

Les modes de transmission des caractères et des maladies héréditaires

Objectif :

- Etudier les caractéristiques des modes de transmission des caractères et des maladies héréditaires.

PLAN :

La transmission héréditaire autosomique

La transmission autosomique dominante

La transmission autosomique récessive

La transmission héréditaire liée au sexe

La transmission héréditaire récessive liée au chromosome X

La transmission héréditaire dominante liée au chromosome X

La transmission héréditaire liée au chromosome Y

L'hérédité multifactorielle

L'hérédité mitochondriale

La transmission autosomique

La transmission autosomique dominante (AD)

1- Définition : Un caractère est dominant quand le gène exerce le même effet aussi bien à l'état hétérozygote qu'à l'état homozygote.

2- Critères de reconnaissance :

- Le caractère apparaît à chaque génération (ne saute pas de génération, sauf lorsque la pénétrance est réduite) : hérédité verticale.
- Les deux sexes sont touchés dans les mêmes proportions
- Dans une fratrie 50% des sujets sont malades et 50% des sujets sont sains
- Les sujets indemnes ne transmettent pas la maladie

Tableau de croisement : A' caractère morbide dominant

Gamètes	A	A
A	AA	AA
A'	AA'	AA'

50% AA' malades

3- Caractéristiques :

Modes de transmission des caractères et des maladies héréditaires

- La pénétrance d'une maladie dominante est le rapport qui donne le pourcentage des sujets porteurs du gène morbide et qui sont malades

Rapport de la pénétrance : Nombre des sujets phénotypiquement malades

Nombre des sujets AA'

Une pénétrance incomplète quand on peut avoir le génotype à risque sans être atteint de la maladie,

- une expressivité variable quand, pour un même génotype à risque, la maladie peut prendre différentes formes,
- une empreinte parentale quand la maladie dépend du fait que la mutation responsable a été transmise par le père ou par la mère.
- l'anticipation réfère à un phénomène d'apparition plus précoce d'une maladie d'une génération à l'autre accompagnée de manifestations de plus en plus sévères

NB : une maladie génique est soit héritée (transmise de génération en génération) ; elle est alors congénitale, soit d'apparition nouvelle par une mutation : néomutation ou mutation de novo. La fréquence des néomutations seraient d'autant plus élevée que l'âge du père est avancé

Exemples de maladies

- La neurofibromatose de Recklinghausen pénétrance de 80 à 100%
- L'otosclérose ou otospongiose 40%
- Le rétinoblastome héréditaire 80%
- La chorée de Huntington 40% à 40 ans ; 100% à 70ans

La transmission autosomique récessive (AR)

Définition: Un caractère est récessif quand le gène n'exerce son effet qu'à l'état homozygote.

Critères de reconnaissance

- Les sujets atteints naissent de parents normaux mais tous les deux hétérozygotes pour le gène Morbide: c'est hérédité horizontale.
- Les deux sexes sont touchés dans les mêmes proportions.
- Dans la fratrie d'un malade, $\frac{1}{4}$ des sujets sont atteints.
- Les parents d'un malade sont souvent consanguins.

Modes de transmission des caractères et des maladies héréditaires

<i>Gamètes</i>	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

a: caractère morbide récessif

25% aa malades

Exemples de maladies AR:

- Certains types de glycogénose.
- Les intolérances aux sucres : galactose, fructose, saccharose, lactose.
- Certains types de mucopolysaccharidoses,
- La plupart des troubles du métabolisme des acides aminés: phénylcétonurie, tyrosinose...
- De nombreuses anomalies du métabolisme des lipides.
- Maladie de Wilson.
- De nombreux troubles de l'hormonosynthèse, thyroïdienne et surrénalienne surtout.
- Mucoviscidose. etc...

La transmission héréditaire liée au sexe

Hérédité récessive liée au chromosome X (RLX):

Définition : Un gène lié à l'x se manifeste chez le garçon (hémizygote), chez la fille le gène ne se manifeste qu'à l'état homozygote

Critères de reconnaissance

- Les sujets atteints sont des garçons, ils naissent généralement de parents normaux.
- Ils naissent d'une union entre une femme hétérozygote (normale mais conductrice) et un père normal.
- Dans la famille du père, les sujets sont sains ; par contre, dans la famille de la mère les hommes sont malades.
- Dans la fratrie des atteints, un garçon sur deux est malade, et une fille sur deux est conductrice.

Modes de transmission des caractères et des maladies héréditaires

<i>Gamètes</i>	<i>X</i>	<i>X'</i>
<i>X</i>	<i>XX</i>	<i>XX'</i>
<i>Y</i>	<i>XY</i>	<i>X'Y</i>

X' : chromosome X porteur du gène morbide

XX' : femme conductrice *X'Y* :

homme malade

Exemples de maladies RLX:

- Daltonisme
- Hémophilie A et B
- Angiokeratose diffuse (Maladie de Fabry)
- Myopathie type Duchenne
- Agammaglobulinémie type Bruton
- Déficit en G6PD...

Hérédité dominante liée au chromosome X

Les lois de l'hérédité autosomique dominante s'appliquent dans cette situation.

Exemples : - Rachitisme vitamino-résistant

- Ichtyose grave.

Hérédité liée au chromosome Y

Ce sont les garçons qui reçoivent le gène porté par le chromosome Y.

Le gène responsable de la masculinisation chez les garçons est transmis de père en fils par ce mécanisme. Il est porté par le chromosome Y au niveau d'une région dénommée TDF et plus précisément au niveau du SRY.

L'hérédité multifactorielle

C'est une hérédité polygénique avec l'intervention des facteurs de l'environnement.

Ce mode de transmission requiert l'intervention de plusieurs gènes à effets cumulatifs ; l'effet apparaît par addition des effets de ces gènes sans dominance, chacun d'eux contribuant de façon plus ou moins importante au phénotype.

On calcule le coefficient de ressemblance entre les apparentés allant de 0 à 1.

Le facteur de consanguinité augmente le risque de l'apparition de ces caractères..

Quand un caractère touche un sujet de sexe habituellement le moins touché, la probabilité est accrue pour les apparentés.

Exemples de caractères et de maladies multifactoriels :

La taille

L'allergie, l'asthme

Bec de lièvre

Maladies cardio-vasculaires

Epilepsie

Schizophrénie

Diabète

Luxation congénitale de la hanche

L'hérédité mitochondriale

Elle est maternelle car les mitochondries de l'œuf sont d'origine maternelle. On parle alors d'hérédité cytoplasmique.

Les maladies mitochondrielles sont d'origine maternelle.

Les Mutations de l'ADN

Définitions et généralités

La fréquence des mutations

Les types de mutations et leurs conséquences

Une mutation est tout changement accidentel et héritable de la séquence de l'ADN, sans préjuger de sa pathogénicité.

Ce terme a été utilisé pour la première fois en 1901 par Hugo de Vries.

Les mutations chromosomiques ou génomiques sont des changements du nombre ou de la structure des chromosomes.

Les mutations géniques sont des changements qui n'altèrent généralement pas la structure des chromosomes (caryotype normal).

Ces anomalies peuvent se produire aux différents stades de la vie cellulaire. On distingue les mutations germinales qui affectent les gamètes et les mutations somatiques qui affectent les autres cellules ; les premières sont transmissibles aux descendants, les autres sont transmissibles aux clones cellulaires.

Les mutations ont généralement des conséquences délétères (rarement avantageuses) sur l'organisme. Elles peuvent aussi conférer un avantage sélectif au niveau d'un clone cellulaire (oncogénèse) ou pour une espèce donnée (évolution).

I- La fréquence des mutations

Chez l'Homme, la détection des mutations germinales et l'estimation de leur taux est confronté au problème de la **diploïdie**. La plupart des mutations sont récessives et non décelables jusqu'à la formation d'une cellule-œuf homozygote.

Pour avoir une idée du taux de mutations, on s'intéresse aux mutations dominantes intervenant sur les autosomes ou aux mutations dominantes et récessives intervenant

le chromosome X. Le taux, chez l'Homme, est très variable. Les calculs donnent une moyenne de 1×10^{-6} par gène et par génération.

La fréquence des mutations est liée, d'une part à la **dimension** du gène (plus le gène est "volumineux" ou plus il renferme de régions codantes et plus la probabilité de mutation est forte), d'autre part à l'existence dans le gène de **séquences** fortement **mutagènes** dites "**points chauds**" ou « **hot spots** ».

II- Les types de mutations et leurs conséquences

On décrit plusieurs types de mutations selon leur morphologie ou les mécanismes de leur survenue

A- Les mutations ponctuelles.

Les mutations ponctuelles concernent un seul nucléotide.

1- Les substitutions : sont le remplacement d'une base par une autre. On distingue 2 variétés :

- les **transitions** : purine remplacée par une purine ou pyrimidine par une pyrimidine
- les **transversions** : pyrimidine remplacée par une purine ou l'inverse.

Conséquences :

- **Mutation conservative (silencieuse)** : cette mutation ne modifie pas l'acide aminé intégré dans la chaîne polypeptidique.
Exemple : la drépanocytose : glutamine (CTC) remplacée par valine(CAC) pour le codon 6 de la chaîne bêta de l'hémoglobine.
- **Mutation faux sens** : c'est la modification du sens du codon, qui peut engendrer le remplacement d'un acide aminé par un autre

- **Mutation non sens** :

Dans ces cas, les substitutions aboutissent à des codons stop (UAA, UAG, UGA sur l'ARNm), ce qui entraîne l'interruption de la traduction. Il en résulte généralement la synthèse d'une protéine écourtée.

- **Mutation élongation**: la mutation touche un codon stop qui devient un codon traduisible en un acide aminé, il en résulte une protéine plus longue.

2- Les délétions et les insertions des bases : Mutations décalantes

Il s'agit ici de la délétion ou de l'insertion d'une base, de deux bases ou d'un non multiple de 3 bases ce qui décale le cadre de lecture (frame shift).

NB : l'insertion ou la délétion peut même être de la taille de tout un codon ou de plusieurs codons (ce qui n'engendre pas de décalage du cadre de lecture).

NB : Des mutations peuvent siéger au niveau du promoteur ou de la zone de régulation de la transcription d'un gène ou dans les introns (c'est-à-dire, dans des régions non codantes), ce qui peut affecter la transcription, la maturation ou la traduction.

B- Les mutations dynamiques

Elles sont encore appelées mutations instables. Ces mutations évoluent d'une génération à l'autre. Elles correspondent à des répétitions importantes de certains triplets au niveau de l'ADN (CAG et GGG). Ces répétitions peuvent se faire à proximité ou à l'intérieur d'un gène ce qui a pour effet de diminuer, modifier ou supprimer l'effet d'un gène.

Elles se rencontrent dans certaines maladies génétiques : (Syndrome de l'X fragile, dystrophie myotonique de Steinert, Chorée de Huntington).

C- Autres types de mutations

- Mutations de grande taille parfois visibles sur caryotype ordinaire.
- Fusion de gènes
- Suppression de gènes.
- Disomies uniparentales.
- Autres....

La cytogénétique humaine

Plan

- **Introduction**
- **Cytogénétique classique ou conventionnelle**
- **Cytogénétique moléculaire**

L'histoire de la cytogénétique moderne a commencé en 1956, avec l'établissement du premier caryotype humain par Tijo et Levan. Avant, la détermination du nombre exact de chromosomes dans une cellule humaine s'était heurtée à de multiples difficultés techniques. L'utilisation d'une solution hypotonique, mise au point par Hsu quelques années auparavant a été à la base de l'obtention de caryotypes interprétables. Par la suite, les progrès continus se sont succédés, grâce d'une part à des **améliorations techniques** permettant d'obtenir des préparations de bonne qualité (banding) et d'autre part à l'identification de **corrélation entre certaines anomalies chromosomiques et des maladies**, qu'elles soient **constitutionnelles** (ou germinales, présentes dans toutes les cellules de l'individu depuis sa conception), ou **acquises** (survenant dans les cellules tumorales lors du processus de cancérogénèse).

L'autre révolution est **l'apport de techniques moléculaires** complétant la cytogénétique conventionnelle (FISH, CGH array) permettant de caractériser des anomalies de plus en plus complexes et de plus en plus fines.

La cytogénétique classique ou conventionnelle « caryotype » :

La cytogénétique « conventionnelle » reste toujours indispensable à l'étude du génome humain malgré ces avancées dues à l'introduction de méthodes moléculaires.

A la différence des méthodes ciblées (FISH), l'analyse du caryotype fait partie des méthodes globales d'analyse du génome d'un individu ou d'une population cellulaire.

I- Principes de réalisation d'un caryotype :

A- Le caryotype se fait sur des cellules vivantes :

Le caryotype est un classement des chromosomes d'un individu.

Il est établi à partir de préparations cellulaires au **stade métaphasique** (stade où les chromosomes sont suffisamment condensés pour pouvoir être visualisés). L'analyse du caryotype ne pourra donc être réalisée que si l'on dispose de cellules vivantes (un prélèvement frais).

B- Principaux types de prélèvements pour analyse du caryotype et leurs indications

La nature du prélèvement sera dépendante de l'indication médicale.

- 1- Quand risque familial de pathologie chromosomique (une translocation portée par un des parents), ou lorsque le risque est dû à l'âge de la mère, à une anomalie morphologique décelée à l'échographie ou suite à des bilans biologiques réalisés pendant la grossesse, le prélèvement le plus courant est celui du liquide amniotique obtenu par **amniocentèse**. Plus rarement, il s'agira de villosités choriales ou de sang fœtal. C'est **le diagnostic constitutionnel prénatal**.
- 2- Quand il y a un retard mental, des troubles de comportement, une dysmorphie, des anomalies du développement ou des difficultés de procréation, le prélèvement le plus courant est **sanguin**. C'est **le diagnostic constitutionnel postnatal**.
- 3- Dans le cadre **du diagnostic des anomalies acquises** dans les cellules tumorales, le caryotype a pour but d'apporter une aide diagnostique par la recherche d'anomalies spécifiques corrélées à un type de tumeur, ou bien d'évaluer un pronostic ou de permettre un suivi de l'évolution de la maladie cancéreuse. En **onco-hématologie**, le caryotype sera principalement réalisé sur un **prélèvement de moelle osseuse ou de ganglion**. Dans le cas des **tumeurs solides**, l'échantillon à étudier sera **un fragment tumoral** après biopsie ou exérèse chirurgicale.

II- Réalisation d'un caryotype : principales étapes

1- Culture cellulaire :

Le but de la culture cellulaire est de disposer d'un nombre suffisant de cellules en phase active de division au stade métaphasique.

La culture cellulaire est réalisée dans un incubateur humide, à 37°C.

La durée d'incubation est très variable (quelques heures pour certains prélèvements de sang, de moelle osseuse, ou de trophoblaste, et plusieurs jours, voire plusieurs semaines, pour des prélèvements tissulaires ou des tumeurs solides).

Les cellules sont réparties dans des flacons ou boîtes de culture en présence d'un milieu de culture contenant parfois un agent mitogène, comme dans le cas des caryotypes sanguins.

Toutes les manipulations nécessitent une asepsie rigoureuse.

Très rarement, quand on a affaire à un prélèvement contenant des cellules en phase très active de prolifération, il est possible de procéder à un examen direct sans culture préalable.

2- Adjonction de colchicine :

La colchicine inhibe la formation du fuseau mitotique. Ainsi en présence de colchicine toutes les cellules arrivant en mitose resteront bloquées au stade de métaphase sans passer à celui d'anaphase.

3- Action d'une solution hypotonique :

Elle provoque une entrée d'eau dans la cellule, qui produira l'éclatement des membranes cytoplasmiques et une séparation relative des chromosomes jusque-là compactés les uns contre les autres dans le noyau tout en les maintenant relativement groupés.

4- Fixation (par mélange d'éthanol ou de méthanol et d'acide acétique)

Permet la conservation des préparations métaphasiques.

5- Etalement : des préparations métaphasiques sur des lames.

6- Dénaturation des bandes chromatidiennes et coloration :

Les lames sont ensuite traitées soit par digestion enzymatique soit par la chaleur, afin de dénaturer la chromatine et de faire apparaître les bandes chromatidiennes après coloration.

Les 2 techniques de dénaturation-coloration les plus utilisées en routine sont les bandes GTG et RHG.

7- Classement du caryotype et interprétation :

Les lames de préparations chromosomiques métaphasiques ainsi obtenues sont examinées au microscope. Le but de cet examen est de sélectionner un nombre suffisant de cellules en métaphase (16 à 20 images métaphasiques) afin de compter leurs chromosomes et de repérer les anomalies numériques ou structurales éventuelles (résolution de 3Mb).

On désigne par p le bras court du chromosome et q son bras long.

On décrit sur un chromosome des régions, des bandes et des sous bandes.

Les cellules en métaphase sélectionnées seront ensuite caryotypées : les paires de chromosomes sont classées par ordre de :

- Taille, du plus grand au plus petit ; ainsi les autosomes sont classés du N°1 au N°22 et les gonosomes sont classés à part.
- Répartition de leurs bandes chromatidiennes.
- Position du centromère par rapport aux extrémités (chromosomes métacentriques p=q, sub-métacentriques p<q et acrocentriques p=0 (chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22)).

Le caryotype humain normal s'écrit : 46,XX ou 46,XY.

Un chromosome anormal sera disposé à droite au sein de sa paire chromosomique.

III- Différents types d'anomalies chromosomiques :

Les anomalies chromosomiques sont de deux types : numérique et structurale

A- Anomalies numériques : aneuploïdies

Les anomalies numériques vont consister en des gains ou des pertes d'un ou de plusieurs chromosomes entiers.

On distingue 3 types d'anomalies du nombre :

1- Les anomalies du nombre homogènes

Elles touchent toutes les lignées cellulaires d'un individu et résultent de la non disjonction des chromosomes homologues ou des chromatides sœurs en méiose.

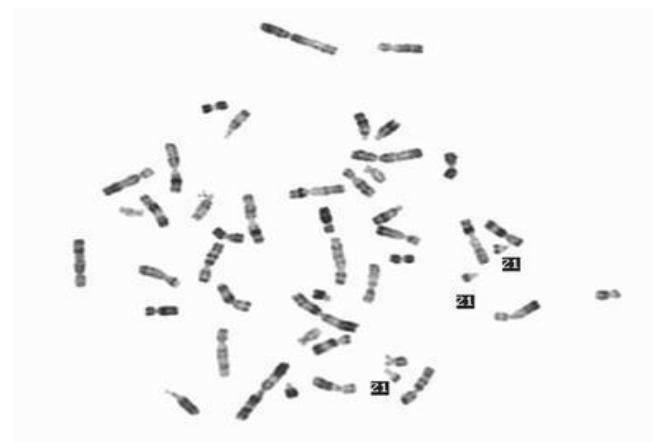
Elles peuvent porter sur les autosomes et/ou les gonosomes.

a- Sur les autosomes :

Monosomies : perte d'un chromosome : anomalie létale.

Trisomie : chromosome surnuméraire : trisomie 21, 13 et 18.

b- Sur les gonosomes : Syndrome de Turner 45,X, Syndrome de Klinefelter 47,XXY, les femmes 47,XXX, et les hommes 47,XYY



2- Anomalies du nombre en mosaïque

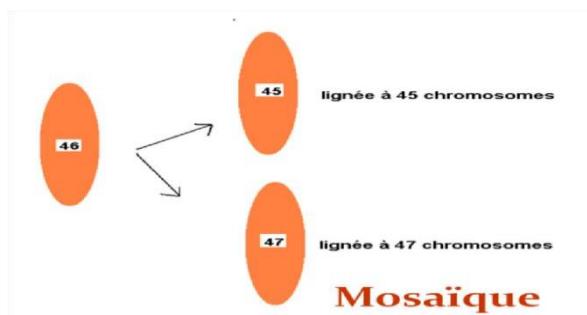
Elles résultent d'une non disjonction mitotique post-zygotique.

Un individu en mosaïque est constitué de 2 à plusieurs clones différents.

L'intensité du phénotype dépend du dosage respectif de ces populations.

47,XXY[15]/46,XY[23] Syndrome de Klinefelter en mosaïque.

45,X[10]/46,XX[25] Syndrome de Turner en mosaïque.



3- Les polyplioïdies (cf : cours méiose)

B- Anomalies structurales

On distingue les anomalies touchant un seul chromosome de manière isolée et les anomalies qui touchent simultanément 2 à plusieurs chromosomes avec échanges de fragments.

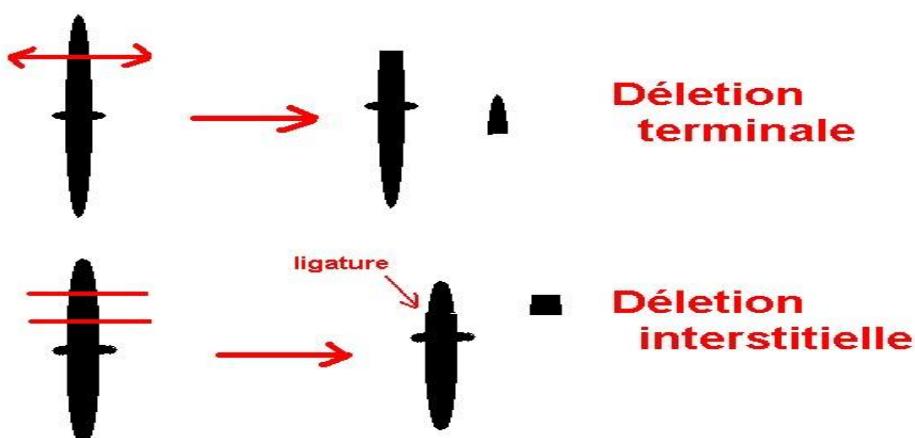
1 - Anomalies touchant un seul chromosome

a- La délétion chromosomique :

C'est la perte d'un fragment chromosomique. Elle peut être :

- Terminale : extrémité d'un chromosome (4p- syndrome de Wolf ; 5p- cri du chat)
- Interstitielle : dans le soma du chromosome, double cassure puis recollement

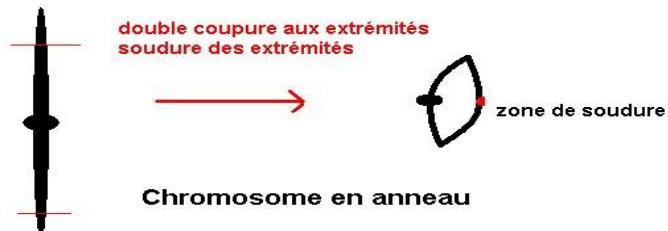
La perte peut être ponctuelle (microdélétion), d'où l'intérêt de la cytogénétique moléculaire. La symptomatologie dépend de la taille et de la localisation du fragment déleté.



b- Chromosome en anneau

Cassure aux 2 extrémités du chromosome, perte des fragments puis soudure des extrémités.

Exemple syndrome de Turner en anneau : 46,Xr(X) noté r pour **ring**.



c- Inversion

Double cassure sur un chromosome, rotation de 180° du fragment fracturé puis soudure.

On distingue :

-Inversion péricentrique : Englobe le centromère.

-Inversion paracentrique : se fait en dehors du centromère, déplacement des bandes.

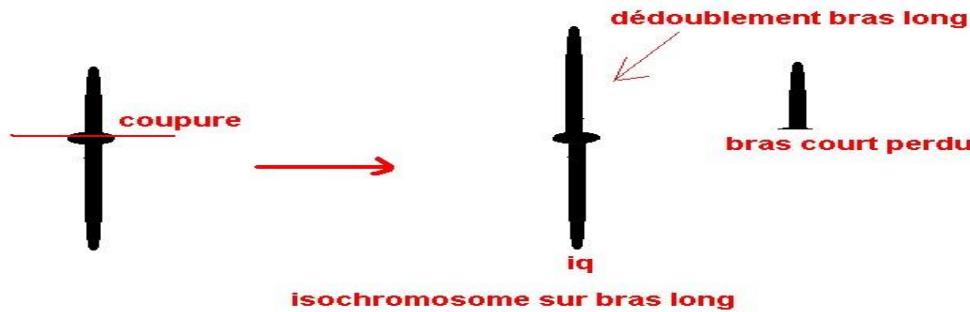
Noté : **inv**



d- Isochromosome :

Perte d'un bras et dédoublement du bras restant, noté **i**

Syndrome de Turner en isochromosome sur le bras long. : 46,Xi(X)



2- Anomalies touchant 2 à plusieurs chromosomes

Ces anomalies peuvent être équilibrées ou non équilibrées

a- Translocation robertsonnienne :

C'est la fusion centromérique de 2 chromosomes acrocentriques.

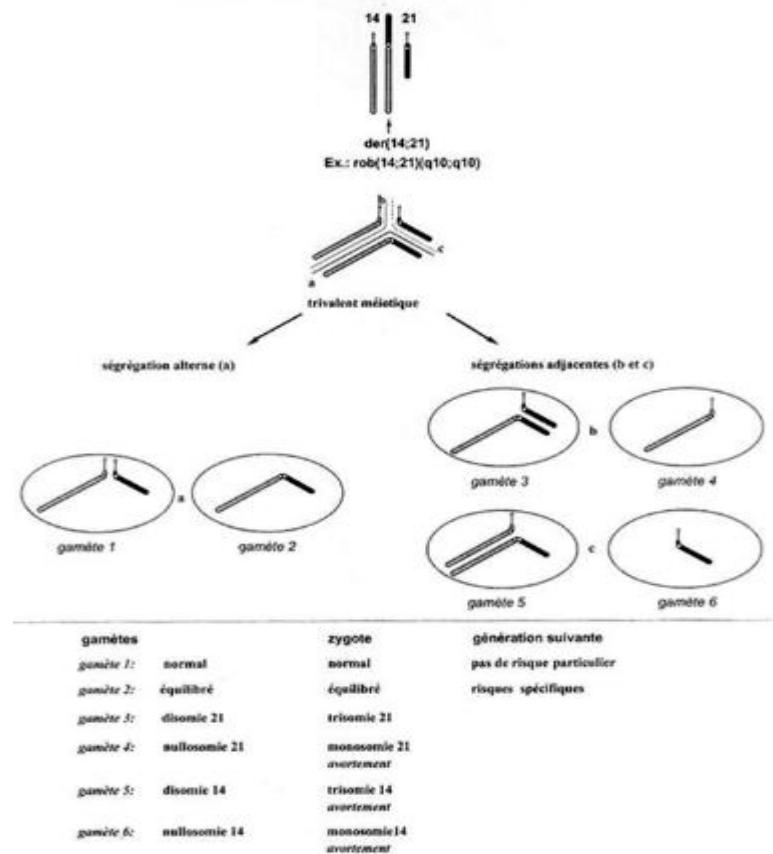
Pas de conséquences phénotypiques chez le porteur de ces translocations.

Le risque est important dans la descendance : déséquilibre méiotique.

Quand l'anomalie est portée par la mère le risque d'atteinte dans la descendance est augmenté.

Exemple : 45XYrob(14,21)

Translocation robertsonienne

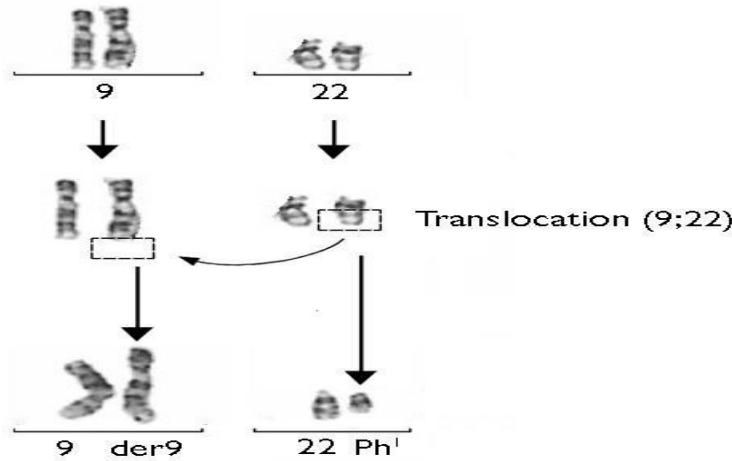
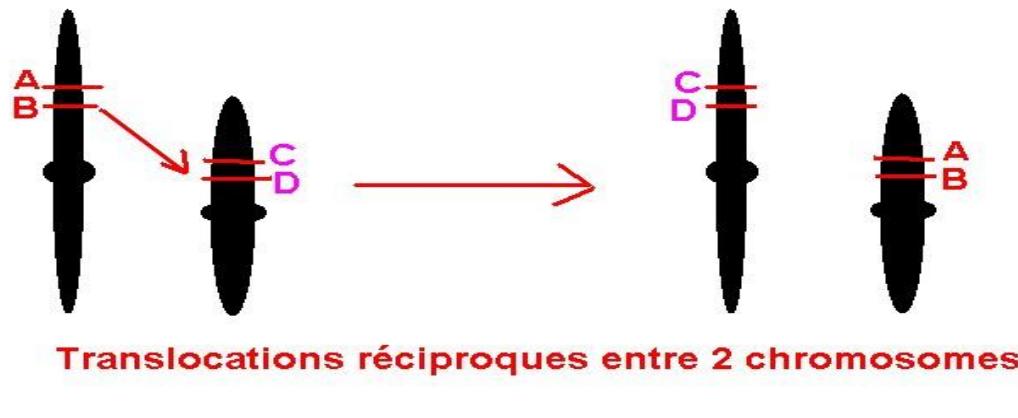


-Translocation réciproque :

Cassure sur 2 chromosomes, échange de fragments fracturés et soudure : intérêt de la cytogénétique moléculaire.

Cancérologie : 1^{ère} description : Chromosome philadelphie dans la leucémie myéloïde chronique t(9 ;22).

Autres : lymphome de Burkitt t(8,14).



Chromosome philadelphie

-Autres anomalies de structure : sites fragiles, chromosome double minute...

IV- Transcription du caryotype : nomenclature internationale

L'interprétation du caryotype par le cytogénéticien donne lieu à la rédaction d'une « formule chromosomique » qui a pour but de transcrire dans un langage codifié, les observations découlant de l'examen des chromosomes.

La rédaction de la formule chromosomique se fait selon des règles de nomenclature internationale ; la plus récente date de 2016.

Exemple : la présence d'une trisomie 21 chez une femme sera écrite : 47,XX,+21

Une monosomie 3 dans une cellule tumorale chez un homme sera écrite 45,XY,-3

Chaque bande ou sous bande d'un bras chromosomique sera identifiée par une lettre (p ou q) suivie de chiffres indiquant la position de cette bande ou sous bande, le numéro des bandes allant en croissant du centromère vers le télomère. Par exemple le sigle 1p36.2 indique la deuxième sous bande au sein de la sixième bande de la troisième région du bras court du chromosome 1. Cette codification est utilisée pour indiquer les points de cassure sur un chromosome en cas d'anomalie structurale. Par exemple, la formule 46,XX,t(3;12)q(28;q14) désigne la présence d'une translocation réciproque équilibrée entre un chromosome 3 et un chromosome 12 chez une femme. Sur le chromosome 3 le point de cassure aura eu lieu au niveau de la huitième bande de la deuxième région du bras long et sur le chromosome 12, la cassure aura eu lieu au niveau de la quatrième bande de la première région du bras long.

Cytogénétique moléculaire

I- Hybridation in situ fluorescente ou « FISH »

L'apparition de l'hybridation in situ fluorescente FISH en 1986 et son développement rapide offre aujourd'hui toute une panoplie d'outils permettant une étude de plus en plus fine des chromosomes et de leurs anomalies.

Alors que les techniques classiques de caryotypage offrent une vue d'ensemble du génome mais avec une faible résolution, l'hybridation in situ apporte une résolution de l'ordre de quelques Kb, ce qui comble le fossé analytique entre l'étude cytogénétique et moléculaire.

Le principe repose sur l'utilisation de sonde moléculaire dont la séquence est connue et qui s'hybride spécifiquement avec sa séquence complémentaire au niveau des chromosomes en mitose (ou des noyaux interphasiques) à explorer, à la recherche d'anomalies. On peut alors visualiser la sonde au microscope dont l'emplacement identifie précisément la région chromosomique dont elle est complémentaire.

Les sondes sont marquées le plus souvent par une molécule fluorescente.

Différentes sondes sont actuellement utilisées :

- Les sondes peinture chromosomique : Sondes qui couvrent tout un chromosome.
- Les sondes centromériques
- Les sondes télomériques
- Les sondes locus-spécifique : contiennent des régions précises du génome, pouvant contenir un ou plusieurs gènes mais aussi des séquences non codantes.

Ces sondes peuvent être utilisées seules ou combinées entre elles pour une meilleure résolution.

Les applications de l'utilisation des sondes locus-spécifiques sont très nombreuses. Elles permettent de détecter des anomalies quantitatives telles que duplications, délétions ou amplification. Il est alors très important d'utiliser simultanément une sonde témoin, localisée sur le même chromosome ou sur un autre chromosome selon les cas, et marquée par un fluorochrome distinct.

Les sondes locus-spécifiques permettent aussi de détecter des anomalies structurales (translocations par exemple).

La FISH peut être réalisée soit :

- Sur chromosomes métaphasiques** : les préparations chromosomiques sont obtenues selon les techniques cytogénétiques conventionnelles (voir caryotype)
- Sur noyau interphasique** : les lames de suspension cellulaire, les cryocoupes, les appositions et les coupes de tissu fixé et inclus en paraffine.

Principales applications cliniques de la FISH :

- Diagnostic constitutionnel prénatal : permettra par exemple la recherche des anomalies numériques les plus fréquentes comme les trisomies 21, 13 et 18 ou les anomalies de nombre de chromosome X. Pour les chromosomes X et 18, des sondes centromériques pourront être utilisées, mais pour les chromosomes 21 et 13 dont les séquences centromériques ne sont pas spécifiques, on utilisera des sondes spécifiques d'un locus de leurs bras longs respectifs.

- Diagnostic constitutionnel post-natal : les sondes utilisées vont vérifier la présence ou l'absence d'une anomalie soit parce qu'elle est suspectée lors de l'interprétation du caryotype, soit en raison d'une indication clinique après consultation de conseil génétique et examen morphologique du patient
- Diagnostic oncologique : 2 principaux types de sondes sont utilisés en routine :
 - Les sondes détectant une altération génique structurale (sondes de fusion et sondes de séparation).
 - Les sondes détectant une altération numérique comme une amplification ou une délétion.

Les avantages de la FISH :

- Précise les anomalies détectées au caryotype.
- Déetecte les microremanierments (taille<5Mb).
- Permet l'étude des anomalies chromosomiques dans les noyaux.

Cependant, il s'agit d'étude ciblées et non du génome entier.

NB : il existe des règles de nomenclature selon l'ISCN des résultats obtenus par FISH

La CGH « Hybridation génomique comparative »:

Lorsque c'est le génome à étudier qui est utilisé comme sonde, sur un support cible témoin normal, il s'agit de l'hybridation génomique comparative.

La CGH sur chromosomes métaphasiques, mise au point en 1992 a permis des avancées importantes dans l'analyse génomique des tumeurs, en mettant en évidence des amplifications et des délétions. Cette technique fut abandonnée ces dernières années au profit de la CGH sur micropuces d'ADN (ou « CGH-array）.

Les techniques de biologie moléculaire

Plan du cours

- L' extraction de l'ADN
- La digestion de l'ADN
- Séparation des acides nucléiques
- Les sondes nucléiques
- L'amplification génique
- Le séquençage de l'ADN

Les techniques de Biologie Moléculaire constituent l'ensemble des techniques de manipulation des acides nucléiques (appelée aussi génie génétique). Elles utilisent dans leurs applications médicales et scientifiques des techniques de plus en plus performantes. Les principes généraux de ces techniques font appel aux mécanismes de base de la biologie moléculaire : réPLICATION, transcription ...

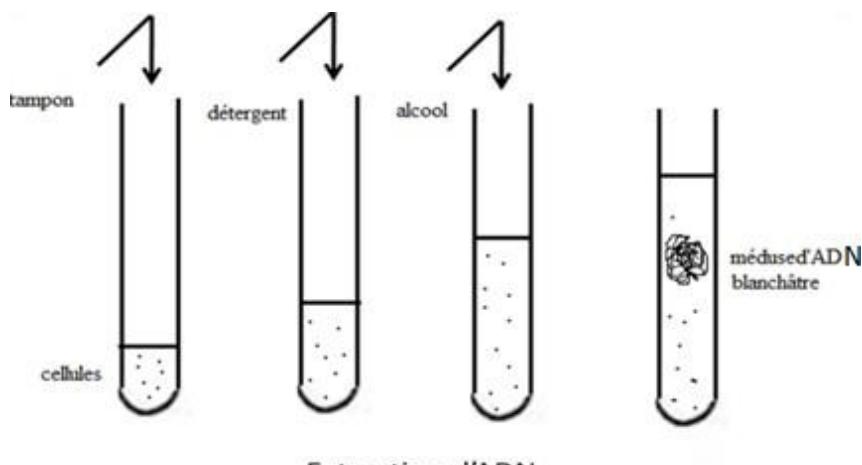
Nous exposons ci-après quelques unes de ces techniques

L' extraction de l'ADN

Dans les techniques de biologie moléculaire, la première étape consiste le plus souvent à extraire les acides nucléiques (l'ADN ou l'ARN) des cellules.

L'extraction classique se fait par le couple phénol-chloroforme, par des kits commerciaux, ou des billes magnétiques.

Les échantillons peuvent être des cultures cellulaires, différents tissus et liquides biologiques...



La digestion de l'ADN

Les enzymes de restriction sont des outils utilisés au laboratoire pour fractionner l'ADN en petits fragments.

La coupure de l'ADN se fait en un site particulier reconnu par l'enzyme. Le nombre de ces enzymes est considérable. Chaque enzyme reconnaît une séquence d'ADN qui lui est spécifique. Les enzymes de restriction sont des endonucléases (enzymes capables de cliver les liaisons phosphodiester entre deux nucléotides à l'intérieur d'un acide nucléique). Les séquences de nucléotides reconnues sont habituellement palindromiques (courte séquence de paires de nucléotides où la succession des nucléotides lus pour le brin codant d'une molécule d'ADN est identique à la séquence lue dans le brin complémentaire)

Ces enzymes sont extraits à partir de micro-organismes (le plus souvent des bactéries).

Les utilisations des enzymes de restriction étaient très nombreuses en biologie moléculaire (fractionnement de l'ADN en fragments qui peuvent être séparés par les techniques d'électrophorèse, la préparation d'un fragment d'ADN d'un gène donné (insert : clonage), recherche de mutations dans le génome).

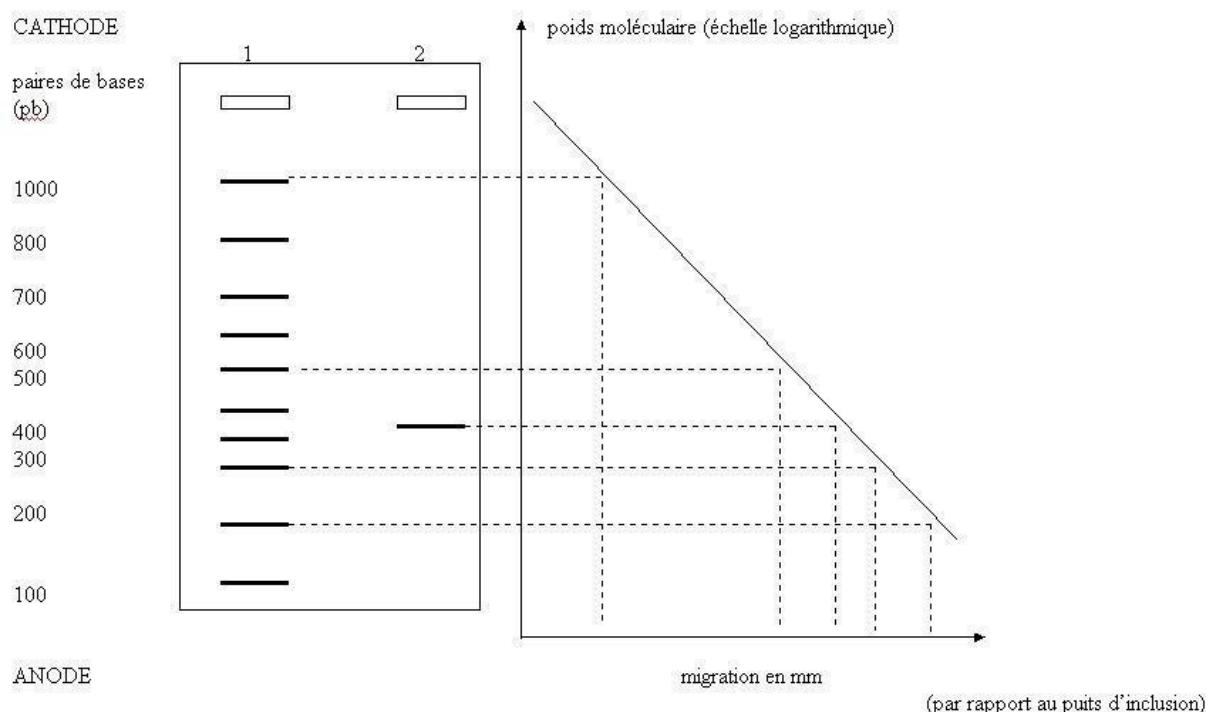
Name	Source microorganism	Recognition sequence
BamH1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	G↓GATCC CCTAG↑G
EcoRI	<i>Escherichia coli</i> RY13	G↓AATTC CTTAA↑G
Hind III	<i>Haemophilus influenzae</i>	A↑AGCTT TTCTGATA
Pst1	<i>Providencia stuartii</i>	CTGCA↑G G↓ACGTC
SmaI	<i>Serratia marcenscens</i>	CCC↓GGG GGG↑CCC
HpaI	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	GTT↑AAC CAA↑TTG

Tableau montrant quelques enzymes de restriction, leur origine et leurs séquences de reconnaissance

Actuellement, afin d'obtenir de petits fragments d'ADN, on utilise surtout la technique de PCR (Cf. chapitre PCR)

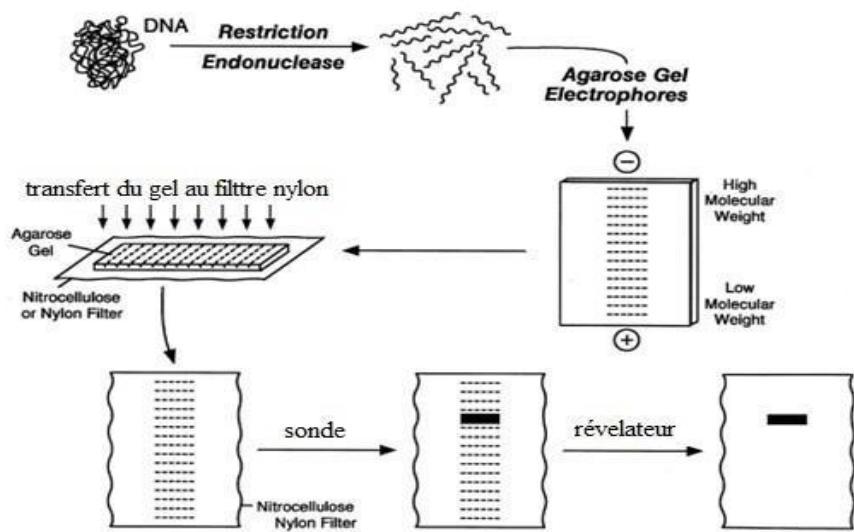
Séparation des acides nucléiques

Les fragments d'ADN peuvent être séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose. Le gel de polyacrylamide permet des migrations plus fines que le gel d'agarose. L'électrophorèse est une technique qui permet de séparer des molécules (d'ADN ou d'ARN) en fonction de leur taille et de leur charge en utilisant un courant électrique.



