

La mort cellulaire

BIOLOGIE CELLULAIRE



SOMMAIRE

I) L'apoptose, mort cellulaire programmée

A. Caractéristiques de l'apoptose

B. L'apoptose physiologique

C. Caractéristiques d'une cellule apoptotique

II) Nécrose et mort cellulaire accidentelle

A. Caractéristiques de la nécrose

III) Distinction entre les cellules apoptotiques et nécrotiques

A. Reconnaître une cellule apoptotique via la fragmentation de l'ADN

B. Reconnaître une cellule apoptotique via les modifications membranaires

C. Reconnaître une cellule apoptotique via la protéolyse

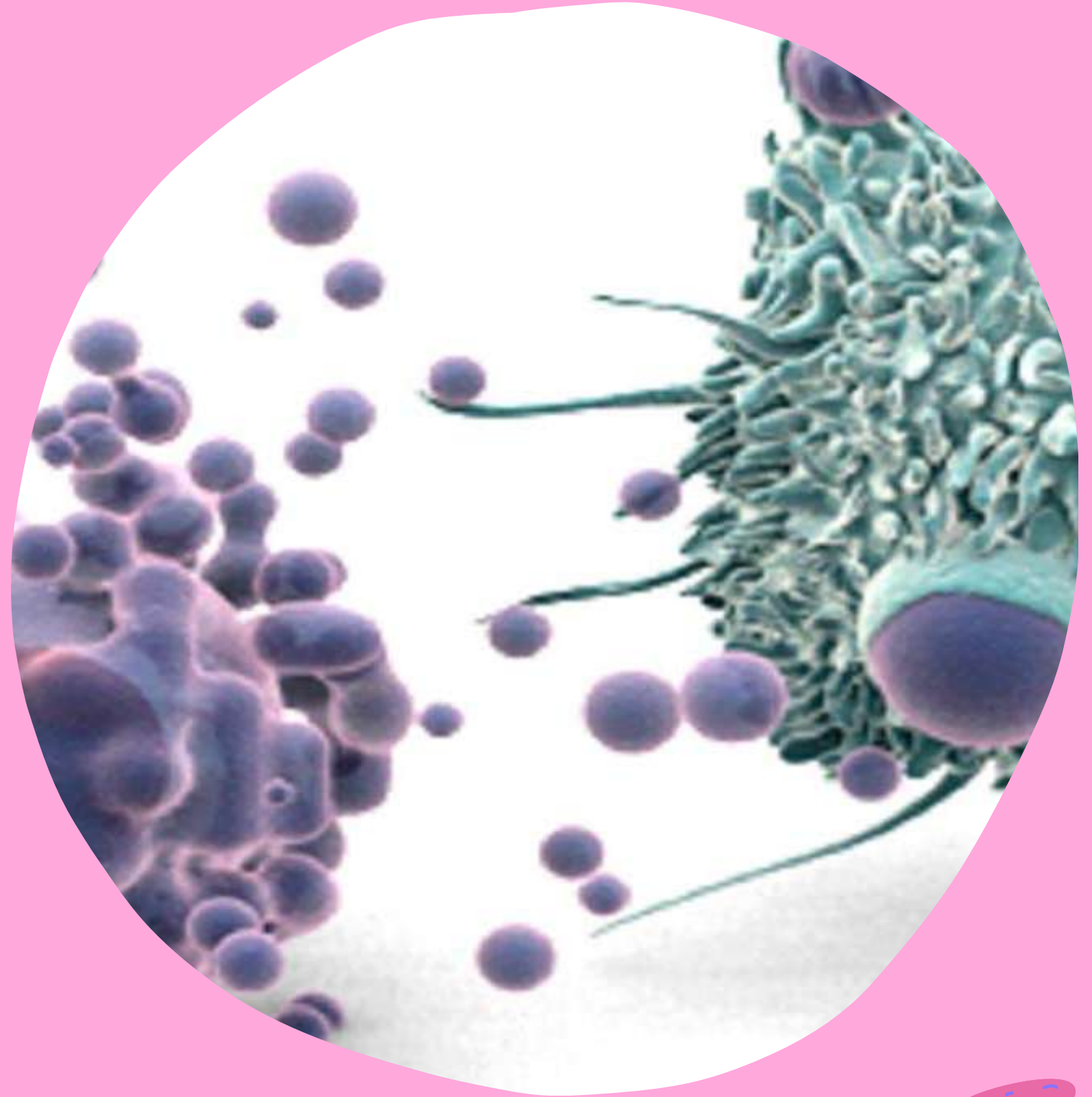


INTRODUCTION

DEUX TYPES

APOPTOSE = mort cellulaire
programmée (=suicide des cellules)

NÉCROSE = mort cellulaire
accidentelle (brûlures)





1) L'apoptose, mort cellulaire programmée

A. Caractéristiques de l'apoptose

B. L'apoptose physiologique

C. Caractéristiques d'une cellule apoptotique

A. Caractéristiques de l'apoptose

Déclenchée par signaux :

- Extracellulaire
- Intracellulaire

= Éliminer cellule car dangereuse OU pour maintenir homéostasie

ATP dépendante = cellule besoin d'énergie

Débris cellulaires éliminés par phagocytose (par un macrophage) = SANS réaction inflammatoire



B. L'apoptose physiologique

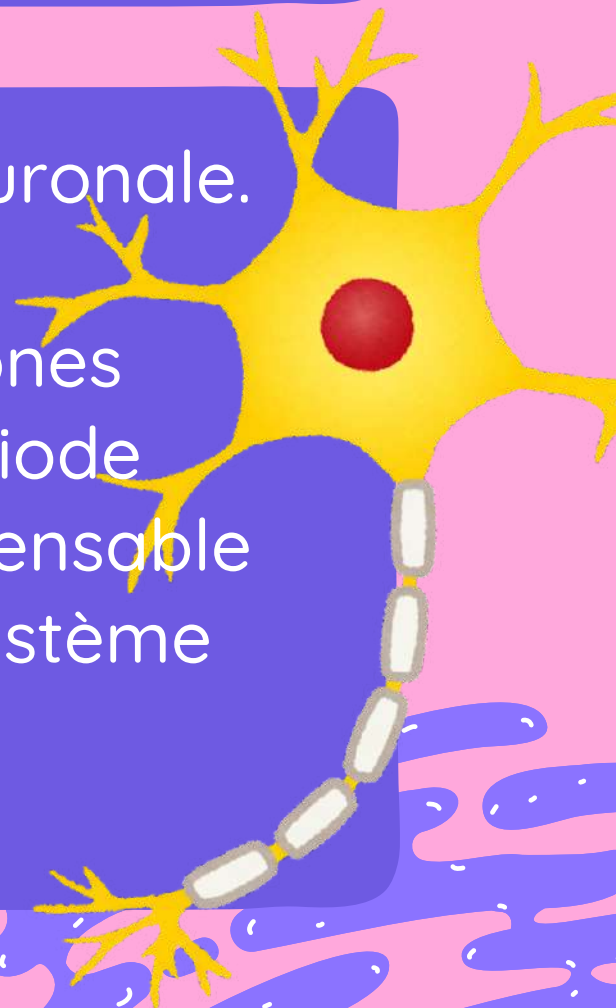
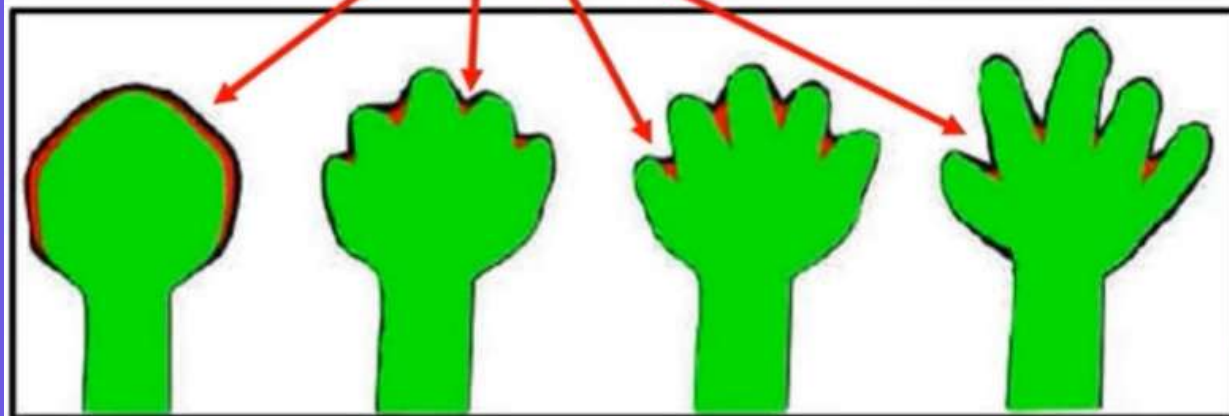
Apoptose indispensable dans :

LE DÉVELOPPEMENT
NORMAL DE L'EMBRYON

Par exemple, le modelage des doigts par l'apoptose des cellules entre les tissus. Ces processus peuvent être source de malformation s'il y a un dysfonctionnement

Un autre exemple est la sélection neuronale. Nos neurones subissent 2 vagues apoptotiques. Environ 50% des neurones moteurs sont détruits pendant la période périnatale. C'est une condition indispensable pour le développement normal du système nerveux

Cellules apoptotiques



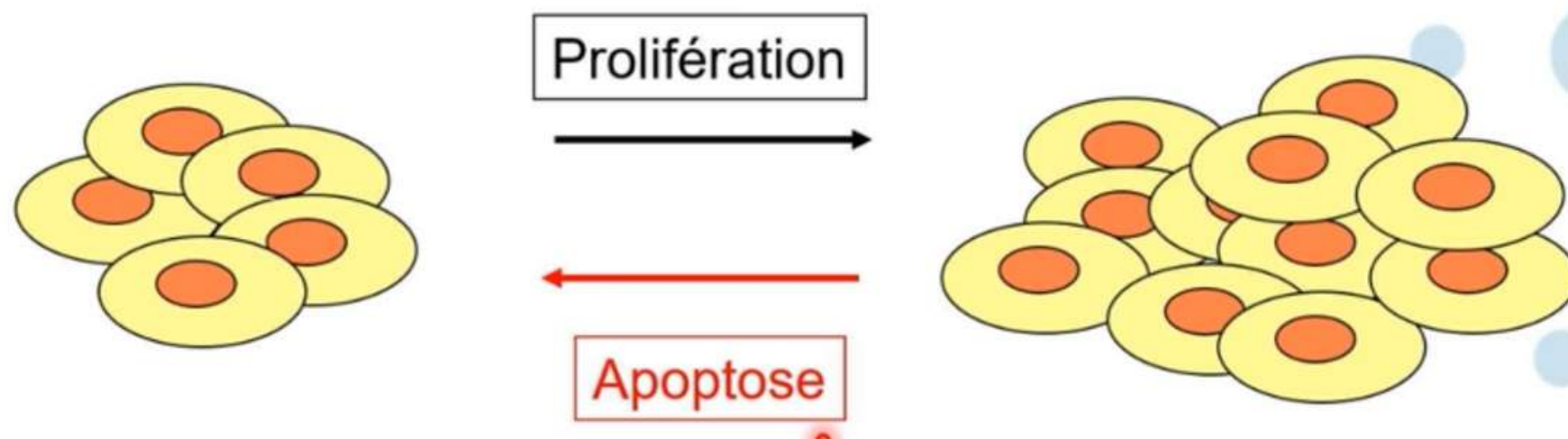
B. L'apoptose physiologique

Apoptose indispensable dans :

POUR L'HOMÉOSTASIE
CELLULAIRE

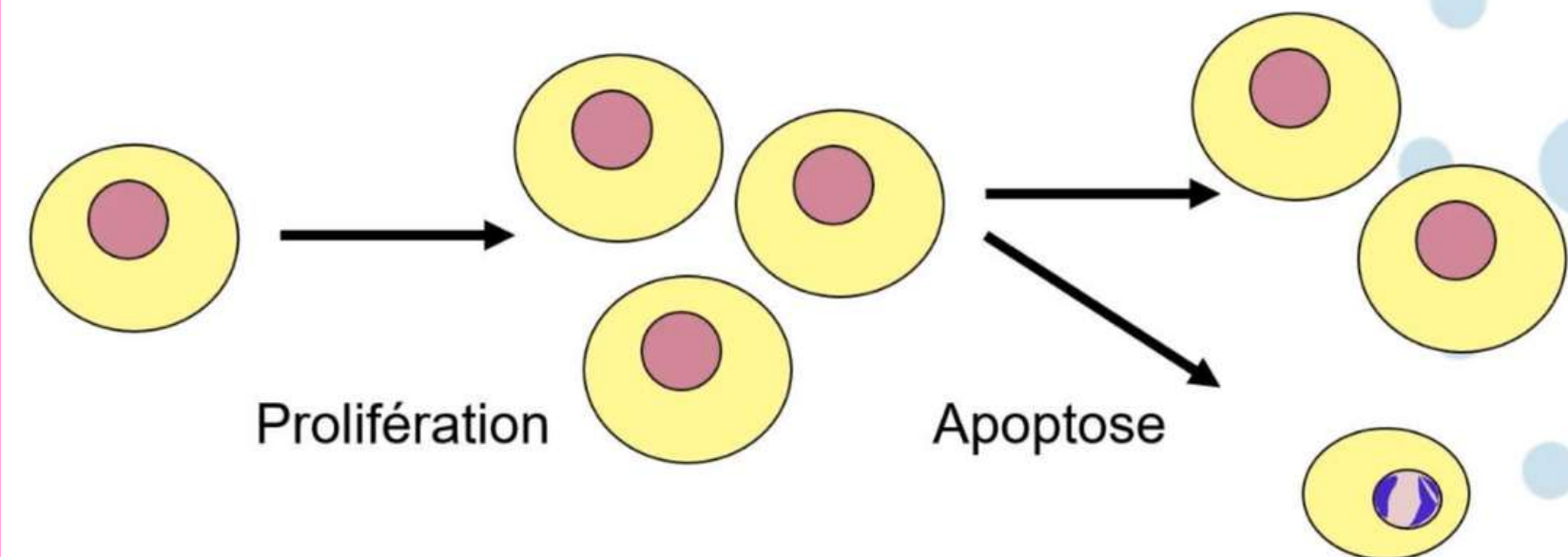
L'apoptose contribue à l'équilibre cellulaire.
EXEMPLE : Lorsqu'il y a une infection, il y aura une amplification du clone des lymphocytes nécessaires à la production de l'anticorps spécifique, ce qui va entraîner une augmentation du nombre de cellules. Lorsque l'infection est guérie, les lymphocytes vont entrer en apoptose, ce qui va rétablir le nombre initial de cellules

L'apoptose est indispensable à l'homéostasie tissulaire



L'apoptose est indispensable à l'homéostasie tissulaire

homéostasie des lymphocytes après stimulation immunitaire



B. L'apoptose physiologique

Apoptose indispensable dans :

