

Sénescence et mort cellulaire

I. INTRODUCTION

A. DEFINITION GENERALE

- Ce sont des mécanismes de réponse au stress
- Il s'agit d'une rupture de l'homéostasie.

Homéostasie :

Capacité de la cellule à maintenir ses constantes en équilibre autour d'une certaine valeur, malgré les influences du milieu extérieur.

I. INTRODUCTION

A. DEFINITION GENERALE

- Lors d'un stress, la cellule peut prendre plusieurs décisions:

Etats	Cycle cellulaire	Métaboliquement
Quiescence	Arrêt transitoire	Active
Senescence	Arrêt permanent	Active
Apoptose	Stress trop grand => Mort programmée	Inactive

I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

- Ils permettent de différencier ces différents états
- Il y en a plusieurs types

I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

- **Les Marqueurs Absolu:**
 - Résultat positif pour un facteur reflétant un **unique** processus
 - Ils **DEMONTRENT** un phénomène

I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

- **Les Marqueurs Relatifs:**

- Résultat positif pour un facteur reflétant **plusieurs** processus
- Ils **SUGGERENT** un phénomène

I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

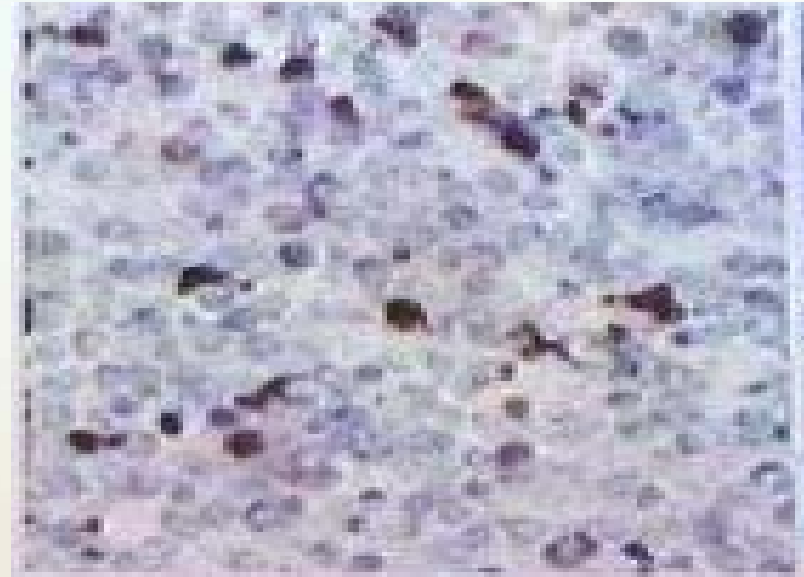
- **Etats**: Mitotique
- **Marqueur**: Ki-67
- **Type**: Absolu
- **Résultats**: On **démontre** que les cellules foncées sont en train de se diviser.



I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

- **Etats**: Apoptotique
- **Marqueur**: Caspase-3
- **Type**: Absolu
- **Résultats**: On **démontre** que les cellules foncées sont en train de mourir



I. INTRODUCTION

B. LES MARQUEURS

- **Etats**: Sénescence
- **Marqueur**: SA-B-Galactosidase
- **Type**: Relatif
- **Résultats**: On **suggère** que les cellules bleues sont entrées en sénescence.





• **QCM: A propos de l'introduction.**

- A. Une cellule sénescence peut reprendre sa division plus tard après son arrêt.
- B. Un marqueur relatif dit pour un phénomène qu'il reflète, qu'il « est incontestable »
- C. L'homéostasie se définit comme un maintien de l'équilibre physiologique de la cellule.
- D. Une cellule stressée peut entrer dans une phase de pause transitoire de son cycle cellulaire.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de l'introduction.**

- A. Une cellule sénescence peut reprendre sa division plus tard après son arrêt.
- B. Un marqueur relatif dit pour un phénomène qu'il reflète, qu'il « est incontestable »
- C. L'homéostasie se définit comme un maintien de l'équilibre physiologique de la cellule.
- D. Une cellule stressée peut entrer dans une phase de pause transitoire de son cycle cellulaire.
- E. Toutes les réponses sont fausses

II. SENESCENCE

A. HISTORIQUE

- La durée de vie d'une cellule a fait l'objet de différents dogmes selon l'époque

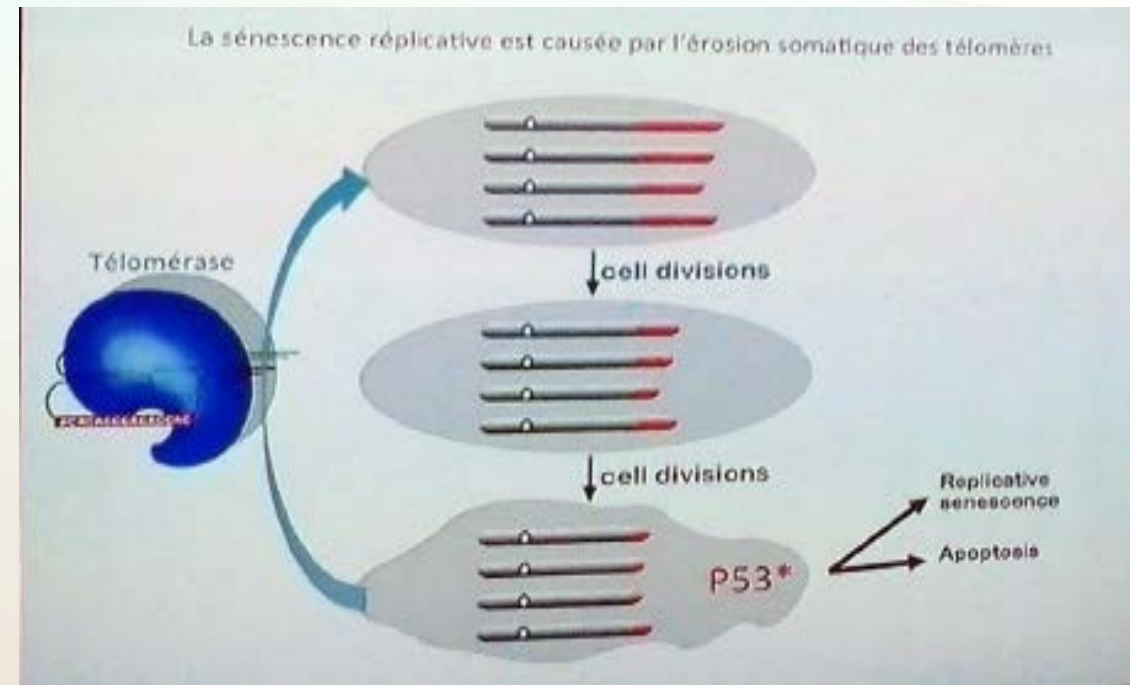
Période	Définition	Mode de pensée
Dogme de l'époque, avant l'expérience de Léonard Hayflick.		<ul style="list-style-type: none">• Les cellules en culture peuvent se diviser infiniment• Les cellules ne sont pas soumises au vieillissement
Après l'expérience sur de jeunes fibroblastes, par Léonard Hayflick (1960)	On parle d'âge répliatif (ou limite d'Hayflick)	<ul style="list-style-type: none">• Une cellule arrête de se diviser au bout d'un certains nombres de divisions (environ 50)• Les cellules gardent en mémoire le nombre de divisions qu'elles ont déjà effectuées indépendamment du temps = potentiel prolifératif

II. SENESCENCE

B. LES CAUSES

a. Sénescence répllicative

- Les extrémités des chromosomes **s'érodent** à chaque divisions en l'absence de **téломérase**
- A partir d'un certain **seuil**, la cellule déclenche l'apoptose ou la sénescence grâce à la **voie de signalisation** des dommages à l'ADN via la protéine P53



II. SENESCENCE

B. LES CAUSES

b. Le stress oncogénique

- Une mutation de la protéine **RAS**, mutant **gain de fonction**
- Cette mutation entraîne une activation **supra-physiologique** de la voie de signalisation contrôlant le cycle cellulaire (voie des MAP-kinases)
- Cette vitesse de division **importante** provoque la sénescence

II. SENESCENCE

B. LES CAUSES

c. La sénescence prématurée

- Différents mécanismes vont agir sur les **voies de signalisation de dommages cellulaires** (augmentation du taux d'espèces réactives de l'oxygène/ irradiations/ carences (énergétique, nutriments, facteurs de croissance, absence de signaux) / mauvais contact cellulaire(MEC))
- Cela cause un stress **insurmontable** pour la cellule qui entre en sénescence voir apoptose

