifications de la surface des lymphocytes pendant le vieillissement ont été décrites. Il existe une différence d'Ag entre sujets jeunes et sujets vieux (ces antigènes situés à la surface des lymphocytes guident leur action). Il s'agirait d'Ag Ia de membrane porté par des molécules synthétisées sous contrôle des gènes de classe II du système H2.

Ce changement pourrait intervenir dans le phénomène de vieillissement puisque les molécules Ia ont un rôle important dans la coopération cellulaire. Leur modification pourrait aboutir à une difficulté de rejeter des tumeurs et à se défendre contre les bactéries et les virus, et même à une augmentation des réactions autoimmunes chez le sujet âgé.

On note que l'origine de la modification de cette molécule n'est pas encore connue (Haruna *et al.*, 1995).

Donc, le déclin de l'immunité qui se produit avec l'âge semble bien avoir sa place dans le processus de vieillissement, mais en est-il la cause ou la conséquence ?

Cette hypothèse immunitaire ne rend pas compte de l'ensemble des manifestations du vieillissement (Hayflick, 1985).

## 8.2- Théorie neuroendocrine

Cette théorie souligne le rôle de deux grands systèmes de contrôle et d'intégration : le cerveau et les glandes endocrines. Le dérèglement qui se développe dans les fonctions cérébrales et endocriniennes seraient responsables du vieillissement des organes, des tissus et des cellules autant que les facteurs intrinsèques cellulaires (Meites *et al.*, 1984).

- Les personnes soutenant cette théorie pensent que la dégradation d'un système aussi essentiel à la survie et à l'homéostasie que les neurones et les hormones peut jouer un rôle important dans la régulation des changements qui accompagnent le vieillissement. (On sait depuis plusieurs années qu'avec l'âge il se produit une perte de neurones et de cellules endocrines).

En effet, les systèmes neuroendocriniens ont sous leur contrôle un grand nombre de fonctions de l'organisme comme : la reproduction, la digestion, la régulation de l'intensité métabolique, la croissance du corps et des os, la grossesse, la lactation, le fonctionnement des reins, du foie, l'hématopoïèse...

Dans un système aussi complexe, tout dérèglement qui se développe dans un seul de ses composants (neurotransmetteurs, hormones, récepteurs,...) peut significativement altérer la sécrétion hormonale et les fonctions des organes et des tissus cibles.

Cette théorie considère le vieillissement comme faisant partie d'un programme qui contrôle le déroulement de la vie entière grâce à des signaux nerveux et hormonaux. Les neurones de commandes situés dans les centres nerveux supérieurs agiraient comme régulateurs de "l'horloge biologique" (Ladislas, 1989).

- Si, par exemple, un déclin se produit dans l'hypothalamus, la fonction pituitaire serait affectée et ceci entraînerait une cascade d'effets sur de nombreuses cellules cibles endocrines (Ladislas, 1995).

- Il existe un grand nombre de changements liés à l'âge au niveau des fonctions des cellules, associés aux changements au niveau des facteurs hormonaux. Ces changements peuvent constituer les conditions prédisposant aux maladies du vieillissement. C'est le cas au moment de la ménopause où des modifications hormonales (carence oestrogénique) participent aux conditions nécessaires à l'ostéoporose (Hayflick, 1985).

- Des rats qui subissent précocément une ablation de l'hypophyse (et qui reçoivent un complément de corticoïdes) ont une longévité augmentée. De plus, on observe chez eux un vieillissement ralenti du collagène, des reins, du système immunitaire. Ces résultats expérimentaux peuvent faire penser à un lien entre le système endocrinien et le vieillissement (Treton et Courtois, 1986).

- La chronobiologie évolue également avec le temps ainsi que la réponse aux hormones (du fait des changements de concentrations des récepteurs et de régulation des hormones) (Hayflick, 1985).

Mais ces phénomènes sont ils la cause ou la conséquence du vieillissement ?

Cette théorie manque beaucoup de preuves. On remarque que les organismes qui vieillissent ne disposent pas tous de systèmes neuroendocriniens complexes. D'autre part, les déficits apparaissant avec l'âge dans ces systèmes peuvent être dus au moins en partie à des changements qui se produisent dans le génome des cellules vieillissantes.

N.B. : depuis longtemps on connaît l'influence des systèmes nerveux et endocriniens sur le système immunitaire. Ainsi les théories neuroendocrine et immunitaire se rejoignent : certains changements d'activités dans ces deux systèmes pourraient agir de pair pour induire les déclin fonctionnels divers du vieillissement.

Exemple : l'interleukine I Béta peut agir sur la libération des cathécolamines et des indolamines dans des régions spécifiques du cerveau .

Le système endocrine peut affecter la réaction immunitaire par différentes voies. Par exemple, des lésions de l'hypothalamus entraînent des altérations de la production d'anticorps. De même, l'involution du thymus à partir de la puberté est due à l'augmentation de la sécrétion d'hormones sexuelles (Goya, 1991 ; Scholl et al., 1992).

## CONCLUSION

Dans un premier temps, nous avons vu des théories cellulaires et moléculaires. Elles mettent en avant les pertes ou les dommages cellulaires de plus en plus nombreux avec l'âge, tels que :

- des dommages de l'ADN (nucléaire et mitochondrial)
- la réduction de certaines activités enzymatiques
- la capacité réduite de réparation
- l'augmentation des radicaux libres
- l'accumulation de débris cellulaires
- des erreurs de transformation de l'information (Figure 36).

Puis nous avons évoqué des mécanismes plus généraux : le déclin de grands systèmes physiologiques.

On peut reprocher à la plupart des théories actuelles d'être de simples expressions de l'effet d'un changement plus fondamental. Souvent les théories incluent les perturbations des systèmes biologiques comme principales causes du vieillissement (système immunitaire, mutations somatiques...), et ignorent généralement le fait que des changements plus fondamentaux peuvent induire l'effet choisi pour étude.

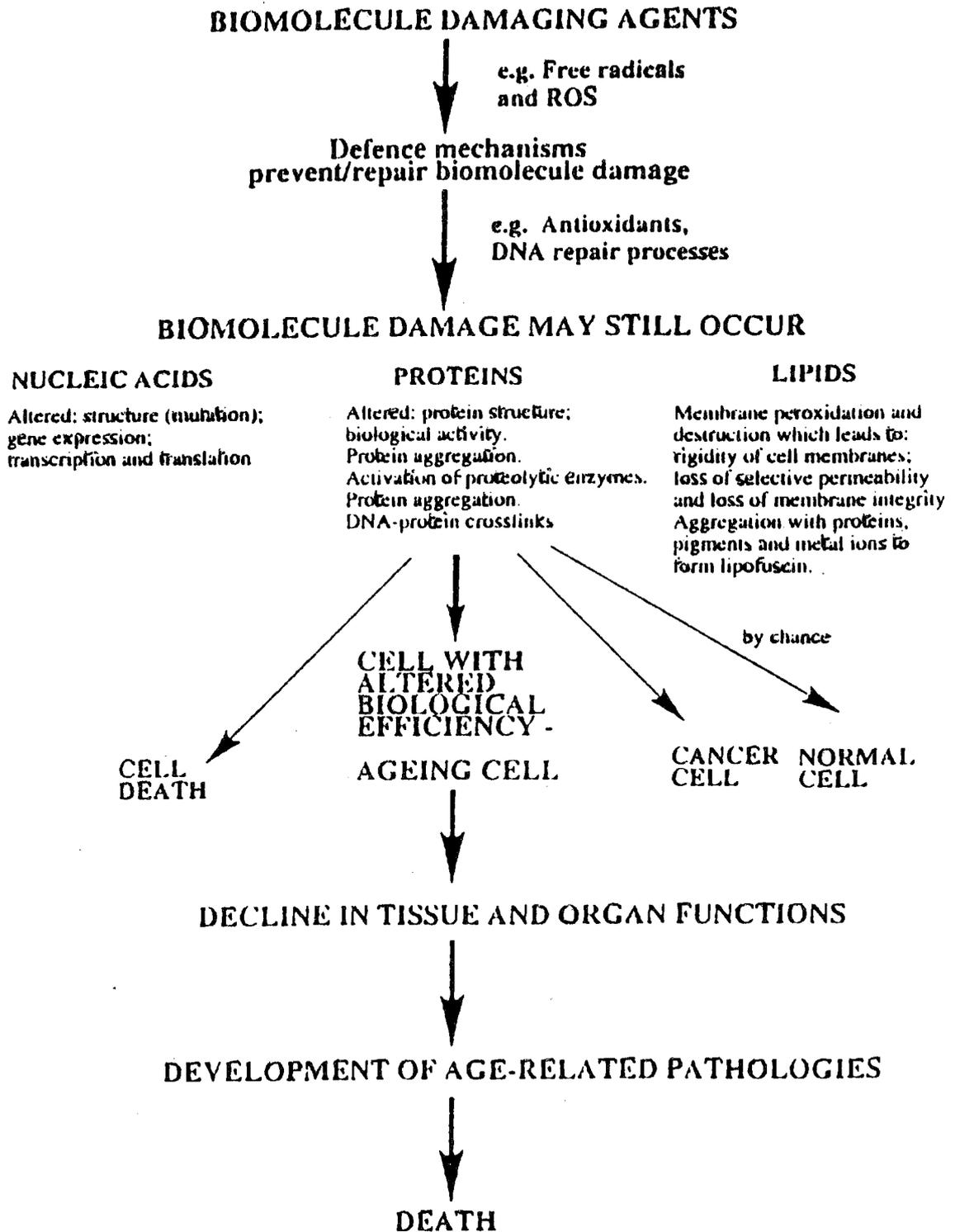
Certains théoriciens gérontologues déplorent la pratique de transformer les changements découverts dans un aspect très limité de l'ensemble du processus de vieillissement en une théorie généralisée d'application universelle.

Finalement, lorsque l'on observe l'hétérogénéité de la durée maximale de vie potentielle de diverses espèces animales, il paraît clair que celle-ci est en large part génétiquement programmée (Brown, 1992).

Les théories de programmation du vieillissement résultent d'un mécanisme d'horloge. Par exemple, avec l'âge, le cerveau peut réguler la production de certaines hormones nécessaires à la maintenance de la jeunesse et de la rigueur des cellules de l'organisme (ménopause, hormones thyroïdiennes, facteurs de croissance,...).

On pourrait distinguer (Martin, 1980) les théories qui suggèrent une modification de la structure du génome ou une modification de l'expression des gènes : la première implique la mutagenèse intrinsèque (radicaux libres, virus, phénomènes auto-immuns,...) et dans la deuxième on trouve des mécanismes comme l'horloge neuro-endocrine, la répression progressive de la transcription, l'expression régulée de diverses isoenzymes, la restriction des codons, les modifications post-traductionnelles des protéines, ...

Bien qu'il y ait des arguments en faveur d'une augmentation avec l'âge de la perte, et des dommages cellulaires dans un grand nombre de tissus, rien ne prouve aujourd'hui que ce phénomène puisse expliquer tous les aspects du vieillissement. Au moment de la mort, il y aurait suffisamment de cellules fonctionnelles restantes pour permettre à la vie de continuer (Barnett et King, 1995).



**Figure 36 : Relation entre les dommages moléculaires et le processus de vieillissement**

*Les biomolécules au niveau cellulaire sont constamment exposées à une variété d'agents intrinsèques et extrinsèques (ex. : les radicaux libres) qui ont un potentiel à causer des dommages. Un certain nombre de systèmes de défenses existent (ex. : enzymes antioxydantes et enzymes de réparation de l'ADN) qui doivent réduire, supprimer, réparer, les dommages moléculaires. Ces systèmes de défenses ne sont pas parfaits et les dommages peuvent tout de même se produire. De tels dommages peuvent entraîner la dégradation des éléments structuraux à l'intérieur des cellules, tissus et organes et éventuellement la maladie et la mort (Pacifi et Davies, 1991 ; Mera, 1992 ; Barnett, 1995).*

## **PARTIE III**

### **Pathologies modèles du vieillissement**

Les observations de certaines maladies ont permis l'étude du processus de vieillissement.

