

I. IntroductionA- Définitions

La sénescence (comme la quiescence et l'apoptose) sont des mécanismes de régulation du cycle cellulaire et en particulier des mécanismes de **réponses au stress**.

<b>QUIESCENCE</b> (Sieste)	Arrêt <b>transitoire</b> du cycle cellulaire	Métaboliquement <b>active</b>
<b>SENESCENCE</b> (Retraite)	Arrêt <b>permanent</b> du cycle cellulaire	Métaboliquement <b>active</b>
<b>APOPTOSE</b> (Décès)	<b>Mort programmée</b>	Métaboliquement <b>inactive</b>

**SÉNESCENCE ≠ VIEILLISSEMENT**

**Vieillesse** → processus biologique concernant l'**organisme**

**Sénescence** → processus biologique concernant la **cellule**

B- Les marqueurs

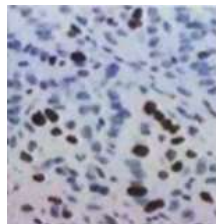
Les marqueurs permettent de différencier les états de la cellule

a) Mitotique

Marqueur : **Ki67**

Type : **Absolu**

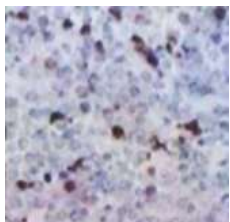
Précision : Le marquage positif au Ki67 rend les cellules **foncées**. Ce marqueur est absolu donc **démontre** que ces cellules sont en train de se diviser (les cellules marquées au Ki67 seront toutes les cellules en phase M).

b) Apoptotique

Marqueur : **Caspase 3**

Type : **Absolu**

Précision : Le marquage positif à la caspase 3 rend les cellules **foncées**. Ce marqueur est absolu donc **démontre** que ces cellules sont en train de mourir, qu'elles sont entrées en apoptose.

c) Sénescent

Marqueur : **SaβGal** (SA pour sénescence associated)

Type : **Relatif**

Précision : Le marquage positif au SaβGalactosidase est caractérisé par une coloration **bleue** des cellules. Quand une cellule entre en sénescence elle a une très forte activité **lysosomiale** (assez forte pour déborder dans le cytosol). On a de la βGal dans le lysosome, la sénescence entraîne une forte activité du lysosome et donc libère du βGal. Cependant des cellules dans un état physiologique peuvent aussi présenter une augmentation de l'activité lysosomiale et donc, produire aussi du βGal, c'est pour ça que ce marquage n'est que **relatif** : Ce marqueur **SUGGÈRE** que ces cellules sont sénescents.

En général pour démontrer qu'une cellule est sénescence, on utilise **plusieurs marqueurs**.

C- Histoire de la sénescence

Au cours du temps, différents dogmes se sont succédé quant à la durée de vie d'une cellule.

Avant 1960 : Les chercheurs pensaient que les cellules pouvaient se diviser **indéfiniment**. Ils cultivaient ces cellules en ajoutant du sérum pour les nourrir, malheureusement, ce sérum **contenait lui-même des cellules...** Ainsi en observant les cultures il y en avait toujours des vivantes.

Après 1960 : Léonard **Hayflick** réalise une expérience à partir de fibroblastes. Il rajoute à sa culture du **sérum sans cellules** et il s'aperçoit qu'au bout de quelques dizaines de divisions, les cellules arrêtent de se diviser et changent de forme.

**Avant 1960**

Dogme d'Alexis Carrel :

- Les cellules en cultures peuvent se diviser **indéfiniment**
- Les cellules ne sont pas soumises au vieillissement
- Les cellules sont **immortelles**

## A partir de 1960

## Dogme de Hayflick :

- Une cellule arrête de se diviser après un certain nombre de divisions (50) → Le nombre d'Hayflick
- Les cellules gardent en mémoire le nombre de division déjà effectuées indépendamment du temps : **âge réplcatif** ou **potentiel prolifératif**  
➔ **Naissance de la notion de sénescence**

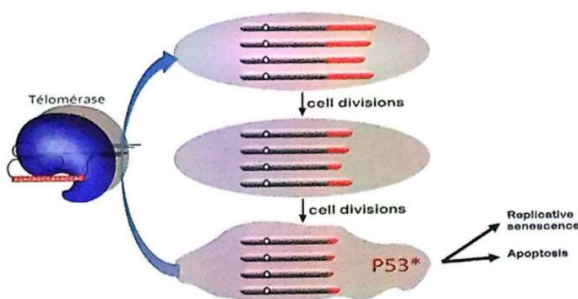
II. Sénescence cellulaireA- Les causes de la sénescencea) La sénescence réplcative

Les extrémités chromosomiques des cellules de l'organisme **s'érodent** au fur et à mesure des divisions. En effet, les cellules ne possèdent pas le bagage enzymatique nécessaire à la reconstruction des télomères disparus. C'est la télomérase qui est censé permettre cela (*cf biomol*).

