

MORT CELLULAIRE

2 Voies, 2 Contextes, et Bien plus ...



Introduction

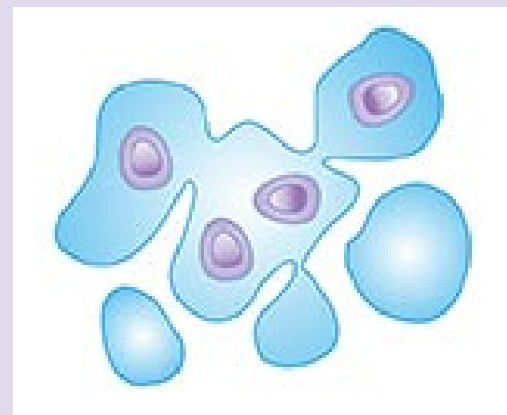
Il existe 2 grands types de mort cellulaire très différents :



Apoptose

Mort cellulaire **programmée**

« **Suicide** cellulaire »



Nécrose

Mort cellulaire **accidentelle**

Brûlures



Caractéristiques de l'apoptose

1

Contrôlée

Déclenchée par des **signaux extracellulaire** (absence de facteurs de croissance, infections virales, radiations) ou **intra-cellulaire** (dommages de l'ADN)

2

PROGRAMMÉ +++ (non au hasard)

Avec la mise en jeu de **cascades réactionnelles** particulières en plus de l'activation de **gènes spécifiques**.

3

ATP-dépendant +++

Il faut fournir à la cellule de **l'énergie = ATP** pour **mourir** 🚫

4

Phagocytose

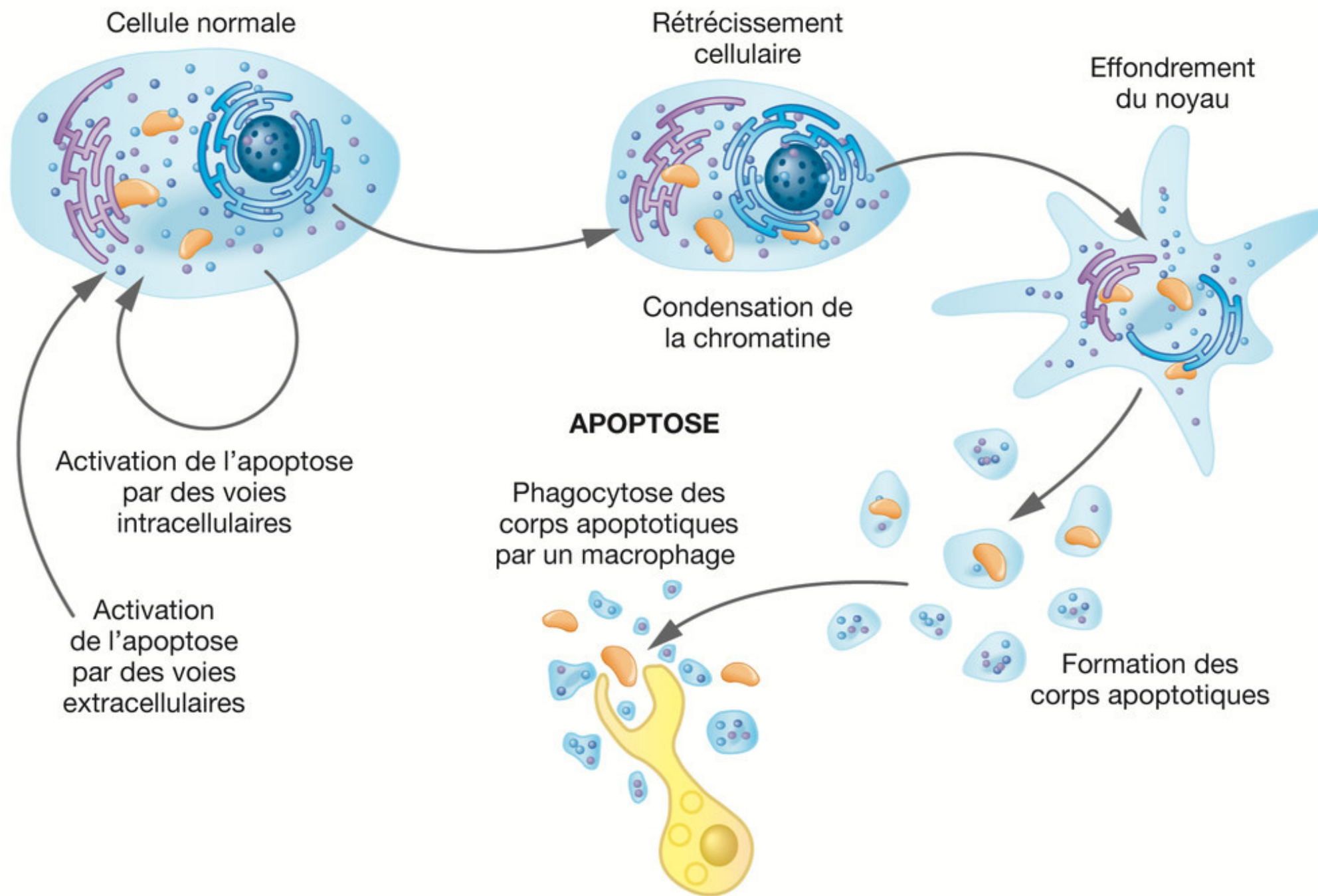
Les macrophages et les autres cellules phagocytaires peuvent reconnaître les cellules apoptotiques et les éliminer par **phagocytose**



