

# REPORTAGE EXPRESS : IL CONFESSE LA TORTURE QU'IL A SUBI !



"Ils étaient là à me  
parler de formules  
et d'onde je sais pas  
trop quoi "

**J'avais vraiment  
peur, je me suis  
enfui !**

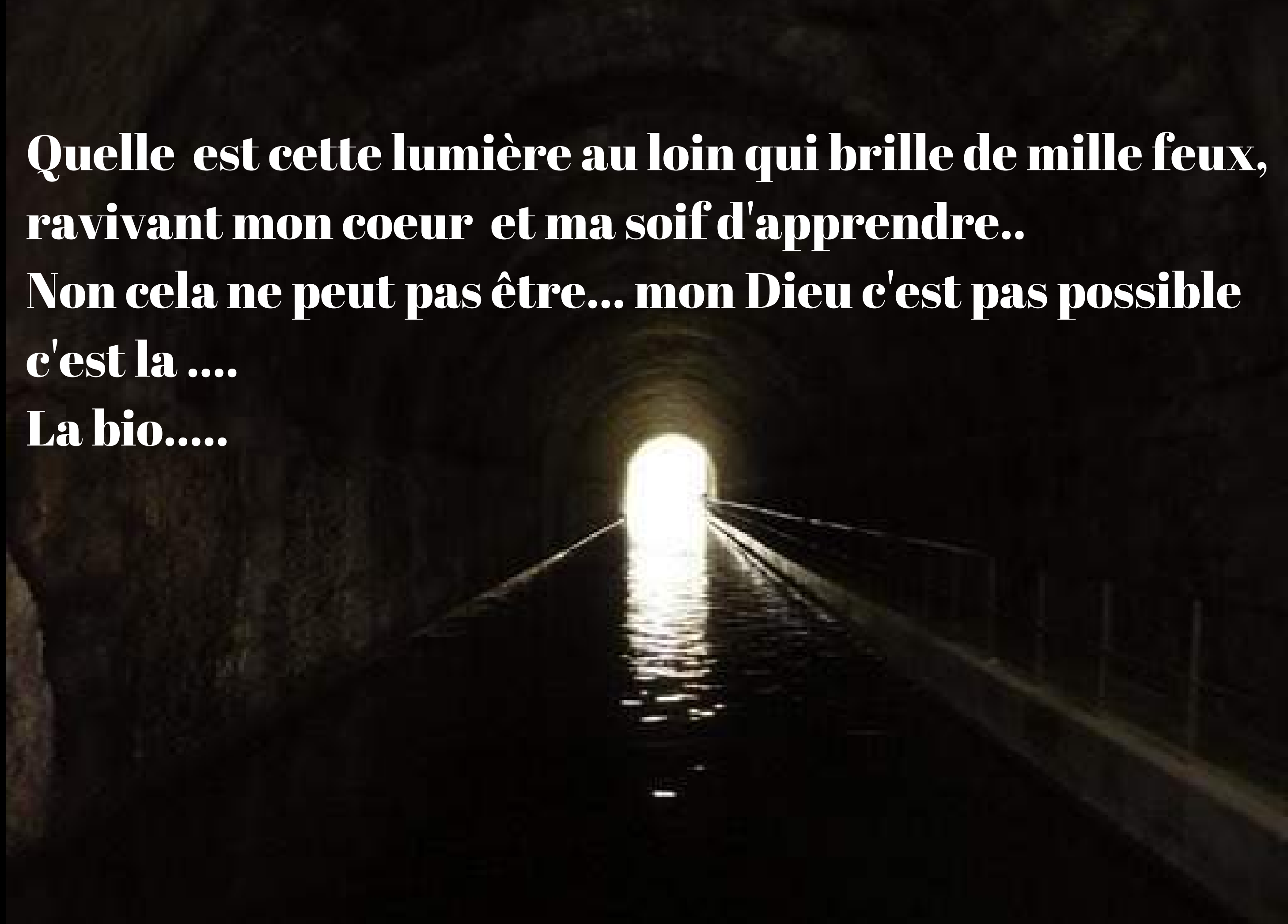
**✚**  
**HEUREUSEMENT JE SUIS ARRIVÉ EN BIOCELL**

**Quand tout est noir dans ta vie  
que tu ne crois plus en rien  
les semaines s'enchaînent les cours s'accumulent..  
Ne te laisse pas abattre cherche l'espoir..  
Passe outre tes mauvaises pensées  
il y a toujours une lumière au bout du tunnel  
Oui ressaisis toi bon sang le koh-lantut' continue !!**

**Quelle est cette lumière au loin qui brille de mille feux,  
ravivant mon coeur et ma soif d'apprendre..**

**Non cela ne peut pas être... mon Dieu c'est pas possible  
c'est la ....**

**La bio.....**







# La BIOCELL



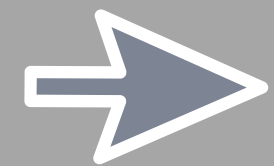
# Sénescence et mort cellulaire



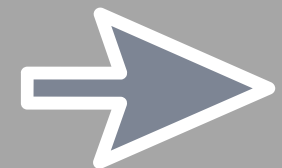
## A) introduction

Ce sont des mécanismes de **régulation du cycle cellulaire** et en particulier des mécanismes de réponse au stress, qui équivaut à une rupture de l'homéostasie.

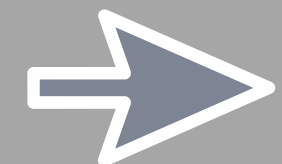
Lorsque la cellule subit un stress, elle va pouvoir prendre plusieurs décisions :



**Quiescence** : Arrêt **transitoire** de son cycle cellulaire, métaboliquement **active**




**Sénescence** : Arrêt **permanent** de son cycle cellulaire, métaboliquement **active**



**Apoptose** : Stress trop grand => **Mort programmée**, métaboliquement **inactive**

Info + : Il existe des marqueurs permettant de déterminer dans quel état se trouve une cellule

Au cours de l'histoire, plusieurs dogmes se sont succédé :

- Avant 1960 : - Les cellules en culture peuvent se diviser **infiniment**
  - Elles ne sont pas soumises au vieillissement (elles sont **immortelles**)
- Après 1960 avec **Hayflick** :
  - Les cellules ont une limite de division (limite d'Hayflick) 
  - Les cellules gardent en mémoire le nombre de divisions qu'elles ont déjà effectuées (indépendamment du temps) = **âge réplcatif ou potentiel prolifératif**

