

LA MORT CELLULAIRE

Salut les pros biocellois, aujourd'hui j'ai l'honneur de vous annoncer que vous allez enfin pouvoir lire la fiche du meilleur cours de la biocell, j'ai nommé 🦴 la mort cellulaire 🦴 !! Vous allez voir que vous retiendrez ce cours comme s'il était inscrit dans vos gènes hehe :)

Pareil, j'insiste mais c'est super important et surtout valable pour toutes les matières et même jusqu'à la fin de votre vie, POSEZ TOUTES VOS QUESTIONS (forum+++) parce que la clé de la réussite c'est la compréhension !!



Il faut bien faire la distinction entre **deux grands types de mort cellulaire** :

- l'**APOPTOSE** = mort cellulaire programmée = suicide des cellules 
- la **NÉCROSE** = mort cellulaire accidentelle = brûlure... 

Ce sont des processus très différents mais qui ont la même finalité : la mort de la cellule.

*(Alors là svp vous apprenez touuuuut parce que ça tombe +++)
(MAIS de manière générale n'impassez aucun détail je vous vois 🙄)*

I. L'APOPTOSE, MORT CELLULAIRE PROGRAMMÉE

A. Caractéristiques de l'apoptose

1 SIGNALISATION

L'apoptose est déclenchée de manière **contrôlée** par des signaux **extra-cellulaire** (en raison d'une absence de facteurs de croissance, infections virales, radiations...) ou **intra-cellulaire** (due à des anomalies de l'ADN, ex: p53 qui reconnaît les dommages de l'ADN). Ce sont des situations où il faut **éliminer la cellule parce qu'elle peut être dangereuse** ou parce qu'il faut **maintenir l'homéostasie cellulaire**.

2 PROGRAMMÉE = non dûe au hasard

Le déroulement de l'apoptose est strictement contrôlé par la mise en jeu de **cascades réactionnelles particulières en plus de l'activation de gènes spécifiques**.

3 ATP-DÉPENDANT

(TUT' MNÉMO de ma superbe vieille Lila : Atp-dépendant pour Apoptose)

C'est un processus **ATP dépendant**. La cellule a donc besoin **d'énergie pour mourir**.
ATTENTION SPOILERRR de la suite du cours : ceci la distingue de la nécrose qui est un processus ATP INdépendant.

4 PHAGOCYTOSE

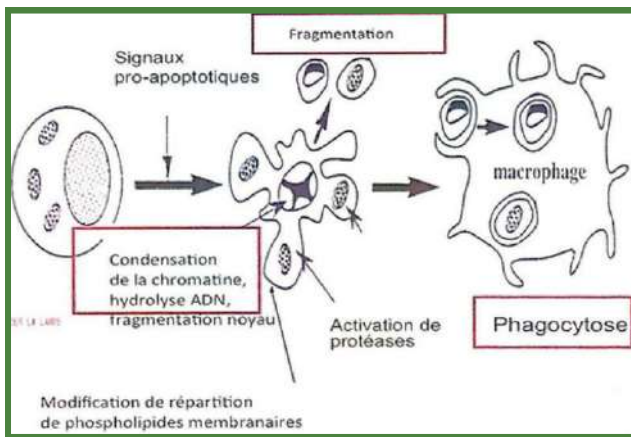
Les **débris cellulaires** qui font suite à la cellule apoptotique sont **éliminés de l'organisme par des macrophages et autres cellules phagocytaires par phagocytose** qui ont la capacité de reconnaître les cellules apoptotiques.

5 PAS D'INFLAMMATION

L'apoptose se déroule en **absence d'une réponse inflammatoire**. (SPOILER part 2 : c'est l'inverse pour la nécrose.)

B. Caractéristiques d'une cellule apoptotique

- ♥ diminution du volume par **condensation générale de la cellule** (aucun contenu libéré) ;
- ♥ condensation anormale de la **chromatine en forme de croissant ++** ;
- ♥ **ADN fragmenté** ;
- ♥ **fragmentation complète** de la cellule en formant des **corps apoptotiques** (qui seront phagocytés) ;
- ♥ la **membrane est intègre (intacte car NON trouée) ++** avec une **extériorisation de la phosphatidyl-sérine** (on revoit ça de suite tkt) et les organites restent intacts.



→ cellule de gauche : normale.