Deux techniques d'électrophorèse en particulier ont été largement utilisées comme méthodes de diagnostic et de recherche ; il s'agit de la Southern et la Northern blot.

- Le Southern blot : cette méthode a été initialement décrite par E.M. SOUTHERN en 1970. Elle consiste à détecter spécifiquement des fragments d'ADN transférés sur un filtre (feuille de nylon par exemple) par leur **hybridation** à des séquences complémentaires marquées par un radio-isotope (**sondes nucléotidiques**). Cette technique est de moins en moins utilisée à la faveur de techniques plus performantes et moins délicates ; il s'agit en particulier de la **PCR et du séquençage de l'ADN**
- Le Northern blot : Le principe est le même que pour le Southern Blot mais ici l'acide nucléique est un ARN

**Technique de Southern blot**

Les sondes nucléiques

Une sonde est un fragment d'ADN connu et mis en contact avec le matériel génétique à analyser. Le marquage fluorescent, radioactif ou chimique de la sonde permet de mettre en évidence les hybrides éventuels par la détection d'une radioactivité, d'une réaction colorimétrique ou d'une fluorescence.

Avant l'hybridation il y a besoin de séparer les 2 brins d'ADN. Ceci se faisant par un contrôle de la température et la recherche de la température de fusion Tm.

La technique d'amplification génique PCR « Polymerase chain reaction » :

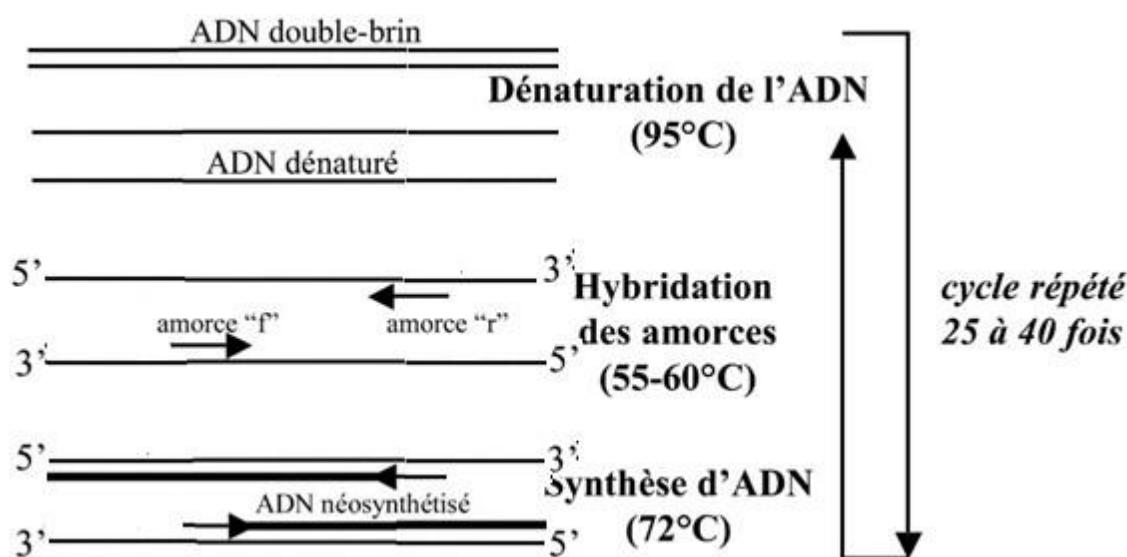
1- PRINCIPE :

Cette technique décrite en 1985 (K. MULLIS et collaborateurs) permet d'amplifier des séquences d'ADN de manière spécifique et d'augmenter de manière considérable la quantité d'ADN dont on dispose initialement (des millions de fois un unique fragment d'ADN).

La technique comporte des cycles successifs. Chaque cycle comporte la succession de trois phases :

- Une phase de dénaturation par la chaleur pour séparer les deux brins d'ADN (92-95°C).
- Une phase d'hybridation avec les deux amorces spécifiques de la région d'intérêt entre 55-60°C. La première amorce se fixe sur un brin d'ADN, l'autre sur le brin complémentaire (de manière à encadrer la zone d'intérêt).
- Une phase d'extension par l'ADN polymérase à partir des amorces à 70-72°C.

Chaque brin néosynthétisé sert de matrice pour une nouvelle synthèse au cycle suivant.



Cette technique a pris un essor considérable avec l'introduction d'une ADN polymérase résistante à la chaleur (Taq polymérase). Elle permet une automatisation des différents cycles (dans des appareils appelés thermocycleurs). Le nombre de cycles est généralement compris entre 30 et 40. Cette méthode permet d'amplifier l'ADN compris entre les deux amorces d'un facteur de 100000 à 1000000.

- 2- Les utilisations des produits PCR sont très variées, nous citerons quelques exemples
- Mise en évidence de mutations ponctuelles par hybridation des produits PCR avec des sondes oligonucléotidiques
 - Introduction du produit PCR dans un vecteur: clonage du produit PCR.
 - Séquençage direct du produit PCR.

Le séquençage de l'ADN

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides d'une séquence donnée d'ADN. Cette technique est la plus performante en biologie moléculaire pour rechercher des mutations ponctuelles, étudier le génome des êtres présents et passés. Par cette technique on arrive à connaître la structure, la fonction et les mutations d'un gène donné.

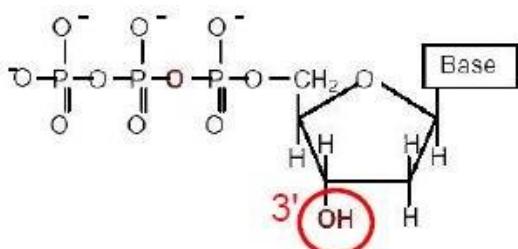
A- Le séquençage Sanger

La technique de Sanger (prix Nobel de médecine 1980) est la première technique de séquençage.

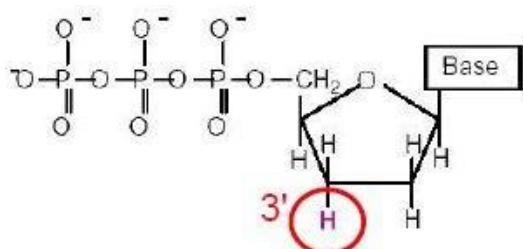
Par cette technique la séquence complète de plusieurs organismes a été décrite dont celle de l'homme.

1- Les composants de la réaction :

- L'ADN à séquencer (matrice)
- Amorce (séquence oligonucléotidique spécifique)
- ADN polymérase
- Les désoxyribonucléosides triphosphate dNTP (dATP,dTTP,dCTP,dGTP)
- Les didésoxyribonucléosides triphosphates ddNTP (ddATP,ddTTP,ddCTP,ddGTP) marqués (actuellement on utilise des ddNTP marqués par un fluorochrome différent dont le spectre d'émission est spécifique).



Déoxyribonucléoside triphosphate (dNTP)



Didéoxyribonucléoside triphosphate (ddNTP)

Les ddNTP (appelés terminateurs de chaînes) sont des analogues structuraux des dNTP et sont incapables de réaliser une liaison phosphodiester sur leur carbone 3'.

2- La technique :

La réaction de séquençage consiste à recopier un brin matrice par l'ADN polymérase avec les substrats (dNTP et ddNTP) après hybridation d'une amorce. Au d'un certain nombre de cycle, et de manière aléatoire, on obtiendra un ensemble de fragments de tailles différentes arrêtés au niveau des ddNTP marqués.

3- Lecture de la réaction de séquence :

Initialement, la lecture des réactions de séquence se réalisait par la méthode de Southern Blot.

Depuis l'année 2000, cette lecture se fait par une technique d'électrophorèse capillaire. En effet, les différents fragments obtenus par la réaction de séquence vont migrer dans des capillaires où ils seront séparés selon leur taille et leur charge et seront excités à la sortie du capillaire par un faisceau laser. Les plus petits fragments vont migrer plus rapidement que les grands. La grande résolution de cette migration permet de distinguer des fragments différents entre eux d'une paire de base. Une analyse spectrale va différencier les différents fluorochromes, associer la base correspondante et donc définir la séquence nucléotidique du brin d'ADN initial.

La technique de Séquençage Sanger reste la méthode de référence malgré l'avènement de nouvelles techniques de séquençage.

B- Autres techniques de séquençage :

- Pyroséquençage
- NGS : New Generation Sequencing

Transcription et maturation des ARN

Plan :

I. Transcription de l'ADN

1. Les matériaux nécessaires à la transcription
2. Réaction de polymérisation de l'ARN
3. La comparaison entre la réPLICATION et la transcription
4. Mécanisme général
5. Etape d'initiation
6. Etape de terminaison

II. Modifications post-transcriptionnelles ou maturation de l'ARN chez l'eucaryote

- 1- Capping
- 2- Polyadénylation
- 3- Fonction de la coiffe et du polyA
- 4- Excision des introns et épissage des exons

La transcription est une biosynthèse d'ARN qui repose, comme celle de l'ADN sur la complémentarité des bases.

C'est le mécanisme par lequel l'ARN est synthétisé par une ARN polymérase sur une matrice d'ADN.

Tout l'ADN n'est pas transcrit, mais seulement certaines portions " les gènes ".

NB : Le gène: Unité d'hérédité contrôlant un caractère particulier situé à un endroit bien précis (locus sur un chromosome).

I. Transcription de l'ADN

La transcription de l'ADN représente la première étape de ce qu'on appelle le dogme central de la biologie moléculaire, dans lequel il y a 2 grandes étapes pour passer à l'expression de l'information génétique (de l'ADN à la protéine).

La première étape est la transcription (passage de l'ADN à l'ARN) et la deuxième étant la traduction.

1- les matériaux nécessaires à la transcription :

- **Les Nucléotides** : constitués de :

bases : pyrimidiques : C, U; puriques : A, G,

ribose,

et acide phosphorique

Et sont sous forme triphosphate : ATP, GTP, CTP, UTP apportant à la fois le substrat : le nucléoside monophosphate et l'énergie nécessaire

- **La matrice : un modèle d'ADN**

- **les enzymes impliquées**

Les enzymes impliquées dans la transcription de l'ADN sont des ARN polymérases ADN dépendantes car dans tous les cas, cette synthèse implique une copie d'un des brins de l'ADN qui va jouer le rôle de matrice.

a. Organismes procaryotes (bactérie E. coli)

Chez cette bactérie, on a une seule enzyme responsable de l'ensemble des synthèses d'ARN qui est l'ARN polymérase.

C'est une enzyme volumineuse constituée de plusieurs sous unités. Sous forme active elle sera constituée de 5 sous unités ($2\alpha, \beta, \beta'$ et ω) : «coreenzyme».

Cette enzyme forme en se liant à un facteur σ : une « Holoenzyme » qui est nécessaire pour le démarrage de l'initiation des transcriptions.

b. Organismes eucaryotes (animaux, végétaux non traités)

Le système va être plus complexe, et on aura 3 enzymes : 3 ARN polymérases.

L'ARN pol I qui va synthétiser un certain nombre de précurseurs d'ARN ribosomiques. Et cette enzyme va être localisée au niveau du nucléole.

L'ARN pol II va synthétiser :

Les précurseurs d'ARN messagers

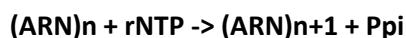
Les précurseurs de petits ARN non codants appelés « micro ARN » : ne codent pas pour des protéines, mais qui rôle important dans la régulation. Cette enzyme se trouve dans le nucléoplasme (pas dans le nucléole).

L'ARN pol III va synthétiser les ARN de transferts (ARNt), l'ARN ribosomique : le 5s, ainsi que d'autres petits ARN. Cette enzyme est dans nucléoplasme

Chacune de ces enzymes est une protéine volumineuse, à structure complexe qui comporte chacune une douzaine de sous unités dont 5 sont communes (avec les mêmes protéines) dans les 3 ARN polymérasées.

2. La réaction de polymérisation de l'ARN

La réaction de synthèse d'ARN est une polymérisation des ribonucléotides :



La chaîne d'ARN composée de « n » unités de ribonucléotides va réagir avec l'un des 4 ribonucléosides triphosphates, pour donner comme produit de réaction une chaîne d'ARN qui aura été augmentée d'une unité de plus avec également une libération de pyrophosphate Ppi.

3. comparaison entre réPLICATION et transcription de l'ADN

a- Points communs

- Les nucléotides sont ajoutés à une extrémité 3' OH qui réagit lors de la synthèse.
- Il y a copie d'un ADN matriciel, dont la séquence est complémentaire par rapport à celle de l'ARN synthétisé.
- L'énergie de réaction est apportée par l'hydrolyse de la liaison anhydre phosphate.
- On a synthèse et polymérisation par des liaisons phosphodiester.

b- Différences majeures

- Dans le cas de la synthèse des ARN, les ARN polymérasées n'utilisent pas une amorce pour démarrer leur synthèse.
- Les ARN polymérasées sont moins efficaces que les ADN polymérasées en ce qui concerne la correction des erreurs.

On a cependant 2 mécanismes de correction :

- Le mécanisme pyrophosphorolytique : il y a coupure de la dernière liaison phosphodiester et reincorporation d'un groupement pyrophosphate.

- Le mécanisme hydrolytique : il y a clivage des 3 ou 4 derniers nucléotides.

4. Mécanisme général

Ces principes sont valables aussi bien chez les procaryotes que les eucaryotes.

Lors de la phase **d'initiation de la transcription**, il va falloir qu'il y ait une liaison de l'enzyme (l'ARN polymérase) avec l'ADN. Cette liaison va induire la **dénaturation** localisée de l'ADN, de manière à ce que le brin qui doit jouer le rôle de matrice soit accessible.

Après l'initiation d'une transcription, on aura la phase dite **d'elongation** au cours de laquelle l'ARN polymérase va être mobilisée et va se déplacer le long de l'ARN transcrit.

La zone ou bulle de dénaturation va se déplacer le long de l'ADN. L'ARN synthétisé forme un court appariement avec l'ADN matriciel qui est complémentaire. Et cet ARN synthétisé va être libéré au fur et à mesure que l'ADN se réassocie. **Le sens de la transcription est toujours 5'-> 3'.**

Par convention : L'ARN étant synthétisé à partir d'une chaîne dite matricielle, un des 2 brins de l'ADN aura une séquence complémentaire par rapport à l'ARN correspondant, et sera appelé **chaîne ou brin matriciel qui aura** une orientation anti parallèle par rapport à l'ARN.

Le 2^e brin de l'ADN sera appelé **chaîne ou brin codant** où on aura une séquence identique à celle de l'ARN mais les thymines seront remplacées par les uraciles. Cette chaîne aura la même orientation que l'ARN.

5. L'étape d'initiation

Il va falloir un segment particulier au niveau de l'ADN qui s'appelle le « **promoteur** » pour permettre le démarrage d'une transcription. C'est la région qui va se situer en amont du premier nucléotide transcrit, appelé également site d'initiation de la transcription.

On n'aura pas les mêmes types de promoteurs chez les procaryotes et les eucaryotes.

a-Promoteurs procaryotes

Il y a 2 éléments de séquence conservés : d'une part une séquence située à -10 (10 paires de bases en amont du site d'initiation), appelée séquence « TATA ». Et encore plus en amont une séquence -35.

Ces séquences sont conservées d'un gène à l'autre avec une variabilité en bases et en leur distance par rapport au site d'initiation.

Le promoteur ayant des séquences asymétriques déterminera le sens de la liaison de la protéine (ARN pol) à l'ADN et le sens de la transcription.

En présence de l'ARN pol, il va y avoir dénaturation des 2 chaînes de l'ADN au niveau de la séquence conservée (séquence TATA). Ceci permet à la synthèse de démarrer.

L'enzyme se déplace dans le sens 5'->3' et va continuer la synthèse de l'ARN.

NB : L'ARN pol n'est capable de se lier aux bases du promoteur que lorsqu'elle s'est complexée avec la protéine pour donner la forme d'holoenzyme qui va s'associer au promoteur et démarrer la transcription.

b. Promoteurs eucaryotes

Les promoteurs des gènes transcrits par l'ARN pol II (ARNm) qui ont une structure « modulaire » et variable.

La localisation est plus à distance du site d'initiation.

On peut trouver des éléments conservés comme **une séquence « TATA »** mais qui n'a pas la même séquence consensus, ni la même localisation car on la trouve à -30 ou -25 paires de bases en amont du site d'initiation (site +1).

On retrouve **aussi l'élément initiateur** (commence aussi par une Adénosine) au niveau du site d'initiation, séquence riche en pyrimidine.

En amont de ces 2 motifs, on retrouve un ensemble d'éléments plus variables appelés « modules amonts » qui sont variables d'un promoteur à l'autre. Ils ont une structure **modulaire**.

Certains des promoteurs n'ont pas forcément de séquences TATA. Et contrairement à la séquence TATA, et l'élément initiateur, les séquences amont peuvent être inversées.

L'ARN pol II a besoin, pour initier la transcription, de protéines appelées « facteurs de transcription généraux » ou « TFII » qui sont associés à l'ARN pol II.

La première de ces protéines à intervenir est **TFIID (formée d'une douzaine de protéines)** et c'est elle qui va reconnaître et établir des liaisons avec la séquence TATA.

Une 2^{ème} protéine (facultative) intervient dans certains cas, c'est la **TFIIB**, elle se fixe en amont.

Et la 3^{ème} protéine (obligatoire) est **TFIIE** qui intervient en 3' par rapport à TFIID. Elle se lie à l'élément initiateur. Il faut qu'il y ait liaison de ces 2 ou 3 protéines pour que l'ARN pol puisse intervenir à son tour.

Il y a aussi intervention de **TFIIF** et **TFIIC**. En effet, c'est un complexe volumineux : on parle de **complexe de préinitiation**.

Une fois ce complexe est formé, la transcription peut démarrer.

Résumé

En considérant l'ensemble de ces facteurs, on peut dire que le complexe de pré initiation eucaryote comprend une 40aine de protéines différentes, et toutes ces protéines sont très conservées d'une espèce à l'autre.

Les éléments amonts (boites GC, octamère...) sont des séquences régulatrices, ce sont des sites de fixation de protéines activatrices de la transcription.

Ces éléments amont sont très variables d'un gène à l'autre.

6. L'étape de terminaison

a. Chez les procaryotes

Cette étape va marquer la terminaison de ces transcriptions.

La terminaison va à nouveau faire intervenir des segments d'ADN particuliers. On appellera ces séquences des « terminateurs ».

Dans certains cas il y aura nécessité d'une protéine supplémentaire qui est un facteur qui porte la lettre rho (**facteur rho**).

Les séquences d'ADN qui jouent un rôle de terminateur ont un type de séquence bien particulier : un palindrome. C'est un terme général qui désigne un mot qui est symétrique, qui peut se lire dans les 2 sens.

La conséquence au niveau de l'ARN correspondant, qui aura la même orientation et la même séquence par rapport à la chaîne codante, c'est qu'on retrouvera 2 régions qui sont complémentaires.

Il va pouvoir y avoir formation d'appariement par liaisons hydrogènes entre les séquences complémentaires ; on aura des structures en forme d'épingles à cheveux.

Cette structure va jouer un rôle déstabilisant pour l'ARN pol et parfois de décrocher l'ARN pol de l'ADN.

On distingue 2 types de terminateurs :

i. Les terminateurs rho-indépendants

Elles suffisent à dissocier l'ARN pol et interrompre la transcription.

Ceux qui n'ont pas besoin du facteur rho sont dits « rho indépendants ». On aura ici une 10aine de pdb (ce qui est long) qui vont s'apparier. On aura une région d'appariement assez stable riche en bases G et C avec à chaque fois 3 liaisons hydrogènes. Cette structure est assez volumineuse et suffit pour dissocier l'ARN pol.

En 3', il y aura un segment poly U (U : uridine), fait de 5 à 6 nucléotides U (un appariement A-U facile à dissocier). Donc, la région appariée et le poly U suffisent pour détacher l'ARN de l'ADN matriciel et à terminer la transcription.

ii. Les terminateurs rho-dépendants

Elles nécessitent l'action de la protéine RHO pour dissocier l'ARN pol.

Dans ces terminateurs, on aura une région d'appariement, mais plus courte et non riche en G et C. Ainsi, cette région ne suffit pas à elle seule de dissocier l'ARN pol ; il faudra donc l'intervention de la protéine rho pour terminer la transcription qui se lie à l'ARN en cours de synthèse.

b. Chez les eucaryotes (ARN pol II)

Il n'y a pas de séquences consensus précises ni de facteurs spécifiques de terminaison.

Le phénomène de poly-Adénylation va influencer la terminaison. (cf. chapitre maturation)

II. Modifications post transcriptionnelles (maturation) de l'ARN chez les eucaryotes (TDD : ARNm)

Trois phénomènes : le capping, l'épissage, et la poly Adénylation.

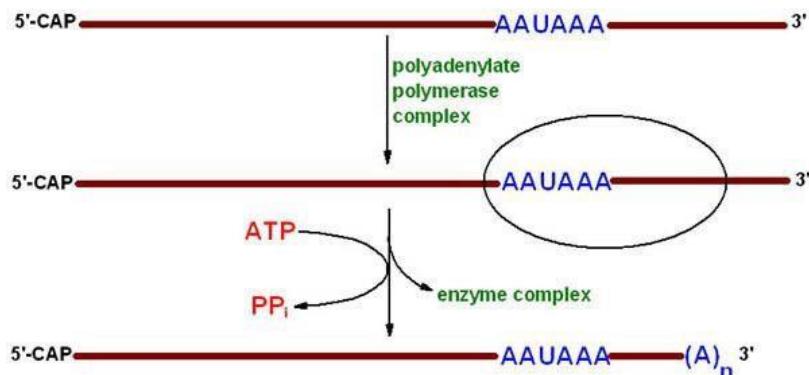
1. Le « capping » :

Dès le début de la transcription, un “**complexe de capping**” se lie à l'extrémité 5' de l'ARN grâce aux activités de : **RNA 5' triphosphatase, guanyl-transférase, méthyl-transférase**

2. Poly-Adénylation de l'extrémité 3' :

Chez la plupart des eucaryotes : il ya une séquence AATAAA dite signal de polyadénylation. L'ARN polymérase reconnaît ce signal mais continue à transcrire sur une distance plus ou moins longue. Ensuite, il y aura intervention d'un complexe de polyadénylation dont la première fonction est de type endonucléase qui correspond à la coupure d'une chaîne endonucléique à une 20e de nucléotides en aval (donc en 3') de ce signal.

Polyadenylation of mRNAs



NB : Les exceptions à cette polyadénylation sont: les ARN codant pour les histones.

On a ensuite la fonction poly A polymérase du complexe qui va servir à polymériser des adénosines. Ce poly A est long car il va rajouter 200 à 250 adénosines à la chaîne. Cette polymérisation se fait en l'absence de toute matrice d'ADN. Il s'agit bien d'un phénomène post transcriptionnel qui ne nécessite pas de matrice.

3. Fonctions de la coiffe et du poly-A

La coiffe et la séquence poly-A sont impliquées dans le même type de fonction :

- Ces 2 modifications sont indispensables pour le bon passage des ARNm du noyau vers le cytosol.
- Elles jouent aussi un rôle dans le contrôle de la stabilité des ARNm. Un contrôle au niveau de leur dégradation.
- Et importantes pour la synthèse protéique. Elles sont impliquées dans le mécanisme de traduction.

On peut remarquer que les ARNm peuvent avoir des demi-vies extrêmement variables. Ce sont des structures instables comparées aux ARN ribosomiques. Mais cette durée de vie doit être contrôlée, et certains ARN doivent aussi avoir des durées de vie extrêmement courtes, pour agir de manière précise dans le temps car vont coder pour des protéines qui doivent être présentes de manière très limitée.

La dégradation des ARNm dépend des protéines associées à la coiffe et de la séquence poly-A (qui protège les ARNm de la dégradation).

4. Excision des introns et épissage des exons (« Splicing »)

Ce processus est dénommé « **splicing** » et consiste en des phénomènes d'**excision et épissage**.

- l'excision est la coupure et le détachement des introns.
- l'épissage est la soudure des exons bout à bout.

Les introns et les exons doivent d'abord être reconnus.

- Les sites de reconnaissance :

Il existe des séquences consensus des introns avec les extrémités des 2 exons voisins : - **5'GU** : au début de l'intron : site donneur.

- **3'AG** : à la fin de l'intron : site receveur.

- **AC** : vers la fin de l'intron : site de branchement du lasso.

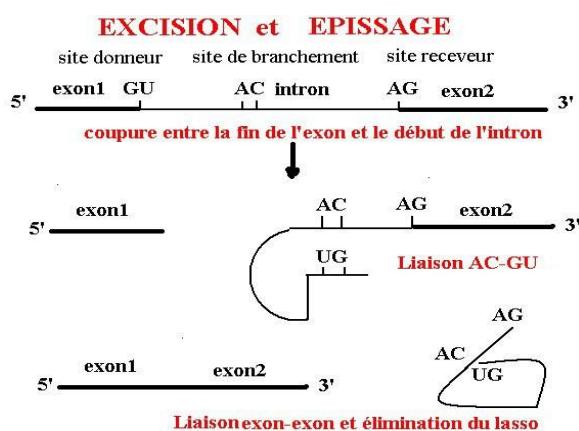
Ces séquences consensus sont reconnues par des complexes enzymatiques qui associent des ARNsn (small nuclear) et des protéines ; l'ensemble constitue les ribonucléoprotéines snRNP.

- Les 3 étapes du splicing :

1^{ère} étape : le 1^{er} clivage de l'ARN se fait en 5' de l'intron. Le 5'G vient se souder par une liaison covalente au C du site de branchement formant ainsi un lasso.

2^{ème} étape : le 2^{ème} clivage se fait entre la fin de l'intron (3') et le début de l'exon suivant. Il se produit alors la libération du lasso qui sera dégradé par des nucléases.

3^{ème} étape : c'est le phénomène d'épissage avec la soudure des exons bout à bout.



- Le rôle des snRNP : interviennent principalement lors de l'épissage.

Les **5snRNP** qui ont pour noms U1, U2, U4, U5 et U6, forment le **splicéosome**. Elles interviennent en séquence et se lient au pré-ARNm de l'intron par le biais d'appariements de bases de type Watson-Crick.

NB : Plusieurs mécanismes permettent de produire des ARNm distincts à partir du même gène.

Ce sont des mécanismes souvent combinatoires et extrêmement fréquents, et ceci explique comment on arrive à produire dans les organismes complexes, un grand nombre de protéines à partir d'un nombre limite de gènes.

Chez l'espèce humaine on a plus de 100 000 protéines distinctes, alors que notre génome ne comprend que 20 000 gènes transcrits par l'ARN pol II. Les protéines et les ARNm distincts produits à partir du même gène sont appelés les **isoformes**.

Ces isoformes sont le résultat de:

a. *L'existence de promoteurs alternatifs*

En effet, il n'est pas rare de retrouver plusieurs promoteurs sur un gène eucaryote. Ceci permet une régulation tissulaire différentielle. On aura fréquemment un promoteur actif dans tel ou tel type de cellule ou tel ou tel stade de la vie.

b. *L'épissage alternatif, couplé à une poly-Adénylation différentielle*

C'est un phénomène présent dans environ 60% des gènes humains. C'est le principal mécanisme qui va produire des isoformes différents à partir de certains gènes.

LA REPLICATION ET LA REPARATION DE L'ADN

Plan du cours :

INTRODUCTION

LES MATERIAUX NECESSAIRES A LA REPLICATION

MECANISMES DE LA REPLICATION

- LA REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES
- LA REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES
- LA REPLICATION DES TELOMERES

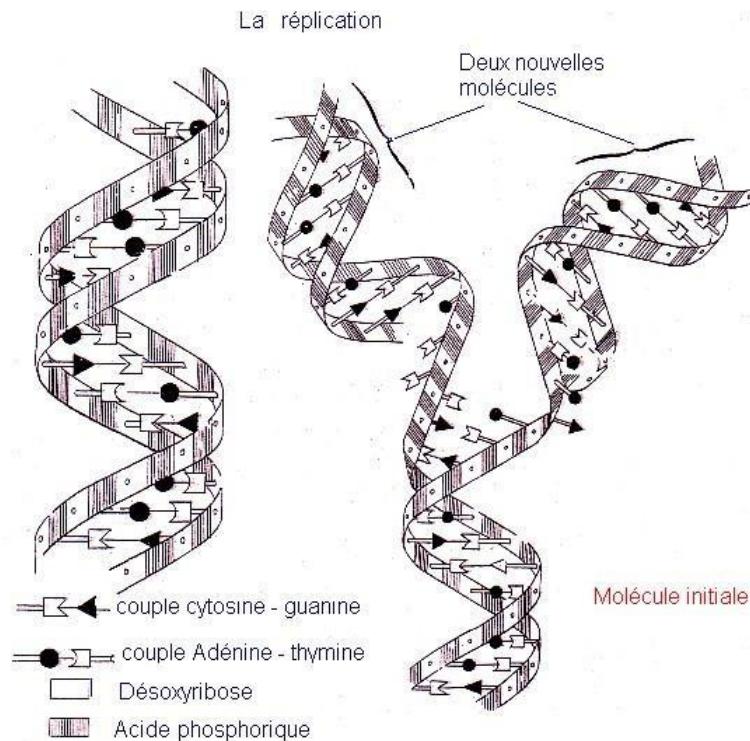
LA REPARATION DE L'ADN

INTRODUCTION

La réPLICATION a pour finalité la transmission de l'information contenue dans l'ADN de génération en génération de telle sorte que deux cellules filles contiennent chacune l'exacte réPLIQUE de l'ADN de la cellule mère.

Dans la réPLICATION chaque molécule d'ADN se séPARERA en deux brins d'ADN qui serviront de matrice aux brins néo-synthétisés, il y aura donc un brin parent et un brin fils qui constitueront ensemble la nouvelle molécule d'ADN de la future cellule. La réPLICATION est ainsi **semi-conservative**

La réPLICATION est semi conservative



LES MATERIAUX NECESSAIRES A LA REPLICATION :

-Une matrice d'ADN qui servira de modèle mais qui sera conservée dans la nouvelle molécule.

-Intervention de plusieurs enzymes :

- Les **protéines de reconnaissance** : reconnaissent les sites d'initiation et de terminaison.
- des **topoisomérases** : sont des enzymes qui créent des coupures transitoires de l'ADN et éliminent des supertours.
- Les **hélicases** sont des protéines qui utilisent l'énergie d'hydrolyse de l'ATP ou du GTP pour catalyser l'ouverture des acides nucléiques appariés sous forme double brins.

- **des protéines SSBP (single strand binding protein)** : servent à la stabilisation des structures momentanément.
- des enzymes de liaison des nucléotides les uns aux autres : **les ADN polymérases**, enzymes spécifiques de la réPLICATION.

Peu abondantes dans les cellules, gros complexes protéiques multifonctions, conditions de fonctionnement particulières

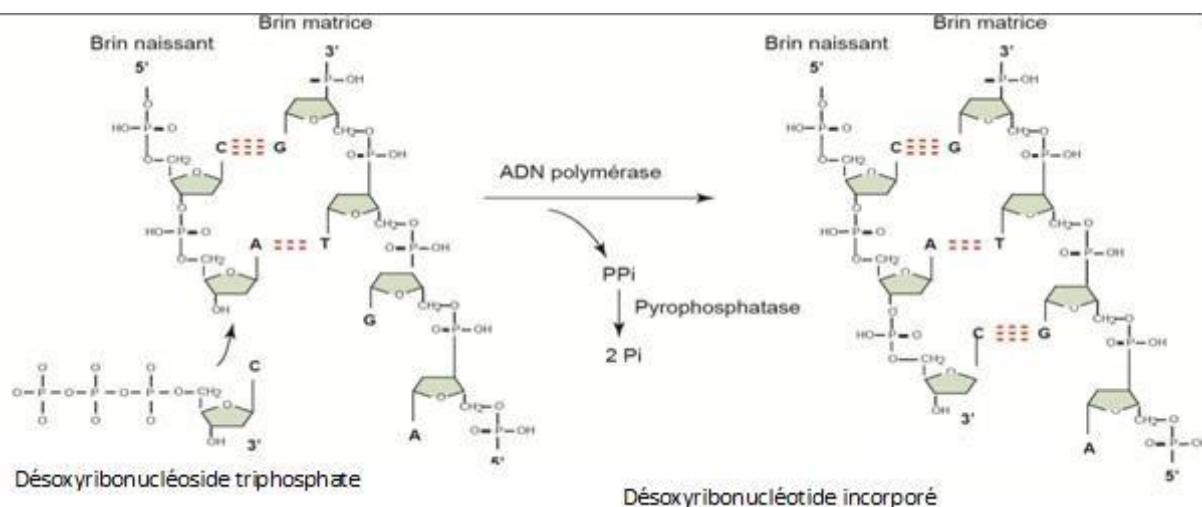
- **Les ligases qui soudent des fragments de plusieurs nucléotides**
- La **primase** est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise l'amorce
- **des nucléotides** sous forme de désoxyribonucléosides triphosphates : ATP, CTP, GTP, TTP
- des ions Mg⁺⁺

MECANISMES DE LA REPLICATION :

Le premier événement est l'apparition d'une origine de réPLICATION

A chaque origine de réPLICATION, il y a formation d'**un œil de réPLICATION** qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des **fourches de réPLICATION**. Il y a ainsi deux systèmes de réPLICATION qui évoluent en sens opposés. On dit que la réPLICATION est **bidirectionnelle**.

La polymérisation est **par contre unidirectionnelle** ; elle se fait toujours dans le même sens : 5' vers 3'. Il y a formation d'une liaison entre l'extrémité 3'OH du brin en voie d'elongation (n) et l'extrémité 5'phosphate du nucléotide ajouté (n+1). Cette liaison se fait sous l'action de L'ADN polymérase.



Polymérisation catalysée par les ADN polymérases

- LA REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

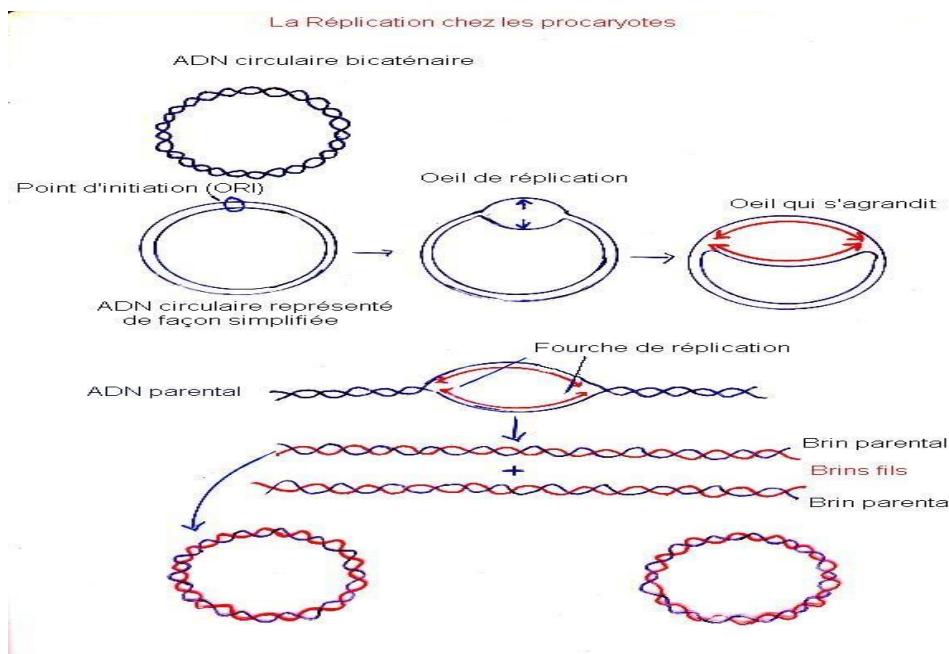
Le marquage des bases a permis d'étudier un modèle simplifié de réPLICATION : la réPLICATION chez Escherichia Coli.

1/ Propagation bidirectionnelle :

L'origine de réPLICATION est reconnue par des protéines qui reconnaissent la présence de petites séquences répétées de 200 paires de bases (pdb) environ.

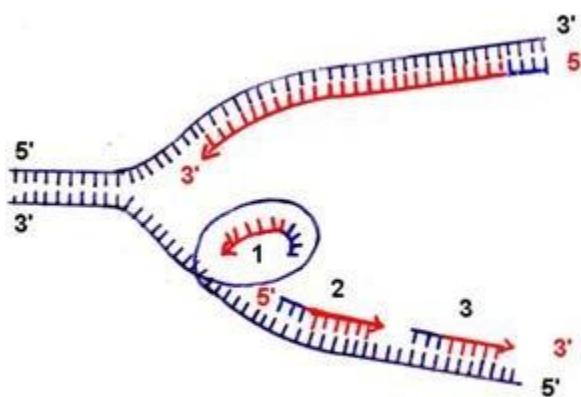
La zone de propagation de la réPLICATION est bidirectionnelle. Elle évolue sous forme d'un Y qui se déplace le long de l'ADN parental comme une "fourche" de réPLICATION.

L'ADN polymérase synthétise les brins complémentaires uniquement dans le sens **5' → 3'**. Les brins parentaux étant antiparallèles, la synthèse ne peut être continue que pour un brin : **le brin précoce** (brin continu ; avance ou rapide). Elle est discontinue pour le brin antiparallèle : **le brin retardé** (brin discontinu).



La propagation de la synthèse des deux brins est le résultat de la propagation de l'ADN polymérase dans une seule direction 5'→3' (**polymérisation unidirectionnelle**).

Pour résoudre le problème que pose la synthèse bidirectionnelle, Kornberg (Prix Nobel 1989) proposa en 1988 le modèle selon lequel le brin parental de la chaîne tardive forme **une boucle**, inversant ainsi le sens du brin retardé, si bien que l'insertion des nucléotides par l'ADN polymérase pourrait se faire en même temps sur les deux brins dans le sens 5'→3'. La synthèse se faisant ainsi sous forme de fragments dénommés : **fragments d'Okasaki**.