**Naissance de la notion de sénescence cellulaire**

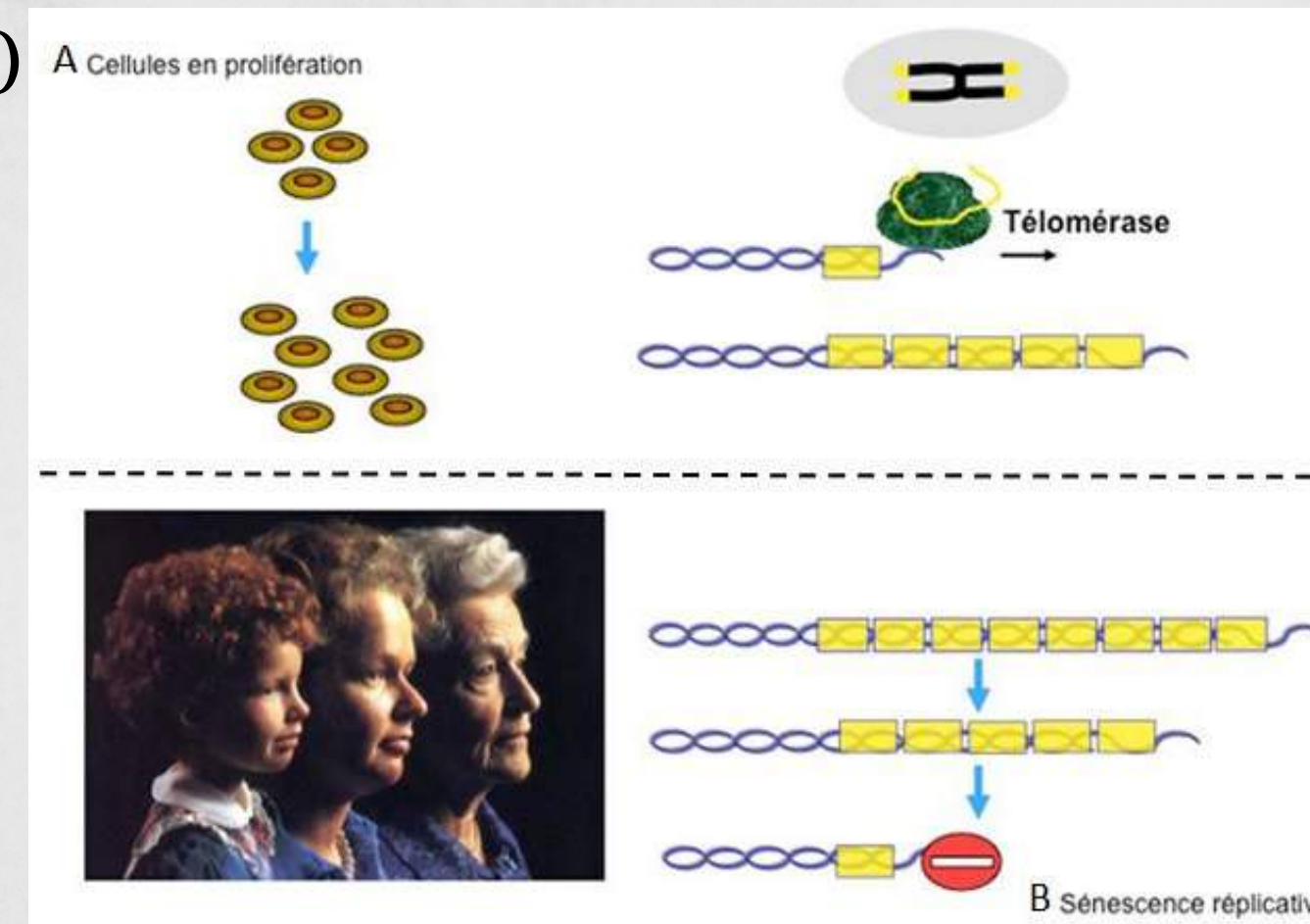


# B) Sénescence

## 1. Causes

### a) La sénescence répllicative : 1998

- ★ Causée par l'érosion somatique des télomères.
- ★ Les extrémités chromosomiques des cellules (sans télomérase) s'érodent au fur et à mesure des divisions.
- ★ Conséquence du processus moléculaire physiologique.
- ★ A partir d'un certain nombre de division, le raccourcissement des télomères devient critique, la cellule déclenche la voie de signalisation des dommages à l'ADN. Cette voie aboutit à l'activation de la protéine P53 qui déclenche la sénescence ou l'apoptose.





## b) Le stress oncogénique : 1997

- **Mutation** (gain de fonction) de la protéine **RAS** : activation supra-physiologique de la voie de signalisation contrôlant le **cycle cellulaire**
- **Vitesse** de division **importante** et **aberrante** qui cause des défauts de réplication de l'ADN.
- Les dommages à l'ADN aboutissent à l'activation de la protéine **P53** qui déclenche la **sénescence**.

Ca suggère que la sénescence nous protège du cancer en arrêtant la prolifération.



### c) Sénescence prématurée :

Différents mécanismes vont agir sur les voies de signalisation de dommages cellulaires, qui vont eux même induire un **stress insurmontable** pour la cellule qui entre en sénescence voir en apoptose.

La sénescence est un processus d'apoptose stoppé précocement.



## 2. Caractéristique de la sénescence

On définit la sénescence par une **combinaison** de caractéristiques qui ne sont pas forcément **spécifiques** de la sénescence.

(au moment ou je fais cette diapo, il est bientôt 5h du matin...  
donc please)



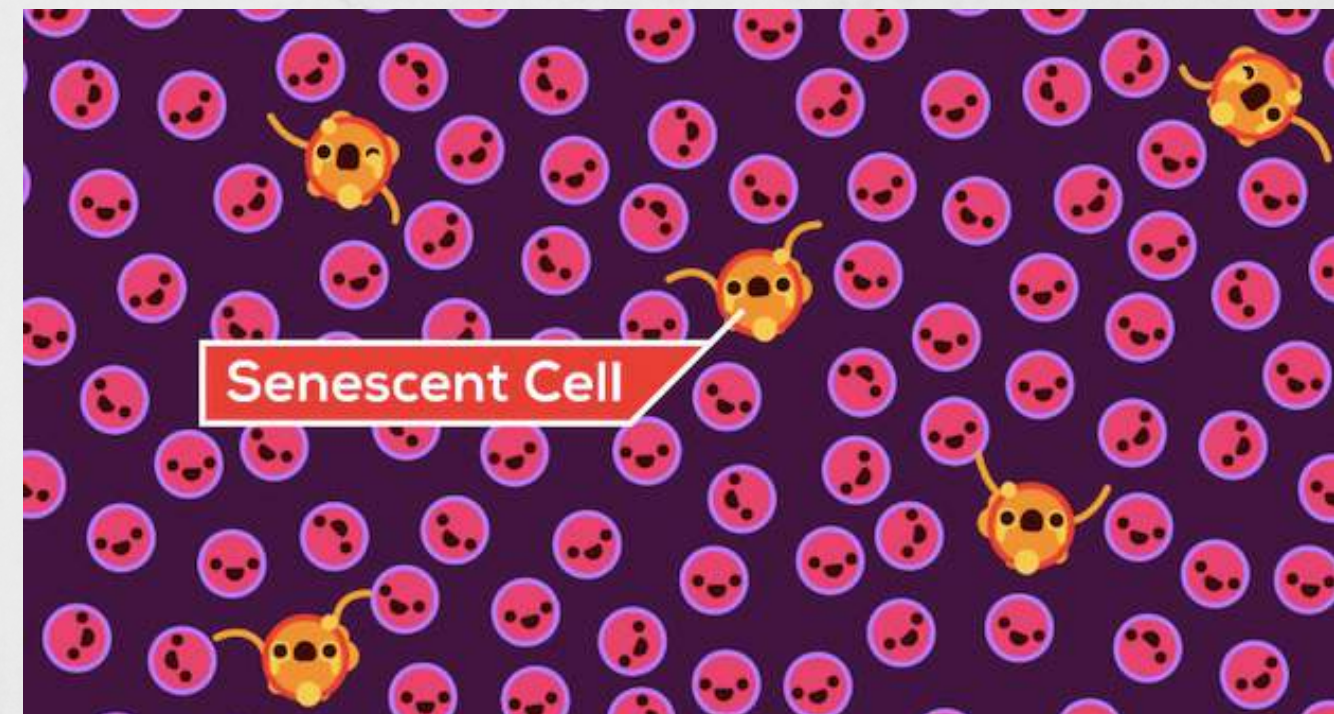
**APPLAUSE**

**DAMIENDOSOME**



## a) Caractéristique intra-cellulaire

- **Arrêt de prolifération** : Repérable via un cytomètre de flux
- Morphologique : Cellules **aplaties**, difficilement repérable car le contour est peu réfringent.
- Noyau : Apparition de **foyers d'hétérochromatine**.
- Altération de l'activité  $\beta$ -Galactosidase : Normalement non repérable
- Test en laboratoire
- Apoptose : **résistance** à l'apoptose





## b) Caractéristiques extra-cellulaire :

Sécrétion de facteurs spécifiques (ou SASP) :

- Libérés de manière **endocrine(sang)/paracrine (MEC)**
- Majoritairement des **facteurs pro-inflammatoires**
- Inflammation **locale** ambivalente :
  - => **Courte durée** : Recrute les cellules de **l'immunité** et favorise la **cicatrisation**
  - => **Longue durée** : Si un grand nombre de cellules sénescents persistent, cette inflammation va être responsable du phénomène de **vieillissement**