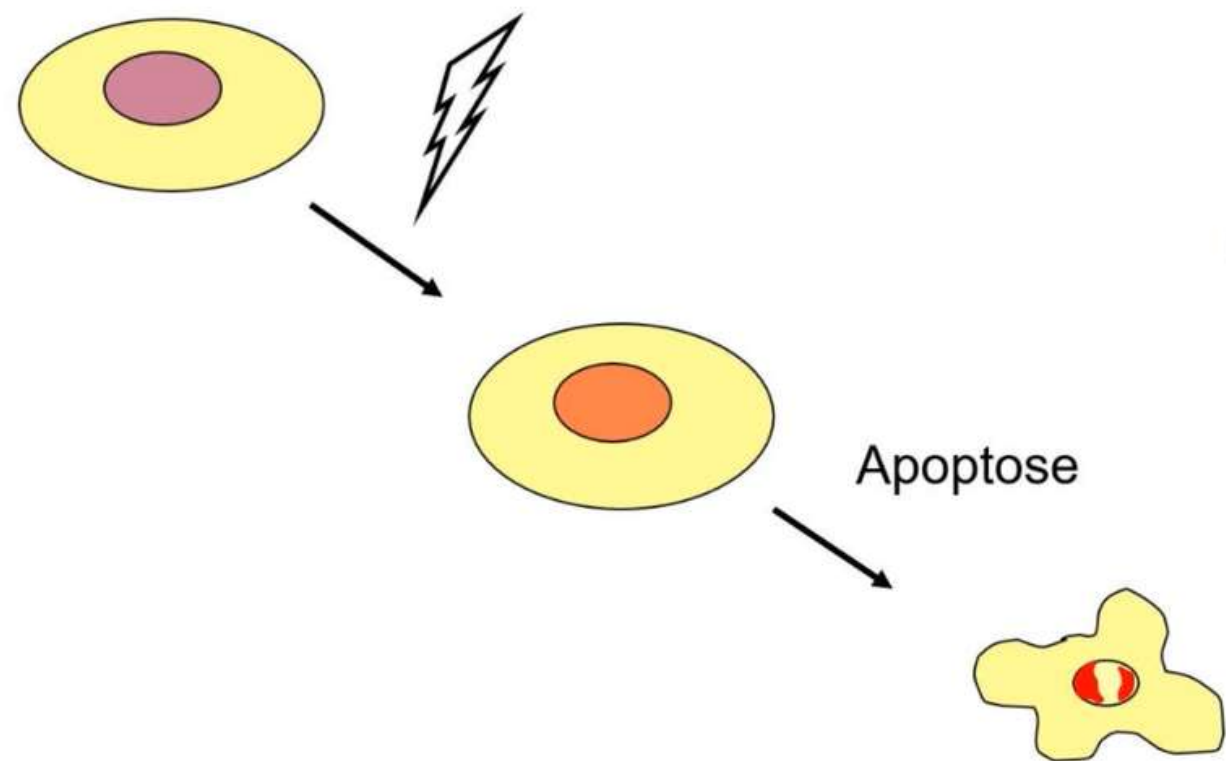
L'ÉLIMINATION DES
CELLULES MALADES

Les cellules qui ont un défaut de fonctionnement (cancer, altérations de l'ADN ou infectées par un virus) sont éliminées par apoptose.

-> L'organisme est capable de les reconnaître et de les éliminer.

Rôle de l'apoptose dans l'élimination des cellules malades

Cancer, infection virale, altération irréparable de l'ADN



La dérégulation de l'apoptose a des conséquences majeures en pathologie : son inhibition est corrélée à des malformations, des maladies auto-immunes et à la cancérisation.
À l'inverse, un excès d'apoptose peut être responsable de maladies neurodégénératives, d'infarctus du myocarde, d'infections virales et de pathologies hépatiques

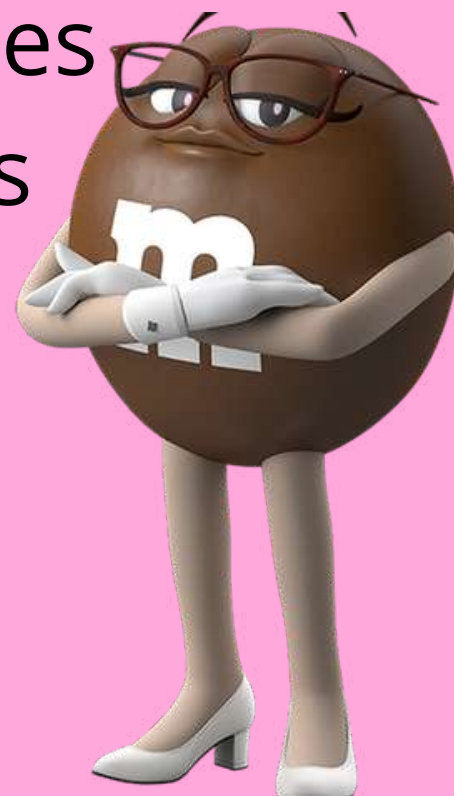
A VOUS DE JOUER



QCM&M'S

A propos de l'apoptose physiologique, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

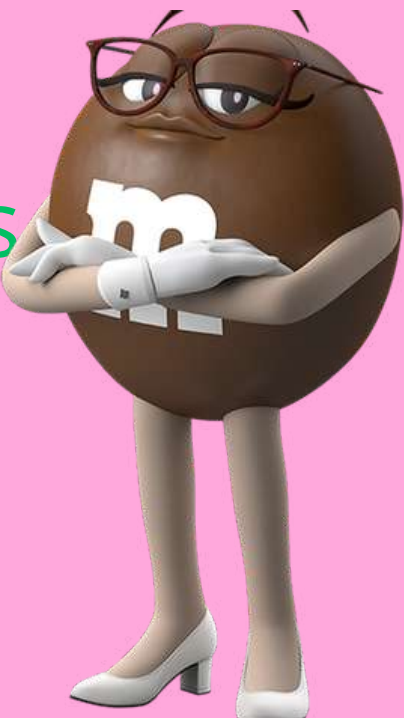
- A) La sélection neuronale correspond à 2 vagues apoptotiques visant à détruire 95% des neurones moteurs pendant la période périnatale
- B) La sélection neuronale est à l'origine de dysfonctionnements graves, c'est pourquoi il faut lutter contre ce phénomène
- C) La totalité des clones de lymphocytes s'accumulent dans l'organisme et sont conservés même après guérison
- D) L'excès d'apoptose peut engendrer des pathologies telles que des maladies neurodégénératives, des infarctus du myocarde, des infections virales et des pathologies hépatique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



QCM&M'S

A propos de l'apoptose physiologique, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

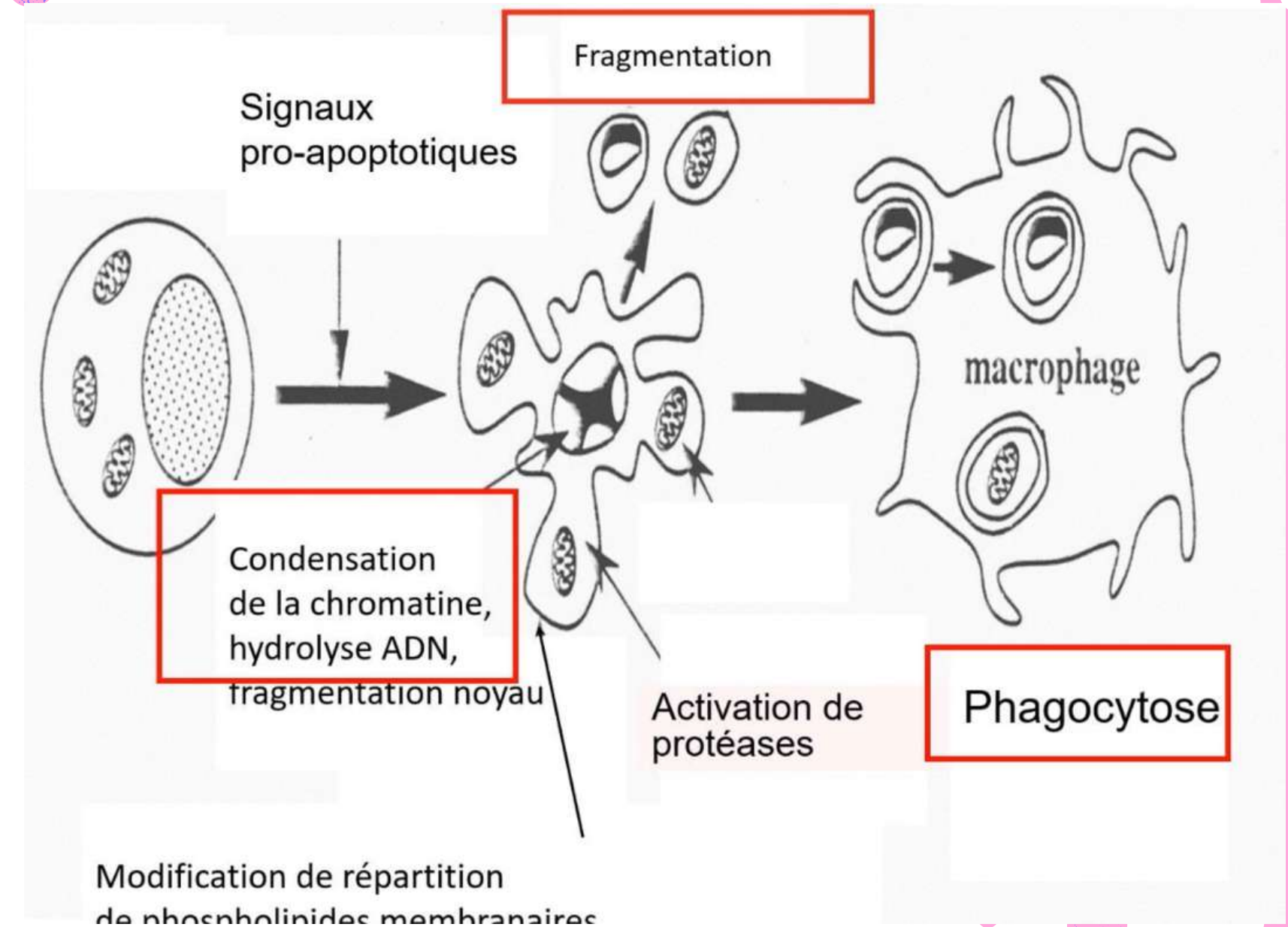
- A) La sélection neuronale correspond à 2 vagues apoptotiques visant à détruire 95% des neurones moteurs pendant la période périnatale (= 50% des neurones)
- B) La sélection neuronale est à l'origine de dysfonctionnements graves, c'est pourquoi il faut lutter contre ce phénomène (=Non, c'est physiologique = nécessaire à la survie de l'organisme)
- C) La totalité des clones de lymphocytes s'accumulent dans l'organisme et sont conservés même après guérison (= au contraire, après la guérison les clones sont dégradés par apoptose)
- D) L'excès d'apoptose peut engendrer des pathologies telles que des maladies neurodégénératives, des infarctus du myocarde, des infections virales et des pathologies hépatique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



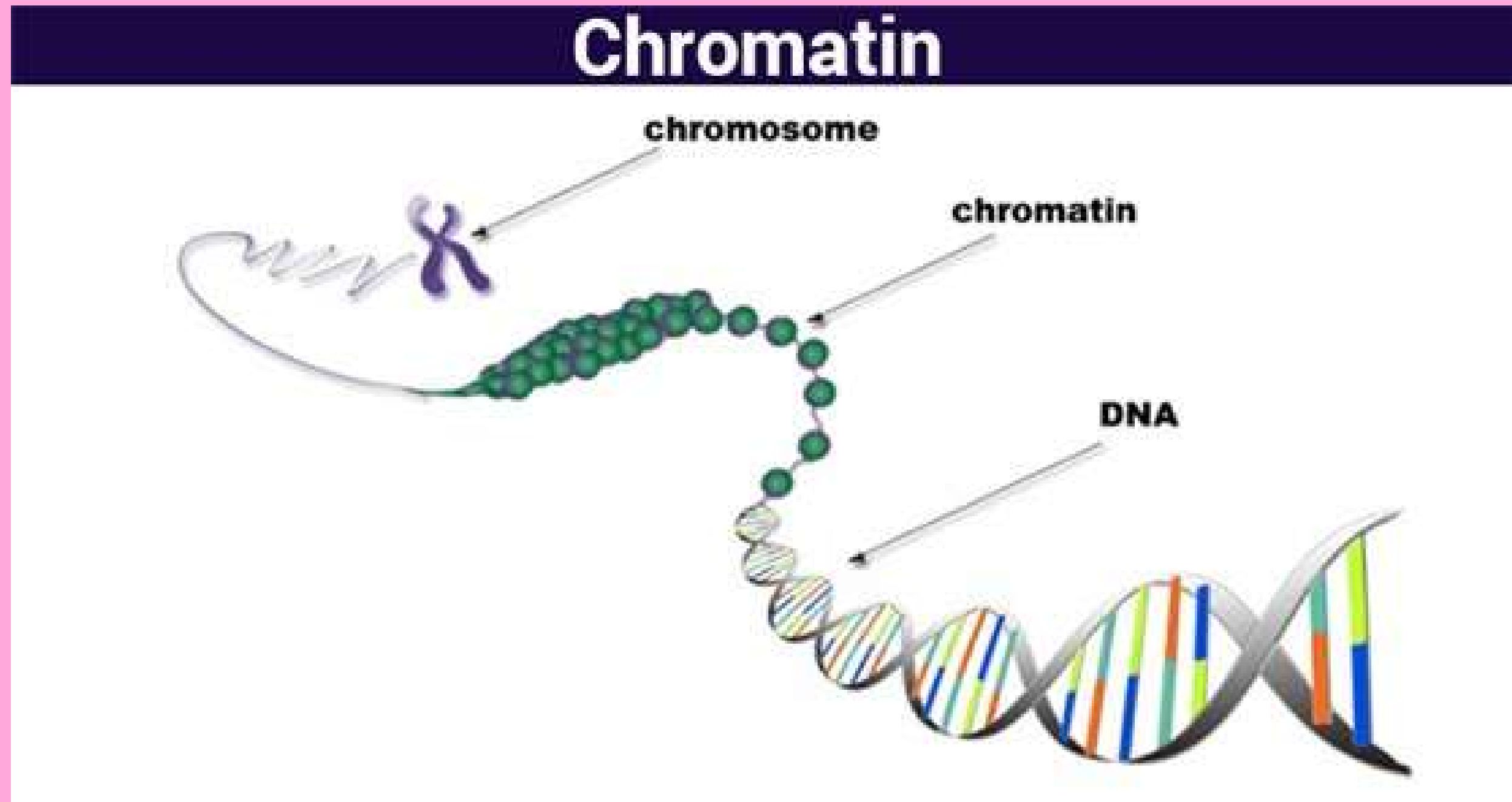
C. *Caractéristiques d'une cellule apoptotique*

L'apoptose consiste en une série de modifications morphologiques :

- ♡ Condensation générale de la cellule.
- ♡ Condensation anormale de la chromatine
- ♡ Fragmentation de l'ADN
- ♡ Fragmentation complète de la cellule qui forme des corps apoptotiques
- ♡ Phagocytose sans réaction inflammatoire