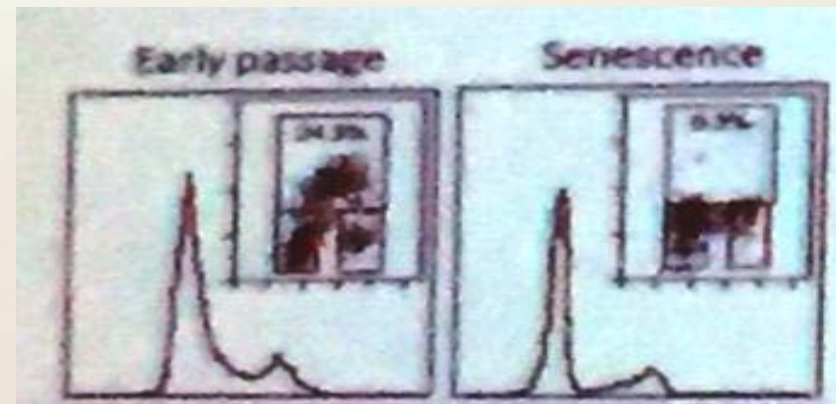
II. SENESCENCE

C. LES CARACTERISTIQUES

a. Les caractéristiques intracellulaires

- La sénescence est définie par **une combinaison de facteurs** plus ou moins spécifiques

- Arrêt de la prolifération;



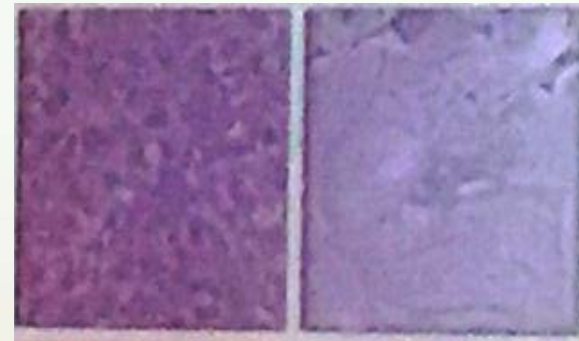
II. SENESCENCE

C. LES CARACTERISTIQUES

a. Les caractéristiques intracellulaires

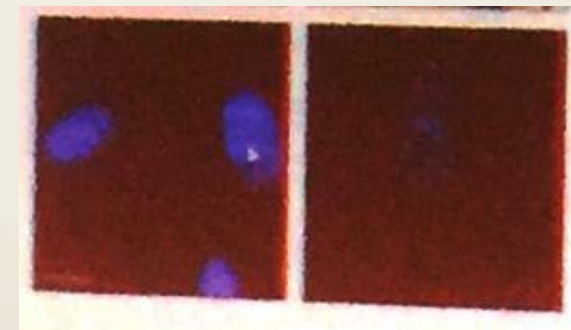
- **Morphologie;**

Cellules aplaties et élargies,
Aspect d'œuf au plat



- **Noyau;**

Foyers d'hétérochromatine
vu par coloration du noyau

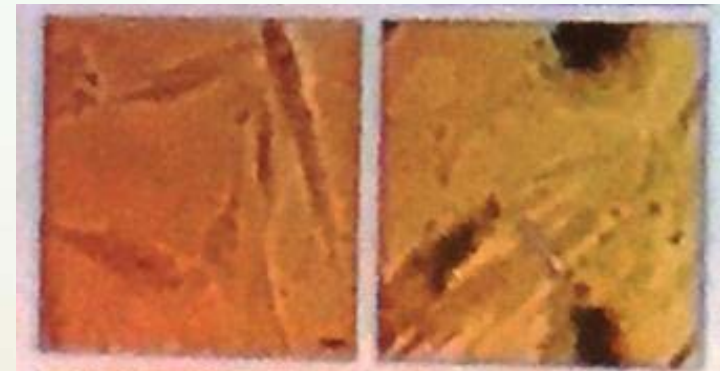


II. SENESCENCE

C. LES CARACTERISTIQUES

a. Les caractéristiques intracellulaires

- **L'activité B-Galactosidase;**
Augmente lors de la sénescence



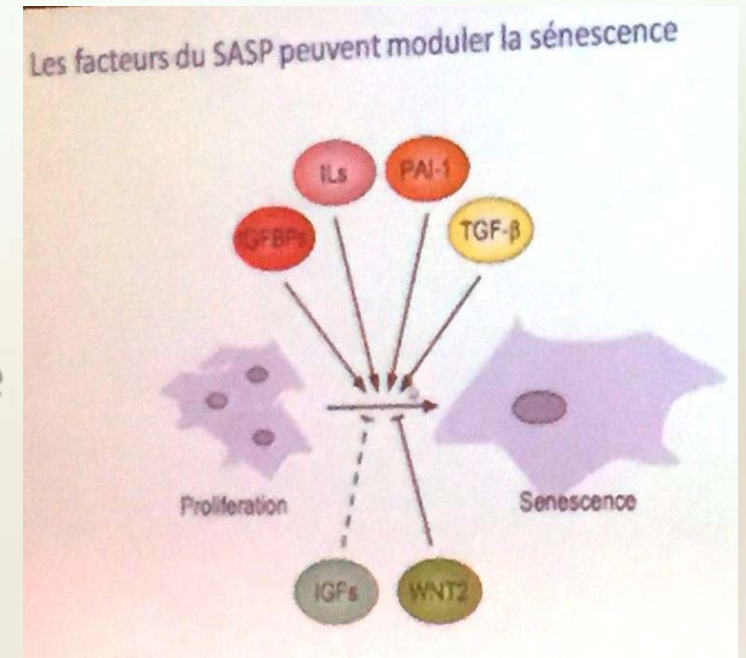
- **Apoptose;**
Résistance à l'apoptose

II. SENESCENCE

C. LES CARACTERISTIQUES

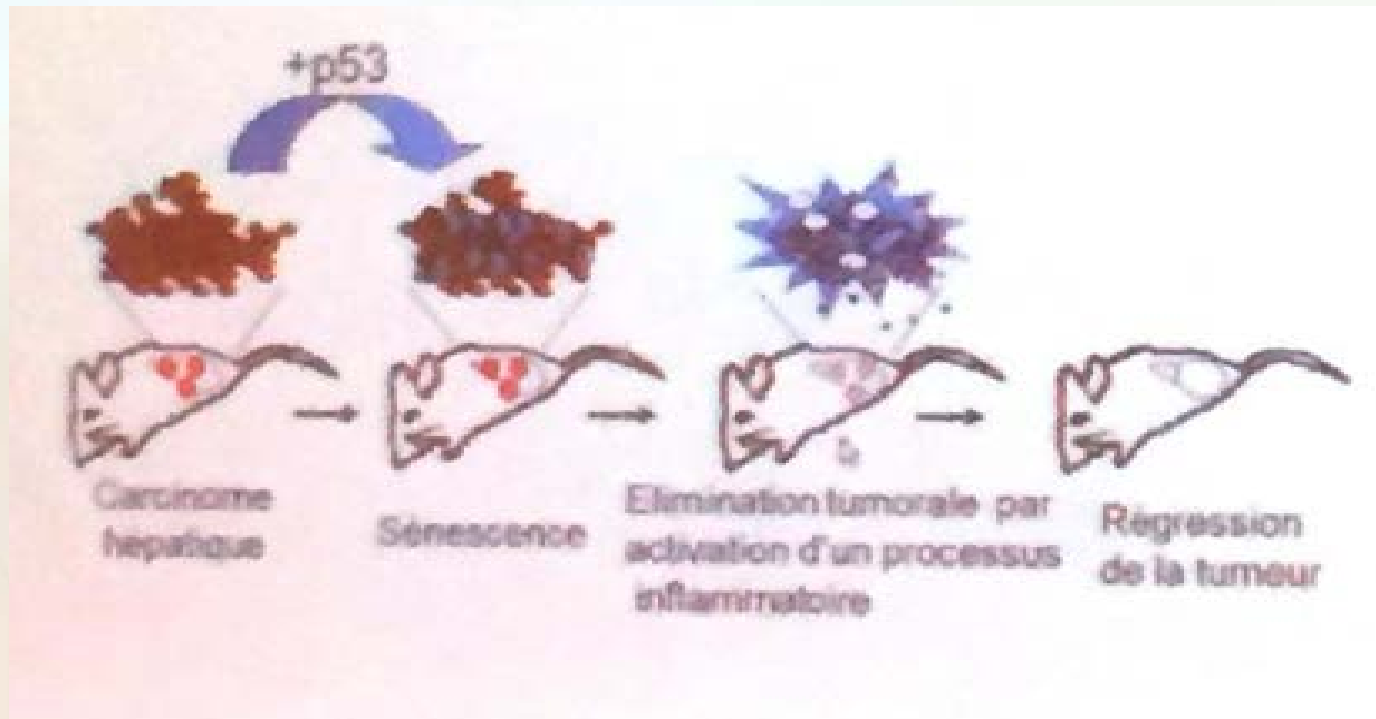
b. Les caractéristiques extracellulaires