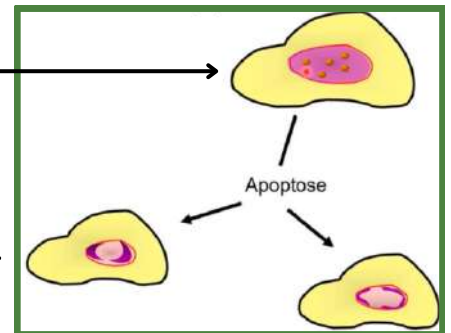
→ cellule du milieu : apoptotique avec sa fragmentation et condensation caractéristiques.

→ cellule de droite : macrophage qui reconnaît la cellule apoptotique et qui vient la phagocyter.

Une des étapes de **l'apoptose**, c'est la **condensation de la chromatine**. On voit sur le schéma que la chromatine devient **hypercondensée** et **se regroupe en périphérie du noyau** dans les premiers stades de l'apoptose.

1 cellule **normale** avec une coloration **DAPI** normale

2 cellules **apoptotiques** dont la chromatine a une forme de croissant et on rappelle que cette forme est caractéristique de l'apoptose en coloration **DAPI**



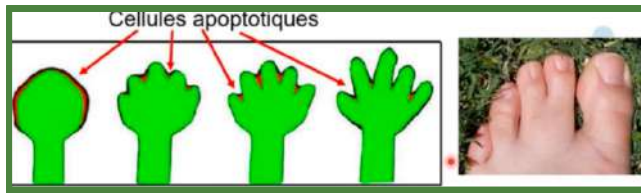
C. L'apoptose physiologique

L'apoptose n'est pas seulement l'élimination de cellules endommagées, c'est aussi une **partie intégrante et cruciale de la physiologie de l'organisme**. Cela veut dire que ce processus est "sain", sans lequel on aurait des malformations/pathologies.

On a par exemple :

→ L'apoptose est indispensable au développement normal de l'embryon = embryogenèse

(D'ailleurs dédiés aux cours d'embryologie du S2 vous allez découvrir tout un autre univers tellement passionnant !!)



(sorry de déposer ça là comme ça)

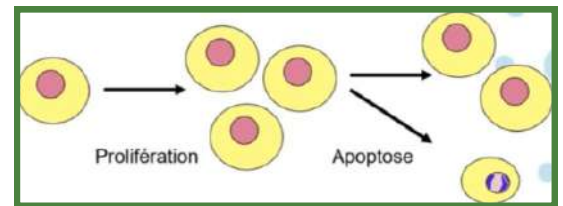
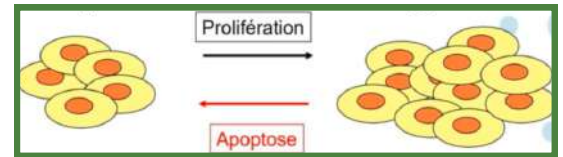
Lors du développement embryonnaire, l'apoptose est mise en jeu dans certains processus. Par exemple, le **modelage des doigts** par l'apoptose des cellules entre les tissus. Ces processus peuvent être source de **malformation** s'il y a un **dysfonctionnement**. Une maladie congénitale avec une apoptose incomplète qui n'a pas totalement séparé les deux orteils.

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.

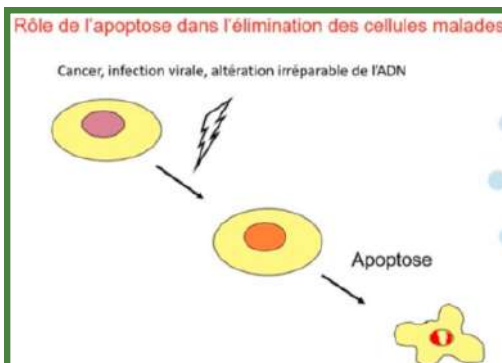
→ L'apoptose est indispensable à l'homéostasie tissulaire

L'apoptose contribue à **l'équilibre cellulaire** : lors de la **réaction immunitaire**, des clones de lymphocytes vont être capables de produire certains types d'anticorps.

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 impliquée 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. Évidemment, si ce processus ne se fait pas, la cellule cancéreuse peut devenir un cancer.

(Il existe une multitude d'exemples, mais voilà c'est pas parce que la cellule meurt que c'est pathologique → IMPORTANT À COMPRENDRE)

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.

II. NÉCROSE ET MORT CELLULAIRE ACCIDENTELLE

A. Caractéristiques de la nécrose

1 AGRESSIONS PHYSIQUE OU CHIMIQUE

Mort cellulaire causée essentiellement par des **atteintes physiques ou chimiques** (ischémies, brûlure, traumatisme). Elle est le résultat des **agressions sévères** subies par la cellule.