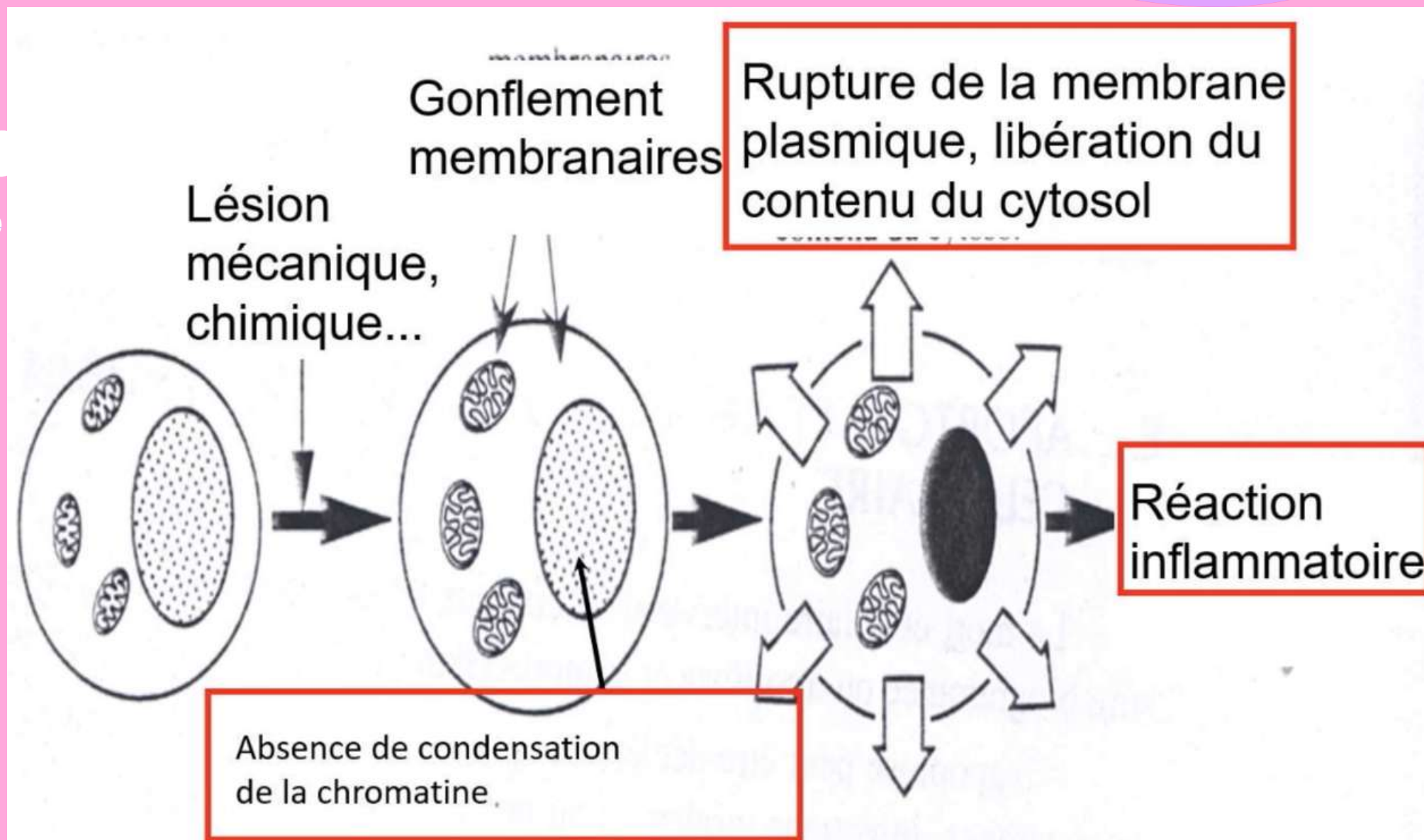
Chromatine :
Niveau de compaction de l'ADN
= ADN + protéines (cc la bio mol)



II) Nécrose et mort cellulaire accidentelle

Caractéristiques de la nécrose

- Mort cellulaire causée essentiellement par des **atteintes physiques ou chimiques** (ischémies, brûlure, traumatisme). Elle est le résultat des **agressions sévères** subies par la cellule
- **ATP-INdépendant** contrairement à l'apoptose.
- **Explosion** de la cellule avec rupture membranaire et **réaction inflammatoire**



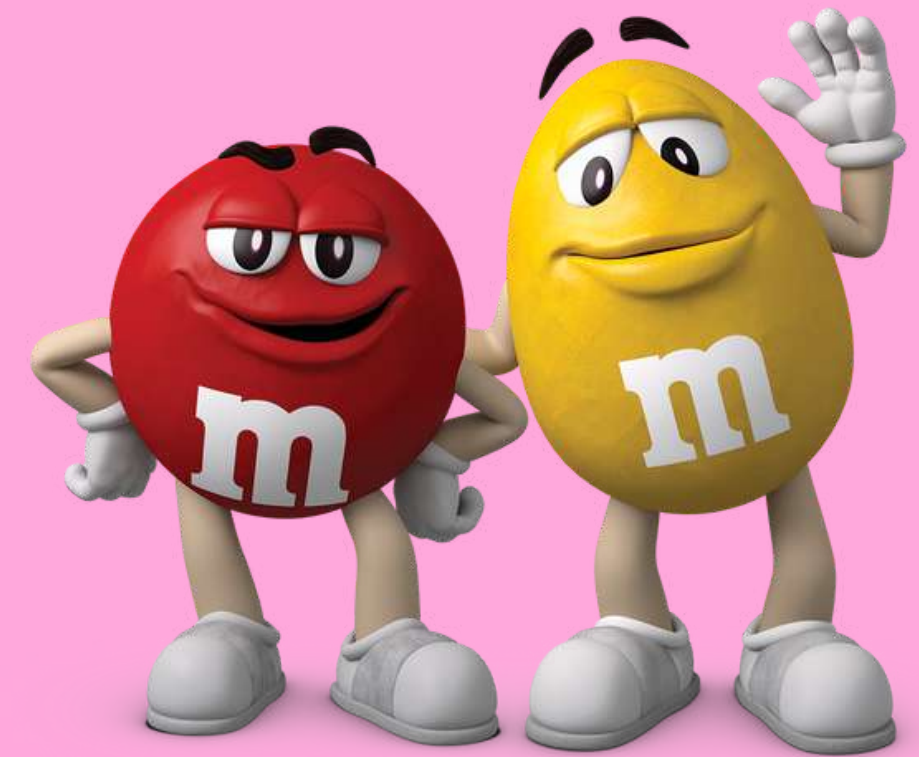
A VOUS DE JOUER



QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) La nécrose est ATP-dépendante contrairement à l'apoptose qui n'a pas besoin d'énergie pour se réaliser
- B) L'apoptose est un phénomène néfaste pour l'organisme et doit être combattu
- C) La cellule apoptotique est caractérisée par une condensation générale de la cellule, d'une condensation anormale de la chromatine, d'une fragmentation de l'ADN, d'une formation de corps apoptotiques et par une phagocytose sans réaction inflammatoire
- D) Lors de la nécrose, la membrane reste intacte
- E) Les propositions A, B, C et D sont inexactes



QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) La nécrose est ATP-dépendante contrairement à l'apoptose qui n'a pas besoin d'énergie pour se réaliser (= inverse)
- B) L'apoptose est un phénomène néfaste pour l'organisme et doit être combattu (= non, c'est INDISPENSABLE À LA VIE)
- C) La cellule apoptotique est caractérisée par une condensation générale de la cellule, d'une condensation anormale de la chromatine, d'une fragmentation de l'ADN, d'une formation de corps apoptotiques et par une phagocytose sans réaction inflammatoire
- D) Lors de la nécrose, la membrane reste intacte (=elle explose)
- E) Les propositions A, B, C et D sont inexactes



III) Distinction entre les cellules apoptotiques et nécrotiques

Sur les photos 1 et 3 on voit : une explosion avec des trous dans la membrane = CELLULE NÉCROTIQUE

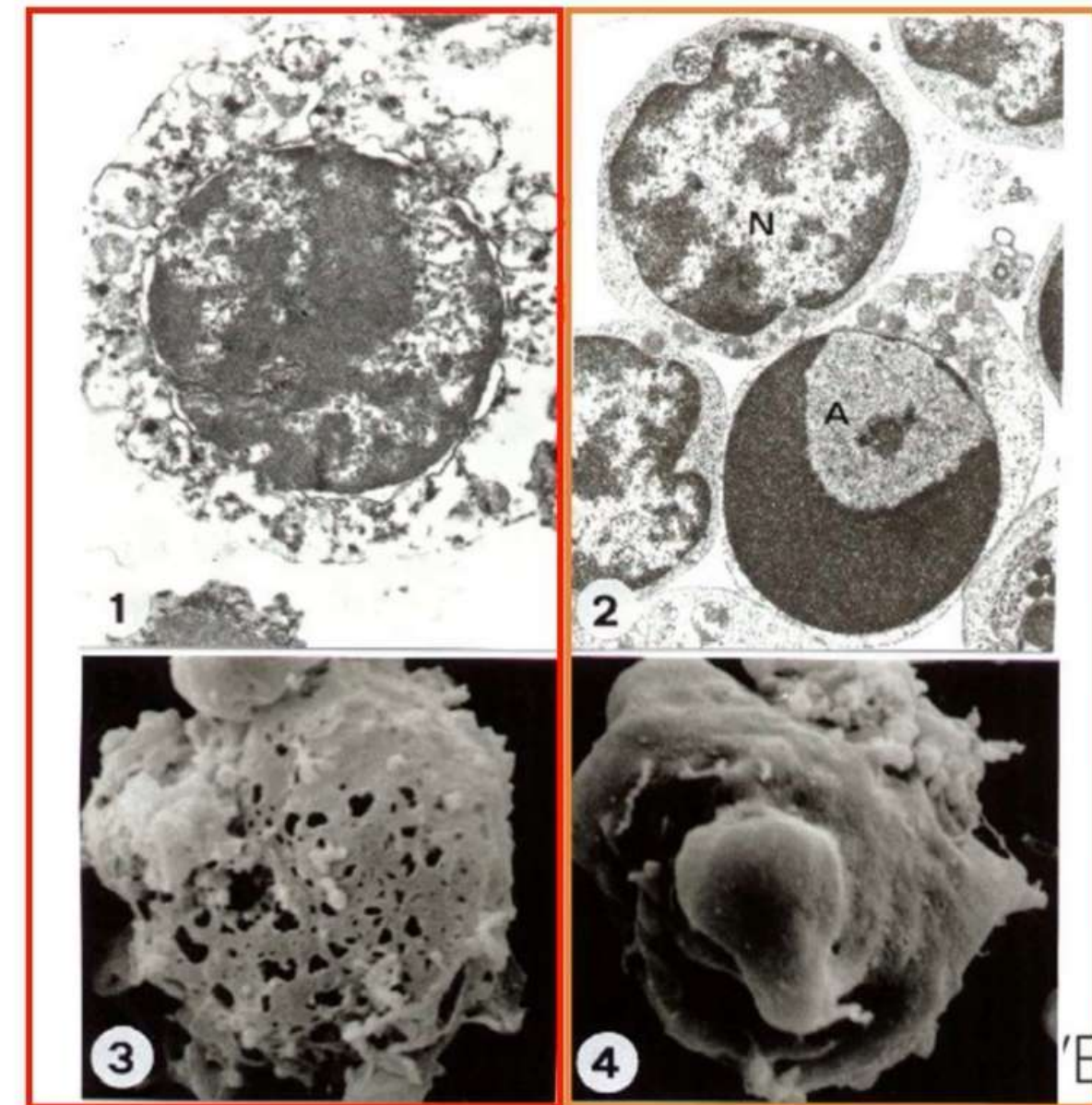
Sur les photos 2 et 4 on voit : la condensation de la chromatine (2) et la formation des corps apoptotiques = CELLULE APOPTOTIQUE

-> 1 ET 3 = NÉCROSE

-> 2 ET 4 = APOPTOSE

Comparaison entre cellules subissant la nécrose et l'apoptose en microscopie électronique

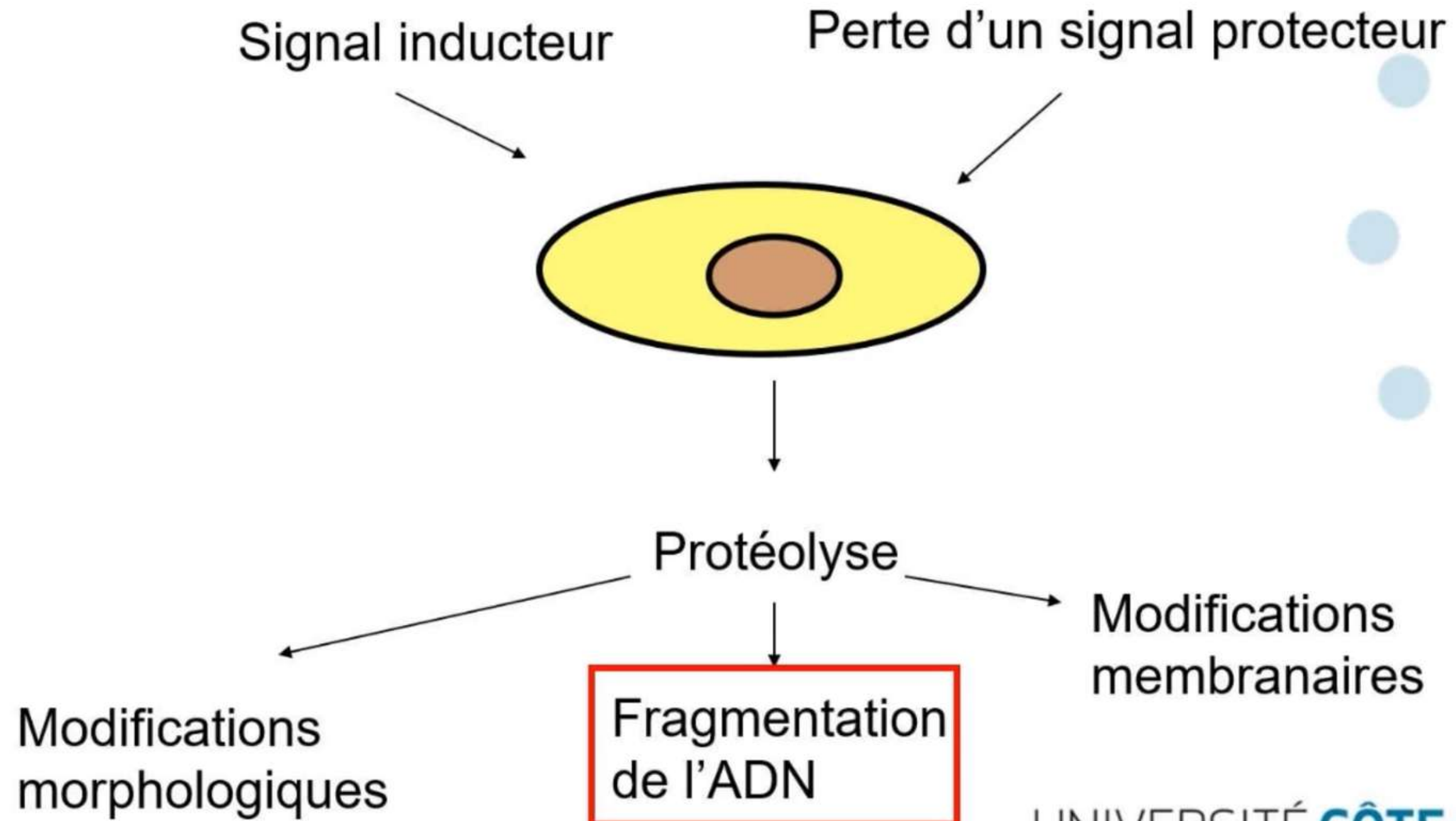
Nécrose



Apoptose

UNIVERSITÉ CÔTE D'IVOIRE

Reconnaître une cellule apoptotique



Electrophorèse

Nous allons ici se baser sur le fait qu'en apoptose, il va y avoir une fragmentation de l'ADN et de la chromatine en général.

On induit donc l'apoptose et on observe au cours du temps la fragmentation de l'ADN en mesurant le poids moléculaire.