- **Sécrétion de facteurs spécifiques (SASP);**
 - Libérées de manières **endocrine/paracrine**
 - Pro-inflammatoire**/de croissance/de remodelage
 - Action **ambivalente** selon la **durée**
 - Courte durée: Essentielle à l'immunité
 - Longue durée: Responsable du vieillissement



II. SENESCENCE

D. DEVENIR DE CES CELLULES



Modèle : Un hépatocarcinome (cancer du foie) chez la souris qui est caractérisé par l'absence de gène p53 (protecteur de la cellule)

Hypothèse ? Réactiver P53 arrêterait la tumeur

Objectifs ? Restaurer P53

Résultats ? La tumeur a régressé

II. SENESCENCE

D. DEVENIR DE CES CELLULES

- **Initialement**, le système immunitaire élimine les cellules sénescents
- **Cependant**, le système immunitaire devient moins compétent avec l'âge => les cellules sénescents s'accumulent => elles génèrent un environnement pro-inflammatoire (SASP) => elles entraînent le vieillissement du tissu

II. SENESCENCE

D. LA SENESCENCE ET LE VIEILLISSEMENT

Expérience relatant du phénomène :

Objectif : **Démontrer** que les cellules sénescents **favorisent** les pathologies liées au vieillissement.

Méthode : L'introduction dans des cellules de souris d'un gène suicide sur le promoteur du gène codant pour la protéine **P16**, qui est **un effecteur** de la sénescence. De cette manière, à chaque fois qu'une cellule entrera en sénescence (ce qui se manifestera par l'activation du promoteur de P16) la cellule **mourra**, car le gène suicide sera lui aussi activé.

Résultat : Les souris dénuées de cellules sénescents vivent **plus longtemps** et en **meilleure** santé que les souris « contrôles » sauvages. En effet l'incidence des maladies liées à l'âge à l'exception des maladies neurodégénérative **diminue** pour les cellules dénuées de cellules sénescents.

II. SENESCENCE

D. LA SENESCENCE ET LE VIELLISSEMENT

- **Conclusion :**
 - **Court terme:** **Effets bénéfiques** pour la protection contre certains cancers et la réparation tissulaire
 - **Long terme:** Responsable en partie du **vieillessement.**



• **QCM: A propos de la sénescence.**

- A. Hayfick énonce « Les cellules ne sont pas soumises au vieillissement après une congélation prolongée »
- B. La télomérase est physiologiquement présente dans toutes les cellules du corps humain.
- C. Une cellule sénescente a un aspect en « jaune d'œuf »
- D. Une cellule sénescente est bénéfique pour un individu sur le long terme.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de la sénescence.**

- A. Hayfick énonce « Les cellules ne sont pas soumises au vieillissement après une congélation prolongée »
- B. La télomérase est physiologiquement présente dans toutes les cellules du corps humain.
- C. Une cellule sénescente a un aspect en « jaune d'œuf »
- D. Une cellule sénescente est bénéfique pour un individu sur le long terme.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de la sénescence.**

- A. Une cellule sénescente continue de proliférer pour assurer le vieillissement.
- B. Les facteurs SAPS sont libérées de manière endocrine seulement.
- C. P53 n'est pas impliquée dans la sénescence.
- D. Hayflick fixe au nombre de 50, le nombre de divisions avant l'entrée en sénescence d'un fibroblaste.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de la sénescence.**

- A. Une cellule sénescente continue de proliférer pour assurer le vieillissement.
- B. Les facteurs SAPS sont libérées de manière endocrine seulement.
- C. P53 n'est pas impliquée dans la sénescence.
- D. Hayflick fixe au nombre de 50 le nombre de divisions avant l'entrée en sénescence d'un fibroblaste.
- E. Toutes les réponses sont fausses

III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

a. Définition

L'Apoptose correspond à la *mort programmée* des cellules = « *suicide des cellules* »

III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

b. Les caractéristiques

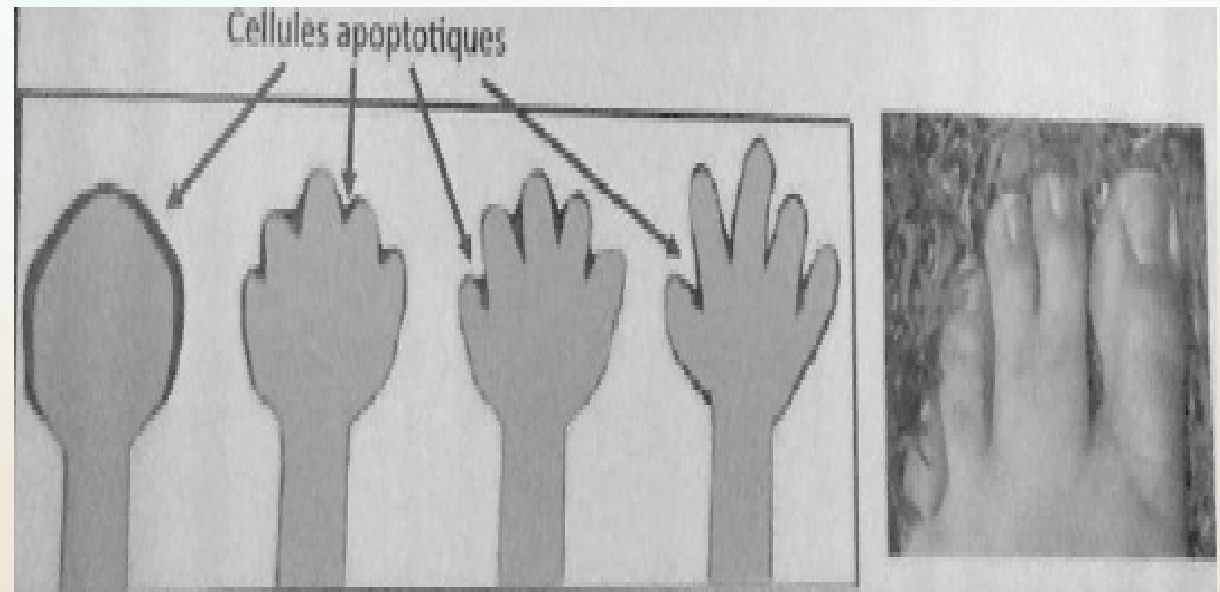
1. Peut-être **physiologique** ou **pathologique**
2. Déclenché de manière contrôlée par des signaux intra ou extra-cellulaire
3. Contrôlée par la mise en place de cascades réactionnelles et l'activation de gènes spécifiques
4. C'est un processus **ATP-dépendant**
5. Absence de réponse inflammatoire, les cellules apoptotiques sont éliminées par phagocytose

III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

c. En physiologie

- **Embryogénèse;**
 - Impliqué dans le modelage du corps
 - Source de malformation