2 ATP INDÉPENDANT

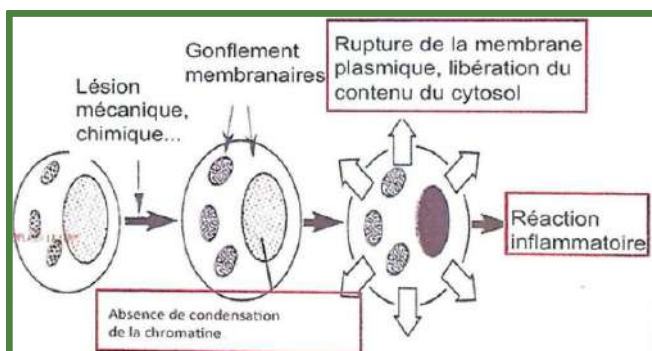
C'est un processus **ATP-indépendant +++** contrairement à l'apoptose.

2 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**.

B. Caractéristiques d'une cellule nécrotique

- ♥ **augmentation** du volume car la cellule nécrotique **gonfle puis explose** ;
- ♥ **pas de condensation mais une dispersion de la chromatine ++** ;
- ♥ **ADN fragmenté** mais de façon **irrégulière/non ordonnée** (dégradation de l'ADN) ;
- ♥ **explosion** de la cellule avec **libération de son contenu** (d'où l'inflammation) ;
- ♥ **membrane rompue** lors de l'explosion (d'où la libération du contenu de la cellule avec ses organites dehors) et **organites impactés** (perte de leur fonctionnalité) ;
- ♥ ensemble des cellules d'un tissu soumis à une **agression externe sévère ou pathologique**.



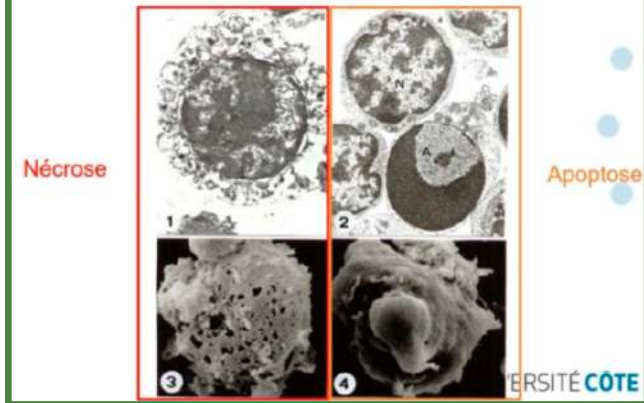
→ cellule de gauche : normale

→ cellule du milieu : nécrotique avec un gonflement membranaire et pas de condensation

→ cellule de droite : explosion de la cellule avec réaction inflammatoire et libération d'organites

III. DISTINCTION ENTRE CELLULES APOPTOTIQUES ET NÉCROTIQUES

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



À partir de maintenant on va s'attarder sur des expériences (elles sont très easy à comprendre pas d'inquiétude) qui vont nous permettre de reconnaître une cellule apoptotique d'une cellule nécrotique :))

On peut visualiser sur des images de microscopie électronique. Les deux photos du haut sont en microscopie à transmission (MET). Les deux photos du bas sont en microscopie électronique à balayage (MEB). (cf cours sur les méthodes d'étude des cellules)

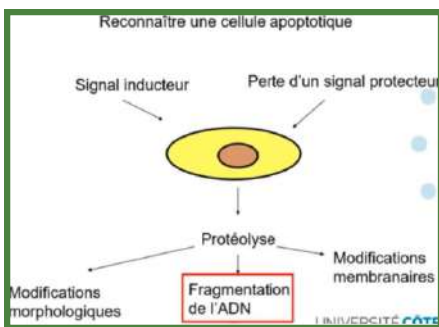
PHOTOS 1 et 3 : on peut observer une **explosion avec des trous dans la membrane.**

→ **CELLULES NÉCROTIQUES ++++++**

PHOTOS 2 et 4 : on peut observer la **condensation de la chromatine et la formation des corps apoptotiques.**