Puits 1 : témoin, avec induction de la caspase 3 MAIS on la détruit par un ARN interférent

Puits 2 à 6 : même résultats que puits 1 car même si caspase 3, on induit pas l'apoptose

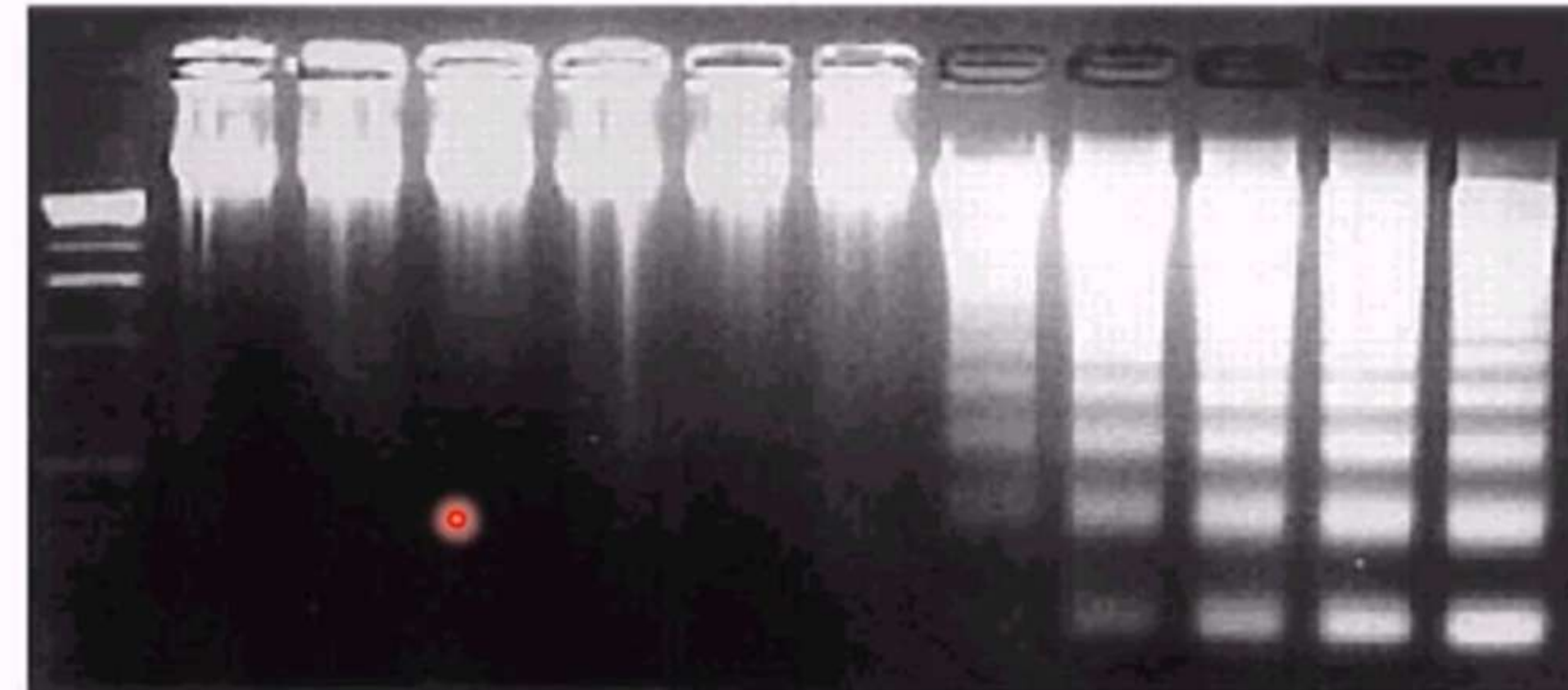
Puits 7 à 11 : induction de caspase 3 -> fragmentation ADN -> apoptose
Petits fragments = nucléosomes

Electrophorèse d'ADN de cellules en apoptose

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

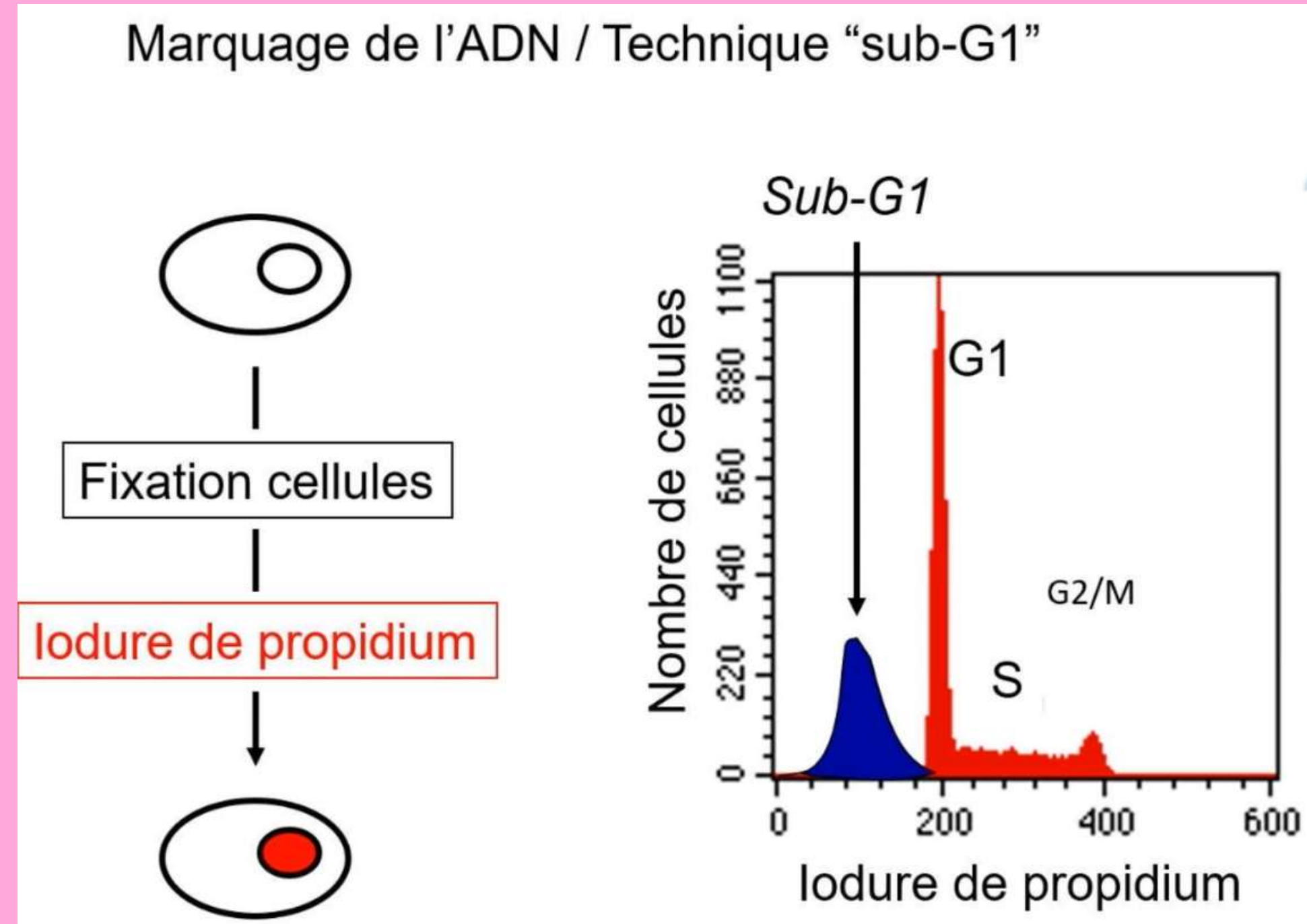
kb

1.5 —
1.0 —
0.5 —



Technique du pic Sub-G1

Une autre façon de repérer l'apoptose, c'est par des techniques de cytométrie. Après fixation des cellules par marquage à l'iodure de propidium (IP), cela permet de visualiser l'ADN. S'il y a une apparition de cellules apoptotiques qui ont perdu de l'ADN du fait de la fragmentation, il y a un nouveau pic qui apparaît et qui s'appelle le pic sub-G1 et qui signe la présence de cellules en apoptose.



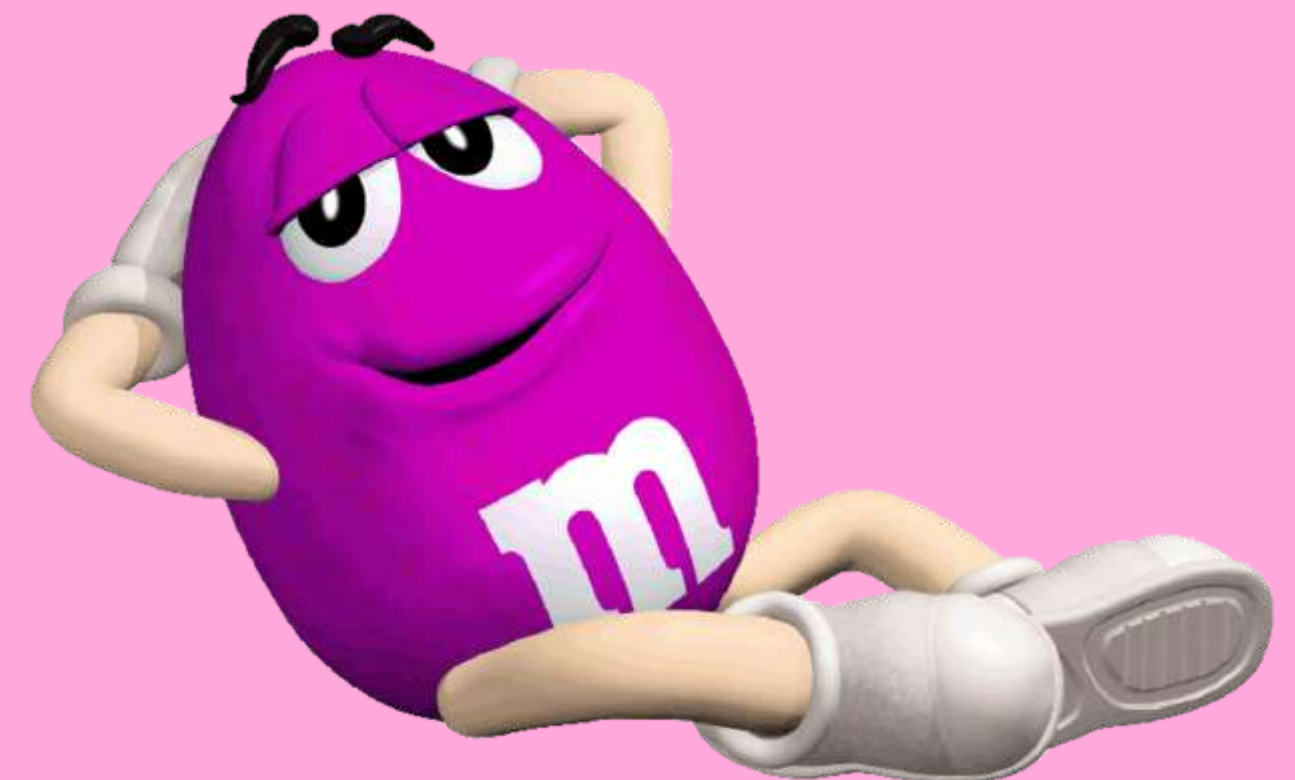
A VOUS DE JOUER



QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

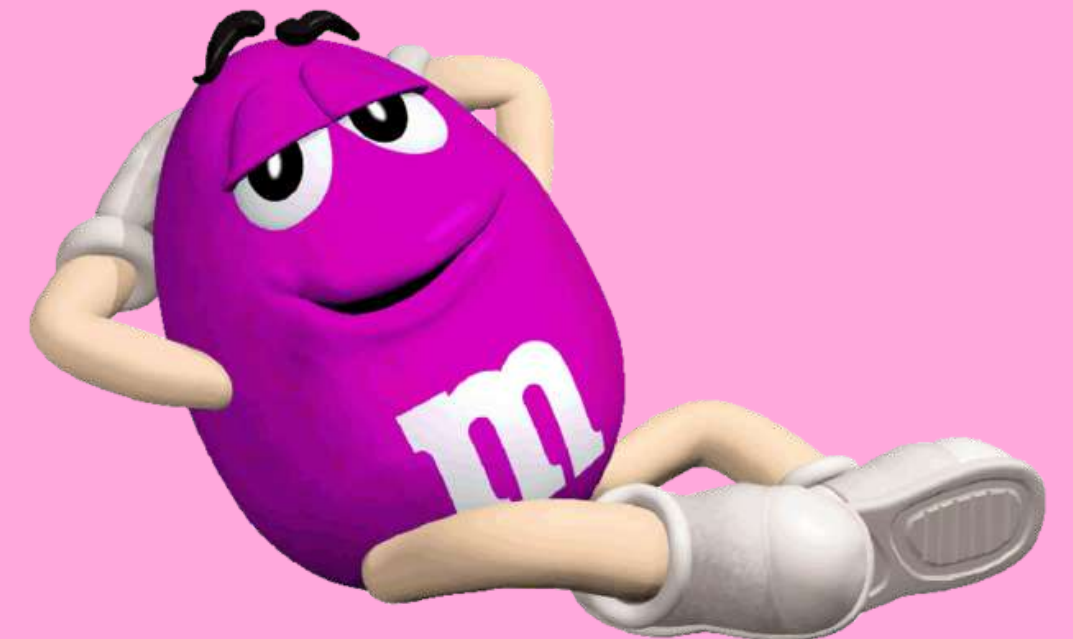
- A) Pour reconnaître une cellule en apoptose, les chercheurs peuvent utiliser la fragmentation de la chromatine comme indicateur
- B) Le pic sub-G1 peut s'observer après le pic G1
- C) L'iodure de propidium permet de visualiser le cytoplasme
- D) Grâce à l'induction d'une caspase, on peut observer, par électrophorèse, la fragmentation de l'ADN
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