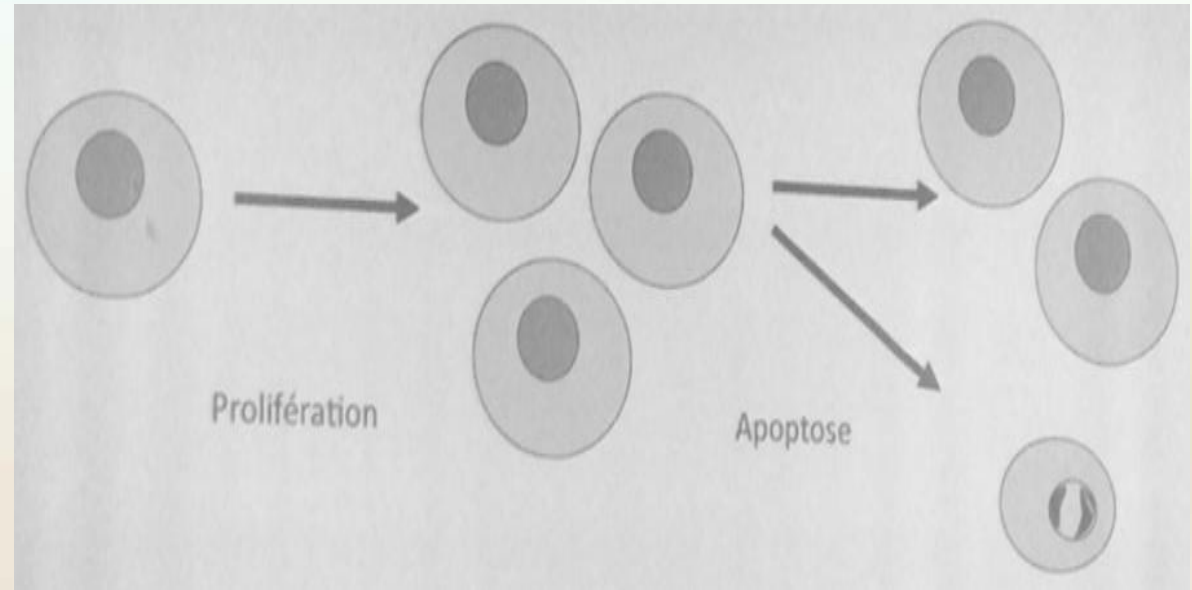


III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

c. En physiologie

- **Homéostasie cellulaire;**
 - Impliqué dans l'équilibre cellulaire
 - Source de malformation si défaut ou excès d'apoptose.

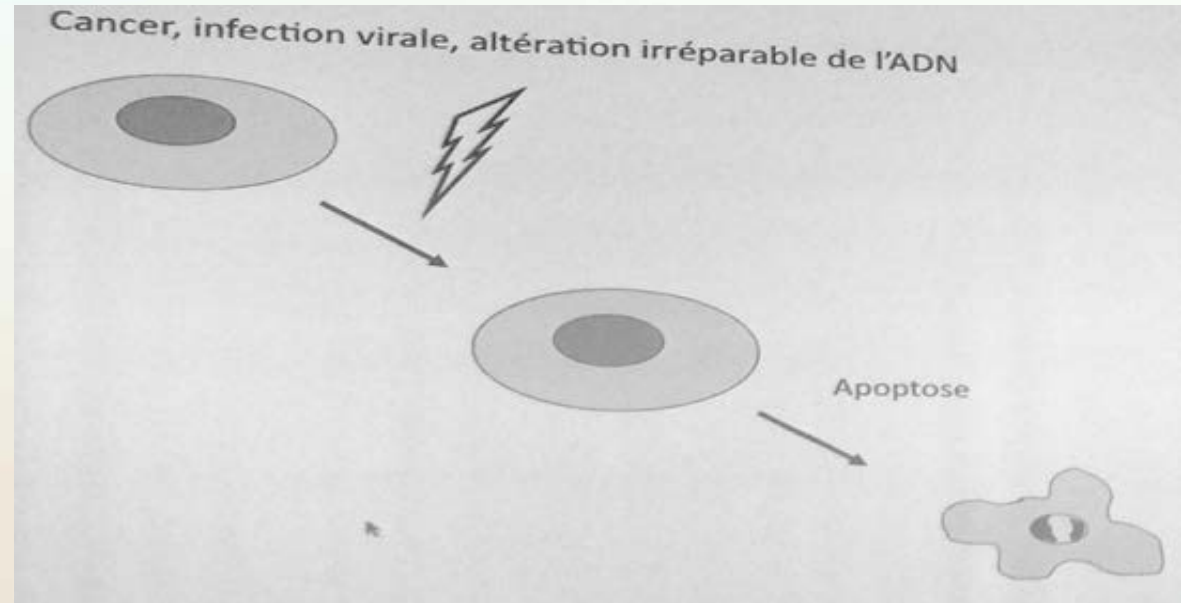


III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

c. En physiologie

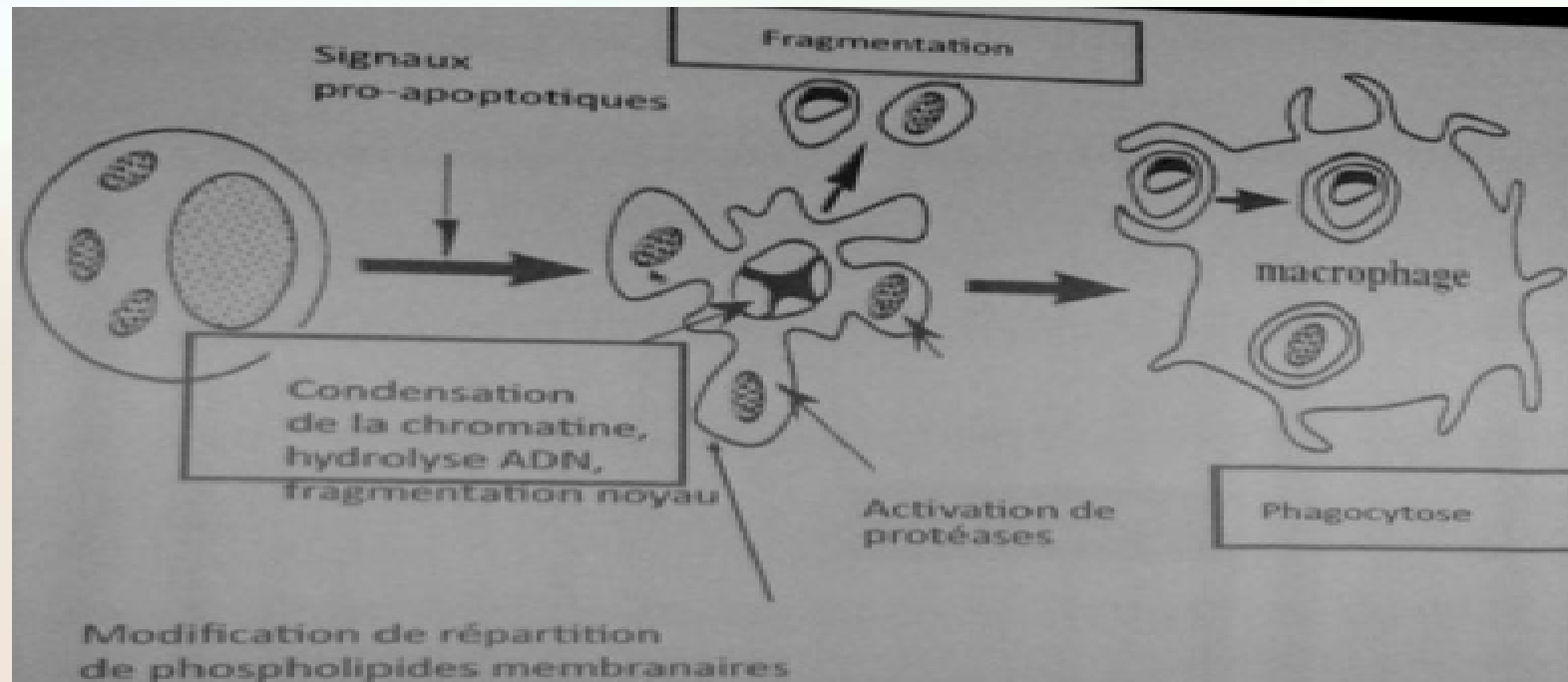
- **Onco-supresseur;**
-Elimine les cellules qui ont un défaut de fonctionnement



III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

d. Caractéristiques d'une cellule



III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- La protéolyse cellulaire se met en place grâce aux caspases:

Les caspases initiatrices	Les caspases effectrices
Caspases 8,9,10	Caspases 3,6,7
Ce sont des protéases qui vont cliver les pro-caspases effectrices pour les rendre actives.	Ce sont des protéases qui vont effectuer des clivages protéiques spécifiques à l'intérieur de la cellule apoptotique.