→ **CELLULES APOPTOTIQUES ++++++**

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



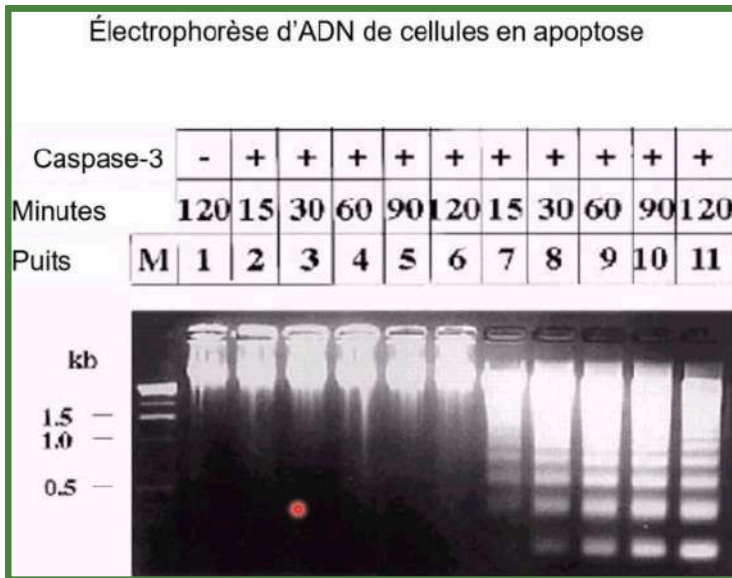
Plus haut, on a vu qu'une des caractéristiques de l'apoptose est la **fragmentation de l'ADN**. Ainsi, on peut facilement reconnaître et étudier expérimentalement cette étape. Un des tests est lié à **l'activité protéolytique spécifique induite par l'apoptose, qui va induire des modifications morphologiques, une fragmentation de l'ADN et des modifications membranaires.**

1ère technique : ÉLECTROPHORÈSE D'ADN DE CELLULES EN APOPTOSE

Pour repérer une cellule apoptotique, nous pouvons utiliser la technique par **électrophorèse sur gel d'agarose**. On donne un **poison génotoxique** à la cellule en forte quantité. Le gel d'agarose permet de **séparer les molécules d'ADN en fonction de leur taille (kB)**.

Nous allons ici nous 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 afin d'observer au cours du temps la **fragmentation de l'ADN en mesurant le poids moléculaire**.



TUT' EXPLICATION :

J'avais vous donner quelques tips de compréhension avant de détailler les résultats de l'expérience

(PS : ça tombe **GGG** mais les conditions expérimentales seront rappelées : il vous suffit donc de comprendre les résultats)

- caspase 3 = enzyme très importante pour l'apoptose qui fragmente l'ADN (et d'autres choses) ;
- logique mais je précise : plus le nombre de minutes est grand, plus la caspase 3 a le temps d'agir donc l'ADN est bcp plus fragmenté ;
- **LÀ C'EST TRÈS IMPORTANT +++ : PLUS LE FRAGMENT A UN POIDS MOLÉCULAIRE FAIBLE (++)fragmenté) PLUS IL IRA LOIN SUR LE GEL D'AGAROSE **GGG**.**

🎯 Résultats :

→ **PUIT 1** : au bout de 120min, l'ADN n'est pas fragmenté donc les cellules sont **normales**.

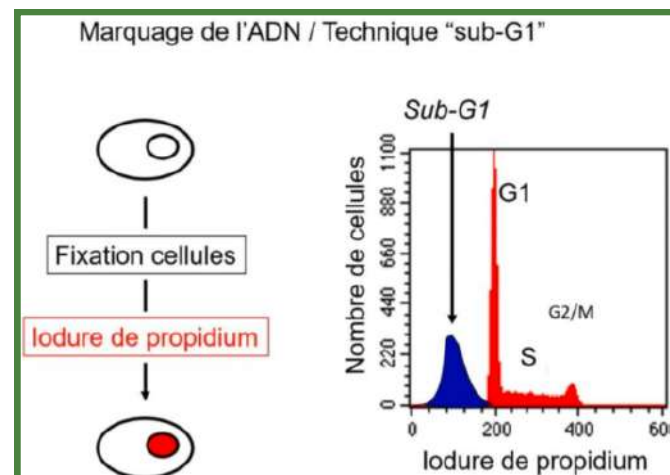
Plus précisément, il s'agit de l'**Expérience Témoin** (elle témoigne de l'implication de la caspase 3 dans le phénomène apoptotique, car en son **absence** (-), et après induction de l'apoptose, le **poils moléculaire ne varie pas**).

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

🔬 2ème technique : 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**.