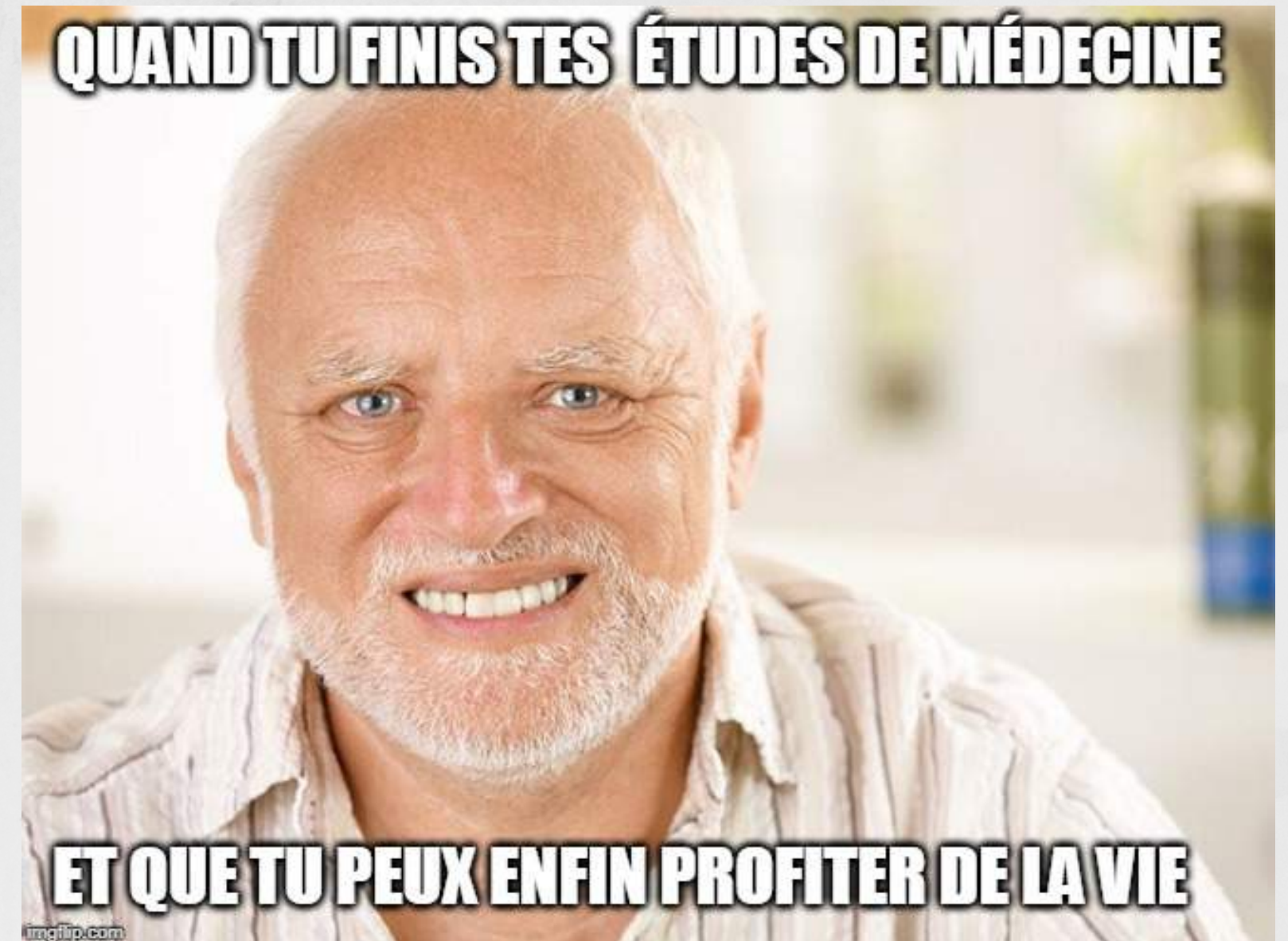


### 3. Devenir des cellules sénescentes

Une expérience a permis de mettre en évidence le devenir des cellules sénescence dans l'organisme :

★ **Initialement** : le système immunitaire va considérer les cellules sénescences comme des cellules **stressées** et va les **éliminer**.  
C'est **l'immuno-surveillance**.

★ **Cependant**, le système immunitaire est de **moins en moins compétent** avec le temps (accumulation de cellules sénescences) => environnement pro-inflammatoire => vieillissement du tissu..  
C'est **l'immuno-sénescence**.





# C) Mort cellulaire

Il existe 2 types de mort cellulaire très différentes : l'apoptose et la nécrose

## L'apoptose :



Correspond à la mort programmée des cellules = « suicide des cellules »



### a) Caractéristique :

★ Physiologique ou pathologique

★ Déclenchement contrôlée par des signaux intra ou extra-cellulaire

★ Cascades réactionnelles et l'activation de gènes spécifiques

★ Processus ATP-dépendant

★ Absence de réponse inflammatoire, cellules apoptotiques éliminées par phagocytose



## b) L'apoptose en physiologie :

**Embryogénèse** : L'apoptose est mis en jeu lors du développement embryonnaire :

=> Modelage des doigts



=> Remodelage du nombre de neurones au niveaux du cerveaux

Ces processus peuvent être source de malformation s'il y a un dysfonctionnement.



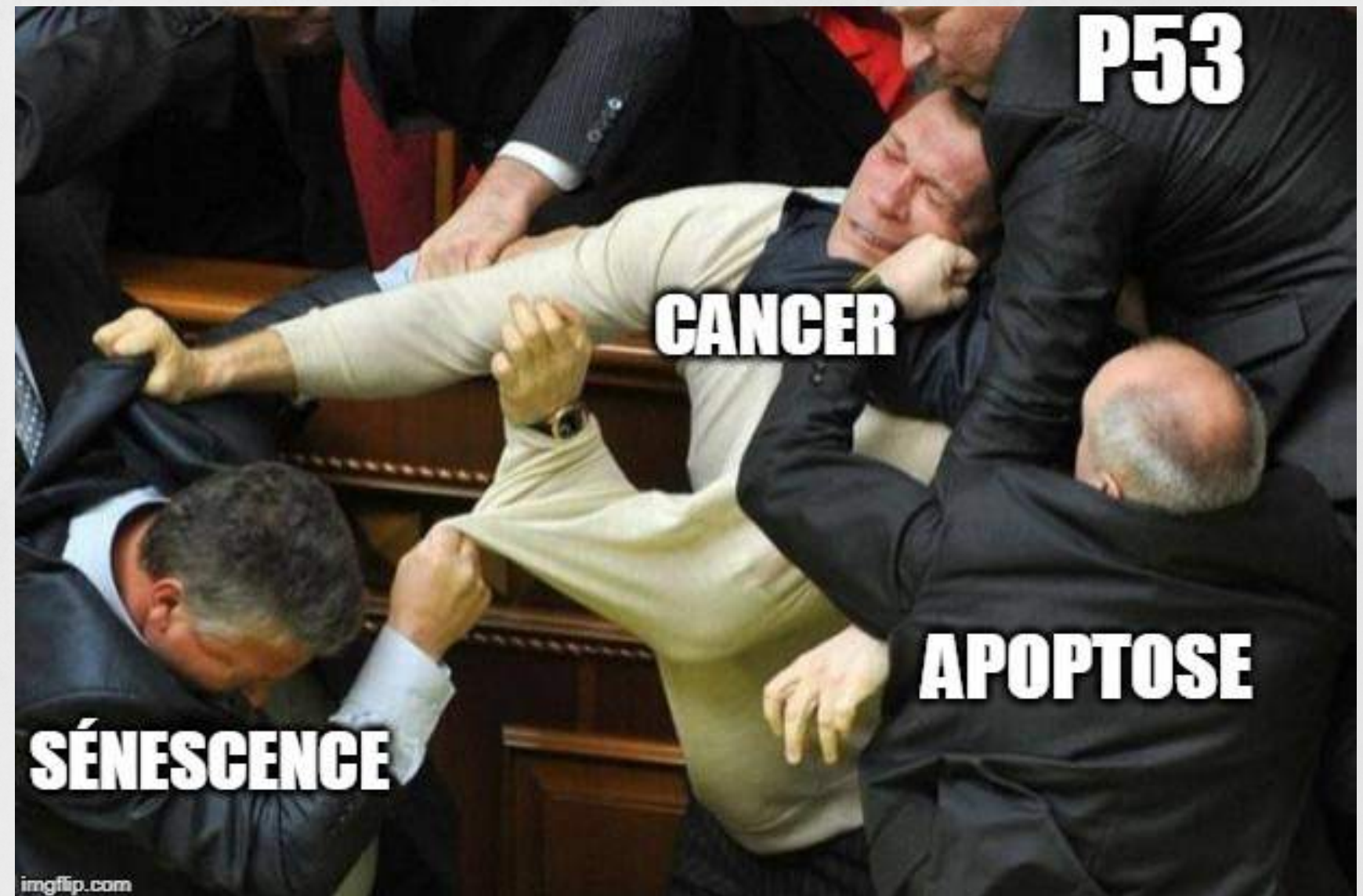
**Homéostasie tissulaire** : L'apoptose contribue à l'équilibre cellulaire :