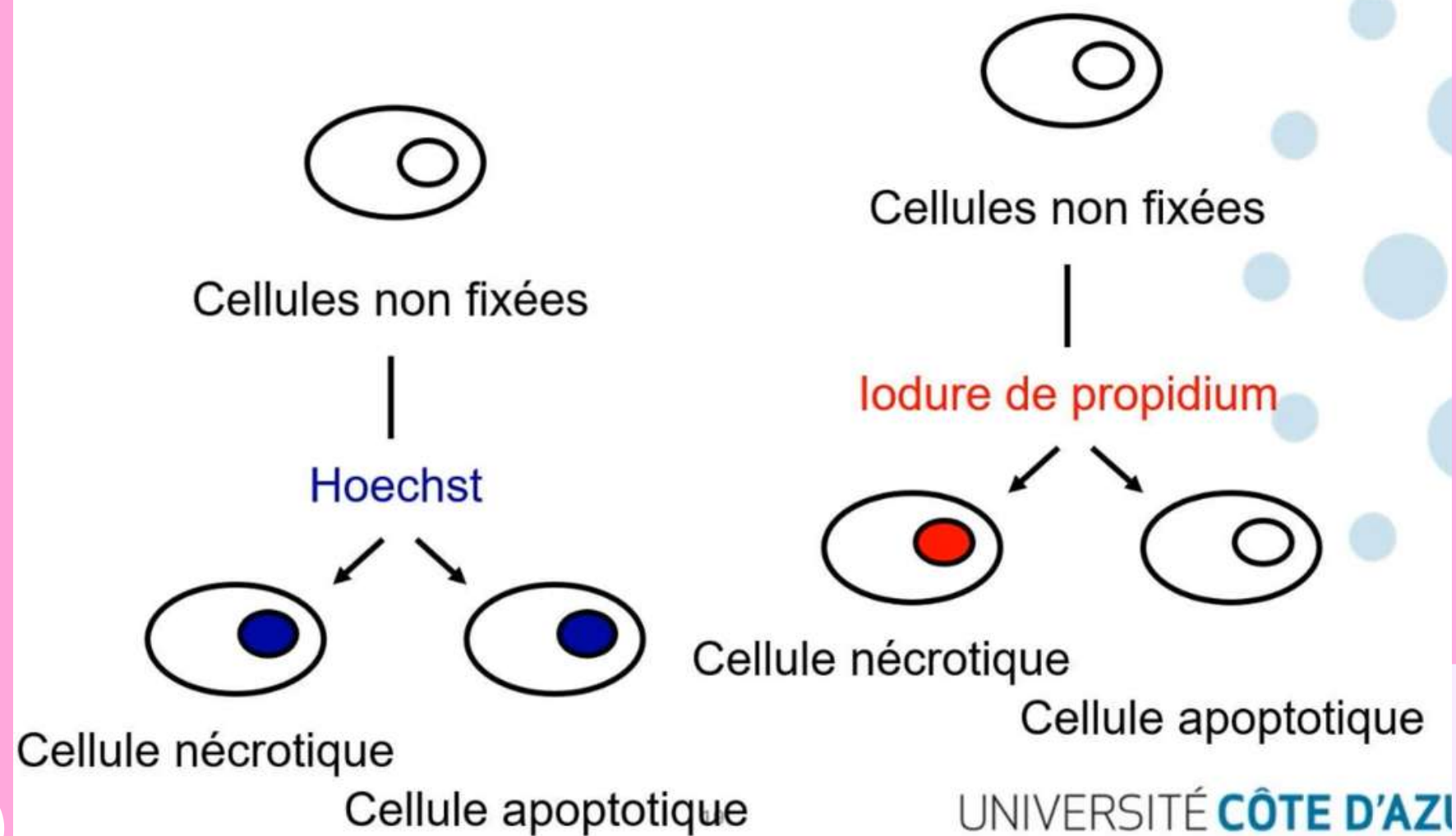
QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) Pour reconnaître une cellule en apoptose, les chercheurs peuvent utiliser la fragmentation de la chromatine comme indicateur
- B) Le pic sub-G1 peut s'observer après le pic G1 (=sub = avant)
- C) L'iodure de propidium permet de visualiser le cytoplasme (=non, c'est un marqueur d'ADN)
- D) Grâce à l'induction d'une caspase, on peut observer, par électrophorèse, la fragmentation de l'ADN
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



Marquage de l'ADN sur cellules apoptotiques et nécrotiques



Technique par double marquage

HOECHST

Traverse la membrane SANS perméabilisation de la cellule.

Colore tous types de cellules : nécrotiques, apoptotique, normales.

IODURE DE PROPIDIUM

Pour que l'IP entre dans une cellule il faut que cette dernière soit PERMÉABILISÉE = avoir des trous dans sa membrane

Les cellules apoptotiques GARDENT l'intégrité de leurs membranes = la membrane n'est pas trouée

En revanche, on a dit que les cellules nécrotiques EXPLOSENT = membrane est trouée (L'IP peut entrer)
Donc, l'IP colore les cellules NÉCROTIQUES seulement

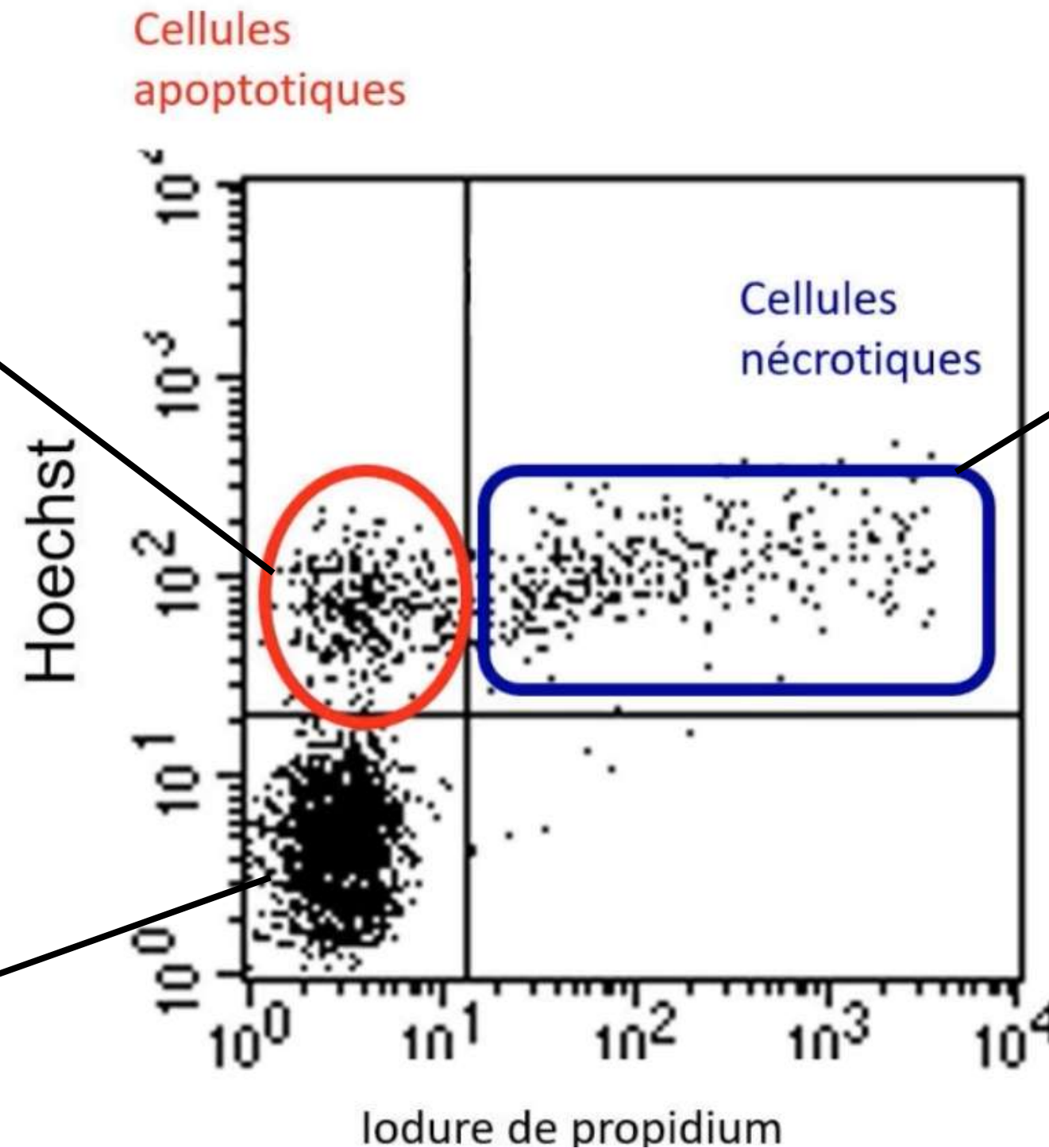
Résultats

Marquage de l'ADN sur cellules apoptotiques et nécrotiques

Cellules apoptotiques qui fixent le Hoechst mais pas le PI car elles n'ont pas de trous dans sa membrane

Cellules nécrotiques qui fixent le Hoechst ET l'iodure de propidium car elles ont des trous dans leurs membranes

Cellules non colorées = marge d'erreurs = le test n'est pas exact à 100%



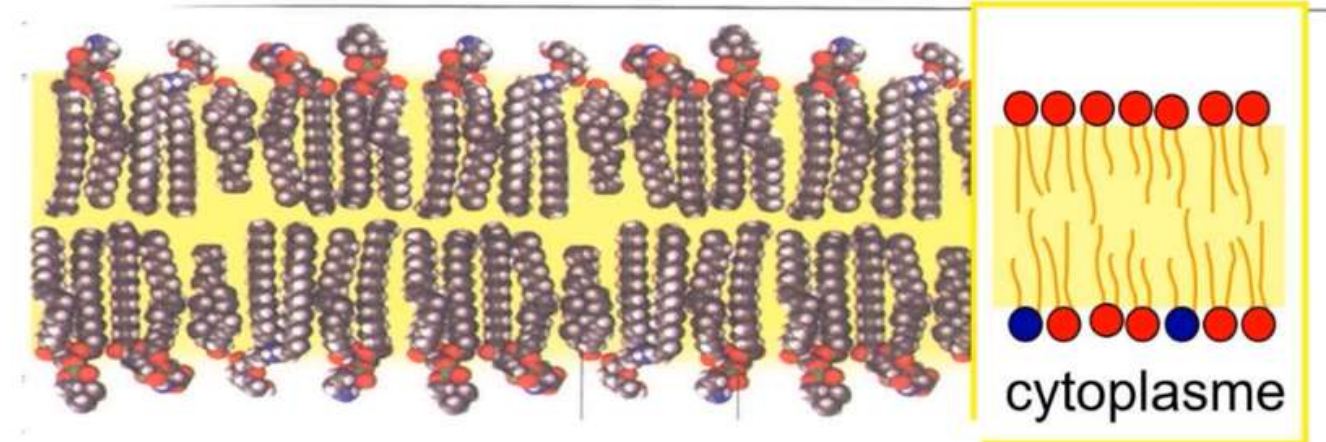
B. Reconnaître une cellule apoptotique via les modifications membranaires

Dans la cellule apoptotique, il y a aussi des modifications membranaires importantes : il existe une modification de la symétrie membranaire qui conduit à l'extériorisation des phosphatidylsérines

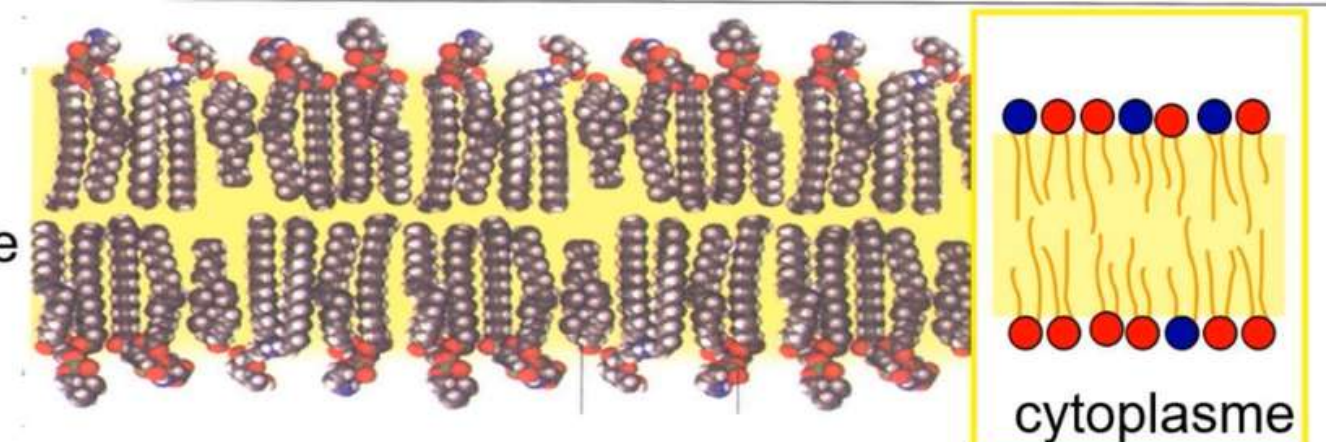
Grâce à ce phénomène les cellules apoptotiques sont reconnues par les macrophages pour être phagocytées. En effet, un processus actif de **flip flop** expose les phosphatidylsérines sur le feuillet EXTERNE de la membrane, contrairement aux cellules normales dans lesquelles les phosphatidylsérines sont sur le feuillet interne.

Modifications membranaires des cellules apoptotiques: externalisation des phosphatidylsérines

Cellule normale



Cellule apoptotique



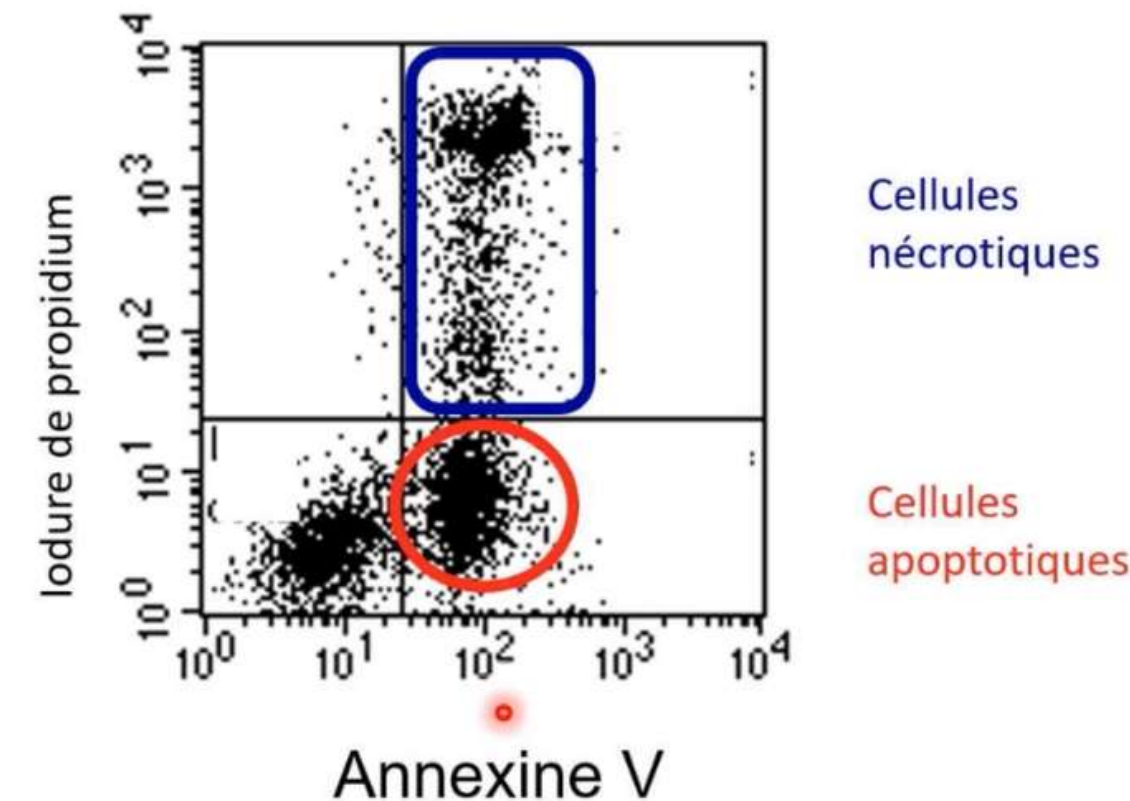
Double marquage Iodure de propidium + Annexine V

La cellule apoptotique extérise ses phosphatidylsérines comme on vient de le voir MAIS quand la cellule nécrotique explose, ses phosphatidylsérines sont extérisés AUSSI

Il existe une protéine spécifique qui reconnaît les phosphatidylsérines, l'annexine V. On l'associe au FITC, un fluochrome.

