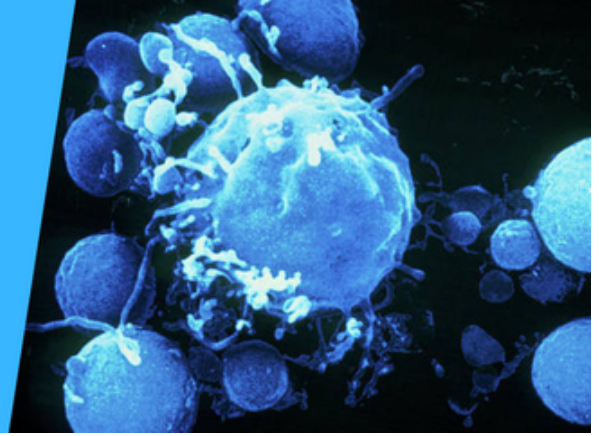


# Mort cellulaire



Il existe **2 grands types** de **mort cellulaire** très différents :

- **Apoptose** = mort cellulaire **programmée** = « **suicide cellulaire** » ++
- **Nécrose** = mort cellulaire **accidentelle** ++ = **brûlure**

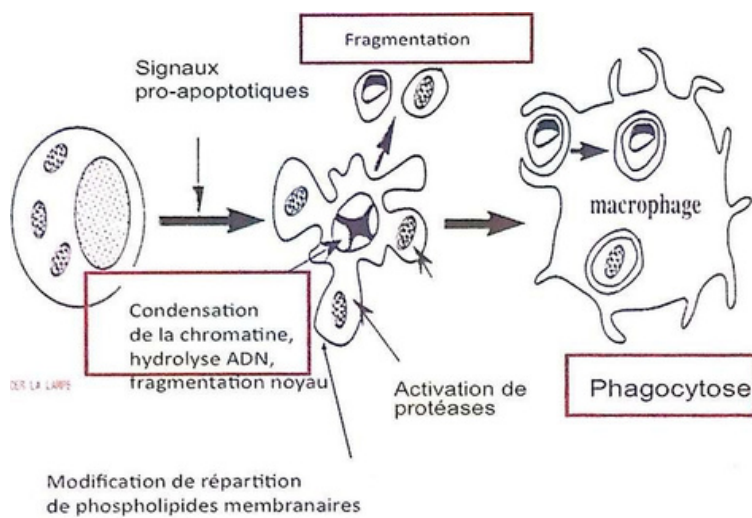
## I - Apoptose

### a) Les 5 Caractéristiques de l'apoptose

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>1) Signalisation</b>   | Déclenchée de manière <b>contrôlée</b> par des <b>signaux extracellulaire</b> (en raison d'une absence de facteurs de croissance, infections virales, radiations...) ou <b>intra-cellulaire</b> (due à des anomalies de l'ADN, ex: p53 qui reconnaît les dommages de l'ADN). De cette façon, la cellule apparaît comme « altruiste » car elle préfère se suicider plutôt que de créer un organe dysfonctionnel. |
| <b>2) Programmé</b>       | Le déroulement de l'apoptose strictement est contrôlé par la mise en jeu de <b>cascades réactionnelles particulières</b> en plus de l'activation de gènes spécifiques.<br><br>→ <b>PROGRAMMÉ (non au hasard) +++</b>  |
| <b>3) ATP-dépendant</b> 🚫 | C'est un processus <b>ATP-dépendant +++</b> = Il faut fournir à la cellule de <b>l'énergie = ATP</b> pour mourir.   |
| <b>4) Phagocytose</b>     | Les macrophages et les autres cellules phagocytaires peuvent reconnaître les cellules apoptotiques et les <b>éliminer par phagocytose</b> .   |
| <b>5) Ø Inflammation</b>  | <b>Absence de réponse inflammatoire +++</b> (Contrairement à la <b>nécrose</b> )  |

b) Les 7 Caractéristiques d'une cellule apoptotique 🚩🚩🚩

|  |  |
|--|--|
| <b>Volume cellulaire</b>                           | <u>Diminution du volume</u> par <b>condensation générale de la cellule</b> (aucun contenu libéré)  |
| <b>État de la chromatine</b>                       | Condensation <b>anormale</b> en forme de <b>croissant</b> 🚩  |
| <b>État de l'ADN</b>                               | ADN <b>fragmenté</b>   |
| <b>État de la cellule</b>                          | <b>Fragmentation complète</b> en formant des <b>corps apoptotiques</b> (qui seront ensuite phagocytés)   |
| <b>État de la membrane cellulaire et organites</b> | Membrane <b>intacte</b> , <b>intègre ++</b> 🚩 donc <b>non trouée</b> (d'où le fait aucun contenu soit libéré) avec <b>extériorisation de la phosphatidyl-sérine</b> (voir plus loin) et <b>organites intacts</b> |
| <b>Impact</b>                                      | Atteint généralement une cellule de manière <b>isolée</b>  |
| <b>Contexte</b>                                    | <u>La plupart du temps, l'apoptose survient au cours d'un phénomène physiologique</u>  |



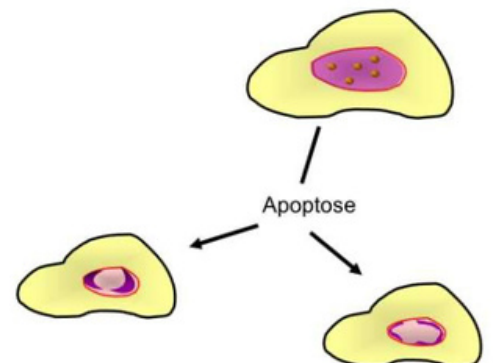
Gauche : cellule normale

Milieu : cellule apoptotique (fragmentation + condensation)