=> L'excès d'apoptose provoque des **maladies dégénératives**

=> Un **déficit** est à l'origine des processus de **cancérisation**, maladies infectieuses

**Élimination** des cellules malades : Les cellules qui ont un défaut de fonctionnement sont éliminés.

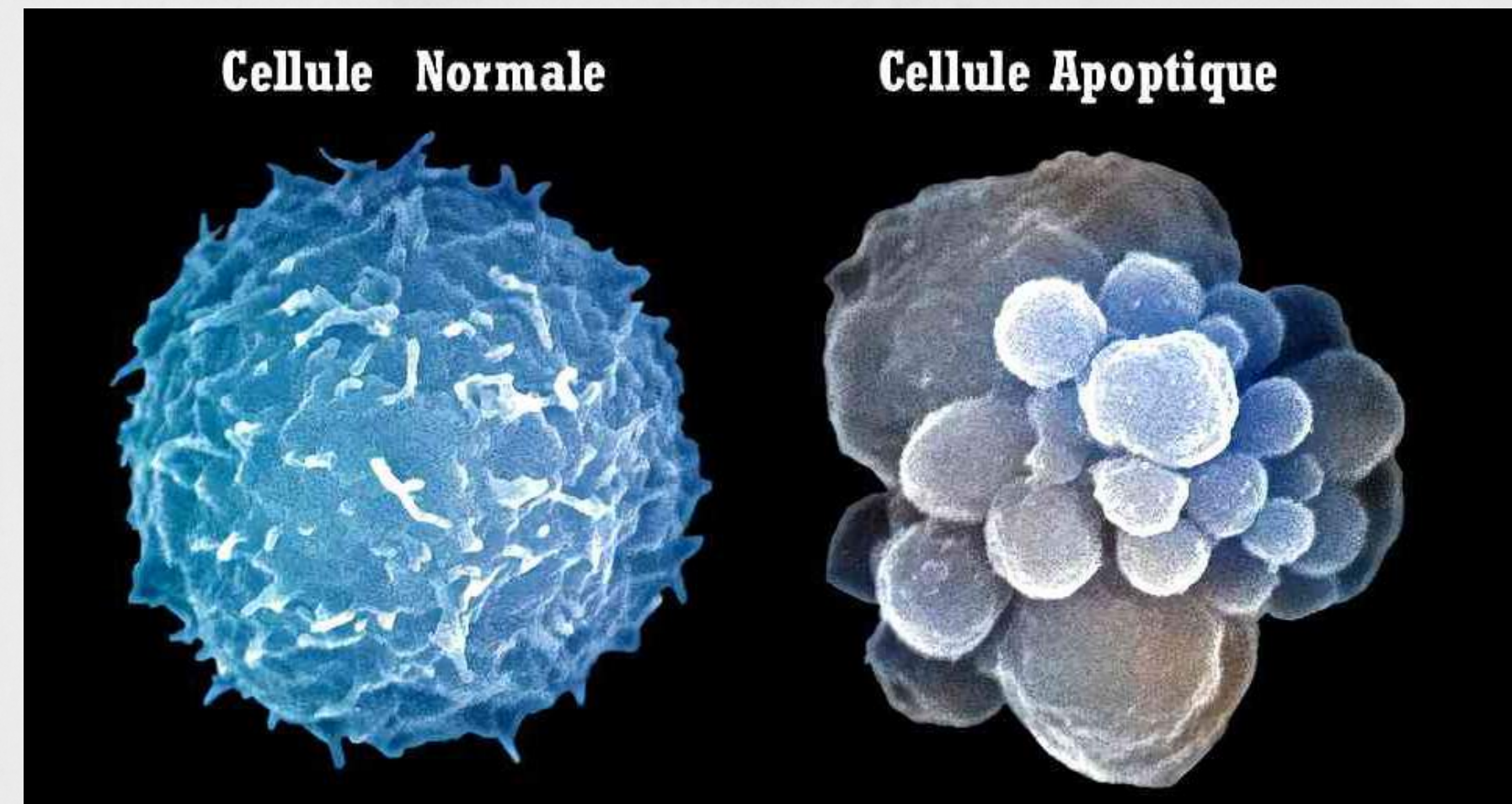
L'apoptose est un processus onco-supresseur très puissant.





## c) Caractéristique d'une cellule apoptotique :

1. Condensation **générale** de la cellule ( **pas de libération de contenu**)
2. Condensation anormale de la chromatine
3. **Fragmentation de l'ADN** entre les nucléosomes et noyau en forme semi-lunaire
4. **Fragmentation complète de la cellule** qui forme des **corps apoptotiques**
5. **Extériorisation** de la **phosphatidyl-sérine** (normalement intra-cellulaire), reconnue par les macrophages pour **phagocyter** la cellule **sans réaction inflammatoire**.





## d) Mécanismes d'induction de l'apoptose :

Le résultat final de l'apoptose sera la destruction de la cellule par protéolyse, ce mécanisme se met en place à l'aide des **caspases**, il en existe deux types :

Les caspases **initiatrices** ( 8.9.10 ) : protéases qui vont cliver les **pro-caspases effectrices** pour les rendre **actives**

Les caspases **effectrices** ( 3.6.7 ) : protéases qui vont effectuer des clivages protéiques **spécifiques** à **l'intérieur** de la cellule apoptotique.

L'apoptose peut être déclenché par 2 types de voies :

**La voie extra-cellulaire** : **mitochondrie indépendante**

Répond à des signaux **extérieurs**, par des **récepteurs de mort** ( super famille des récepteurs au TNF) via des protéines **intra-cytosoliques**.



## La voie intra-cellulaire : mitochondrie dépendante

- ★ Répond à des signaux intra-cellulaires de **stress**.
- ★ **Mitochondrie dépendante** : les mitochondries sont les réservoirs d'une hémoprotéine, le **cytochrome C** qui permet d'aboutir à la cascade d'activation des caspases.
- ★ Passe par des protéines de la famille BCL2, certaines ayant une action :
  - **Pro-apoptotique** : BAX (cible de p53), BAK, BAD (inhibe BCL2)
  - **Anti-apoptotique** : BCL2, BCL-X

Ces protéines ont pour **cible** les **mitochondries**, afin que celles-ci libèrent leurs cytochromes C dans le cytosol afin de former **l'apoptosome**.