On s'est servi souvent de maladies pour accélérer le déclenchement et le déroulement de ce phénomène.

Dans d'autres cas, on a créé un vieillissement "segmentaire", limité à un organe, un tissu ou à un type de cellules.

Chez l'homme, un certain nombre de maladies sont caractérisées par un vieillissement prématuré ou accéléré. Elles peuvent servir de modèle d'étude du vieillissement. Quelles que soient les ressemblances et les différences entre la sénescence et ces syndromes, l'étude de leurs caractéristiques respectives permettront certainement une meilleure compréhension des deux phénomènes.

Donc, l'intérêt soulevé par ces syndromes rares s'explique par l'espoir de voir le vieillissement précoce éclairer les mécanismes de la sénescence physiologique.

#### **1- LES SYNDROMES PROGÉROIDES**

On rencontre parfois chez l'homme des syndromes qui, à différents niveaux, ressemblent à un vieillissement prématuré (à début précoce) ou accéléré (à progression rapide). On ne peut pas dire actuellement si ces syndromes sont réellement dus à l'accélération du mécanisme "d'horloge interne".

Martin (1977) a revu toutes les affections génétiques pour déterminer lesquelles avaient le nombre le plus élevé des 25 caractères cliniques associés à la sénescence. Les dix qui ont montré le nombre le plus élevé de caractères de la sénescence furent décrites comme des syndromes progéroïdes partiels. Chacune présente quelques caractères du vieillissement prématuré mais aucune ne les possède tous.

Parmi ces maladies et classées selon le nombre de points communs avec le vieillissement , on trouve :

- le syndrome de Down (15 caractères communs)
- le syndrome de Werner (12), et le syndrome de Cockayne (12)
- la progéria ou syndrome progéroïde de Hutchinson - Gilfort (10)
- l'ataxie télangiectasie (8), le syndrome de Seip (8), le syndrome de Klinefelter (8), le syndrome de Turner (8)
- la dystrophie myotonique (6)

Ces syndromes peuvent servir de modèles en particulier pour l'étude génétique du vieillissement.

Des expériences effectuées par plusieurs chercheurs sur des fibroblastes provenant des malades ont pu mettre en évidence une diminution considérable du nombre de doublement des populations cellulaires .

Ceci appuie le postulat de Hayflick : les maladies qui abrègent la durée de vie humaine abrègent la durée de vie des cellules (dérivées de ces individus) *in vitro*.

N.B. : Curieusement, les cellules provenant de la maladie de Werner ont une durée de vie en culture nettement inférieure à celle des cellules provenant d'un malade atteint de Progéria (*in vivo*, c'est le contraire : les malades vivent plus longtemps avec le syndrome de Werner qu'avec la Progéria).(Timiras, 1997).

## 1.1- Le syndrome de Down ou Trisomie 21

### 1.1.1- Généralités

La trisomie 21 est la plus fréquente des maladies génétiques humaines dont l'expression phénotypique se traduit par des signes de vieillissement accéléré. Un nouveau né sur 700 est affecté (alors que la Progéria et le syndrome de Werner ont une incidence de 1/100000).

Pour les mères de plus de 40 ans, la fréquence est de 1 naissance sur 100 (Cela semble provenir d'un processus de vieillissement qui touche les ovocytes).

Toutefois, 60 à 70 % des cas viennent de mères de moins de 35 ans.

Il y a environ 50000 trisomiques en France aujourd'hui.

La plupart des signes de vieillissement accéléré se manifestent entre la puberté et l'âge de 30 - 40 ans.

L'espérance de vie moyenne est actuellement d'environ 35 ans bien que quelques uns soient aujourd'hui dans leur 60ème année.

### 1.1.2- Caractéristiques pathologiques

Les patients concernés peuvent présenter des malformations somatiques mais leur principal handicap est une déficience intellectuelle.

Les caractéristiques de cette maladie sont :

- un retard mental et psychomoteur
- des anomalies structurales (visage, doigts)
- une cardiopathie congénitale

Les manifestations observées, semblables à celles du vieillissement normal sont :

- somatiques
- immunitaires
- hormonales
- au niveau du système nerveux central
- sur des fibroblastes en culture (ex. : une augmentation du taux de lipofuscines)

Entre autres caractéristiques, on peut signaler par rapport à un sujet "sain" :

- un grisonnement et la perte prématurée des cheveux
- une augmentation des néoplasies et des leucémies
- une augmentation de l'autoimmunité
- un hypogonadisme
- une amylose
- des maladies vasculaires dégénératives
- des cataractes
- des signes neuroanatomiques prématurés de la maladie d'Alzheimer

A ce sujet, on observe chez la plupart des sujets atteints ayant plus de 30 ans, les caractères neuropathologiques de la démence sénile de type Alzheimer (DSTA) bien que 1/3 montrent actuellement des signes de régression qui commencent généralement après 50 ans. Comme on va le voir par la suite, le gène de la bêtaamyloïde qui s'accumule dans les plaques séniles des Alzheimeriens est localisé sur le chromosome 21.

Ainsi, le syndrome de Down apparait prédisposer les patients, parmi plusieurs aspects du vieillissement, à une DSTA (Wisniewski et Wen, 1985).

### 1.1.3- Recherches génétiques

Ces patients ont un chromosome supplémentaire et les manifestations précoces de sénescence résultent d'un surdosage d'un ou de quelques gènes, entraînant la surproduction des protéines codées par ces gènes.

Il s'agit d'un chromosome maternel supplémentaire dans 95 % des cas. Les autres cas sont des translocations ou des mosaïques.

- On peut étudier la trisomie chez la souris, chez qui on introduit un chromosome 16. On observe alors plusieurs traits phénotypiques du syndrome de Down.

Un modèle *in vitro* pour l'induction expérimentale d'un vieillissement prématuré des neurones se fait par le transfert de la trisomie 21 à des cellules de neuroblastomes, à partir de fibroblastes donneurs.

- Des recherches génétiques ont révélé que la duplication d'une région spécifique du chromosome 21 pourrait être responsable de grands traits du syndrome de Down. Dans la plupart des cas, ce syndrome résulte de la présence dans toutes les cellules d'une copie supplémentaire du chromosome 21. Dans de rares cas, il est associé à une trisomie 21 partielle. L'analyse du caryotype dans de tels cas a indiqué que seule la partie distale du chromosome 21, la bande 21q22, est impliquée dans la pathogénèse de cette maladie. De plus, des études cytogénétiques ont identifié deux autres groupes de patients caractérisés soit par une duplication incluant la partie proximale de la bande 21q22 soit par la duplication de la partie distale seulement de 21q22.

En fait, une petite région du chromosome 21 (1/5<sup>ème</sup>) contenant un ou quelques gènes jouant un rôle majeur dans l'expression phénotypique de la trisomie 21 (retard mental, petite taille, hypotonie musculaire ...) a été identifiée (Rahmani et al., 1989). Cette zone a été nommée DCR (Down syndrome Chromosome Region). Elle est localisée sur la bande 21q22.2 et est constituée de 1-2 mégabases d'ADN.

Des laboratoires ont entrepris le clonage de cette région afin d'en identifier les gènes. Après quoi ils pourront étudier l'éventuelle contribution de ceux-ci dans le vieillissement accéléré par l'observation de souris transgéniques.

Il existe deux méthodes d'identification de ces gènes :

. l'isolement de tous les gènes du chromosome 21, et l'étude de leurs propriétés. On fait des observations sur des modèles cellulaires par transfert génique et sur des animaux (ex. : souris transgéniques), des conséquences physiopathologiques de leur surexpression.

. la recherche des régions du chromosome 21 susceptibles de contenir des gènes importants pour la pathogénèse de cette maladie. La définition aussi précise que possible de ces régions permet d'orienter le travail d'identification de ces gènes par génétique inverse.

Ainsi, des cellules et des souris transgéniques sont utilisées comme modèles de surexpression des gènes du chromosome 21.

On a aujourd'hui réalisé des modèles pour trois des vingt-et-un gènes identifiés sur le chromosome 21.

#### a- SOD1 : SOD cytoplasmique (Cu et Zn)

Sinet et *al.* ont démontré que cette enzyme était présente en excès dans les cellules des sujets trisomiques.

La SOD Cu/Zn humaine est codée par un gène situé sur le chromosome 21. Les patients atteints par le syndrome de Down ont une augmentation de 50 % de l'activité de cette enzyme.

Elle pourrait être alors à l'origine d'une production accélérée de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle (cf. Partie II, A.2.1.1), deux composés très oxydants qui pourraient contribuer au vieillissement accéléré.

En parallèle, on observe chez ces sujets une augmentation de la Se-GPx, principale enzyme de détoxification de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

--> Dans les cellules humaines et murines transfectées avec le gène SOD1 humain, on constate que l'activité Se-GPx et la peroxydation lipidique sont augmentées.

--> Dans les cellules PC12 de rats SOD1+, on soupçonne la présence de lésions peroxydatives membranaires car on observe une captation défectueuse de certains neuromédiateurs par les granules chromaffines.

--> chez les souris transgéniques par la SOD1 humaine, il se produit une augmentation de la peroxydation lipidique cérébrale.

(Ceballos - Picot et *al.* , 1991).

De plus, on observe des modifications de structure de la fonction neuromusculaire au niveau de la langue identiques à celles observées chez les animaux âgés et les sujets trisomiques 21.

La captation de la sérotonine par les plaquettes sanguines est abaissée comme dans la trisomie 21 et ceci certainement suite à des peroxydations membranaires actives.

L'excès de SOD semble donc bien avoir un effet peroxydant mais son rôle dans l'accélération du vieillissement n'est pas encore complètement établi.

Que ce soit dans le syndrome de Down (ou dans la maladie d'Alzheimer), la formation de radicaux libres et la quantité de lipides peroxydés sont plus importantes que chez un sujet sain (Sinet, 1995).

#### b- APP : précurseur de la protéine amyloïde

La substance amyloïde est constituée majoritairement d'un polypeptide dit A4, produit par catabolisme d'un précurseur protéique plus volumineux : APP.

N.B. : le terme "amyloïde" désigne des dépôts anormaux d'une protéine insoluble, hautement résistante à la digestion des protéases. Diverses formes d'amyloïdoses sont caractérisées selon le type de tissu concerné et en fonction de la protéine servant de précurseur.

Dans la trisomie 21 (comme dans la maladie d'Alzheimer), on observe une accumulation de protéine amyloïde A4 au sein des plaques séniles.

Cette protéine provient de la protéolyse anormale de la protéine APP.

La protéine APP est une protéine membranaire. Le gène codant sa biosynthèse (dans la plupart des tissus) se trouve sur la chromosome 21 (Tanzi *et al.*, 1987).

La surexpression chez des souris transgéniques de la protéine 3' du gène APP contenant la séquence A4 reproduit des lésions pathologiques de type Alzheimer.

Ce modèle suggère donc que la surexpression de l'APP contribuerait pour une large part à la pathogénèse de la maladie de type Alzheimer.

L'accumulation de peptide A4 dans le tissu nerveux est vraisemblablement responsable de l'intoxication progressive des neurones (Cataldo *et al.*, 1996).

