

**APOPTOSE** = mort programmée des cellules = "suicide des cellules"

- **Pathologique OU physiologique**
- Déclenchée de **manière contrôlée** par des signaux **INTRA**cellulaires et/ou **EXTRA**cellulaires
- Contrôlée par la mise en place de **cascades réactionnelles** et l'**activation de gènes** spécifiques
- **ATP dépendant**
- **Absence de réponse inflammatoire**, les macrophages et les autres cellules immunitaires **reconnaissent** les cellules apoptotiques et les éliminent par phagocytose

#### PARTIE INTEGRANTE DE LA PHYSIO D'UN ORGANISME

- Indispensable au **développement normal de l'embryon** (ex de la morphogénèse des doigts)
- Indispensable à l'**homéostasie tissulaire**
- Impliquée dans l'**élimination des cellules malades**

#### CARACTERISTIQUES DE LA CELLULE APOPTOTIQUE

- **Condensation générale** de la cellule
- **Condensation anormale de la chromatine**
- **Fragmentation de l'ADN** → fragmentation complète de la cellule → **corps apoptotiques** qui sont reconnus par les macrophages
- **Phagocytose sans réaction inflammatoire**
- **Protéolyse**

#### Exemple de défaut d'apoptose:

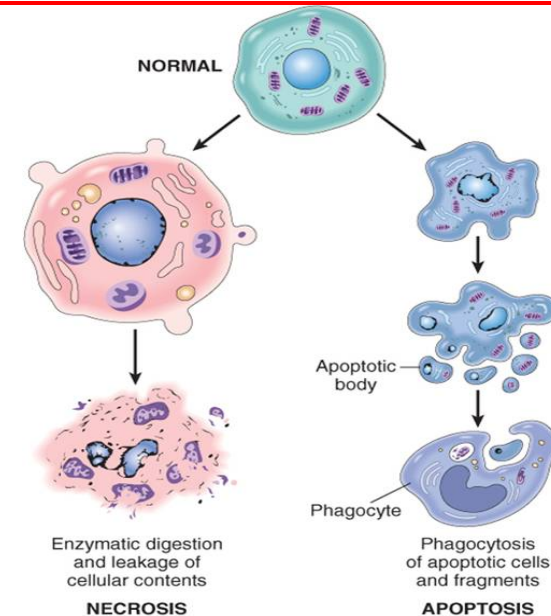
- ⚙ Malformations embryologiques (ex des doigts)
- ⚙ Maladies auto-immunes par défaut du système immunitaire
- ⚙ Cancer (si le processus d'apoptose est défectueux, le nombre de cellules augmente anormalement)

**NECROSE** = mort cellulaire accidentelle

- De manière **non spécifique** par des actions **chimiques ou physiques**
- Elle peut être aussi programmée (new)
- **Processus ATP-indépendant**
- La cellule gonfle, puis explose → **rupture de la membrane**
- **Réaction inflammatoire** par le relargage de certains composants

#### CARACTÉRISTIQUES DE LA CELLULE NÉCROTIQUE

- **Ø fragmentation** de l'ADN
- **Ø condensation** de l'ADN
- Cellule gonfle, meurt par **rupture de la mb**
- Processus **ATP-indépendant**
- → **Réaction inflammatoire**



**Technique de la caspase 3**

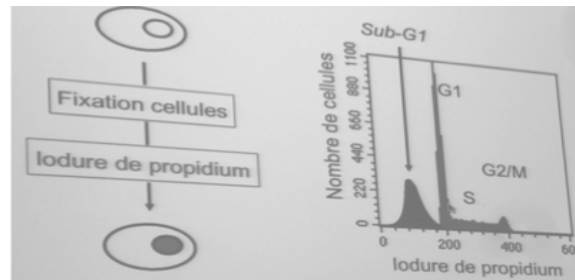
→ Une des caspases principale qui **déclenche l'apoptose**  
→ On induit l'apoptose avec cette caspase au bout de **120 min** qu'on peut visualiser en isolant l'ADN pour **observer sa fragmentation**



Le puit 1 nous indique qu'ici sans l'induction de la caspase-3 au bout de 120 min il n'y a pas d'apoptose, l'ADN n'est pas fragmenté  
On a ensuite les puits 2 à 11, après induction de la caspase 3 où l'on observe au cours du temps la fragmentation de l'ADN.