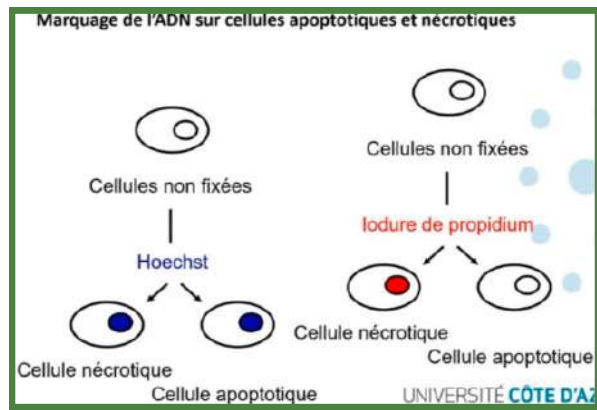
S'il y a une apparition de **cellules apoptotiques** qui ont perdu de l'ADN du fait de la fragmentation, il y a un nouveau pic qui apparaît et qui s'appelle le **pic sub-G1** et qui signe la présence de cellules en apoptose.



🎯 Explication des résultats : 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) : ce qui explique le pic sub-G1 !!

3ème technique : TECHNIQUE PAR DOUBLE MARQUAGE



Cette fois-ci on travaille avec des cellules nécrotiques et des cellules apoptotiques.

C'est une autre technique par **cytométrie**. Les cellules ne sont pas fixées = pas de perméabilisation.

On introduit les différents colorants (double marquage) : HOECHST + IODURE DE PROPIDIUM ++++++

IODURE DE PROPIDIUM

HOECHST

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.**

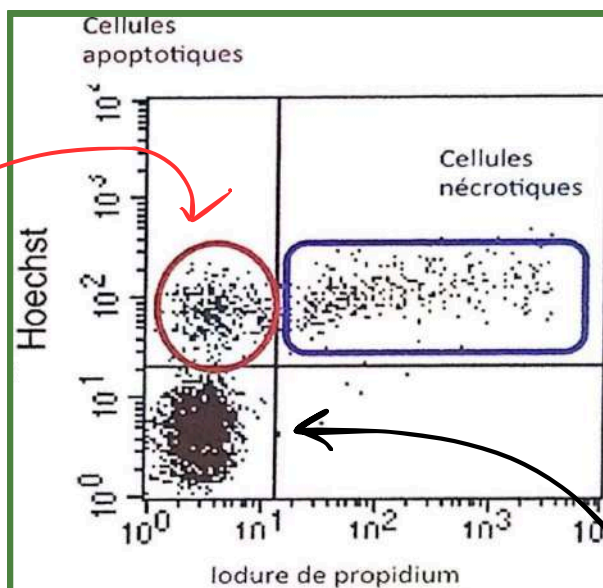
En revanche, on a dit que les cellules **nécrotiques** EXPLOSENT = **membrane est trouée (L'IP peut entrer).**

Donc, l'IP colore les cellules NÉCROTIQUES seulement.

Traverse la membrane **SANS** perméabilisation de la cellule.

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

📍 Résultats : **rrr**



CELLULES APOPTOTIQUES qui fixent l'**HOECHST** mais pas l'**IODURE DE PROPIDIUM** car elles n'ont pas de trous dans leurs membranes (non perméable).

CELLULES NÉCROTIQUES qui fixent l'**HOECHST** et l'**IODURE DE PROPIDIUM** car elles ont des trous dans leurs membranes (perméable).

CELLULES NON COLORÉES = marge d'erreurs = le test n'est pas exact à 100%.

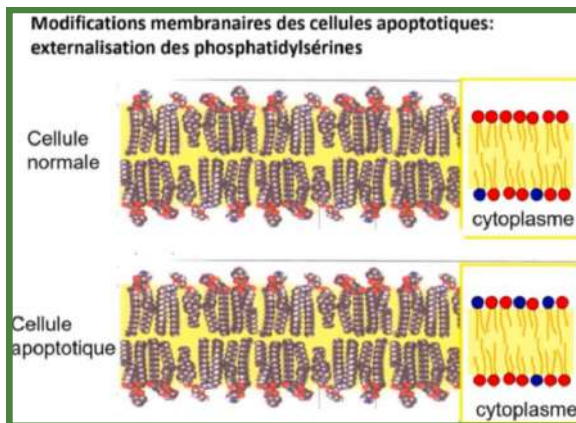
💡 Plus de détails et d'explications sur les résultats :

→ 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 MAIS en-dessous de la barre horizontale, on considère que les cellules ne sont PAS colorées par l'Hoechst.
- Plus on va à **droite**, plus on a de cellules colorées au IP MAIS à gauche de la barre verticale, on considère que les cellules ne sont PAS colorées par IP.