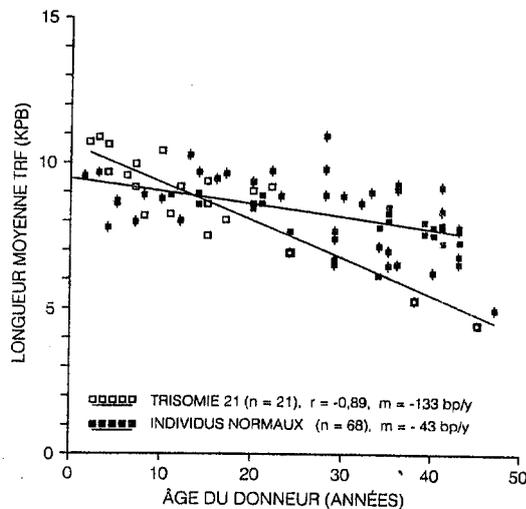
### c- S100B : sous unité bêta de la protéine 100

Située dans les cellules gliales du système nerveux, cette protéine lie le Ca.

Son excès aurait un rôle dans le dysfonctionnement du système nerveux central chez les sujets trisomiques 21.

Toutefois, les souris transgéniques pour S100B ne manifestent aucun caractère phénotypique anormal (Sinet, 1995).

D'autre part, des études ont prouvé une perte fortement accélérée des télomères chez ces sujets.



**Figure 37 : Perte des télomères chez des sujets trisomiques.**  
*Perte des télomères en fonction de l'âge du donneur dans les lymphocytes du sang périphérique de personnes normales et atteintes de trisomie 21. On note l'accélération de la perte des télomères avec l'âge chez les trisomiques (Vaziri *et al.*, 1993).*

## 1.2- Le syndrome de Werner

### 1.2.1- Caractéristiques pathologiques

On parle de syndrome de Werner ou de forme adulte de progéria.

Les sujets apparaissent normaux pendant leur enfance mais cessent de grandir dès le début de leur adolescence (cf. Photo 1).

Le vieillissement commence entre 20 et 30 ans et la mort survient après quelque années par accident cardiovasculaire (en général, vers la quarantaine).

Caractéristiques :

- petite taille
- apparence sénile (grisonnement des cheveux entre 20 et 30 ans)
- cataracte
- diabète sucré
- sclérodermie (peau raide, atrophique ou plus épaisse), ulcération chronique
- déformations articulaires, calcification des tissus mous, ostéoporose
- atrophie des muscles et du tissu conjonctif
- arrêt précoce des menstruations, hypogonadisme
- incidence accrue des néoplasmes, sarcomes, méningiomes
- athérosclérose

Ces traits sont communs à ceux du vieillissement physiologique, sauf qu'ils surviennent beaucoup plus tôt et sont plus ou moins marqués.

L'incidence de l'hypertension artérielle est beaucoup plus importante dans le vieillissement que dans ce syndrome. Les démences et autres maladies dégénératives du système nerveux rencontrées dans le vieillissement ne se retrouvent pas ici.

On remarque que des signes comme l'absence de maturation sexuelle, la croissance réduite et le diabète font penser à un dysfonctionnement du système endocrinien (Kahn, 1996 ; Webb et al., 1996).

### 1.2.2- Anomalies génétiques et cellulaires

Le syndrome de Werner a un mode de transmission génétique autosomique récessif. Le gène responsable a été localisé au niveau du bras court du chromosome 8. Plus précisément, il s'agit d'une mutation au niveau 8p12 (Oshima et al., 1995).

#### a- *Mutations et capacité de réparation*

Il existe une relation directe entre la longévité des espèces et l'efficacité de leur système de réparation de l'ADN.

Plusieurs maladies reconnues associées à une instabilité du matériel génétique, appelées réparatoses, sont liées à une susceptibilité particulière aux cancers et, fréquemment, à des signes de sénescence accélérée, généralisés ou plus souvent localisés : ataxie-télangiectasie, syndrome de Bloom, Xeroderma pigmentosum, syndrome de Cockayne...

Yu *et al.* (1996) ont découvert que le gène du syndrome de Werner semble coder pour une hélicase, type d'enzyme déjà impliquée dans de nombreuses réparations.

Ils ont utilisé des techniques de clonage positionnel associé au séquençage de fragments d'ADN pour identifier le gène du syndrome de Werner (WRN). Ce gène code pour la protéine WRN constituée de 1432 acides aminés. Cette protéine a toutes les caractéristiques d'une hélicase de la famille Rec-Q.

Au départ, quatre mutations ont été identifiées chez les patients, au niveau de la terminaison 3' du gène. Ces mutations entraînent la formation d'une protéine tronquée de 1060 - 1247 acides aminés mais le domaine enzymatique ne semblait pas altéré (Acides aminés : 569 - 859). Puis d'autres travaux ont mis en évidence cinq nouvelles mutations dont quatre détériorent la région hélicase (Yu *et al.*, 1997).

Les hélicases interviennent dans la réparation d'erreurs de l'ADN. Des recherches indiquent que cette réparation est défectueuse dans les fibroblastes mais pas dans les lymphoblastes des patients atteints par ce syndrome. En fait, la protéine WRN semble avoir un rôle de réparation spécifique de cellules et/ou de tissus (Bernett *et al.*, 1997).

La réparation est donc différente selon les types de cellules, mais les études ne permettent pas d'établir un phénotype général de réparation de l'ADN des cellules SW.

Des fibroblastes SW et des lymphoblastes SW transformés par le virus d'Epstein Barr sont exposés aux UV. Les fibroblastes semblent capables de réparer leur ADN alors que les lymphoblastes montrent une déficience de réparation qui pourrait contribuer à l'hypermutableté de ces cellules. Néanmoins, ces résultats sont obtenus sur des cellules transformées et ne reflètent peut-être pas exactement ce qui se passe dans les cellules primaires (Webb *et al.*, 1996).

Il a aussi été suggéré qu'une mutation de ce gène prédispose les cellules à des mutations au niveau d'autres gènes intervenant dans les mécanismes de réparation (Bernett *et al.*, 1997).

Donc, il est certain que ces cellules ont une élévation du taux de mutations spontanées. On retrouve ce phénomène au niveau des fibroblastes et des lymphoblastes. Une grande partie de ces mutations sont des délétions. Mais, en ce qui concerne les systèmes de réparation, les résultats ne sont pas encore très clairs.

Des études ont été menées concernant la réparation de l'ADN, la sénescence des fibroblastes en culture dérivés soit de jeunes en bonne santé, soit de personnes âgées, ou encore de patients souffrant du syndrome de Werner. Un parallélisme frappant a été établi entre : la réduction de la durée de vie, les taux élevés de cassures chromosomiques spontanées, l'incidence élevée de la formation de "micronoyaux", une prolongation significative de la durée du cycle cellulaire, une réactivation diminuée de plasmide endommagé après transfection dans des cellules d'individus âgés et de patients SW.

Ceci suggère une relation causale entre le vieillissement et les dommages de l'ADN (Weirich *et al.*, 1994).

Le gène de la bêta ADN polymérase a été cartographié sur le chromosome 8p12-11. Cette enzyme est impliquée dans la réparation de l'ADN. On a trouvé une espèce originale de bêta ADN polymérase ADNc dans les échantillons sanguins de sujets SW, avec des insertions de 107 paires de bases et des délétions de 108 paires de bases au niveau du domaine catalytique de l'enzyme. Ces mutations entraînent la diminution de la capacité de réparation de l'ADN, et contribuent aux taux de mutations élevés chez ces patients (Sadakane *et al.*, 1994).

#### b- *Surexpression de gènes*

Des séquences d'ADN sont surexprimées à la fois dans les fibroblastes diploïdes humains vieillissant et dans les fibroblastes d'un sujet atteint du SW. Les taux d'ARNm correspondant à ces gènes sont plus élevés dans ces deux types de cellules par rapport aux taux de fibroblastes diploïdes humains normaux jeunes. Les recherches permettent de conclure que les cellules vieillissantes normales et les cellules de sujets SW suivent le même cheminement final où de multiples gènes sont surexprimés conduisant à divers mécanismes antiprolifératifs et à des altérations pathogéniques (Lecka *et al.*, 1996). Dans les fibroblastes jeunes de ces patients, 18 gènes sont surexprimés, de la même façon que lors du vieillissement (Dodet, 1994).

Par exemple, la séquence S1-5 est surexprimée. Elle code pour une protéine contenant des domaines semblables aux EGF (Epidermal Growth Factor ou facteur de croissance épidermique), qui ont un rôle dans la croissance cellulaire et le développement. Les substances produites à partir du gène S1-5 sont des facteurs dont l'activité est régulée par l'environnement cellulaire, comme c'est le cas pour les composés de la famille des EGF (Lecka *et al.*, 1995).

Ou encore, le gène WS9-14 est surexprimé. Il code pour une protéine de 87 kDa similaire à la lysine oxydase. Il s'agirait d'une protéine spécifiquement impliquée dans l'adhésion et la sénescence cellulaire (Saito *et al.*, 1997).

#### c- *Capacité proliférative*

Les cellules somatiques des patients SW présentent : une instabilité chromosomique comme on vient de le voir, une durée de vie répllicative réduite et une croissance ralentie (Sadakane *et al.*, 1994).

Martin *et al.* (1970) avaient déjà mis en évidence une réduction spectaculaire de la capacité de division des cellules de patients atteints du syndrome de Werner. Les fibroblastes de la peau de sujets normaux vieillissent généralement après 60 passages en culture, alors que ceux de ces patients cessent leur croissance après 20 à 30 passages.

La diminution du taux de croissance cellulaire a aussi été observée sur des fibroblastes immortalisés de malades et des lignées cellulaires de lymphoblastes. Ces cellules ont un cycle cellulaire anormal caractéristique.

Les fibroblastes SW ont une durée de vie réduite en culture comparée à celle des fibroblastes normaux. Le taux de perte de cellules proliférant SW durant le processus de vieillissement est accéléré de 5 à 6 fois par rapport aux cellules normales (Kill et *al.*, 1994).

L'apparition de certaines molécules est concomitante avec le déclin de la réplication des fibroblastes normaux en culture et de multiples changements de l'expression des gènes accompagnent la sénescence. Si les mécanismes par lesquels les cellules SW sortent du cycle cellulaire étaient entièrement comparables, les marqueurs moléculaires de la sénescence seraient identiques dans les cellules normales et dans les cellules SW. Mais ce n'est pas toujours le cas :

- l'expression de statine, une protéine nucléaire associée à l'état de non prolifération, est comparable dans les deux types cellulaires.
- le taux stable de p53, protéine impliquée dans l'arrêt du cycle en G1, est similaire dans les deux types de cellules jeunes aux premiers passages. Ce taux n'augmente pas lors de la sénescence.

Mais au contraire des cellules normales, l'inductibilité de l'ARNm et de l'expression de protéines du protooncogène *c-fos* est préservée dans les passages tardifs des cellules SW (Oshima et *al.*, 1995).

#### d- Perte de télomères

Dans les fibroblastes, les télomères sont plus courts chez ces patients que chez un sujet sain. La maintenance des télomères est déficiente chez les patients SW (Salk, 1982 ; Watt et *al.*, 1996).

Les caractéristiques de lignées cellulaires bêta lymphoblastoïdes, transformées par le virus d'Epstein Barr (EBV), d'individus normaux et de patient SW ont été comparées sur 2 ans (soit 160 doublements de population environ).

L'ensemble des 28 lignées cellulaires SW et 15 des 20 lignées normales meurent avant 160 doublements de population, la plupart sans développer d'activité télomérase significative. Les 5 cellules restantes ont une activité télomérase modérée voire forte. Trois d'entre elles sont apparemment immortalisées avec une activité proliférative infinie.

Le suivi du raccourcissement des télomères durant la période de culture montre que la mutation du gène WRN cause une dynamique anormale des télomères :

- une proportion significative de cellules SW montre un raccourcissement important de la longueur des télomères par rapport aux cellules normales.

- les cellules SW terminent leur durée de vie dans une fourchette vaste de longueur de télomères (entre 3,5 et 18,5 Kbp) alors que les cellules normales terminent dans une fourchette plus restreinte (entre 5,5 et 9 Kbp) (Tahara et *al.*, 1997).