**Technique du Sub-G1**

→ **iodure de propidium** se fixe à l'ADN, ainsi la fluorescence est proportionnelle à la quantité d'ADN  
→ Les **cellules apoptotiques** sont caractérisées par un **pic en sub G1** (inférieur à la quantité normale en G1)



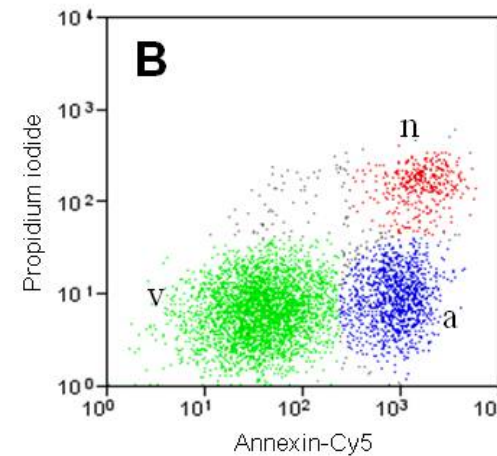
**Les colorants: iodure de propidium et Hoescht**

- **Iodure de propidium NE PASSE PAS** la membrane → seules les cellules **NECROTIQUES** seront colorées
- **HOESCHT** = contrôle, il est capable de passer la membrane → cellules **APOPTOTIQUES** et **NECROTIQUES** seront colorées

**RAPPEL:** il y a une **asymétrie de la composition des phospholipides** de la membrane (notamment phosphatidylsérine localisée du côté cytoplasmique). Chez les cellules apoptotiques → système de **FLIP-FLOP** → les **phosphatidylsérines s'extériorisent**. On peut les marquer avec **l'annexine-5** → couplés à de la fluorescence → **marqueur apoptotique**

**ATTENTION!** Les cellules **NECROTIQUES** vont être aussi **POSITIVES** à l'annexine-5, elle ne change pas l'asymétrie de la membrane mais elle **EXPLOSE** → exposant la face interne de la membrane au marqueur!

	HOESCHT	IODURE PROPIDIUM	ANNEXINE-5
NORMAL	+	-	-
NECROTIQUES	+	+	+
APOPTOTIQUES	+	-	+



a = cellules apoptotiques  
v = cellules vivantes  
n = cellules nécrotiques

Je sais c'est pas dur, mais vous devez savoir interpréter ce résultat de cytométrie de flux sans avoir la légende, grâce à votre maîtrise ultra-top du tableau au dessus ☺

**La PROTÉOLYSE** = marqueur de **l'APOPTOSE**

**Caspases** = Famille des protéases

- **Caspases initiatrices** = **8 et 10** (protéolyse NON destructrice) qui répondent à la signalisation à travers des **récepteurs de mort** = protéines transmembranaires
- **Caspases effectrices** = **3, 6 et 7** → font le boulot, elles ont **BESOIN** d'être activées par les initiatrices, vont **protéolyser** un grand nombre de **protéines** (PARP, I-CAD, lamine, actine) pour **destruire la cellule**.

**NB :** avant d'être active, une caspase s'appelle une **PROCASPASE**

**LE ROLE DE LA MITOCHONDRIE DANS L'APOPTOSE**

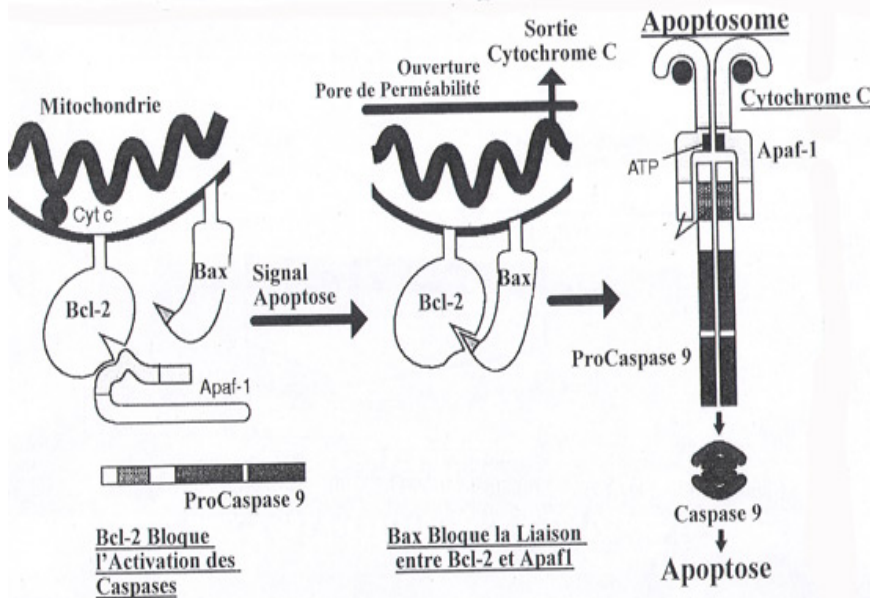
Elle n'a pas qu'un rôle énergétique, mais aussi un rôle dans l'apoptose en réponse à un signal.