5

∅ Inflammation +++

Absence de réponse inflammatoire (Contrairement à la **nécrose**)

La cellule apoptotique



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

Les caractéristiques de la nécrose

Agressions

Physique/Chimique

Mort cellulaire causée essentiellement par des **atteintes physiques ou chimiques** (ischémie, brûlure, traumatisme).

Elle est le résultat des **agressions sévères** subies par la cellule.

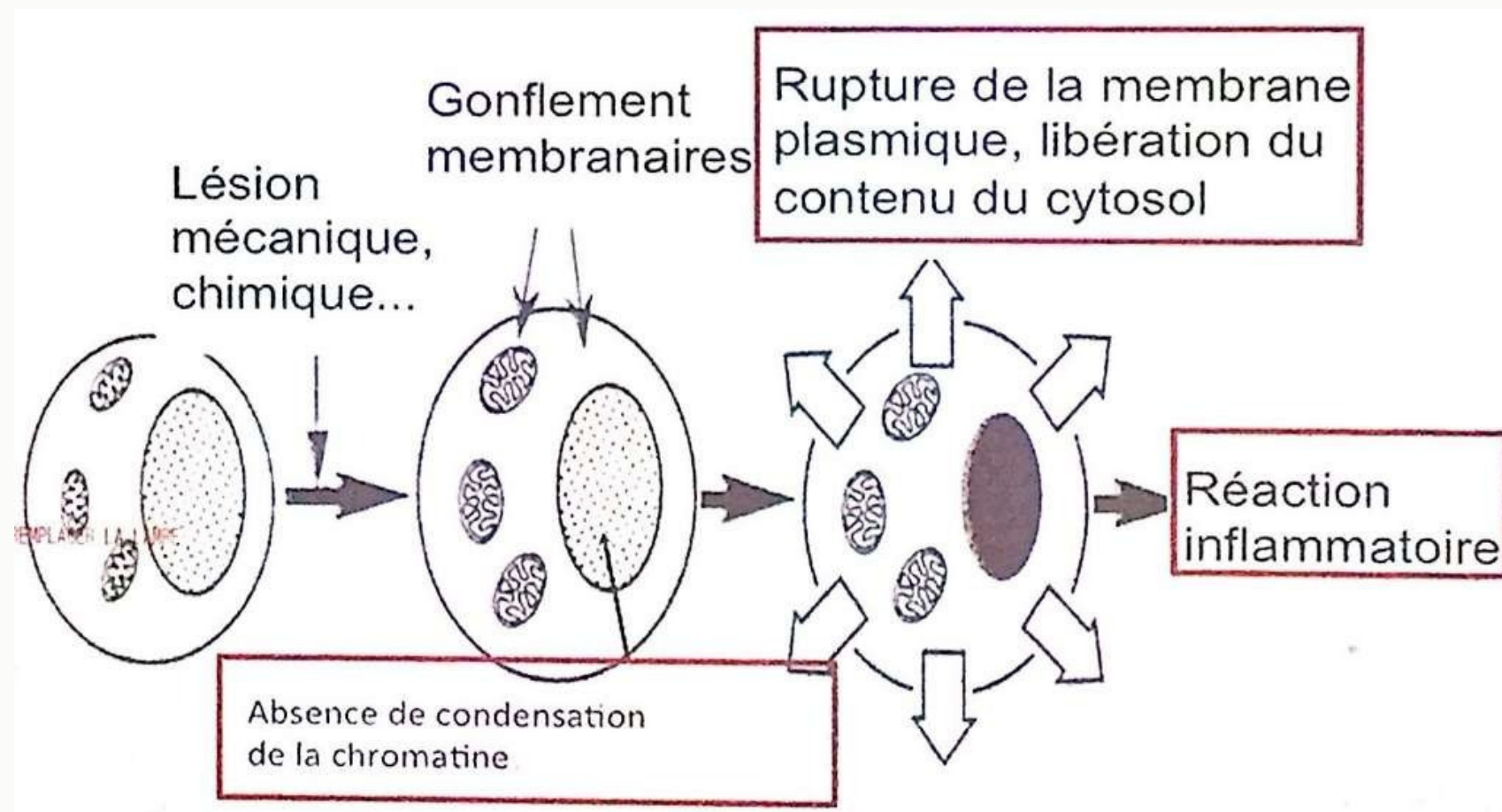
ATP indépendant 🧣

C'est un processus ATP-indépendant +++ contrairement à l'**apoptose**.

Inflammation

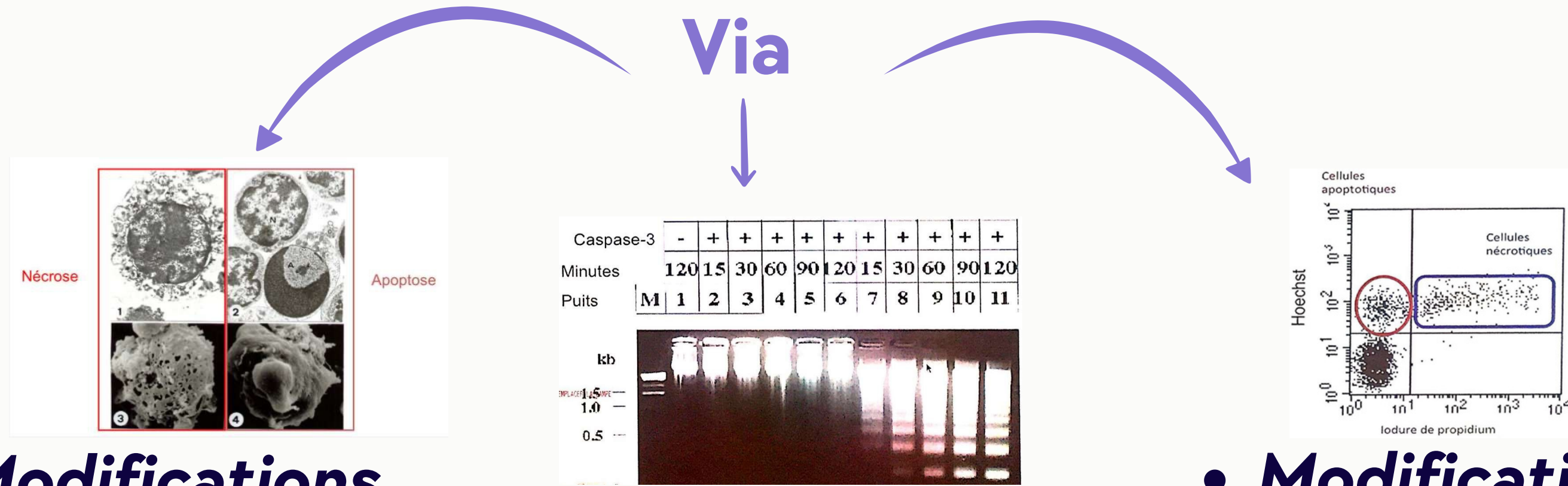
Présence d'une réaction inflammatoire +++, à cause de la libération du contenu des cellules (par rupture membranaire absente dans l'apoptose) dû à leur **explosion**