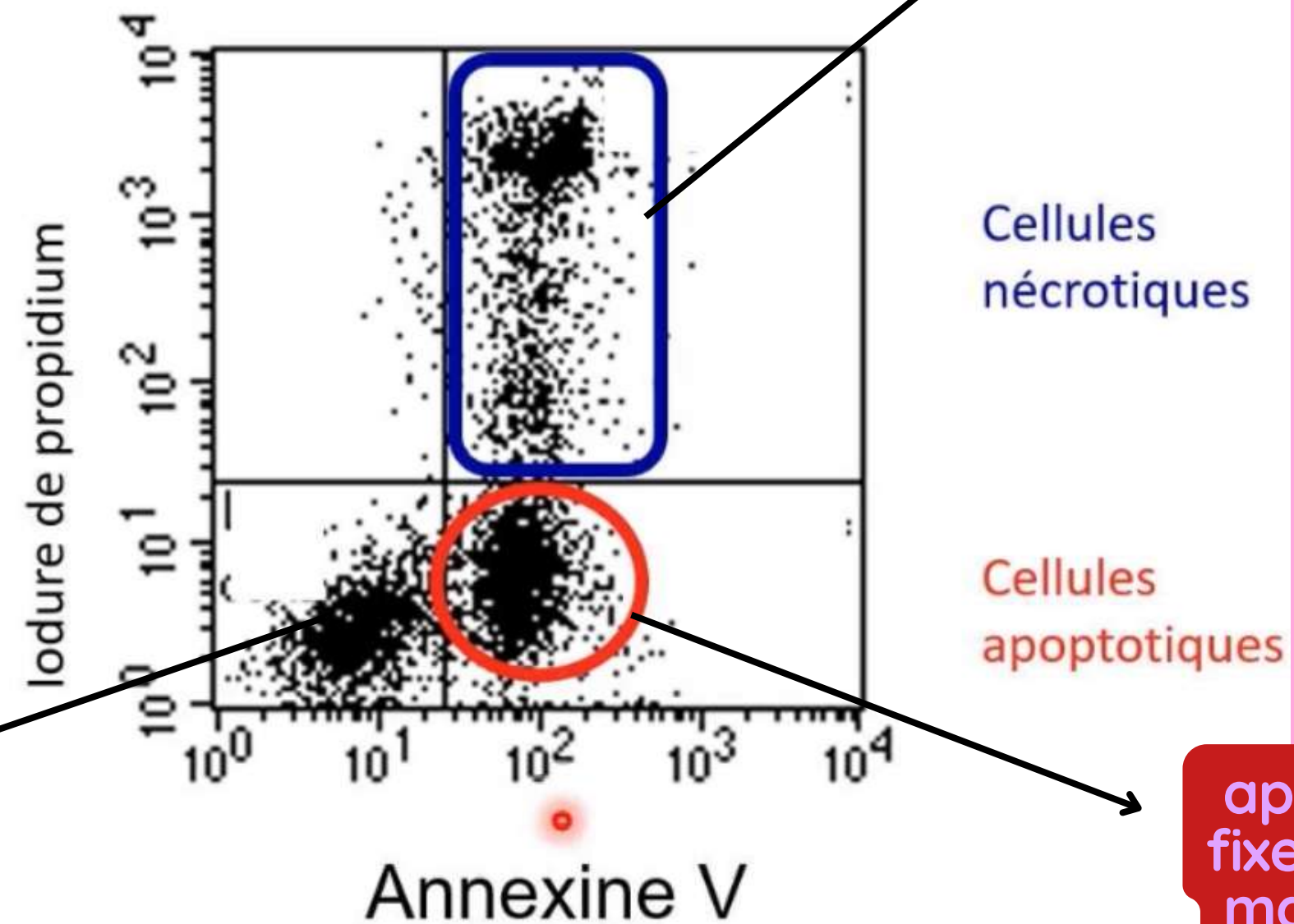
L'annexine V va donc marquer les cellules apoptotiques ET nécrotiques, mais PAS les cellules normales.

Double marquage ADN- Annexine V



Résultats

Double marquage ADN- Annexine V



Cellules
nécrotiques qui
fixent l'annexine V
ET l'iodure de
propidium (tout
en haut)

Cellules
nécrotiques

Cellules
apoptotiques

Cellules non
colorées = marge
d'erreurs = le test
n'est pas exact à
100%

Cellules
apoptotiques qui
fixent l'annexine V
mais pas l'iodure
de propidium



RÉCAP'

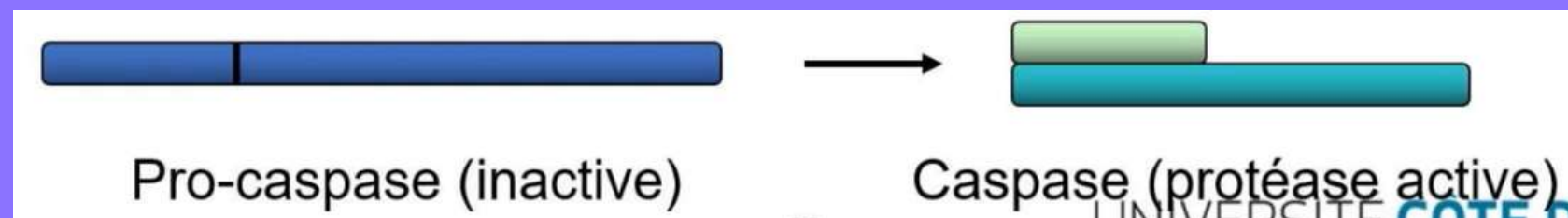
	HOECHST	IODURE DE PROPIDIUM	ANNEXINE V
CELLULES NORMALES	+	-	-
CELLULES APOPTOTIQUES	+	-	+
CELLULES NÉCROTIQUES	+	+	+



C. Reconnaître une cellule apoptotique 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



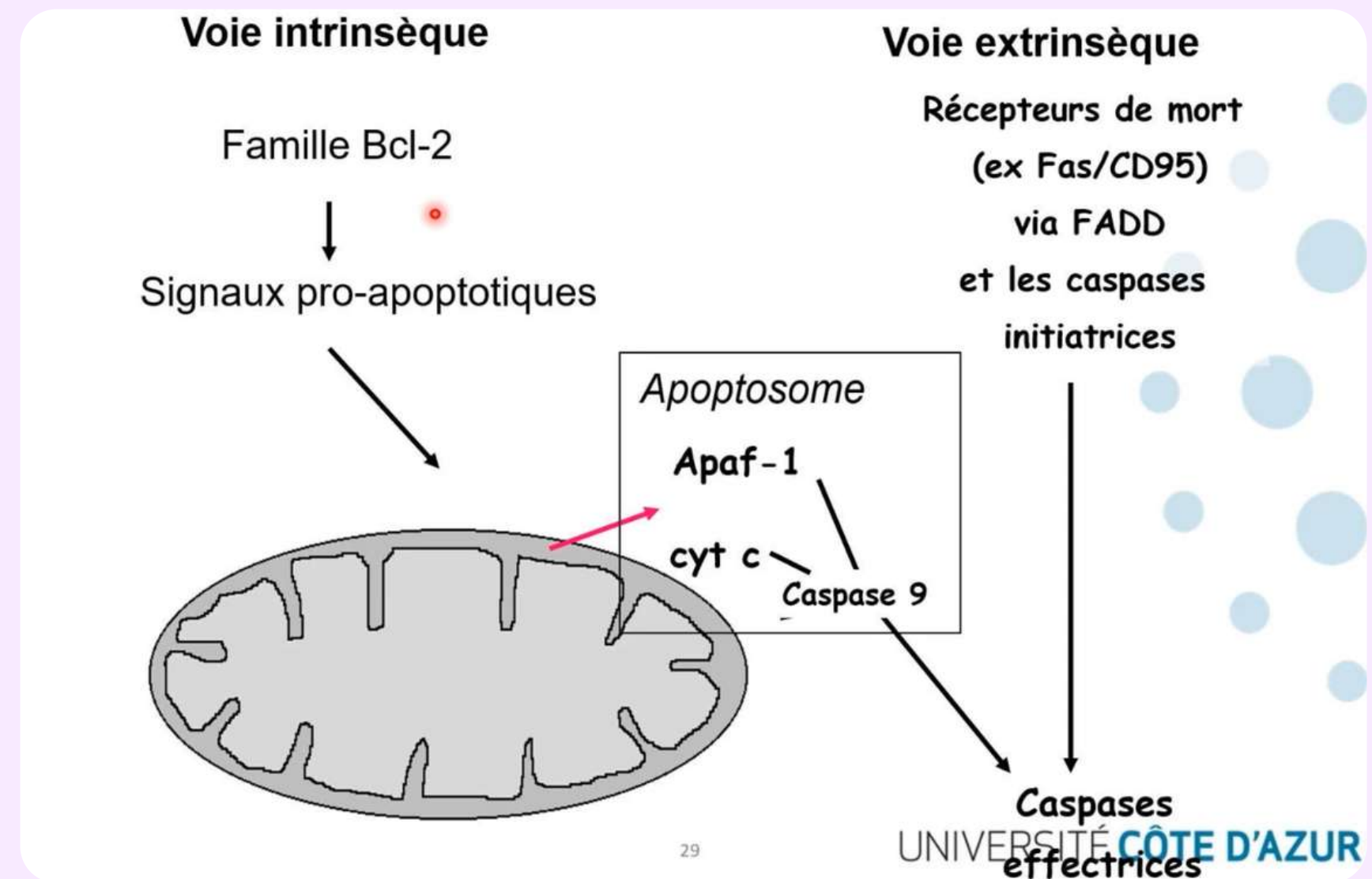
CASPASES INITIATRICES	CASPASES EFFECTRICES
<u>Caspases 8 et 10</u>	<u>Caspases 3, 6 et 7</u>
Elles sont activées par les récepteurs de mort et par auto-activation . Ce sont des protéases initiatrices qui vont cliver les pro-caspases effectrices pour les rendre actives.	Ce sont des protéases qui vont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

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.

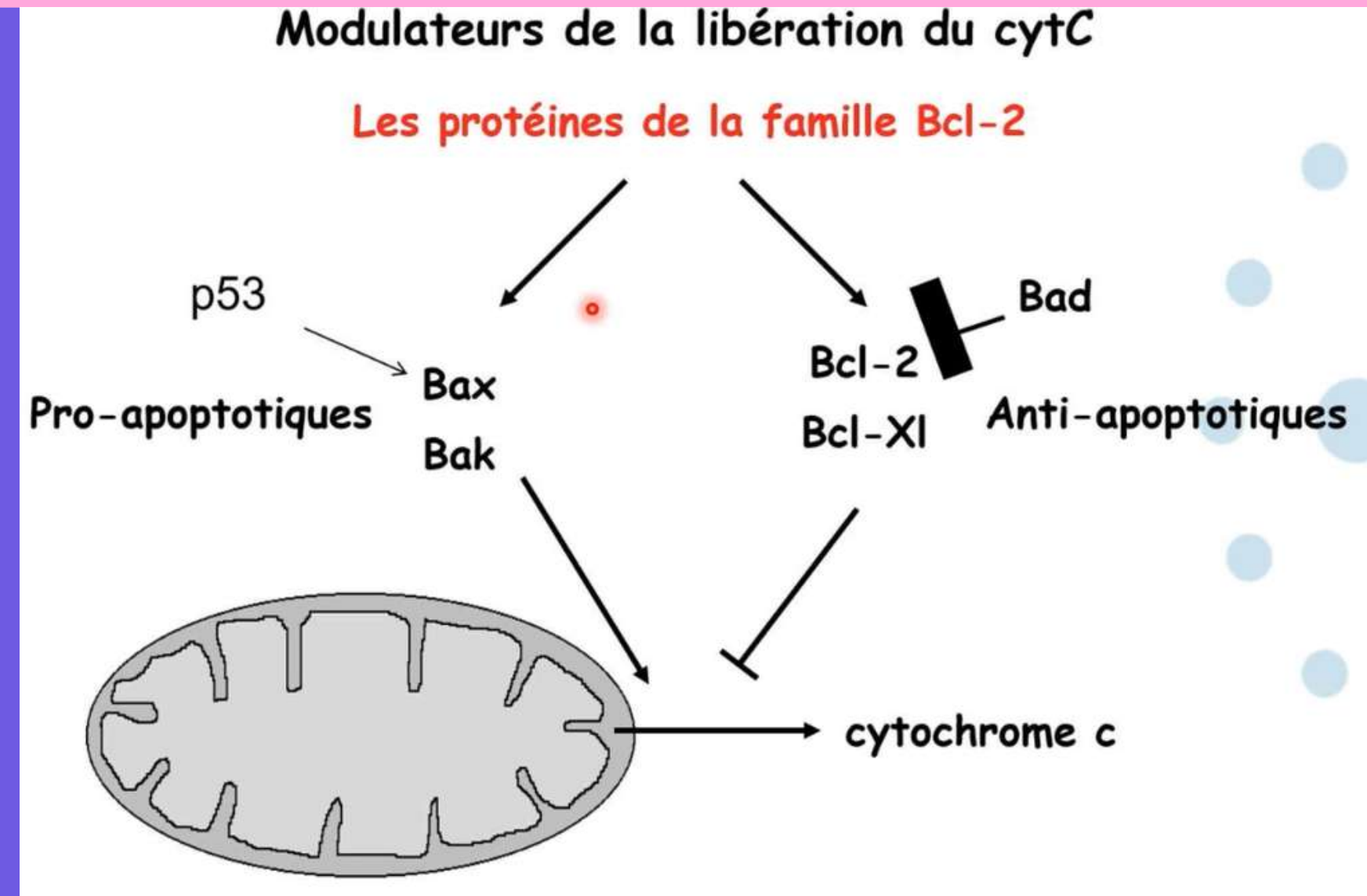
L'apoptose peut être déclenché par deux types de voie :

- Voie intrinsèque
- Voie extrinsèque



La voie intrinsèque, mitochondrie dépendante :

Ce mécanisme passe par l'activation des protéines de la famille BCL-2 pour « B-cell leukemia ». Certaines protéines de cette famille ont une action PRO-apoptotique, d'autres une action ANTI-apoptotique



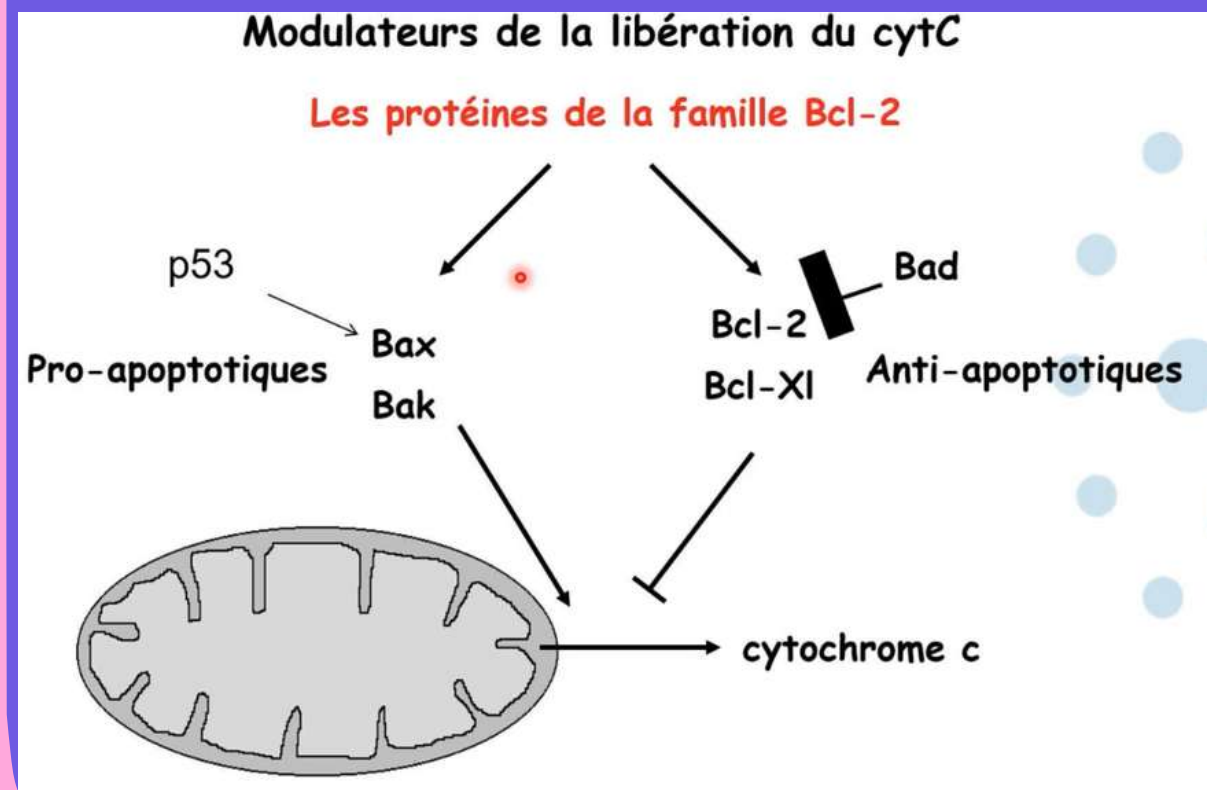
Ces protéines ont pour cible les mitochondries en rendant leur membrane plus perméable, afin que celle-ci libèrent leurs cytochromes C dans le cytosol afin de former l'apoptosome (=complexe pro-apoptotique composé de cytochrome C et d'APAF1)

APOPTOSOME = APAF1 + cyt c

L'apoptosome activera ensuite une caspase initiateur qui activera une caspase effectrice.