→ Elle utilise le **cytochrome C** = permet la production d'ATP et l'apoptose

Il existe 2 voies qui induisent l'apoptose

- **Voie intrinsèque** = qui passe par la **mitochondrie** qui répond à des signaux pro-apoptotiques  
La régulation de l'apoptose se fait par la régulation de l'expression des **gènes Bcl-2**, le signal → **libération du cytochrome C** de la mitochondrie dans la cellule → formation d'un complexe dans le cytosol = **APOPTOSOME** qui contient la protéine **APAF-1** → activation de la caspase 9 = activatrice

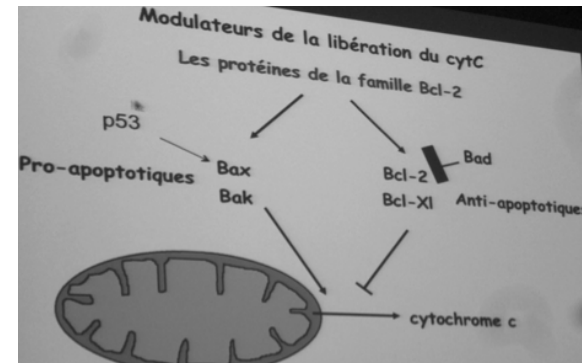
**Le Modèle de l'Apoptosome**



- **Voie extrinsèque** = elle est induite par des **signaux extérieurs** et se fait pas l'intermédiaire de **rcp de mort** (FAS, CD95) situés au niveau de la **membrane plasmique** = rôle pro-apoptotiques. Ils interagissent avec des protéines adaptatrices qui vont activer les caspases initiatrices → mort de la cellule

**REGULATION DE CES PROCESSUS APOPTOTIQUES = Protéines Bcl2**

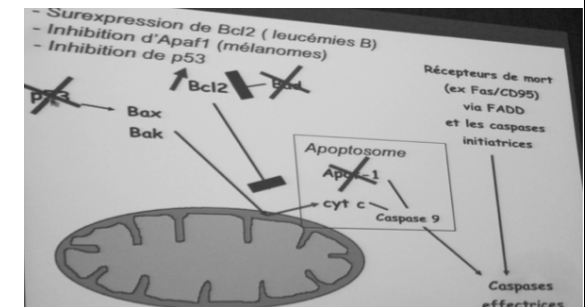
- **P53** (impliquée dans l'apoptose = processus suppresseur de tumeur) a parmi ses cibles la protéine **Bak = pro apoptotique** de la famille des protéines Bcl2  
P53 est muté dans un grand nombre de tumeur.
- Bak favorise la libération du cytochrome C dans le cytosol
- D'autres protéines comme **Bcl XI = anti-apoptotiques** vont inhiber cette libération.



→ Bak = suppresseur de tumeurs  
→ Bcl-2 = oncogene

**PROCESSUS D'ONCOGENESE SUR L'APOPTOSE**

- Si p53 est mutée et donc non fonctionnelle, elle sera inactive en tant que facteur de transcription et Bax ne sera pas produit → moins d'apoptose → rupture de l'homéostasie!



- Surexpression de Bcl -2 qui inhibe la libération du cytochrome C
- Inhibitions de l'apoptosome retrouvés dans certains mélanomes

**AUTONOMIE DE CROISSANCE → + VOIE AKT → PHOSPHORYLATION DE BAD → PAS APOPTOSE**

Les cellules tumorales ont une autonomie de croissance, elles peuvent se développer **sans interactions** avec le milieu extérieur.

\* Facteurs de croissance activent AKT qui va rendre Bcl 2 actif par phosphorylation de BAD et qui empêche donc l'apoptose