La cellule nécrotique



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

Distinction cellule apoptotique/nécrotique



- **Modifications morphologiques**

Observation Microscopique

- **Fragmentation de l'ADN**

Échelle du nucléosome

Pic Sub-G1

- **Modifications membranaires**

Double Marquage Hoechst/PI

Double Marquage Annexine V/PI

Observation Microscopique

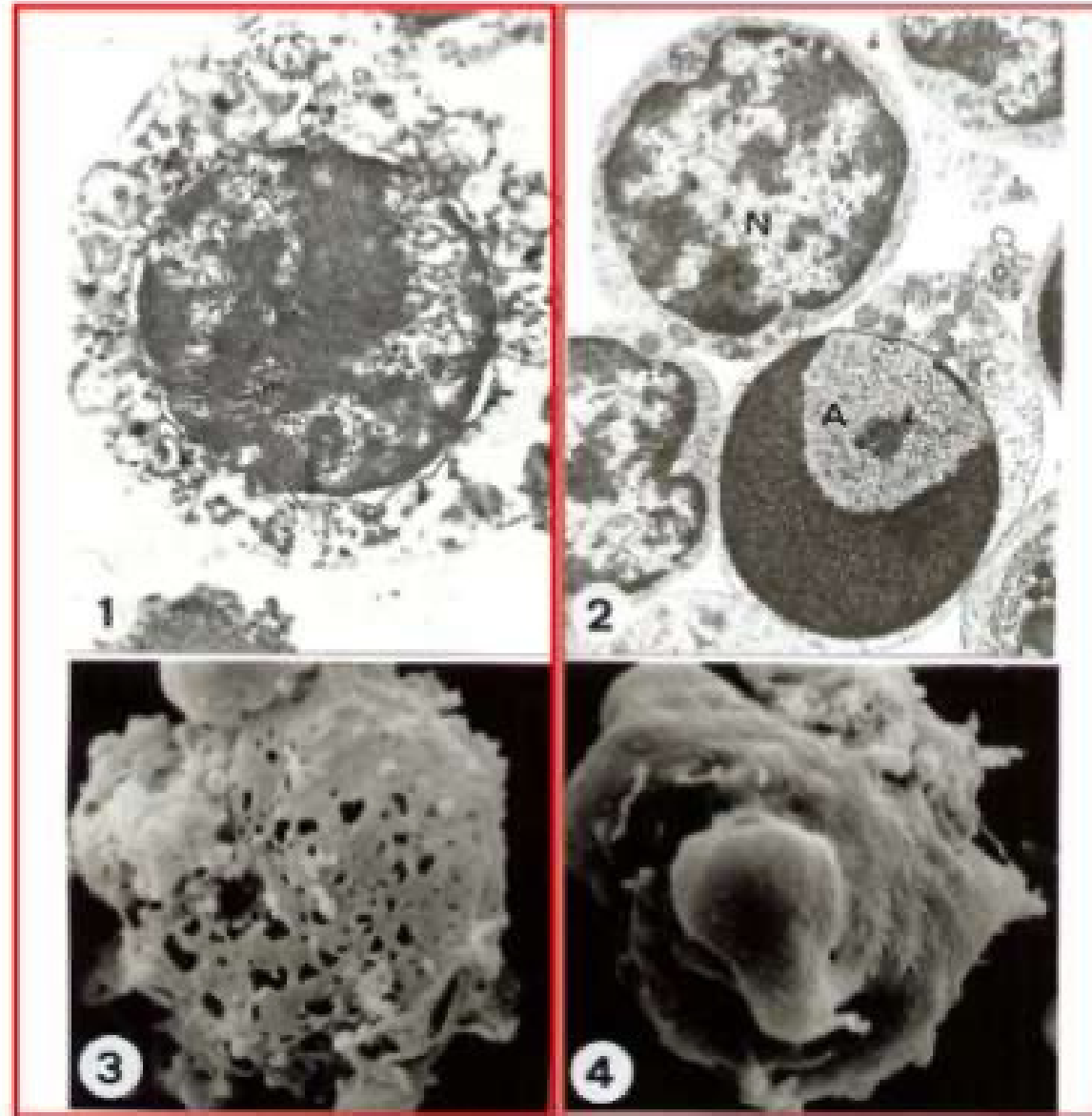
En **haut** : Au **microscopie à transmission = MET**
(plus de détails)

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

N comme **Nécrose** (**fragmentation de la
membrane plasmique visible**)