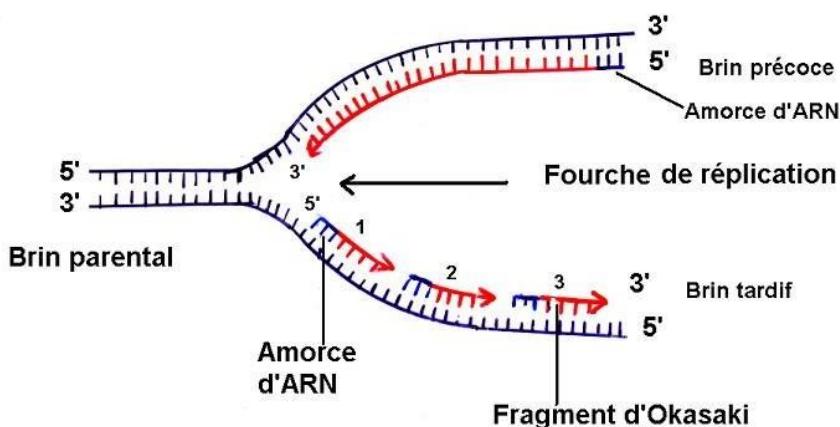
Modèle de KORNBERG

Etant donné que l'ADN polymérase ne sait qu'accrocher des nucléotides libres mais pas de fragments d'ADN, c'est une autre enzyme qui se charge de la soudure des fragments les uns aux autres ; il s'agit de **la ligase**.

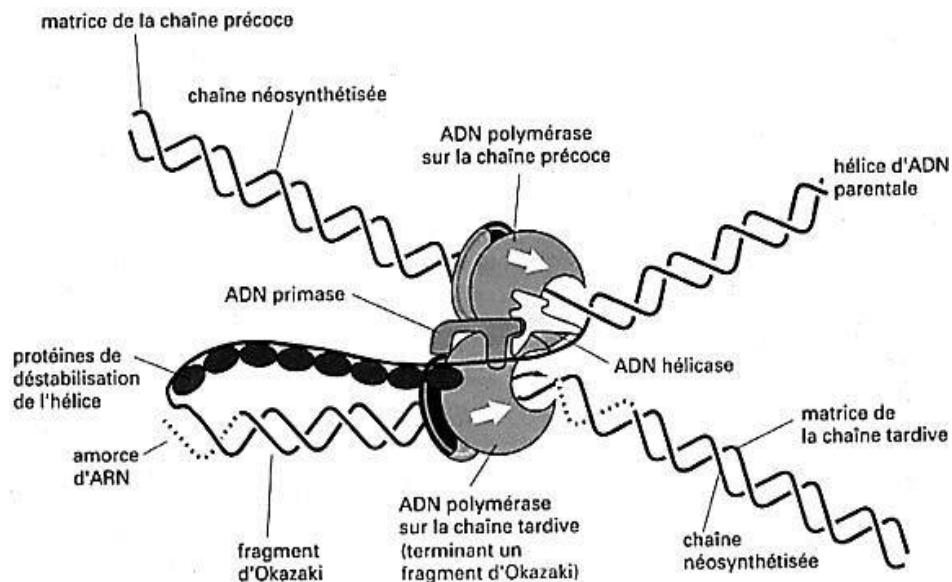
2/ La réplication commence par la synthèse d'une amorce d'ARN : primer

L'ADN polymérase ne sait pas commencer une chaîne, elle sait seulement l'allonger. Aussi a-t-elle besoin d'une amorce.

Il a été montré qu'il s'agit d'une amorce d'ARN nécessitant l'intervention d'une ARN polymérase ADN dépendante appelée **primase**.



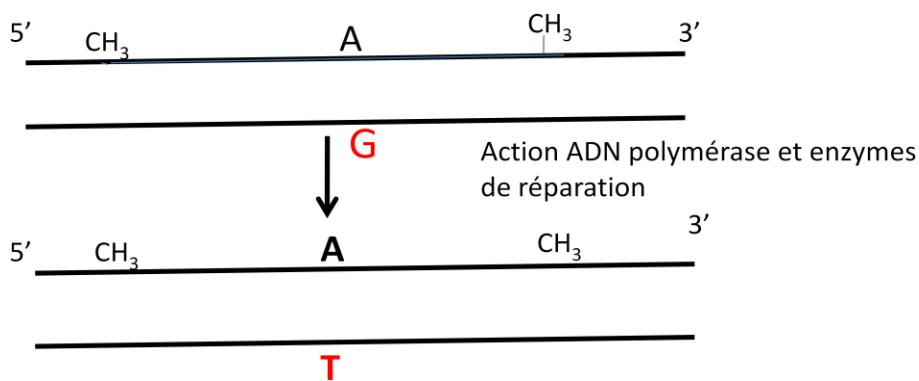
Les amores sont ensuite hydrolysées et remplacées par de l'ADN (par **une ADN polymérase**).



3/Correction des erreurs

Les ADN polymérases sont douées d'une fonction « **d'édition** » (lecture d'épreuves et correction des erreurs), ce qui fait que le taux des erreurs n'est que de 1 pour 10^8 , alors qu'il est de 1 pour 10^4 nucléotides quand les polymérases sont dépourvues de cette fonction (quand elle est mutée).

Le remplacement d'une base par une autre (par exemple T remplacée par C) provoque un mésappariement qui même s'il échappe à la polymérase sera reconnu par d'autres enzymes de réparation. Ces enzymes vont faire la distinction entre le brin parental et le brin néosynthétisé, du fait que ce dernier, contrairement au brin parental n'est pas encore méthylé. Après les corrections nécessaires, des enzymes « **les maintenances méthylases** » vont intervenir pour assurer la méthylation du nouveau brin. Cette méthylation devient alors irréversible. Habituellement, elle se fait au niveau des promoteurs des gènes sur les cytosines lorsqu'elles font partie des doublets CG. La méthylation des régions des promoteurs des gènes s'oppose à la transcription de ces gènes. Au contraire les gènes hypométhylés ont une transcription active.



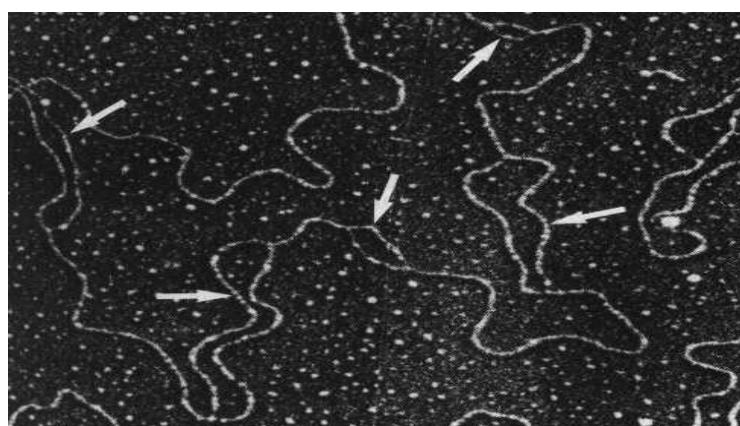
- LA REPLICATION CHEZ LES EUKARYOTES

Les grands principes de la réPLICATION sont les mêmes chez les eucaryotes et les procaryotes.

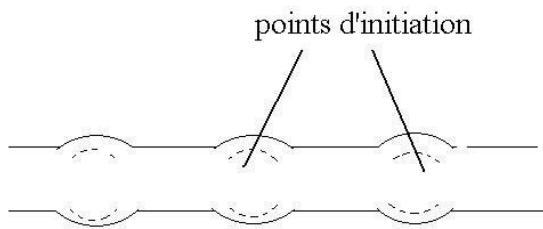
Cependant, elle possède un degré supérieur de complexité du fait de l'organisation de l'ADN en chromatine.

De plus, le site d'origine de la réPLICATION porte le nom de séquence autonome de réPLICATION ou ARS pour *Autonomously Replicating Sequence*. Ces régions ARS, riches en AT d'environ 2000 pb, possèdent des sites de fixation pour des complexes protéiques (ORC pour *Origin recognition complex*).

Il existe sur l'ADN un grand nombre d'ARS d'où la présence de multiples fourches de réPLICATION. Sans cela, la réPLICATION de l'ADN eucaryote durerait beaucoup plus longtemps.



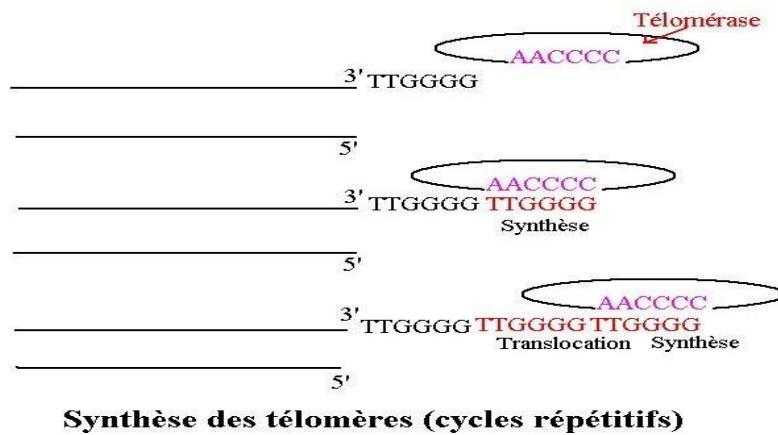
La réplication chez les eucaryotes



- LA REPLICATION DES TELOMÈRES

Les télomères sont les extrémités des chromosomes. Ils protègent les chromosomes et empêchent leur dégradation.

Ce sont des régions très répétées, riches en CG, ce qui rend le double brin très stable. Ces répétitions sont sous forme d'enchaînements de type TTAGGG chez l'homme au niveau de l'extrémité 3'. Bien évidemment à l'extrémité 5' on trouve des séquences complémentaires très riches en C. Exemple chez les protozoaires :



L'amorce d'ARN la plus externe ne peut être remplacée. Ceci a pour conséquence la perte de séquences de la taille de l'amorce à chaque division (usure des télomères). Quand la perte atteint une taille critique, on assiste à un arrêt des divisions cellulaires.

Les expériences menées par Leonard Hayflick dans les années 1960 ont trouvé ainsi leur justification moléculaire. Elles ont montré en effet que le nombre de divisions que peuvent effectuer des cellules issues de différents tissus de fœtus humains est limité (Hayflick et

Moorhead 1961). Ce phénomène de barrière au nombre de divisions cellulaires a été nommé par la suite « **limite de Hayflick** ». On a ainsi parlé **d'horloge biologique**.

Dans certaines cellules, un mécanisme de substitution des bases perdues est mis en place grâce à une enzyme **la télomérase**.

Celle-ci est une ribonucléoprotéine (assemblage d'ARN et de protéines). Il s'agit d'une **transcriptase inverse ou reverse**. Elle catalyse l'addition d'une séquence répétée complémentaire de celle perdue à l'extrémité des chromosomes.

L'enzyme a été découverte par Elizabeth Blackburn et Carol Greider en 1985 qui ont reçu le Prix Nobel de physiologie ou médecine en 2009.

Chez l'Homme, la télomérase est active dans les tissus de la lignée germinale et les cellules souches, mais pas dans les tissus somatiques normaux. Par contre, elle est réactivée dans la majorité des cancers.

NB : il a été démontré que cette extrémité saillante s'enroulait vers l'arrière avec l'aide de protéines spécialisées, et que l'extrémité à simple brin rentrait dans le duplex d'ADN de la séquence répétitive télomérique pour former une boucle.

LA REPARATION DE L'ADN

La nécessité du maintien de l'intégrité du génome a conduit les organismes à développer de nombreux mécanismes de sauvegarde et de réparation de l'ADN

- **Système de sauvegarde :**

Convertir les agents toxiques ou mutagènes en molécules inoffensives

Systèmes de détoxification des agents Xénobiotiques, centrés sur les enzymes cytoplasmiques (les cytochromes P450).

- **Systèmes de réparation**

Corriger les lésions produites dans l'ADN par les agents toxiques. Plusieurs systèmes de batterie d'enzymes et de protéines (nombreuses) agissent.

1- Lésions de l'ADN et agents mutagènes

Une lésion ou un dommage de l'ADN correspond à toute modification chimique non physiologique de l'ADN qui perturbera la configuration de la double hélice et/ou ses propriétés biologiques.

a- Principaux types de lésions :

1) Dépurination/ Dépyrimidation

2) Désamination (cytosine ou adénine)

Cytosine en Uracile

Cytosine méthylée en Thymine

3) Réactions d'addition de molécules exogènes (adduits)

4) Liaisons covalentes (dimères de Thymine)

5) Lésions oxydatives

6) cassure simple ou double brin

b- Les agents mutagènes

Ces dommages moléculaires de l'ADN peuvent provenir de l'extérieur de la cellule (exogène) ou de l'intérieur de la cellule (endogène) :

- Les sources exogènes : les rayonnements, les radiations ionisantes et les substances chimiques mutagènes. Elles produisent des lésions sur l'ADN parfois causées par des radicaux libres hydroxyles générés suite à la scission de l'eau.
- Les sources endogènes : La production de radicaux libres dans une étape du métabolisme cellulaire, des erreurs introduites lors de la réPLICATION de l'ADN simple brin.

2- Mécanismes de réparation va rétablir la viabilité d'une cellule :

Une erreur de réparation peut provoquer l'apparition d'une mutation

Deux possibilités de réparation

- à l'identique: fonction restaurée
- erreur permettant la viabilité (Mutation transmissible, Cancer)

Ce sont des mécanismes très anciens et relativement stables au cours de l'évolution.

Ils doivent être capables de réparer les lésions endogènes ou dues à des facteurs exogènes, qui sont des obstacles physiques à la réPLICATION de l'ADN ou délétères pour la cellule.

Tout d'abord étudiés chez les bactéries plus récemment chez la souris ou chez l'homme. Ces mécanismes permettent de réduire le taux de mutation à environ 10^{-9} mutation par génome.

Six grands systèmes de réparation existent au sein des cellules vivantes :

a) Par réversion des lésions :

Exp : Réversion de coupure simple brin par une ADN ligase

Exp : Réversion de dépurination (très fréquente) par une purine insertase

b) Par excision de base ou BER : en deux étapes

Les BER= Base Excision Repair ; initialement étudié chez les procaryotes. De nombreux gènes ayant des fonctions homologues sont maintenant connus chez les eucaryotes. Mécanismes impliqués essentiellement dans les réparations de mutations endogènes (dépurination, désamination, oxydation, alkylation)

c) Par excision de nucléotides ou NER :

NER= Nucleotide Excision Repair

C'est un mécanisme bien conservé au cours de l'évolution et très étudiée chez les eucaryotes en raison de son implication dans certaines maladies héréditaires

(Hypersensibilité aux rayons ultraviolets ; exp : Xeroderma pigmentosum) et de sa liaison avec les mécanismes de transcription des gènes.

d) Post répliquatif ou MMR ou RER

RER= REPLICATION ERROR REPAIR

MMR= MISMATCH REPAIR

Connue depuis longtemps chez les procaryotes, elle est très étudiée actuellement chez les eucaryotes en raison de ses implications dans les cancers : cancers familiaux héréditaires du colon (HNPCC : syndrome de Lynch)

Ce système permet la réparation des erreurs d'appariement ainsi que des petites délétions ou des additions apparues pendant la réplique de l'ADN. Il nécessite la reconnaissance de l'ADN néosynthétisé.

L'ensemble de ces mécanismes de réparation sus-cités permet à la cellule de maintenir un génome intact de génération en génération dans la mesure où les dommages infligés à l'ADN sont relativement ponctuels.

Si la cellule subit un dommage important, nombreuses mutations de bases, cassures etc..., la cellule dispose encore d'un mécanisme de réparation dit SOS, qui ne réparera pas à l'identique et pourra donc fixer des mutations.

Il existe aussi un mécanisme de réparation par recombinaison qui peut entraîner la perte d'allèles (recombinaison homologue ou non homologue).

e) par Recombinaison Homologue (Cf ; Cours de Méiose) ou non Homologue

f) par induction du système SOS

LES ACIDES NUCLÉIQUES

Plan du cours

1/ STRUCTURE DES CONSTITUANTS DES ACIDES NUCLEIQUES

2/ ASSEMBLAGE DES CONSTITUANTS

3/ LES ACIDES DESOXYRIBONUCLEIQUES

4/ LES ACIDES RIBONUCLEIQUES

5/ LES ADN DES ETRES VIVANTS

Découverts en 1868 par le biologiste suisse Friedrich Mischer dans les noyaux cellulaires, d'où leur nom, ils sont également présents dans le cytoplasme. Les acides nucléiques jouent un rôle fondamental dans la vie et la reproduction des êtres vivants.

Les acides nucléiques se présentent sous forme de molécules polymériques. En effet, de même que les protéines sont formées par l'enchaînement de nombreux aminoacides et les polysaccharides par l'enchaînement de nombreuses molécules de sucres, les acides nucléiques sont constitués par l'enchaînement de nombreux motifs relativement simples (monomères) : les nucléotides, chacun d'eux comporte une base azotée (purique ou pyrimidique), un sucre à cinq atomes de carbone ou pentose (ribose ou désoxyribose) et un acide phosphorique.

La séquence des nucléotides définit le code génétique (patrimoine héréditaire) de chaque individu.

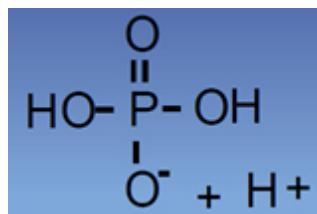
Les progrès remarquables des connaissances sur la structure et le rôle des acides nucléiques ont donné naissance à la biologie moléculaire.

1/ STRUCTURE DES CONSTITUANTS DES ACIDES NUCLEIQUES

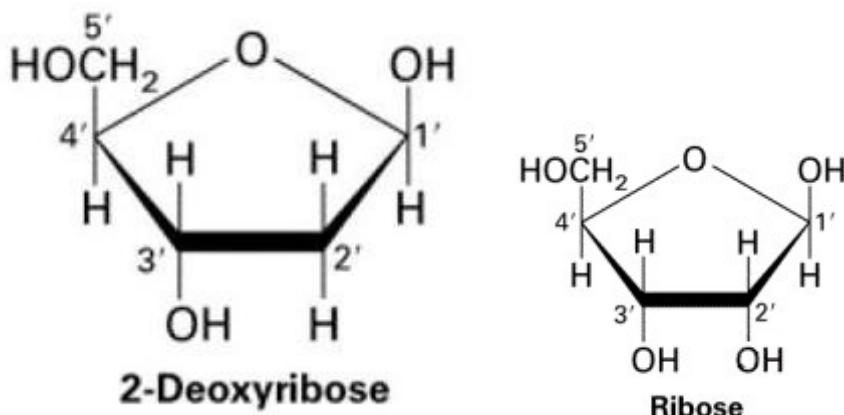
Molécules constitutives :

Les acides nucléiques sont constitués de 3 composés :

- L'**acide phosphorique** est un triacide dont une fonction acide est dissociée permettant de donner une charge négative à l'ADN, et dont les deux autres peuvent former des liaisons phosphodiester, et anhydride phosphate.

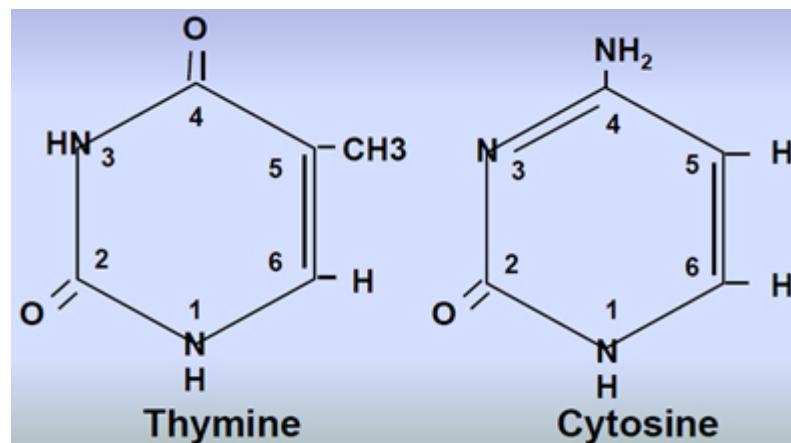
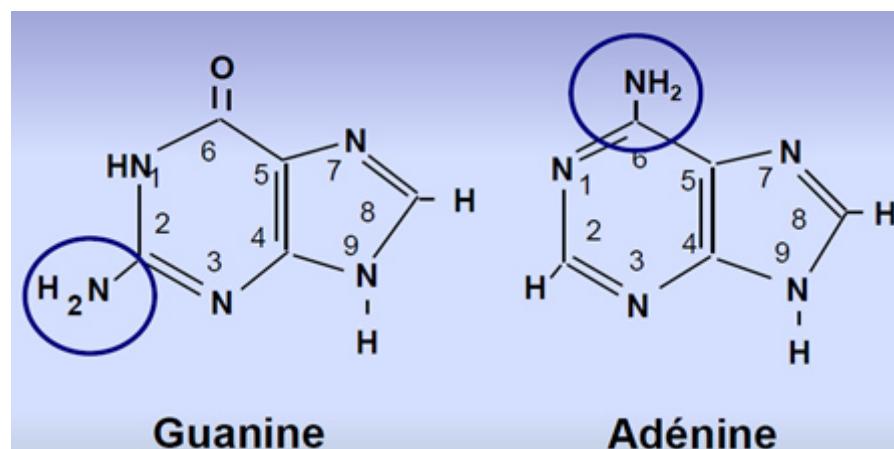


- Les **pentoses** sont des glucides cycliques à 5 atomes de carbone qui sont sous forme désoxyribose pour l'ADN, de ribose pour l'ARN.



- Les **bases** sont de deux types :
 - Les bases pyrimidiques (à un cycle) : la cytosine, la thymine (ADN) et l'uracile (ARN).
 - Les bases puriques (à 2 cycles) : la guanine, l'adénine .

Les bases pyrimidiques

Les bases puriques**2/ ASSEMBLAGE DES CONSTITUANTS**

a- Nucléoside

L'association d'une base et d'un pentose par une liaison N-glycosidique est appelée un **nucléoside** : **Sucre + base azotée = nucléoside**

Exemples : adénosine ; guanosine, uridine, thymidine, cytidine

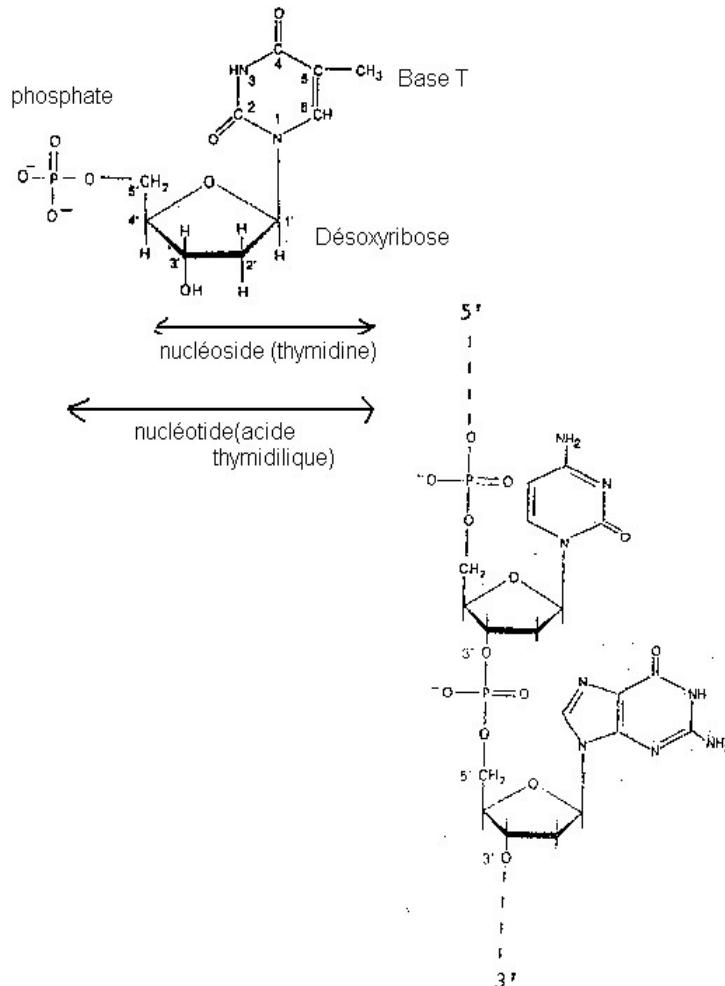
b- Nucléotide

Les **nucléotides** résultent de la phosphorylation des nucléosides : **Nucléoside + phosphate = nucléotide**

Exemples : adénosine monophosphate ou AMP, thymidine monophosphate ou TMP, guanosine monophosphate ou GMP

c- Oligo- ou polynucléotides (polymères) sont des assemblages de nucléotides (monomères)

LES ACIDES NUCLEIQUES



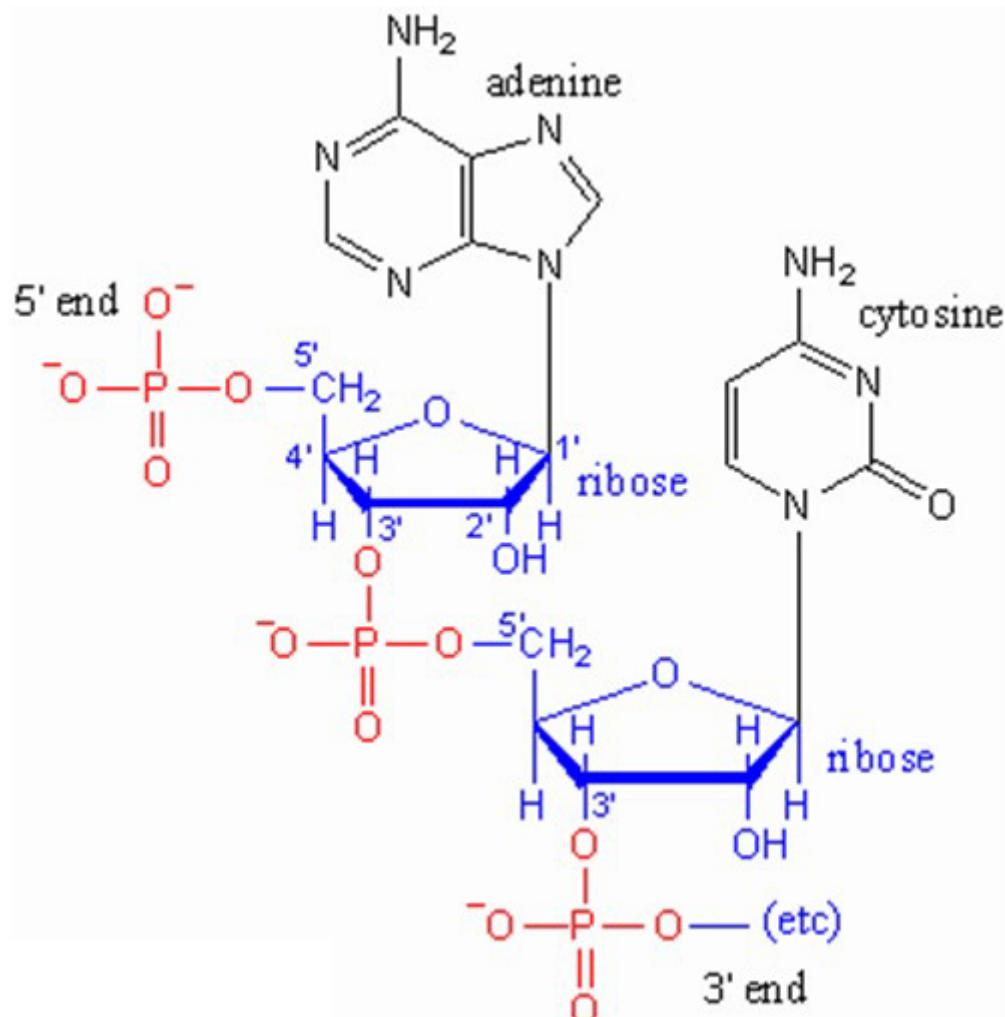
Les polynucléotides sont des macromolécules constituées par l'enchaînement de plusieurs nucléotides reliés entre eux par une liaison 3', 5': qui réunit les 2 nucléotides contigus en position C3' du nucléotide n avec le nucléotide $n + 1$ en position C5'.

Toute la construction se fait à partir de 4 nucléotides selon la nature de la base : A, C, G et T ou U

Un acide nucléique va avoir deux extrémités :

Une extrémité 5'P qui contient le groupement phosphate

Une extrémité 3'OH qui contient un OH libre du pentose



3/ LES ACIDES DESOXYRIBONUCLEIQUES ADN

- L'**ADN** est un acide nucléique dont le pentose est un désoxyribose avec 2 types de bases pyrimidiques (T,C) et puriques (A,G).

Il est constitué de **deux brins** liés par **des liaisons hydrogènes** entre des **bases complémentaires** A avec T et C avec G.

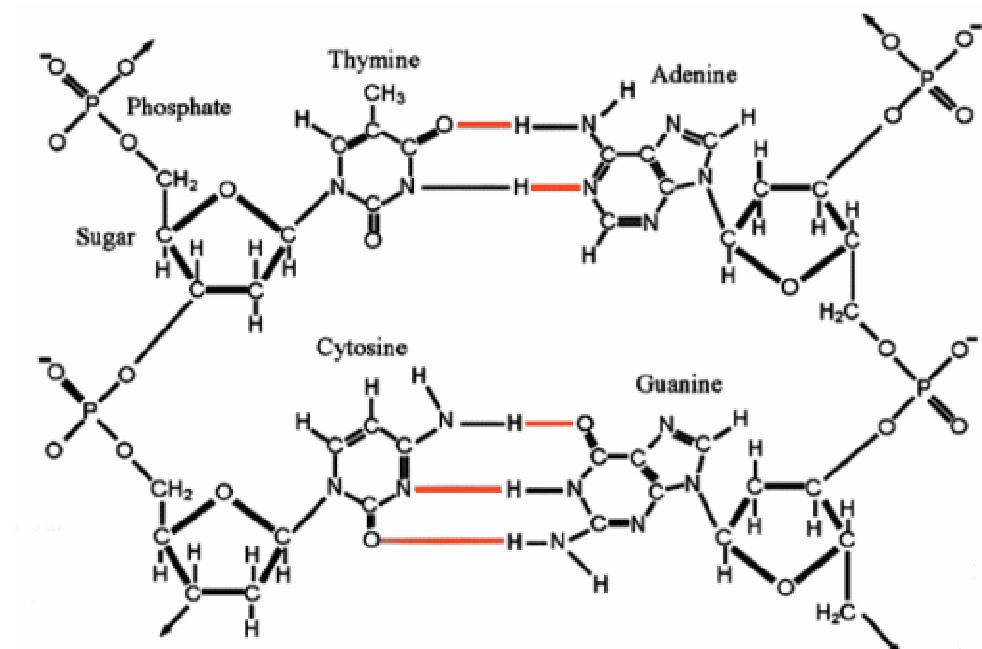
On retient 3 caractéristiques de l'ADN :

- **Disposition antiparallèle** des brins 3'- 5' et 5'- 3'.

- **Complémentarité des bases** qui s'explique par :

Des raisons stériques (de place) 3 cycles par pallier : une base pyrimidique (1 cycle) avec une base purique (2 cycles).

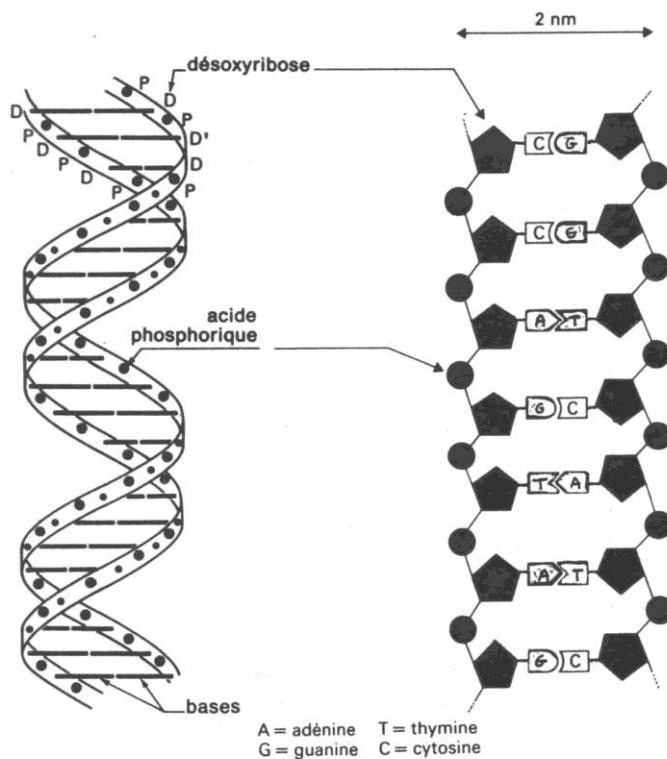
Des raisons liées aux liaisons hydrogène : les seules possibilités sont liaison A-T (2 liaisons et C-G (3 liaisons).



Des études physiques ont montré qu'indépendamment des quantités précises de chaque base C=G et A=T ce qui veut dire qu'il y a autant de bases pyrimidiques que de bases puriques. Par contre le rapport A+T/C+G est variable d'un ADN à l'autre

- **Disposition hélicoïdale** : la molécule d'ADN est faite de deux chaines hélicoïdales qui s'enroulent autour d'un axe central imaginaire.

Ce type de conformation spatiale a été découvert par Watson et Crick (prix Nobel 1962).



Propriétés de l'ADN :

- 1- Absorption UV
- 2- Dénaturation thermique : notion de température de fusion

<http://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&ved=0CAcQjRw&url=http://www.sciencegroup.org.uk/ifgene/bascou2.htm&ei=juRfVN2-Eo3yau2OgKAJ&bvm=bv.79189006,d.ZGU&psig=AFQjCNElexu92AO6Diu2RZRSI90EdziFkQ&ust=1415656872534852>

4/ Les acides ribonucléiques

Sont constitués par un seul brin fait de nucléotides liés par des liaisons 3'- 5' à cette différence près que l'uracile remplace la thymine.

Il existe plusieurs types d'ARN (cf. cours « transcription »).

5/ Les ADN des êtres vivants

Les différences concernent les éléments suivants :

- Plusieurs molécules d'ADN par cellule (46 chez l'homme)
- La longueur en paires de bases

virus de la vaccine comporte 240 000 pb

E. coli, il comporte 3 400 000 pb

Homme 3 milliards

Plantes 10^{10} - 10^{11}

- La forme circulaire ou linéaire
- C'est surtout **la séquence des bases** qui est le caractère le plus important.

Exemples de génomes :

- Les virus

Incapables de se reproduire seuls ou d'effectuer des synthèses. Ils possèdent habituellement les ADN les plus courts. Ils peuvent être à ADN ou à ARN.

- Les procaryotes

ADN situé directement dans le cytoplasme ; souvent un seul ADN

Parfois présence de plasmides qui sont de petits morceaux d'ADN indépendants.

- Les eucaryotes

L'ADN est situé dans le noyau et organisé en chromosome.

- ADN mitochondrial

Formé de 2 brins, aspect circulaire. Il code les différents ARN nécessaires à la synthèse des protéines de la chaîne respiratoire de la cellule.

Il possède un code génétique légèrement différent du code nucléaire.

L'hérédité mitochondriale est cytoplasmique et maternelle puisque l'embryon hérite les mitochondries ovocytaires.

LA MEIOSE

Plan du cours

PARTICULARITES DE LA MEIOSE

MECANISMES DE LA MEIOSE

ETUDE MORPHOLOGIQUE DE LA MEIOSE

QUELQUES ASPECTS MOLECULAIRES DE LA MEIOSE

CONSEQUENCES GENETIQUES DE LA MEIOSE

LES ACCIDENTS DE LA MEIOSE ET LEURS CONSEQUENCES

Chez la plupart des êtres unicellulaires, la mitose représente le seul mode de reproduction. On parle de reproduction asexuée. Elle donne naissance à des individus génétiquement identiques entre eux et à l'organisme parental. La diversification des caractères héréditaires ne dépend que de la fréquence des mutations.

La plupart des êtres pluricellulaires se reproduisent par reproduction sexuée faisant intervenir deux types de cellules spécialisées : les gamètes provenant en général de deux individus différents : les parents. La mitose permet la conservation qualitative et quantitative de l'information génétique. Cette information est symbolisée chez les êtres supérieurs par $2n$. Pour que le zygote ait $2n$ chromosomes, les gamètes qui lui ont donné naissance, doivent préalablement avoir subi un mécanisme de régulation pour que ces gamètes n'aient que n chromosomes. Ce mécanisme correspond à la méiose.

1. PARTICULARITES DE LA MEIOSE

La méiose est un phénomène mitotique particulier qui ne se réalise que dans les cellules germinales existant dans les gonades (ovaires et testicules). La méiose est un mécanisme de réduction de la diploïdie $2n \rightarrow n$, phénomène indispensable et préalable à la fécondation $n+n \rightarrow 2n$.

La méiose intervient dans la formation des gamètes qui sont des cellules haploïdes, lors de l'ovogénèse (sexe féminin) et de la spermatogénèse (sexe masculin).

2. MECANISMES DE LA MEIOSE

Deux mitoses successives caractérisent ce mode de division :

Mitose réductionnelle: précédée d'une phase S, elle sépare les chromosomes homologues de chaque paire après leur appariement.

Mitose équationnelle : Sans phase S. Comme une mitose normale.

Elle se fait sur la moitié des chromosomes dans chaque cellule fille, elle clive chacun de ces chromosomes en 2.

3. ETUDE MORPHOLOGIQUE DE LA MEIOSE

1. La mitose réductionnelle

A- La prophase I

Très longue par rapport à celle de la mitose. Comprend les stades suivants (en fonction de l'aspect des chromosomes) :

1/ Le stade leptotène (leptos = mince)

- Chromosomes apparaissant très fins très flexueux et très longs. .
- Au microscope électronique : les chromosomes sont bien dupliqués et donc la phase S a déjà eu lieu.
- Chaque chromosome est fait de deux chromatides sœurs étroitement accolées.

2/ Stade zygotène (zygos = couple)

- Rapprochement des deux chromosomes homologues de toutes les paires.
- Constitution d'une structure de liaison des chromosomes homologues : le complexe synaptonémal (synapsis = lien)
- La synapsis progresse le long des chromosomes homologues à la manière d'une fermeture éclair jusqu'à appariement total (sauf pour les chromosomes X et Y).

3/ Le stade pachytène (pachy = épais)

Raccourcissement et épaississement maximal des chromosomes. Les chromosomes homologues sont appariés sur toute leur longueur. On décrit: Bivalent: accollement de deux chromosomes homologues. Tétrade : accollement des quatre chromatides de la paire. Apparition des nodules de recombinaison sur les complexes synaptonémaux

4/Le stade diplotène (diplos = double)

- Dissociation du complexe synaptonémal qui va permettre de dissocier les chromosomes homologues.
- Cette dissociation commence au niveau du centromère. Les chromatides restent liées par des points d'accolement et d'enjambements désignés sous le terme de chiasma (croisement) qui représentent les Crossing-Over.

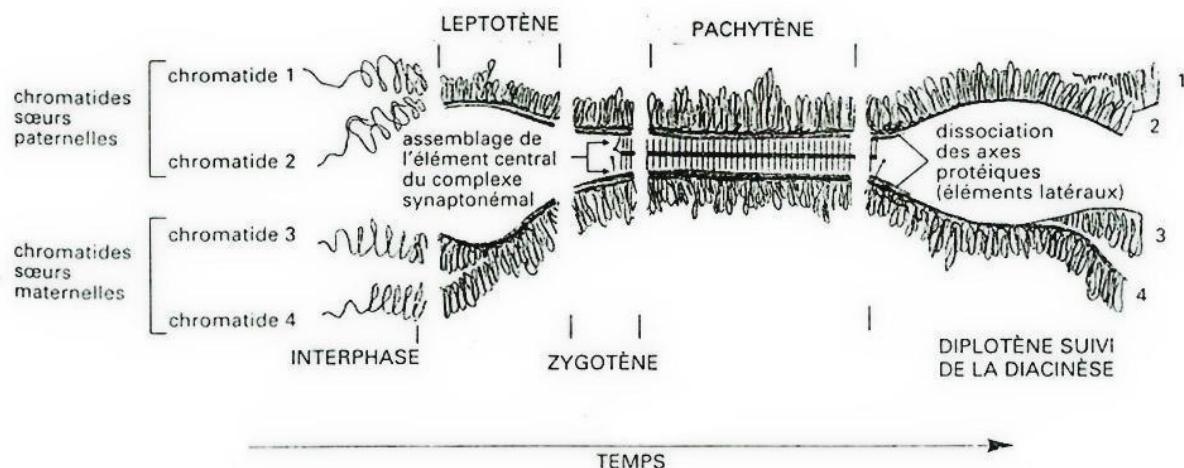
C'est à ce stade que vont être bloqués les ovocytes I dans l'ovogénèse.

5/Le stade diacinèse

- Le compactage des chromosomes est maximum.

- Dissociation de l'enveloppe nucléaire.
- A ce stade on observe des images de croisement : en anneaux, en boucles ou en croix.

Les chromatides sœurs sont unies par des centromères, et les chromatides homologues sont unies par les chiasma (Crossing-Over).



B- la métaphase I

- La plaque équatoriale contient 23 tétrades.
- Il n'y a jamais de clivage des centromères.