**DES FOIS J'AI L'IMPRESSION  
DE PARLER DANS LE VIDE**



**QUELQU'UN M'ÉCOUTE ???**

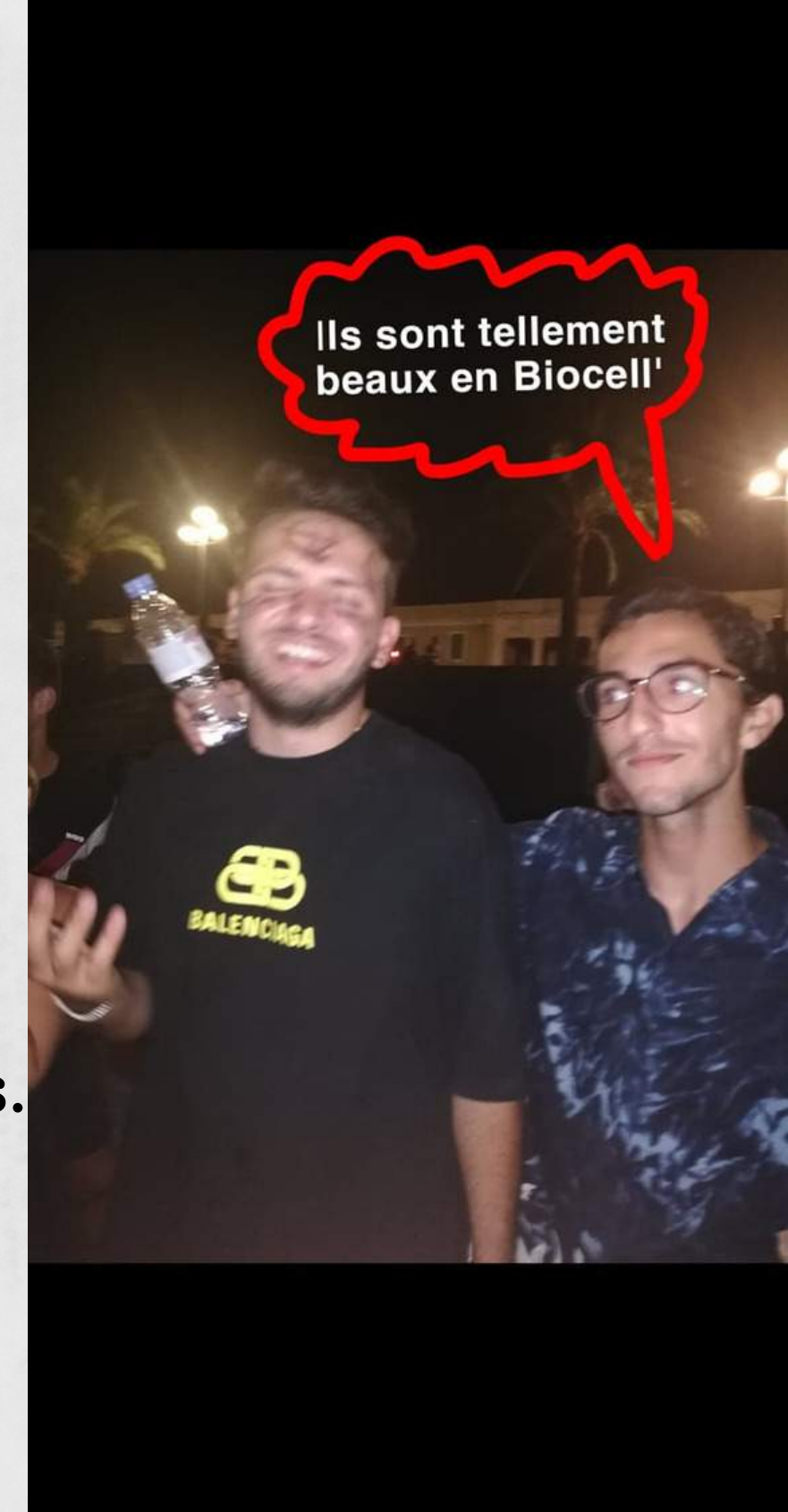


# La nécrose :

♥ Correspond à une mort cellulaire accidentelle ♥

## a. Caractéristiques de la nécrose :

1. physiologique ou pathologique.
2. Déclencher de manière non spécifique par des actions physique ou chimiques.
3. La cellule nécrotique gonfle puis explose avec une rupture de la membrane.
4. ATP-indépendant.
5. Présence de réponse inflammatoire à cause du contenu des cellules qui ont explosées.
6. L'inflammation amplifie le phénomène et la nécrose touche l'ensemble du tissu aux alentours.