N'hésitez pas vraiment j'insiste si vous avez des questions → FORUM !!

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**. Cette propriété est utilisée en cytométrie.

1ère technique (et seule du cours) : DOUBLE MARQUAGE IODURE DE PROPIDIUM + ANNEXINE V

L'apoptose externalise sur son feuillet externe les phosphatidylsérines grâce au flip flop. (#répétitions)

CEPENDANT : lors de la nécrose, la cellule explose et les phosphatidylsérines se retrouvent également externalisées. (#PourquoiFaireSimpleQuandOnPeutFaireComplicé)

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**.

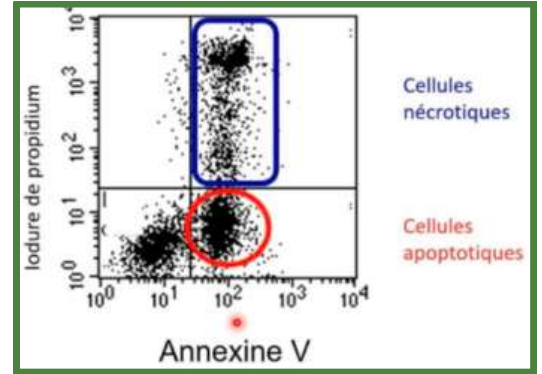
Donc on peut déjà conclure que :

- **les cellules nécrotiques vont donc fixer l'iodure de propidium et l'annexine V ;**
- **les cellules apoptotiques fixent uniquement l'annexine V (PAS L'IP).**

Le double marquage à l'annexine V et à l'iodure de propidium permet donc de distinguer les deux types de cellules apoptotiques et nécrotiques.

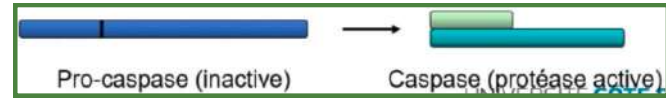
🎯 Résultats :

	HOECHST	IODURE DE PROPIDIUM	ANNEXINE V
cellules normales	+	-	-
cellules nécrotiques	+	+	+
cellules apoptotiques	+	-	+



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**. Et la protéolyse n'est ni plus ni moins que la **dégradation des protéines via d'autres protéines spécifiques**.



Le résultat final de l'apoptose sera la destruction de la cellule par protéolyse. Ce mécanisme se met en place à l'aide de **caspases**. À l'état normal de la cellule, les caspases ne sont pas actives.

Il existe deux types de caspases

caspases INITIATRICES

caspases 8 et 10

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.

caspases EFFECTRICES

caspases 3, 6 et 7

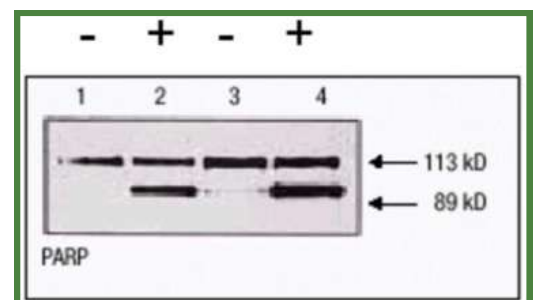
Ce sont des protéases qui vont effectuer des **clivages protéiques spécifiques à l'intérieur de la cellule apoptotique (PARP, I-CAD, actine, lamine...)**.

Exemple de l'activation des caspases et protéolyse des protéines cibles

(ex : PARP) Nous observons ici le clivage des protéines-clés (ici PARP impliquée dans la reconnaissance des dommages) de la cellule par les caspases effectrices :

🎯 **Piste 1 et 3** : Sans l'induction des caspases effectrices (-), la protéine **PARP est intacte, il n'y a pas eu de clivage**.