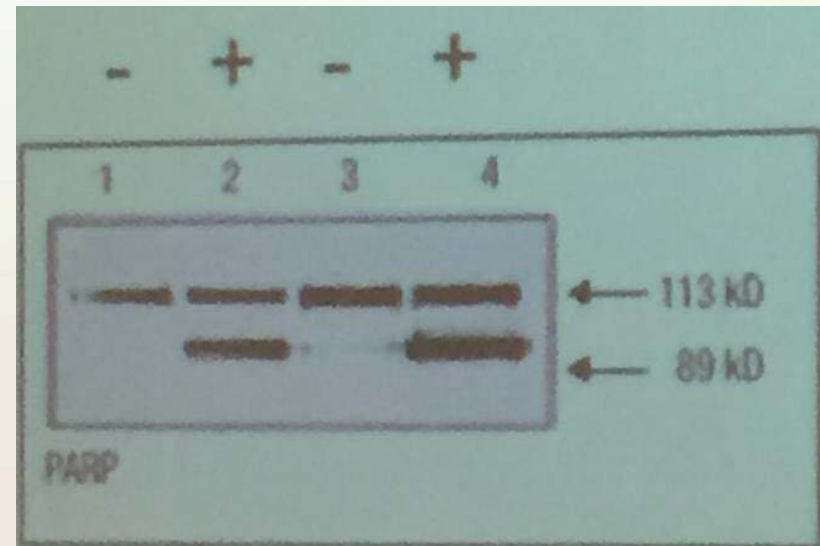
III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

Expérience:

- En gel de polyacrilamide sds.
- On observe le **clivage** des protéines clés de la cellule (PARP) par les **caspases effectrices**.



III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- L'apoptose est déclenchée à travers **deux voies**:
 - La voie **intra-cellulaire**
 - La voie **extra-cellulaire**

III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- La voie intra-cellulaire:
 - Cette voie répond à des **signaux intra-cellulaire** de stress.
 - On dit que cette voie est **mitochondrie dépendante** car les mitochondries sont le réservoirs d'une **hémoprotéine, le cytochrome C**
 - Ce mécanisme passe par l'activation des protéines de la **famille BCL2**

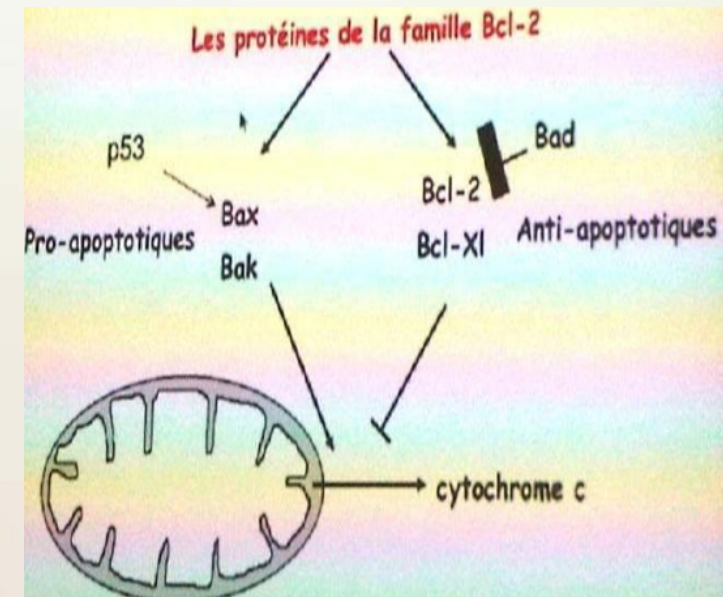
III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- La voie intra-cellulaire:

Proteines de la famille BCL2	
Pro-apoptotique	Anti-apoptotique
BAX	BCL2
BAK	BCL-X
BAD (inhibe BCL2)	

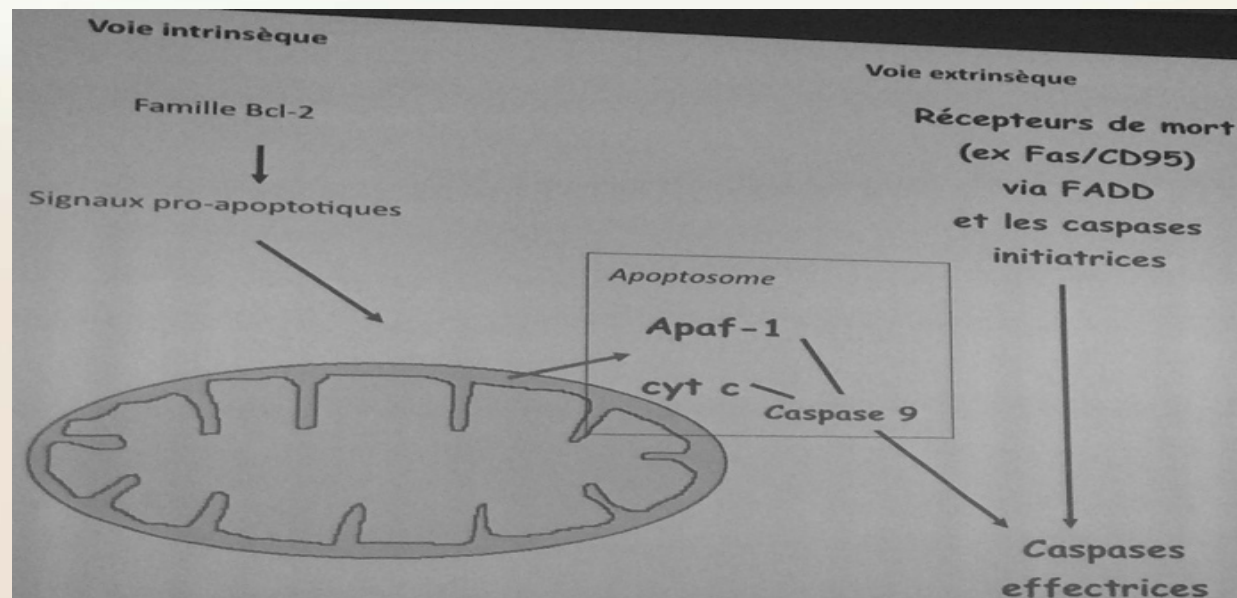


III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- La voie intra-cellulaire:

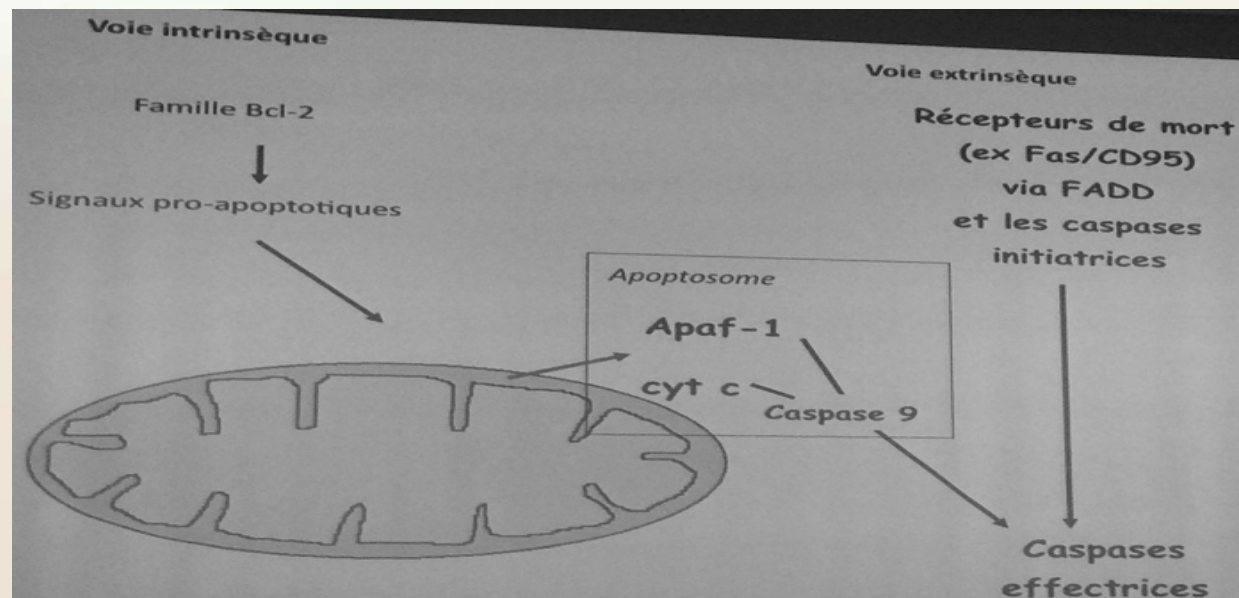


III. MORT CELLULAIRE

A. APOPTOSE

e. Les mécanismes d'induction

- La voie extra-cellulaire:





• **QCM: A propos de l'apoptose.**

- A. C'est un processus qui n'est pas « énergie-dépendant » pour la cellule
- B. La voie d'induction extracellulaire est mitochondrie-dépendante
- C. Les caspases effectrices clivent les pro-caspases incitatrices pour lancer le processus d'apoptose
- D. L'apoptose n'est pas mise en jeu dans le développement d'un individu.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de l'apoptose.**

- A. C'est un processus qui n'est pas « énergie-dépendant » pour la cellule
- B. La voie d'induction extracellulaire est mitochondrie-dépendante
- C. Les caspases effectrices clivent les pro-caspases incitatrices pour lancer le processus d'apoptose
- D. L'apoptose n'est pas mise en jeu dans le développement d'un individu.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de l'apoptose.**

- A. C'est un processus qui est exclusivement physiologique.
- B. L'apoptosome est formé d'un hémolipide, le cytochrome C et d'APAF 1.
- C. La voie extra-cellulaire passe par des récepteurs de mort de la famille des TNFs.
- D. Un défaut d'apoptose est à l'origine de cancer.
- E. Toutes les réponses sont fausses

• **QCM: A propos de l'apoptose.**

- A. C'est un processus qui est exclusivement physiologique.
- B. L'apoptosome est formé d'un hémolipide, le cytochrome C et d'APAF 1.
- C. La voie extra-cellulaire passe par des récepteurs de mort de la famille des TNFs.
- D. Un défaut d'apoptose est à l'origine de cancer.
- E. Toutes les réponses sont fausses

III. MORT CELLULAIRE

B. NECROSE

a. Définition

La Nécrose correspond à une mort cellulaire accidentelle.