Droite : macrophage qui reconnaît la cellule apoptotique et qui vient la phagocytiser

**N.B.** : L'apoptose prend environ **une journée**.

Condensation de la chromatine: une étape caractéristique de l'apoptose



Haut : cellule normale avec coloration **DAPI normale**

Bas : cellule **apoptique** avec la **condensation** de la chromatine en forme de croissant en **périphérie du noyau**

→ Forme caractéristique de la **coloration DAPI**

++ La condensation de la chromatine est donc une étape caractéristique de l'apoptose ++

### c) L'apoptose en **physiologie**

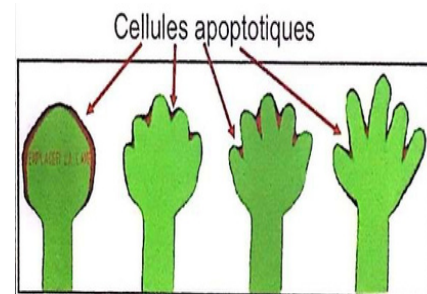
→ Pleins de processus cellulaires **normaux** et **physiologiques** dépendent de l'apoptose, c'est une **partie intégrante de la physiologie d'un organisme ++ 🚩🚩🚩**

**L'apoptose est :**

#### 1) Indispensable au développement normal de l'embryon 🚩

Lors du **développement embryonnaire = l'embryogénèse + 🚩 +** , l'apoptose est mise en jeu dans certains processus :

- **Modelage des doigts** par **apoptose** des cellules entre les tissus (cf. embryo) : Ces processus peuvent être source de malformation s'il y a un **dysfonctionnement** (comme les doigts de pieds non décollés = syndactylie)
- **Sélection neuronale** : Nos neurones sont détruits dans la période périnatale, ce qui est indispensable pour le développement normal du système nerveux. Environ **50% sont détruits**.

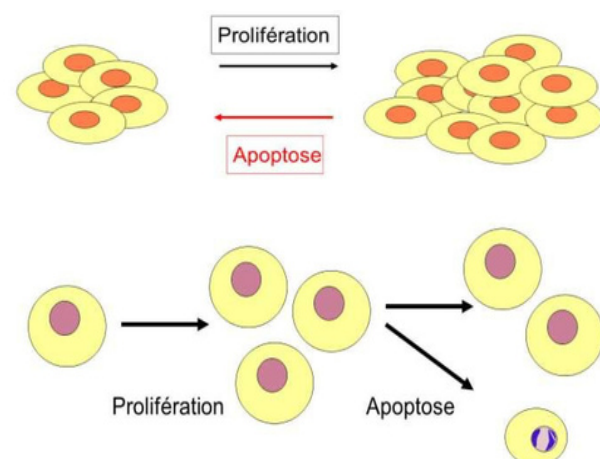


#### 2) L'apoptose est indispensable à l'homéostasie tissulaire

L'apoptose contribue à l'**équilibre cellulaire** car elle permet de garder une **balance entre prolifération et apoptose +++**. Prenons l'exemple de la **réaction immunitaire** :

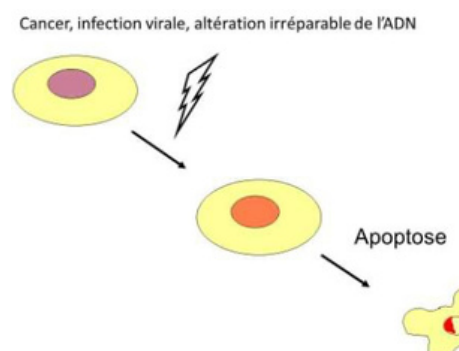
Lors d'une **infection**, les clones de lymphocytes qui sont capables de produire un certain type d'anticorps vont voir une augmentation du nombre de cellules lymphocytaires pour produire davantage l'**anticorps spécifique**.

Une fois l'**infection guérie**, ce nombre conséquent n'est plus nécessaire. Les lymphocytes entrent en **apoptose** (diminution) pour rétablir le **nombre normal de cellules**.



#### 3) Impliquée dans l'élimination des cellules malades

Les cellules qui ont un **défaut de fonctionnement (cancer ++, altération de l'ADN ou infectées par un virus par exemple)** sont éliminées par **apoptose**. L'organisme est capable de les reconnaître et de les **éliminer**.



- **Intérêt en médecine** : On s'aperçoit que l'apoptose est un phénomène ayant des conséquences majeures en **pathologie** en cas de **dérèglement**.

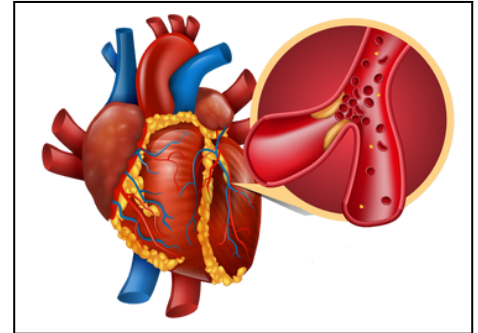
Ainsi, l'**inhibition** de l'apoptose est corrélée à :

- Des **Malformations** (ex: pieds/main subissant une syndactylie)
- Des **maladies auto-immunes**
- A la **cancérisation**



À l'inverse des **excès d'apoptose** peuvent conduire à :

- Des Maladies **neurodégénératives** (ex: Alzheimer)
- D'**infarctus** du Myocarde
- D'infections **virales**
- De pathologies **hépatiques**