C- l'anaphase I

Séparation des chromosomes homologues, chacun va migrer vers un pôle, cette migration se fait de manière aléatoire. C'est ce que l'on appelle " la ségrégation aléatoire" ou brassage inter-chromosomique

D- la télophase I

- La membrane nucléaire se reforme.
- On obtient deux cellules filles chacune avec 23 chromosomes dont chacun est constitué de deux chromatides. Chaque chromatide comporte de nouvelles combinaisons dues aux Crossing-Over.

2. la mitose équationnelle

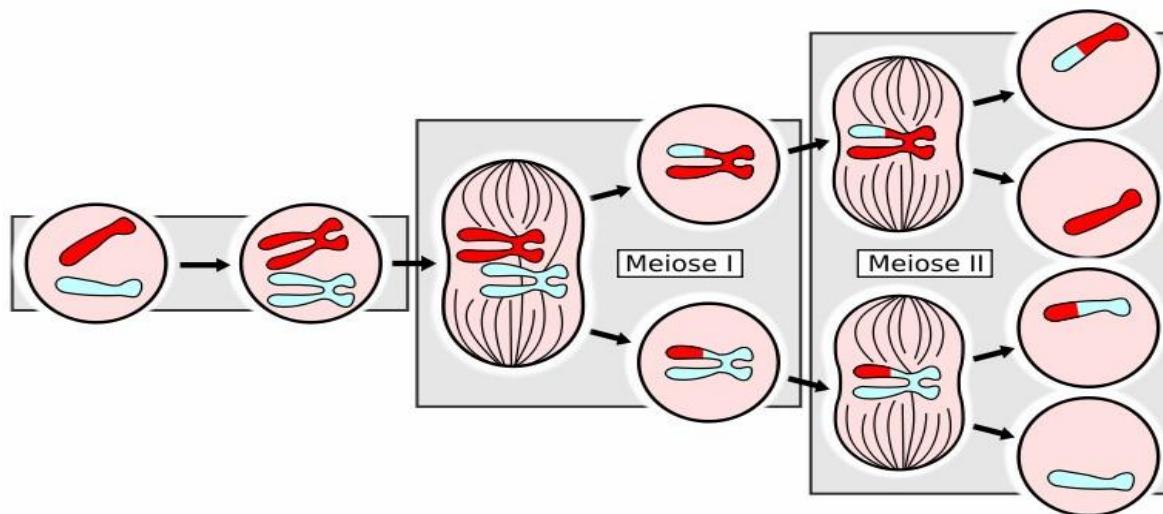
Elle succède à la précédente suivant un délai variable selon le type de gamète mâle ou femelle.

Se déroule de manière identique à une mitose simple mais :

- Les chromosomes sont déjà clivés chacun en deux chromatides.
- Il n'y a pas de phase S c'est à dire pas de dédoublement de la quantité d'ADN.

□ Répartition des chromatides dans les cellules filles.

Reconstitution des noyaux avec 23 chromatides (chromosomes).



4. QUELQUES ASPECTS MOLECULAIRES DE LA MEIOSE

a- Complexe synaptonémal et nODULES de recombinaison

Le complexe synaptonémal est un complexe protéique permettant l'association (l'appariement parfait) des chromosomes homologues : c'est à dire les quatre allèles du même gène (portés par les quatre chromatides). En microscopie électronique, il apparaît constitué d'éléments latéraux parallèles (constitués majoritairement de SYCP2 et SYCP3), et d'un élément central dense aux électrons (SYCP1 étant la protéine majoritaire) relié aux précédents par des filaments transverses. A certains endroits sur l'élément central apparaissent des nodules de recombinaison, c'est aux endroits où se situent ces nodules que les chromatides homologues non sœurs s'échangent des fragments (recombinaison). Les chiasmata sont donc dus à la présence de nodules de recombinaison, et il peut y en avoir plusieurs par chromosome. Cet appariement permet le brassage intra-chromosomique "crossing-over" lors du stade Pachytène.

Le complexe synaptonémal n'est pas suffisant pour maintenir ensemble les chromatides sœurs ; mais dès qu'elles apparaissent (c'est-à-dire au stade préleptotène), elles sont déjà maintenues ensemble grâce à des cohésines. Les deux chromatides sœurs restent maintenues ensemble tout au long de la méiose I et durant une partie de la deuxième division méiotique. Ce n'est qu'en anaphase II que les chromatides sœurs se séparent.

b- Crossing-over et recombinaison méiotique :

Les Crossing-over (CO : enjambements chromosomiques) désignent les échanges réciproques de fragments d'ADN entre 2 chromosomes homologues.

Ils résultent d'une production de cassure double brin de l'ADN (CDB) par une endonucléase spécifique de la méiose (SPO11), suivie de leur réparation par recombinaison avec le chromosome homologue (on parle de recombinaison homologue) : un double brin homologue intact sert de modèle pour réparer le segment perdu suite à la CDB.

Les CO/ recombinaison sont initiées par un grand nombre de CDB localisées tout le long des chromosomes.

c- Chiasmata :

Les chiasmata représentent la manifestation cytologique du Crossig-Over. Ils apparaissent au stade diplotène et persistent jusqu'en anaphase I. Ils témoignent de l'échange réciproque de fragments d'ADN entre chromatides homologues qui s'est déroulé au stade pachytène par recombinaison homologue. Ils conduisent à la formation d'un lien physique entre les chromosomes homologues qui est indispensable à la ségrégation correcte des chromosomes homologues à l'anaphase I

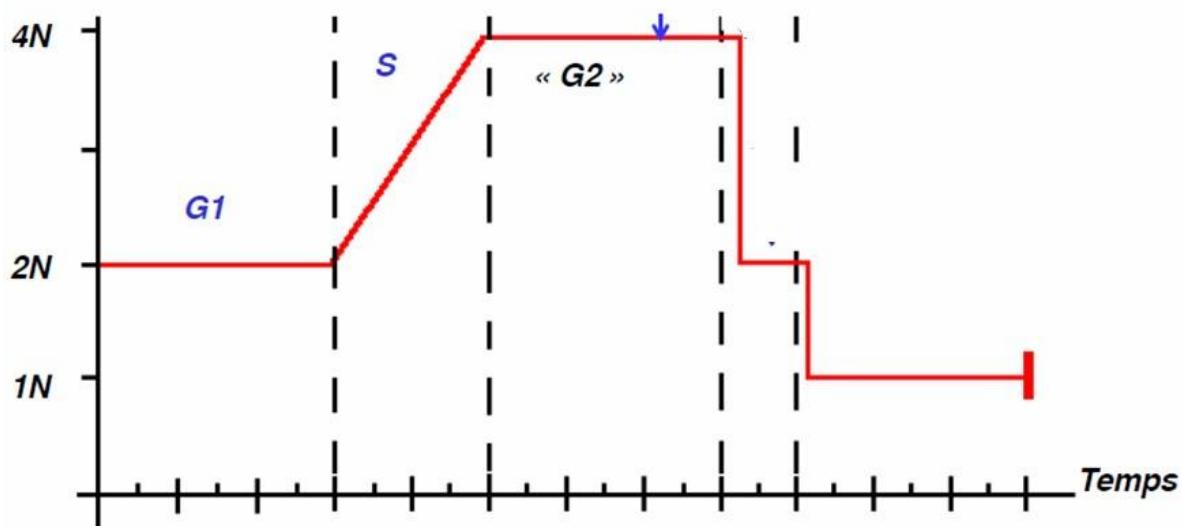
NB : Dans l'ovocyte, les chromosomes X s'apparent sur toute leur longueur formant un bivalent sexuel XX qui ne se distingue pas des bivalents autosomiques par son comportement.

Les chromosomes X et Y sont essentiellement hétérologues (= ils portent des gènes différents). Toutefois, ils possèdent à l'extrémité de leurs bras courts une région homologue, la région pseudo-autosomique 1 (PAR1, pseudoautosomal region 1) des gonosomes qui permet l'appariement et la formation d'un CO.

NB : la recombinaison des allèles n'a de sens que pour les gènes présents à l'état hétéozygote dans le génome. Si un gène est à l'état homozygote (il possède des allèles identiques sur chacun des 2 chromosomes homologues), le CO ne modifiera en rien la combinaison des allèles

5. CONSEQUENCES GENETIQUES DE LA MEIOSE

Grâce à la méiose, à partir d'une cellule diploïde on obtient des cellules haploïdes génétiquement différentes de leur cellule mère grâce au brassage intra-chromosomique et inter-chromosomique. La fécondation de gamètes haploïdes provenant de 2 individus génétiquement différents donne des descendants génétiquement différents entre eux et différents de leurs parents ce qui explique la diversification obligatoire et permanente des individus. On assiste aussi au rajeunissement intégral des zygotes par la remise à zéro de leur horloge d'espérance de vie.



5. LES ACCIDENTS DE LA MEIOSE ET LEURS REPERCUSSIONS SUR L'EMBRYON

a. Polyploidies

Le nombre total de chromosomes est un multiple entier (supérieur à 2) de n

La Triploïdie : Les cellules de l'embryon possèdent 3 n chromosomes. Elle peut résulter:

- de la fécondation par un spermatozoïde d'un ovocyte n'ayant pas rejeté son deuxième globule polaire (cas de digynie = anomalie de la méiose).
- de la fécondation d'un ovocyte par 2 spermatozoïdes (cas de dispermie = anomalie de la fécondation).

b. Aneuploidies

Anomalies du nombre des chromosomes, par excès ou défaut, mais différentes d'un multiple de n.

Trisomies = gain d'un chromosome entier, présence dans le caryotype de 3 représentants d'un chromosome particulier, au lieu de la paire habituelle.

Les individus trisomiques possèdent $2n + 1$ (soit 47) chromosomes.

- Trisomies autosomiques (exp Trisomie 21)
- Monosomies autosomiques : sont létales in utero
- Trisomies et monosomies gonosomiques (exp : syndrome de Klinefelter 47XXY, syndrome de Turner 45X)

LA MITOSE

OBJECTIFS :

Décrire la mitose morphologiquement

Expliquer le mécanisme des différents évènements observés au cours de la mitose

Connaitre certaines applications des connaissances sur la mitose en pratique médicale

Citer quelques exemples d'anomalies de la mitose

PLAN :

INTRODUCTION ET GENERALITES

METHODES D'ETUDE DE LA MITOSE

ETAPES DE LA MITOSE

MECANISMES DES EVENEMENTS DE LA MITOSE

ANOMALIES DE LA MITOSE

INTRODUCTION ET GENERALITES

La mitose correspond au moment de la division d'une cellule ayant entièrement dupliqué son matériel génétique donnant naissance à deux cellules filles. Elle fait suite à l'interphase.

Elle permet la multiplication cellulaire par division binaire des cellules chez les eucaryotes. Grâce à la réPLICATION de l'ADN, la cellule mère transmet le même message génétique qu'elle porte à ses deux cellules filles.

La phase **M** englobe la division nucléaire (mitose) et la division cytoplasmique (Cytocinèse ou cytodiérie)

METHODES D'ETUDE DE LA MITOSE :

On peut observer les **cellules vivantes au microscope à contraste de phase** ou bien par vidéomicroscopie ou par **coloration de cellules fixées**

ETAPES DE LA MITOSE :

On subdivise la mitose en différentes phases :

1- Prophase :

Faisant suite à une phase G2 pendant laquelle le noyau était uniforme sans individualisation de chromosomes, la prophase se caractérise par la formation **du fuseau mitotique, une condensation de la chromatine en chromosome et la disparition du/des nucléoles.**

On assistera aussi à un début de fragmentation de la membrane nucléaire

Formation du fuseau mitotique

Le fuseau mitotique est formé de microtubules (fibres) et de protéines associées (microtubule associated proteins MAPs) formant un véritable fuseau entre les 2 pôles de la cellule. Dans les cellules animales, ce fuseau s'organise autour de structures appelées Centrosomes.

Le Centrosome est une petite structure formée de deux centrioles entourés de matériel péricentriolaire et située près du noyau. Chaque centriole est formé de 9 groupes de 3 tubules. À l'interphase, les centrosomes se dédoublent.

À la prophase, les deux centrosomes s'éloignent l'un de l'autre. Les fibres du fuseau s'organisent entre les centrosomes.

Condensation progressive des chromosomes :

L'activation du MPF conduit à la phosphorylation des Histone H1 (cf. cours les acides nucléiques) ce qui induit, pendant la prophase, progressivement, la condensation des chromosomes, leur raccourcissement et leur épaissement entraînant ainsi la disparition du nucléole.

2- Prométaphase : se caractérise par :

a- Rupture brutale de l'enveloppe nucléaire

La rupture de l'enveloppe nucléaire est déclenchée par le MPF qui phosphoryle les Lamines nucléaires. Les vésicules membranaires ainsi formées s'intègrent dans le réticulum endoplasmique. Les microtubules du fuseau pénètrent dans la région nucléaire.

b- Formation des kinétochores :

Le kinétochore est un grand complexe protéique se fixant aux centromères. Il existe deux Kinétochores par chromosome, un pour chaque chromatide sœur se disposant dos à dos au cours de la mitose.

La pénétration des microtubules du fuseau dans la région nucléaire permet la fixation de certains de ces microtubules aux chromosomes par le biais des kinétochores. On appellera ces microtubules alors les microtubules kinétochoriens qui seront responsables des mouvements des chromosomes. Ces mouvements sont dûs à la poly et dépolymérisation de ces microtubules kinétochoriens.

c- Formation de différents types de microtubules

Au cours de la prométaphase, suite à la rupture de la membrane nucléaire, on assiste à la formation de 3 types de microtubules:

- Microtubules kinétochoriens : responsable de la ségrégation des chromosomes en deux lots
- Microtubules astraux : responsables de l'ancre des centrosomes à la membrane cytoplasmique (stabilise le fuseau mitotique)

- **Microtubules polaires** : responsables de la polarisation de ce fuseau mitotique

3- Métaphase :

Les mouvements des chromosomes se stabilisent. Les chromosomes se rassemblent au centre de la cellule et forment la plaque équatoriale ou métaphasique.

4- Anaphase :

Les chromatides sœurs se séparent. C'est la disjonction chromatidienne. Les chromatides sont tirées par les fibres du fuseau et migrent aux extrémités de la cellule.

C'est la dégradation de la cycline B, via une ubiquitinylation de cette cycline B, qui rendra inactif le complexe Cycline B/ CDK1 (MPF). Cette inactivation du MPF va permettre la rupture brutale des kinétochores, et donc permettre l'éloignement des chromatides sœurs. (cf. cours cycle cellulaire)

L'anaphase peut être divisée en 2 sous étapes :

a- Anaphase A :

On assiste aux mouvements des chromosomes vers les pôles de la cellule suite à la dépolymérisation des microtubules kinétochoriens (raccourcissement des microtubules)

b- Anaphase B :

Elle correspond à la croissance des microtubules polaires au niveau de l'extrémité positive des microtubules entraînant l'éloignement des pôles de la cellule

5- télophase :

Les chromosomes ont rejoint les pôles de la cellule. Ils se décondensent et forment à nouveau de la chromatine. L'enveloppe nucléaire et le nucléole se reforment.

6- Cytocinèse:

La membrane cellulaire se contracte généralement à l'équateur de la cellule pour diviser la cellule en deux.

Elle débute par l'étranglement annulaire de la cellule mère correspondant à un anneau contractile composé de filaments d'actine et de myosine avec des protéines d'ancrage à la membrane cytoplasmique. Il en résulte une réduction progressive puis rupture du pont cytoplasmique entre les deux futures cellules filles, et fusion des 2 membranes cytoplasmiques séparant ainsi les 2 cellules filles

La majorité des cellules se divisent de manière symétrique. Il existe toutefois de nombreux cas où la division est asymétrique (au cours de la méiose de l'ovocyte par exemple) résultant d'une position excentrée du fuseau mitotique

MECANISMES DES EVENEMENTS DE LA MITOSE : description des évènements de la mitose**1- La réplication du centrosome et formation des asters : (cf. cours biologie cellulaire)****2- La formation du fuseau mitotique**

NB : Dans cette mise en place et évolution du fuseau mitotique, ces protéines jouent un rôle important : **Dynéines et Kinésines** (cf. cours de biologie cellulaire)

3- Alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale : plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer l'alignement des chromosomes (ne seront pas traitées)**4- Ségrégation des chromosomes en deux lots**

L'anaphase se caractérise par la séparation brutale des chromatides sœurs au niveau de leur kinétochores déclenchée par l'activation du complexe de promotion de l'Anaphase (APC). Elle est conditionnée par l'alignement correct des chromosomes sur le plan équatorial lors de la métaphase.

Son point de contrôle correspond à la transition Métaphase-Anaphase (cf. cycle cellulaire).

Lors de l'anaphase on distingue deux types de mouvements :

a- Anaphase A :

On y assiste à un mouvement des chromosomes vers les pôles. Ce mouvement est dû principalement au raccourcissement des microtubules kinétochoriens par dépolymérisation des microtubules.

b- Anaphase B

Les pôles de la cellule s'éloignent l'un de l'autre par allongement des microtubules polaires au niveau de leurs extrémités + grâce à la mise à disposition de molécules de tubulines a et b secondaire à la dépolymérisation des microtubules kinétochoriens.

NB : • Colchicine se lie à la tubuline libre et empêche sa polymérisation. Cette propriété est utilisée au laboratoire pour la réalisation du caryotype (cf. cours de Cytogénétique)

NB : • Le taxol empêche la dépolymérisation du réseau microtubulaire. Cette propriété est utilisée en chimiothérapie anti cancéreuse (exp : cancer de l'ovaire)

Récapitulatif du rôle central que joue le MPF dans cette régulation : **Son activité consiste en la phosphorylation de :**

- Lamines : dépolymérisation de la lamina et rupture de l'enveloppe nucléaire

- Myosine : inhibition de la cytodiérèse (anneau contractile)
- Protéines nécessaires à la mise en place du fuseau et séparation des centrosomes
- MAPs (microtubule associated proteins) : changement de la dynamique des microtubules en mitose entraînant une désorganisation du cytosquelette interphasique mobilisant ainsi les microtubules pour la formation du fuseau mitotique
- Histones et condensines : condensation des chromosomes
- Autres protéines dont des kinases

ANOMALIES DE LA MITOSE

La perte du contrôle de la division cellulaire (Non-disjonction chromatidienne, Mitoses multipolaires ..) peut constituer le lit de la prolifération tumorale (Cf. cours cycle cellulaire).



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE
PHARMACIE



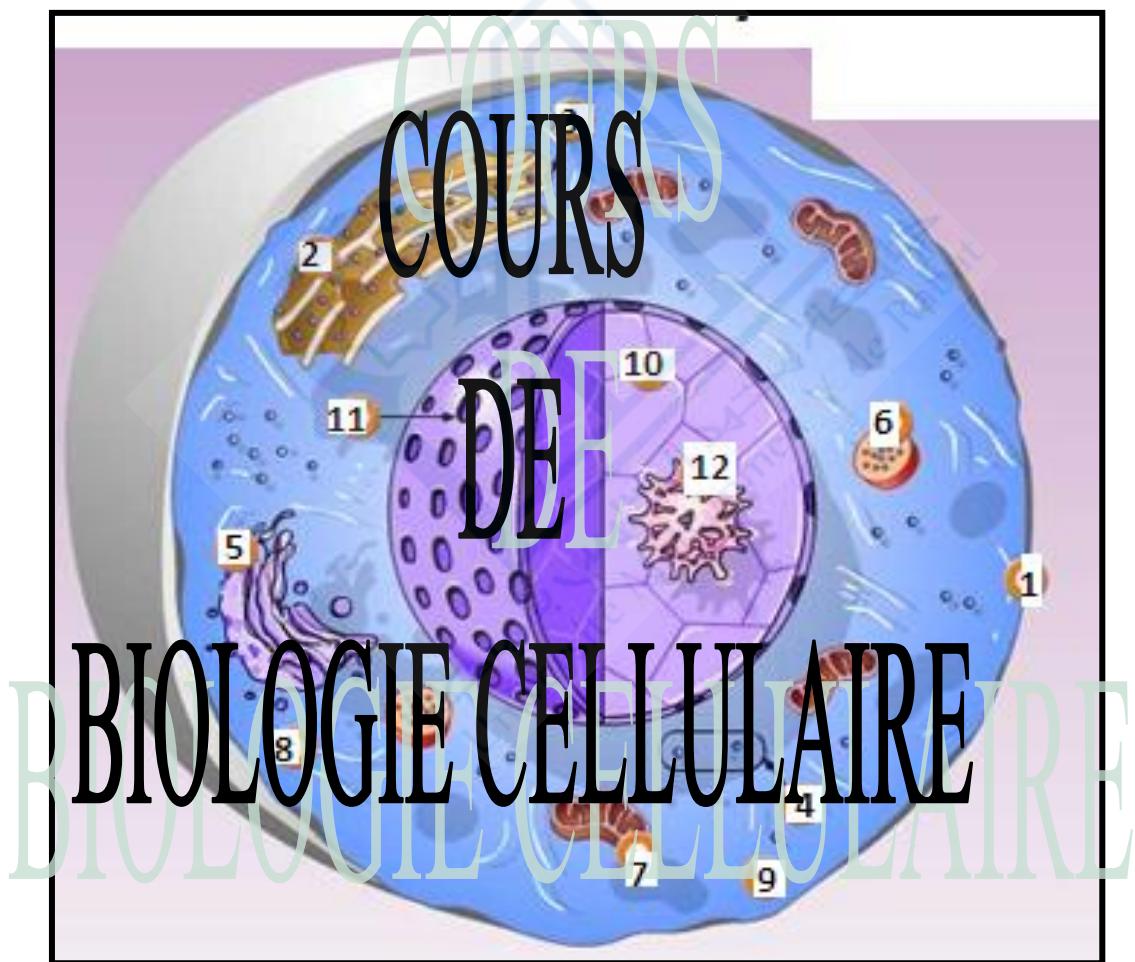
BIOLOGIE CELLULAIRE

1^{ère} Année de Médecine
S1

Pr. Jamal Eddine Khanfri

2020- 2021

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT
Laboratoire
HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE-CYTOGENETIQUE



Pr Jamal Eddine KHANFRI

1^{ère} ANNEE MEDECINE

2020/2021

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	2-3
INSTRUMENTS D'ETUDE DE LA CELLULE	4-5
LA MEMBRANE PLASMIQUE	
STRUCTURE ET COMPOSITION CHIMIQUE	6- 12
ORGANISATION MOLECULAIRE ET PROPRIETES	13-16
TRANSPORTS MEMBRANAIRES	16-26
LA MEMBRANE PLASMIQUE : DIFFERENCIATIONS	27-41
LE CYTOSQUELETTE	
- LES MICROTUBULES	42-44
- LES MICROFILAMENTS D'ACTINE	44-47
- LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES	47-48
- LE CENTRIOLE ET SES DERIVES	
▪ LE CENTRIOLE	49-51
▪ LES CILS VIBRATILES	51-53
LES MITOCHONDRIES	54-64
BASOPHILIE ET RIBOSOMES	65-69
LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE RUGUEUX	70-75
LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE LISSE	76-77
L'APPAREIL DE GOLGI	78-83
LES ENDOSOMES	84
LES LYSOSOMES	85-90
LES PEROXYSOMES	91-92
LE COMPARTIMENT CYTOSOLIQUE	93-94
LES PROTEASOMES	95
LE NOYAU INTERPHASIQUE	96-110
LES COMMUNICATIONS CELLULAIRES	111-117

INTRODUCTION

La cellule et la biologie cellulaire

Définition

La cellule est la plus petite unité structurale, fonctionnelle et reproductrice de tous les êtres vivants.

Chaque cellule est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière autonome, mais coordonnée avec les autres. Les cellules de même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes.

La biologie cellulaire est une discipline de la biologie qui étudie les cellules et leurs organites, les processus vitaux qui s'y déroulent ainsi que les mécanismes permettant leur survie (croissance, multiplication, métabolisme, communications....) .

Deux formes fondamentales d'organisation

La cellule *procaryote*

Pas de noyau, un matériel génétique dans le cytoplasme (bactéries, algues bleues). Pas d'organites sauf ribosomes. Entourée d'une membrane et parfois d'une paroi rigide.

La cellule *eucaryote*

Noyau bien individualisé et organites en suspension dans le cytoplasme.

Le cytoplasme est la totalité du volume cellulaire (à l'exception du noyau) entouré par la membrane plasmique (MP).

Le cytoplasme = hyaloplasme ou cytosol + organites cellulaires

- 1. La MP** : sépare les milieux intracellulaire et extracellulaire
- 2. Le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et lisse (REL)** : cavités appartenant au système endomembranaire.
- 3. L'appareil de Golgi (AG)** : organite désignant l'ensemble des dictyosomes. Il fait partie du système endomembranaire
- 4. Les endosomes** : compartiment du système endomembranaire alimenté par l'endocytose et le Golgi.
- 5. Le lysosome** : organite du système endomembranaire contenant des hydrolases acides.
- 6. Le peroxysome** : organite limité d'une membrane qui produit notamment H₂O₂.
- 7. La mitochondrie** : organite délimité par deux membranes. Contient son propre génome. Siège de nombreuses réactions enzymatiques. C'est le principal fournisseur d'énergie.
- 8. Le centre cellulaire ou centrosome** : région au voisinage du noyau comprenant deux centrioles (ou diplosome) entouré d'un matériel finement granuleux et de microtubules.

9. Le cytosquelette : ensemble des microtubules (MT), des microfilaments (FA), des filaments intermédiaires (FI) et des protéines associées.

10. Le cytosol : solution aqueuse dans laquelle baignent le noyau et les différents organites. Il est le siège de nombreuses réactions enzymatiques. Il contient notamment des ribosomes et des substances de réserve.

11. Le noyau : entouré de l'enveloppe nucléaire (constituée de deux Mb). Contient le génome cellulaire.

Certaines organismes eucaryotes sont constitués d'une cellule unique, **les protistes**: animal (*protozoaire*) ou végétal (*protophyte*) alors que d'autres sont pluricellulaires (*métazoaires*).

Cas particulier des virus

Enveloppés d'une gaine protéique, la *capside* et contenant un acide nucléique (ADN ou ARN). Dépourvus des éléments nécessaires à leurs métabolisme et reproduction. Ont besoin d'une cellule hôte.

Les objectifs du cours de Biologie Cellulaire

- Reconnaître les différents organites cellulaires et leurs rôles
- Assimiler la relation entre la cellule et son milieu extracellulaire
- Distinguer les spécificités de certains types cellulaires
- Comprendre certains métabolismes intracellulaires
- Savoir comment les cellules s'organisent en tissus et organes
- Faire le rapport entre le Noyau interphasique et les chromosomes
- Savoir les principaux moyens de communications cellulaires

Instruments d'étude de la cellule

A. La microscopie

La biologie cellulaire utilise de nombreuses techniques pour étudier la morphologie cellulaire. La technique reine reste toutefois la microscopie avec toutes ses variantes. C'est le microscope qui a permis sa naissance au XVII^e siècle et il reste toujours le principal moyen d'études. Le microscope s'est aujourd'hui diversifié pour améliorer la visualisation des structures : depuis le microscope optique simple lentille des origines, on a développé des microscopes optiques plus complexes utilisant la lumière directe ou la fluorescence, ainsi que des microscopes électroniques.

I. Microscopie optique (MO)

1. Microscope standard

Permet l'observation des cellules fixées et colorées avec des grossissements X 1500 à X 2000. Son pouvoir séparateur est de $0,1\mu\text{m}$.
[Il est utilisé en travaux pratiques (TP) d'histologie].

2. Autres types de MO

- Microscope en contraste de phase

La cellule survit rarement à la coloration, surtout pour les techniques les plus complexes. C'est pourquoi le microscope à contraste de phase est employé vu que celui-ci permet d'observer des cellules vivantes et non colorées.

- Microscope à fluorescence

Permet de détecter la fluorescence en utilisant une lumière UV.

- Microscope polarisant

II. Microscopie électronique (ME)

Utilise à la place des photons un rayonnement électronique dont γ peut descendre à 0, 005 nm, ce qui permet un pouvoir de résolution théorique de 0,2 nm, 40 000X supérieur à celui du MO et 2 millions de fois plus que notre œil . En pratique, il est de 1 à 2 nm.

1. ME à transmission (MET)

* Utilisant 100 kilovolts en général. Les électrons traversent l'échantillon dont l'épaisseur $< 0,1\mu\text{m}$.

* Utilisant 1 million de volts c'est le **MET à haut voltage** permet d'observer des échantillons plus épais. Il révèle la forme tridimensionnelle des organites.

2. ME à balayage (MEB)

Le faisceau d'électrons balaie l'échantillon de gros volume sans le traverser.

Son pouvoir séparateur étant $> 10\text{ nm}$, il est utilisé pour l'observation de la surface cellulaire.

B. Biochimie

- Séparation des organites par centrifugation et ultracentrifugation
- Les protéines sont isolées par chromatographie et par électrophorèse
- Leur poids moléculaire est estimé par électrophorèse sur gel

C. Biologie moléculaire : biochimie des acides nucléiques

D. Etude de cellules vivantes : culture cellulaire

La membrane plasmique : MP structure, composition chimique, organisation moléculaire

A. Morphologie

I. Microscopie optique (MO)

La MP n'est pas visible en tant que telle, car son épaisseur totale est inférieure au pouvoir séparateur du MO et elle est comprise entre 15 et 20 nm. Cependant on peut observer sur une cellule isolée, en culture par exemple, une limite cellulaire, du fait du contraste entre la cellule et le milieu extracellulaire.

Sur une cellule fixée et colorée, le contraste est accentué par l'adsorption du colorant sur la MP.

II. Microscopie électronique à transmission (MET)

Avec des grossissements de l'ordre de 30 000, on peut voir certaines différenciations de la MP. Le MET permet des grossissements utiles de 2 000 à 50 000, mais qui peuvent atteindre 600 000 pour certains types d'appareils. Leur pouvoir séparateur est de l'ordre de 0,2 nm.

1. Observation de coupes minces

La MP est une membrane *trilamellaire* (à trois feuillets) de 7,5 nm d'épaisseur comprenant deux feuillets denses (opaques aux électrons) de 2,0 nm d'épaisseur chacun, séparés par un feuillet clair de 3,5 nm d'épaisseur.

En plus des trois feuillets formant la MP proprement dite, on note, au contact du feuillet externe, la présence d'une couche d'aspect fibrillaire, dont l'épaisseur varie de 5 à 20 nm selon le type cellulaire, que l'on dénomme *revêtement cellulaire* ou *revêtement fibreux* ou *cell coat*.

2. Observation de répliques obtenues après cryofracture et / ou cryodécapage

• Principe

Pour ce faire, l'échantillon du tissu passera par différentes étapes :

- *Congélation* : à -196° dans de l'azote liquide puis le tissu est placé dans une enceinte (où l'on réalise un vide très poussé)
- *Fracture* : du tissu avec un couteau (ou marteau)
- *Ombrage* : la surface de fracture est ensuite recouverte par une couche de platine-carbone vaporisés sous vide.

- *Réplique* : Le tissu est ensuite éliminé par digestion enzymatique ou par un solvant organique puissant. Ce qui reste constitue la réplique qui sera déposée sur une grille afin d'être observée au MET.

• Résultats

- Dans le cas où la surface de fracture intéresse la MP sur une certaine longueur, le trait de fracture a tendance à passer par le feuillet moyen de cette membrane, ce qui laisse supposer qu'il s'agit d'une structure de moindre résistance.

- La surface observée est parsemée de particules (protéines) en relief, de 5 à 8 nm. Les particules peuvent être dispersées ou groupées en fonction du pH de la solution tampon.

B. Composition chimique

Etudes d'abord menée sur le globule rouge.

Fraction membrane (mb) obtenue par centrifugation :

40 % de lipides et glycolipides

60 % de protéines et glycoprotéines

Remarque.

Pour les autres cellules, les proportions sont habituellement ~ 50 % 50%

Rappel des constituants cellulaires, de la structure des glucides, des lipides, des protéines et de certaines de leurs propriétés

I. Constituants minéraux

- L'eau : 65 à 70 % du poids du corps (95 % chez l'embryon; 70 % chez le nouveau-né).

• Les sels minéraux

- Insolubles ou peu solubles

Il s'agit principalement de sels de calcium (phosphates, carbonates,...voir tissu osseux).

- Sous forme ionisée, en solution, principalement :

* Cations: Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}

* Anions: Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3H^- , NO_3^- , PO_4H^{2-}

• Notion de molécules hydrophiles et hydrophobes

L'eau est une molécule *polaire* portant une faible charge négative (δ^-) sur son atome d'oxygène et une faible charge positive (δ^+) sur ses atomes d'hydrogène.

Conséquence: *liaisons hydrogènes* entre molécules d'eau, mais également avec d'autres molécules ainsi qu'avec des ions.

II. Les glucides

• Monosaccharides ou oses

Sont des composés de formule $(\text{CH}_2\text{O})_n$ où n varie de 1 à 7: trioses, tétroses, pentoses, hexoses... Pour le glucose: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

Les oses peuvent établir des *liaisons glycosidiques* pour former des di- et des polysaccharides.

• Disaccharides

Exemples: lactose (glucose + galactose), maltose (glucose + glucose), saccharose (glucose + fructose).

• Oligosaccharides et polysaccharides

L'association croissante de monosaccharides aboutit à des oligosaccharides (trisaccharides, tétrasaccharides...) et à des polysaccharides.

Les oligosaccharides et les polysaccharides peuvent être linéaires ou ramifiés.

Chez l'homme, le polysaccharide le plus important est le glycogène. Il constitue la forme de réserve cellulaire des sucres.

Des oligosaccharides courts et ramifiés se lient à des protéines ou à des lipides pour constituer des *glycoprotéines* et des *glycolipides*.

• Les glycosaminoglycanes (GAG)

Catégories particulières de polysaccharides. Ce sont des polymères linéaires de disaccharides. (voir AG)

Ils sont souvent associés à des protéines pour former des *protéoglycans* ou *mucoprotéines*.

III. Les lipides

Insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques (acétone, éther toluène...).

1. Les lipides simples

Sont des esters d'acides gras

- Les acides gras

Constitués de chaînes aliphatiques (chaîne carbonée linéaire)

$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$, saturés – CH – CH₂ – ou non – CH = CH –

Ce sont des constituants très importants des membranes. Oxydés dans les mitochondries (et dans les peroxysomes), ils fournissent de l'énergie.

- Les alcools

Ce sont des alcools gras

* Le glycérol est le plus important. C'est un trialcool.

Les triglycérides sont des esters du glycérol (mono-, di- et triglycérides). Ils représentent 95 % des lipides chez l'homme.

* L'inositol est un alcool cyclique dont il sera question plus loin

2. Les lipides complexes et les principaux lipides membranaires

La plupart sont **amphiphiles** : tête *hydrophile* et queue *hydrophobe*

a. Les phospholipides (60%) :

Ce sont les principaux constituants lipidiques des membranes biologiques, on distingue:

Les phosphoglycérides

La sphingomyéline

* Les phosphoglycérides

Glycérol + Phosphate + 2 acides gras + une molécule à fonction alcool généralement azotée.

Ce sont :

La phosphatidylcholine

La phosphatidyléthanolamine

La phosphatidylsérine

Le phosphatidylinositol

* La sphingomyéline

b. Le cholestérol (23% MP du globule rouge)

Molécule amphiphile

Intervient dans la fluidité et la stabilité de la MP .

Certaines lignées cellulaires en culture sont incapables de synthétiser du cholestérol, ce qui fait que l'on doit ajouter du cholestérol dans le milieu de culture pour qu'elles puissent pousser normalement. Dans le cas contraire, leur MP se lyse rapidement.

c. Les glycolipides (3%)

Lipides dont le groupement polaire est de nature glucidique, comprennent:

- Les galactolipides

- Les glycolipides neutres

-Les gangliosides: ils contiennent l'*acide sialique* ou *Acide neuraminidique (NANA)*

d. Autres lipides (13 %)

Le dolichol, ...

IV. Les protéines

Acides aminés, liaisons peptidiques, polypeptides, protéines.

Structure :

- Primaire

Séquence en résidus d'acides aminés (un résidu est l'unité de base lorsque l'acide aminé fait partie d'une chaîne polypeptidique).

- Secondaire

Arrangements en hélice α et en feuillet β

Ces structures sont maintenues par des liaisons hydrogène entre NH= et =CO.

- Tertiaire

Certaines hélices α et certains feuillets β , reliés par des boucles, s'assemblent en formations globulaires compactes appelées *domaines*. Certaines protéines (ex. ribonucléase) ont un seul domaine, alors que les grosses protéines en possèdent plusieurs dont chacun peut avoir une fonction particulière

- Quaternaire

Protéine *multimérique* résultant de l'association de plusieurs *sous-unités* protéiques ou *monomères* (ex. l'hémoglobine).

V. Bases, nucléosides, nucléotides (voir cours de biologie moléculaire)

• Les bases

Une base organique est un hétérocycle qui comporte plusieurs atomes d'azote

- Bases puriques: Adénine et guanine
- Bases pyrimidiques: Cytosine, thymine et uracile

• Les nucléosides et les nucléotides

- Nucléoside

Base + Sucre (ribose ou désoxyribose)

- Nucléotide

Base + Sucre + 1, 2 ou 3 groupement(s) phosphate.

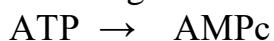
• Les nucléotides ont de nombreuses fonctions

- Transport d'énergie chimique

Les liaisons entre les phosphates α et β ainsi qu'entre β et δ sont riches en énergie. En effet leurs liaisons acides anhydres facilement hydrolysables: ATP, GTP



- Messagers



- Coenzymes

Les nucléotides se lient à d'autres groupements pour former les coenzymes tels le coenzyme A (voir mitochondrie)

- Polynucléotides : la polymérisation par l'intermédiaire de liaisons *phosphodiester* entre le carbone 3' du sucre et le groupe phosphate d'un autre nucléotide permet d'obtenir en se liant à un autre nucléotide un *dinucléotide*...

Les acides nucléiques (ADN, ARN) sont construits à partir des nucléotides.

Méthodes de séparation des particules et des protéines

(Voir polycopie SCHEMAS I)

I. Fractionnement subcellulaire par centrifugation

- 1. La centrifugation différentielle ou zonale**
- 2. La centrifugation isopycnique**

II. Chromatographie

Principe

Elle permet de séparer de petites molécules (oses , acides aminés, nucléotides), ainsi que des macromolécules au sein d'une phase mobile qui circule sur un support solide.

Deux grands types

Chromatographie de partage

Chromatographie sur colonne

1. Chromatographie de partage

2. Chromatographie sur colonne

- * **Chromatographie par échange d'ions**
- * **Chromatographie par gel filtration**

III. Electrophorèse des protéines

- Les protéines sont de grosses molécules qui peuvent être chargées électriquement. Elles migrent vers "plus" si elles sont chargées négativement, vers "moins" si elles sont chargées positivement.

Rappelons que les acides aminés comportent une fonction carboxylique (COOH) et une fonction amine (NH_2) dissociables (NH_3^+ OH^- et $\text{COO}^- \text{ H}^+$).

Résultats pour la MP

Les protéines membranaires dont beaucoup sont glycosylées appartiennent à plusieurs catégories :

- Protéines de transport
- Protéines à activité enzymatique
- Récepteurs de messagers chimiques
- Protéines d'ancre

C. Organisation moléculaire et quelques propriétés

I. Les lipides membranaires forment spontanément des doubles couches lipidiques

En présence d'eau, des phospholipides forment spontanément des *monocouches*, *bicouches*, *micelles* ou *liposomes* selon les modalités expérimentales.

Les bicouches lipidiques et les membranes des liposomes sont des membranes artificielles.

Des protéines membranaires ajoutées aux phospholipides s'y associent pour former la membrane du liposome.

II. Modèle moléculaire

La MP est une *mosaïque fluide* (Singer et Nicolson 1972)

1. MP est une mosaïque

Ce qui veut dire un mélange de lipides et de protéines.

Il y a environ 100 molécules de lipides pour une molécule protéique.

- **Les lipides** sont disposés en *bicouche*, avec les pôles hydrophobes (queues) se faisant face, formant le feuillet clair moyen, et les têtes hydrophiles disposées de part et d'autre, formant les feuillets denses interne et externe, conformément à la structure trilamellaire observée sur coupes minces au ME.

- **Les protéines** quant à elles, elles sont disposées de diverses façons, ce qui permet de distinguer :

- Les protéines intégrées ou intrinsèques

Elles traversent la bicouche lipidique, habituellement sous forme d'hélices α . Elles sont également dites *transmembranaires*. Elles peuvent être:

* *A traversée unique (protéines bitopiques)*.

* *A traversées multiples (protéines polytopiques)* Exemple, les *récepteurs couplés aux protéines G* sont 7 fois transmembranaires R7TM (voir communications cellulaires)

Quelques rares protéines, dites *monotopiques*, émergent d'un seul côté de la bicouche lipidique tel que le *cytochrome b₅* semble-t-il.

Les protéines intégrées sont **amphiphiles**, avec une partie moyenne hydrophobe, enfouie dans la bicouche lipidique, et des extrémités hydrophiles en contact avec les phases aqueuses, cytosolique et extracellulaire.

Les protéines dont l'extrémité NH₂ est cytosolique appartiennent aux *protéines de type I*, les autres au *type II*.