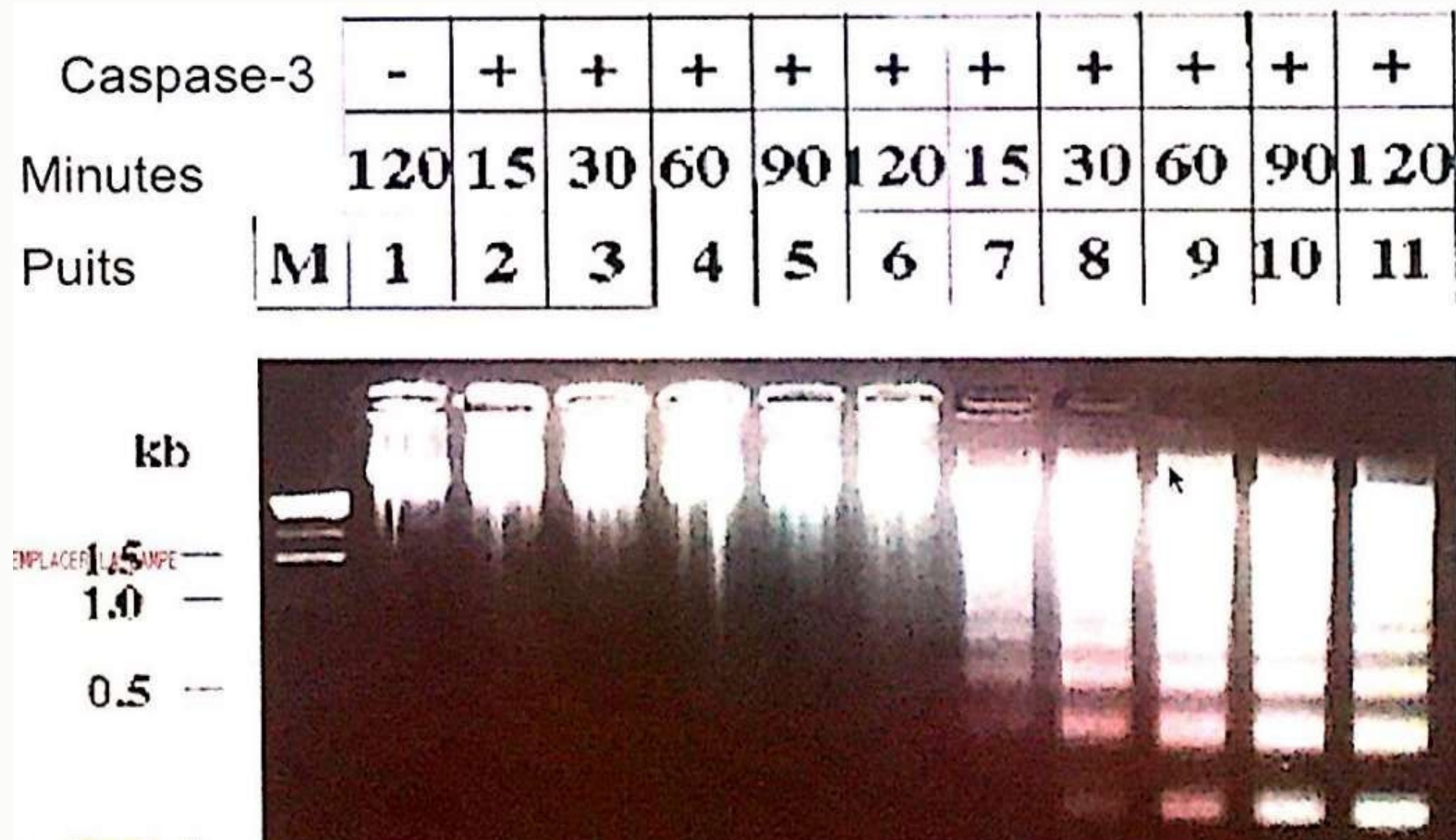
A comme **Apoptose** (**forme de croisant très
dense aux électrons ce qui est lié chromatine
condensée**)