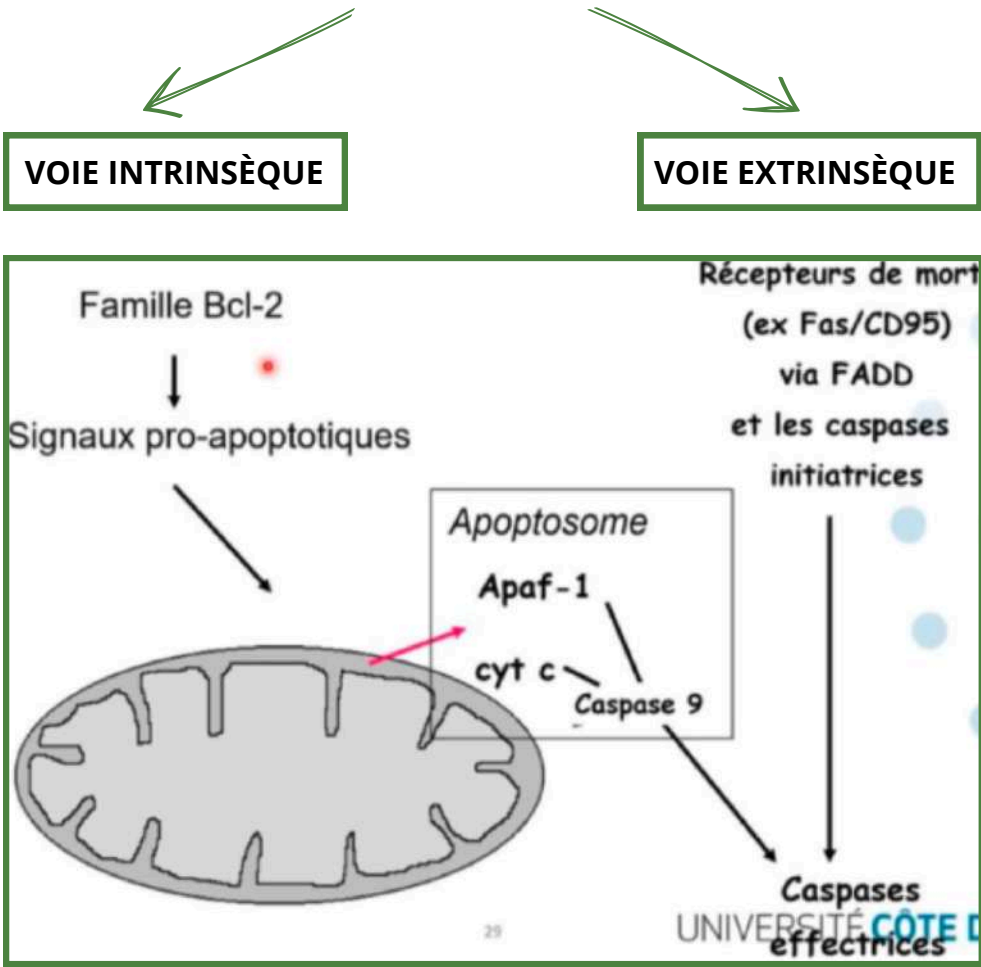
🎯 **Piste 2 et 4** : Avec l'induction des caspases effectrices, on observe deux bandes, donc il y a eu **clivage de la protéine PARP. La cellule est donc apoptotique**.



FOCUS SUR LE RÔLE DES MITOCHONDRIES (les fameuses)

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.

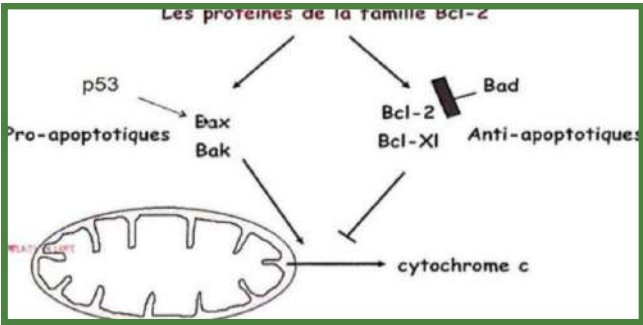
♥ L'apoptose peut être enclenchée par deux types de voie



1 La voie INTRASÈQUE = mitochondrie dépendante

Cette voie répond à des **signaux intra-cellulaires de stress**.

On dit que cette voie est mitochondrie dépendante car les mitochondries sont les **réservoirs d'une hémoprotéine (le cytochrome c)** qui permet d'aboutir à la **cascade d'activation des caspases**.



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

PROTÉINES DE LA FAMILLE BCL-2

PRO-APOPTOTIQUE :

- ° BAX (cible de p53)
- ° BAK
- ° BAD (inhibe BCL-2)

ANTI-APOPTOTIQUE :