- Les protéines périphériques ou extrinsèques

Elles peuvent être du côté cytosolique ou extracellulaire

* Certaines sont liées à des protéines intégrées

* D'autres sont liées par liaisons covalentes à des lipides soit :

- du côté extracellulaire par *GPI* (glycosylphosphatidylinositol)
- du côté cytosolique par un *acide gras*

2. La MP est asymétrique

- Les *protéines périphériques* sont différentes au niveau des deux faces de la MP.
- Les *oligosaccharides* des glycolipides et des glycoprotéines sont situés sur la face extracellulaire de la MP; ils contribuent à la structure du revêtement cellulaire.
- Les *ponts disulfures* (– S–S–) éventuels des protéines sont toujours extracellulaires.
- Les *acides gras insaturés* sont plus nombreux dans l'hémicouche interne

3. Le revêtement cellulaire ou glycocalix ou cell coat

Il correspond à l'affleurement, du côté extracellulaire :

- des protéines périphériques externes
- des oligosaccharides des glycolipides et des glycoprotéines
- des GAG des protéoglycans.

Fonctions

- Protection chimique de la MP : seules l'*hyaluronidase* et la *neuraminidase* peuvent lyser la MP.
- Charge de surface négative : essentiellement due à l'*acide sialique* ou acide *neuraminidique*.
- Activités enzymatiques
- Adhérence cellulaire

4. La MP est fluide

Les éléments qui la composent sont mobiles.

• Mobilité des lipides

- Mise en évidence par *résonance de spin électronique (RSE)*.

Elle est basée sur l'interaction entre un champ magnétique puissant et les électrons non appariés du matériau analysé.

Pour ce faire, on utilise une molécule lipidique, le *traceur* sur laquelle on accroche un groupe nitroxide, le *reporter*. Le traceur est ensuite incorporé à la membrane. Les déplacements du traceur sont ensuite enregistrés.

- Résultats

4 types de mouvements :

* La diffusion latérale

La vitesse de ce déplacement est $\sim 1 \mu\text{m} / \text{seconde}$ à 37° . Un lipide peut changer de place avec son voisin 10^7 fois / sec

* La rotation est un mouvement fréquent

* La flexion

* Le mouvement de bascule ou flip-flop est un mouvement exceptionnel, au maximum 1fois /semaine. La bascule d'une hémicouche à l'autre fait intervenir des protéines particulières, les *flippases* (voir chapitre RE).

Facteurs influençant la mobilité des lipides

La mobilité latérale et donc la fluidité augmentent quand :

La température ↗

Le cholestérol ↘

Les acides gras insaturés ↗

• Mobilité des protéines

Comme pour les lipides, les protéines intégrées peuvent effectuer un déplacement latéral ainsi qu'un mouvement de rotation. Par contre le flip-flop n'existe pas pour les protéines.

Pour certaines protéines, la diffusion latérale est le mouvement le plus important au point de vue fonctionnel.

- Expérience d'hybridation somatique et marquage par des anticorps fluorescents

Des cellules humaines et des cellules de souris placées dans un milieu de culture en présence du virus *Sendai* inactivé ou de *polyéthylène-glycol* fusionnent pour former des cellules hybrides dénommées *hétérocaryons*

Le marquage des protéines est effectué au moyen d'anticorps spécifiques liés à des fluochromes, verts pour les protéines de souris et rouges pour celles de l'homme.

- Le résultat de l'expérience est le suivant

* A 37°, au début de l'expérience, une moitié de la surface cellulaire de l'hétérocaryon a une fluorescence verte et une moitié a une fluorescence rouge; 40 min après, les deux types de fluorescence sont alternées

* En maintenant l'hétérocaryon à 4° après la fusion, on empêche les fluorescences de diffuser, on a alors même le aspect que l'état initial

La fluidité de la double couche lipidique permet aux protéines de diffuser rapidement et d'interagir entre elles. Elle permet également la distribution des constituants de la membrane à leurs places quand ils s'insèrent dans la bicouche après avoir été synthétisés dans les compartiments cellulaires (Voir RE, AG).

D. Transport membranaire de petites molécules

Voyons d'abord comment se comporte une **membrane artificielle** composée de lipides uniquement vis-à-vis de différentes molécules.

- Une membrane artificielle lipidique est **perméable**:

- Aux molécules hydrophobes: *O₂*, *N₂*, *benzène*
- Aux petites molécules polaires: *H₂O*, *CO₂*, *glycérol*, *éthanol*. Plus la molécule est petite, moins elle forme de liaisons hydrogène avec l'eau, plus elle diffuse à travers la bicouche lipidique.

- Elle est par contre **imperméable**:

- Aux grosses molécules polaires non chargées: *glucose*, *saccharose*.
- Aux molécules chargées en raison de leur hydratation: *acides aminés*, *ions*.

Quand à la MP (proprement dite), a une **perméabilité contrôlée** qui s'explique par la présence des protéines. Le contrôle explique les différences de concentration de plusieurs ions et de petites molécules entre le cytosol et le milieu extracellulaire.

Deux critères sont considérés :

- consommation de l'énergie ou non
- utilisation ou non des transporteurs protéiques

Les critères précédents permettent de distinguer les types de transport suivants :

- Transport passif sans transporteur ou diffusion simple
- Transports passifs par transporteurs
 - Canaux ioniques :
 - * potentiel- dépendants
 - * ligand- dépendants
 - * mécano- dépendants (voir cils stéréoscopiques)
 - Les aquaporines
 - Transport facilité
- Transports actifs

I. Le transport passif sans transporteur ou diffusion simple

C'est le cas de la diffusion des molécules suivantes :

O₂, CO₂, NO, éthanol, urée

Ce type de transport a les caractéristiques suivantes:

- Il se fait dans le sens du gradient de concentration, sans consommation d'énergie
- Le franchissement de la membrane se fait à travers la bicoche lipidique
- La vitesse du transport est fonction :
 - de la taille de la molécule, plus elle est petite, plus sa diffusion est rapide
 - du coefficient de partition huile / eau, plus la molécule est liposoluble, plus la vitesse de sa diffusion est élevée

II. Le transport passif par transporteur

1. Les canaux ioniques

Généralités

Un canal ionique est constitué par une protéine ou par plusieurs (sous-unités) formant un pore hydrophile.

- Le canal est spécifique d'un ion donné.
- Le canal peut être ouvert ou fermé selon deux modalités :
 - Soit par changement conformationnel de la protéine canal rétrécissant ou élargissant le canal.
 - Soit par l'intermédiaire d'une structure bloquante.

On distingue plusieurs groupes de canaux ioniques :

- **Les canaux ioniques potentiel- dépendants**

Ce sont les canaux Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- .

L'ouverture et la fermeture du canal sont contrôlées par la modification du potentiel de membrane. (Cours de physiologie en 2^{ème} année)

- **Les canaux ioniques ligand- dépendants**

Canaux dont l'ouverture dépend de la fixation d'un *ligand* (molécule capable de reconnaître spécifiquement une autre molécule ou un édifice moléculaire et s'y fixer). (Voir chapitre des communications cellulaires)

Le site de fixation du ligand peut être :

- sur la face extracellulaire: par exemple l'acétylcholine au niveau de la plaque motrice.
- sur la face cytosolique: par exemple le Ca^{2+} , une protéine G, IP3...

2. Les aquaporines (AQs)

Découvertes chez le *xénope* en 1992 par **Peter Agre** qui reçut (en partage) le Prix Nobel de chimie 2003 pour cette découverte. Depuis 200 AQs environ ont été découvertes dont une dizaine chez l'homme.

Ce sont des protéines intégrées formant un canal aqueux. Elles sont impliquées dans le transport d'eau et de petites molécules non chargées.

Elles permettent des mouvements rapides au niveau de certaines cellules (globules rouges, cellules rénales, plexus choroïdes...).

3. Le transport facilité

Certaines molécules hydrophiles (sucres simples, acides aminés, nucléosides) traversent plus rapidement la MP que ne le laissent prévoir leurs coefficients de partition huile / eau. Cela ne peut s'expliquer que par l'intervention de protéines de transports, les *perméases*, dont certaines ont été identifiées.

Exemple du transporteur GLUT1 du glucose au niveau du globule rouge humain.

Chez les mammifères, le transport du glucose est effectué par 5 perméases connues actuellement, en fonction du type cellulaire, dont *GLUT 1*, localisé dans la MP du globule rouge (GR).

• Caractéristiques

- Il se fait dans le sens du gradient de concentration.
- La force nécessaire provient uniquement du gradient chimique du glucose, plus concentré dans le milieu extracellulaire que dans le cytosol.
- Il est contrôlé par la baisse intracellulaire du glucose qui déclenche une augmentation des transporteurs GLUT 1.
Précisons que la concentration cytosolique du glucose reste toujours inférieure à celle du milieu extracellulaire; cela est dû au fait que le glucose est métabolisé dès sa pénétration dans le GR, de sorte que sa concentration n'augmente pas de sorte qu'il continue à être importé.
- Il s'agit d'un transport spécifique, en effet le site de fixation appartenant au transporteur doit avoir une conformation complémentaire de la molécule à transporter.

Ainsi le D- glucose est transporté alors que le L- glucose (image en miroir du D-glucose) ne l'est pas.

- Le transporteur se comporte vis-à-vis de la molécule à transporter de la même façon qu'une enzyme vis-à-vis de son *substrat*. En effet, la vitesse de transport (le nombre de molécules transportées par unité de temps) augmente rapidement avant d'atteindre un plateau (la vitesse est maximale *V max*). Ceci traduit un phénomène de *saturation* (tous les transporteurs sont occupés).

• Modèle moléculaire

Le transporteur oscille entre deux conformations dans lesquelles le site de fixation du glucose est alternativement accessible au milieu extracellulaire (**pong**) puis au milieu intracellulaire (**ping**). C'est le cycle association- désassociation du glucose qui est responsable du changement conformationnel.

III. Le transport actif

C'est un transport qui s'effectue contre le gradient de concentration et donc contre une barrière énergétique, et de ce fait il doit être couplé à une réaction énergétique exergonique qui utilise généralement l'ATP.

On distingue deux groupes selon la source d'énergie.

1. Le transport actif par une ATPase

C'est le cas des *pompes ioniques* :

Na^+/K^+ - ATPase

H^+ - ATPase

Ca^{2+} - ATPase; K^+ - ATPase

Exemple de la pompe Na⁺ / K⁺

La concentration du Na⁺ est 10 à 20x plus élevée à l'extérieur de la cellule dans la plupart des cellules animales et c'est l'inverse pour le K⁺.

Le transfert de ses deux ions se fait continuellement par une ATPase membranaire, à la fois transporteur et enzyme.

L'ATPase est un tétramère $\alpha_2 \beta_2$. La grosse sous-unité possède un site de fixation et d'hydrolyse de l'ATP situé sur la face cytosolique.

L'hydrolyse de l'ATP, et donc le transport ne peut s'effectuer qu'en présence des deux ions.

Le transport du Na⁺ est étroitement couplé à celui du K⁺. Le transporteur lui-même possède cette activité catalytique.

Pour chaque molécule d'ATP, 3 Na⁺ sont pompés vers l'extérieur contre 2 K⁺ vers l'intérieur.

Cette pompe peut être bloquée par l'*ouabaine* qui entre en compétition pour le site K⁺.

• Mécanisme biochimique et moléculaire

Se fait selon le modèle et les étapes suivants :

- Phosphorylation de l'enzyme (le phosphate provient de l'hydrolyse de l'ATP) en présence de Mg²⁺ et de 3 Na⁺ qui se fixent sur des sites récepteurs accessibles sur la face cytosolique de l'enzyme.

- Changement de conformation de l'enzyme ramenant les sites en question du côté extracellulaire ce qui s'accompagne de la libération des 3 Na⁺.

- 2 K⁺ se fixent alors sur leurs sites qui sont devenus accessibles sur la face extracellulaire.

- La déphosphorylation de l'enzyme entraîne son changement de conformation qui ramène les sites des K⁺ sur la face cytosolique; le largage des K⁺ dans le cytosol permet à l'enzyme de reprendre sa conformation initiale.

La sous-unité α possède du côté extracellulaire un site de fixation d'un inhibiteur spécifique, l'*ouabaine*, utilisée dans les traitements cardiovasculaires.

• Fonctions

- Maintient des gradients Na^+ et K^+ , responsables du potentiel de membrane de la cellule
- Permet le fonctionnement des canaux ioniques potentiel- voltage- dépendants
- Contrôle du volume cellulaire
- Permet le fonctionnement du symport $\text{Na}^+/\text{Glucose}$

2. Les co-transports

C'est un système dans lequel un transport actif est couplé à un transport passif. L'énergie est stockée dans un gradient ionique, sodique le plus souvent (mais pas seulement, voir mitochondrie).

On distingue :

• Les symports

Les deux transports se font dans le même sens.

C'est l'exemple du symport $\text{Na}^+/\text{Glucose}$ au niveau de l'entérocyte. La membrane apicale contient des symports $\text{Na}^+/\text{Glucose}$. Le Na^+ , entrant grâce à son gradient de concentration maintenu par la pompe Na^+/K^+ , entraîne avec lui le glucose contre le gradient de ce dernier.

Le glucose est ensuite transporté hors de la cellule au niveau de la membrane latéro-basale par un *transport facilité* (la concentration étant plus élevée dans la cellule que dans le milieu extracellulaire).

Ce transport est inhibé par l'ouabaine.

• Les antiports

Les deux transports s'effectuent en sens inverse. Le transporteur est appelé *échangeur*.

- L'échangeur Na^+/H^+

Transporte de façon passive le Na^+ et de façon active l'ion H^+ . Il règle le pH cellulaire.

- L'échangeur $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$

Il combine une co-pénétration de Na^+ et de HCO_3^- et co-sortie de Cl^- et de H^+ . Ce qui revient à un échange NaCO_3/HCl .

Nota. Un **uniport** transporte une seule molécule ou un seul ion.

E. Transport membranaire de macromolécules et de particules: l'endocytose et l'exocytose

La macromolécule a en général un PM entre 10 000 daltons et 1 million daltons (protéines, polynucléotides, polysaccharides).

L' endocytose au sens large comprend la pinocytose (liquide) et la phagocytose (solide). Au sens restreint, nous réservons les mots *endocytose* à l'ingestion de volume liquide *et phagocytose* à celle de particules.

Les différentes étapes morphologiques de l'endocytose sont pour la plupart submicroscopiques et seul le MET permet de les visualiser.

I. Endocytose par vésicules non recouvertes de type « pinocytose » Du grec, *pinein*, boire.

Dans ce type d'endocytose, les éléments à ingérer, en suspension dans le liquide péricellulaire, sont piégés dans des régions particulières de la surface cellulaire au niveau desquels la MP se déprime, se creuse puis se pince. Il en résulte une “vésicule lisses” d'endocytose de 150 nm.

Ce type de vésicule peut soit livrer son contenu à la cellule, soit traverser la cellule pour libérer son contenu par exocytose. Ce dernier cas correspond à la *transcytose*, observée au niveau des cellules endothéliales.

II. L'endocytose par l'intermédiaire de récepteurs avec formation de vésicules recouvertes de clathrine

Dans la majorité des cellules animales, la capture de macromolécules se fait part l'intermédiaire de récepteurs spécifiques.

1. Les différents aspects morphologiques

Dans ce mode de transport hautement spécifique, des récepteurs se concentrent, conséquence de leur liaison avec leur ligand, dans des régions particulières de la MP, les *puits recouverts (PR)*, à la suite de quoi le PR se déprime, puis se pince et enfin bourgeonne en une *vésicule recouverte (VR)*.

- Sur coupe mince, la face cytosolique de la partie de membrane appartenant au PR ou à la VR apparaît tapissée “d'épines”
- Sur réplique, “ la couverture” se présente sous l'aspect d'un réseau à maille hexagonale et pentagonale.

2. Les aspects biochimiques et moléculaires

• La clathrine et la β - adaptine

L'analyse de membranes de *fractions vésicules* montrent qu'elles contiennent en plus des molécules membranaires, d'autres protéines, dont la *clathrine* et la *β -adaptine*. Des molécules isolées de clathrine se présentent sous forme d'un complexe protéique fait de 3 chaînes longues et de 3 chaînes courtes formant une structure à 3 branches, le *triskélion*, visible en MET après *ombrage*.

La β - adaptine est un hétérodimère qui en s'associant d'abord aux triskèles de clathrine , permet à ceux- ci de se lier à la MP.

Du fait que les 3 branches du triskèle forment un certain angle avec leur point de rencontre, la couverture adopte une forme sphérique.

In vitro, dans des conditions adéquates, les triskélions s'autoassemblent en corbeilles polygonales.

• Les récepteurs

Sont des glycoprotéines transmembranaires possédant un domaine cytosolique contenant une séquence reconnue par les adaptines.

• La dynamine

La fermeture de la VR et son détachement nécessitent l'intervention de la *dynamine*.

• HSP

Au cours de son transport intracellulaire, la VR perd son revêtement sous l'action de protéines appartenant à la famille *Hsp* (heat shock proteins ou protéines du choc thermique).

3. Exemple de l'importation du cholestérol par la cellule

Les besoins de l'organisme en cholestérol sont en partie assurés par l'apport alimentaire. Etant insolubles dans les liquides de l'organisme les molécules de cholestérol sont empaquetées dans le foie, dans des particules lipoprotéiques de faible densité ou *LDL* (low density lipoproteins). La plus grande partie du cholestérol est transportée dans le sang sous cette forme.

La particule LDL a une forme sphérique de 22nm de diamètre et un PM de 3000kD. Elle est constituée d'une monocouche périphérique faite de phospholipides et de molécules de cholestérol et d'une partie centrale contenant des molécules d'ester du cholestérol. Le tout est associé à une volumineuse protéine de 500kD, l'*apo-B-protéine* qui permet l'organisation de la particule et sa fixation sur le récepteur.

Le récepteur de LDL est une protéine membranaire intégrée ; l'extrémité extracellulaire représente le site de liaison au ligand; quant à la partie cytosolique, elle se lie à la β -adaptine.

- Quand la cellule a besoin du cholestérol pour ses membranes, elle synthétise des récepteurs de LDL qui regagnent la MP. Quand une particule de LDL rencontre un récepteur elle s'y fixe.

Plusieurs complexes récepteur- LDL convergent vers un **PR** au niveau duquel les pôles cytosoliques des récepteurs se lient aux molécules d'adaptines

Le PR ensuite se déprime...(Voir paragraphe précédent).

- La **VR**, après avoir perdu sa couverture, est transportée vers un *endosome précoce* avec lequel elle fusionne.

- Dans **l'hypercholestérolémie familiale** (1 personne / 500; transmission héréditaire récessive), le récepteur de LDL peut être défectueux ou absent. Bien que le LDL se fixe sur le récepteur anormal, l'endocytose n'a pas lieu.

Chez les individus atteints de cette maladie, le cholestérol s'accumule dans la paroi des vaisseaux (*athérosclérose*), entraînant ainsi des accidents cardiovasculaires et souvent une mort précoce.

Nota.

L'endocytose par VR de clathrine permet à la fois la sélection et la concentration du ligand. Une VR contient environ 1000 complexes récepteur- ligand.

III. La phagocytose

Du grec *phagein*, manger, la phagocytose est l'endocytose d'éléments solides (microorganismes, débris cellulaires ...) dont le diamètre $\sim 1\mu$. Contrairement à la précédente, la phagocytose est visible au microscope photonique. Elle est le fait des cellules spécialisées

Chez les mammifères, il y a deux types cellulaires principalement spécialisés dans la phagocytose.

- Le *polynucléaire neutrophile* qui phagocyte des bactéries.
- Le *macrophage* qui phagocyte des particules mais aussi des débris cellulaires ou des cellules entières comme les GR sénescents.

Exemple de la phagocytose d'une bactérie par un polynucléaire neutrophile.

La phagocytose se déroule en 3 étapes :

1. Phase d'adhérence

La particule (ex. bactérie) se lie à la surface cellulaire grâce des *molécules d'adhérence* (CAM, SAM). Elle est favorisée par l'*opsonisation*

En effet, dès sa pénétration dans l'organisme, des anticorps (IgG) entourent la bactérie en se liant à ses protéines de surface (antigènes), c'est *l'opsonisation*. La bactérie opsonisée adhère plus facilement à la surface du polynucléaire neutrophile dont la MP possède des récepteurs pour les Ig

2. Phase rhéologique (écoulement de la matière)

Elle consiste en la réorganisation d'une large surface de la MP et le cytoplasme sous-jacent autour de la bactérie en *pseudopodes* qui fusionnent tout autour de la bactérie à la manière d'une fermeture éclair. Une *vacuole de phagocytose* ou phagosome englobant la bactérie est ainsi formée

3. Phase de digestion

Le phagosome est ensuite transporté vers un *endosome tardif* avec lequel il fusionne pour former un *phagolysosome* où se fera la destruction de la bactérie (Voir lysosome)

La *cytochalasine B* inhibe la phagocytose mais pas la pinocytose.

V. L'exocytose

Pour plus de détail voir AG

C'est le processus par lequel la cellule sécrète dans le milieu extracellulaire des molécules contenues dans des vésicules de transport dont la plupart sont d'origine golgienne.

Le déplacement de la vésicule vers la MP implique la participation du cytosquelette cortical en particulier, et la fusion fait intervenir des protéines G et s'accompagne d'une hydrolyse de GTP.

Spécificité et reconnaissance

C'est par son revêtement de surface qu'une cellule est en relation avec son environnement, en particulier avec les autres cellules. Ainsi, par exemple, des cellules embryonnaires dissociées expérimentalement et mises en culture finissent par se réassocier. Une autre expérience a montré que les types cellulaires appartenant à un embryon tridermique sont capables après dissociation, de se réassocier et reconstituer une structure tridermique pouvant continuer son développement normal (voir aussi molécules d'adhérence).

Ceci implique 3 événements :

- Une reconnaissance cellulaire
- Une adhérence entre cellules appartenant au même tissu
- Une association grâce à la formation de jonctions intercellulaires.

Ainsi toute modification de la surface cellulaire entraîne-t-elle un changement dans le comportement de la cellule.

Deux exemples:

1. Phénomène de rejet

- Quand des lymphocytes prélevés à une souris sont injectés à une souris de souche différente, ils sont rapidement (en quelques jours) détruits et phagocytés par les macrophages car reconnus comme étrangers par l'organisme hôte.
- Si des lymphocytes sont préalablement traités par des *glycosidases* modifiant ainsi leur revêtement, et réintroduits chez la souris à laquelle ils ont été prélevés, ils seront également détruits et phagocytés.

2. Transformation cellulaire

- Quand on met des fibroblastes normaux en culture, ils adhèrent au support (fond de la boîte), s'étalent et se divisent ; quand ils arrivent à confluence, ils s'immobilisent, cessent de se multiplier et forment une couche monocellulaire ; ce phénomène est dénommé *inhibition de contact*.
- Par contre quand on met en culture des fibroblastes transformés (cancéreux), ces derniers se multiplient activement même lorsqu'ils arrivent à confluence et s'empilent sur plusieurs couches : ils ont ainsi *perdu l'inhibition de contact* d'une part, et la dépendance vis-à-vis de l'*ancrage* d'autre part. De plus leur croissance est devenue illimitée, ayant acquis le caractère d'immortalité, contrairement aux cellules normales qui sont programmées à se diviser un nombre limité de fois (50 fois pour des fibroblastes de fœtus et moins de 50 fois pour des fibroblastes d'adulte). (voir molécules d'adhérence).

La membrane plasmique :

Différenciations, Molécules d'adhérence, Jonctions cellulaires

Définition des différenciations

Ce sont des spécialisations qui résultent de modifications de la MP avec le plus souvent participation du cytoplasme sous-jacent et parfois de la matrice extracellulaire.

La plupart se rencontrent au niveau des *cellules épithéliales*. Elles concernent soit:

- La MP apicale
- La MP latérale (latérobasale)
- La MP basale (basolatérale)

A. Les différenciations de la MP apicale

I. Les microvillosités simples, isolées

- $\approx 0.1 \mu\text{m}$ de long et $0.1 \mu\text{m}$ de diamètre, non observables en MO.

En ME, expansion irrégulière en doigt de la MP dont l'axe comporte un faisceau de microfilaments d'actine

• Localisation

Cellules épithéliales, globules blancs...

• Signification

Structures dynamiques qui apparaissent et disparaissent:

- augmentent la surface d'échange
- interviennent dans le déplacement des globules blancs...

II. Le plateau strié

Exemple de l'entérocyte

1. Morphologie

• Microscopie optique

Formation recouvrant le pôle apical de l'entérocyte, de $\sim 1 \mu\text{m}$ d'épaisseur, et à fines striations perpendiculaires à la surface cellulaire.

Remarque : le revêtement cellulaire est particulièrement développé au niveau des microvillosités du plateau strié de l' entérocyte

• Microscopie électronique

Le plateau strié correspond à la présence de microvillosités, nombreuses et régulières, ayant $1\mu\text{m}$ de long sur $0,1\mu\text{m}$ de diamètre. L'axe de la microvillosité contient des microfilaments longitudinaux qui se terminent à courte distance de la base dans une région cytoplasmique où il y a un enchevêtrement de microfilaments, *le réseau terminal*.

2. Composition chimique

L'axe de la villosité est fait de 20 à 30 *filaments d'actine* parallèles formant un faisceau rigide par l'intermédiaire de protéines associées, la *fimbrine*, la *villine* et la *myosine I*. Les filaments d'actine sont orientés, avec leur extrémité (+) du côté du sommet de la microvillosité alors que l'extrémité (-) plonge dans le réseau terminal fait notamment de liens transversaux de *spectrine* et contient en outre de la myosine. Sous ce réseau il y a une couche de *filaments intermédiaires*.

3. Fonction

Le plateau strié est caractéristique de variétés cellulaires qui jouent un rôle important dans les phénomènes d'absorption. Tel est le cas de l'entérocyte (cellule absorbante intestinale), qui possède en moyenne 1500 microvillosités augmentant la surface apicale de 30 à 40 fois.

Remarque : la cytochalasine B, en détruisant les FA, provoque l'affaissement des microvillosités.

III. La bordure en brosse

La bordure en brosse est une formation semblable au plateau strié sauf que les microvillosités qui la constituent sont plus longues ($2\mu\text{m}$), plus larges ($0,2\mu\text{m}$) et plus ou moins régulières. On la rencontre notamment au niveau des cellules des tubes proximaux du rein.

Remarque : au niveau de l'ostéoclaste (cellule osseuse), les microvillosités sont très irrégulières.

IV. Les stéréocils

On les rencontre au niveau des cellules du canal de l'épididyme.

Au MO les stéréocils se présentent sous la forme de longs filaments non mobiles agglutinés à la façon d'un pinceau à la surface des cellules du canal de l'épididyme.

Au MET un stéréocil correspond à des microvillosités très longues, flexueuses; parallèles à leur origine, elles deviennent entremêlées à leur extrémité distale. Leur axe semble dépourvu de microfilaments.

Leur fonction précise n'est pas connue.

V. Le cil stéréoscopique

1. Morphologie

Sont caractéristiques des cellules ciliées de l'oreille interne. Ce sont des microvillosités disposées en M ou en U, dont la hauteur, supérieure à 5 μm pour les cils les plus longs, va décroissant d'un bord cellulaire à l'autre.

Deux cils stéréoscopiques voisins sont reliés à leur sommet par un lien protéique élastique. L'axe du cil est occupé par un faisceau de filaments d'actine, qui, au niveau de la base, plus étroite, s'entrecroisent en éventail.

2. Mécanisme de fonctionnement

Les vibrations sonores et les mouvements liquidiens entraînent l'inclinaison des cils, ce qui provoque l'étirement des liens élastiques, induisant ainsi l'ouverture mécanique des canaux K^+ .

I. Les cils vibratiles

(Voir centriole et dérivés)

B. Notion d'adhérence cellulaire et molécules d'adhérence

L'adhérence joue un rôle fondamental dans la formation et le maintien des tissus et notamment les épithéliums. Elle est le résultat d'interactions de glycoprotéines membranaires, mais parfois des éléments appartenant au cytosquelette et des composants de la *matrice extracellulaire* (MEC) peuvent y participer.

I. Mise en évidence

Culture de cellules embryonnaires de poulet

L'organisation tissulaire, au cours de l'embryogenèse, nécessite la reconnaissance réciproque des cellules homologues, résultant des interactions entre molécules d'adhérence. Ceci peut être démontré expérimentalement sur culture, en mélangeant des cellules embryonnaires provenant de tissus en cours de différenciation (voir schémas).

A partir d'un embryon de poulet deux suspensions sont préparées après dissociation cellulaire par digestion enzymatique ménagée, l'une provenant de *neurorétine*, l'autre de l'*ébauche hépatique*.

Les deux suspensions sont ensuite mélangées et mises en culture. Après quelques heures, il y a formation d'agrégats constitués d'un seul type cellulaire, hépatocyte ou de neurorétine.

D'autre part, en fonction de l'origine des cellules, l'agrégation peut ou non dépendre du calcium, indiquant l'existence de deux types de molécules d'adhérence, Ca^{++} dépendantes et Ca^{++} indépendantes.

II. Classification et types d'interaction

1. La plupart des molécules d'adhérence appartiennent à quatre *superfamilles*

Une super-famille de protéines est définie par analogie de structure, (séquence d'acides aminés, domaine) et par souvent une parenté de fonction.

- Les CAM Ca^{++} indépendantes: *la superfamilles des immunoglobulines*
- Les CAM Ca^{++} dépendantes: *la superfamilles des cadhérines*
- Les CAM Ca^{++} dépendantes: *la superfamilles des sélectines*
- Les SAM Ca^{++} dépendantes: *la superfamilles des intégrines*

CAM : Cell Adhesion Molecules

SAM : Substrate Adhesion Molecules

2. Les types d'interaction entre CAMs

- Entre CAMs:

- identiques: **homophilique**
- différentes: **hétérophilique**

- Entre cellules :

- de même type: **homotypique**
- de type différent: **hétérotypique**

- Par l'intermédiaire d'une *molécule extracellulaire*

III. Les principales molécules d'adhérence

1. La superfamille des immunoglobulines (Igs)

Plus d'une trentaine de molécules appartenant à cette superfamille dont la plupart interviennent dans les mécanismes d'adhérence.

- **Les N-CAM représentent le prototype de cette superfamille**
N- CAM (N= nerve)

- Ce sont des CAM Ca⁺⁺ indépendantes.

D'abord décrites dans le tissu nerveux (neurones, cellules gliales), elles sont exprimées également dans de nombreux autres types cellulaires: cellules musculaires, cellules endocrines du pancréas...et de façon transitoire dans d'autres variétés de cellules.

- Il existe trois formes chez l'adulte. Les 2 premières sont des molécules transmembranaires avec l'extrémité COOH cytosolique, alors que la troisième est une protéine périphérique ancrée sur la face extracellulaire de la MP par un *GPI*.

- **Types d'interaction**

Homophilique, avec des CAM Ig de même famille (par exemple dans le système nerveux), homotypique (neurone- neurone), hétérotypique (neurone- cellule gliale). Hétérophilique (neurone- matrice extracellulaire).

Remarque

Certaines molécules de la superfamille des IgS récemment découvertes sont impliquées non dans l'adhérence, mais dans la répulsion. Adhérence et répulsion jouent des rôles très importants dans le développement du système nerveux : ainsi les terminaisons de l'axone en croissance doivent se déplacer vers la cellule cible tout en évitant les autres cellules.

• I- CAM (I= intercellular)

Exprimée par les cellules endothéliales. Interaction hétérotypique - hétérophilique avec les intégrines des cellules sanguines pendant *la diapédèse*.

2. Les cadhérines

• Caractéristiques générales

Ca⁺⁺ dépendantes

Il s'agit de glycoprotéines transmembranaires.

- La partie extracellulaire est assez variable d'un tissu à l'autre, avec des domaines de liaisons du calcium.
- La partie intracellulaire correspond à une succession plus homogène d'acides aminés, dont la fonction principale est la liaison avec le cytosquelette.
- La partie moyenne, hydrophobe, permet l'intégration à la MP.

Le segment intracytoplasmique COOH est impliqué dans la liaison avec le cytosquelette par l'intermédiaire de *caténines* α , β et γ ou de molécules apparentées.

• Les différents types de cadhérines

Elles sont concentrées dans les jonctions *occludens* et *adhaerens* (voir chapitre des jonctions)

Différentes cadhérines et localisation

Type de cadhérine	Tissu	Localisation	Protéines de liaison	Filament du cytosquelette
E – cadhérine P- cadhérine	Cellules épithéliales	Ceintures d'adhérence	Caténines α- actinine	Actine Kératine
Cadhérine desmosomale	Epiderme Placenta	Desmosomes	Placoglobine Desmoglobine	Desmine
N- cadhérine	Cellules: nerveuses musculaires du cristallin	Ceintures d'adhérence	Caténines α- actinine Vinculine	Actine

- Les cadhérines desmosomales

Elles ne sont présentes que dans les desmosomes

- * les desmoglénines (dont l'antigène du pemphigus vulgaire)
- * les desmocollines

• Fonctions et pathologie

- Dans les processus du développement, par exemple la formation du tube neural implique des cadhérines.
- En culture, des Acs anti-cadhérines augmentent la mobilité cellulaire.
- La majorité des cellules cancéreuses perdent en partie ou la totalité des cadhérines; quand l'adhérence diminue, la mobilité augmente, d'où des métastases.
- Récepteur d'agent pathogène: la bactérie *listeria* produit et expose à sa surface l'*internaline*, qui se fixe à l'E- cadhérine et induit sa propre endocytose

3. Les sélectines

• Caractéristiques générales

Ca⁺⁺ dépendantes

Glycoprotéines intégrées, encore appelées **LEC-CAM** (LEC= lectine).

Reconnaissent spécifiquement des motifs glucidiques

Elles comportent plusieurs domaines extracellulaires.

• Fonctions

Interviennent dans des adhérences brèves et très spécifiques: dans le compartiment vasculaire, par exemple, interaction des leucocytes avec la cellule endothéliale (hétérotypique, hétérophilique) permettant à ces cellules de quitter la circulation pour passer dans les tissus (diapédèse).

4. Les intégrines

a. Caractéristiques générales

Elles sont Ca^{++} dépendantes

Superfamille de récepteurs appartenant aux SAM (substrate cell adhesion)
Les intégrines sont des hétérodimères composés de deux *sous-unités α et β* .
Les intégrines représentent une superfamille de récepteurs (dont une trentaine de membres fonctionnels sont connus) de diverses molécules de la MEC, en particulier au niveau de la MB. (Voir cours d'histologie).

On distingue au moins trois familles d'intégrines :

- Famille des récepteurs de la fibronectine, impliqués dans l'adhérence cellule- MEC
- Famille des récepteurs plaquettaires, impliqués dans l'adhérence et l'agrégation plaquettaire au cours de la formation du caillot
- Famille des récepteurs leucocytaires.

b. Les interactions entre le cytosquelette (FA), les intégrines et la MEC

- Transduction des signaux

Les intégrines sont liées au cytosquelette et sont une des voies majeures de la transduction des signaux venus de la MEC à destination des cellules épithéliales. Les intégrines jouent un rôle essentiel dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires : forme, polarité, prolifération, migration, survie, différenciation, etc...

- Les contacts focaux

La réorganisation du cytosquelette fait intervenir aussi bien les intégrines que les filaments d'actine et des protéines associées.

Quand la cellule adhère aux protéines de la MEC ou au substrat (en culture cellulaire), elle peut s'étaler et développer des zones de contacts très localisées que l'on peut visualiser au microscope par immunohistochimie .Ces zones de contact sont constituées d'un assemblage d'intégrines regroupées en amas et reliées aux filaments d'actine (FA). Ceux-ci sont disposés en faisceaux larges et parallèles (câbles d'actine). Il a été

démontré que la chaîne $\beta 1$ s'attache à l' α -actinine et la taline qui sont elles-mêmes reliées aux microfilaments d'actine.

• Pathologie

- La maladie de Glanzmann est due à un déficit ou à une absence congénitale de l'une ou des deux sous-unités. Elle est caractérisée par des saignements fréquents du fait de trouble de la coagulation.
- Des troubles de la coagulation par morsure de serpent sont dus à l'action des toxines de venin sur les mêmes molécules.

C. Les différenciations de la MP latérale

I. La juxtaposition simple de deux cellules

Dans ce cas, l'observation au MO ne permet pas de voir la limite intercellulaire.

Au MET cette limite est constituée de deux MP de 7, 5 nm d'épaisseur chacune, séparées par un espace intercellulaire de 20 à 25 nm d'épaisseur. A ce niveau là, les MP adjacentes adhèrent entre elles uniquement au moyen **des protéines CAM**.

II. Les interdigitations ou engrènements

Au MO, on observe une limite rectiligne nette séparant les deux cellules. Cette limite est $\sim 0,5 \mu\text{m}$ d'épaisseur.

Au MET, cette limite correspond à des interdigitations, engrènements des deux MP voisines, sur une épaisseur de $0,5 \mu\text{m}$. Entre ces interdigitations on note la présence de microfilaments d'actine.

Les interdigitations ont pour effet le maintien d'une adhérence cellulaire relativement plus solide que la simple juxtaposition.

Remarque : La cytochalasine B en détruisant les FA, provoque la déformation des interdigitations.

III. Les jonctions intercellulaires

Les différenciations suivantes représentent les jonctions cellulaires. Elles sont en général trop petites pour être observées au MO. Le ME révèle l'existence des types suivants :

- La Jonction serrée ou étanche, (appelée également *zonula occludens* dans le cas des épithéliums): entoure le pôle apical de la cellule.
 - La jonction diffuse ou ceinture d'adhérence (appelée également *zonula adhaerens*): fait suite à la JS ; elle fait le tour du pôle apical
 - Le desmosome : formation ponctuelle, quand elle fait suite à la précédente, elle porte aussi la non de *macula adhaerens*.
- Ces trois éléments constituent alors un *complexe de jonction* et apparaissent en MO sous la l'aspect d'un petit trait: la *bandelette obturante* ou *barre terminale*.
- La jonction communicante ou de type gap

Remarque : au niveau des épithéliums polarisés, la jonction serrée et la jonction diffuse font le tour du pôle apical de chaque cellule.

Par contre, aussi bien le desmosome que la jonction de type gap sont des structures localisées et ponctuelles.

1. La jonction serrée (JS)

• Localisation

- Epithéliums polarisés
- Entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales (tubes séminifères).

Remarque : les épithéliums multistratifiés malpighiens comme l'épiderme n'en possèdent pas.

• Structure morphologique

Sur coupe mince, fusion apparente sur une longueur < 0,5 µm des feuillets externes des MP appartenant aux cellules adjacentes.

Sur réplique (cryofracture), cette zone se présente sous forme d'un réseau anastomosé et plus ou moins développé selon l'épithélium.

• Composition chimique et moléculaire

Le réseau est constitué par les points de fusion correspondant à des liaisons étroites entre protéines appartenant aux MP adjacentes, parmi lesquelles:

- Protéines transmembranaires (PTM): *occludine et claudines* ; *cadhérines E*
- Protéines périphériques *ZO 1 à 3; cinguline...* cette dernière permet l'association avec les *FA*.

• Fonctions de la jonction serrée

- Elle permet l'adhérence des cellules adjacentes.

De manière générale, la jonction serrée est imperméable aux macromolécules alors que sa perméabilité aux petites molécules est variable ; (par exemple au niveau de l'épithélium intestinal, elle est 10.000 fois moins étanche aux ions qu'au niveau de la vessie).

- D'autre part, la jonction serrée aurait comme autre fonction d'empêcher la diffusion de protéines membranaires apicales (notamment les transporteurs) vers la membrane latéro-basale et inversement.

Considérons le cas de l'entérocyte : au niveau de l'intestin grêle, le glucose est activement pompé au pôle apical à partir de la lumière où il est faiblement concentré, grâce à un symport glucose/ Na^+ . Ce symport est commandé par un gradient de Na^+ plus élevé à l'extérieur vers un niveau faible à l'intérieur de la cellule grâce à une ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ dépendante située sur la MP latéro-basale. Alors que le glucose sort par diffusion facilitée dans le sens du gradient de concentration grâce à un transporteur (perméase) situé dans la membrane latéro-basale.

• Pathologie

Une toxine cholérique se fixe sur la jonction serrée provoquant l'ouverture de l'espace intercellulaire dont la conséquence est le passage de liquide de la MEC vers la lumière intestinale, ce qui explique la diarrhée et la déshydratation.

2. La jonction diffuse (JD) ou ceinture d'adhérence ou jonction intermédiaire (JI)

• Localisation

Epithéliums polarisés sous la JS, ceinturant, comme la précédente, le pôle apical.

• Morphologie

- Espace intercellulaire de 15 à 25 nm parcouru par de fins filaments.
- Plaque cytosolique dense (une pour chacune des deux cellules) au voisinage de chaque MP, en relation avec
- FA disposés en un anneau périphérique.

• Compositions chimique et moléculaire

- Les filaments intercellulaires sont constitués de *cadhérines E*

Les cadhérines E sont en relation avec les filaments d'actine de la ceinture par l'intermédiaire de *caténines* (α , β , γ ,...) situées au niveau de la plaque dense cytosolique.