Nécrose



Apoptose

Échelle du Nucléosome



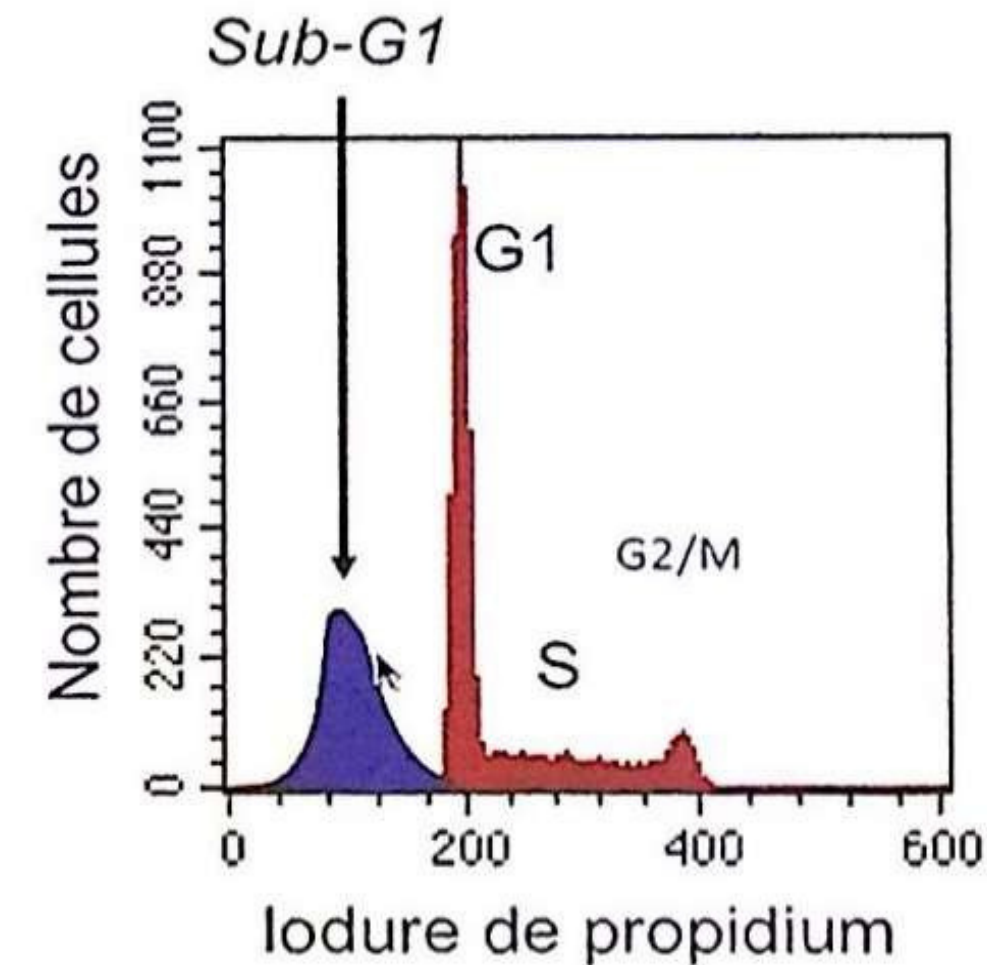
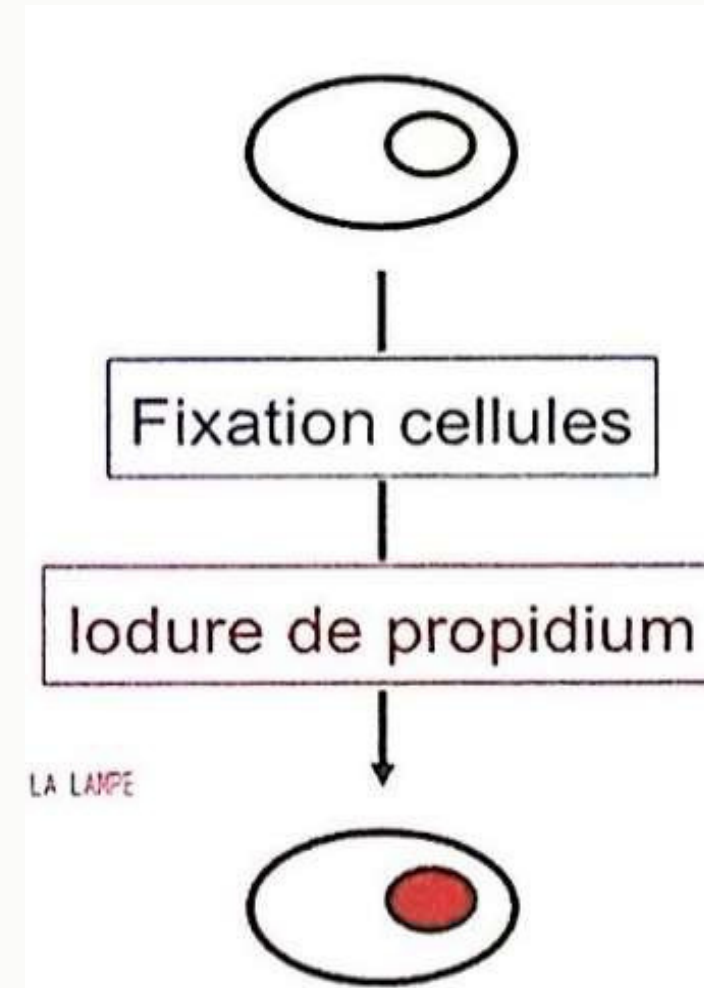
Après induction de la **Caspase 3**, on observe la **fragmentation de l'ADN** au cours du temps car le **poinds moléculaire** diminue en plusieurs **petits fragments** (+ grande progression car + petite taille) qui représentent des **nucléosomes**