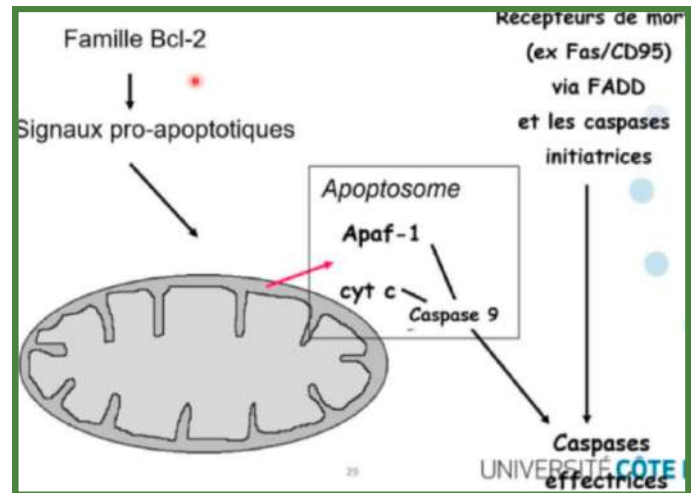
- ° BCL-2
- ° BCL-X

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

→ L'apoptosome activera ensuite une **caspase initiatrice** qui activera une **caspase effectrice**.

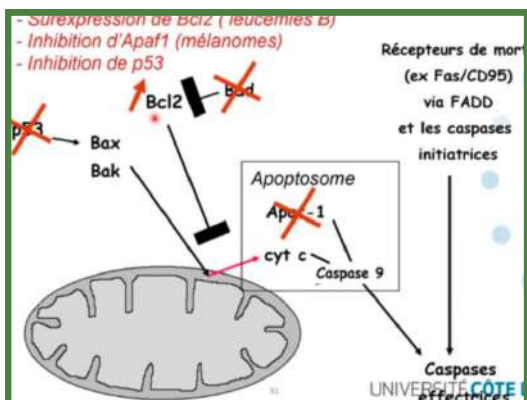
→ In fine, cela provoquera la **fragmentation** de la chromatine, la lamine, le cytosquelette...

DONC : La libération de cytochrome C est sous le contrôle des membres de la famille BCL2.



2

La voie EXTRINSÈQUE = 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 intracytosol issues (FADD).**

→ Ces protéines vont cliver les **caspases initiatrices**, puis **caspases effectrices**.

→ In fine, cela provoquera la **fragmentation** de la chromatine, la lamine, l'actine du cytosquelette...

PATHOLOGIES : Dans les cas de **cancer**, les mécanismes de l'apoptose sont défectueux. En effet, l'apoptose étant limitée, on va avoir une **prolifération de cellules défectueuses au processus cancéreux**. On peut avoir par exemple :

- ° surexpression des protéines anti-apoptotiques (BCL) : leucémie B ;
- ° inhibition de l'apoptosome ; d'APAF-1 : mélanomes ; inhibition de p53...

BRAVO À VOUS et maintenant vous connaissez la chanson : IT'S DÉDIIIS TIME

- Encore et toujours (il n'y en aura jamais assez) énorme dédi aux CT qui sont de véritables champions avec tout leur boulot titanesque #SNK (incroyable mais monstrueux quand même) ET À NOS VIEUX BIOCELLOIS (Lilapoptose, Clémendocyte, Matisticule qui sont de véritables cellules dotées d'une extrême gentillesse)
- Dédissss à la MUSIQUE, ma free therapy, avec ma playlist qui est aussi variée que tous les cours en P1 + mention spéciale AUX INSTRUS DE CHAQUE CHANSON, JE POURRAIS LITTÉRALEMENT DCD POUR ÇA (surtout les solos de guitare de Meddle About, Hayloft I et So Far So Fake maaaaa 😊)
- Dédi à Prison Break, Alice in Borderland, Gossip Girl, Baby, Sanrio, Monster High et aux animés (++) Death Note et Nana >>> d'où la dédi à Vivienne Westwood ma queen) (y'a 0 rapport mais c'est aukay)
- Dédi au CHOCOLAT, au CAMEL et aux FRUITS parce que je suis littéralement accro au sucre et là c'est pas aukay. Toujours dans le délire de la nourriture, un grand merci aux innombrables cafés aromatisés à la noisette et thés dégustés lors de ma P1 parce que mine de rien c'est baaad réconfortant :)
- DÉÉÉÉDIIIIICAAACE À MES CHIENS, que dis-je à mes amours qui sont véritablement des membres de ma famille à part entière et ma lumière au bout du tunnel (ceux qui ont des chiens/chat/animaux de compagnie on se sait) qui n'ont pas arrêté de me coller en P1 :



**CHATAIGNE AKA
MADAME QUI MANGE
TOUT ET QUI FAIT QUE
DES BISOUSSS**



**FOXI AKA MADAME LA
PENSIVE QUI EST DANS SON
MONDE H24 (comme moi
finalement)**