## b) Caractéristique d'une cellule nécrosée :

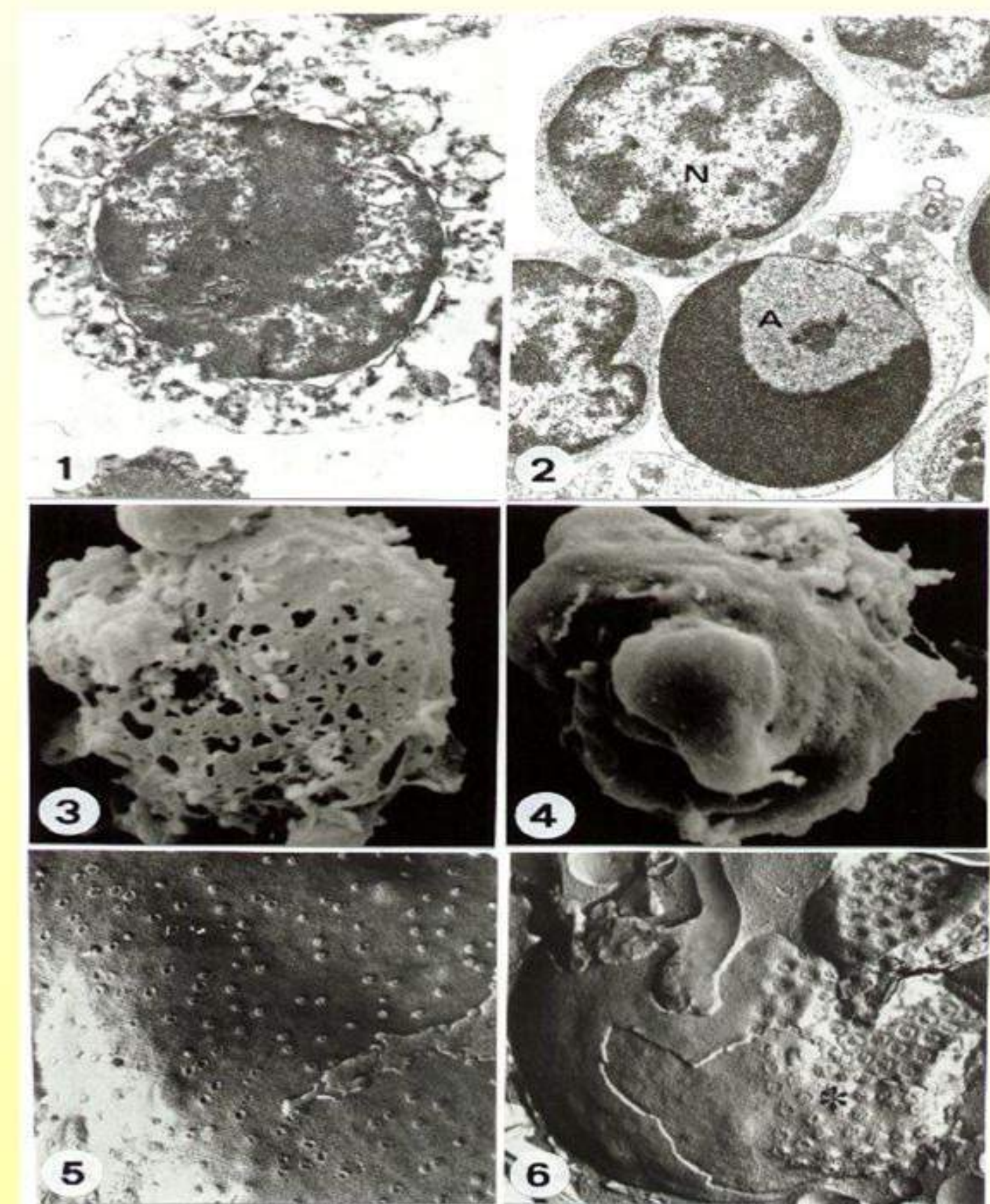
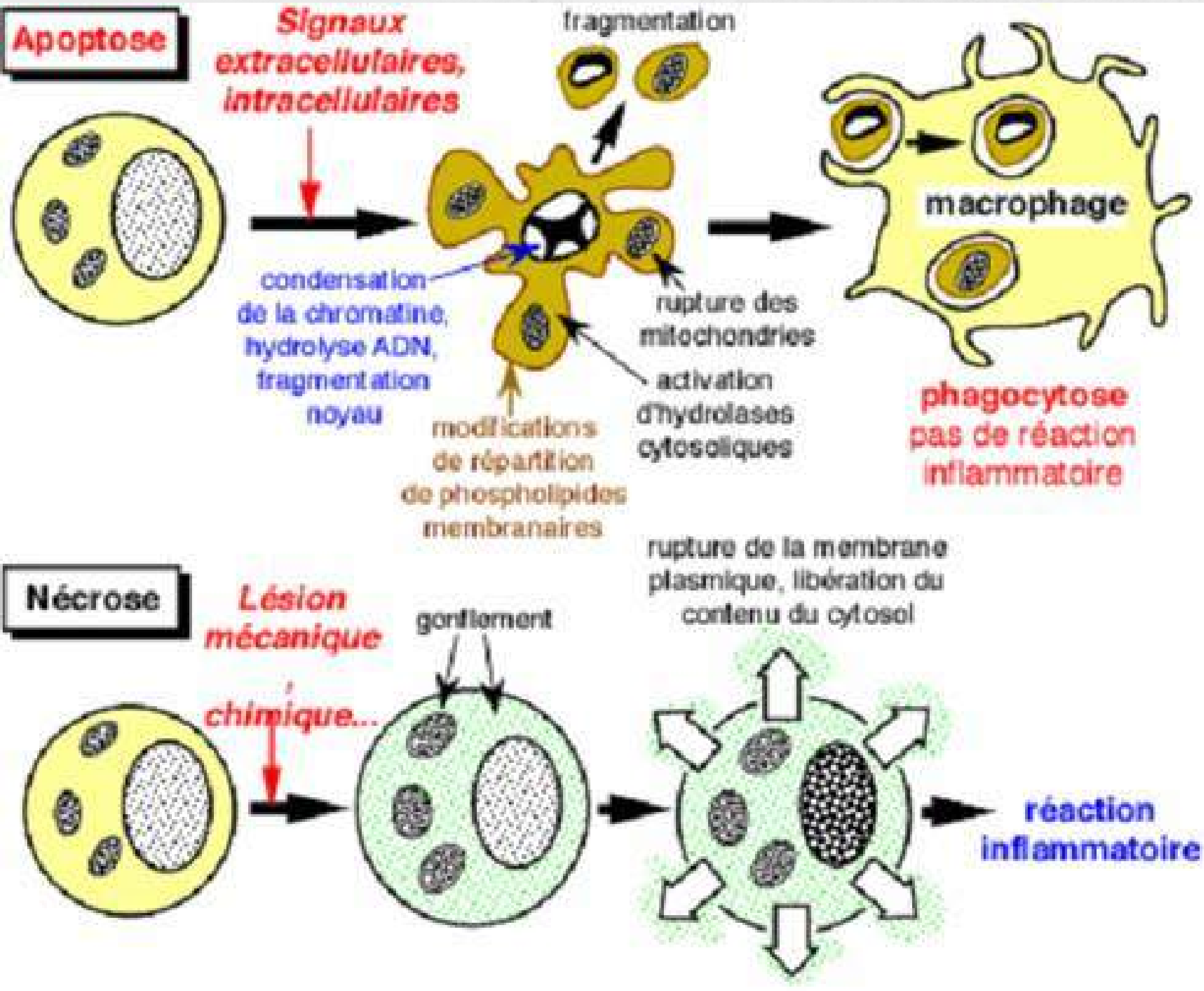
1. **Absence de condensation** de la cellule, de l'ADN.
2. La cellule **grossit** et **explose**, avec une libération de son contenu.
3. Libération de la **phosphatidyl-sérine à l'extérieur** car la cellule a explosé et son contenu intérieur a été libéré.

## c. Distinction entre cellule apoptotique et nécrotique :

Diverses techniques nous permettent de faire une **distinction** entre les cellules apoptotiques et nécrotiques tels que :

- Technique de la caspase 3
- Technique du pic Sub-G1
- Technique par double marquage

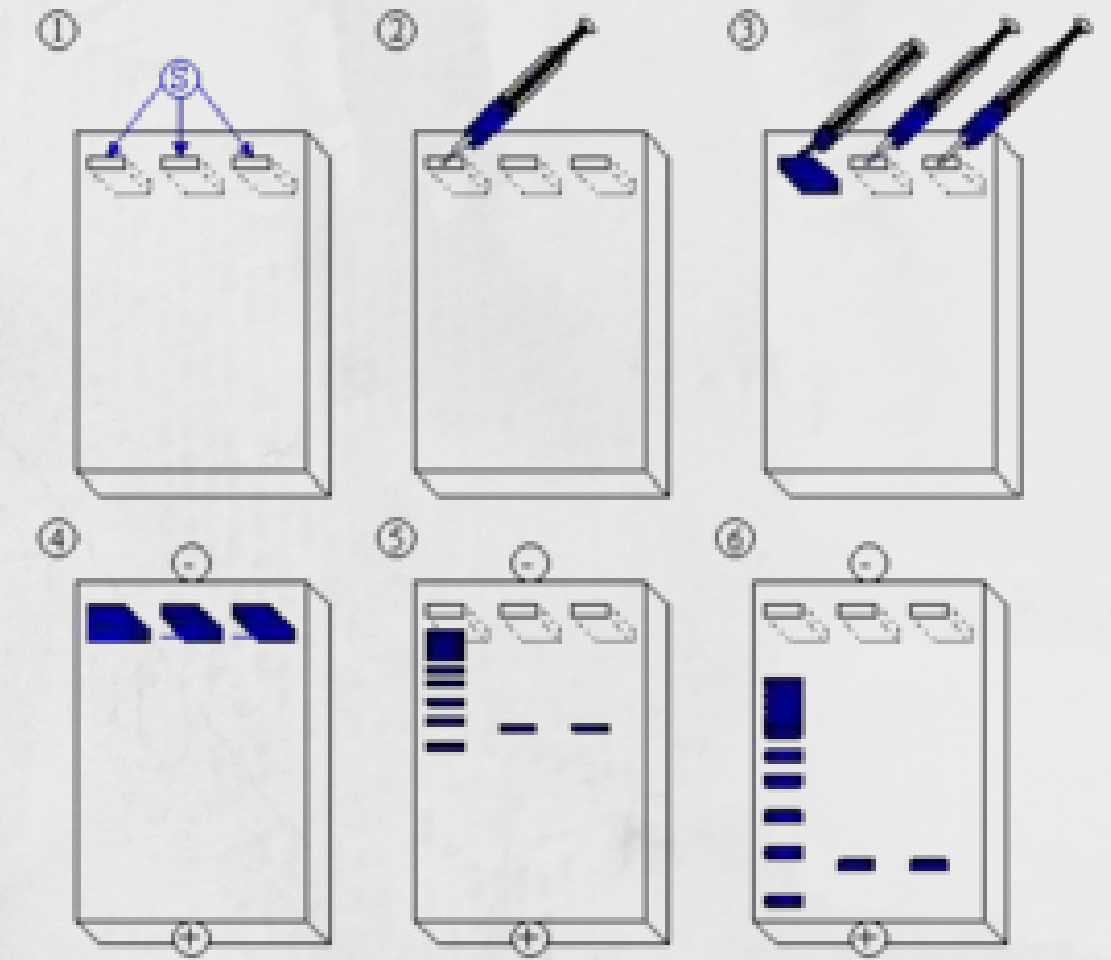






# Technique de la caspase 3

- ★ Technique par électrophorèse sur gel d'agarose
- ★ On va se baser ici sur le fait qu'en apoptose on va avoir une fragmentation de l'ADN (entre les nucléosomes) et de la chromatine en général.