## II - La Nécrose

### a) Les 3 Caractéristiques de la Nécrose

|   |   |
|---|---|
| <b>1) Agressions Physique ou Chimique</b> | Mort cellulaire causée essentiellement par des <b>atteintes physiques ou chimiques</b> ( <b>ischémie, brûlure, traumatisme</b> ). Elle est le résultat des <b>agressions sévères</b> subies par la cellule. |
| <b>2) ATP indépendant</b> 🚫               | C'est un processus <b>ATP-indépendant +++</b> contrairement à <b>l'apoptose</b> .   |
| <b>3) Inflammation</b>                    | Présence d'une <b>réaction inflammatoire +++</b> , à cause de la <b>libération du contenu des cellules</b> (par rupture membranaire absente dans l'apoptose) dû à leur <b>explosion</b>                     |

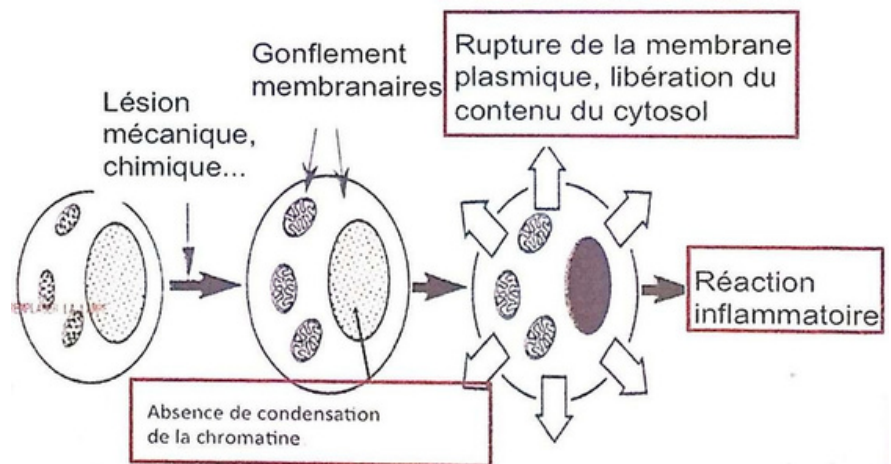
b) Les 7 Caractéristiques d'une cellule nécrotique 🚩🚩🚩

|  |   |
|--|---|
| <b>Volume cellulaire</b>                           | <b>Augmentation du volume</b> car la cellule nécrotique <b>gonfle</b> puis <b>explose</b>   |
| <b>État de la chromatine</b>                       | Pas de condensation mais une <b>dispersion de la chromatine ++</b> 🚩  |
| <b>État de l'ADN</b>                               | ADN <b>fragmenté</b> mais de façon <b>irrégulière/non ordonnée</b> -> <b>dégradation de l'ADN</b>   |
| <b>État de la cellule</b>                          | <b>Explosion</b> de la cellule avec <b>libération de son contenu</b> (d'où l'inflammation)  |
| <b>État de la membrane cellulaire et organites</b> | <b>Membrane rompue</b> lors de <b>l'explosion</b> (d'où la libération du contenu cellulaire et des organites) et <b>organites impactés</b> (perte de leur fonctionnalité) |
| <b>Impact</b>                                      | Ensemble des cellules d'un tissu soumis à une agression   |
| <b>Contexte</b>                                    | <b>Pathologique, Agressions externes sévères</b>  |

**Gauche** : cellule **normale**

**Milieu** : cellule **nécrotique** avec un **gonflement membranaire** et pas de condensation

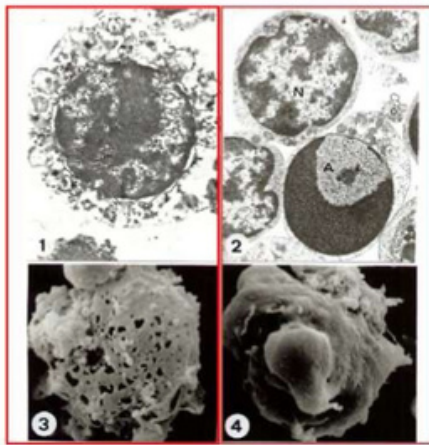
**Droite** : **explosion** de la cellule avec **réaction inflammatoire** et libération d'organites



## III - Distinction entre cellules apoptiques et nécrotiques

Nous avons à notre disposition toute une batterie de moyens et de tests pour reconnaître une cellule **apoptotique** ou **nécrotique**

a) Reconnaître une cellule **apoptique/nécrotique** par ses **modifications morphologiques = observation microscopique +++** (cf. Cours Méthodes d'études de la cellule) **🚩🚩🚩**



**En haut** : Au microscopie à **transmission** = **MET** (plus de détails)

**En bas** : Au microscopie à **balayage** = **MEB** (3D)

- **N comme Nécrose** (fragmentation de la membrane plasmique visible)
- **A comme Apoptose** (forme de croisant très dense aux électrons ce qui est lié chromatine condensée)

À apprendre par ❤️

b) Reconnaître une cellule **apoptique** via la **fragmentation de l'ADN + 🚩🚩🚩**

### **1ère technique : Électrophorèse d'ADN de cellules en apoptose = Échelle du nucléosome**

- **Principe** : Induire l'apoptose et observer au cours du temps la fragmentation de l'ADN en mesurant le poids moléculaire (PM en Kb)
- **Outils** : **Électrophorèse** sur gel d'**agarose** + Antibiotique induisant l'apoptose = Staurosporine
- **Puit 1** : Avec induction de l'apoptose et en présence d'un **ARN interférent** (cf. Biomol) dirigé contre l'**ARNm** du gène codant pour la **Caspase 3** (et qui va donc le détruire) -> au bout de 120min, l'ADN n'est pas fragmenté donc les cellules sont normales -> Expérience **Témoin** (elle témoigne de l'implication de la caspase 3 dans le phénomène apoptotique, car en son absence, et après induction de l'apoptose, le poids moléculaire ne varie pas)
- **Puits 2 à 6** : Sans induction de l'apoptose on observe les **mêmes résultats** qu'avant c'est à dire un **poids moléculaire stable** -> Cela est logique, car il n'y a pas d'**induction de l'apoptose** malgré la présence de la **Caspase 3**
- **Puits 7 à 11** : Après **induction de la Caspase 3**, on observe la **fragmentation de l'ADN** au cours du temps car le poids moléculaire **diminue** en plusieurs petits fragments (+ grande progression car + petite taille) qui représentent des **nucléosomes**