➔ La télomérase est présente dans certaines cellules souches germinales pendant l'embryogénèse, utilisées en laboratoire pour immortaliser des cellules et réactivée dans le cancer.

Donc à chaque fois que l'on réplique notre ADN, on délaisse quelques nucléotides : c'est la conséquence du processus moléculaires **physiologiques**.

A partir d'un certain nombre de division, le raccourcissement des télomères devient critique : certains gènes importants disparaissent. La cellule déclenche donc la voie de signalisation des dommages à l'ADN, qui aboutit à l'activation de la protéine **p53** qui déclenche la **sénescence** ou l'**apoptose**.



C'est un processus **physiologique**. Les télomères (extrémités des chromosomes) vont s'éroder au fur et à mesure des réplcations, entrainant un raccourcissement des K jusqu'à un seuil critique qui déclenchera l'activation de p53.

Tant que nous avons des télomères, les cellules sont stables.

b) Le stress oncogénique (OIS = oncogène included senescence)

Si on a une mutation de la protéine RAS (mutant gain de fonction), on entraîne une activation **supra-physiologique** de la voie de signalisation contrôlant le cycle cellulaire (voie des MAP-kinases) et par conséquent, la cellule se divisera de manière **aberrante**. On va beaucoup trop diviser les cellules, beaucoup trop vite et donc on va mal le faire et causer des **défauts de réplcation de l'ADN**.

➔ Ces dommages causés à l'ADN aboutissent à l'**activation de P53** qui **déclenche alors la sénescence** (différentes causes, même conséquence).

Comment l'a-t-on montré ?

On a exprimé H-RasV12 (**Ras muté**) dans des jeunes fibroblastes (fort potentiel prolifératif) pour mieux comprendre le cancer et le rôle de ce gène dans le cycle cellulaire ➔ on observe un arrêt de la prolifération.

Cette expérience **suggère** que la **sénescence nous protège du cancer** en arrêtant la prolifération. Ceci se produit naturellement dans notre organisme.

c) La sénescence prématurée

Nombreux sont les mécanismes agissant sur les voies de signalisation des dommages cellulaires :

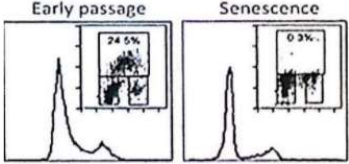
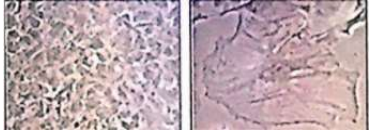
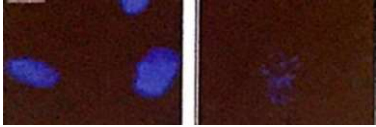
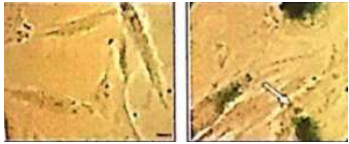
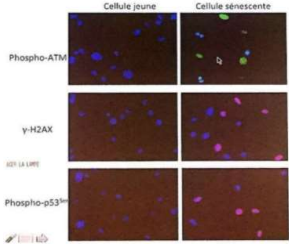
- Augmentation du taux d'espèces réactives de l'oxygène (stress oxydatif)
- Suralimentation
- Irradiations
- Activités oncogéniques
- Carences (énergie, nutriments, facteurs de croissance, absence de signaux)
- Mauvais contact intercellulaire (MEC)

➔ Ces mécanismes induisent un **stress insurmontable** pour la cellule qui entre alors en **sénescence** voir en **apoptose**.

B- Les caractéristiques de la sénescence

Cellulairement parlant, la sénescence est une combinaison de caractéristiques, **pas forcément spécifiques**, il est donc préférable de **corrélér plusieurs marquages** (intra/extracellulaires) afin d'être sûrs de l'état de la cellule.