## Rappel cytométrie de flux :

Procédé par lequel des cellules (rendues **fluorescentes**) circulent dans un appareil qui se chargera de les **analyser** individuellement et de déterminer leurs états (normale, apoptose, nécrose...) en fonction de la quantité de fluorescence.

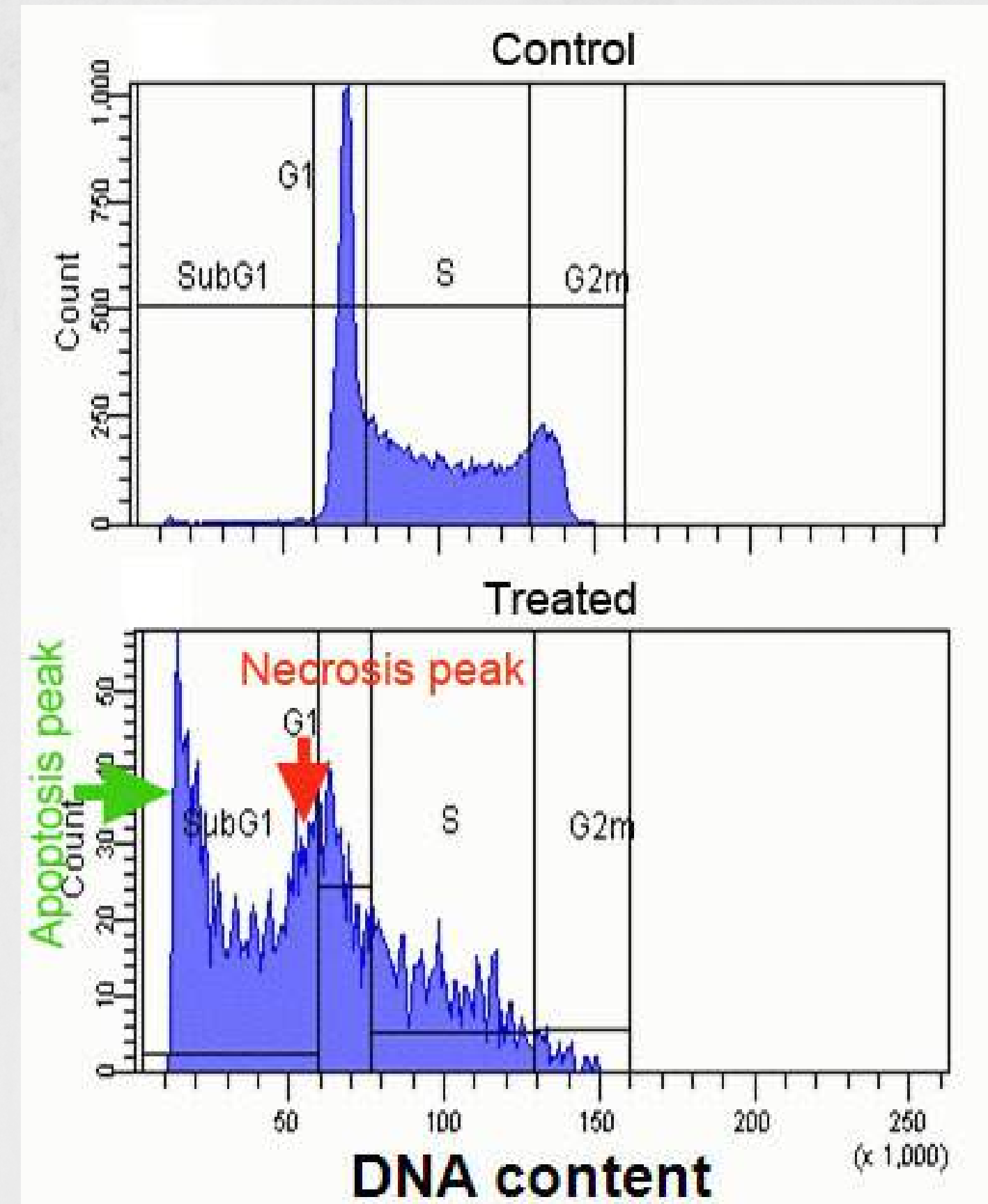
On utilise principalement 2 colorants de l'ADN :

- **L'Hoechst** : Traverse la membrane **sans perméabilisation** préalable de la cellule, Colore toutes les cellules (nécrotiques/apoptotiques/normales)
- **Iodure de propidium** : Nécessite que la cellule soit **perméabilisée**, Colore principalement les cellules **nécrotiques**.



# Technique du pic Sub-G<sub>1</sub>

- ★ Technique par **cytométrie de flux**  
On fixe préalablement les cellules donc elles sont **perméabilisées**.
- ★ Colore avec de **l'iodure de propidium**
- ★ On observe un **pic sub-G<sub>1</sub>** caractéristique de la **fragmentation** des cellules apoptotiques et de leur noyau (perte de certaines parties du noyau donc de matériel génétique, ce qui a une influence sur la quantité de fluorescence émise par la cellule).





# Technique par double marquage

- Technique par **cytométrie de flux**
- On **ne fixe pas** les cellules.
- On introduit les différents colorants



**QUAND LA  
BIOCELL ADOPTE**





## Premier type de marquage :

On observe par cytométrie de flux, la proportion de cellule **colorés** à **l'Hoecht** et à **l'iodure de propidium**.

Les cellules **nécrotiques** seront celles qui **fixeront le plus d'iodure de propidium**, car en l'absence de fixation des cellules, du fait de la libération de leurs contenues (ADN y compris), **ce sont les seules où le colorant peut se fixer sur l'ADN**.

Cependant, les deux types de cellules pourront fixer la **même** quantité **d'Hoecht**.





## Deuxième type de marquage :

On utilise la spécificité de l'externalisation de la phosphatidylsérine(PS) lors de l'apoptose grâce à une protéine spécifique de la PS via l'annexine 5.

Cependant le marquage reconnaît aussi bien l'apoptose que la nécrose.

Le double marquage à l'annexine 5 et à l'iodure de propidium permet de distinguer les deux types de cellules (Apoptotique/Nécrotique).

Franchement désolé j'ai pas réussi à trouver des images qui expliquent la technique du double marquage, j'essaierai d'en mettre sur le forum !