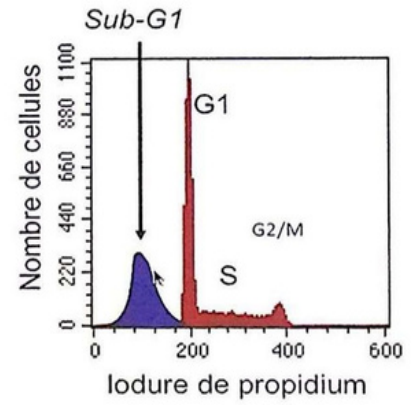
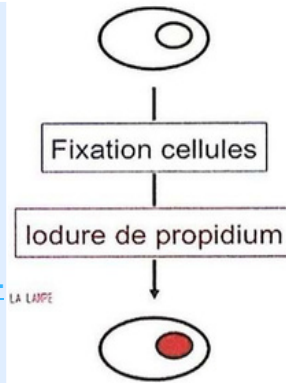
|           |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |
|-----------|-----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|-----|----|
| Caspase-3 | -   | +  | +  | +  | +  | +   | +  | +  | +  | +  | +   |    |
| Minutes   | 120 | 15 | 30 | 60 | 90 | 120 | 15 | 30 | 60 | 90 | 120 |    |
| Puits     | M   | 1  | 2  | 3  | 4  | 5   | 6  | 7  | 8  | 9  | 10  | 11 |



**PS** : Les conditions expérimentales ne sont pas à apprendre par coeur (rappelées le jour de l'exam) il faut surtout comprendre l'expérience

**2ème technique : Technique du pic sub-g1 (#cycle cellulaire) ↑**

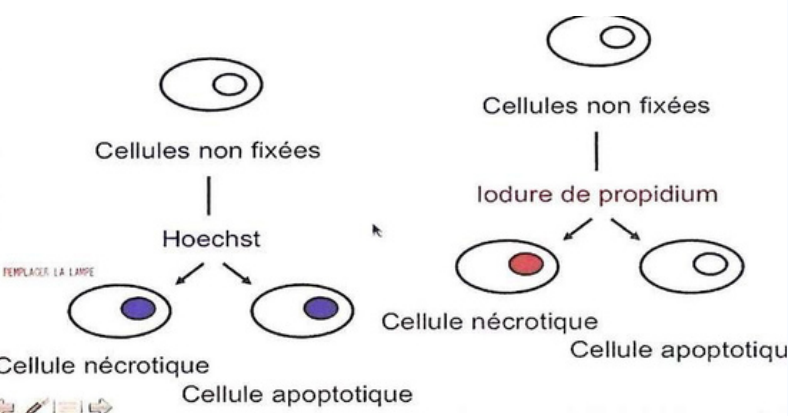
- **Principe** : Marquer les cellules par **cytométrie** et détecter la présence d'un nouveau pic précédent la phase G1 du cycle cellulaire = **sub-G1 = Apoptose**
- **Outils** : Utilisation d'un **colorant d'ADN = iodure de propidium = PI ++** sur des **cellules fixées**
- **Condition préalable** : **Fixer** les cellules ce qui permet de les **perméabilisées +** (la membrane de la cellule est perméable = perforé/troué permettant au colorant de rentrer)



→ La **fragmentation de la cellule** lors de l'**apoptose** entraîne la **perte** de certaines parties du noyau et donc du **matériel génétique** (par création de corps apoptotiques), ce qui a une influence sur la **quantité d'ADN** donc de **fluorescence** émise par la cellule (+ petits corps, - d'ADN, - de fixation d'iodure, - de fluorescence).

→ D'où la présence, du fait de l'apoptose, d'un pic supplémentaire = **pic sub-G1** (à gauche, en bleu), **caractéristique de la fragmentation apoptotique.**

c) Reconnaître une cellule **apoptique** via ses **modifications membranaires +++**



**3ème technique : Technique du double marquage (toujours de la cytométrie)**

- **Principe** : Distinguer les cellules **apoptiques** des cellules **nécrotiques**
- **Condition préalable** : utilisation de cellules **non fixées** donc **PAS de fixation = PAS de Perméabilisation des cellules++**
- **Outils** : Utilisation de **différents colorants**, Double marquage = **2 colorants : Hoechst + PI**

**Hoechst = Colore toutes les cellules (apoptiques, nécrotiques, normales) avec une fixation égale**

**Iodure de propidium = colore les cellules nécrotiques**

- 1) Se repère au niveau des **ordonnées**
- 2) Traverse la membrane **sans perméabilisation** préalable de la cellule (c'est-à-dire que même si la membrane de la cellule est intacte, il est capable de la traverser)

- 1) Se repère au niveau des **abscisses** (⚠ après avec l'annexine, il sera au niveau des **ordonnées**)
- 2) Traverse la membrane de la cellule **que si elle est perméabilisée** (il faut des trous dans la membrane, pour que le colorant puisse passer)