## a) Les caractéristiques intra-cellulaires

Arrêt prolifératif		Cet arrêt nous permet de facilement savoir s'il y a des cellules sénescents grâce à une <b>cytométrie de flux</b> . Les cellules sénescents s'arrêtent en G1, on ne repère donc pas de phase S pour les C sénescents.
Morphologie		Elles sont <b>aplaties, plus larges</b> et ont un aspect <b>d'œuf au plat</b> au contour peu réfringent.
Noyau		Des foyers <b>d'hétérochromatine</b> apparaissent à la coloration DAPI. La chromatine est <b>très concentrée</b> .
Altération de l'activité de la β-gal		Dans une cellule normale, cette activité n'est pas détectée. Celle-ci augmente cependant pendant la sénescence.
Tests en laboratoire		En prenant des anticorps dirigés contre des protéines mis en jeu dans les voies de réponses des dommages à l'ADN des cellules sénescents, on observe <b>l'augmentation de ces marqueurs</b> .
Apoptose		<b>Résistance à l'apoptose</b>

## b) Les caractéristiques intra-cellulaires

La sécrétion de **facteurs spécifiques** (SASP / Senescence Associated Secretion Profile) :

- Ces facteurs sont libérés de manière **endocrine** (sang)/ **paracrine** (aux cellules proches) lors d'un traumatisme par les cellules sénescents autour des tissus nécrosés.

- Majoritairement des **facteurs pro-apoptotiques** (interleukine, prostaglandine), mais aussi des **enzymes de remodelage tissulaire** (métalloprotéases : collagénase, stromélysine) ainsi que des **facteurs de croissance** (héréguline)


- Cette inflammation locale est **ambivalente** :

- **Courte durée** : Les cellules alentours libéreront les facteurs spécifiques, afin de recruter les **cellules de l'immunité** (pour faire disparaître les cellules sénescents) favorisant ainsi la cicatrisation.
- **Longues durées** : Si un grand nombre de cellules sénescents persistent, cette inflammation sera responsable du phénomène de **vieillesse** car elle engendrera une **destruction de la MEC**.

## C- Le devenir des cellules sénescents

Pour comprendre le devenir de ces cellules, nous allons étudier un modèle d'hépatocarcinome chez la souris qui se caractérise par **l'absence du gène p53**.

- Après restauration de l'expression de p53, on s'aperçoit que la tumeur régresse.

 - On a d'abord pensé que les cellules étaient parties en apoptose. On a donc fait un marquage à la caspase 3 qui s'est avéré **négatif**.

- On a donc cherché des preuves de sénescence grâce à une coloration de la β-gal, et on observe alors que les cellules sont bien en sénescence.

- Mais si les cellules étaient en sénescence, elles étaient toujours vivantes, donc comment la tumeur a-t-elle diminué de volume ? Suite à l'activation de p53, ces cellules ont été **éliminées par le système immunitaire**.

- L'inactivation des gènes codant pour les cellules immunitaires **conservait** les cellules sénescents.

**On a démontré que les cellules sénescents étaient phagocytées par le système immunitaire.**

L'introduction de p53 active la transcription des gènes codant pour des cellules immunitaires qui élimineront ces cellules sénescents.

A bien distinguer :

- **Initialement** : dans l'organisme, le système immunitaire va considérer les cellules sénescents comme des cellules stressées et va les éliminer → **Immuno-surveillance**
- **Avec le temps** : le système immunitaire devient de moins en moins compétent et il va progressivement présenter un **déficit** qui conduira à l'**accumulation des cellules sénescents dans les tissus**. Celles-ci généreront un environnement **pro-inflammatoire** entraînant un **vieillessement** des tissus et ainsi de suite (une círculo vicioso mis amigos). C'est l'**immunosénescence** !

Un processus inflammatoire de courte durée est bénéfique, il entraîne la cicatrisation. Mais s'il perdure, il engendrera un vieillissement tissulaire.

On voit sur ce schéma, que chacun de ses dysfonctionnements contribue au vieillissement :

- Protéostasie
- Altérations épigénétiques
- Érosion des télomères
- Instabilité génomique
- Mauvaise communication intercellulaire
- Épuisements des cellules souches
- Dysfonctionnement mitochondrial
- Dérégulation des systèmes de mesure des nutriments

**L'accumulation de cellules sénescents participe au vieillissement !**

On a fait une petite expérience pendant laquelle on s'arrange pour qu'à chaque fois qu'une cellule entre en sénescence, celle-ci soit directement détruite par apoptose. On découvre alors que :

- La cohorte de souris étudiée vit plus longtemps et en meilleure santé.
- Ces souris ont aussi moins de pathologie cardiovasculaires et rénales.