**C'EST BIENTOT FINI**

**JE VAIS POUVOIR RÉVISER**

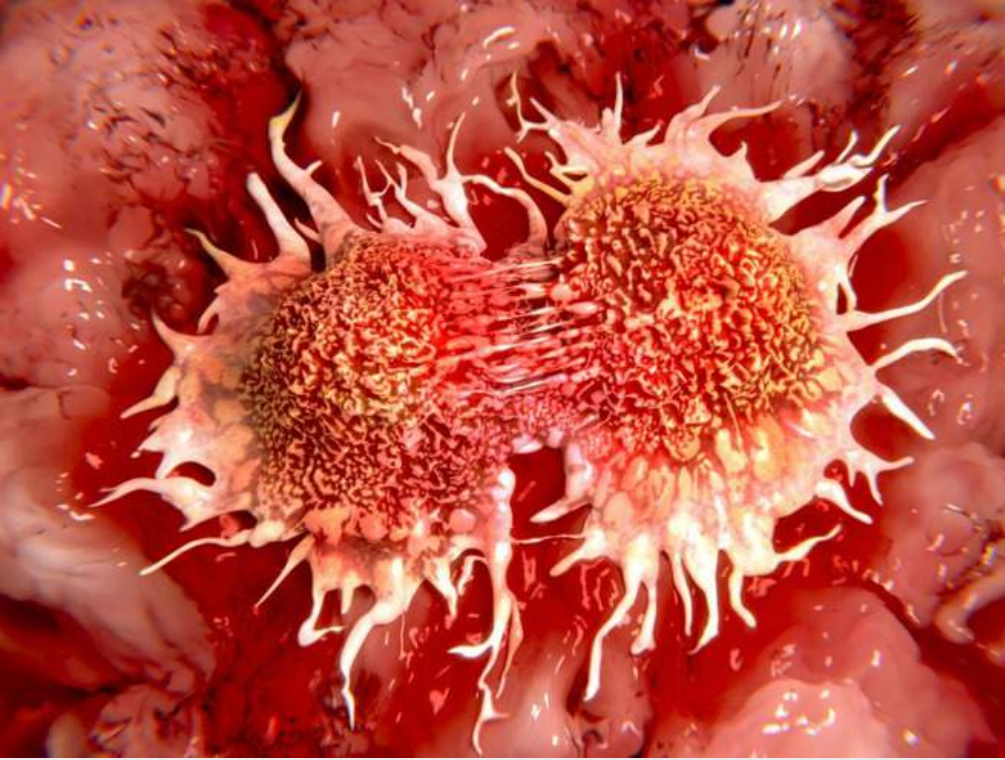


**ALLER  
EN BIOCELL**

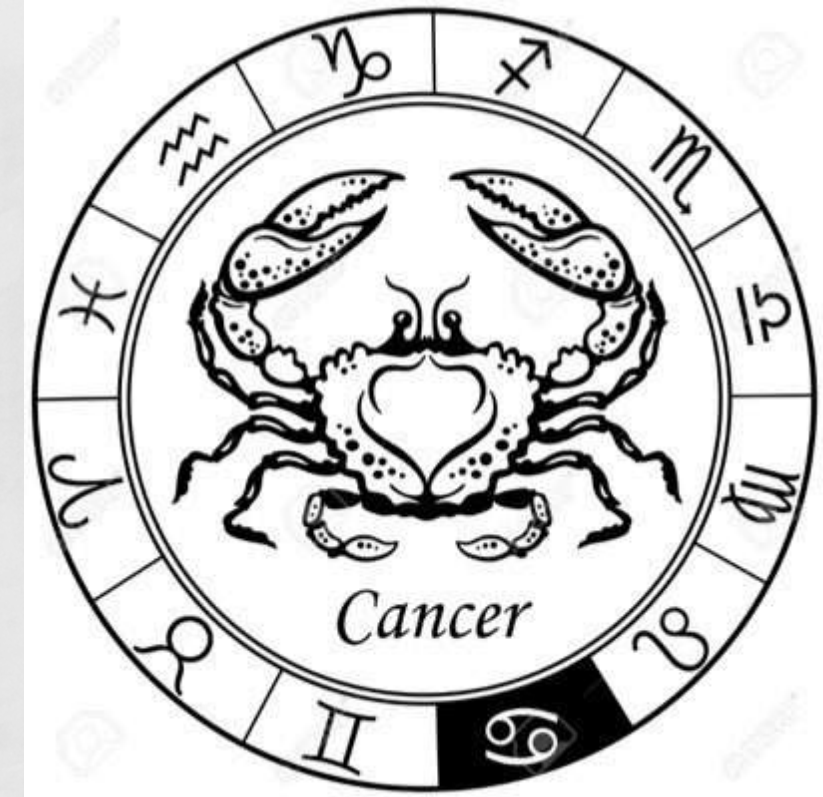


**PARTIR DE BIOCELL**





# Le cancer



## A) Introduction

Avant de traiter les mécanismes mis en jeu dans le processus de cancérisation, il faut placer dans le contexte les deux grandes familles de gènes impliqués :

### Oncogènes :

- Physiologiquement : **Absents** (on a des **proto-oncogènes**)
- Mutations : **Dominantes** (gain de fonction)  
=> Une seule mutation suffit
- Type de gènes impliqués : Gènes de la **prolifération cellulaire** ( ex : surexpression )



**On vous aime les p1**





## Suppresseurs de tumeurs :

- Physiologiquement : **Présent**
- Type de gènes impliqués : Gènes contrôlant la **réparation des dommages** à l'ADN, contrôlant le **cycle** cellulaire..
- Mutations : **Récessives** (pertes de fonctions)  
=> La mutation de deux allèles est nécessaire

Soyez attentif à cette photo



Oui vous avez bien vu...

♥ Le processus de cancérisation est une rupture de l'équilibre entre les oncogènes et les supresseurs de tumeur. ♥





**La tutrice d'Histo a bien  
écrit BIOCELL sur le front !**



(Noter son sourire ravie )



Caractéristiques principales acquises par une cellule normale dans la majorité des cancers :  
(Cette liste ni exhaustive ni chronologique).

1. Perte de la sénescence
2. Autonomie de croissance (Ex : La signalisation autocrine)
3. Contrôle anormal du cycle (Ex : La surexpression de cycline D)
4. Résistance à l'apoptose
5. Néo-angiogenèse : création de nouveaux vaisseaux sanguins « fragiles » pour les cellules cancéreuses.
6. Invasion et métastase (Sorti du tissu initial pour faire des métastase )

Info + : L'instabilité génétique va augmenter la fréquence des mutations qui pourront entraîner le processus de cancérisation.



# B) Caractéristiques du cancer

## 1. Notion de la sélection clonale

- Les cancers sont un ensemble de cellules **issues** d'une **seule** cellule.

Ces cellules sont hétérogènes, au cours de la progression il y a une **acquisition** de propriétés **différentes**.

### Implication thérapeutique :


Lors de l'administration d'une thérapie, on peut tuer 95% de la masse tumorale, mais **si 5% des cellules** ont acquis une **mutation** de résistance à la thérapie, la tumeur qui poussera de ces cellules-là sera bien **plus résistante**, c'est ça la **notion de sélection clonale** des tumeurs, qui **explique la résistance aux thérapies des cancers**.




## 2. Perte de la sénescence

La sénescence est une **barrière** contre les phénomènes **pro-oncogéniques**. La **perte** de la sénescence est considérée comme une caractéristique d'une cellule potentiellement tumorale.

Info + : Cette perte de la sénescence peut être la conséquence d'une mutation de l'ADN causant la perte d'un gène suppresseur de tumeur ou la synthèse de la télomérase par des cellules non concernées.



Pratiquement tous les gènes suppresseurs de tumeurs favorisent la sénescence et les oncogènes la contourne.





# C) Autonomie de croissance

La cellule devient **autonome**, elle décide elle-même de se diviser Ceci peut se produire suivant différents mécanismes :

- Surexpression des **Facteurs de croissance et des cytokines**

- ★ La tumeur sécrète ses propres facteurs de croissance :  
Stimulation **autocrine**

- Surexpression/sur activation du **récepteur**

- ★ En surexprimant des formes normales/mutées du récepteur

**La médecine personnalisée** c'est de voir les caractéristiques des cancers et **agir en fonction des caractéristiques qui sont propre à chaque patient.**





## D) Résistance à l'apoptose

Les cancers ne sont pas forcément une augmentation trop importante de cellule, parfois c'est une **accumulation** de cellule.

(Oui c'est tout pour D)

## E) Néo-angiogénèse

Le processus normal de formation de vaisseaux est **l'angiogenèse**. On parle de **néo-angiogenèse** quand il s'agit de la formation de **nouveaux vaisseaux anormaux dans les tumeurs**.

Les tumeurs sont **hémorragiques** elles vont faire en sorte d'augmenter localement la concentration de vaisseaux (et donc d'O<sub>2</sub>).

Ces vaisseaux sont souvent malformés, ils ont des trous, pouvant entraîner des saignements.

La néo-angiogenèse est un phénomène majeur et donc sert de cible thérapeutique très importante.



**Voila voila c'est  
fini pour ce  
cours !**

**La biocell squad  
revient bientôt !**



**FINIR LE  
COURS DE BIOCELL**



**RÉALISER  
QU'IL EN RESTE 1**