Pic Sub-G1

→ 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 PI, - 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**.

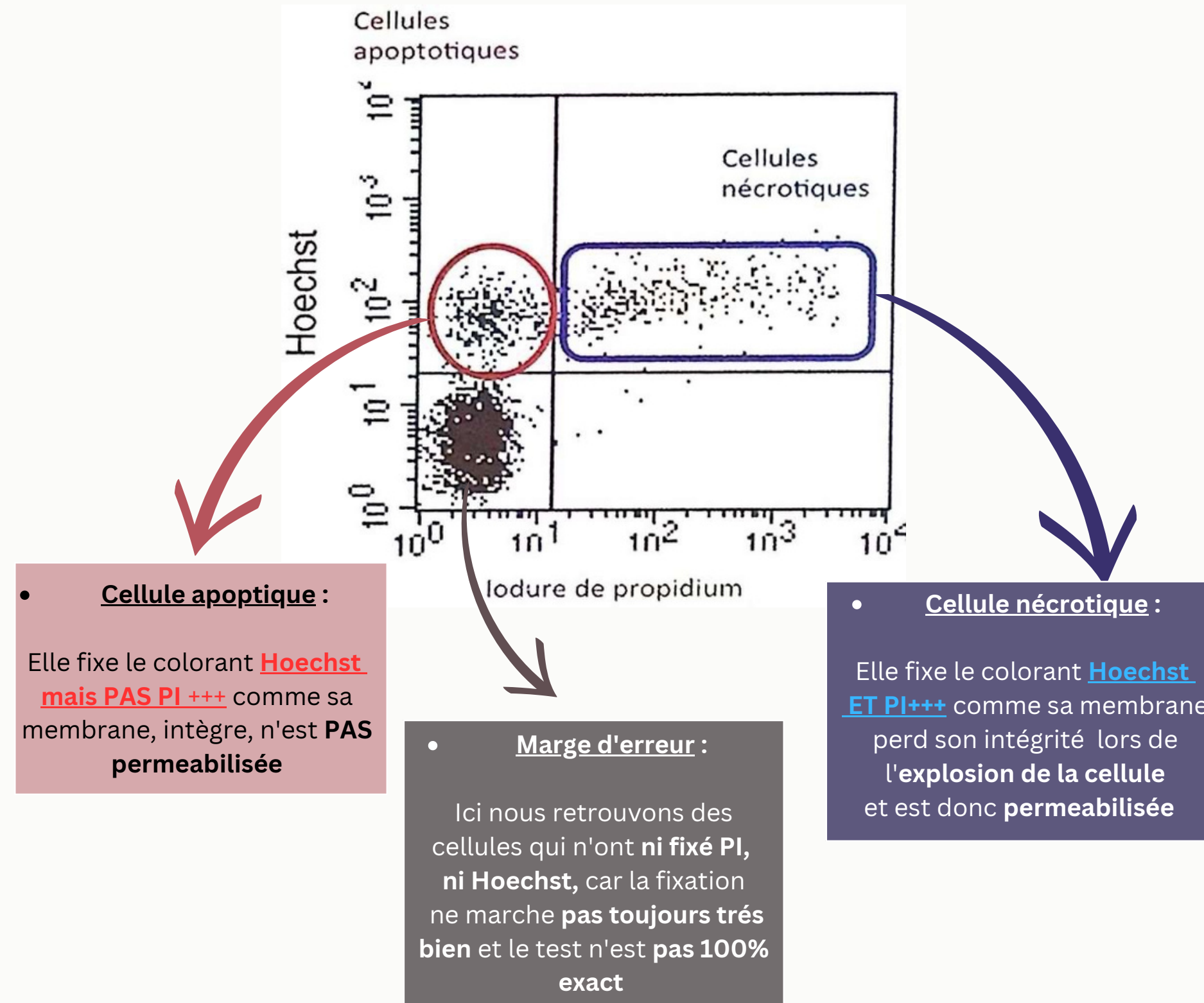
⚠ Cela nécessite une **Fixation préalable des cellules** afin de **permeabiliser** leur membrane au **colorant d'ADN = PI**