III. MORT CELLULAIRE

B. NECROSE

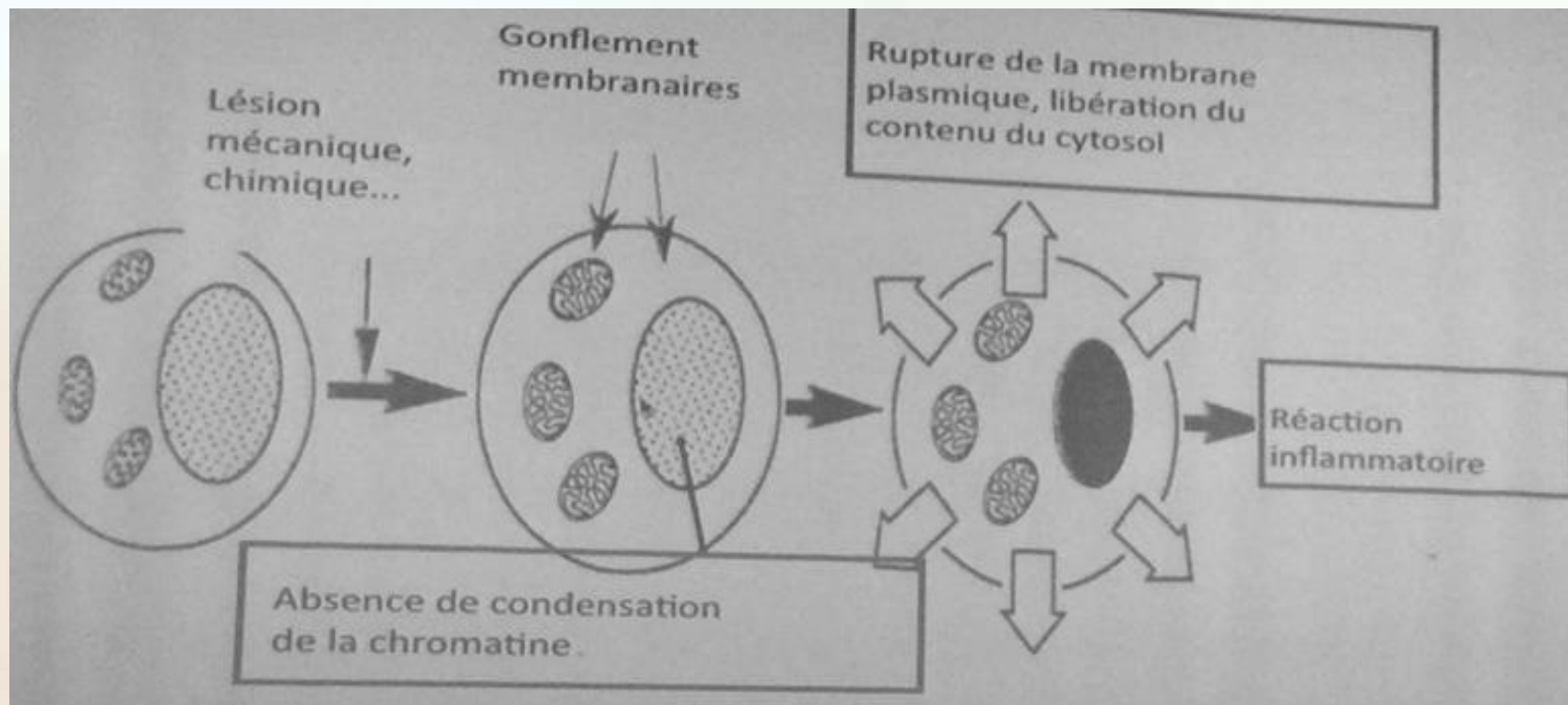
b. Les caractéristiques

1. Peut-être **physiologique** ou **pathologique**
2. Déclenché de manière **non spécifique** par des actions physique ou chimique.
3. La cellule nécrotique gonfle puis **explose** avec une rupture de la membrane.
4. C'est un processus **ATP-indépendant**
5. **Présence** de réponse inflammatoire à cause du contenu des cellules qui ont explosées.
6. L'inflammation **amplifie** le phénomène