## Résultats double marquage Hoechst + PI 🚦🚦🚦 :

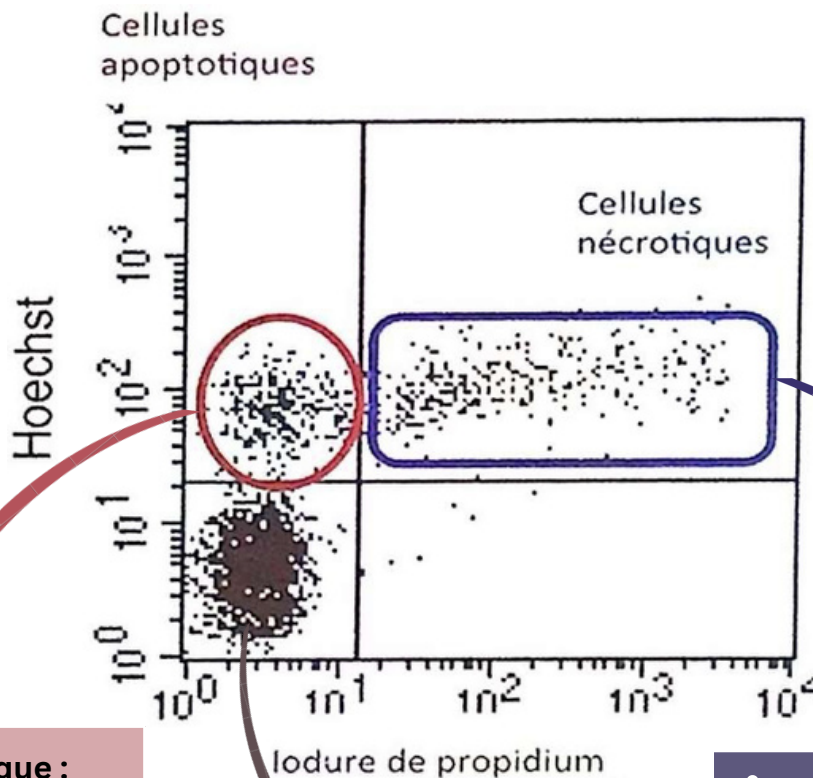
→ On observe par **cytométrie de flux**, la proportion de cellules colorées à l'**Hoescht** et à l'**iodure de propidium**. Chaque petit point représente une quantité de **fluorescence** :

- Plus on **monte**, plus on a de cellules colorées par l'**Hoescht**

⚠ **En-dessous de la barre horizontale**, on considère que les cellules ne sont **PAS colorées par Hoescht**.

- Plus on va vers la **droite**, plus on a de cellules colorées au PI

⚠ **À gauche de la barre verticale**, on considère que les cellules ne sont **PAS colorées par PI**.



### Cellule apoptique :

Elle fixe le colorant **Hoechst** **mais PAS PI +++** comme sa membrane, intègre, n'est **PAS permeabilisée**

### Marge d'erreur :

Ici nous retrouvons des cellules qui n'ont **ni fixé PI, ni Hoechst**, car la fixation ne marche **pas toujours très bien** et le test n'est **pas 100% exact**

### Cellule nécrotique :

Elle fixe le colorant **Hoechst ET PI+++** comme sa membrane perd son intégrité lors de l'**explosion de la cellule** et est donc **permeabilisée**

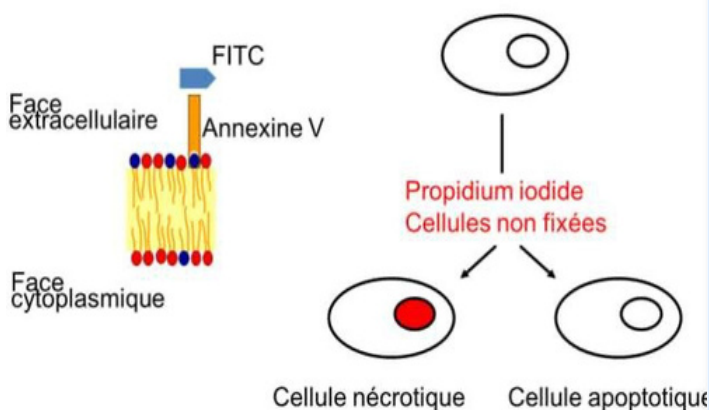
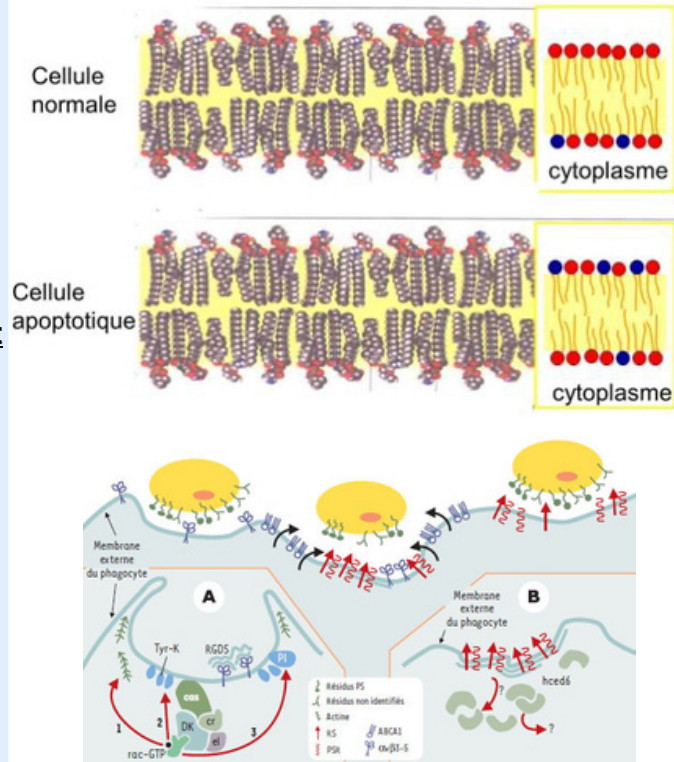
À apprendre par ❤️