Cela provoquera la fragmentation de la chromatine, la lamine, le cytosquelette...

La voie intrinsèque, mitochondrie dépendante :



LA FAMILLE BCL-2

PRO-apoptotique

ANTI-apoptotique

BAX (cible p53)

BCL-2

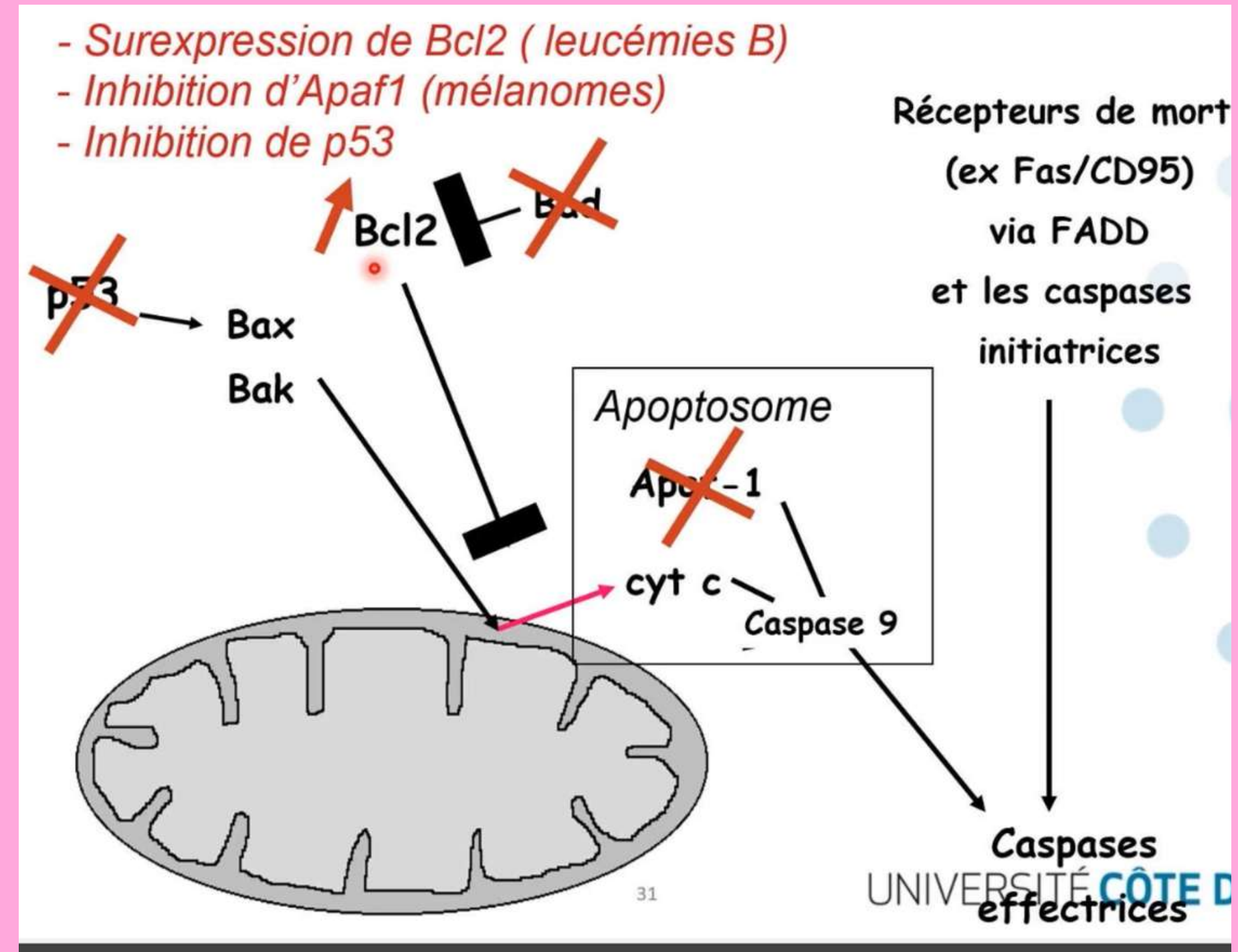
BAK

BCL-X

BAD

La voie extrasèque, mitochondrie INdépendante :

Elle répond à des signaux extérieurs à la cellule par des récepteurs de mort appartenant à la super famille des récepteurs au TNF (Fas/CD95) via des protéines intra-cytosol issues (FADD) Ces protéines vont cliver les caspases initiatrices, puis caspases effectrices. Cela provoquera la fragmentation de la chromatine, la lamine, l'actine du cytosquelette...



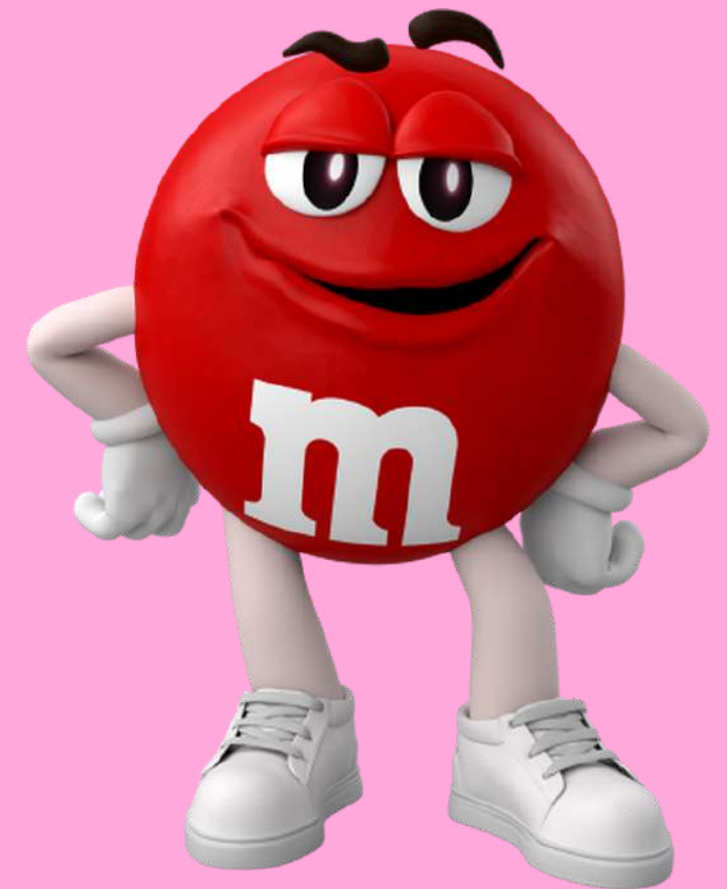
A VOUS DE JOUER



QCM&M's

A propos de l'apoptose, indiquez la (les) propositions exacte(s):

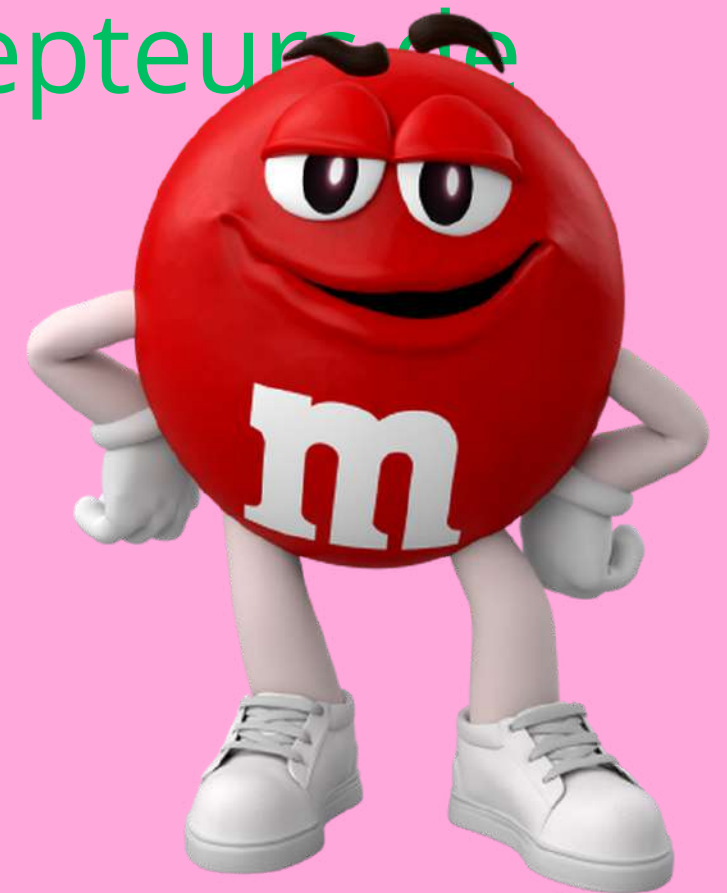
- A) Les caspases 8 et 10 sont des caspases effectrices, elles vont donc effectuer des clivages protéiques spécifiques
- B) BAX, BCL-2 et BAD sont des exemples de protéines pro-apoptotiques
- C) Fas fait partie de la super famille TNF qui sont des récepteurs de mort
- D) La voie intrinsèque est mitochondrie dépendant
- E) La proposition A, B, C et D sont fausses



QCM&M's

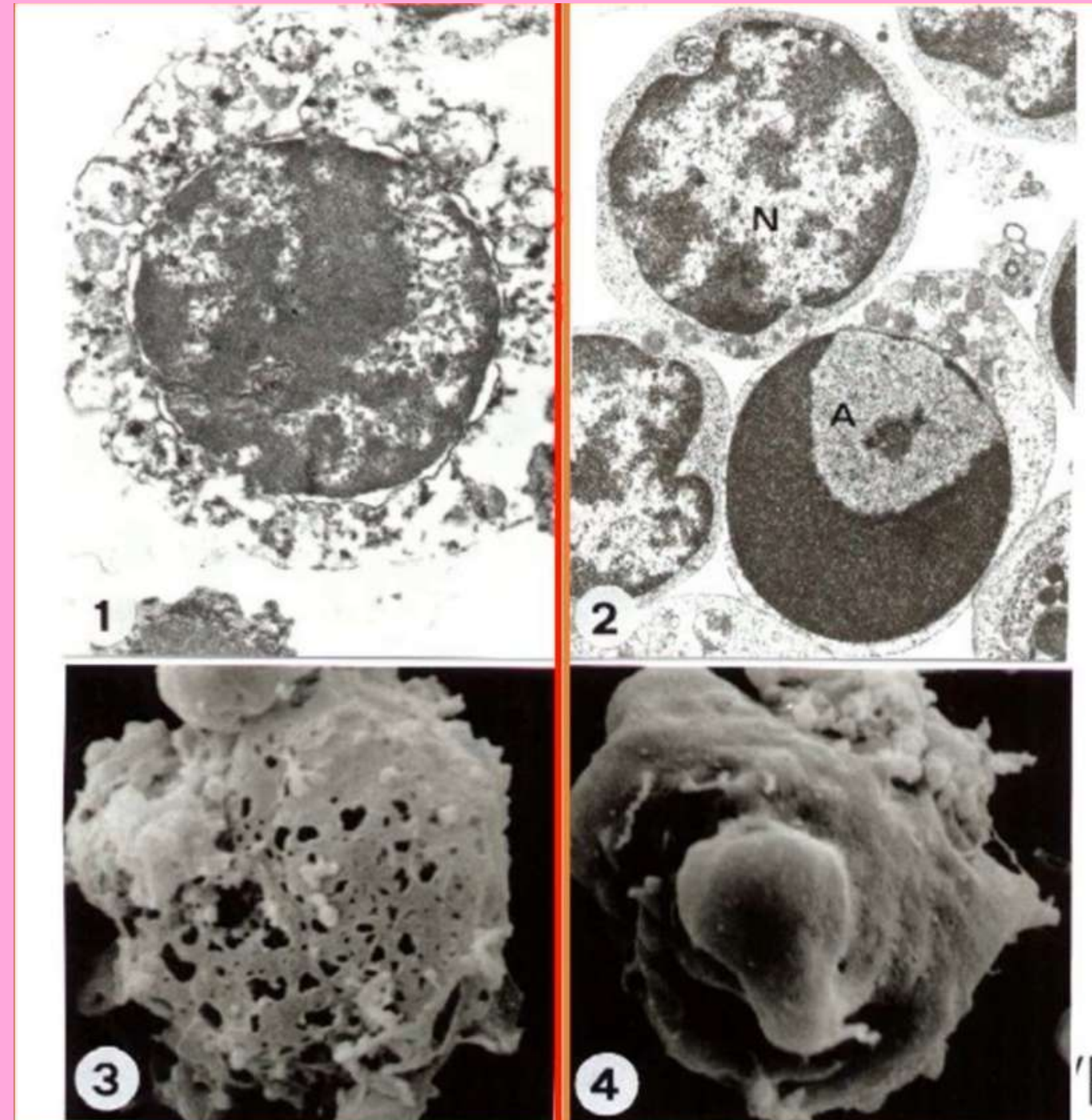
A propos de l'apoptose, indiquez la (les) propositions exacte(s):

- A) Les caspases 8 et 10 sont des caspases effectrices, elles vont donc effectuer des clivages protéiques spécifiques (=elles sont initiatrices)
- B) BAX, BCL-2 et BAD sont des exemples de protéines pro-apoptotiques (=BAX, BAD et BAK = PRO //// BCL-2 = ANTI)
- C) Fas fait partie de la super famille TNF qui sont des récepteurs de mort
- D) La voie intrinsèque est mitochondrie dépendant
- E) La proposition A, B, C et D sont fausses