Technique du double marquage

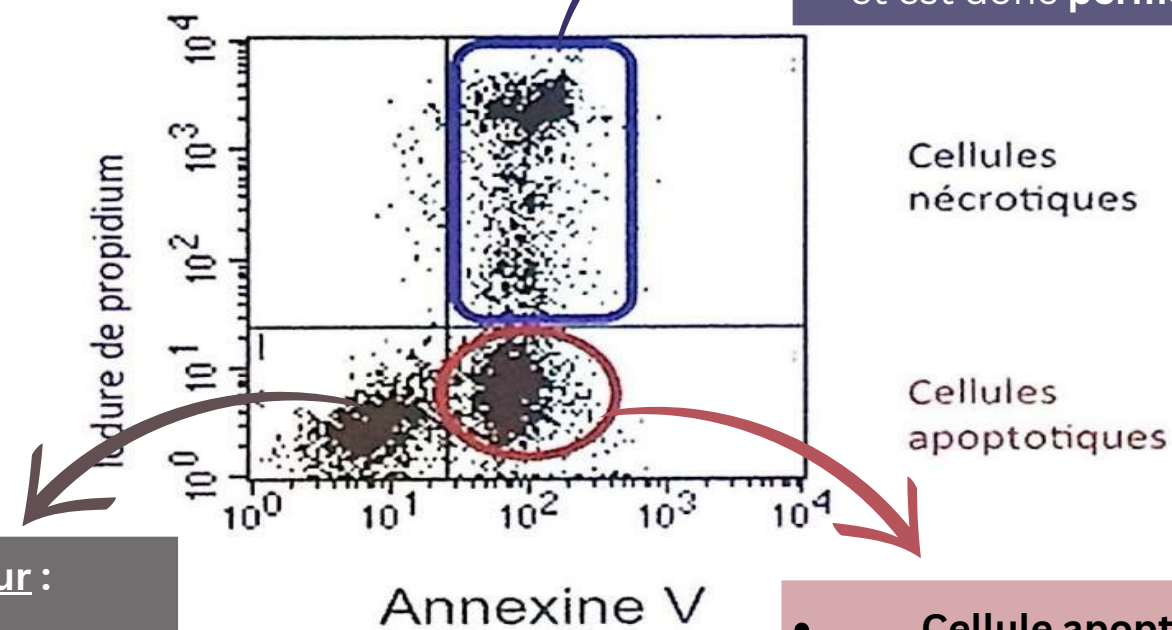
<p>Hoechst = Colore toutes les cellules (apoptiques, nécrotiques, normales) avec une fixation <u>égale</u></p>	<p>Iodure de propidium = colore les cellules nécrotiques</p>	<p>Annexine V = Cellule Apoptique et Nécrotique</p>
<p>Traverse la membrane sans perméabilisation préalable de la cellule (c'est-à-dire que même si la membrane de la cellule est intacte, il est capable de la traverser)</p>	<p>Traverse la membrane d'une cellule que si elle est perméabilisée (il faut des trous dans la membrane, pour que le colorant puisse passer)</p>	<p>Protéine que l'on couple a un fluorochrome afin de se fixer à la PS = Phosphatidylsérine</p>

Double marquage Hoechst/PI



Double Marquage Annexine V/PI

⚠ 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

L'**Annexine 5** est une protéine spécifique que l'on couple a 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**)

Récap

	Hoechst	Iodure de Propidium	Annexine V
Normal	⊕	⊖	⊖
Apoptique	⊕	⊖	⊕
Nécrotique	⊕	⊕	⊕

FIN