Une cellule **apoptotique** connaît des **modifications membranaires** non négligeables **↑↑↑** :

- **1)** Dans une cellule **normale**, on retrouve la **phosphatidyl-sérine (PS)** sur le **feuillet interne de la bicouche lipidique** (cf. compartiment) : il existe une **asymétrie de sa répartition ++**.
- **2)** Dans les cellules **apoptotiques**, un processus actif de **flip flop** expose les PS (boules bleues) sur le **feuillet externe de la membrane** : **modification de la symétrie de la PS qui est extériorisée +++** **↑**
- **3)** La **PS** sera ensuite reconnue par les **cellules phagocytaires** (notamment les macrophages) pour être phagocytées : la **PS permet donc aux cellules apoptotiques d'être reconnues**

→ Propriété utilisée en **cytométrie**

#### externalisation des phosphatidylsérines



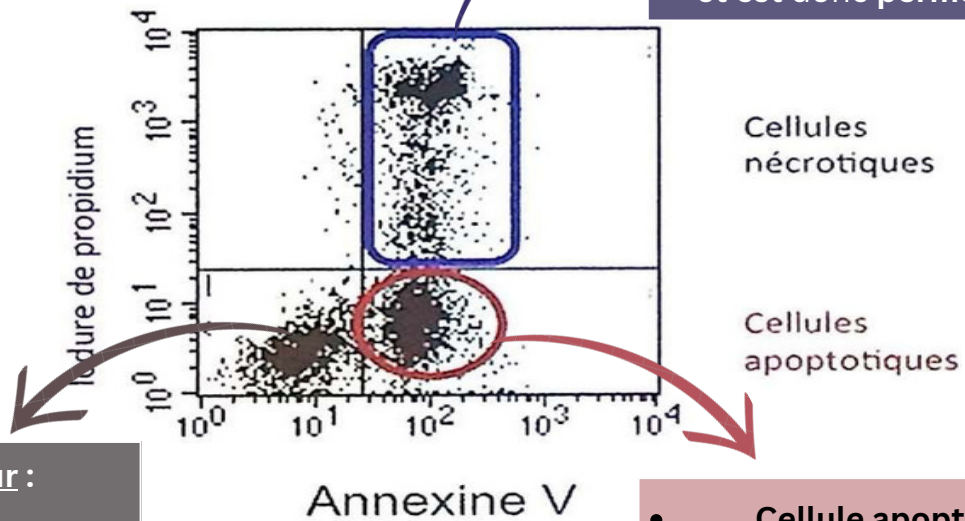
#### Technique : Double marquage PI + Annexine 5

- **Principe** : Distinguer les cellules **apoptiques** des cellules **nécrotiques**
- **Outils** : Utilisation de 2 colorants : **PI + Annexine 5**
- Pourquoi l'**Annexine 5** ? C'est une protéine spécifique que l'on couple à un **fluorochrome** afin de reconnaître la **PS**. Cependant, comme la cellule nécrotique **explose**, la **PS se retrouve également externaliser +++**. C'est pour cela qu'on utilise aussi PI car celui-ci ne colore que les cellules **nécrotiques** (par perte d'intégrité membranaire)

**Résultats double marquage PI + Annexine 5 🚩🚩🚩 :**

⚠️ **PI** se repère maintenant au niveau des **ordonnées**  
Alors que **l'Annexine 5** se trouve en **abscisse**

• **Cellule nécrotique :**  
Elle fixe **l'Annexine 5**  
**ET PI +++** comme sa membrane  
perd son intégrité lors de  
l'explosion de la cellule  
et est donc **permeabilisée**

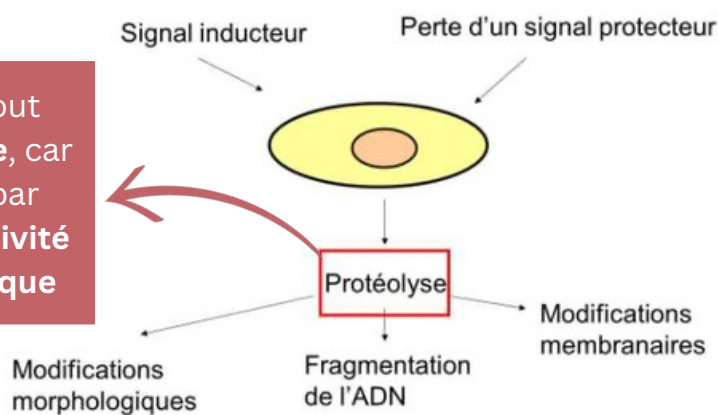


• **Marge d'erreur :**  
Ici nous retrouvons des  
cellules qui n'ont **ni fixé PI,**  
**ni l'Annexine 5,** car la fixation  
ne marche **pas toujours très**  
**bien** et le test n'est **pas 100%**  
**exact**

• **Cellule apoptique :**  
Elle fixe **l'Annexine 5**  
**mais PAS PI +++** comme sa  
membrane, **intègre,** n'est **PAS**  
**permeabilisée**