Les cadhérines E sont responsables d'une adhérence de type homophilique.

• Fonctions de la jonction diffuse

- Contribue à l'attachement mécanique des cellules adjacentes.
- Maintien de la rigidité et donc la forme de la partie apicale de la cellule grâce à l'anneau d'actine.
- Intervient dans la déformation des épithéliums au cours du développement, aboutissant à des structures tubulaires.

3. Le desmosome ou desmosome ponctuel ou desmosome maculaire

• Localisation

Cellules épithéliales, mais aussi myocardiques.

Contrairement aux JS et JD, le desmosome a une forme arrondie ou ovaleaire, d'un diamètre $\sim 0,5\mu\text{m}$; il ne fait pas le tour de la cellule. Plusieurs / cellule.

• Morphologie

- Espace intercellulaire de 20 à 50 nm, traversé par des filaments; barrés parfois par une lamelle médiane plus dense.
- Feuilles internes des deux MP adjacentes parfois épaissies.
- Plaques desmosomales ou cytosoliques (une pour chaque cellule) très denses, de forme discoïdes.
- Convergence de *filaments intermédiaires* (FI) vers chacune des plaques desmosomales.

• Composition chimique

- *Cadhérines (desmocolline, desmoglaine)* correspondant aux filaments intercellulaires.
- *Placoglobines, desmplakines, caténines*: situées dans les plaques desmosomales qui sont en relation avec les FI de kératine.

Ces FI sont qualifiés de **tonofilaments de kératine** au niveau des épithéliums, exemple l'épiderme.

• Fonction

Adhérence intercellulaire à la façon de rivets. Les plus résistants aux agents de dissociation.

• Pathologie

Des auto-anticorps, particulièrement anti-desmocollines sont présents chez des malades atteints de *pemphigus*, qui se traduit par des lésions bulleuses de l'épiderme suite à des clivages des cellules du corps muqueux de Malpighi

Remarque 1

Au niveau de l'épiderme, les cellules des différentes couches sont attachées les unes aux autres par des desmosomes sur toutes leurs faces.

Remarque 2

Certains desmosomes de cellules épithéliales, appelés *macula adhaerens*, sont disposés sous la *zonula adhaerens*, elle-même faisant suite à la *zonula occludens*. Ces 3 formations ainsi réunies constituent un complexe jonctionnel qui peut être mis en évidence en MO, sous la forme d'une petite densification située à la partie supérieure des limites intercellulaires, connu sous le nom de *bandelette obturante* ou *barre terminale* ou *cadre cellulaire*.

4. La jonction communicante ou de type gap

■ Localisation

Présentes dans les cellules épithéliales et non épithéliales (cellules musculaires lisses et cardiaques, ostéocytes, cellules cérébrales...)

■ Morphologie

De forme arrondie, parfois irrégulière, souvent situées à proximité des JS dans le cas des cellules épithéliales.

- Sur coupe mince, espace intercellulaire de 2 à 3 nm.
- Sur coupe mince en coloration négative, formations hexagonales délimitant un canal de 1,5 nm.
- Sur réplique, agrégats de particules intramembranaires.

▪ Composition chimique

Protéines transmembranaires de la famille des *connexines* (PM de 23 à 43 kDa selon le type de cellule); 6 connexines s'associent en un hexamère pour former un canal ou *connexon*..

Deux *connexons* appartenant aux deux cellules en contact s'alignent pour former un canal intercommunicant.

▪ Fonctions

- Couplage métabolique

* Passage de différentes molécules de PM < 1,5 kD, ainsi que des molécules informatives : Ca⁺⁺, AMPc.

* Passage d'enzymes

Expérience : Deux populations de cellules, l'une normale (N), l'autre mutante (M), déficiente en *thymidine – kinase*, incapable d'incorporer la thymine dans l'ADN.

Par autoradiographie, on a pu montrer qu'aussi bien les cellules N que les cellules M reliées aux cellules N par des jonctions gap ont le noyau marqué.

- Couplage électrique

Passage d'ions; C'est le cas des cellules du myomètre ou myocardique.

D. Différenciations de la MP basale

Notions de membrane basale (MB) et de lame basale (LB)

Au MO, les épithéliums apparaissent constamment séparés du tissu avoisinant par une structure linéaire, la *MB* ou *vitrée*, ayant le plus souvent un aspect homogène, sans structure apparente. La MB a une épaisseur variable selon les épithéliums, pouvant même être à la limite de la visibilité

Au MET, la MB comprend deux sortes d'éléments :

- une *LB*, de 30 à 70nm d'épaisseur, composée de fins filaments glycoprotéiques (*collagène de type IV, laminine...*)

- des *fibres de réticuline* (voir cours d'histologie).

Exceptionnellement, la LB peut être beaucoup plus épaisse et atteindre 300 nm comme dans le glomérule rénal.

La MB fait partie de la *matrice extracellulaire (MEC)*.

Les différenciations sont de deux types

I. Les invaginations

Replis plus ou moins profonds rencontrés dans les cellules qui jouent un rôle dans les échanges hydrominéraux, notamment les tubes rénaux.

Dans la cellule du tube proximal du rein, de telles invaginations sont très nombreuses et très profondes, délimitant des compartiments dans lesquelles se logent des mitochondries très allongées, les « *bâtonnets de Heidenheim* ».

Ces invaginations ont pour rôle l'augmentation de la surface de transfert de substance à travers la MP basale.

II. L' hémidesmosome

1. Morphologie

- Partie intracellulaire

Plaque desmosomale et convergence de FI (tonofilaments dans les cellules épithéliales); MP épaisse.

- Partie extracellulaire

Une zone claire entre le pôle basal de la cellule et la LB, traversée par de nombreux filaments qui semblent partir de la MP pour s'accrocher à la LB.

2. Composition chimique

- La Plaque cytoplasmique : protéines d'attachement des FI; plectine; antigène de la *pemphigoïde bulleuse*...
- Les FI: *cytokératines* dans les cellules épithéliales
- La MP : *intégrines*

3. Fonctions

L' hémidesmosome intervient dans l'attachement de l'épithélium à la matrice extracellulaire ainsi que dans la transmission de signaux.

4. Pathologie

L'épidermolyse bulleuse acquise est due à la disparition des hémidesmosomes avec formation de bulles par décollement de l'épithélium de la MB.

Le cytosquelette

Réseau de *filaments protéiques* structurant le cytoplasme des cellules eucaryotes, en interaction avec des *protéines associées*. Il est responsable de la forme et de la mobilité cellulaire, mais également d'événements intracellulaires (répartition des organites, déplacement des organites et vacuoles....)

Ceci est dû au fait que le cytosquelette est une structure dynamique, en perpétuelle réorganisation, par assemblage et désassemblage (polymérisation - dépolymérisation) de ses éléments constitutifs.

Ses constituants principaux:

- Les microtubules (MT)
- Les microfilaments d'actine (FA)
- Les filaments intermédiaires (FI)

A. Les microtubules

Présents dans les cellules des organismes supérieurs.

I. Structure morphologique

1. Microscopie optique

Les MT ne sont pas observables en tant que tel, néanmoins on peut les visualiser par des *anticorps fluorescents anti-tubuline*.

2. MET

Tubes creux de longueur variable, **de 25 nm** de diamètre extérieur et de 15 nm de diamètre intérieur.

En coloration négative, la section est constituée de 13 particules globulaires ou *sous-unités*.

L'alignement longitudinal des sous-unités constitue un filament élémentaire ou *protofilament*.

L'association de 13 protofilaments constitue un MT

II. Composition chimique; structure moléculaire; dynamique

1. La molécule *de tubuline* est un hétérodimère dissymétrique, constituée de deux sous-unités globulaires, la sous-unité α et la sous-unité β , réunies étroitement.

2. *In vitro*, en présence de GTP + Mg⁺⁺, $\alpha \beta$ polymérisent en MT. Le remplacement du GTP par le GDP entraîne la dépolymérisation. La polymérisation est aussi appelée *nucléation*.

3. *In vivo*, le *MTOC* (centre organisateur des MT) intervient dans la polymérisation-dépolymérisation des MT…

4. L’association des tubulines en protofilaments et en MT se fait toujours avec une extrémité α d’un côté et une extrémité β de l’autre.

5. Une extrémité est appelée (+) et l’autre (-). Dans la cellule l’extrémité (-) est proximale (proche du noyau) tandis que l’extrémité (+) est distale (pérophérique).

6. La longueur du MT est le résultat de polymérisation- dépolymérisation et dépend des concentrations relatives en molécules de tubulines libres et en molécules polymérisées.

In vitro, les deux formes sont en état d'*équilibre dynamique*. Auquel cas le MT, tout en gardant la même longueur, perd des dimères au niveau de l’extrémité (-) et gagne la même quantité au niveau de l’extrémité (+). Il fonctionne à la façon d’un *tapis roulant*. Ceci correspond à une certaine concentration de la tubuline libre appelée *concentration critique*. Si la concentration diminue, le MT se raccourcit et perd plus de dimères du côté (-) que du côté (+).

7. Inhibiteurs de la polymérisation

La colchicine (extraite de la colchique), est un agent antimitotique (antifusorial) empêche la polymérisation des MT. Elle est utilisée en laboratoire pour l’obtention du *caryotype*. Dans ce cas, la colchicine, en inhibant la formation du fuseau, empêche l’ascension des chromosomes vers les pôles, la mitose restant bloquée en métaphase, phase pendant laquelle les chromosomes sont au maximum de leur condensation.

La vinblastine provoque, en plus, l’agrégation des tubulines libres.

8. Stabilisateur

Le taxol (extrait de l’if) favorise la polymérisation : se fixe sur chaque dimère du MT et bloque la division cellulaire en empêchant l’alternance polymérisation-dépolymérisation. Il est utilisé en chimiothérapie.

III. Les protéines associées aux MT, les MAPs

Elles sont responsables de la stabilité ou de la labilité des MT. En effet il existe deux sortes de microtubules, les microtubules instables ou labiles et les microtubules stables (neurotubules des cellules nerveuses, microtubules des centrioles et des cils). Ces derniers étant stabilisés par des protéines associées.

1. MAPs stabilisatrices

Elles participent à la structure des MT.

- Les protéines *HMW* (high molecular weight): stabilisent les MT des cellules nerveuses.
- La protéine *Tau* se localise surtout dans les axones; elle accélère la polymérisation et stabilise les MT.

2. Les protéines motrices

- Les *dynéines*, proches de la dynéine ciliaire, transportent des vésicules de la périphérie vers le centre cellulaire.
- Les *kinésines*, plus diverses, sont impliquées dans le transport de vésicules du centre vers la périphérie de la cellule. Le domaine à activité ATPasique saute d'une sous-unité β à la suivante, correspondant à une distance de 8 nm, consommant une molécule d'ATP. Ces deux protéines sont des ATPases.

IV. Fonctions

- Mouvements des chromosomes au cours de la méiose et de la mitose avec la formation du fuseau mitotique (blockage de la métaphase par la colchicine).
- Transport intracellulaire de vacuoles et de vésicules.
- Polarité cellulaire (extrémités + et -).
- Forme cellulaire (ex. Les plaquettes sanguines).
- Transport d'ARNm vers leur site d'utilisation.
- Distribution du contenu cytoplasmique, comme par exemple celle du R.E

B. Les filaments d'actine

Protéines représentant 5% des protéines des cellules eucaryotes mais 20% des cellules musculaires.

I. Structure morphologique

1. MO

Si les FA sont facilement observables dans les cellules musculaires (voir cours d'histologie), ils sont révélés, dans les autres cellules par des anticorps fluorescents où ils se présentent sous forme de faisceaux ubiquitaires mais souvent périphériques.

2. MET.

Filaments de longueur variable et **de 5 à 6nm** de diamètre.

En coloration négative, suite de sous-unités globulaires, **actine G** (globulaire) qui constituent l'**actine F** (fibreuse).

II. Aspects biochimique et moléculaire; dynamique

1. L'actine G est la forme libre de la protéine.

2. *In vitro*, en présence D'ATP, de Mg⁺⁺ et de K⁺, elle polymérise pour former une **chaîne d'actine F**; deux chaînes F s'enroulent en hélices pour constituer **un filament d'actine**.

3. Les FA et les molécules libres sont également en équilibre dynamique, pour qui existe également une concentration critique.

4. En raison de la dissymétrie de l'actine G, le FA a une extrémité + et une extrémité -

5. Inhibiteurs :

- Inhibiteur de la polymérisation

Les *cytochalasines* de A à F, extraits de moisissures ; B étant la plus utilisée) se fixent sur l'extrémité + des FA et empêchent ainsi l'addition de nouvelles molécules.

- Inhibiteur de la dépolymérisation

La *phalloïdine* (extraite d'un champignon, l'amanite phalloïde), protéine mortelle, se fixe sur les côtés des FA, en s'attachant à chaque monomère et empêche de la sorte la libération des monomères.

III. Les protéines associées à l'actine

Les protéines *ABP* (actin binding protein) contrôlent la polymérisation et la dépolymérisation des FA, leur stabilisation, leur assemblage en faisceaux, leur fragmentation, leur attachement à la MP; ils sont également appliqués dans les fonctions de contraction.

Plusieurs molécules ont été individualisées (Voir tableau).

IV. Fonctions

Elles résultent des différentes combinaisons des FA.

1. Les faisceaux contractiles

FA parallèles qui peuvent interagir avec la *myosine II*

• Les faisceaux contractiles constituent les *anneaux contractiles* associés aux JS et JD. Ils permettent le maintien de la forme du pôle apical et éventuellement les modifications de son diamètre.

• Ancrés sur la MP au niveau des *points de contact focaux*), les FA forment des faisceaux lâches pontés par l'*actinine α*.

Au cours de son déplacement sur le support, la cellule détruit et constitue alternativement les *contacts focaux*.

2. Les faisceaux serrés

Filaments parallèles associés notamment à la *fimbrine* et à la *villine*

▪ Ils maintiennent la forme des *microvilloïtés*.

▪ Ils sont responsables des protrusions de la MP: *lamellipodes*, *spicules*, *pseudopodes*. Ces faisceaux n'étant pas contractiles, les mouvements de ces formations s'expliquent par la polymérisation des FA, qui repoussent la MP vers l'extérieur.

3. Le réseau d'actine

En interaction avec la *filamine*, les FA forment un réseau qui donne au cytosol une consistance de gel.

4. Fluidification du cortex cellulaire

La traversée du cortex cellulaire par les vésicules d'endocytose / exocytose peut s'expliquer par la fluidification dudit cortex grâce à l'intervention de protéines telle que la *gelsoline* qui en présence de Ca^{++} , fragmentent les FA, transformant le cytosol en un sol.

5. Des bactéries utilisent les FA pour passer directement d'une cellule à l'autre pour pouvoir échapper aux mécanismes de défense.

Listeria monocytogenes, phagocytée par la cellule, s'échappe dans le cytosol. Des protéines de surface de la bactérie sont capables de polymériser les molécules d'actine pour former une queue de FA. La force de propulsion va permettre à la bactérie, par exocytose – phagocytose, de passer directement à la cellule voisine sans passer par le milieu extracellulaire où elle risque d'être reconnue par des anticorps.

C. Les filaments intermédiaires

Groupe hétérogène de filaments qui consolident les cellules au sein d'un tissu. Présents dans le cytoplasme et dans le nucléoplasme des cellules eucaryotes. Malgré leur diversité, les FI sont construits sur le même modèle.

I. Structure morphologique et classification

(Voir tableau)

1. MO

Se présentent sous forme de faisceaux dont la dénomination dépend du type cellulaire : *tonofibrilles* (cellules épithéliales), *neurofibrilles* (cellules nerveuses), *gliofibrilles* (cellules névrogliques). On les révèle de façon spécifique par des Acs fluorescents.

2. MET

Filaments **de 8 à 10 nm** de diamètre (intermédiaire entre celui *des FA et celui des MT*) dénommés *tonofilaments*, *neurofilaments*, *gliofilaments*. On les dénomme aussi selon leur nature chimique.

II. Composition chimique et moléculaire

Les FI sont des polymères de **protéines fibreuses**

1. L'unité de base est un monomère comprenant domaine central hydrophobe enroulé en hélice α , très semblable d'une famille à l'autre et deux extrémités non enroulées en hélice de longueur variable. Ces dernières portent des sites de phosphorylation et de O-glycosylation.

2. Les *monomères* s'associent parallèlement en *dimères*.

3. Les dimères s'associent de façon antiparallèle et avec un léger décalage en tétramères

4. Plusieurs tétramères se mettent bout à bout pour constituer un *protofilament*.

5. 8 protofilaments se groupent pour constituer un cylindre, *le filament intermédiaire (FI)*.

III. Propriétés

1. Les FI ne sont pas polarisés

2. Ils sont très résistants et de ce fait, ils confèrent à la cellule sa stabilité mécanique et un moyen de résistance à la tension (étirement, compression, déformation).

IV. Fonctions

1. Dans l'épiderme, les filaments de kératine assurent la résistance mécanique et son imperméabilité à l'eau. Cette dernière fonction s'explique par le fait de l'insolubilité dans l'eau.

2. Le diamètre des neurones est en relation avec les neurofilaments.

L'augmentation anormale du volume du péricaryon et / ou le diamètre de l'axone, aboutissent à la mort du neurone.

Le centriole et ses dérivés

Dans la majorité des cellules animales, il existe à proximité du noyau une zone appelée *centre cellulaire* ou *centrosome*. Au sein de cette zone, et grâce au ME, on a révélé la présence d'une paire de *centrioles* ou *diplosome*.

Les cils et les flagelles sont des dérivés du centriole.

A. Le centriole

I. Structure morphologique

1. MO

Etant à la limite du pouvoir de résolution du MO, la présence du centriole (du diplosome) se devine du fait du contraste de la coloration de cette région avec le reste du cytoplasme.

2. MET

Cylindre d'environ 0,15 µm de diamètre / 0,4 µm de long

- Périmétrie faite de 9 *triplets* de MT, A, B et C. L'axe virtuel les reliant forme un angle de 5 à 10° avec la tangente du cercle, de sorte que A est le plus proche du centre et C en est le plus éloigné
- Le tubule A est complet; les tubules B et C sont incomplets. Ils ont en commun trois sous-unités.
- Au niveau de l'extrémité distale du centriole, on observe une structure en *roue de charrette* faite de rayons qui convergent vers un anneau central. Il semble que cette structure disparaît une fois que le centriole a atteint sa maturité.
- Il y a toujours deux centrioles (diplosome) perpendiculaires l'un à l'autre.
- Le diplosome est entouré par un *matériel* /ou *matrice péricentriolaire*. L'ensemble constitue le *centrosome* ou *MTOC* (centre organisateur des MT).

II. Composition chimique

1. Les MT : *tubulines αβ*.

2. Le matériel péricentriolaire contient une centaine de protéines dont certaines sont structurales et d'autres en transit. Citons :

- Les *cyclines* qui interviennent dans la duplication
- La *tubuline γ* intervient dans l'initiation de la polymérisation.

II. Formation

Les nouveaux centrioles naissent par *duplication* des centrioles préexistants. Elle commence pendant la phase G1 (dans les cellules qui vont se diviser) et se poursuit pendant la phase S pour se terminer en G2. Elle se déroule selon les séquences suivantes :

1. Apparition au voisinage de chaque centriole préexistant d'une structure protéique en *roue de charrette*; elle servira d'échafaudage pour la construction du nouveau centriole.
2. 9 MT complets A se placent autour de cette structure.
3. Les MT incomplets B et C s'associent avec A pour former des triplets.
4. La croissance en longueur du centriole néoformé se fait à partir de l'extrémité distale qui contient la roue de charrette vers l'extrémité proximale qui en est dépourvue.

III. Fonctions

1. Rôle dans la formation du *fuseau de division* cellulaire et l'ascension des chromosomes vers les pôles.

2. Rôle dans la formation des *corpuscules basaux* des cellules ciliées :

- Dans la cellule encore peu différenciée, les centrioles migrent dans la région apicale tout en se séparant.
- Apparition autour de chacun d'eux de formation amorphe, les satellites au sein desquels se forment plusieurs centrioles
- Ces derniers migrent ensuite sous la MP apicale où chacun d'eux, portant le nom de corpuscule basale, donnera naissance à un cil vibratile.

3. Rôle dans l'organisation des MT cytoplasmiques.

La plupart de ces MT semblent s'allonger à partir du MTOC où ils sont encastrés par leur extrémité (-). Le MTOC intervient ainsi dans la nucléation des MT.

La croissance des MT à partir du MTOC peut être démontrée sur des fibroblastes en culture.

Constatant les relations étroites entre MT et certains compartiments cellulaires (RE...), on peut supposer que le MTOC contrôle l'organisation du cytosquelette dans son ensemble, mais également les trafics intracellulaires (voir les flux membranaires).

B. Les cils vibratiles

Un cil est une expansion mobile de la MP apicale de certaines cellules, contenant un *axonème* et des *protéines associées*.

Les cellules ciliées sont de répartitions diverses: voies aérophores, voies génitales mâles et femelles.

L'axonème présente la même organisation dans presque tous les cils des cellules ciliées ainsi que dans les *flagelles*, des protozoaires à l'homme.

I. Structure morphologique

1. MO

- Les cils se présentent sous l'aspect de fins filaments de 5 µm à 10 µm de long qui émergent du pôle apical de la cellule ciliée.
- L'extrémité proximale semble implantée sur une ligne faite d'une suite de points qui court tout le long du pôle apical, la *ligne des corpuscules basaux*.
- Ces derniers sont parfois en continuité avec une structure fibrillaire convergeant vers le noyau, la *racine ciliaire*.

2. MET

Il y a continuité entre le cil et le corpuscule basal (CB). Ce dernier a la même structure que le centriole.

• Le cil dans sa partie moyenne, sur coupe transversale

- Diamètre ≈ 0,2 µm.
- Limité par une expansion de la MP apicale.
- L'axonème est l'ensemble de MT et des protéines associées.
- Une paire de MT centraux, dont la ligne virtuelle passant par leurs centres est perpendiculaire à la direction du battement ciliaire.

- 9 doublets de MT périphériques. Chacun comprend un MT **A** et un MT **B**. **A** est complet et plus petit que **B** ; ils ont trois sous-unités (protofilaments) en commun.

La ligne joignant les centres de **A** et de **B** forme un angle de 5° à 10° avec la ligne tangentielle à la surface du cil ; ce qui fait que **A** est le plus proche du centre.

- **A** porte latéralement une paire de bras de *dynéine*, interne et externe; les paires sont distantes les unes des autres, le long de **A**, de 13 nm (sur une coupe longitudinale).

- **A** est relié à **B** suivant par une fine bande, le pont de *nexine*.

- Un *bras radiaire* part du **A** et se termine par un renflement au voisinage de la gaine centrale.

- **Le cil dans sa partie basale, sur coupe longitudinale**

- Continuité entre, respectivement, les MT **A** et **B** du cil et ceux du CB ; mais interruption du MT **C**.

- Présence d'une plaque basale au niveau de l'extrémité distale du CB, elle contient des germes de polymérisation de la paire centrale de MT.

- Le CB présente le dispositif en roue de charrette du côté de sa partie proximale.

- Le CB est en relation avec la *racine ciliaire* (inconstante), formation fusiforme faite de microfilaments parallèles dont l'ensemble présente une structure périodique.

- Les doublets sont reliés à la MP par des protéines regroupées de façon particulière constituant une sorte d'anneau. Cette partie porte le nom de *zone de transition*; elle est située entre le CB et la *tige* c'est-à-dire le reste du cil.

II. Le mouvement ciliaire

1. Fréquence et forme

- 600- 1300 battements / minute.

- Mouvement pendulaire pendant lequel la base du cil se courbe (zone de transition plus souple, alors que la tige est rigide) pour permettre le retour.

L'aller est actif (1 et 2), alors que le retour est passif et plus lent (3, 4 et 5) comparable à un mouvement de brasse.

- Mouvement *isochrone* ; rôles du CB et de la racine ciliaire?

- Mouvement *métachrone* ; rôle des jonctions de type gap.

Remarque. Le mouvement du flagelle du spermatozoïde est sinusoïdal, comparable à un coup de fouet.

2. Mécanisme moléculaire

Le mouvement résulte du glissement des MT les uns par rapport aux autres. Un axonème séparé du CB et dont *les ponts de nexine* ont été détruits par action enzymatique s'allonge, alors qu'un cil intact se recourbe.

Aussi les contraintes imposées par la continuité avec le CB d'une part et les ponts de nexine reliant les doublets d'autre part, transforment-elles la force du glissement en une *force de flexion*.

3. La dynéine

Si on supprime par extraction les bras de *dynéine*, alors que tout est normal par ailleurs, le mouvement n'aura pas lieu. En effet le glissement (et donc la courbure), se fait selon un cycle mécano-chimique d'attachement et de détachement successifs des bras de dynéine du MT A sur le MT B.

III. Fonctions

Brassent et font circuler des liquides pouvant entraîner des particules à la surface des épithéliums ciliés : voies respiratoires, voies génitales.

La vitesse de particules déplacées à la surface d'un épithélium est de 6 à 35 mm/minute.

La direction du mouvement se fait toujours de l'intérieur vers l'extérieur du corps

1. Dans les voies respiratoires, les sécrétions, qui contiennent en outre des poussières et des germes sont déplacées vers la cavité buccale, ce qui contribue au nettoyage de ces voies.

2. Dans les voies génitales, les cils contribuent au déplacement de l'ovule, des spermatozoïdes et de l'oeuf fécondé.

IV. Cil et pathologie

Il existe en pathologie humaine des syndromes congénitaux d'*immobilité ciliaire* des voies respiratoires entraînant des infections répétées ou bien atteignant les spermatozoïdes (il s'agit ici du flagelle), cause de stérilité.

Les anomalies consistent soit en l'absence de dynéine, soit en l'absence des ponts radiaires.

La mitochondrie

Organite possédant son propre génome, au sein duquel s'effectue la synthèse de la majeure partie de l'**ATP**, principale forme d'énergie, lors de la **phosphorylation oxydative** chez les *eucaryotes aérobies*.

La mitochondrie participe également à certaines voies métaboliques comme la synthèse de phospholipides membranaires ou d'hormones stéroïdes ou encore les mouvements du Ca++, en relation avec le RE.

A. Structure morphologique

I. MO

1. Techniques spéciales de coloration

- Cellules fixées : coloration à la *fuchsine d'Altmann*; microscopie à fluorescence à la *rhodamine*.
- Cellules vivantes: contraste de phase au *vert Janus* (colorant vital). Permet aussi d'observer les mouvements de la mitochondrie.

2. Forme et taille

Arrondie ou ovalaire (granulaire) ou allongée (filamenteuse) de 0,2 à 1 µm; exceptionnellement de 3 à 8 µm de long (bâtonnet); spiralée au niveau de la pièce intermédiaire du spermatozoïde.

3. Nombre

Variable, dépendant du type et de l'état d'activité cellulaires. Ex. Un hépatocyte contient de 500 à 3000 mitochondries (20% du volume cellulaire).

4. Répartition

- Dispersées: hépatocyte.
- Au pôle basal: cellule du tube proximal.
- Au pôle basal et au pôle apical: entérocyte.

II. ME

Membrane interne (MI) et membrane externe (ME) séparées par l'espace intermembranaire (EI).

La MI délimite la matrice mitochondriale (MM).

LA MI envoie du côté de la matrice des expansions, les crêtes mitochondrielles.

1. La membrane externe

5 à 7 nm, trilamellaire

2. L'espace intermembranaire

4 à 7 nm, peu dense.

3. La membrane interne

- Sur coupe mince**

5 à 7 nm, trilamellaire.

- Sur fraction mitochondrie après coloration négative**

- Principe de la coloration négative**

Après leur isolement par ultracentrifugation dans un gradient de saccharose, les mitochondries sont mises dans une solution hypotonique à 2 % de phosphotungstate de potassium, ce qui entraîne leur éclatement. Une goutte de cette solution est déposée sur une grille recouverte d'une membrane de collodion. En se desséchant, le phosphotungstate se dépose autour de certaines structures mitochondrielles (c'est le principe de la coloration négative).

- Résultat**

Cette technique révèle la présence de *particules élémentaires ou ATPosomes*, attachées à la membrane interne. Chacune correspond à une sphère de 4 nm, **F1**, se prolongeant par **F0** qui comprend un pied et une base hydrophobe.

4. Les crêtes mitochondrielles

Il s'agit de simples replis de la membrane interne dont elles conservent la structure. Elles sont néanmoins variées dans leur nombre, dans leur disposition et dans leur forme, en fonction du type cellulaire et de l'état d'activité de la cellule.

Ainsi distingue-t-on :

- **Les crêtes lamellaires**, les plus courantes; parallèles ou perpendiculaires ou obliques par rapport au grand axe.
- **Les crêtes tubulaires**, spécifiques des cellules sécrétant les hormones stéroïdes.
- **Les crêtes prismatiques** (de section triangulaire), dans les *astrocytes* (cellules gliales du système nerveux central).

1. La matrice mitochondriale

Espace granulaire avec:

- **Des granulations fondamentales**

De 3 à 4 nm. Les plus nombreuses; en général de nature protéique.

- **Des granules denses**

De 25 à 100 nm, particules contenant Ca^{++} , Mg^{++} ...

- **Des ribosomes mitochondriaux ou mitoribosomes**

15 nm, pas toujours faciles à observer.

- **De l'ADN mitochondrial**

Circulaire, observable dans des conditions favorables.

B. Composition chimique et architecture moléculaire

Isolement de sous-fractions mitochondrielles en utilisant des milieux de différentes osmolarités et des centrifugations successives (Voir les différentes étapes sur le schéma).

I. La membrane externe

Rapport L/P assez proche de celui de la MP

1. Lipides 40%

- Des Phospholipides en majorité
- Peu de cholestérol

2. Protéine 60%

3500 protéines / μm^2 , parmi lesquelles :

- **Les Porines.** Constituées de 3 feuillets β (ce qui n'existe pas au niveau de la MP) autour d'un pore de 2 à 3 nm de diamètre permettent le transport passif de molécules de PM = ou < 10 kDa.
- D'autres protéines de transport de protéines, du cholestérol...
- Le récepteur d'importation des protéines
- L'acyl-coenzyme A synthétase.

II. L'espace intermembranaire

- Des protons.
- Le cytochrome c, sur la face externe de MI.

III. La membrane interne

1. Lipides : 20 à 25 %

- Phospholipides pour la plupart dont le *cardiolipide* (10 %), responsable de la forte imperméabilité de la MI aux ions et notamment aux H⁺.
- Absence de cholestérol.

2. Protéines : 75 à 80 %

- **Transporteurs**

Généralement des co-transporteurs entre EI et matrice, de l'ADP, de l'ATP du pyruvate, d'ions phosphate, d'acides gras...

- **Récepteurs d'importation des protéines**

- **ATPosome et ATP synthase**

C'est un complexe protéique comprenant

- Une sphère de 4 nm, le *facteur F₁*, tourné vers la matrice. Sa structure est la mieux connue: 3 *sous-unités α* et 3 *sous-unités β* disposées en alternance autour d'une *sous-unités γ*, cette dernière se prolonge vers la base. Il faut ajouter les *sous-unités δ et ε* qui se continueraient au niveau du pédoncule qui relie la sphère à la base.

Ce complexe représente l'ATP synthase

- Le *facteur f₀*, base hydrophobe, inséré dans la couche bi-lipidique. On admet qu'il est constitué d'une couronne de 9 à 12 *sous-unités c* autour de *γ* représentant une espèce de rotor.

Il représente le transporteur transmembranaire de protons.

- **Les complexes protéiques de la chaîne respiratoire**

Ce sont des accepteurs d'électrons qui catalysent des réactions d'*oxydoréduction*

Rappels

Qu'est- ce une enzyme et une coenzyme ?

L'enzyme (de nature protéique) seule (apoenzyme) est inactive et instable à la chaleur. Par contre elle devient stable et active sur le plan catalytique une fois liée à son ou ses cofacteurs (holoenzyme).

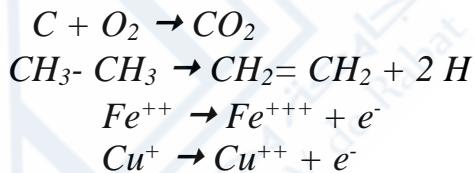
Cofacteur : corps chimique intervenant obligatoirement dans une réaction enzymatique :

- pour transporter ou compléter un substrat
- pour accepter un produit
- comme participant à la structure de l'enzyme

Les cofacteurs peuvent être des ions (comme le Zn^+ de l'anhydrase carbonique) ou de petites molécules telle que l'eau. Certaines cofacteurs synthétisés par la cellule ont une structure plus complexe : on les appelle coenzyme (coenzyme A, NADP, dérivés des vitamines...). Les Coenzymes sont impliquées dans le transfert de molécules chimiques spécifiques.

Qu'est- ce une oxydation ?

- Une fixation de O_2
- Un départ de H_2
- Une perte d'électron



Le composé oxydé a perdu un e^- et acquis une charge positive

Des paires de composés tels que H_2O et $\frac{1}{2} O_2$ et NADH et NAD^+ sont appelés paires redox conjugués, car un composé est transformé en l'autre après l'addition d'un ou plusieurs électrons e^- et protons H^+ , les protons étant disponibles dans toute solution aqueuse



• Les complexes protéiques de la chaîne respiratoire

Ce sont des accepteurs d'électrons qui catalysent des réactions d'*oxydoréduction*

- **Complexe I** : la *NADH-déshydrogénase* à *FMN* (flavine adénine mononucléotide). Complexe de 800 kDa, catalyse le transfert d'une paire d' e^- du NADH matriciel à l'*ubiquinone*. L'*ubiquinone* (UQ) ou coenzyme Q (CoQ) est une petite molécule liposoluble. Le complexe I est également **un site de pompage de protons (H^+)** vers l'espace intermembranaire (EI).

- **Complexe II** : *succinate Q réductase* ou *succinate-déshydrogénase* permet le transfert d' e^- de faible énergie du *succinate* au FAD, puis à l'*ubiquinone*.

- **Complexe III** : formé du *cytochrome b* et du *cytochrome c₁*, catalyse le transport des e^- de l'*UQ réduit (UQH)* au *cytochrome c*, situé sur la face de la MI du côté de l'EI. C'est aussi **un site de pompage de H^+** .

- **Le complexe IV** : ou *complexe cytochrome oxydase* comprend les *cytochromes a et a3* Il représente l'étape ultime du transport d' e^- dans la chaîne d'*oxydation*. Il cède ses e^- à l'*oxygène moléculaire*.

C'est aussi **un site de pompage de H^+** .

Les différents complexes sont disposés au niveau de la MI selon un ordre précis, en fonction de leurs potentiels oxydoréducteurs respectifs, le plus oxydant étant le plus éloigné du substrat.

Précisons que les cytochromes ne peuvent transporter qu'un e^- à la fois alors que le NADH donne deux électrons.

IV. La matrice mitochondrial

1. Les enzymes

- Le complexe *pyruvate déshydrogénase*, transforme en présence du *Coenzyme A* (CoA), le pyruvate en *acétyl-CoA* ; produit également du NADH.
- Les enzymes impliquées dans la β -*oxydation* des acides gras produisent de l'*acétyl-CoA*, du NADH et du FADH₂.
- Les enzymes impliquées dans le *cycle de Krebs*, notamment des *décarboxylases* et des *déshydrogénases à NAD et FAD*.

2. Différents métabolites, certains produits des réactions mitochondrielles d'autres importés par l'organite.

3. Plusieurs copies **d'ADN mitochondrial; ribosomes; ARNm; ARNt; enzymes** impliquées dans l'expression des gènes de la mitochondrie.

4. Des ions : Ca^{++} ; phosphates; Mg^+ ; H^+ ...

C. Fonctions de la mitochondrie

I. Rôle énergétique ou respiratoire

L'énergie produite dans la matrice sous forme d'ATP se fait par un mécanisme appelé *phosphorylation oxydative*, mécanisme au cours duquel l' O_2 dissout est consommé alors que du CO_2 est libéré, ce qui correspond à la *respiration cellulaire*.

Les glucides, les lipides principalement, les protéines dans une moindre mesure, représentent les sources d'énergie pour la mitochondrie. Dans le cytosol, les réserves sont essentiellement sous forme de glycogène et de triglycérides. Pour pouvoir servir de combustible, le glycogène est réduit en glucose et les triglycérides hydrolysés en glycérol et en *acides gras*.

Le produit final de la dégradation du glucose et des acides gras est un groupement acétyl $\text{CH}_3\text{-CO}^-$.

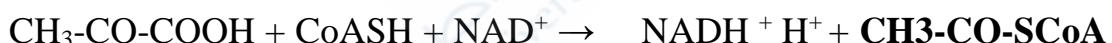
1. Formation de l'acétyl-SCoA

• A partir du pyruvate

- Dans le cytosol au cours de la glycolyse le glucose → 2 pyruvates

$\text{CH}_3\text{-CO-COO}^-$ qui pénètrent dans la matrice par un *symport pyruvate / H}^+*.

Dans la matrice, sous l'action de la *pyruvate déshydrogénase*, et en présence du CoASH, le pyruvate est converti en *acétyl-SCoA* avec élimination de 1CO_2



• A partir des acides gras saturés

Pour pouvoir pénétrer dans la matrice, ils sont d'abord activés en *acyl-SCoA* sous l'action de l'*acyl-SCoA-synthétase*, enzyme localisée dans la ME

Dans la matrice, un acide gras sera dégradé en plusieurs étapes (Hélice de Lynen), au cours de chacune d'elles, la molécule sera raccourcie de deux carbones avec production d'un acétyl-SCoA, d'une molécule de FADH_2 et d'une molécule de $\text{NADH} + \text{H}^+$.

2. Oxydation de l'acétyl-SCoA : cycle de Krebs

Le cycle de Krebs ou cycle de l'acide citrique ou des acides tricarboxyliques, au cours duquel le *radical acétyl* est réduit en CO₂, en atomes d'hydrogène et en électrons.

7 réactions successives, notamment de décarboxylation et d'oxydation par déshydrogénération (*déshydrogénases à NAD et à FAD*).

Les atomes d'hydrogène et les électrons libérés à chaque cycle réduisent le NAD⁺ matriciel et le FAD lié à la succinate déshydrogénase.

Il faut en effet noter que toutes les réactions du cycle de Krebs se déroulent dans la matrice à l'exception de celle catalysée par la *succinate – déshydrogénase c à d Complexe II* (liée au FAD) qui est intégrée à la MI

Au cours d'un cycle :

2 CO₂ éliminés

3 paire d'e⁻ transférés à 3 NAD⁺ → 3 (NADH + H⁺)

Une paire d'e⁻ transférée à 1 FAD → 1 FADH₂.

1 GTP formé

3. Transport des électrons du NADH et du FADH₂ à l'oxygène moléculaire

- Les électrons du NADH sont cédés au *complexe I* qui les cède au *complexe III* par l'intermédiaire de du CoQ qui les cède au *complexe IV* par le biais du *cytochrome c*.
- Les électrons du FADH₂ (issus du succinate au niveau du *complexe II*) sont cédés au CoQ qui les transporte au *complexe III* puis au *complexe IV* par le cytochrome c.
- L'oxygène moléculaire O₂ est l'accepteur final qui devient O₂[·], dit *superoxyde*.
- En même temps les protons H⁺ sont **transloqués (pompés)** vers l'*espace intermembranaire* au niveau de **3 sites (I, III et IV)** pour NADH, et de **2 sites (III et IV)** pour FADH₂.

Le pompage des H⁺ étant un phénomène *actif*, c'est l'énergie libérée au cours du transport des électrons, qui passent d'un état de haute énergie à un état de basse énergie qui est utilisée pour un tel pompage.

Ceci crée **un gradient de H⁺** (différence de concentration). En effet, le pH de la matrice est plus élevé que celui de l'EI qui est le même que celui du cytosol (Rappelons que la MI est fortement imperméable aux petites molécules et aux ions). Pour rétablir l'équilibre, il se crée un **flux des H⁺** vers la matrice à travers l'**ATP synthase**.

Cette force protonique captée par ce complexe est utilisée par F₁, qui fonctionne comme un rotor, pour synthétiser de l'**ATP** à partir de l'**ADP + Pi**.

En même temps, l'oxygène moléculaire O₂, accepteur final, se réduit en ion superoxyde O₂[·] se lie aux protons : 1/2 O₂ + 2 e⁻ + 2 H⁺ → H₂O

5. Bilan énergétique global à partir d'une molécule de glucose

- La glycolyse anaérobie du cytosol produit 4 molécules d'ATP et en consomme 2 (bilan=2ATP) et donne 2 molécules de NADH. Les électrons du NADH sont transférés à la chaîne respiratoire par des navettes.
- La mitochondrie produit 34 ATP pour 2 pyruvates dégradés

- Au cours du cycle de Krebs

4 réactions par déshydrogénération ont pour effet le transfert de 3 paires d'électrons à 3 NAD⁺ et une paire à 1 FAD (le double pour 2 pyruvates) donnant :

6 NADH produisent 18 ATP

2 FADH₂ produisent 4 ATP

2 GTP produisent 2 ATP

Les électrons des navettes produisent 4 ATP

- La décarboxylation de 2 pyruvates en 2 acétyl-SCoA accompagnée de 2 NADH produit 6 ATP.