#### e- *Mitochondries*

Le dysfonctionnement progressif des mitochondries joue probablement un rôle décisif dans le vieillissement. Dans cette hypothèse, il est suggéré que le défaut de fonctionnement concerne spécialement la sous unité catalytique de la F1-ATPase mitochondriale. Cette proposition est basée sur des observations concernant en particulier un modèle classique du processus de vieillissement : le syndrome de Werner dans lequel une mutation spécifique aboutit à une protéine défectueuse. La diminution de l'activité de la F1-ATPase mitochondriale avec l'âge pourrait mener à la perte progressive d'homéostasie observée au cours du vieillissement (Kröl, 1994).

Pour Kahn (1996), le syndrome de Werner donc n'est pas un simple processus de vieillissement, certains auteurs le décrivent comme une "caricature du vieillissement". Le recoupement entre ces deux processus n'est pas étonnant si on considère que les différents tissus de l'organisme n'ont qu'un répertoire limité de réponses aux anomalies génétiques ou aux agressions de l'environnement .

### 1.3- Le syndrome de Cockayne

C'est une maladie progéroïde autosomique récessive.

Les sujets atteints ont généralement une petite enfance normale, mais ils commencent à montrer vers 2 ans un important retard de croissance.

Les symptômes principaux sont :

- au niveau du visage : les yeux deviennent enfoncés, les oreilles proéminentes
- retard de croissance
- une microcéphalie
- un hypogonadisme
- une ataxie progressive
- des calcifications intracrâniennes
- photosensibilité
- nanisme
- dégénérescence de la rétine, cataracte
- détérioration progressive neurologique
- déformation des articulations

La mort survient vers la fin de l'enfance ou le début de l'adolescence.

Les cellules de ces patients (cellules SC) sont hypersensibles aux effets néfastes des UV au niveau de l'ADN (Bianchi et *al.*, 1992).

Il semble qu'il existe une déficience sélective dans la réparation préférentielle des gènes actifs, sans aucune diminution de réparation générale de l'ensemble du génome (Venema et *al.*, 1990 ; Leadon et Cooper, 1993 ; Balajee et *al.*, 1997).

Un travail récent indique qu'un gène impliqué dans la réparation ou la transcription de l'ADN peut être muté et conduire à ce syndrome (Bootsma, 1993 ; Auerbach et Verlander, 1997). On a identifié le gène ERCC6 de réparation de l'ADN comme défectueux.

Les sujets atteints du syndrome de Xeroderma Pigmentosum présentent, comme les sujets SC, une photosensibilité accrue en clinique et au niveau cellulaire. Là encore, on retrouve un système de réparation de l'ADN défectueux. Toutefois, il ne semble pas s'agir du même défaut que chez les patient SC (Greenhaw et *al.*, 1992 ; Kraemer et *al.*, 1994).

Là encore la comparaison de cellules vieillissantes et de cellules de patients souffrant de ce syndrome progéroïde révèle un parallélisme frappant entre : une durée de vie maximale réduite, un niveau élevé de cassures chromosomiques spontanées, une incidence importante de formation de micronoyaux, une prolongation significative de la durée du cycle cellulaire (Weirich Schwaiger et *al.*, 1994).

#### 1.4- Progéria ou syndrome de Hutchinson - Gilford

Les enfants atteints naissent "normaux" si ce n'est avec une sclérodémie, une cyanose au niveau du visage et, des traits caractéristiques parfois visibles : un nez dit "sculpté" et des yeux proéminents (cf. Photo 2).

Généralement les symptômes apparaissent au cours de la première année avec une combinaison de : retard de croissance, alopecie, anomalie de la peau menant à la consultation initiale et au diagnostic de progérie.

Autres caractéristiques : perte étendue du tissu graisseux sous cutanée, peau vieillie et présentant des taches pigmentées, anomalie métabolique : élévation de l'acide hyaluronique urinaire, HTA, athérosclérose.

La progression de la maladie est relativement rapide, les décès ont lieu à un âge moyen de 12 ans. Dans 80 % des cas, la mort est attribuée à des complications de l'athérosclérose, dont des crises cardiaques, des insuffisances cardiaques congestives, et des thromboses coronariennes (O'Brien et *al.*, 1995).

Cette maladie semble être héréditaire selon un mode de transmission autosomique dominante sporadique.

Goldstein (1969) et Epstein (1973) ont étudié des cellules d'un enfant de 9 ans atteint de progéria. Ces cellules ne peuvent se diviser que deux fois en culture (valeur normale : entre 20 et 40 fois).

Ces patients ont des taux très bas de facteurs de croissance I de type insulinique et des réponses positives aux utilisations thérapeutiques d'hormones de croissance recombinées (Brown, 1992).

On note une abondance anormale de transcription pour la tropoélastine alpha 1 et alpha 2, pour le type IV de procollagène, la chaîne A du facteur de croissance dérivés des plaquettes, *c-fos*, *c-myc* et les récepteurs à l'insuline.

Le niveau de ces transcriptions apparemment anormal est vraisemblablement une conséquence du génotype de la progéria et démontre l'importance d'altérations de transcriptions dans cette maladie.

On remarque des taux d'ARNm altérés dans les cultures de fibroblastes de ces patients.

Capacité de réparation de l'ADN des cellules de ces patients : selon les études de Hart et Setlow (cf. théorie des mutations), les données concernant les sujets atteints de Progéria se classeraient entre le hamster et la vache, espèces animales dont les durées de vie moyenne sont respectivement quatre et vingt ans (cf. figure 22, Partie II, B.3) (Bohr et Anson, 1995).



**Photo 1 : Aspect typique de vieillissement précoce  
dans le syndrome de Werner**  
*(Bastenie, 1983)*



**Photo 2 : Aspect typique de progéria.  
Vieillissement précoce d'un sujet âgé de 7 ans**  
*(Bastenie, 1983)*

## 2- AUTRES PATHOLOGIES

### 2.1- Syndromes endocriniens

On examine ici des syndromes endocriniens qui s'accompagnent d'une apparence de vieillissement précoce.

- Trouble hypothalamique ou adénome hypophysaire déclenchant une surproduction d'hormone de croissance chez l'adulte.

Ceci va entraîner une acromégalie (les tissus mous s'hypertrophient, le nez est grossi, les arcades sourcilières sont saillantes ...), donnant un aspect considérablement vieilli.

- Syndrome de Cushing : résultat d'une surproduction spontanée d'hormones cortico-surrénales, principalement du cortisol (souvent due à une sécrétion excessive d'ACTH libérée par un adénome de l'hypophyse).

On observe une obésité, de l'hypertension artérielle, une atrophie des muscles, une décalcification du squelette, un diabète plus ou moins prononcé, une atrophie de la peau, de l'asthénie ....

Sans traitement, l'affection est mortelle en quelques années par une véritable fonte de tous les tissus, une susceptibilité anormale aux infections et une athérosclérose précoce.

On note que par des traitements prolongés de cortisone ou à des doses excessives, on arrive à des états d'hypercortisolisme imitant de près tous les traits de la maladie de Cushing, provoquant un vieillissement accéléré.

- L'excès de testostérone peut aussi jouer un rôle néfaste. En effet, l'étude des mâles d'une espèce particulière de kangourous (*Dasyures antechinus stuartis*) a montré que durant la période précédant la reproduction, ils subissent une élévation intense et rapide d'androgènes dans le sang. Ceci entraîne une chute de la globuline "porteuse de cortisol" dans le sang et donc une augmentation de cortisol libre. Ainsi, on se retrouve dans le cas du syndrome de Cushing et on explique la mort précoce de ces animaux à onze mois et demi, deux à trois semaines après la période d'accouplement.

- Une autre série de troubles endocriniens est cause de sénescence accélérée. Il en est ainsi du diabète incorrectement traité, de même que de l'hypothyroïdie. Ces deux états ont une particularité : l'âge les aggrave et à leur tour, ils aggravent les manifestations de la vieillesse (Bastenie, 1983).

## 2.2- Cancer

L'étude des phénomènes d'immortalisation des cellules, pourra certainement amener des explications sur la sénescence puisque ces deux processus opposés pourraient bien faire intervenir les mêmes gènes. En fait, dans ce cas le phénomène de vieillissement n'a pas lieu, et les cellules saines deviennent alors malignes.

Selon leur type, les anomalies de la réparation de l'ADN et des systèmes assurant la stabilité des chromosomes peuvent plutôt favoriser la survenue de mutations (dont la conséquence la plus probable serait la transformation maligne) ou la sénescence.

Des anomalies diffuses de la réparation, surtout si elles sont liées à l'anomalie d'une activité de type hélicase, pourraient aboutir à un ralentissement du cycle cellulaire (peut être relié par des systèmes p53 et p21). En l'absence de systèmes de réparation efficaces, des altérations de l'ADN apparaissent, et induisent l'activation de p53 et par son intermédiaire une cascade d'évènements bloquant le cycle cellulaire en G1, caractéristique des cellules sénescents.

Si le cycle cellulaire continue malgré les lésions de l'ADN, il s'ensuit une fixation des mutations dont certaines pourraient être à l'origine de clones cancéreux. On ne sait pas ce qui oriente les conséquences d'anomalies de la réparation vers un blocage et la sénescence ou la cancérisation.

Ces observations confirment le rôle essentiel des systèmes de maintien de l'intégrité de l'ADN dans le destin des cellules et des organismes.

D'après une observation ancienne des gérontologues : au niveau cellulaire, l'alternative au vieillissement est le cancer. Dans les deux cas, il s'agit de conséquences d'une altération de la réparation du génome (Shay et Werbin, 1992; Kahn, 1996).

D'autre part, les études concernant l'activité des télomérases (cf. Partie II, B.7) nous renseignent sur le processus de vieillissement et de tumérogénèse (Bodnar, 1998).

## 2.3- Maladies dégénératives

- De récentes études ont impliqué le dysfonctionnement des mitochondries et le stress oxydatif dans le processus de vieillissement et aussi dans la pathogénèse de maladies dégénératives. Dans le cerveau et autres tissus, le vieillissement est associé à des altérations progressives des fonctions mitochondriales et à l'accumulation des dommages oxydatifs.

- La maladie de type Alzheimer ou démence présénile résulte d'une atrophie importante du tissu cérébral, en particulier dans les régions frontales et temporales.

Des plaques séniles et des anomalies des structures ultramicroscopiques cellulaires sont décelées au microscope électronique dans les tissus nerveux atrophiés. En fait, ces lésions sont identiques à celles trouvées dans les cerveaux de certains grands vieillards, mais leur particularité est de survenir ici à l'âge de 60 ans (voire plus tôt). On peut donc penser que des processus similaires mais se déroulant à des vitesses différentes sont responsables de lésions dans le vieillissement normal et le vieillissement cérébral précoce (Bowling et Beal, 1995 ; La Ferla et *al.*, 1995 ; Cataldo et *al.*, 1996).

Des recherches chez des sujets atteints de la maladie d'Alzheimer ont mis en évidence une baisse de l'activité du complexe IV, et des mutations au niveau de l'ADN mitochondrial.

- Dans la maladie de Parkinson, plusieurs études ont démontré la baisse de l'activité du complexe I, la hausse des dommages oxydatifs et l'activité altérée des systèmes de défense antioxydants.

L'aire du cerveau humain vieillissant associée avec la plus haute quantité d'ADNmt muté est la substantia nigra, la même aire du cerveau qui est la plus fréquemment affectée dans la maladie de Parkinson. Cette quantité élevée de mutation d'ADNmt pourrait être le résultat des dommages induits par des espèces oxygénées réactives (Arnheim et Cortopassi, 1992).

- Des cas de scléroses latérales amyotrophiques familiales sont associés à des mutations dans les gènes de la CuSOD et de la ZnSOD, la diminution de l'activité de ces enzymes et en même temps l'augmentation des dommages oxydatifs.