**Récap Techniques + Colorations 🚩🚩🚩 :**

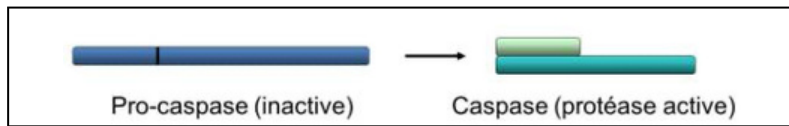
• C'est la que réside tout  
l'objectif de l'**apoptose,** car  
la cellule se détruit par  
**protéolyse** via une **activité**  
**protéolytique spécifique**



|                   | Hoechst | Iodure de Propidium | Annexine V |
|-------------------|---------|---------------------|------------|
| <b>Normal</b>     | +       | -                   | -          |
| <b>Apoptique</b>  | +       | -                   | +          |
| <b>Nécrotique</b> | +       | +                   | +          |

## d) Reconnaître une cellule **apoptique** via la **protéolyse ++**

Ce qui va vraiment déclencher cette mort cellulaire par **apoptose**, c'est l'activation de la **protéolyse**. La **protéolyse** correspond à la **dégradation** des protéines via d'autres **protéines spécifiques**. Ainsi, l'apoptose se met en place à l'aide de **caspases + ↑**. À l'état **normal**, elles ne sont **PAS actives**.

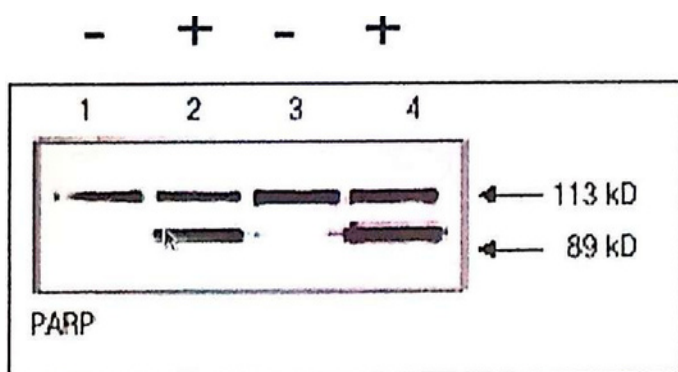


### 1) Le rôle des Caspases :

Il en existe **2 types** :

| Les caspases <b>initiatrices</b>  | Les caspases <b>effectrices</b>   |
|---|---|
| Caspases <b>8, 9 et 10</b> .  | Caspases <b>3, 6 et 7</b> .   |
| Elles sont activées par <b>récepteur de mort</b> ou par <b>auto-activation</b> . Ce sont les <b>protéases initiatrices</b> qui vont cliver les <b>pro-caspases effectrices</b> pour les rendre <b>actives</b> . | Ce sont des <b>protéases</b> qui vont effectuer des clivages protéiques <b>spécifiques</b> à l'intérieur de la <b>cellule apoptotique</b> (PARP, I-CAD, actine) |

Activation des caspases et protéolyse des protéines cibles :



ex: PARP, reconnaissance des dommages

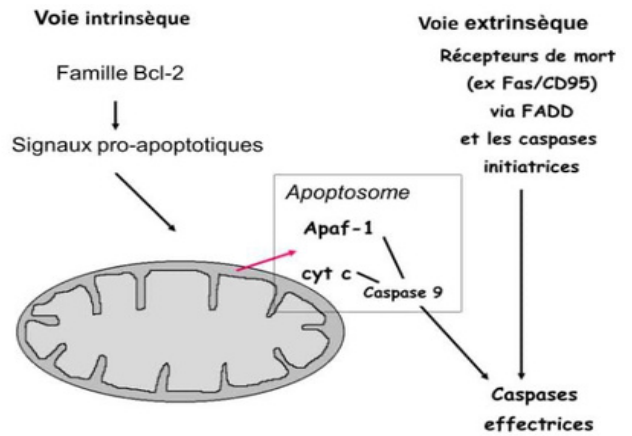
- En gel de **polyacrilamide SDS**, on observe :
  - **Piste 1 et 3** : SANS induction des caspases effectrices, la protéine PARP est **intacte**, pas de **clivage**
  - **Piste 2 et 4** : AVEC induction des caspases effectrices, on observe **2 bandes**, donc il y a eu **clivage** de la protéine PARP = **apoptose**

### 2) Le rôle des Mitochondries :

- Les **mitochondries** sont les usines biochimiques de la cellule. Elles produisent la majeure partie de **l'ATP**.
- Elles constituent également la réserve de **cytochrome c ↑ ++**, une molécule essentielle dans la majorité des processus **apoptotiques**.

L'apoptose peut être enclenché par **deux** types de voie :

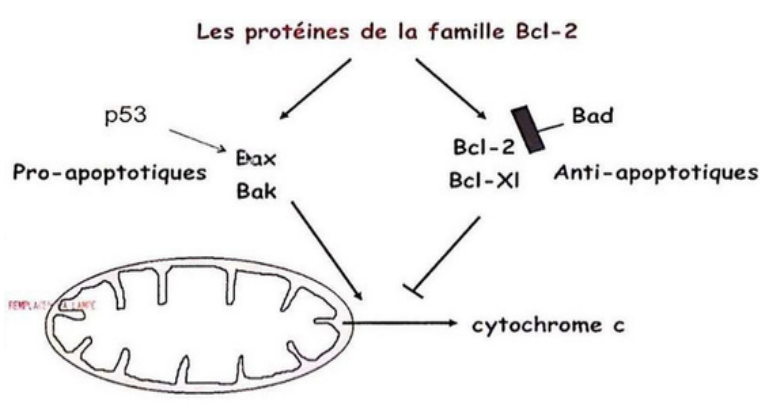
- Voie **intrinsèque** 📌 +++
- Voie **extrinsèque** 📌 +++