III. MORT CELLULAIRE

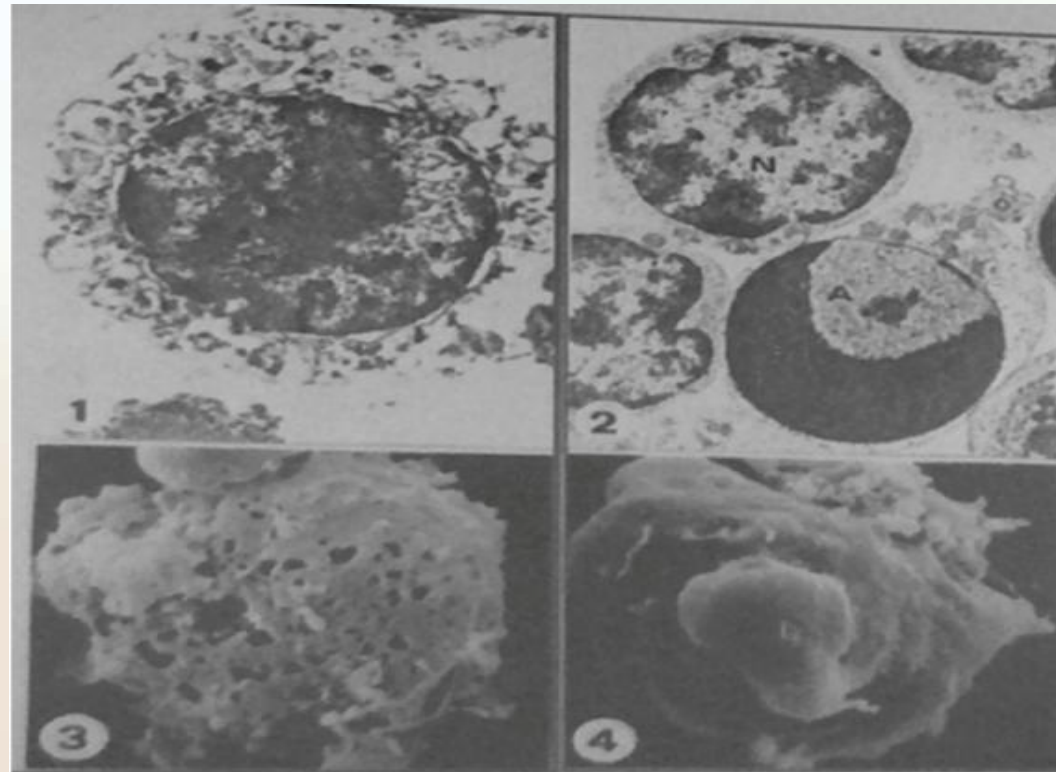
B. NECROSE

c. Les caractéristiques de la cellule



III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE



III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

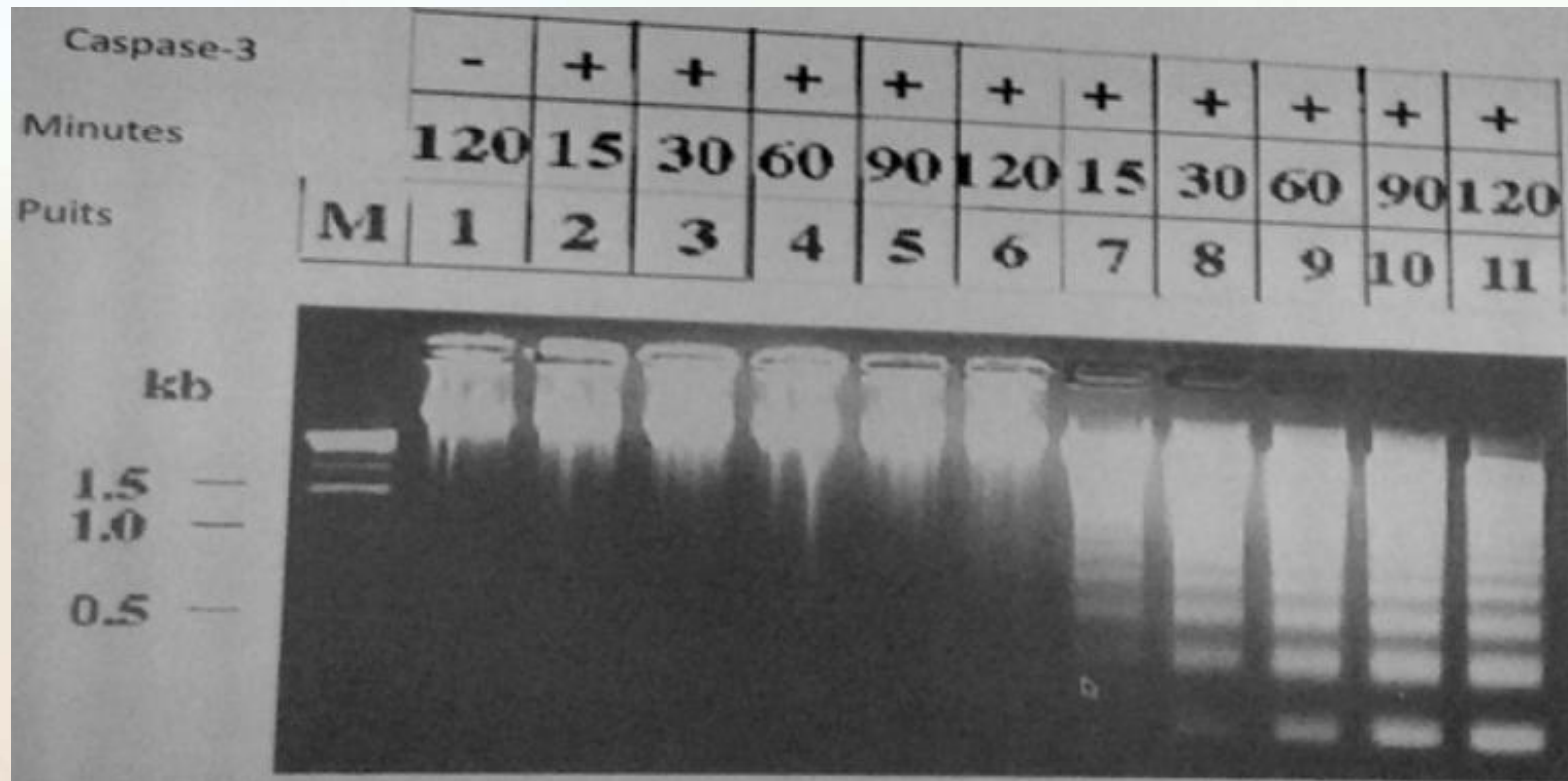
a. Technique de la caspase-3

- Technique par **électrophorèse** sur gel d'agarose
- On va se baser ici sur le fait qu'en apoptose on va avoir une **fragmentation** de l'ADN et de la chromatine en général.
- La **caspase 3** est mise en jeu dans l'apoptose.

III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

a. Technique de la caspase-3



III. MORT CELLULAIRE

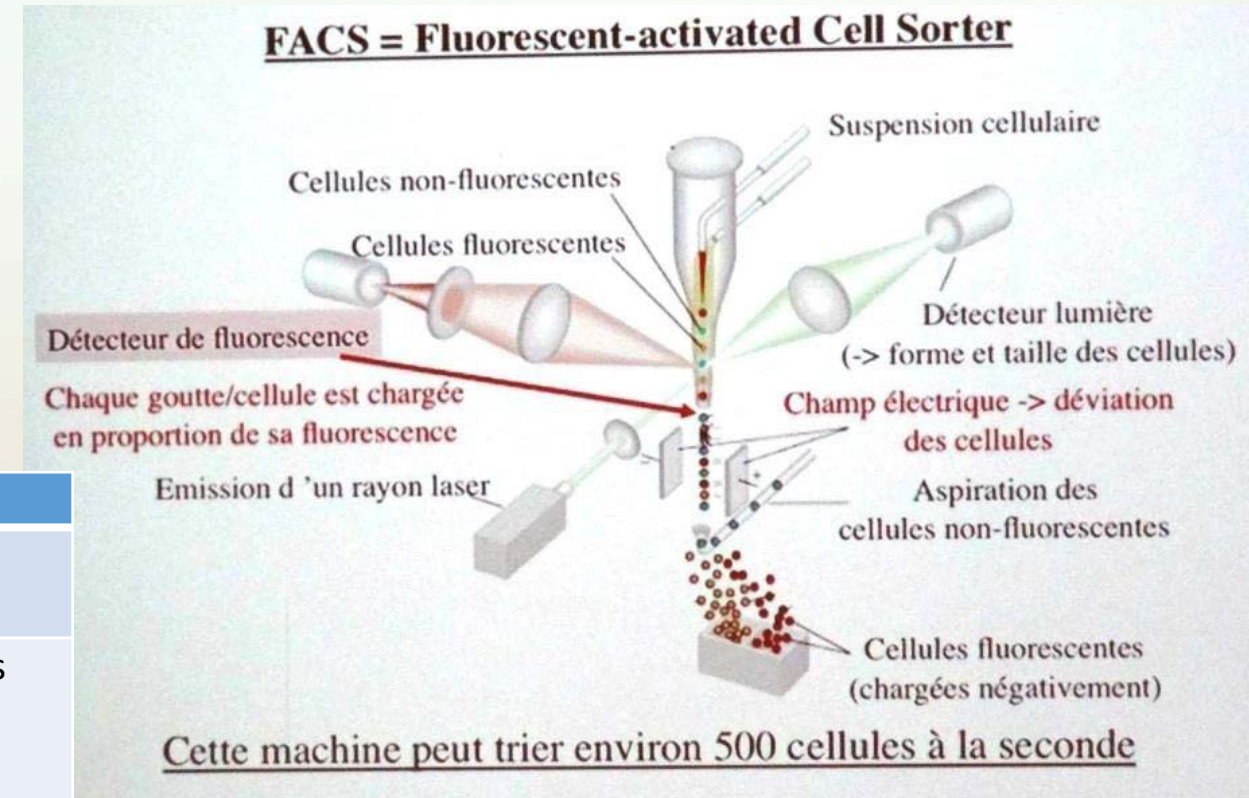
C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

b. Technique du pic sub-G1

Aparté sur la cryométrie de flux

- On utilise **2 colorants**:

Hoescht	Iodure de propidium
Traverse la membrane sans perméabilisation préalable de la cellule.	Nécessite que la cellule soit perméabilisée.
Colore toutes les cellules (nécrotiques/apoptotiques/normales)	Colore principalement les cellules nécrotiques (Leur ADN est accessible)

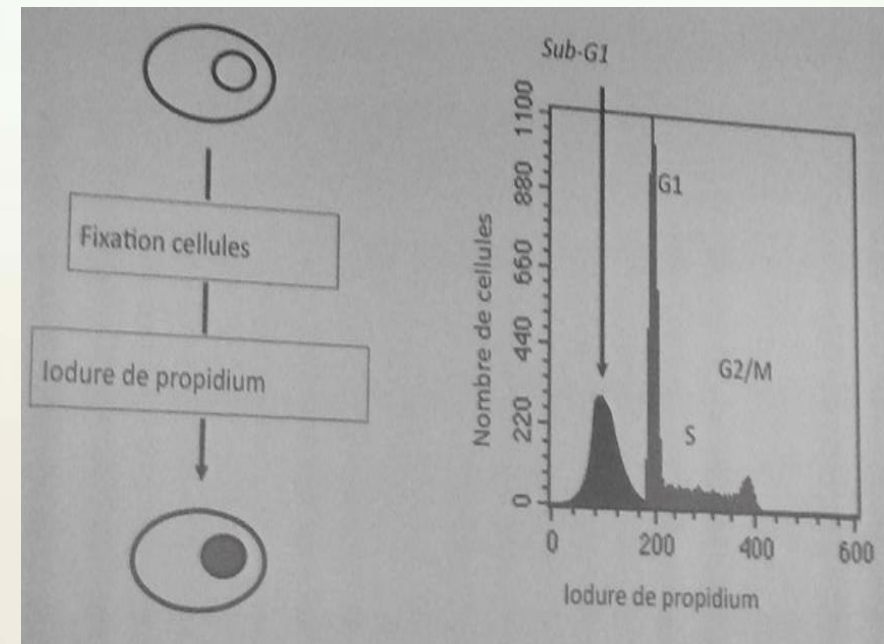


III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

b. Technique du pic sub-G1

- Technique **par cytométrie de flux**
- On fixe préalablement les cellules donc elles sont **perméabilisées**.
- On utilise comme colorant de **l'iodure de propidium**;