- Des défauts dans le métabolisme énergétique au niveau cortical ont été détectés chez des patients souffrant de la maladie d'Huntington.

- Certaines maladies génétiques rares ont pour caractéristiques des mutations par délétions délétères de l'ADNmt et se traduisent au niveau du phénotype par des dégénérescences en particulier des démences, des neuropathies optiques, un affaiblissement musculaire, et des cardiomyopathies.

Une mutation à délétion identique à celle trouvée chez les patients à maladie génétique mitochondriale se produit chez des sujets normaux âgés (Linnane et *al.*, 1990).

L'étude de ces maladies révèle donc des détériorations au niveau des mitochondries comme dans le vieillissement (Bowling et Beal, 1995 ; Wallace et *al.*, 1995).

## CONCLUSION

L'observation et la comparaison, au niveau génétique, cellulaire, physiologique, et biologique de sujets malades et de sujets âgés permet progressivement d'éclaircir les mécanismes de dégénérescence cellulaire et de confirmer ou d'infirmer les théories existant à ce sujet. Parmi les points communs à ces processus pathologiques et au vieillissement, on note :

- la perte de capacité proliférative
  - une durée du cycle cellulaire allongée
  - des mutations de l'ADN
  - des systèmes de réparation de l'ADN défectueux
  - un raccourcissement des télomères et une absence d'activité télomérase
  - la surexpression de gènes
  - des réactions radicalaires et des dommages oxydatifs consécutifs
  - des systèmes de défenses antioxydant insuffisants
  - des altérations de la fonction mitochondriale
  - des altérations du fonctionnement de couple récepteur/ ligand
  - des modifications au niveau des systèmes hormonaux
- Tous ces phénomènes ont des interactions les uns sur les autres.

THESE SOUTENUE PAR : M<sup>lle</sup> BUDER Cendrine

TITRE : VIEILLISSEMENT CELLULAIRE : FAITS ET THÉORIES

## CONCLUSION

Depuis de nombreuses années, des questions se posent sur le processus du vieillissement qui semble inéluctable : est - il inscrit dans nos gènes ?, ou est - il du à l'usure de l'organisme sous l'effet des agressions répétées de l'environnement ?

Il paraît évident aujourd'hui de considérer que l'origine de ce phénomène fait intervenir de multiples facteurs. Il faut retenir notamment :

- le rôle primordial des radicaux libres du fait des dommages moléculaires et cellulaires qu'ils produisent,
- l'activation, l'inhibition, les mutations ou simplement l'expression de certains gènes,
- le déclin de l'activité des mitochondries, organites producteurs d'énergie.

Les études réalisées au coeur même de la cellule contribuent à éclaircir le mécanisme global et complexe au niveau de l'organisme entier. Les progrès de la génétique apportent sans cesse de nouveaux éléments. Grâce à des techniques de recherches de plus en plus perfectionnées, de nouvelles hypothèses sont proposées. De plus, un certain nombre de pathologies peuvent être considérées comme des modèles du processus de vieillissement et les recherches sur ces maladies apportent des éléments pour comprendre les mécanismes mis en jeu.

Parmi les études à grande échelle en cours, nous pouvons citer :

• "EUCAMBIS", un programme européen d'identification des gènes exprimés par les cellules T sénescentes (European Union Concerted Action on Molecular Biology of Immuno Senescence, coordonnée par le Dr. Graham Pawelec, Clinique médicale universitaire, Tübingen, Allemagne).

• en France, l'étude des gènes des centenaires réalisée par le Centre d' Etude du Polymorphisme Humain (CEPH Paris).

• "SUVIMAX", étude française de l'impact d'une supplémentation antioxydante sur la prévention de grandes pathologies (Coordinateur : Herberg S.).

Va - t - on pouvoir ainsi repousser les limites de la vie ?

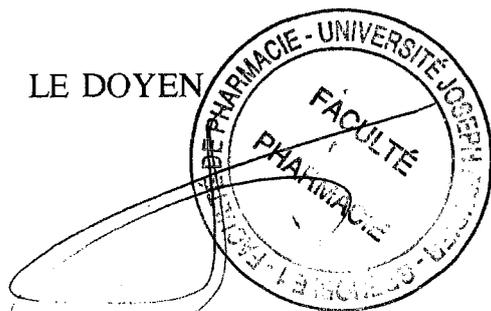
L'importance de ces recherches est essentiellement, comme le dit une devise de nombreux gérontologues : "d'ajouter des années à la vie et de la vie aux années".

Dans nos sociétés actuelles, on remarque le souci de vivre plus longtemps mais aussi de paraître moins vieux. Ainsi, les résultats apportés dans le domaine du vieillissement cellulaire sont en général rapidement "exploités" dans des domaines tels que la cosmétologie et la diététique. On peut en effet observer sur le marché de nombreux produits qualifiés "d'anti - vieillissement", "anti - âge", "anti - oxydants", "anti radicalaires", ....

Mais au - delà de ces "soucis d'ordre esthétique", il faut retenir que les progrès dans la compréhension des mécanismes cellulaires font avancer les connaissances concernant de nombreuses maladies. Connaissance, donc mise au point possible de moyens préventifs et de traitements de ces pathologies. Parmi elles, les pathologies qui sont des conséquences du processus de vieillissement : maladies cardiovasculaires, diabète, ostéoporose, démences, .... mais aussi, les maladies touchant l'ensemble de la population, comme par exemple le cancer. Ainsi, les études concernant la prolifération cellulaire apportent d'une part de nouvelles données expliquant la sénescence et d'autre part, ouvrent des voies de recherche en cancérologie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
Grenoble, le 16/06/98

LE DOYEN



A. FAVIER

LE PRESIDENT DE THESE

P. GUIRAUD

## **BIBLIOGRAPHIE**

AGARWAL S., SOHAL R.S., Aging and proteolysis of oxydized proteins. Arch. Biochem. Biophys., 1994, **309** : 24 - 28.

AMANO T., NAKANISHI H., KONDO T., TANAKA T., OKA M., YAMAMOTO K., Age - related changes in cellular localization and enzymatic activities of cathepsins B, L and D in the rat trigeminal ganglion neuron. Mech. Ageing Dev., 1995, **83** : 133 - 141.

ARNHEIM N., CORTOPASSI G., Deleterious mitochondrial DNA mutations accumulate in aging human tissues. Mutat. Res., 1992, **275** : 157 - 167.

ATADJA P., WONG H., GARKAVTSEV I., VEILLETTE C., RIABOWOL K., Increased activity of p53 in senescing fibroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, **92** : 8348 - 8352.

AUERBACH A.D., VERLANDER P.C., Disorders of DNA replication and repair. Curr. Opin. Pediatr., 1997, **9** : 600 - 616.

AZHAR S., CAO L., REAVEN E., Alteration antioxidant defense system during aging in rats. J. Clin. Invest., 1995, **96** : 1414 - 1424.

BALAJEE A.S., MAY A., DIANOV G.L., FRIEDBERG E.C., BOHR V.A., Reduced RNA polymerase II transcription in intact and permeabilized Cockayne syndrome group B cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, **94** : 4306 - 4311.

BARNETT Y.A., How and why we age ?, In : ALLEN J.M., BARNETT Y.A., GIBSON F., Mc KENA P.G.(Eds.), Celebrating age, Avebury Press, 1995, London, In Press.

BARNETT Y.A., KING C.M., An investigation of antioxydant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. Mutat. Res., 1995, **338** : 115 - 128.

BARREAU E., BROSSAS J.Y., COURTOIS Y., TRETON J.A., Accumulation of mitochondrial DNA deletions in human retina during aging . Invest. Ophtalmol. Vis. Sci., 1996, **37** : 384 : 391.

BASERGA R.L., Cell division and the cell cycle. In :FINCK E.E., HAYFLICK L.(Eds), Handbook of the biology of aging, Van Nostrand Reinhold Lom., NY, 1977.

BASTENIE P.A., Le vieillissement et les nouvelles sources de jouvence, Flammarion, Paris, 1983.

BAYNES J.W., The role of oxidation in the Maillard reaction *in vivo*. In : IKAN R. (Ed.), The Maillard reaction in biological system, John Wiley et sons, NY, 1995.

BENDICH A., Antioxidant micronutriments and immune response. Ann. NY Acad. Sci., 1990, **587** : 168 - 180.

BENEDIKTSDDOTTIR V.E., SKULADOTTIR G.V., GUDBJARNASON S., Effects of ageing and adrenergic stimulation on alpha 1- and beta - adrenoceptors and phospholipid fatty acids in rat heart. Eur. J. Pharmacol., 1995, **289** : 419 - 427.

BENNETT S.E., UMAR A., OSHIMA J., MONNAT R.J., KUNKEL T.A., Mismatch repair in extracts of Werner syndrome cell lines. Cancer Res., 1997, **57** : 2956 - 2960.

BENNETT M.R., MACDONALD K., CHAN S.W., BOYLE J.J., WEISSBERG P.L., Cooperative interactions between RB and p53 regulate cell proliferation, cell senescence, and apoptosis in human vascular smooth muscle cells from atherosclerotic plaques. *Circ. Res.*, 1998, **82** : 704 - 712.

BENZI G., MORETTI A., Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease?. *Neurobiol. Aging*, 1995, **16** : 661 - 674.

BERNSTEIN C., BERNSTEIN E., Aging, Sex and DNA repair. Academic Press, San Diego, CA, 1991.

BERTONI - FREDDARI C., FATTORETTI P., CASELLI U., PAOLINI R., MEIER - RUGE W., Vitamin E deficiency as a model of precocious brain aging. *Scanning Microscopy*, 1995, **9** : 289 - 302.

BIANCHI C., PETECCA M.C., BARICCI D., STEFANINI M., Clinical and cellular studies in a patient with Cockayne syndrome. *Minerva Pediatr.*, 1992, **44** : 601 - 605.

BITTLES A.H., Evidence for and against the causal involvement of mitochondrial DNA mutation in mammalian ageing. *Mutat. Res.*, 1992, **275** : 217 - 225.

BLASCO M.A., WALTER F., BRYANT V., GREIDER C.W., Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA. *Science*, 1995, **269** : 1267 - 1270.

BODNAR A.G., OUELLETTE M., FROLKIS M., et al., Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*, 1998, **279** : 349 - 352.

BOHR V.A., Gene specific DNA repair. *Carcinogenesis*, 1991, **12** : 1983 - 1992.

BOHR V.A., ANSON R.M., DNA damage, mutation and fine structure DNA repair in aging. *Mutation Res.*, 1995, **338** : 25 - 34.

BOOTSMA D., The genetic defect in DNA repair deficiency syndrome. *Eur. J. Cancer*, 1993, **29A** : 1482 - 1488.

BORCHMAN D., BYRDWELL W.C., YAPPERT M.C., Regional and age - dependent differences in the phospholipid composition of human lens membranes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1994, **35** : 3938 - 3942.

BOWLING A.C., BEAL M.F., Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life Sci.*, 1995, **56** : 1151 - 1171.

BOZAVIC V., ENESCO H.E., Effects of antioxidants on rotifer lifespan and activity. *Age*, 1986, **9** : 41 - 45.

BROHEE D., NEVE P., Effect of dietary high doses of vitamin E on lymphocyte subsets in young and old CBA mice. *Mech. Ageing Dev.*, 1994, **76** : 189 - 200.

BROOKS-FREDERICK K.M., CIANCIARULO F.L., RITTLING S.M., CRISTOFALO V.J., Cell cycle dependent regulation of Ca<sup>++</sup> in young and senescent WI-38 cells. *Exp. Cell Res.*, 1993, **205** : 412 - 415.

BROWLEE M., Glycation and diabetic complications. *Diabetes*, 1994, **43** : 836 - 841.

BROWN W.T., Progeria : a human-disease model of accelerated aging. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992, **55** (suppl.), 1222 - 1224.