QCM&M's

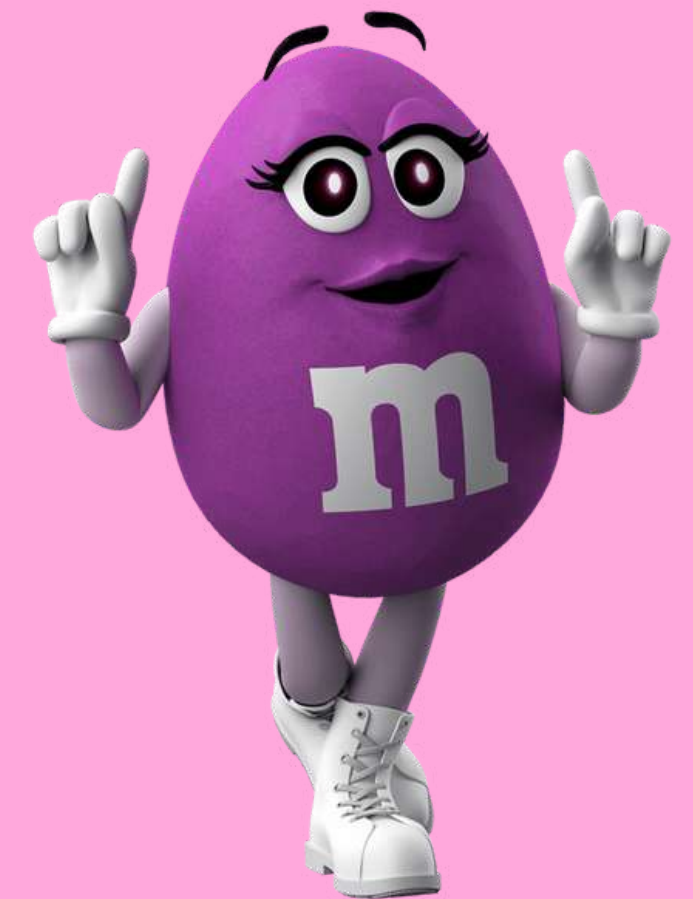
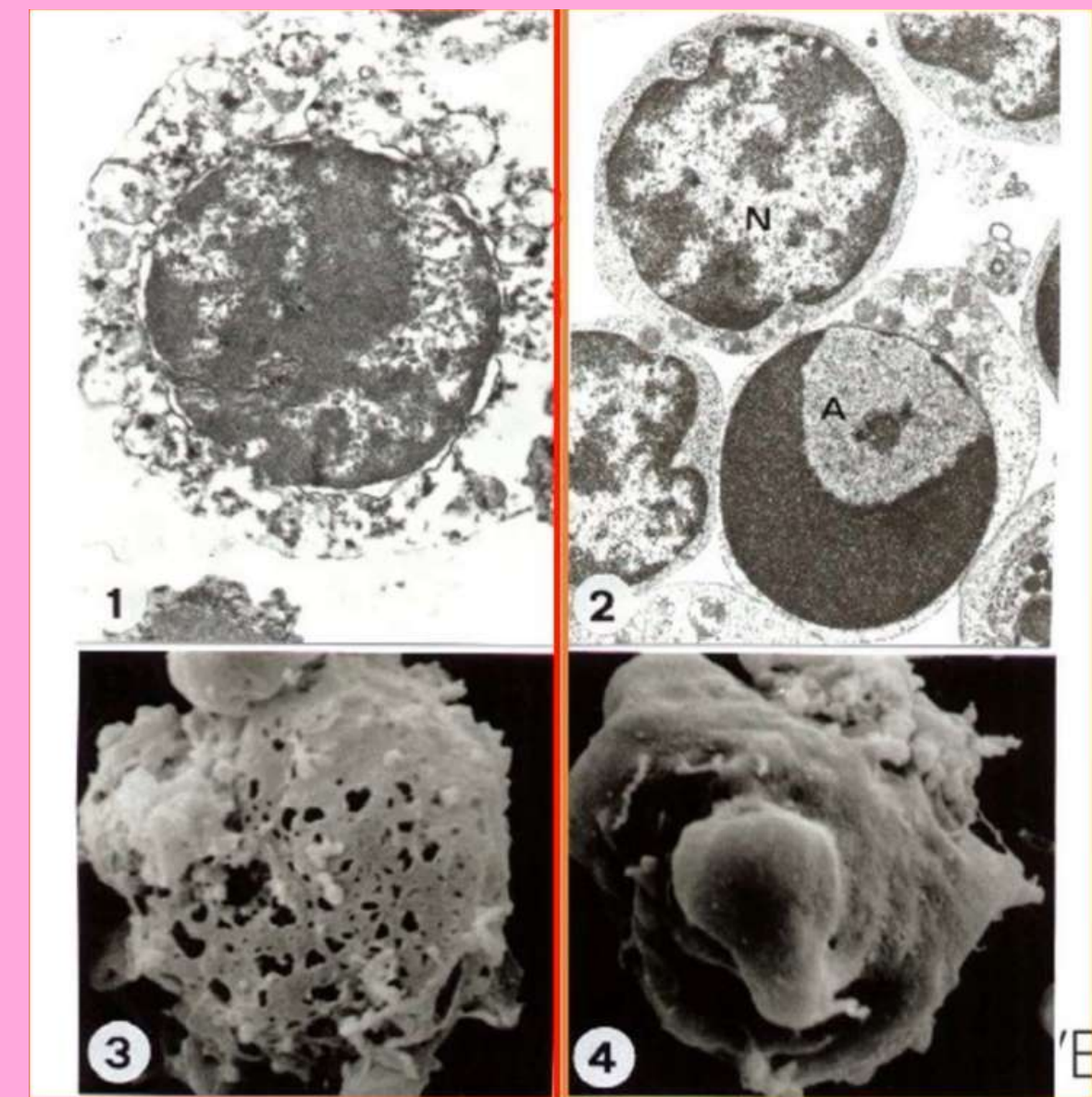
A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :



QCM&M's

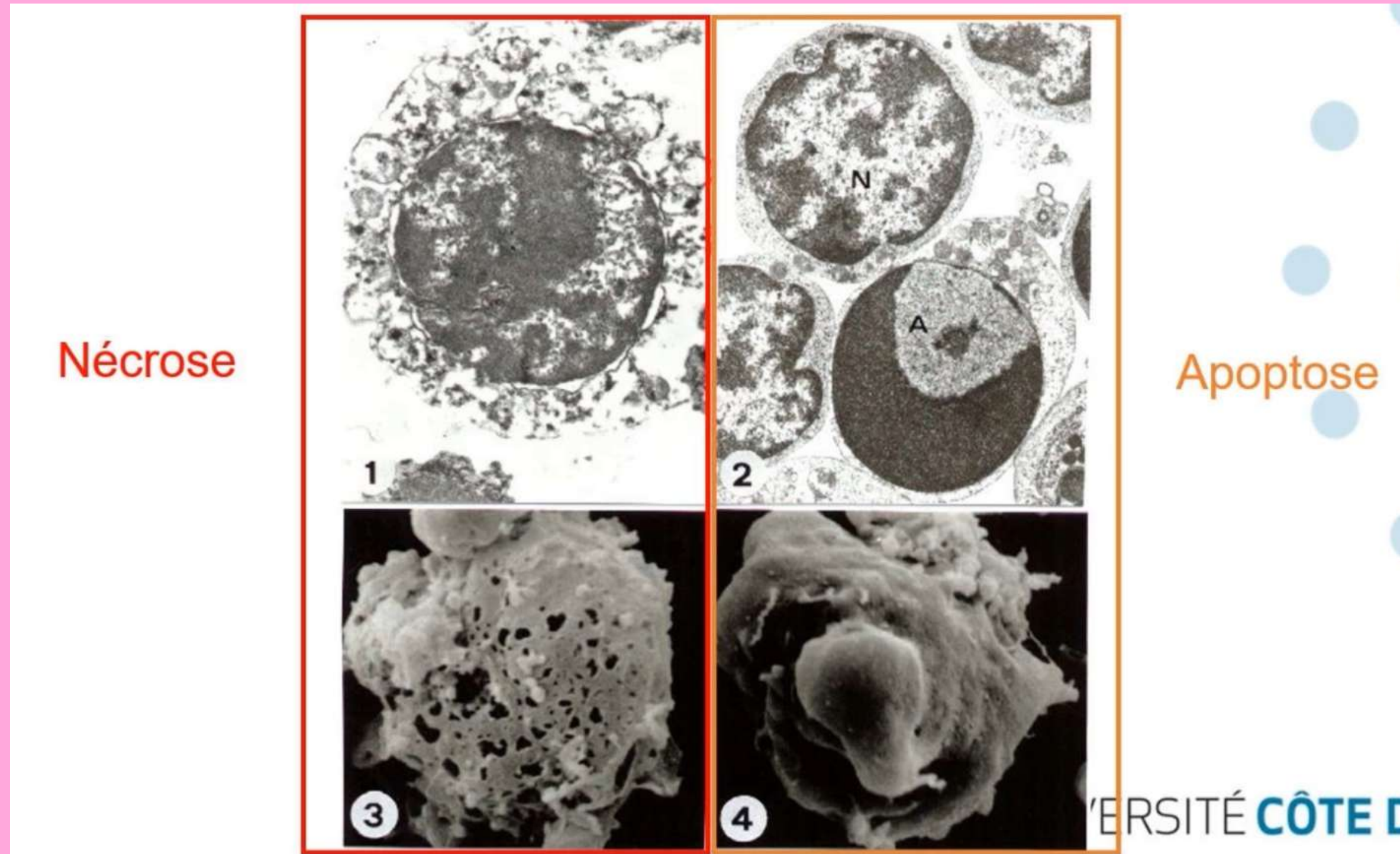
A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) Les photos 1 et 3 représentent des cellules normales
- B) Sur les photos 3 et 4, les cellules sont observées en microscopie électronique à balayage
- C) Les cellules en 2 et 4 sont caractérisées par une condensation anormale de leurs chromatines
- D) Les cellules 1 et 2 n'intègrent pas l'iodure de propidium
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :



QCM&M's

A propos de la mort cellulaire, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

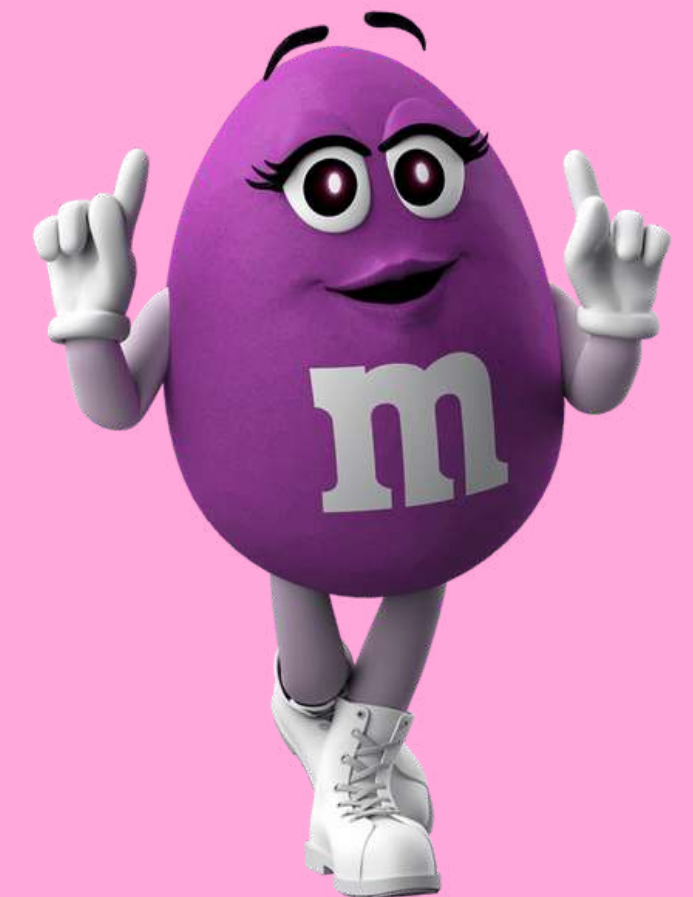
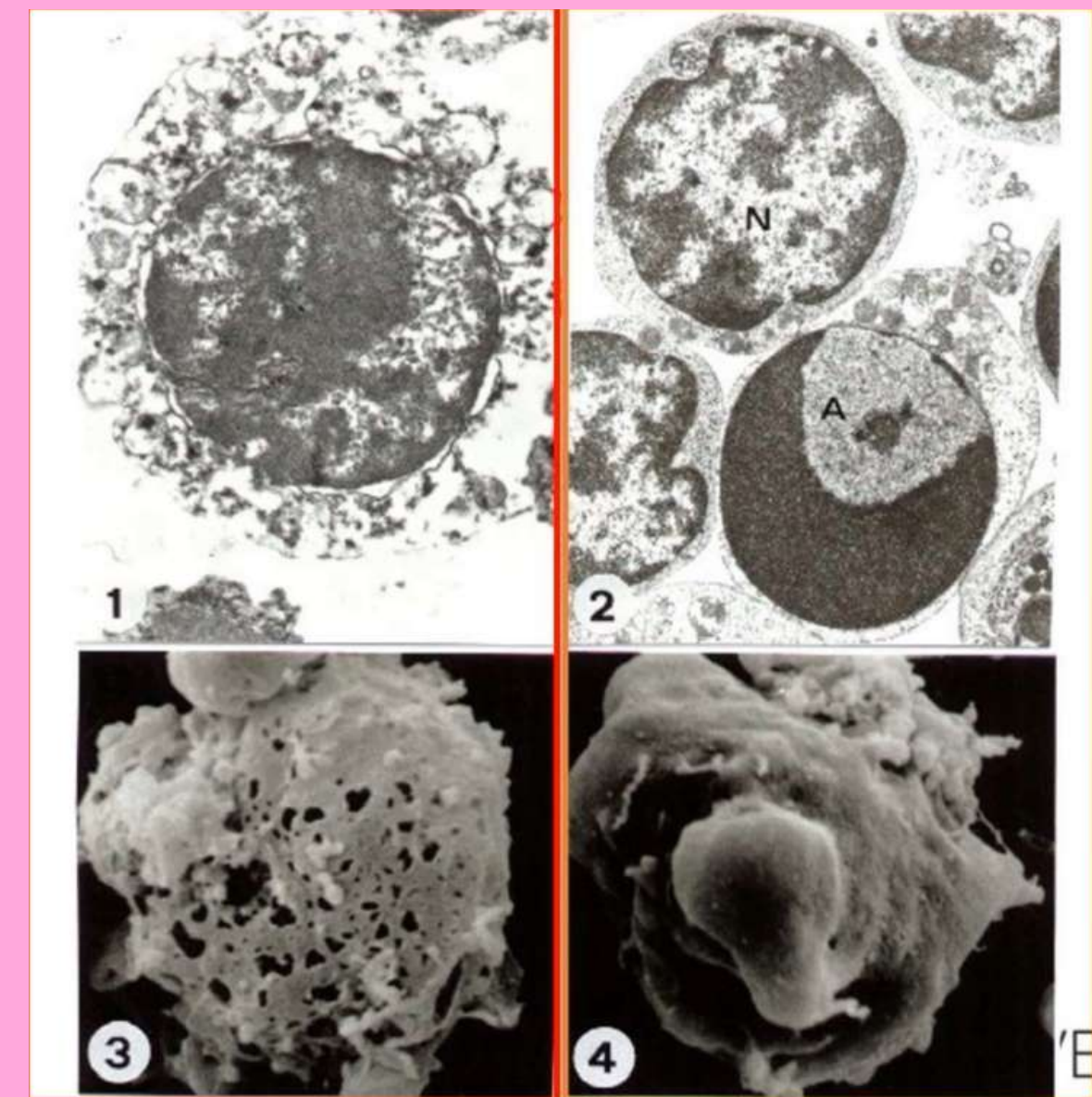
A) Les photos 1 et 3 représentent des cellules normales

B) Sur les photos 3 et 4, les cellules sont observées en microscopie électronique à balayage

C) Les cellules en 2 et 4 sont caractérisées par une condensation anormale de leurs chromatines

D) Les cellules 1 et 2 n'intègrent pas l'iodure de propidium

E) Les propositions A, B, C et D sont fausses





***Voilà mes petites cellules, c'était mon dernier cours de la TTR (snif 😭)
Mais on a encore tout le semestre pour adorer la biocell et Gigi !!!***



***Merci de m'avoir écouté
Si vous avez des questions n'hésitez pas***