--> Voie **intrinsèque** = Voie **Intracellulaire** = Voie **mitochondrie dépendante ++**

- Cette voie répond à des **signaux intra-cellulaire de stress**.
- Elle est dite « **mitochondrie dépendante** » car le **cytochrome C** se trouvant dans les mitochondries permet d'aboutir à la cascade d'**activation des caspases**.
- Ce mécanisme passe par l'activation des protéines de la famille **BCL2 📌 +++** pour « B-cell leukemia ». Certaines protéines de cette famille ont une action **pro-apoptotique**, d'autres une **anti-apoptotique**.

| BCL2 PRO-apoptique  | BCL2 ANTI-apoptique                                      |
|---|--|
| <b>BAX ++</b> (Cible de <b>p53</b> , induit la <b>sortie</b> du cytochrome C) | <b>BCL2 ++</b> (Bloque la <b>sortie</b> du cytochrome C) |
| BAK   | BCL-X  |
| <b>BAD</b> (Inhibe BCL2)  |  |



-> La libération de **Cytochrome C** est sous le **contrôle des membres de la famille BCL2. +++**

- 1) Les protéines de la famille BCL2 ont pour **cible** les **mitochondries**
- 2) Elles rendent leur **membrane plus perméable**
- 3) Libération par les mitochondries du **cytochrome C** dans le **cytosol**
- 4) Formation de **l'apoptosome +** = complexe composé de **cytochrome C + APAF1**
- 5) L'apoptosome active la **caspase 9** **initiatrice**
- 6) Elle-même activant une **caspase effectrice**
- 7) **Fragmentation** de la chromatine, la lamine, le cytosquelette...

--> Voie **extrinsèque** = Voie **extracellulaire** = Voie **mitochondrie INdépendante ++**

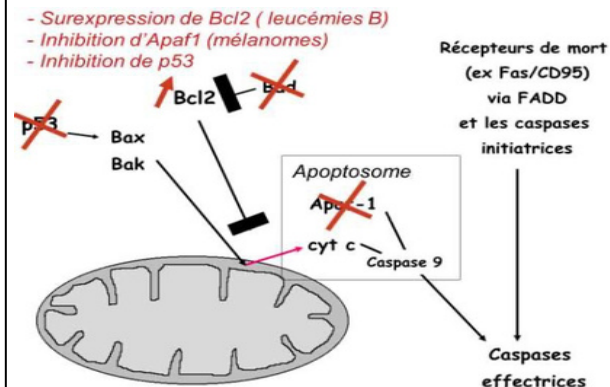
- Cette voie répond à des signaux **extérieurs à la cellule** par des **récepteurs de mort** appartenant à la super famille des **récepteurs au TNF** (**Fas + F+**/CD95) via des **protéines intra-cytosoliques** (FADD).
- Ainsi, la voie extrinsèque est « **mitochondrie indépendante** » car ce n'est plus la mitochondrie mais des protéines intracytosoliques comme le **FADD** qui interviennent dans le processus apoptotique.
- Celles-ci vont cliver les **caspases initiateurs**, puis une **caspase effectrice**, qu'elle **active** en conséquence. Cela provoquera la **fragmentation** de la chromatine, la lamine, l'actine du cytosquelette...  
-> Même processus, ce sont juste les **acteurs initiaux** qui diffèrent selon la voie afin d'aboutir à l'activation des **caspases**

### Intérêt en médecine : Pathologie cancéreuse

Dans les cas de **cancer**, les mécanismes de l'apoptose sont **défaillants**.

En effet, l'apoptose étant limitée, on va avoir une prolifération de **cellules défaillantes** conduisant au processus cancéreux. On peut avoir par exemple :

- **Surexpression de protéines anti-apoptotiques** (ex: BCL2)  
-> leucémie B.
- **Inhibition de l'apoptosome**
- **Inhibition d'APAF-1** -> mélanomes.
- **Inhibition de P53**



# DÉDIS TIME (LES #GIGIDIS)

- Dédi a VOUS pour avoir bossé le meilleur cours de biocell et celui qui tombe toujours
- Dédi à la TTR et aux QCMSHokobon (ou Chocolat Bonbon pour les intimes 🤪)
- Dédi au Make you move qui à fait vibrer un amphi ENTIER à la TTR cette année
- Dédi a mes P1 préférés qui ont redansé avec nous après l'EB1 (1ère photo juste en bas), hâte de vous revoir à l'EB2 pour danser a nouveau
- Dédi à la rentrée médecine, c'est chiant mais on fais ce qu'on peut hein
- Dédi au premier cours de P2 qui n'a jamais eu lieu
- Dédi à ma rentrée au club de patins que j'ai ADORE
- Dédi au filtre Snap qui sont hilarant
- Dédi à la reine Jiafei (et a ses exploits) qui à ambiacé nos cours d'informatique en LAS2SV (petite anecdote, mais la photo que vous voyez à fini en fond d'écran sur tout les ordi de la salle de TP info voilà)
- Dédi au pauses café qui ont refait toute mes années d'études en fait (Marina quand est ce qu'on se revoie tu me manques)
- Dédi a roblox et tout les délires qui y passent (SI vous voulez jouer, n'hésiter pas)
- Dédi a tiktok, au édits super beau et hilarant, mais surtout dédi au Floptok et au twitter stan's
- Pour finir (le meilleur pour la fin), Dédi a GIGI qui nous a transmis ces formidables connaissances et dédi a la dynastie biocell que j'admire profondément (#Chiara, #Noé, #Leho, #Tom, #Milan, #Yamina, #Alina et tant d'autres qui se sont battus au nom de la biocell)