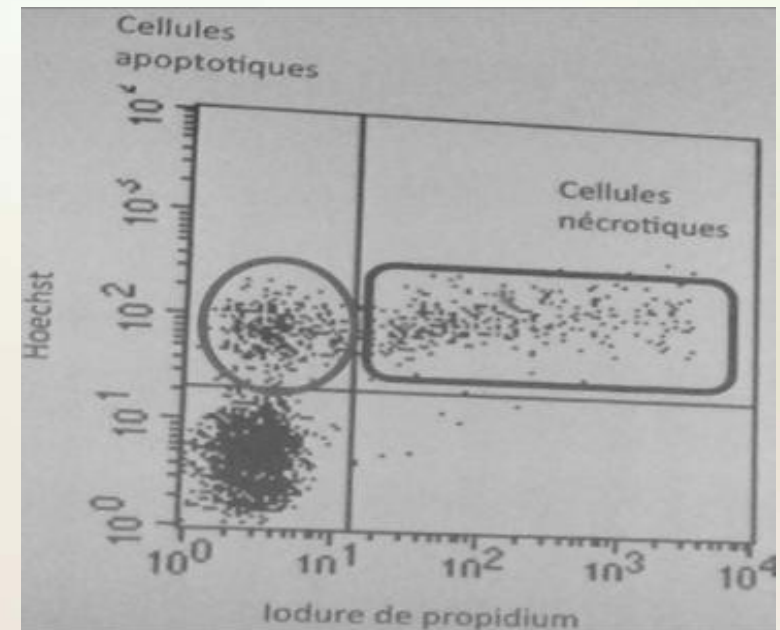


III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

c. Technique par double marquage

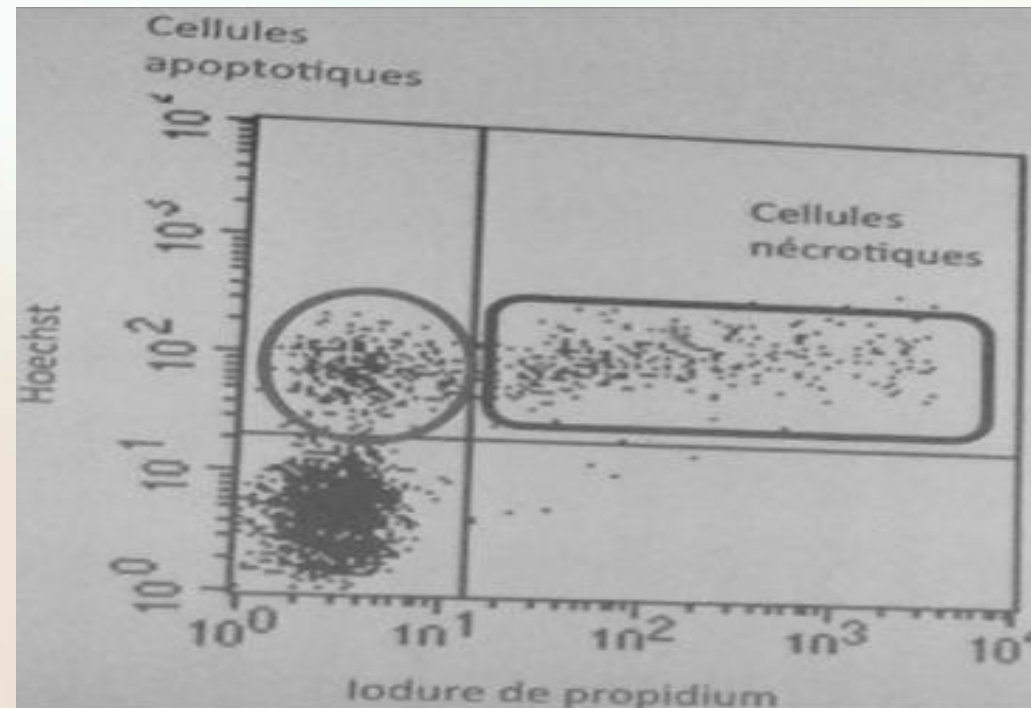
- Technique **par cytométrie de flux**
- On **ne fixe pas** les cellules.
- On introduit les **différents colorants**



III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

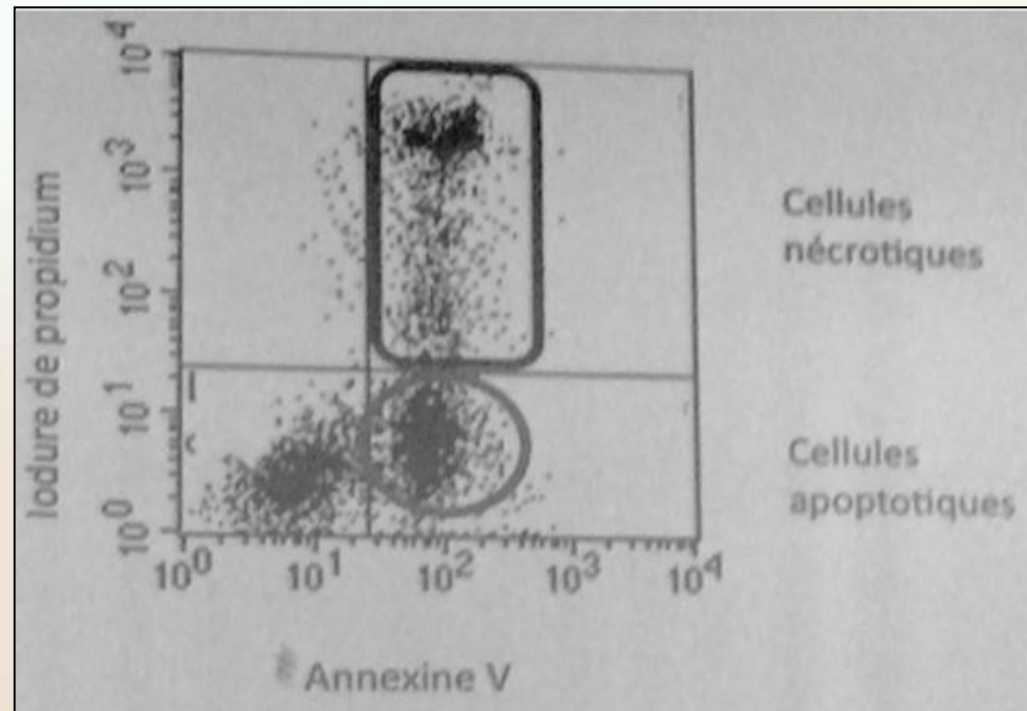
c. Technique par double marquage



III. MORT CELLULAIRE

C. DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE

c. Technique par double marquage



III. MORT CELLULAIRE

C. **DISTINCION CELLULE NECROTIQUE/APOPTOTIQUE**

c. Technique par double marquage

	HOESCHT	IODURE PROPIDIUM	ANNEXINE-5
NORMAL	+	-	-
NECROTIQUES	+	+	+
APOPTOTIQUES	+	-	+



- **QCM: A propos de ce cours.**

- A. Un marqueur relatif suggère un phénomène.
- B. Toutes les cellules mortes ont condensées leurs ADN.
- C. La cellule apoptotique continue ses échanges avec son environnement.
- D. Ce cours était merveilleux
- E. Toutes les réponses sont fausses

- **QCM: A propos de ce cours.**

- A. Un marqueur relatif suggère un phénomène.
- B. Toutes les cellules mortes ont condensées leurs ADN.
- C. La cellule apoptotique continue ses échanges avec son environnement.
- D. Ce cours était merveilleux
- E. Toutes les réponses sont fausses