II. La synthèse par la mitochondrie de certaines protéines mitochondrielles

1. Le génome mitochondrial

L'ADN mitochondrial

- Est de type circulaire, semblable à celui des bactéries.
- Il en existe plusieurs copies par mitochondrie (2 à 10).
- Contient les gènes qui codent 13 protéines impliquées dans le transport d'électrons et la phosphorylation oxydative.
- Code aussi les ARNr 16S et 12S ainsi que 22 ARNt.
- Il comporte quelques différences avec le code universel.

2. Les ribosomes mitochondriaux

Chez l'homme et les vertébrés supérieurs: 50S à 60S

Grande sous-unité: 35S à 45S

Petite sous-unité: 25S à 33S

Chez l'Homme, le génome mitochondrial est transmis par la mère.

3. Des maladies dues à des mutations dans les gènes mitochondriaux ou nucléaires commencent à être connues.

Par exemple : *la neuropathie optique congénitale de Leber* (NOLC), caractérisée par une perte progressive de la vision entre l'âge de 15 ans et 35 ans, est due dans la majorité des cas à des mutations frappant des sous-unités du complexe I ou le cytochrome c.

III. Importation des protéines d'origine cytosolique

La mitochondrie code 10% environ de ses protéines, le reste est importé du cytosol. Cette importation nécessite l'implication de plusieurs éléments.

1. Un signal d'adressage (ou peptide signal ou séquence signal).

Séquence de 20 à 80 résidus d'acides aminés, **fortement basique** (charges positives).

2. Des protéines *chaperons*

La protéine, maintenue semi-déployée par *Hsp 70* cytosolique est reconnue par un récepteur localisé dans la ME.

IV. Synthèse des hormones stéroïdes

Dans les glandes endocrines spécialisées, les mitochondries participent à cette synthèse en coopération avec le REL.

- *Cytochrome P 450* dans la MI avec site actif du côté de la matrice.
- *Cytochrome P450* de la même famille appartient au REL avec le site actif du côté cytosolique.
- Ces enzymes utilisent l' O_2 moléculaire et les *électrons* du *NADPH* qui est produit soit directement par le cycle de Krebs, soit par phosphorylation du NADH .

V. Co-transports

(Voir schéma)

VI. Autres fonctions de la mitochondrie

1. Contrôle du calcium cytosolique en coopération avec le REL.

2. Synthèse des précurseurs de certains acides aminés. Par ex. la méthionine et la lysine dérivent de l'oxaloacétate.

D. Biogénèse des mitochondries

- Les mitochondries ont une origine maternelle.
- Les mitochondries se renouvellent en se divisant :
 - Expérience de Luck (1963) sur une souche mutante d'un champignon, riche en mitochondries *neurospora crassa*, incapable de synthétiser la choline, capable de doubler sa population en 2 heures si l'on ajoute de la choline dans le milieu. Incubation en présence de *choline* 3H , 2 heures après, toutes les mitochondries sont marquées.
 - Incubation en milieu froid. 2 heures plus tard, toutes les mitochondries sont marquées, mais ne contenant chacune que la moitié du marquage par rapport aux précédentes.
- Le renouvellement de leur protéines se fait à raison de 10 à 15% / jour.
- Dans un hépatocyte, leur durée de vie est de 10 jours environ.
- Elles sont détruites par autophagie (Voir lysosome).

Basophilie et ribosomes

A. Morphologie

I. MO

Un cytoplasme est basophile est un cytoplasme qui contient une quantité plus ou moins importante de molécules acides capables de fixer des colorants basiques. En pratique, l'importance de la basophilie est en rapport avec la quantité d'ARN cytoplasmique. La basophilie peut être plus ou moins diffuse, ou bien se présente sous la forme de structures individualisées.

II. ME

La majeure partie de l'ARN cytoplasmique fait partie de particules nommées *ribosomes*.

- Les ribosomes, de forme légèrement elliptique, ont un diamètre de 20 nm et un aspect dense sur des images de MET.
 - Les ribosomes sont soit libres, soit attachés à des membranes du Réticulum endoplasmique rugueux (RER)
 - Les ribosomes sont soit isolés, soit forment de petits groupes, les *polysomes*
 - Sur du matériel éclaté par choc hypotonique et après coloration négative, les polysomes se montrent reliés par un fin filament d'ARNm
- Des fractions ribosomes en coloration négative montre que les ribosomes sont constitués de deux sous-unités de tailles inégales, la *petite sous-unité* et la *grande sous-unité*

B. Caractères biochimiques

I. Ultracentrifugation différentielle ou zonale

Ribosome bactérien **70S**

Ribosome eucaryote **80S**

En solution pauvre en Mg⁺⁺ et en Ca⁺⁺, les ribosomes se dissocient en grandes et petites sous-unités:

Bactéries : Grande sous-unité **50S**
Petite sous-unité **30S**

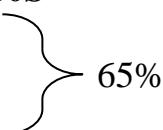
Eucaryotes : Grande sous-unité **60S**
Petite sous-unité **40S**

II. Composition chimique

▪ Eucaryote

Sous-unité 60S

ARN **28S**
ARN **5, 8S**
ARN **5S**
49 polypeptides:



Sous-unité 40S

ARN **18S**: 50%
33 polypeptides : 50%

▪ Prokaryote

Sous-unité 50S

ARN **23S**
ARN **16S**

Sous-unité 30S

ARN **5S**

III. Signification des ARNr

Leur rôle est mal connu. Néanmoins

- Rôle dans la structure du ribosome.
- Rôle d'adaptateur, facilitant la fixation des ARNm et des ARNt.
- Chez les bactéries, rôle de reconnaissance du codon d'initiation *AUG*
- L'ARNr peut avoir une fonction catalytique. On parle dans ce cas de **ribozyme**.

C. Biogenèse des ribosomes

(Voir le nucléole)

- Les ARNr sont synthétisés dans le noyau, au niveau du nucléole, dans des régions chromosomiques particulières, **les organisateurs nucléolaires**, à l'exception du 5S
- Les protéines ribosomales sont d'origine cytosolique.
- L'association ARNr – protéines a lieu dans le noyau.

D. Fonction des ribosomes

I. Les différents acteurs de la synthèse protéique

La synthèse protéique se déroule au cours d'un processus appelé *traduction*.

Elle nécessite en plus des ribosomes

- Un ARNm
- Des ARNt
- Des acides aminés
- Des enzymes et différentes molécules appelées *facteurs*
- L'énergie provient de l'hydrolyse du GTP, mais aussi de l'ATP pour la formation de l'*aminoacyl-ARNt*

1. Le ribosome

Petit atelier qui contient des ARNr et des protéines catalytiques. Il a cependant besoin de protéines annexes : *facteurs d'initiation, d'elongation et de terminaison*.

Il possède deux sites de liaison pour les ARNt, le **site P** (peptidyl-ARNt) et le **site A** (aminoacyl-ARNt).

Il existe en fait un 3ème site, le **site E** (exit), de sortie de l'ARNt débarrassé de son acide aminé.

2. L'ARNm

A partir de l'ADN, l'information est copiée sous forme de codons (la transcription) qui dirige la synthèse d'une molécule protéique (la traduction).

Chez les eucaryotes uniquement, les ARN messagers subissent des modifications post-transcriptionnelles appelées **maturat**ion. En effet, L'ARN est tout d'abords transcrit en une très longue molécule appelée *transcrit primaire ou prémessager*.

L'ARN prémessager subit différentes transformations dans le noyau, avant de devenir *ARN messager (ARNm)* et d'être exporté dans le cytosol pour la traduction.

3. Les ARNt

- Il y a autant d'ARNt différents que de codons, c'est-à-dire 64.
- Ils comportent entre 75 à 85 nucléotides, formant 3 boucles lui conférant une image en forme de *trèfle*.
- Des enzymes, *les aminoacyl-ARNt synthases*, (une différente pour chaque couple ARNt- acide aminé) attachent les acides aminés aux ARNt leur correspondant et activent l'extrémité COOH des acides aminés en vue de leur attachement à la chaîne polypeptidique.
- La boucle 2 contient l'anticodon qui reconnaît l'ARNm lié au ribosome.

II. Déroulement de la traduction

1. L'initiation

- Les deux sous-unités sont séparées l'une de l'autre.
- Le *méthionyl-ARNt*, dit initiateur se place au *site P* de la sous-unité 40S, en présence de *facteurs d'initiation IF*. Il apporte le premier acide aminé (aa).

Remarque : chez les procaryotes, c'est le *formyl-méthionyl-ARNt* qui est l'initiateur.

- L'ARNm se lie ensuite à la petite sous-unité qui se déplace jusqu'à ce que le codon *AUG* se trouve vis-à-vis de son anticodon *UAC*.
- Puis dissociation des *IF*.
- Liaison de la sous-unité 60S à la sous-unité 40S.

2. L'elongation

Elle se déroule en trois étapes :

- Le 2ème aminoacyl-ARNt se place dans le *site A**
Intervention de facteurs d'*elongation EF*.

- L'*extrémité C* du 1^{er} aa est détachée de l'ARNt du site P et ajoutée par *liaison peptidique* au 2^{ème} aa apporté par l'ARNt au site A.
Cette réaction est catalysée par la *peptidyltransférase*.
Expulsion du 1^{er} ARNt et déplacement du ribosome d'un codon faisant passer le 2^{ème} aminoacyl-ARNt du site A au site P.
- Un 3^{ème} aa est apporté par son ARNt....

3. La terminaison

- Un *facteur de terminaison RF* (release factor) se place dans le site A vis-à-vis du codon de terminaison *stop*.
- La peptidyl transférase ajoute alors une molécule d'eau pour former l'extrémité COOH du peptide.
- Le peptide achevé est libéré et l'ensemble du complexe se dissocie.

Remarque.

Amplification : un ARNm est traduit simultanément par plusieurs ribosomes (polysome) dont le nombre est fonction de la longueur de l'ARNm. Ainsi la molécule d'hémoglobine est traduite par 5 ribosomes.

La vitesse d'elongation est de 10 à 20 aa / seconde.

E. Inhibiteurs de la synthèse protéique

Du fait des différences de structure des ribosomes procaryote et eucaryote, certains *antibiotiques* sont actifs sur l'un, d'autres sur l'autre, et d'autres sur les deux.

Effets de quelques antibiotiques

Antibiotique	Cellules cible	Effet
Streptomycine	Procaryote	Inhibe l'amorçage et introduit des erreurs de lecture
Tétracycline	Procaryote	Inhibe la fixation des aminoacyl-ARNt
Chloramphénicol	Procaryote	Inhibe la peptidyltransférase
Erythromycine	Procaryote	Inhibe la translocation dans le ribosome
Puromycine	Pro- et eu-caryote	Arrête prématûrement la traduction
Cycloheximide	Eucaryote	Inhibe la peptidyltransférase

Le réticulum endoplasmique rugueux RER

Le RER ou granuleux, appelé autrefois ergastoplasme est présent dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des spermatozoïdes. Il est cependant particulièrement développé dans les cellules qui produisent de grandes quantités de protéines.

A. Morphologie

I. MO

La basophilie traduit à la fois la présence de ribosomes libres et de ribosomes liés au RE. Elle se présente sous divers aspects.

II. MET

C'est un réseau endomembranaire dont la surface est parsemée de ribosomes. Il représente 10 à 15 % du volume cellulaire et la surface de ses membranes est 10 à 20 fois celle de la MP, ce qui représente $40.000 \mu^2$ pour un hépatocyte, $10 m^2/g$ de foie.

1. Type de description : RER de la *cellule acineuse du pancréas*

- Membranes trilamellaires de 50 à 60 nm d'épaisseur délimitant des cavités généralement aplatis appelées citernes. Leur contenu est clair ou légèrement granuleux.
- Des ribosomes, souvent groupés en polysomes, sont attachés sur la *face cytosolique* des membranes par leur grande sous-unité.
- La face en rapport avec la cavité est la *face lumineuse*.

2. Variations

- Citerne dilatées.
- Vésicules.
- Citerne isolées ou citernes intercommunicantes (en réalité le RER forme un réseau intercommunicant).

3. Rapport avec les autres compartiments

- Continuité avec l'enveloppe nucléaire.
- Continuité avec le REL.
- Rapports avec l'AG par l'intermédiaire de vésicules.

B. Composition chimique

La fraction RER est obtenue par ultracentrifugation différentielle sous forme de *microsomes*.

I. Composition membranaire

1. Lipides : 30 %

- Phospholipides plus courts que ceux de la MP, souvent poly-insaturés, d'où une moindre épaisseur et une plus grande fluidité.
- Cholestérol peu abondant, d'où plus grande fluidité.
- Dolichol.

2. Protéines : 70 %

- Canaux, par ex. le translocon.
- Récepteurs
- Transporteurs.
- Enzymes intervenant dans la synthèse des lipides membranaires.
- Enzymes de la N-glycosylation de protéines, Glucose-6-phosphatase,....

II. Contenu des cavités

- Protéines solubles néosynthétisées.
- Protéine chaperonne type *BIP*.
- *Protéine-disulfure isomérase*; elle corrige les erreurs des ponts disulfures non conformes.

Remarque.

Les protéines destinées à la sécrétion sont souvent des molécules intermédiaires des *pré* et des *pro* qui seront modifiées au cours de leur transit dans l'appareil de Golgi, exemple de l'insuline qui synthétisée sous forme de « Pré Pro insuline »

C. Fonctions

I. Synthèse et transport de protéines

Les protéines destinées au RE, aux endosomes, à l'AG, aux lysosomes, à la MP, ainsi que celles destinées à l'exportation sont synthétisées par les ribosomes liés au RE.

Les protéines destinées au cytosol, au noyau, aux mitochondries, ainsi qu'aux peroxysomes sont synthétisées par les ribosomes libres.

1. Mise en évidence par autoradiographie

• Principe

Technique morphologique ou biochimique de détection de certaines molécules dans lesquelles certains atomes naturels ont été remplacés par des *isotopes radioactifs* (par ex. le ^{14}C ou le *tritium* ^3H). La détection morphologique nécessite l'emploi d'une *surface photographique* qui est impressionnée par les émissions radioactives.

• Application

Exemple de la synthèse de *l'insuline*

- Des tranches de tissu pancréatique sont incubées pendant un *pulse* de 3 min dans un milieu contenant de la *leucine* ^3H - Elles sont ensuite incubées pendant des *chasses* de durées variables dans un milieu contenant de la *leucine froide* (non radioactive).
- Analyse des résultats par autoradiographie

2. Résultat

- A 3 min, marquage au niveau du RER
- A 15 min, marquage au niveau de l'AG
- A 60 min, marquage au niveau des grains de sécrétion
- A 120 min, disparition du marquage, correspondant à la fin de la sécrétion des molécules marquées.

Ainsi les protéines synthétisées par les ribosomes du RER, passent dans l'AG, ensuite dans les grains de sécrétion.

II. Translocation des protéines au niveau du RER

1. La translocation en général

Le début de la traduction se déroule toujours dans la cytosol quelque soit la destinée de la protéine.

Dans le cas des protéines destinées au RER... le polypeptide en élévation possède, au niveau de son N-terminal, un *peptide signal hydrophobe* d'environ 25 aa.

- Le peptide signal est reconnu par une particule cytosolique la **SRP** (signal recognition particle) composée d'un ARN 7L et de 6 polypeptides à laquelle il se lie.
- En plus du domaine qui se lie au peptide signal et un autre au ribosome, la SRP possède un troisième domaine qui se lie à un récepteur de la membrane du RE.
- Une fois la SRP se lie au peptide signal et au ribosome, la traduction s'interrompt. Cela est suivi par l'attachement du complexe ainsi formé au RE par l'intermédiaire d'un

récepteur du ribosome associé à un translocon (canal protéique, qui serait en fait un double canal).

- Cela est suivi par l'ouverture du canal qui était jusqu'alors obstrué par une protéine chaperon, la *BiP* (binding protein). Elle est également indispensable au repliement de la protéine néosynthétisée.
- Une fois le canal ouvert, la traduction reprend et la SRP est recyclée.

2. Les principales modalités de translocation

(Voir schémas II)

- Protéine soluble ou luminaire.
- Protéine une fois transmembranaire (P1TM) dont NH₂ est du côté luminal.
- P1TM dont COOH est du côté luminal.
- P2TM dont NH₂ et COOH sont du côté cytosolique.

III. N-glycosylation des protéines solubles ou transmembranaires

1. Considérations générales

- La majorité des protéines qui transitent par le RER sont N-glycosylées sur un résidu asparagine (*Asn*)

Les oligosaccharides liés aux résidus Asn des protéines ont un caractère commun. Ils possèdent tous une région centrale ou *cœur*. D'autre part, pour que l'*Asn* puisse être reconnue par la *N-glycosyltransférase* (l'enzyme qui accroche l'oligosaccharide sur la protéine), elle doit faire partie de la séquence *Asn-X-Ser* ou *Asn-X-Thr*.

Après le transfert de l'oligosaccharide du lipide (le *dolichol*) vers la protéine, seul le noyau sera épargné, pour de nombreuses protéines, par les modifications (élagage de certains sucres et addition de certains autres) qui auront lieu par la suite. Ces modifications commencent dans le RER et se poursuivent dans l'AG.

La N-glycosylation nécessite également :

- **Un acide gras particulier** synthétisé dans le cytosol, le *dolichol*.

Le dolichol joue un rôle d'intermédiaire dans les N-glycosylations des protéines. Avant son accrochage à la protéine l'oligosaccharide est lié au dolichol par une liaison pyrophosphate, riche en énergie.

- Des sucres couplés à des nucléotides : *UDP-acétylglucosamine*, *GDP-mannose*, *UDP-glucose*...

- Des enzymes intégrées à la membrane du RE

La N-glycosylation peut être visualisée par autoradiographie après incubation du tissu en présence d'un sucre marqué (par ex. le glucose ^{14}C).

2. Déroulement

De façon séquentielle, faisant intervenir une enzyme particulière à chacune des étapes :

- 1^{ère} étape, sur la face cytosolique, des résidus de sucres sont apportés successivement au *dolichol-phosphate* réalisant une arborisation de 7 résidus.
- 2^{ème} étape consiste en un basculement (probablement par l'intermédiaire d'une *flippase*) du dolichol de telle sorte que la chaîne oligosaccharidique se retrouve du côté luminal.
- 3^{ème} étape apporte de nouveaux résidus de sucres apportés par des nucléotides à d'autres molécules de dolichol qui les font passer ensuite dans la lumière du RER. Ainsi l'oligosaccharide passe à 14 résidus.
- 4^{ème} étape, l'oligosaccharide de 14 résidus est accroché en bloc sur le -NH d'une *asparagine* du polypeptide en cours d'elongation.
Précisons que l'asparagine doit obligatoirement faire partie de la séquence *Asn-X-Ser* ou *Asn-X-Thr*.
Ce transfert du dolichol au polypeptide se fait grâce à une *glycosyltransférase*. La glycosylation est *co-traductionnelle*
- 5^{ème} étape : L'arborisation est immédiatement élaguée de par l'intervention de *glucosidases* et ne comporte plus que 10 résidus.

Remarque : des *C-glycosylations* ont lieu dans le RER. Des résidus mannose sont fournis par la dolichol et transférés à un carbone du premier *tryptophane* de la séquence *Trp-X-X-Trp*.

3. Rôles de la glycosylation

- Elle modifie la charge et la solubilité de la protéine.
- L'oligosaccharide intervient dans le repliement de la protéine et donc dans sa stabilité.
- Certains oligosaccharides constituent des signaux de ciblage de protéines (exemple du mannose-6-P) et de reconnaissance de protéines de surface d'autres cellules (exemple des sélectines).

IV. Glycoprotéines liées au GPI

Des glycoprotéines périphériques sont ancrées sur la face extérieure de la MP par un *glycosylphosphatidylinositol* (GPI).

- Leur fraction protéique est synthétisée par les ribosomes libres.

- La protéine est ensuite adressée au RE qu'elle traverse par son extrémité NH₂ alors que l'extrémité COOH reste insérée dans la couche bi-lipidique où elle sera clivée (elle correspond probablement à un signal d'adressage).

- Le groupement GPI est construit sur la face cytosolique du RE à partir de précurseurs cytosoliques avec intervention du dolichol. Il subit ensuite un flip-flop qui le bascule dans la lumière du RE où il est transféré sur la protéine

V. Repliement des protéines dans la lumière du RER

L'ATP et le Ca⁺⁺ sont nécessaires.

1. L'établissement de ponts disulfures est sous l'action d'une enzyme, la *DPI* (disulfide protein isomerase).

2. La protéine chaperonne *BiP* permet à la protéine nouvellement formée d'acquérir sa forme définitive.

3. Les protéines porteuses d'oligosaccharides mal formés ne peuvent pas se replier correctement. Des protéines, telle que la *calnexine* (chaperonne transmembranaire du RE) se lient à la protéine qui sera entièrement déglycosylée puis reglycosylée pour être correctement repliée.

VI. Synthèse des lipides membranaires

Ils sont synthétisés en plusieurs étapes sur la face cytosolique à partir de précurseurs cytosoliques sous l'action d'enzymes membranaires dont les sites actifs sont situés du côté cytosolique.

Exemple de la synthèse de la *phosphatidylcholine*. (Voir schémas)

Les lipides néosynthétisés destinés à l'hémicouche interne de la membrane du RE subissent basculement sous l'action de *flippases* spécifiques.

Le réticulum endoplasmique lisse REL

Le REL au même titre que le RER avec lequel il est en continuité, est présent dans toutes les cellules eucaryotes. Il est cependant particulièrement développé dans les cellules dont le métabolisme du glycogène est important (hépatocyte) ainsi que celui des lipides (hépatocyte, cellules stéroïdogènes).

I. Morphologie au MET

Membranes trilamellaires de 50 à 60 nm entourant des cavités à contenu clair, couramment sous forme de canalicules.

Les vésicules observées correspondent souvent à des sections de canalicules.

II. Composition chimique

Lipides: 30%. Phospholipides +++; cholestérol +

Protéines: 70%. Enzymes et transporteurs, parmi lesquels:

- Cytochrome P450 : protéine intégrée dont le site actif est sur la face cytosolique, intervient dans la détoxicification de substrats. Il est associé à la P450 réductase qui est un cofacteur
- Enzymes impliquées dans la synthèse des stéroïdes (dans des cellules spécialisées).
- Glucose-6-phosphatase, localisée dans la lumière du REL
- Pompe à calcium ou Ca^{++} -ATPase

III. Fonctions

1. Détoxicification

C'est l'élimination de substances toxiques par l'organisme. Elle a lieu dans le foie, les reins, l'intestin, les poumons et la peau.

Ces substances peuvent être d'origine exogène (de nombreux médicaments) ou endogène (certains métabolites). Ce sont des molécules liposolubles et peu hydrosolubles, et de ce fait elles ont tendance à s'accumuler dans l'organisme.

Ces substances subissent une hydroxylation suivie d'une glycuroconjugaision dans la lumière du REL pour les unes, et par une sulfoconjugaision sur la face cytosolique pour d'autres, ce qui les rend soluble et facilite leur élimination.

Certains médicaments, l'éthanol, la bilirubine (produit toxique du catabolisme de l'hémoglobine) sont des substances liposolubles. Elles deviennent hydrosolubles par *hydroxylation* sous l'action du *cytochrome P450*. Leur hydrosolubilité est augmentée par leur couplage soit avec l'acide glycuronique, soit avec le sulfate (pour la bilirubine).

Hydroxylation et conjugaison permettent l'élimination de substances toxiques. L'hépatocyte est l'une des principales cellules impliquées dans la détoxicification.

2. Métabolisme du glucose

La *glucose-6-phosphatase* est la seule enzyme du métabolisme du glucose localisée dans la lumière du REL. Toutes les autres sont cytosoliques ou à site actif cytosolique. Une anomalie génétique de la glucose-6-phosphatase ou de l'un des transporteurs du glucose est responsable *d'une glycogénose de type I* (surcharge en glycogène).

3. Stockage du calcium

Toutes les cellules contiennent des compartiments de REL spécialisés dans le stockage et la libération du calcium. Trois types de molécules y interviennent :

- Pompe à calcium: Ca^{++} -ATPase
- Des protéines de la lumière du RE qui fixent le calcium (*BiP, calnexine...*)
- *Canal de libération* du calcium.

4. Synthèse des hormones stéroïdes par des cellules spécialisées

En coopération avec les mitochondries (voir schémas)

L'appareil de Golgi AG

Faisant partie du système endomembranaire, cet organite a été découvert par **Camillo Golgi** en 1898 (Prix Nobel de médecine en 1906) en utilisant une technique d'imprégnation chromo-argentique. Il le dénomma *appareil réticulaire interne*. On a longtemps discuté, (voire contesté), s'il s'agit bien d'un réseau. Mais le perfectionnement des méthodes de préparation (cryodécapage...) et de microscopie (MET à haut voltage...) ont confirmé la structure en réseau de l'AG. Un de ces élèves, usant d'autres techniques, constata que cet appareil peut être parfois constitué de plusieurs éléments en forme de croissant auxquelles il donna le nom de *dictyosomes* (du grec, *dictyon*, filet, et *soma*, corps).

A. Morphologie

I. MO

Ex. *Cellule acineuse* du pancréas exocrine

1. Coloration de routine (hématoxyline-éosine) : le cytoplasme prend une teinte rosée, à l'exception d'une région supranucléaire qui reste claire.

2. Imprégnation à l'osmium, à un sel d'argent ou de chrome, révèle, dans cette région précédemment incolore, la présence de plaques superposées en forme d'écailles.

3. Variations :

L'AG est le plus souvent supranucléaire; il peut être parfois infranucléaire; il est périnucléaire dans la majorité des cellules nerveuses.

II. MET

L'AG est une structure polarisée

1. Coupe mince

Un AG comprend un ou plusieurs dictyosomes, de forme généralement circulaire de 0,5 à 1 μ m de diamètre, et dont chacun est composé de :

- **Saccules aplatis** (3 à 6), disposés en pile d'assiette. Chacun présente une face convexe et une face concave et sa périphérie est souvent dilatée.

Aussi l'ensemble des saccules présente une face convexe, dite face de formation ou face *cis*, et une face concave dénommée face de maturation ou face *trans*.

Chaque saccule est délimité par une membrane trilamellaire dont l'épaisseur va en augmentant de la face *cis* à la face *trans*, de 6 nm à 7, 5 nm.

- **Vésicules** de 50 nm environ.
 - Vésicules de transition, situées sur la face *cis*,
 - Vésicules disposées latéralement. Certaines sont des vésicules de transfert; d'autres représentent des sections de canalicules (qui relient les dictyosomes entre eux).
 - Vésicules situées au niveau de la face *trans*.
- La plupart de ces vésicules sont de type recouvert.

- **Vacuoles** sur la face *trans*. Se forment probablement par fusion de vésicules.

2. Coupe épaisse et observation au MET à haut voltage

Le résultat confirme la prédiction de Golgi sur l'organisation en **réseau** de l'appareil qui porte son nom.

Ces différentes techniques ajoutées aux méthodes cytochimiques et cytoenzymologiques ont permis de subdiviser le dictyosome en quatre régions fonctionnellement différentes :

- *Golgi-cis*
- *Golgi-médian*
- *Golgi-trans*
- *TGN* (trans Golgi network) ou *RTG* (réseau trans golgien)

3. Cytochimie et cytoenzymologie sur coupes minces

III. Rapport avec les microtubules

L'AG occupe une région paranucléaire, entre le RER et la MP et sa face *trans* est en rapport avec le centrosome. La désorganisation des MT par le taxol provoque la fragmentation de l'AG en de nombreuses petites vésicules, alors que le RE vient occuper le centre cellulaire. Par conséquent, les MT jouent un rôle stabilisateur.

B. Composition chimique

1. Composition générale

• Des membranes

- **Golgi cis**

P/L = 2

Peu de cholestérol.

Glycolipides rares.

- **Golgi trans**

P/L = 1

La quantité de cholestérol, de glycolipides, la nature des protéines rappellent celles de la MP; certaines de ces molécules sont en transit.

- **Du contenu des cavités :**

Protéines dont certaines sont en transit. (Pour la nature précise des protéines de l'AG, se référer à la cytoenzymologie d'une part, et aux fonctions d'autre part).

2. Enzymes propres à l'AG

- *Phosphotransférase*.

- *Mannosidase*.

- *N-acétyl glucosamine transférase*.

- *Galactosyl transférase* et *sialyl transférase* qui sont des enzymes de la terminaison des glycosylations.

Parmi les protéines, la *kinésine*, associée aux MT.

C. Fonctions

I. Modifications des oligosaccharides N-liés

Les premières étapes des N- glycosylations ainsi que les premières modifications ont lieu dans le RER. Elles se poursuivent dans l'AG où certains sucres sont élagués alors que d'autres sont ajoutés. Il faut cependant préciser que le cœur de l'oligosaccharide est le plus souvent épargné. On parle *de maturation* des protéines

II. O - glycosylation de protéines

Peut être étudiée par autoradiographie sur la cellule *caliciforme* par exemple. Celle-ci sécrète du mucus qui contient des *protéoglycans*.

Les protéoglycans sont formés d'un *core* (cœur) protéique et des *glycosaminoglycans* ou *GAG*. Un GAG est un long polymère non ramifié d'unités répétitives d'un *disaccharide*. Le polysaccharide est branché sur le **O** d'une *sérine* ou d'une *thréonine*.

- Le précurseur cytosolique nucléotide-sucre (ex. UDP-Gal) est transloqué dans la lumière de Golgi par un transporteur.
- Le GAG est ensuite lié au O du résidu sérine ou thréonine par l'intermédiaire d'un tétrasaccharide. La réaction est catalysée par une *O-glycosyltransférase* localisée dans les saccules *médians* et *trans*.

III. Sulfatation de GAG et de protéines

Le sulfate SO_4^{2-} est apporté du cytosol par le *PAPS* (phospho-adénosine-phospho-sulfate). Il traverse la membrane du Golgi *trans* à l'aide d'un transporteur.

IV. Phosphorylation du mannose

Au niveau du Golgi *cis*, un ou plusieurs mannooses des glycoprotéines (enzymes) destinées aux lysosomes sont phosphorylés sur le carbone 6.

Le **M-6-P** représente un *signal de tri* vers le lysosome

V. Désacylation et réacylation de lipides membranaires

Par des enzymes golgiennes afin de remplacer des acides gras courts et insaturés par des acides gras plus longs et plus saturés, expliquant le fait que les membranes du Golgi *trans* (ainsi que la MP) soient plus épaisses que celles du Golgi *cis*

VI. Ségrégation et adressage des protéines

Les protéines synthétisées par les ribosomes de RER vont être soit retenues dans le RER, soit véhiculées vers l'AG (voir autoradiographie des cellules acineuses) où elles font l'objet de modifications. De là, elles peuvent avoir plusieurs destinées : endosomes, lysosomes, MP, excrétion (exportation). Cela nécessite la présence de *signaux de rétention* et de *signaux de tri*.

1. Signaux de rétention

Les protéines qui doivent être dirigées vers l'AG et au delà doivent être bien figurées et bien repliées (sinon elles sont retenues dans le RER afin d'être corrigées ou détruites) ; de plus, elles ne doivent pas porter les signaux de rétention **KDEL** (Lysine- acide aspartique- acide glutamique- leucine) et **KKXX** (lysine-lysine-X-X [X étant n'importe quel acide aminé]).

KDEL est une séquence de l'extrémité Terminale des protéines solubles du RER. Elle n'empêche pas la protéine d'être transportée dans le Golgi *cis* où elle est reconnue par un récepteur. Liée à son récepteur, la protéine sera retournée, par *flux en retour*, au RE.

KKXX est une séquence portée par le domaine cytosolique de certaines protéines transmembranaires du RER et dont l'extrémité N-terminale est lumineuse.

2. Signaux d'adressage aux lysosomes

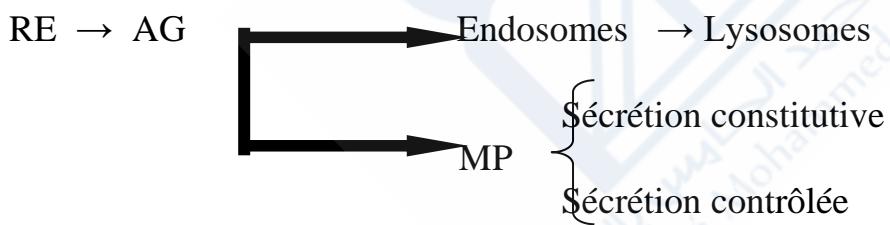
Les hydrolases lysosomales sont transportées du RE vers le saccule cis de l'AG à partir duquel elles progressent, tout en subissant une maturation (notamment par phosphorylation de mannoses) vers le Golgi *trans*. Dans le TGN, les hydrolases sont reconnues par des récepteurs et se dirigent vers les lysosomes.

VII. L'AG est traversé par les flux membranaires

Les transports se font par l'intermédiaire de vésicules recouvertes (VR)

1. Flux vectoriel centrifuge ou antérograde

- Renouvellement des membranes (lipides et protéines) de : RE, AG, endosomes, lysosomes, MP
- Transport de protéines solubles et certaines protéines sécrétées.



2. Flux rétrogrades

RE (VR de coatomères: cop I) ← Golgi cis ← Golgi trans
Golgi trans ou TGN ← Endosomes ou lysosomes

La bréfeldine A, drogue produite par un champignon, bloque plusieurs flux membranaires, par exemple :

Le flux vectoriel centrifuge en empêchant le bourgeonnement des VR de coatomères et de clathrine à partir du Golgi trans / TGN.

Remarque : La bréfeldine A est sans action sur quelques flux rétrogrades par exemple : Golgi *médian* et *cis* → RE



Les endosomes

Compartiment endomembranaire hétérogène fait de cavités tubulo-vésiculaires alimenté par des vésicules provenant du Golgi *trans* / TGN. Il est lui-même à l'origine de vésicules destinées aux lysosomes d'une part, à la MP d'autre part. De cette dernière il reçoit des vésicules nées par endocytose

Sur le plan morpho-fonctionnel, on distingue les *endosomes précoce*s et les *endosomes tardifs*

1. Les endosomes précoce ont une distribution périphérique

- Reçoivent les vésicules d'endocytose. Après fusion, le contenu de la vésicule est versé dans l'endosome dont le pH = 6,5 environ, suffisant pour dissocier le ligand de son récepteur (dans le cas d'endocytose par l'intermédiaire de récepteur).
- Les récepteurs peuvent éventuellement être recyclés en direction de la MP par des vésicules en retour.

2. Les endosomes tardifs sont distribués près du noyau

Le contenu des endosomes précoce est transporté vers les endosomes tardifs par des vésicules *ECV* (endosomal carrier vesicle) ou par *MTV* (multivesicular body ou corps multivésiculaire).

Son pH= 5,5 environ est compris entre celui de l'endosome précoce et celui du lysosome qui est de 5,0.

L'endosome tardif reçoit du Golgi des hydrolases et des H⁺-ATPases et peut éventuellement évoluer vers le lysosome.

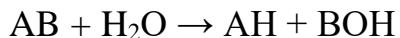
Les endosomes ont pour fonction la dégradation partielle des protéines et des lipides qui pourra éventuellement se poursuivre dans le lysosome.

Suite de l'importation des particules de LDL :

- La **VR**, après avoir perdu sa couverture, est transportée vers un *endosome précoce* avec lequel elle fusionne. L'endosome précoce dont le pH = 6,5 environ est suffisant pour dissocier le ligand de son récepteur. Ce dernier pourra retourner à la MP où il servira à un nouveau transport.
- L'**endosome précoce** va devenir un **endosome tardif** en recevant des hydrolases lysosomales et sera le lieu de dégradation des particules LDL avec libération de cholestérol dans la lumière de l'*endolysosome* (pH 5, 0). Le cholestérol sera ensuite incorporé aux membranes.

Les lysosomes

Organites cytoplasmiques qui contiennent des *hydrolases acides* enzymes actives à un pH = 5,0 environ, qui catalysent la réaction :



Ce sont les principaux sites de digestion intracellulaire.

Leur découverte, contrairement à la majorité des autres organites, est d'ordre biochimique. On la doit à De Duve (1951), Prix Nobel de Médecine.

A. Morphologie

I. MO

Puissent s'observer exceptionnellement dans certains types cellulaires comme les globules blancs (granulations azurophiles, granulations éosinophiles).

II. MET

Formations arrondies ou ovalaires, parfois à limite irrégulière, de 0,1 à 1 μ m de diamètre, entourées d'une membrane de 7,5 nm, denses et homogènes ou hétérogènes, selon l'état fonctionnel et le type cellulaire.

Bien souvent, le critère morphologique est insuffisant pour identifier un lysosome. On a alors recours à la cytochimie...

Par exemple la mise en évidence d'une activité *phosphatasique acide* permet d'affirmer le caractère lysosomal d'un organite. Pour cela on procède de la façon suivante :

Des fragments du tissu à étudier sont fixés et incubés dans une solution tampon à pH 5,0 contenant du β - *glycérophosphate* (substrat de la phosphatase acide) et du *nitrate de plomb*.

Le β - glycérophosphate, en présence de **la phosphatase acide** (localisée dans l'organite) donne du **glycérol** + de **l'acide phosphorique**

Or aussi bien le glycérol que l'acide phosphorique ne sont visibles; d'où l'addition de **nitrate de plomb** qui, en présence de l'acide phosphorique donne un précipité dense, le **phosphate de plomb** qui est électrodense.

B. Constitution chimique

L'analyse de fractions lysosomes obtenues par ultracentrifugation différentielle donne les résultats suivants

I. La membrane lysosomale

Lipides / Protéines ~ 1

1. Lipides

- Phospholipides principalement.
- Plus de cholestérol et de sphingolipides par rapport aux RE et AG.

2. Protéines

- **Une trentaine de glycoprotéines** dont les sucres forment une couche périphérique interne, véritable protection contre le pH acide et les hydrolases.
La *tunamycine*, ajouté dans le milieu de culture, bloque la glycosylation, ce qui entraîne une diminution importante de la demi-vie des lysosomes.
- **Lamp I et Lamp II**, protéines spécifiques du lysosome dont elles constituent des marqueurs.
- **Des glycoprotéines enzymatiques transmembranaires.** C'est le cas de la *phosphatase acide*
- **H⁺- ATPase.**
- **Transporteurs** de substrats cytosoliques à digérer. Ils appartiennent à la *superfamille ABC* (ATP binding cassette).
- **Transporteurs** vers le cytosol de produits de digestion: acides aminés, cholestérol, monosaccharides ...

II. La matrice lysosomale

De façon globale le lysosome peut contenir un grand nombre de glycoprotéines enzymatiques, les hydrolases dont on connaît une quarantaine : *protéases, glycosidases, lipases, phospholipases, sulfatases, nucléases*

C. Les différents lysosomes et leur mode de formation

Les différents composants du lysosome sont apportés par des vésicules qui bourgeonnent au niveau du TGN, les *vésicules prélysosomales*, recouvertes de *clathrine*. Celles-ci vont ensuite fusionner avec des vésicules ou des vacuoles de diverses origines.

1. Endocytose → endolysosome

2. Phagocytose → phagolysosome

3. Autophagie → autophagosome ou autolysosome : Il s'agit pour la cellule de se débarrasser d'éléments usés, abîmés ou inutiles (en cas de baisse d'activité). Ces éléments sont alors isolés du reste du cytosol par un compartiment membranaire provenant du REL aboutissant ainsi à la formation d'une vacuole autophagique.

4. L'entrée directe de protéines

Certaines protéines *ubiquitinylées*, partiellement dégradées dans le cytosol par les *protéasomes* pénètrent dans le lysosome.

Un jeûne prolongé par exemple peut provoquer cette voie de dégradation.

D. Fonctions des lysosomes

Comme on l'a vu précédemment, les modes de formation des lysosomes sont divers, et par conséquent les substrats peuvent avoir des origines variées. Ceci nous permettra de distinguer différentes fonctions. Précisons également que dans la majorité des cas, la digestion des substrats est intracellulaire, ce qui veut dire que le contenu des lysosomes ne subit pas d'exocytose.

I. Autophagie

(Voir ci-dessus).

II. Hétérophagie

C'est la digestion de substances importées par la cellule par la voie d'endocytose / phagocytose.

1. L'endocytose, phénomène permanent, représente la voie principale d'importation des éléments (cholestérol, ferritine pour les précurseurs des globules rouges,...).

2. La phagocytose

Dans les conditions physiologiques, elle est l'apanage de cellules “professionnelles”, les *macrophages*, les *polynucléaires neutrophiles* et, dans une moindre mesure, les *polynucléaires éosinophiles*. Ce sont des cellules spécialisées dans la défense de l'organisme (lutte contre les bactéries, les parasites...).

3. Destruction de protéines réabsorbées par certaines cellules à partir du plasma (hépatocyte, cellules des tubes rénaux).

III. Devenir des produits de dégradation

La dégradation des substrats par le lysosome aboutit d'une part à la libération dans le cytosol de molécules simples (via des transporteurs spécifiques), et d'autres part à l'accumulation, dans le lysosome de produits non dégradés ou non dégradables, de “déchets”.