BUETOW D.E., Cell numbers vs. age in mammalian tissues and organs, In : CRISTOFALO V.J. (Ed.), *CRC handbook of cell biology of aging*, Boca Raton, FL : CRC Press, 1985.

BUNAG R.D., TERAVALINEN T.L., Waning cardiovascular responses to adrenergic drugs in conscious aging rats. *Mech. Ageing Dev.*, 1991, **61** : 313.

CARREL A., EBELING A.H., Age and multiplication of fibroblasts. *J. Exp. Med.*, 1921, **34** : 599 - 623.

CATALDO A.M., HAMILTON D.J., BARNETT J.L., PASKEVICH P.A., NIXON R.A., Properties of the endosomal - lysosomal system in the human central nervous system : disturbances mark most neurons in populations at risk to degenerate in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.*, 1996, **16** : 186 - 199.

CEBALLOS-PICOT I., et *al.*, Neuronal specific expression of human copper-zinc superoxide dismutase gene in transgenic mice : animal model of gene dosage effect in Down's syndrome. *Brain Res.*, 1991, **552** : 198 - 214.

CHANCE B., SIES H., BOVERIS A., Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.*, 1979, **59** : 527 - 605.

CHARPENTIER B., LANG P., FRIES D., Vieillessement : le rôle des globules blancs. *La Recherche*, 1980, **11** : 602 - 603.

CHAUDIERE J., Some chemical and biochemical constraints of oxidative stress in living cells, In : CHAUDIERE J., eds. *Free radical damage and its control*, Rice - Evans and Burdon, 1994, 25 -66.

CHAUDIERE J., Radicaux libres : intervention dans les mécanismes du vieillissement. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.

CHERBONNEL-LASSERRE C., DOSANJH M.K., Suppression of apoptosis by overexpression of Bcl-2 or Bcl-xL promotes survival and mutagenesis after oxydative damage. *Biochimie*, 1997, **79** : 613 - 617.

CHICCA MC., NESTI C., MUZZOLI M., PASETTI P., PINAMONTI S., Correlation between age and DNA damage detected by FADU in human peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.*, 1996, **316** : 201 - 208.

CLAYTON D.A., DODA J.N., FRIEDBERG E.C., The absence of a pyrimidine dimer repair mechanism in mammalian mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1974, **71** : 5777 - 2781.

COOKE H.J., SMITH B.A., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 243, 1986.

CORRAL-DEBRINSKY Y.M., HORTON T., LOTT M.T., et *al.* , mtDNA deletions in human brain. *Nature Genetic*, 1992, **2**, 324 - 329.

COURTIERE A., COTTE J.M., PIGNOL F., JADOT G., Etude de la lipoperoxydation chez le malade âgé. Influence d'une association antioxydante. *Thérapie*, 1989, **44** : 12 - 17.

COURTOIS Y., Vieillessement *in vitro* de fibroblastes de poulet. Modifications nucléaires et altérations des membranes. Colloque sur le mécanisme du vieillissement moléculaire et cellulaire, 5 -7 Dec.1974, 27, 107 - 126.

COURTOIS Y., Les méthodes d'études du vieillissement cellulaire : le modèle d'Hayflick et ses limites. Autres systèmes spécialisés. Apoptose et différenciation. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université ParisV, 1995.

CRISTOFALO V.J., PARRIS N., KRITCHEVSKY D., Enzyme activity during the growth and aging of human cells *in vitro*. J. Cell. Physiol., 1967, 69 : 263.

CRISTOFALO V.J., Animal cell cultures as a model system for study of ageing, In : STREHLER B (Ed.), Advances in gerontological research, NY Academic Press, 1972, 4 : 45 - 79.

CRISTOFALO V.J., PHILIPS P.D., SORGER T., GERHARD G., Alterations in the responsiveness of senescent cells to growth factors. Gerontology, 1989, 44 : 55 - 62.

CURTIS J.H., MILLER K., Chromosome aberrations in liver cells of guinea pigs. J. Gerontol., 1971, 26 : 292 - 293.

CUTLER G.W., Genetic instability and oxidative stress : common mechanisms in aging and cancer, In : EMERIT I., CHANCE B. (Eds.), Free radicals and aging, Birkhauser-Verlag, NY, 1992, 31 - 46.

DE LANGE T., Telomeres and senescence : ending the debate. Science, 1998, 279 : 334 - 335.

DODET B., Vieillessement et longévité, la piste des gènes. Biofutur, 1994, 17 - 24.

EDAMATSU R., MORI A., PACKER L., The spin - trap - N - test - alpha - phenyl - butylnitronne prolongs the life span of the senescence accelerated mouse. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1995 , 211 : 847 - 849

EPSTEIN C.J., WILLIAMS J.R., LITTLE J.B., Deficient DNA repair in human progeroid cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1973, 70 : 977 - 981.

EVANS D., BURBACH J.P., VAN LEEUWEN F.W., Somatic mutations in the brain : relationship to aging ?. Mutat. Res., 1995, 338 : 173 - 182.

FENG J., WALTER D.F., WANG S., et al., The RNA component of human telomerase. Science, 1995, 269 : 1236 - 1241.

FENTON H.J.H. J. Chem. Soc., 1894, 65 : 899 - 910.

FINCH C.E., ROSE M.R., Hormones and the physiological architecture of life history evolution. Quaterly Rev. Biol., 1995, 70 : 1 - 52.

FLEMING J.E., MIQUEL J., COTTRELL S.F., et al., Is cell aging caused by respiratory-dependent injury to the mitochondrial genome ? Gerontology, 1982, 28 : 44 - 53.

FRIGUET B., Modifications post - traductionnelles et turn - over des protéines. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.

GARNIER M., DELAMARE V., DELAMARE J., DELAMARE-RICHET T., Dictionnaire des termes de médecine, Eds. Maloine, Paris, 1989.

GARTNER P.L., HIATT J.L., Atlas en couleur d'histologie, 2ème édition française, Eds. Pradel, Paris, 1997.

GOLDSTEIN S., Lifespan of cultured cells in Progeria. *Lancet*, 1969, **1** : 424.

GORDILLO E., AYALA A., LOBATO F., et *al.*, Possible involvement of histidine residues in the loss of enzymatic activity of rat liver malic enzyme during aging. *J. Biol. Chem.*, 1988, **263**, 8053 - 8057.

GORDILLO E., AYALA A., BAUTISTA M., et *al.*, Implication of lysine residues in the loss of enzymatic activity in rat liver 6-phosphogluconate deshydrogenase found in aging. *J. Biol. Chem.*, 1989, **264** : 17014 - 17019.

GORMAN S.D., CRISTOFALO V.J., Reinitiation of cellular DNA synthesis in BrdU selected non dividing senescent cells by simian virus 40 infection. *J. Cell. Physiol.*, 1985, **125** : 122 - 126.

GOYA R.G., The immune - neuroendocrine homeostatic network and aging. *Gerontology*, 1991, **37** : 208 - 213.

GREENHAW G.A., HEBERT A., DUKE-WOODSIDE M.E., et *al.*, Xeroderma pigmentosum and Cockayne syndrome : overlapping clinical and biochemical phenotype. *Am. J. Hum. Genet.*, 1992, **50** : 677 - 689.

GRIST S.A., Mc CARRON M., KUTLACA A., et *al.*, *In vivo* human somatic mutation : frequency and spectrum with age. *Mutat. Res.*, 1992, **266** : 189 - 196.

GROVE G.L., CRISTOFALO V.J., Characterization of the cell cycle of culture human diploid cells : effects of aging and hydrocortisone. *J. Cell Physiol.*, 1977, **90** : 415 - 420.

GRUNE T., REINHECKEL T., DAVIES K.J., Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J.*, 1997, **11** : 526 - 534.

GUPTA K.P., Van GOLEN K.L., RANDEPATH E., Age dependent covalent DNA alterations (I-compounds) in rat liver mitochondrial DNA. *Mutat. Res.*, 1990, **237** : 17 - 27.

HAMARSY K., La sénescence cellulaire, Thèse Université Paris XI, 1986.

HARLEY C.B., FUTCHER A.B., GREIDER C.W., Telomeres shorten during aging of human. *Nature*, 1990, **345** : 458 - 460.

HARLEY C.B., NAZIRI H., COUNTER C.M., ALLSOPP R.C., The telomere hypothesis of cellular aging. *Exp. Gerontol.*, 1992, **27** : 375 - 382.

HARMAN D., Aging : A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 1956, **11** : 298 - 300.

HARMAN D., Théories des radicaux libres du vieillissement. *Triangle*. Ed. Sandoz, 1974, **14** : 147 - 155.

HARMAN D., Free radical theory of aging : nutritional implications. *Age*, 1978, **1** : 145 - 152.

HARMAN D., The aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, **78** : 7124 - 7128.

HARMAN D., Free radical theory of aging : role of free radicals in life, aging, and disease processes, In : JOHNSON J.E., WALFORD R.W., HARMAN D., MIQUEL J. (Eds.), Free radicals, aging and degenerative diseases, Alan R. Liss, NY, 1986, 3 - 49.

HARMAN D., The aging process : Major risk factor for disease and death. Proc. Natl. Acad. Sci., 1991, **88** : 5360 - 5363

HARMAN D., Free Radical Involvement in Aging. Mutat. Res., 1992, **275** : 257 - 266.

HART R.W., SETLOW R. B., Correlation between deoxyribonucleic acid excision-repair and life-span in a number of mammalian species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1974, **71** : 2169 - 2173.

HARUNA H., INABA M., INABA K., et al., Abnormalities of B cells and dendritic cells in SAMP 1 mice. Eur. J. Immunol., 1995, **25** : 1319 - 1325.

HASTIE N.D., et al. , Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with aging. Nature, 1990, **346** : 866 - 868.

HAY R., STREHLER B.L., The limited growth span of cell strains isolated from the chick embryo. Exp. Gerontol., 1967, **2**, 123 - 135.

HAYFLICK L., MOORHEAD P.S., The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp. Cell Res., 1961, **25** : 585 - 621.

HAYFLICK L., Review article : Theories of biological aging. Exp. Gerontol., 1985, **20** : 145 - 159.

HENSLEY K., HOWARD B.J., CARNEY J.M., BUTTERFIELD D.A., Membrane protein alterations in rodent erythrocytes and synaptosomes due to aging and hyperoxia. Bioch. Biophys. Acta, 1995, **1270** : 203 - 206.

HERITIER V., Vieillessement cellulaire et liposomes, Thèse Université Clermont 1, 1990.

HOLLIDAY R., TARRANT G.M., Altered enzymes in aging human fibroblasts. Nature, 1972, **238** : 26 - 30.

HOLMES G.E., BERNSTEIN C., BERNSTEIN H., Oxidative and other DNA damages as the basis of aging : a review. Mutat. Res., 1992, **275** : 305 - 315.

HORRUM M.A., HARMAN D., TOBIN R.B., Free radical theory of aging : effects of antioxidants on mitochondrial function. Age, 1987, **10** : 58 - 61.

HOSCHILD R., Lysosomes, membranes and aging. Exp. Gerontol., 1971, **6** : 153.

HOSHINO E., SHARIFF R., VAN GOSSUM A., et al., Vitamin E suppresses increased lipid peroxidation in cigarette smokers. J. Parenteral Enteral Nutr., 1990, **14** : 300 - 305.

HOUBEN A., REMACLE J., Lysosomal and mitochondrial heat labile enzymes in aging human fibroblasts. Nature, 1978, **275** : 59 - 60.

HRUSZKEWYCZ A.M., BERGTOLD D.S., The 8-hydroxyguanine content of isolated mitochondria increases with lipid peroxidation. Mutat. Res., 1990, **244** : 123 - 128.

JADOT G., LANCON C., VALLI M., Anti-oxydants et vieillissement cérébral : perspectives thérapeutiques, In : Actualités en neurogériatrie, SOLAL ( Ed.), Paris-Marseille, 1991, 165 - 179.

- JADOT G., Antioxydants et Vieillessement, John Libbey Eurotext, Paris, 1994.
- JAMES S.J., MUSKHELISHVILI L., GAYLOR D.W., TURTURRO A., HART R., Upregulation of apoptosis with dietary restriction : implications for carcinogenesis and aging. *Environ. Health Perspect.*, 1998, **106** : 307 - 312.
- KADENBACH B., MUNSCHER C., FRANK V., MULLER - HOCKER J., NAPIWOTZKI J., Human aging is associated with stochastic somatic mutations of mitochondrial DNA. *Mutat. Res.*, 1995, **338** : 161 - 172.
- KAHN A., Réparation, cancer et sénescence : le gène du syndrome de Werner. *Medecine/Science*, 1996, **12** : 802 - 804.
- KARLSSON C., STENMAN G., VOJTA P., et *al.*, Escape from senescence in hybrid cell clones involves deletions of two regions located on human chromosome 1q . *Cancer Res.*, 1996 , **56** : 241 - 245
- KILL I.R., FARAGHER R.G., LAWRENCE K., SHALL S., The expression of proliferation-dependent antigens during the lifespan of normal and progeroid human fibroblasts in culture. *J. Cell Sci.*, 1994, **107** : 571 - 579.
- KIM N.W., PIATYSZEK M.A., PROWSE K.R., et *al.*, Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 1995, **266** : 2011 - 2014.
- KIMBALL K.A., CORNETT N., MADER S.L., KENNEDY R.H., Aging : changes in cardiac alpha 1- adrenoceptor responsiveness and expression. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991, **208** : 231.
- KIRKWOOD T.B.L., HOLLIDAY R., Aging as a consequence of natural selection, In : BITTLES A.H., COLLINS K.J.(Eds.), *The biology of human aging*, University Press, Cambridge, 1986.
- KIRKWOOD T.B.L., Evolution of senescence : late survival sacrificed for reproduction. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, 1991, **332**.
- KOWALD A., KIRKWOOD T.B.L., A network theory of ageing : the interactions of defective mitochondria, aberrant proteins, free radicals and scavengers in ageing process. *Mutat. Res.*, 1996, **316** : 209 - 236.
- KRAEMER K.H., LEVY D.D., PARRIS C.N., et *al.*, Xeroderma pigmentosum and related disorders : examining the linkage between defective DNA repair and cancer. *J. Invest. Dermatol.*, 1994, **103** : 96S - 101S.
- KRITCHEVSKY D., HOWARD B.V., The lipids of human diploid cell strain WI-38. *Ann. Med. Exp. Fenn.*, 1966, **44** : 343 - 347.
- KRÖL J., The mitochondrial F1-ATPase and the aging process. *Med. Hypotheses*, 1994, **42** : 395 - 396.
- KRUK P.A., RAMPINO N.J., BOHR V.A., DNA damage and repair in telomeres : Relation to aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, **92** : 258 - 262.
- LADISLAS R., *Les horloges biologiques*, Flammarion, Paris, 1989.
- LADISLAS R., *Le Vieillessement : faits et théories*, Flammarion, Evreux, 1995.

LA FERLA F.M., TINKLE B.T., BIEBERICH C.J., HAUDENSCHILD C.C., JAY G., The Alzheimer's A $\beta$  peptide induces neurodegeneration and apoptotic cell death in transgenic mice. *Nature Genetics*, 1995, **9** : 21 - 29.

LEADON S.A., COOPER P.K., Preferential repair of ionizing radiation-induced damage in the transcribed strand of an active human gene is defective in Cockayne syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, **90** : 10499 - 10503.

LECKA C.B., LUMPKIN C.K., GOLDSTEIN S., An overexpressed gene transcript in senescent and quiescent human fibroblasts encoding a novel protein in the epidermal growth factor-like repeat family stimulates DNA synthesis. *Mol. Cell Biol.*, 1995, **15** : 120 - 128.

LECKA C.B., MOERMAN E.J., JONES R.A., GOLDSTEIN S., Identification of gene sequences overexpressed in senescent and Werner syndrome human fibroblasts. *Exp. Gerontol.*, 1996, **31** : 159 - 174.

LE DOUX S.P., WILSON G.L., BOHR V.A., Mitochondrial DNA repair and cell injury, In : JONES D.P., LASH L.H. (Eds.), *Mitochondrial dysfunction, methods in toxicology*, Academic Press, 1993, 461 - 476.

LEE H.C., PANG C.Y., HSU H.S., WEI Y.H., Differential accumulations of 4977 bp deletion in mitochondrial DNA of various tissues in human ageing. *Bioch. Biophys. Acta*, 1994, **1226** : 37 - 43.

LESTIENNE P., Mitochondrial DNA mutations in human diseases : a review. *Biochimie*, 1992, **74** : 123 - 130.

LESTIENNE P., Les altérations de l'ADN mitochondrial sont - elles la cause ou la conséquence du vieillissement ? *Médecine thérapeutique*, 1995, **1** : 487 - 494.

LEWIS C.M., TARRANT G.M., Error theory and aging in human diploid fibroblasts. *Nature*, 1972, **239** : 316 - 318.

LINDAHL T., Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 1993, **362** : 709 - 715.

LINNANE A.W., BAUMER A., MAXWELL R.J., et al., Mitochondrial gene mutation : The aging process and degenerative diseases. *Biochem. Int.*, 1990, **22** : 1067 - 1076.

LIPETZ J., CRISTOFALO V.J., Ultrastructural changes accompanying the aging of human diploid cells in culture. *J. Ultrastructural Res.*, 1972, **39** : 43 - 56.

LODISH, BALTIMORE, BERK, ZIPURSKY, MATSUDAIRA, DARNELL, *Biologie moléculaire de la cellule*, Eds De Boeck Université, Italie, 1997.

LUFT R., LANDAU B.R., Mitochondrial medicine . *J. Int. Med.*, 1995, **238** : 405 - 442.

LUQUIN M.R., MARTINEZ-VILA E., SALDISE L., Mechanisms of cell death in Alzheimer's disease. *Rev. Med. Univ. Navarra*, 1997, **41** : 34 - 45.

MACHADO A., AYALA A., GORDILLO E., REVILLA E., SANTA MARIA C., Relationship between enzymatic activity loss and post - translational protein modification in aging. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 1991, **12** : 187 - 197.

- MACIEIRA-COELHO A., PONTEN J., PHILIPSON L., The division cycle and RNA synthesis in diploid human cells at different passage levels *in vitro*. *Exp. Cell Res.*, 1966, **42** : 673 - 684.
- MADDOX G.L., L'encyclopédie du vieillissement, Edition Française - Serdi and Springer Publishing Company, Paris-NY, 1997.
- MANIONQUI C., BLOND J.P., ULMANN L., et *al.*, Age related changes in delta 6 and delta 5 desaturase activities in rat liver microsomes. *Lipids*, 1993, **28** : 291.
- MARTIN G.M., SPRAGUE C.A., EPSTEIN C.J., Replicative life-span of cultivated human cells : effects of donor's age, tissue, and genotype. *Lab. Invest.*, 1970, **23** : 86 - 92.
- MARTIN G.M., Genetic syndromes in man with potential relevance to the pathobiology of aging. *Birth defects*, 1977, **14** : 5 - 39.
- MARTIN G.M., Genotropic theories of aging : an overview. *Adv. Pathobiol.*, 1980, **7** : 5 - 20.
- MEAD J.F., Free radicals mechanism of lipid damage and consequences for cellular membranes, In : *Free radicals in biology*, Ed. Prior W., Academic Press, NY, 1976, **1**, 67.
- MEDVEDEV Z.A., Repetition of molecular-genetic information as a possible factor in evolutionary changes of lifespan. *Exp. Gerontol.*, 1972, **7** : 227 - 234.
- MEITES J., HYLKA W.E., SONNTAG W.E., Cellular molecular versus neuroendocrine concepts of aging. A need for integration, In : ROY A.K., CATTENJEE B.(Eds.), *Molecular basis of aging*, Academic Press, NY, 1984, 187 - 207.
- MERA S.L., Senescence and pathology in ageing. *Med. Lab. Sci.*, 1992, **49** : 271 - 282.
- MERCHANT T.E., LASS J.H., MENESES P., et *al.* , Human crystalline lens phospholipid analysis with age. *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.*, 1991, **32** : 549 - 555.
- MIGHELI A., CAVALLA P., PIVA R., GIORDANA MT., SCHIFFER D., bcl-2 protein expression in aged brain and neurodegenerative diseases. *NeuroReport*, 1994, **5** : 1906 - 1908.
- MIQUEL J., ECONOMOS A.C., FLEMING J., JOHNSON JE., Mitochondrial role in cell aging . *J. Exp. Gerontol.*, 1980, **15** : 575 - 590.
- MITSUI Y., SCHNEIDER E.L., Increased nuclear sizes in senescent human diploid fibroblasts cultures. *Exp. Cell Res.*, 1976, **100** : 147 - 152.
- MONSERRAT A.J., BENAVIDES S.H., BERRA A., FARINA S., VICARIO S.C., PORTA E.A., Lectin histochemistry of lipofuscin and certain ceroid pigments. *Histochemistry*, 1995 , **103** : 435 - 445
- MULLAART E., MOHMAN P.H.M., BERENDS F., VIJG J., DNA damage metabolism and aging. *Mutat. Res.*, 1990, **237** : 189 - 210.
- NING Y., WEBER J.C., KILLARY A.M., et *al.*, Genetic analysis of indefinite division in human cells : evidence for a cell senescence -related gene(s) on human chromosome 4. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88** : 5635 - 5639.

- OBONAI T., MIZUGUCHI M., TAKASHIMA S., Developmental and aging changes of Bak expression in the human brain. *Brain Res.*, 1998, **783** : 167 - 170.
- O'BRIEN M., WEISS A.S., Hutchinson - Gilford progeria fibroblasts exhibit metabolically normal uridine uptake and RNA synthetic rates. *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, 1995, **210** : 225 - 230.
- OLASHAW N.E., KRESS E.D., CRISTOFALO V.J., Thymidine triphosphate synthesis in senescent WI-38 cells. *Exp. Cell Res.*, 1983, **149** : 547.
- ORGEL L.E., The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1963, **49** : 517 - 521.
- OSHIMA J., CAMPISI J., TANNOCK T.C., MARTIN G.M., Regulation of *c-fos* expression in senescing Werner syndrome fibroblasts differs from that observed in senescing fibroblasts from normal donors. *J. Cell Physiol.*, 1995, **162** : 277 - 283.
- OZAWA T., TANAKA M., SATO W., et al., Mitochondrial DNA mutations as an etiology of human degenerative diseases, In : KIM C.H., OZAWA T. (Eds.), *Bioenergetics*, Plenum Press, NY, 1990, 413 - 427.
- OZAWA T., mt DNA mutations associated with age. *Aging Clin. Exp. Res.*, 1993, **5** : 155 - 158.
- PACIFI R.E., DAVIES K.J.A., Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress; the free radical theory revisited. *Gerontology*, 1991, **37** : 166 - 180.
- PERICHON R., BOURRE JM., Le peroxysome dans le processus de vieillissement : à la frontière entre nutrition et neuropathologie. *Regard sur la Biochimie*, 1996, **1** : 16 - 22.
- PETIT J.M., MAFTAH A., JULIEN R., *Biologie cellulaire*, Amphi Sciences, Masson, Paris, 1997.
- PICH MM., BOVINA C., FORMIGGINI G. et al., Inhibitor sensitivity of respiratory complex I in human platelets : a possible biomarker of ageing . *FEBS Lett*, 1996, **380** : 176 - 178.
- RAHMANI Z., BLOUIN JL., CREAM - GOLDBERG N., et al. , Critical role of the *D21S55* region on chromosome 21 in the pathogenesis of Down syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86** : 5958 - 5962.
- RATTAN S.I.S., Gerontogenes : real or virtual ?. *The FASEB Journal*, 1995, **9** : 284 - 286.
- RAZIN S., PFENAT E.A., MATSUMURA T., HAYFLICK L., Comparison of macromolecular biosynthesis in young and old diploid fibroblasts culture. *Mech. Age Dev.*, 1977, **6** : 379 - 384.
- REISS U., GERSHON D., Rat liver superoxide dismutase. *Eur. J. Bioch.*, 1976, **63** : 617 - 623.
- REITER RJ., Functional Pleiotropy of the Neurohormone Melatonin : Antioxydant, Protection and Neuroendocrine Regulation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1995, **16** : 383 - 415.

- REMACLE J., Une nouvelle étape dans la maîtrise du vieillissement. *Tonus*, 1983, **755**.
- RICHTER C., Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria. *Mutat. Res.*, 1992, **275** : 249 - 255.
- RICHTER C., Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to ageing. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1995, **27** : 647 - 653.
- RIGA D., RIGA S., Lipofuscin and ceroid pigments in aging and brain pathology. A review. I. biochemical and morphological properties. *Rom. J. Neurol. Psychiat.*, 1995, **33** : 121 - 136.
- ROBBINS E., LEVINE E.M., EAGLE H., Morphological changes accompanying senescence of cultured human diploid cells. *J. Exp. Med.*, 1970, **131**, 1211 - 1122.
- ROTH G.S., Changes in tissue responsiveness to hormones and neurotransmitters during aging. *Exp. Gerontol.*, 1995, **30** : 361 - 368.
- SADAKANE Y., MAEDA K., KURODA Y., HORI K., Identification of mutations in DNA polymerase beta mRNAs from patients with Werner syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 1994, **200** : 219 - 225.
- SAGE E., Processus de réparation de l'ADN. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université ParisV, 1995.
- SAITO H., PAPACONSTANTINO J., SATO H., GOLDSTEIN S., Regulation of a novel gene encoding a lysyl oxidase-related protein in cellular adhesion and senescence. *J. Biol. Chem.*, 1997, **272** : 8157 - 8160.
- SAKAI M., DANZIGER R.S., XIAO R.P., et al. , Contractile responses of individual cardiac myocytes to norepinephrine declines with senescence. *Am. J. Physiol.*, 1991, **262** : 184 - 186.
- SALK D., Werner's syndrome : a review of recent research with an analysis of connective tissue, growth of cultured cells, and chromosome aberrations. *Human Genetics*, 1982, **62** : 1 - 15.
- SAND A.T., SURAOKAR M.B., SANCHEZ A., MARTH J.E., DONEHOWER L.A., BRADLEY A., p53 deficiency does not affect the accumulation of point mutations in a transgene target. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995 , **92** : 8517 - 8521.
- SANGHAVI D.M., THELEN M., THORNBERRY N.A., CASCIOLA-ROSEN L., ROSEN A., Caspase-mediated proteolysis during apoptosis : insights from apoptotic neutrophils. *FEBS Lett.*, 1998, **422** : 179 - 184.
- SCHREEVE S.M., VALLIERE J.E., The alpha 1- adrenoceptor is inactivated by alterations in membrane phospholipids. *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, **226** : 29 - 31.
- SELL D.R., LANE M.A., JOHNSON W.A., et al., Longevity and genetic determination of collagen glycoxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, **93** : 485 - 490
- SERRE M., FAROUKI N., Dictionnaire des Sciences, Flammarion, Paris, 1997.
- SHAY JW., WERBIN H., New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the

SIGNORINI C., FERRALI M., CICCOLI L., SUGHERINI L., MAGNANI A., COMPORTI M., Iron release, membrane protein oxidation and erythrocyte ageing. *FEBS Letters*, 1995, **362** : 165 - 170.

SINET P.M., Génétique humaine et vieillissement : trisomie 21, approche expérimentale de l'accélération du vieillissement. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.

SOBCZAK J., Contrôle du cycle cellulaire. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.

SOHAL R.S., SOHAL B.U., BRUNK U.T., Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech. Ageing Dev.*, 1990, **53** : 217 - 227.

SOHAL R.S., SOHAL B.H., Hydrogen peroxide release by mitochondria increases during aging. *Mech. Ageing Dev.*, 1991, **57** : 187 - 202.

SOHAL R.S., BRUNK U.T., Mitochondrial production of pro - oxidants and cellular senescence. *Mutat. Res.*, 1992, **275** : 295 - 304.

SOHAL R.S., DUBEY A., Mitochondrial oxidative damage, hydrogen peroxide release, and aging. *Free Rad. Biol. Med.*, 1994, **16** : 621 - 626.

SOMVILLE M., REMACLE J., Superoxide dismutase in aging human fibroblasts., In : *Biological and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase*, BANNISTER W.H., BANISTER J.W. (Eds.), Elsevier North-Holland, 1980.

SOONG N.W., HINTON D.R., CORTOPASSI G., ARNHEIM N., Mosaicism for a specific somatic mitochondrial DNA mutation in adult human brain. *Nature Genet.*, 1992, **2** : 318 - 323.

STADTMAN E.R., Protein oxidation and aging. *Science*, 1992, **257** : 1220 - 1224.

STEVENS A., LOWE J., *Histologie humaine*, Eds De Boeck Université, Paris, 1997.

SUBBO GAO K., LOEB L.A., DNA damage and repair in the brain : relationship to aging. *Mutat. Res.*, 1992, **275** : 317 - 329.

SZILARD L., On the nature of the aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1959, **45** : 30 - 45.

TAHARA H., TOKUTAKE Y., MAEDA S., et al., Abnormal telomere dynamics of B-lymphoblastoid cell strains from Werner's syndrome patients transformed by Epstein-Barr virus. *Oncogene*, 1997, **15** : 1991 - 1920.

TAN B.H., BENCSAT H., GAUBAT Z., Steady - state levels of 7-methyl guanine increase in nuclear DNA of postmitotic mouse tissues during aging. *Mutat. Res.*, 1990, **237** : 229 - 238.

TANZI R.E., GUSELLA J.F., WATKINS P.C., et al., Amyloid beta protein gene : cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science*, 1987, **235** : 880 - 884.

TICE R.R., SETLOW R.B., DNA repair and replication in aging organisms and cells, In : *FINCH C.E., SCHNEIDER E.L.(Eds.), Handbook of the Biology of Aging*, Van Nostrand Reinhold, NY, 1985, 173 - 224.

- TIMIRAS P.S., Vieillissement et Gériatrie - Les bases physiologiques, Les presses de l'Université Laval - Maloine, Quebec et Ottawa, 1997.
- TOUSSAINT O., RAES M., REMACLE J., Aging as a multi - step process characterized by a lowering of entropy production leading the cell to a sequence of defined stages. *Mech. Ageing Dev.*, 1991, **61** : 45 - 64.
- TRETON J., COURTOIS Y., Mécanisme et théories du vieillissement. *Gazette médicale*, 1986, **93** : 37 - 41.
- TRETON J., Biologie comparée et théories du vieillissement. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.
- TRETON J., Implication de la mitochondrie dans le vieillissement. Cours magistral de DEA de biologie du vieillissement, Université Paris V, 1995.
- TURK B., MILO G.E., An *in vitro* study of senescent events of human embryonic lung (WI-38) cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1974, **161** : 46 - 53.
- VAZIRI H., SCHACHTER F., UCHIDA I., et al., Loss of telomere DNA during aging of normal and trisomy 21 human lymphocytes. *Am. J. Hum. Genetics*, 1993, **52** : 661 - 667.
- VENEMA J., MULLENDERS L.H., NATARAJAN A.T., et al., The genetic defect in repair of UV-induced DNA damage in transcriptionally active DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87** : 4707 - 4711.
- VERMEULEN W., HOEIJMAKERS J., BOOTSMA D., Maintaining nature's perfection. *Helix*, 1996, **5** : 22 - 29.
- VON ZGLINICKI T., SARETZKI G., DOCKE W., LOTZE C., Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts : a model for senescence?. *Exp. Cell Res.*, 1995, **220** : 186 - 193.
- WALLACE D.C., SHOFFNER J. M., TROUNCE I., et al., Mitochondrial DNA mutations in human degenerative diseases and aging. *Bioch. Biophys. Acta*, 1995, **1271** : 141 - 151.
- WATT P.M., HICKSON I.D., BORTS R.H., LOUIS E.J., SGS1, a homologue of the Bloom's and Werner's syndrome genes, is required for maintenance of genome stability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 1996, **144** : 935 - 945.
- WEBB D.K., EVANS M.K., BOHR V.A., DNA repair fine structure in Werner's syndrome cell lines. *Exp. Cell Res.*, 1996, **224** : 272 - 278.
- WEI Y.H., mtDNA alterations as ageing - associated molecular events. *Mutat. Res.*, 1992, **275** : 145 - 155.
- WEIRICH SCHWAIGER H., WEIRICH H.G., GRUBER B., SCHWEIGER M., HIRSCH KAUFFMANN M., Correlation between senescence and DNA repair in cells from young and old individuals and in premature aging syndromes. *Mutat. Res.*, 1994, **316** : 37 - 48.
- WEISMANN A., Aufsätze über vererbung and verwandte biologische fragen. Jena : Gustav Fischer, 1892.

WIERIK E., van LEEUWEN R., HENDRIKS H., VERHAGEN H., LOFT S., POULSEN H., van DEN BERG H., Short-term moderate energy restriction does not affect indicators of oxidative stress and genotoxicity in humans. *J. Nutr.*, 1995, **125** : 2631 - 2639.

WISNIEWSKI K.E., WISNIEWSKI H.M., WEN G.Y., Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer's disease in Down's syndrome. *Ann. Neurol.*, 1985, **17** : 278 - 282.

WOO M., HAKEM R., SOENGAS MS., et *al.*, Essential contribution of caspase 3/CPP32 to apoptosis and its associated nuclear changes. *Genes Dev.*, 1998, **12** : 806 - 819.

WRIGHT W.E., HAYFLICK L., Nuclear control of cellular aging demonstrated by hybridization of anucleate and whole cultured normal human fibroblasts. *Exp. Cell Res.*, 1975, **96** : 113 - 121.

WRIGHT W.E., SHAY J.W., Telomere positional effects and the regulation of cellular senescence. *Trends in Genetics*, 1992, **8** : 193 - 197.

YANG JH., LEE HC., WEI YH., Photoageing - associated mitochondrial DNA length mutations in human skin. *Arch. Dermatol. Res.*, 1995, **287** : 641 - 648.

YEARGIN J., HAAS M., Elevated levels of wild - type p53 induced by radiolabeling of cells leads to apoptosis or sustained growth arrest. *Curr. Biol.*, 1995, **5** : 423 - 431.

YIN D., YUAN X., BRUNK U.T., Test - tube simulated lipofuscinogenesis. Effect of oxidative stress on autophagocytotic degradation. *Mech. Ageing Dev.*, 1995, **81** : 37 - 50.

YU B.P., MASORO E.J., MURATA I., et *al.*, Life span of study of SPF fischer 344 male rats fed ad libitum or restricted diets : longevity, growth, lean body mass and disease. *J. Gerontol.*, 1982, **37** : 130 - 141.

YU C.E., OSHIMA J., FU Y.H., WIJSMAN E.M., et *al.*, Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science*, 1996, **272** : 258 - 262.

YU C.E., OSHIMA J., WIJSMAN E.M., et *al.*, Mutations in the consensus helicase domains of the Werner syndrome gene. Werner's Syndrome Collaborative Group. *Am. J. Hum. Genet.*, 1997, **60** : 330 - 341.

ZENI P., Le vieillissement cellulaire, Thèse Université Bordeaux II, 1986.



# Serment des Apothicaire

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