Ces résidus constituent les *corps résiduels* dont le contenu est variable. Ils peuvent contenir de la *ferritine*, des *figures myéliniques*, de la *lipofuscine* ou encore un corps étranger.

1. Les figures myéliniques

Résultent de la dégradation des **phospholipoprotéines** des membranes des différents organites et compartiments. Leur degré de digestion est fonction de la quantité d'enzymes contenues dans le lysosome. Si les protéases sont habituellement en quantité suffisantes, ce n'est pas le cas des lipases, ce qui fait qu'une partie de ces lipides n'est pas digérée. Or, les lipides membranaires ont tendance à former des couches moléculaires parallèles entre elles ou concentriques, d'où cet aspect qui rappelle celui de la **gaine de myéline** des fibres nerveuses.

Ce sont des résidus des **autolysosomes**.

2. Les lipofuscines

Pigments bruns résultant de la non dégradation de lipides en particulier. Ils sont souvent expulsés, mais parfois ils s'accumulent dans le cytoplasme des cellules sénescentes (certains neurones par exemple) ou altérées.

IV. Sécrétion des enzymes dans le milieu extracellulaire

1. Le spermatozoïde

Dans l'*acrosome*, qui provient de la fusion de plusieurs granules pré-acrosomiaux, il y a de nombreuses hydrolases, en particulier: *hyaluronidase*, *sialidase* et *phosphatase acide*.

Rappelons que l'ovocyte est entouré par la *zone pellucide*, particulièrement riche en *acide hyaluronique*. Cette structure ne peut être franchie par les spermatozoïdes que si elle devient plus fluide et que certains de ses constituants sont détruits.

Cela a lieu dans les instants qui précèdent la fécondation, par rupture des acrosomes d'un grand nombre de spermatozoïdes, libérant ainsi leurs hydrolases au niveau de la zone pellucide.

2. La résorption osseuse

Le renouvellement osseux nécessite la destruction ou la résorption de l'os ancien afin d'être remplacé par de l'os nouveau. L'*ostéoclaste*, cellule de la famille du macrophage est la cellule spécialisée dans cette résorption. Pour ce faire, le contenu de ses lysosomes est déversé dans le milieu extracellulaire (Pour les détails, voir le cours d'Histologie).

En résumé, le lysosome par ses actions intervient dans :

- La nutrition cellulaire.
- Le renouvellement de molécules membranaires cytosoliques aussi bien que des organites.
- Les phénomènes de défense.
- La sécrétion d'enzymes (spermatozoïde, ostéoclaste).

D. Lysosomes et pathologie

Atteintes de la membrane

La membrane est rompue par le contenu du phagolysosome

■ Particules de silice, d'étain, de zinc

Ce sont principalement des maladies des mineurs et des tailleurs de pierre qui inhalent des poussières de charbon, de silice...Les particules inhalées sont phagocytées par les macrophages alvéolaires (phagosome → phagolysosome). Comme ces particules ne peuvent être dégradées, elles s'accumulent et finissent par rompre la membrane des

lysosomes qui déversent leurs enzymes dans le cytosol, causant la mort des macrophages. D'autres macrophages phagocytent de nouveau les particules libérées et ainsi de suite.

Le processus ainsi entretenu aboutit à la destruction progressive des alvéoles pulmonaires et leur remplacement par du tissu fibreux, cause d'une insuffisance pulmonaire.

■ **Les streptococcies** sont des maladies infectieuses.

Ces bactéries provoquent une lyse de la membrane des lysosomes.

II. Atteinte du contenu : les maladies de surcharge

Souvent génétiques, parfois acquises

Génétiques

Dues à une ou plusieurs hydrolases absentes ou défectueuses, causées par des mutations des gènes responsables.

De ce fait, les molécules non hydrolysées s'accumulent dans les lysosomes. Ces derniers se chargent (d'où *maladies de surcharge* ou *thésaurismoses*) de plus en plus de substrats non dégradés et finissent par s'hypertrophier entraînant ainsi des perturbation graves du fonctionnement cellulaire. Les manifestations cliniques sont fonction de ou des enzymes atteintes.

On a identifié une vingtaine de maladies. Pour quelques exemples, **Voir tableau**.

Cas de la mucolipidose de type II

Affection rare caractérisée par l'absence **de presque la totalité des hydrolases lysosomales** des fibroblastes, alors qu'elles sont **présentes dans le sang**. L'accumulation des substrats a de graves conséquences pathologiques.

L'anomalie est due à **l'absence de phosphorylation du mannose (M-6-P)**. Du moment que les hydrolases ne sont pas reconnues par les récepteurs *M6P-Rs* au niveau du TGN, sont dirigées par défaut vers **les vésicules de sécrétion**.

Le peroxysome

Organite cytoplasmique présent dans toutes les cellules eucaryotes, de la levure à l'homme. Il intervient dans **le métabolisme des lipides**, dans **l'hydroxylation** de molécules, dans la respiration cellulaire, la production et la dégradation du **peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)**, d'où leur nom.

A. Morphologie

Au M.ET, les peroxysomes ont des formes et des tailles variables, allant de 0,15 à 0,5µm. Des coupes séries montrent que ces organites sont constitués de particules entourées d'une membrane, reliées par des canalicules. Leur contenu est généralement finement granuleux avec parfois la présence d'une structure **paracristalline**. Le nombre de peroxysome est variable selon le type cellulaire (un hépatocyte contient ~ 1000).

B. Composition chimique

I. La membrane

- Phospholipides...
- Protéines, parmi lesquelles
 - Cytochrome P 450 dont le site catalytique est sur la face cytosolique
 - Transporteur ABC

II. La matrice

Elle contient de nombreuses enzymes

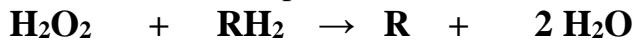
1. Des oxydases

Elles utilisent l'oxygène O₂ pour produire du H₂O₂ (eau oxygénée). Ainsi on peut citer

- **Les enzymes de β-oxydation des acides gras à chaîne longue ($\geq 22C$)** avec production d'H₂O₂ et d'acides gras à chaîne courte ($\leq 12C$) et d'acétyl-CoA qui seront transférés à la mitochondrie.
- **Les enzymes d'oxydation de certains acides aminés.**

2. La catalase

Enzyme présente en grande quantité, utilise le H₂O₂ pour oxyder (peroxydation) de nombreux substrats comme l'acide formique ou des alcools :



D'autre part, le peroxysome intervient dans **des réactions de détoxification** grâce à la présence d'un *cytochrome P450* spécifique dont le site actif est cytosolique.

C. Les principales fonctions

(Voir schéma)

D. Multiplication des peroxyssomes

A côté de leur renouvellement à partir des molécules synthétisées dans le cytosol, l'accroissement de leur nombre se fait de deux manières

1. Par bourgeonnement du RE

2. **Par division de peroxyssomes préexistants.** Cette dernière est démontrée par l'utilisation de protéines marquées.

E. Peroxyosome et pathologie

Chez l'homme 17 **maladies génétiques récessives** en rapport avec le peroxyosome ont été répertoriées, dont 15 se traduisent par une atteinte du SNC
Moins d'un nouveau-né / 50.000 est atteint.

On distingue 3 groupes :

- **Maladies du groupe A et du groupe B** : absence de nombreuses enzymes.
Ce sont des maladies infantiles habituellement mortelles au cours de la première décennie.
- **Maladies du groupe C**, dues à l'absence d'une seule enzyme. Une de ces maladies est présente chez l'adulte.

Le compartiment cytosolique

Le cytosol est une solution aqueuse (80 à 85 % d'eau), d'aspect clair et homogène, raison pour laquelle est appelée parfois **hyaloplasme** (plasma transparent comme le verre, du grec *hyalos*, verre). Il représente environ la moitié du cytoplasme.

Le cytosol correspond au surnageant après sémination. Cette solution contient une très grande variété de molécules solubles ainsi que des **particules en suspension**.

Le cytosol se présente sous un état de gel ou un état de sol de façon réversible, qui dépend des liaisons +/- fortes entre les macromolécules fibreuses ou globulaires qu'il contient.

A côté des éléments du **cytosquelette**, des **ribosomes** et leurs sous-unités, le cytosol contient des **inclusions** et particules visibles au MO et /au MET.

Le cytosol représente un **carrefour métabolique**. En effet, à côté de la synthèse protéique, en totalité ou en partie, il existe de nombreuses voies de synthèse ou de dégradation de molécules avec une production d'énergie sous forme d'ATP.

Les principales fonctions du cytosol

I. Synthèses protéiques

Comme on la déjà vu, le début des synthèses est toujours cytosolique. La suite dépend de la destinée de la protéine. Pour les protéines non destinées au RE, elles subissent des modifications au sein même du cytosol, pendant et après la traduction.

Par exemple : **Phosphorylation- déphosphorylation, O-glycosylations...**

II. Stockage des précurseurs des molécules énergétiques

1. Le glycogène

Existe sous forme de *particules bêta* et de particules *alpha* (résultant de l'agglomération des précédentes), très denses au MET.

2. Les lipides

Sous forme de *gouttelettes* entourées d'une monocouche moléculaire lipidique, dont la taille et le nombre sont variables selon le type cellulaire et le degré d'activité de la cellule. Elles ont un aspect moyennement dense et homogène au **MET**. Ce sont principalement des triglycérides.

Ces gouttelettes sont souvent étroitement associées aux RE et aux mitochondries qui prélèvent les acides gras qu'elles oxydent dans la matrice.

III. Métabolisme du glucose, glycolyse anaérobie et production d'énergie

Voir schémas et cours de biochimie

IV. La protéolyse cytosolique

La cellule et son environnement sont soumis à des remaniements continuels. Cela impose à la cellule, pour à la fois survivre et assurer ses fonctions correctement , de procéder aussi bien à la synthèse de nouvelles protéines qu'à la dégradation des plus anciennes. La dégradation peut être d'ailleurs totale ou partielle.

La dégradation des protéines fait intervenir des **protéases** qui sont actives à **pH acide** (endosomes, lysosomes) ou **neutre**, et dans ce dernier cas il s'agit de **protéolyse cytosolique**.

Les protéases cytosoliques sont organisées en complexes, les *protéasomes*.

Le protéasome

Dans le cytosol, des protéases fonctionnant à **pH neutre** sont organisées en complexe, les protéasomes. Ils sont décelables en MET, et non limités par une membrane. On peut les mettre en évidence en n'importe quel point du cytosol où ils assurent la dégradation de la grande majorité des protéines dont le cytosol doit s'en débarrasser.

Il existe entre 20 000 et 30 000 protéasomes dans une cellule humaine moyenne.

Le protéasome 26S est formé d'une **partie catalytique 20S** et de deux **extrémités régulatrices 19S**.

Le protéasome 20S est un **cylindre creux** de 15 nm / 11,5 nm environ formé par 4 anneaux délimitant 3 chambres; la chambre centrale est la plus grande et représente le site d'hydrolyse du substrat. Le couvercle est responsable de la reconnaissance des chaînes d'ubiquitines. La base possède entre autre une activité *chaperonne*.

Il semble que l'hydrolyse de l'ATP soit nécessaire à l'injection des substrats dans la chambre catalytique.

L'hydrolyse du substrat se fait à pH neutre.

Les protéases du protéasome appartiennent à la *superfamille dite AAA* (ATPases Associated with different cellular Activities). Elles sont également présentes dans la mitochondrie

Manière dont les protéasomes reconnaissent leur cible :

Les protéines destinées à la correction ou à la destruction doivent “exposer” *des signaux distinctifs* :

- **Protéines dénaturées** : une séquence d'acides aminés oxydés ou anormaux.
- **Protéines mal repliées** : séquence d'acides aminées normalement non accessible (non exposée) quand la protéine à une conformation normale.

Ces signaux sont reconnus par une petite molécule chaperonne, l'*ubiquitine*.

L'ubiquitine se lie de façon covalente à un **résidu lysine** de la protéine cible. Cela est suivi, par effet coopératif, de l'addition de plusieurs ubiquitines.

C'est finalement **la chaîne constituée par les molécules d'ubiquitines qui constitue le signal reconnu par le protéasome**.

Une fois prise en charge par le protéasome,

- la protéine mal repliée peut être corrigée et restituée au cytosol.
- la dite protéine sera détruite si la correction s'avère impossible.
- la protéine dénaturée sera dégradée.

Le noyau

Découvert par R. Brown en 1831 dans des cellules végétales, puis retrouvé par la suite dans des cellules animales. C'est un compartiment caractéristique des cellules eucaryotes chez lesquelles il renferme l'essentiel de l'ADN.

A. Caractères généraux

I. Morphologie au MO

1. Forme

Sur coupes, le noyau est fréquemment arrondi ou ovoïde (cellule arrondie, cubique ou prismatique); il peut être elliptique (cellule musculaire lisse) ou irrégulier (certains globules blancs).

2. Taille

Elle est généralement proportionnelle à la taille cellulaire. Sur coupe, le noyau occupe un peu moins du $\frac{1}{4}$ de la surface cellulaire ($\sim 5\mu\text{m}$) par contre il est plus volumineux dans les cellules jeunes ou indifférenciées. En fait, le diamètre, se situe entre 3 et 25 μm (cas de l'ovocyte) en fonction du type cellulaire.

3. Situation

Il est souvent situé dans le centre géométrique de la cellule. Il y a cependant de nombreuses exceptions. Ainsi il est en position basale dans les cellules sécrétrices exocrines polarisées ou refoulé à la périphérie dans l'adipocyte.

4. Nombre

La plupart des cellules sont **uninucléées**. Mais là aussi il existe des exceptions. Certains hépatocytes sont binucléés; les ostéoclastes, les cellules musculaires striées sont **multinucléées**. Lorsque le nombre de noyaux est trop élevé on parle de **syncytium**. Par contre, le globule rouge humain est dépourvu de noyau.

5. Colorabilité

- Avec une coloration de routine à l'*hématoxylène – éosine*, le noyau se colore en bleu violacé par l'hématoxylène; de plus il apparaît entouré d'une enveloppe qui sépare le nucléoplasme du cytoplasme.

Le noyau a un aspect hétérogène. Il contient des amas fortement colorables, les **mottes chromatiniennes**, séparées les une des autres par des régions plus pâles, les **espaces interchromatiniens**.

En outre, le noyau contient une (parfois deux) formation grossièrement arrondie biréfringente, le **nucléole**.

Le nucléole est particulièrement volumineux dans les cellules à croissance rapide ainsi que dans celles qui synthétisent de grandes quantités de protéines (cellules nerveuses, cellules acineuses du pancréas...).

• **Coloration spéciale au bleu de toluidine (BT) et utilisation de nucléases**

Le bleu de toluidine a une affinité particulière pour les acides nucléiques ADN et ARN (voir basophilie et ribosomes). Il colore les mêmes structures décrites précédemment.

Si les coupes sont soumises préalablement à l'action de la *RNase*. Seule les mottes nucléaires sont parfaitement colorée au BT alors que l'enveloppe nucléaire et la plus grande partie du nucléole restent pâles. L'inverse est obtenu en cas de l'utilisation de la *DNase*.

Par conséquent, les mottes chromatiniennes contiennent principalement de l'ADN alors que l'ARN est localisé pour l'essentiel dans le nucléole ainsi qu'au niveau de l'enveloppe nucléaire.

II. Composition chimique

Dans un noyau de cellules hépatiques de foie de rat, on trouve les composés principaux exprimés en % du poids sec :

20 % d'ADN

5 % d'ARN

75 % de protéines avec une petite quantité d'ATP, de nucléotides...de Ca⁺⁺, Mg⁺⁺...

B. L'enveloppe nucléaire

I. Structure au ME

1. Les membranes interne (MI) et externe (ME)

- Trilamellaires, de 6 nm d'épaisseur chacune, délimitent la *citerne périnucléaire*, de 2 à 50 nm d'épaisseur. L'enveloppe est percée de *pores nucléaires*.
- La **ME** porte des ribosomes, en continuité avec le RER.
- La **MI** est tapissée par la *lamina nucléaire*, de structure fibrillaire.

2. La lamina nucléaire est une lame d'aspect granulo-fibrillaire sur coupe mince, de 30 à 100 nm d'épaisseur, a en réalité une structure en treillis carré, comme le montrent des images obtenues après cryodécapage. Ces structures fibrillaires sont constituées de FI composés des *lamines A, B, et C*.

3. La citerne périnucléaire est percée de pores, les pores nucléaires

A la périphérie du pore, on observe des granules disposés en un octogone. Parfois on note la présence d'un granule central. Le tout porte le nom de *complexe du pore*.

II. Composition et organisation moléculaire du complexe du pore

Environ la moitié des protéines du pore, les *nucléoporines*, ont été identifiées, parmi lesquelles certaines sont **O-glycosylées**.

1. L'anneau cytoplasmique

Constitué de **8 sous-unités** (32 MDa), sur la face cytosolique desquels s'insèrent des filaments cytoplasmiques (un filament par sous-unité).

Il comprend différentes protéines:

- *Gp 210* : protéine glycosylée. Elle pourrait jouer le rôle de fixation des colonnes sur la membrane du pore.

- *Pom 152 et 121* (pore membrane protein de 152 et 121 kDa)

Remarque : Pom 152 fait probablement partie des *bras radiaires* ou *filaments rayonnés*.

2. L'anneau nucléoplasmique

Constitué de **8 sous-unités** (21 MDa), sur chacune desquelles s'insère un *filament nucléoplasmique* qui se termine au niveau de *l'anneau distal*, de nature inconnue, le tout formant une espèce de cage, le *panier fibreux*.

Anneau cytoplasmique et anneau nucléoplasmique se rejoignent pour former *8 colonnes*.

3. Le complexe rayonné

Lie les anneaux au *transporteur central* de 9 nm, placé entre les deux anneaux, dont la nature et la fonction sont mal connues.

4. Les canaux périphériques, situés entre les filaments rayonnés.

III. Fonctions des pores

1. Transports passifs

Ions, acides aminés, mono- ou disaccharides, **protéines de PM < 44 kDa**.

Ces transports se font dans les deux sens, par les canaux latéraux.

2. Transport actifs

- **Molécules de PM > 44 kDa.** Le temps de passage est de 2 à 3 minutes pour les molécules de 20 kDa à 30 minutes pour celles 40 kDa.

Le transport des protéines, des nucléoprotéines et des ARN à travers le pore dans un sens ou dans l'autre sont des phénomènes très contrôlés. Ils doivent posséder des *NLS* (nuclear localization signal) et des *NES* (Nuclear export signal).

• **Mise en évidence**

- Exemple du transport de la *nucléoplasmine*

Protéine chaperon nucléaire qui s'associe à *H2A* et *H2B* pour aider à la formation du nucléosome dans l'œuf de *xénope*.

C'est un pentamère. Chaque sous-unité est faite de deux domaines, une tête et une queue.

Expériences et résultats (voir schémas).

Le transport de la nucléoplasmine nécessite l'hydrolyse de l'ATP.

- L'*antigène T* du virus SV 40 est une protéine qui s'accumule dans le noyau, indispensable à la réPLICATION du virus.

La forme mutée ne pénètre pas dans le noyau, contrairement à la forme sauvage.

Sauvage: Pro- Pro- Lys- Lys-Lys-Arg-Lys-Val

Mutée: Pro- Pro- Lys- **Thr**-Lys-Arg-Lys-Val

Par la suite, on a trouvé une séquence consensus dans de nombreuses protéines importées dans le noyau.

• **L'importation de protéines à NLS**

Protéines *caryophiles* ou *nucléaires* : enzymes et facteurs de réPLICATION ... des complexes RNP... Elles possèdent un **NLS** (4 à 8 acides aminés, lysine et arginine associées à la proline), chargé positivement et situé à n'importe quel point de la protéine.

Une telle protéine est reconnue dans le cytoplasme par l'*importine α* qui s'associe à l'*importine β* (*Ran*-GDP* : une petite protéine G). La combinaison **protéine-importine-Ran-GDP** ainsi formée traverse le pore à la suite d'interactions avec les **nucléoporines**.

Dans le nucléoplasme, le complexe se dissocie sous l'effet de l'échange du GDP en GTP sous l'action de *GEF* (G Exchange Factor), la protéine est ainsi libérée dans le nucléoplasme.

L'*importine α* et *Ran-GTP* peuvent ensuite quitter le noyau pour le cytosol où a lieu l'hydrolyse du GTP en *Ran-GDP* sous l'action de *GAP* (G Activating Protein). *Ran-GDP* ainsi que l'*importine α* serviront alors à une nouvelle importation.

Il existe par conséquent un véritable *gradient* de *Ran-GDP / Ran-GTP* de part et d'autre de l'enveloppe nucléaire.

Remarque.

Si l'on greffe un NLS à une protéine à localisation normalement cytosolique, celle-ci sera transportée dans le noyau.

• L'exportation des protéines à NES

Cette voie a été décrite à la suite des études sur l'exportation des **ARN viraux encore immatures** vers le cytoplasme.

Or dans les conditions normales **seuls les ARN matures sont autorisés à sortir du noyau.**

Pour déjouer un tel mécanisme, le virus code pour une protéine *Rev* (régulateur de l'expression de protéine virale) qui, en se combinant avec les ARN incomplètement épissés, permet leur exportation.

Rev contient un **NES**, riche en leucines.

• L'exportation des ARN

- **Les ARNt** sont transportés par l'*exportine-t*.

- **L'ARNm :**

Beaucoup d'ARNm ont des *introns* qui doivent être excisés avant l'exportation.

Au cours de la transcription, une *coiffe* (guanosine méthylée) est accrochée à l'extrémité 5' de l'ARN *prémessager*. Cette coiffe est indispensable à l'exportation de l'ARNm.

Une *queue poly A* (plusieurs adénines) est ajoutée à l'extrémité 3' du prémessager à la fin de la transcription (70% des ARNm sont **polyadénylés**).

Des protéines et des ribonucléoprotéines associées à l'ARNm constituent, avec des exportines et Ran-GTP un complexe d'exportation.

C. La matrice nucléaire

Elle est représentée par les structures qui subsistent après avoir soumis le noyau à l'action de la *DNase*, et après extraction des *protéines solubles* par une solution ionique fortement concentrée. Ces structures sont représentées par la *lamina* et les *nucléoles* ainsi que par un *réseau fibreux* occupant l'ensemble du **nucléoplasme**.

I. Les lamines

1. Composition et organisation

Comprennent les *lamines A, B, C* qui appartiennent à la famille des FI. Sont soit libres, soit fixées sur la face nucléaire de la MI et dans ce cas elles entrent dans la constitution de la **lamina nucléaire**.

Les lamines de la lamina sont fixées à la MI par des protéines intégrées.

2. Rôles de la lamina

- Fixation de l'enveloppe nucléaire.
- Contribution au maintien de la forme du noyau.
- Interaction enveloppe-chromatine.
- La lamina contient des protéines qui se lient à la chromatine. Celle-ci correspond aux chromosomes interphasiques qui sont liés à la lamina au niveau de leurs extrémités télomériques.
- Dissolution de l'enveloppe au cours de la division cellulaire à la suite de la **phosphorylation** des lamines.

II. Autres constituants de la matrice

La structure et la composition du “nucléosquelette” sont mal connues.

Néanmoins on sait qu'il existe des lamines en dehors de la lamina; l'on sait aussi que de l'actine et des protéines associées sont présentes dans la matrice.

On a pu isoler la protéine *NuMA* (Nuclear Mitotic Apparatus). Voir schémas

D. La chromatine

Le programme génétique cellulaire est porté par l'ADN nucléaire constitué d'environ **trois milliards** pairs **de base** (pdb), représentant une longueur de **2 x 0, 90 m**, soit **1, 80 m** pour **46 chromosomes**. Cet ADN est lui-même l'un des constituants de la chromatine. Cette dernière est contenue dans un noyau de **6 µm** environ.

Or les nécessités de la vie cellulaire font qu'à tout instant l'information exigée soit accessible parmi cette quantité prodigieuse de paires de bases, afin d'être lue "correctement".

Pour cela, les molécules d'ADN doivent être :

- Disposées et ordonnées de façon précise
- Protégées et éventuellement réparées
- Transmises éventuellement dans les cellules-filles

Toutes ces exigences sont satisfaites grâce aux propriétés de l'ADN d'une part et aux protéines qui lui sont associées d'autre part.

L'ensemble ADN-protéines constitue la chromatine.

Au cours de l'**interphase**, la chromatine correspond à un certain nombre de **chromosomes** qui sont cependant indistincts les uns des autres. Ceux-ci s'individualisent au cours de la **division cellulaire**. Ils contiennent chacun une molécule d'ADN linéaire.

L'ensemble de l'information génétique d'un organisme constitue le **génome**.

I. Ultrastructure de la chromatine

Pendant l'interphase, sur des **noyaux intacts**, la chromatine est sous deux formes, la **chromatine condensée** ou **hétérochromatine** et la **chromatine diffuse** ou **euchromatine**

La chromatine condensée se présente sous forme de masses irrégulières, les **mottes chromatiniques**, dont la plupart sont situées contre l'enveloppe nucléaire, dont ils sont séparés par la lamina.

Entre les mottes chromatiniques (denses aux électrons) il y a des espaces chromatiniques contenant des éléments plus clairsemés, ils correspondent à la chromatine diffuse.

Traitements de la chromatine et observation :

- **Quand la chromatine est soumise à des conditions de faible force ionique**, provoquant une dispersion importante de la chromatine, on obtient des formations en “*collier de perles*”, la *fibre nucléosomique*.

La fibre nucléosomique est constituée par la succession de particules de ~ 10nm, les *nucléosomes*, reliés entre eux par des *liens internucléosomiques* de 2 nm d'épaisseur et de longueur variable (de 20 à 240 pdb).

Le traitement des fibres nucléosomiques **par la DNase** pendant une très courte durée provoque la disparition des liens internucléosomiques tout en préservant les nucléosomes. Par conséquent **les liens** contiennent de l'**ADN** facilement dégradé par la DNase.

- **L'observation de noyaux éclatés de façon +/- ménagée** dans une solution aqueuse entraînant une décondensation et une dispersion de la chromatine, fait apparaître des *fibres chromatiniques de 30 nm*.

- **Mise dans une solution de force ionique plus grande, en présence de l'*histone H1***, la chromatine se présente sous l'aspect de fibres chromatiniques de 30nm ayant chacune l'aspect de 3 “*colliers de perles*” **disposés parallèlement** mais dont les perles sont très serrées (c'est-à-dire non séparées par des liens).

II. Composition chimique

La chromatine est constituée d'ADN, de protéines et d'ARN dans certaines régions de la chromatine diffuse.

Deux groupes de protéines, les protéines *histones* et les protéines *non-histones*.

1. Les histones

Petites molécules protéiques basiques riches en acides aminés chargés positivement (arginine et lysine).

5 types d'histones:

H1. Il existe plusieurs types dans la même cellule.

H2A, H2B, H3 et H4 forment un groupe de protéines fortement conservées dans toutes les espèces.

Les histones entrent dans la constitution des nucléosomes et de la fibre chromatinienne.

Quelques caractéristiques des histones

- Les gènes des histones sont répétés (20 chez l'homme, sur les chromosomes 1, 6, et 12); ils ne possèdent pas d'*introns*.
- Les gènes des histones sont transcrits pendant la *phase S* du cycle cellulaire de manière synchrone avec la réPLICATION.
- Leurs ARNm ne sont pas polyadénylés.

2. Les protéines non- histones

Ensemble hétérogène de protéines qui s'associent transitoirement à l'ADN. Elles interviennent dans la réPLICATION, la transcription, la réPARATION (ADN polymérases, ARN polymérases, différents facteurs...).

Parmi ce groupe, les protéines *HMG (high- mobility group proteins)* sont des petites protéines ubiquitaires dont les gènes sont dépourvus d'introns. Il en existe 10^6 par noyau.

III. Organisation moléculaire de la chromatine

- L'analyse d'un cristal de nucléosomes par diffraction des rayons X montre qu'un nucléosome est une particule en forme d'un **disque ou cylindre de 11 nm / 5,7nm** autour duquel la double hélice d'ADN **est enroulée environ deux fois**. Dans le cas où la chromatine n'a pas été soumise à l'action de la DNase, la double hélice s'étend comme un fil entre les nucléosomes.
- L'étude biochimique du cylindre montre qu'il s'agit d'un **octamère d'histones** formé de deux copies de **H2A, H2B, H3 et H4**.

Autour de ce complexe est bobinée en hélice gauche 1 tour $\frac{3}{4}$ d'ADN de 146 pdb (ce qui correspond à un pas d'hélice gauche d'environ 80 pdb).

Le segment d'ADN entre 2 nucléosomes (20 à 240 pdb) serait en rapport avec l'histone H1 pour la formation de la fibre chromatinienne de 30 nm.

- La fibre chromatinienne de 30 nm serait en fait le résultat d'un enroulement hélicoïdal de la fibre nucléosomique de 6 nucléosomes / tour, selon le modèle en **solénoïde**, proposé par **A. Klug** (Prix Nobel).

Cette compaction d'ordre supérieur nécessite des molécules d'histone H1 qui fonctionnent comme des agrafes entre nucléosomes.

La fibre chromatinienne est la forme inactive de la chromatine. Elle représente le mode d'organisation aussi bien de la chromatine condensée que de la chromatine diffuse .Quand la **chromatine est activée**, la partie de la fibre chromatinienne concernée se déroule à la suite de la **dissociation de H1**.

IV. La condensation de la chromatine en chromosomes: les divers degrés de spiralisation

22 paires d'autosomes et une paire de gono-somes ou chromosomes sexuels sont observés pendant la mitose. Ceci est le résultat d'une forte condensation de la chromatine qui les compose. A l'inverse, la chromatine interphasique résulte de la décondensation des chromosomes.

Dans chaque chromosome (ou dans la partie de la chromatine correspondante) il y a un double brin unique d'ADN **compacté** (condensé) à plusieurs niveaux.

- La double hélice

- L'enroulement en une ***super hélice*** de l'ADN autour des nucléosomes (octamères de H2A, H2B, H3 et H4) et sa continuation au niveau des liens internucléomiques, ce qui correspond à **la fibre nucléosomique de 10 nm**.
- **Le compactage** par empilement des nucléosomes après pontage par l'histone H1 et enroulement en ***super- super- hélice*** correspondant à **la fibre chromatinienne de 30 nm**.
- **Le chromosome** est le résultat de la condensation de la fibre chromatinienne de 30 nm en *boucles* de différents ordres.

V. Rapports entre décondensation de la chromatine et activité transcriptionnelle.

Cela revient à poser les questions :

Pourquoi, pendant l'interphase, une partie de la chromatine est sous forme **condensée** et une partie est sous forme **diffuse**?

Quelle est la part de la **chromatine active** par rapport à la **chromatine inactive** et dans quels états se trouvent l'une et l'autre ?

1. Dynamique du nucléosome

L'enroulement de l'ADN autour du nucléosome n'empêche pas la transcription. Cependant les *séquences régulatrices* des gènes ne peuvent accéder à l'ADN que s'il est dépourvu de nucléosomes.

De fait, juste avant la transcription, la fibre chromatinienne de 30 nm contenant la séquence d'ADN destinée à cette transcription se déroule transitoirement par détachement des histones H1. Cette décondensation fait intervenir certaines protéines **HMG** (HMG14 et HMG17).

Pour l'ensemble de la chromatine, **1 nucléosome sur 10** lie HMG14 et 17. Si on ajoute le fait que **10% de la chromatine** est digérée quand on soumet des noyaux isolés à un traitement à la DNase pancréatique, on peut conclure que **~10% de la chromatine serait potentiellement active**.

Les séquences d'ADN sensibles à la DNase contiennent donc des gènes souvent transcrits que des gènes qui ne le sont rarement.

Précisons que certains gènes sont transcrits dans un type cellulaire alors qu'ils ne le sont jamais dans un autre type.

2. Les deux catégories de gènes

On estime le nombre de gènes des cellules eucaryotes des vertébrés supérieurs à **30.000 gènes**. Ces gènes ne représenteraient que ~ 10% de l'ADN nucléaire. Cela veut dire que les 90 % restants ne seraient pas codants (c'est l'ADN silencieux).

Les cellules appartenant au même organisme possèdent le même génome et par conséquent les mêmes gènes. Cependant ces gènes vont s'exprimer ou non en fonction du type cellulaire. Ainsi on distingue deux catégories de gènes.

- **Les gènes domestiques**

Exprimés dans toutes les cellules car ils contrôlent les fonctions qui leur sont communes, par exemple les gènes codant les **enzymes de la glycolyse**.

- **Les gènes spécifiques**

Gènes exprimés dans un type cellulaire donné et pas dans l'autre. Par exemple les gènes codant la synthèse de l'hémoglobine dans les cellules précurseurs du globule rouge ou ceux codant les cytokératines dans les cellules épithéliales.

3. Signification de la chromatine diffuse et de la chromatine condensée

- **La chromatine diffuse ou euchromatine** est la chromatine plus ou moins décondensée. Elle représenterait **90 %** de l'ensemble de la chromatine. Elle existerait sous deux formes :

- l' "**euchromatine active**", pas ou peu condensée; elle représenterait 10 % de la chromatine diffuse

- l'**euchromatine inactive**, un peu plus condensée que la précédente, correspondrait à 90 % de la chromatine diffuse

- La chromatine condensée ou hétérochromatine représenterait les 10 % restants. C'est la forme très condensée de la chromatine. On distingue :

- l'hétérochromatine constitutive

Toujours condensée dans tous les types cellulaires. Elle contient des séquences d'ADN qui ne sont jamais transcrrites ; elle existe de part et d'autre des *centromères* mais également au niveau de segments qui gardent un aspect condensé pendant tout le cycle cellulaire comme par exemple le bras long du **chromosome Y**.

- l'hétérochromatine facultative

Condensée dans certaines cellules ou dans certains stades du développement. Les gènes réprimés (ou exprimés) diffèrent d'un type cellulaire à l'autre. Ainsi par exemple les gènes de *cytokératines* sont réprimés dans le fibroblaste mais pas dans les cellules épithéliales de l'épiderme. Par conséquent, les séquences d'ADN correspondantes de ces gènes réprimés font partie de la chromatine condensée.

- la chromatine sexuelle ou corpuscule de Barr

Les cellules **somatiques** de femelles de mammifères possèdent deux exemplaires du *chromosome X* (donc des gènes en double exemplaire) alors que les mâles n'en possèdent qu'un (donc des gènes en un seul exemplaire, sauf pour ceux présents sur le chromosome Y). Il a d'autre part été constaté qu'après les tous premiers stades du développement, un seul exemplaire des gènes en question est suffisant à la vie normale de la cellule, comme chez le mâle.

Il en résulte qu'une grande partie de la chromatine de l'X est inactive ; elle se présente sous l'aspect d'une masse chromatinienne condensée, de forme souvent triangulaire de $\sim 1\mu$, plaquée soit contre l'enveloppe nucléaire, soit contre le nucléole. C'est la *chromatine sexuelle ou corpuscule de Barr*.

L'*inactivation de l'X*, appelée aussi *lyonisation* (phénomène découvert par **Mary Lyon**) est l'inactivation précoce (stade 80 cellules chez la souris). Le chromosome inactivé est tantôt d'origine maternelle (Xm), tantôt d'origine paternelle (Xp). L'organisme féminin est par conséquent constitué d'une mosaïque de cellules exprimant les unes les gènes du chromosome Xm, les autres les gènes du chromosome Xp.

L'X inactivé se réplique en **phase S tardive**.

L'inactivation de l'X concerne la presque totalité de l'X à l'exception de quelques gènes.

VI. Répartition des chromosomes interphasiques dans le noyau

La chromatine correspondant à chacun des chromosomes n'est pas distribuée au hasard mais de façon systématisée. Les méthodes d'**hybridation in situ** avec des *sondes fluorescentes*, pour marquer des séquences d'ADN des *centromères* et des *téloïmères* montrent que les téloïmères sont distribués à la périphérie en contact avec l'enveloppe nucléaire alors que les centromères convergent vers la ou les régions nucléolaires. Cette répartition n'est cependant pas identique pour tous les types cellulaires.

E. Le nucléole

Site intranucléaire **d'élaboration des ribosomes**, au sein duquel les gènes des ARNr (à l'exception de l'ARN 5S) sont transcrits en ARNr précurseur. Ce dernier y subit **maturité et association avec les protéines ribosomales** pour constituer les sous-unités ribosomales.

C'est donc une région spécialisée du nucléoplasme; elle contient **les constrictions secondaires des chromosomes acrocentriques**.

I. Morphologie et organisation

1. MO

Le nucléole est variable en taille (1 à 3 µm), et en nombre (un à plusieurs par noyau). Il se présente sous l'aspect d'un **granule réfringent sphérique** ou **ovoïde** entouré plus ou moins complètement par une couronne chromatinnienne : la *chromatine périnucléolaire* ou *chromatine associée*.

A l'approche de la mitose, le nucléole diminue progressivement de taille pour disparaître complètement quand les chromosomes se condensent. A la **télophase**, il y a apparition d'une dizaine de petits nucléoles (dans une cellule humaine) qui fusionnent rapidement en un seul le plus souvent (ce qui correspond à la reprise de la synthèse d'ARN).

2. Microscopie électronique et organisation

L'aspect du nucléole est variable selon le type cellulaire, cependant on considère un nucléole typique est constitué de quatre composants :

- **Un composant granulaire (CG)** : site qui contient en particulier des particules de 15 nm qui représenteraient des précurseurs immatures des ribosomes ou particules préribosomales.

- **Un centre fibrillaire clair (CF)** : contiendrait les *espaceurs intergéniques* non transcrits (régions non transcrrites de l'ADN des organisateurs nucléolaires). Il contient en outre des protéines impliquées dans la transcription (ARN polymérase I...) ainsi qu'une protéine, la *nucléoline*
- **Un composant fibrillaire dense (CFD)** : sites de transcription des ARNr nucléolaires, situés à la limite entre CF et CFD. Il contient une protéine, la *fibrillarine* associée à des *snRNP* (small nucleolar RNP)
- **Une chromatine associée** dans les cellules somatiques.

II. Synthèse des ARNr

1. L'ADN ribosomal contient un **gène amplifié** chez les eucaryotes.

Le nucléole contient des régions particulières de certains chromosomes, les *organisateurs nucléolaires*. Chez l'homme, ces organisateurs se trouvent sur les bras courts des *chromosomes acrocentriques* (13, 14, 15, 21, et 22) ; ils correspondent aux *constrictions secondaires*. Pendant l'interphase, le nucléole contient des boucles appartenant aux cinq paires de chromosomes acrocentriques.

Chaque boucle contient un groupe de gènes (ADNr) répétés 20 fois par chromosome (200 copies/génome diploïde). Ces gènes sont séparés par des séquences non transcrites, les *espaceurs intergéniques*. Plusieurs complexes de transcription sont actifs en même temps donnant une image d'*arbre de Noël*.

2. Les ARNr **28S, 5,8S et 18S** proviennent d'un précurseur commun, *l'ARN 45S*. Ce dernier subit un certain nombre de coupures pour donner les ARNr sus-cités.

La transcription de l'ARN 45S est catalysée par l'*ARN polymérase I* (notons que la transcription des ARNm est sous l'action de l'*ARN polymérase II*).

La maturation de l'ARNr a lieu dans une **particule préribosomale** par perte des *espaceurs intragéniques* sous l'action de *nucléases* (différent du clivage des *introns*).

III. Assemblage du ribosome

Les protéines ribosomales sont synthétisées dans le cytosol. Elles sont porteuses d'un **NLS** d'une part et d'un **RRM** d'autre part.

Le **NLS** permet à la protéine de pénétrer dans le noyau à travers le pore nucléaire.
Le **RRM** (RNA Recognition Motif) est une séquence de reconnaissance de l'ARN.

L'association des **protéines** avec l'**ARNr 45S** commence avant la fin de la transcription de ce dernier. L'assemblage se fait dans une **grande particule préribosomale** (Composant granulaire) où a lieu la maturation de l'ARN 45S. L'**ARN 5S** est transcrit dans une **région extranucléolaire** par *l'ARN polymérase III* d'où il rejoint le nucléole.

Par la suite le **préribosome** se scinde **en grande sous-unité** et en **petite sous-unité**. Ces dernières quittent le noyau séparément.

IV. Variations du nucléole

1. Physiologiques

- Dans une cellule donnée, la taille et l'aspect du nucléole sont fonction de la synthèse protéique. Par exemple une cellule jeune qui a besoin d'une grande quantité de protéines, possède un nucléole volumineux, parfois deux, voire plus.
- Le nucléole disparaît au début de la mitose et se reconstitue à la fin.

2. Pathologie

- **Dans les cellules cancéreuses**, le nucléole présente des anomalies de forme, de taille et de nombre. Ces modifications restent mal expliquées.
 - Un nucléole $> 5 \mu\text{m}$ suggère fortement la malignité.
 - Des nucléoles multiples sont attribués à la polypliodie.
- Un nombre augmenté pourrait être un signe de malignité.

Les communications cellulaires

Un organisme pluricellulaire est constitué d'une grande variété de cellules spécialisées (~ 200 chez l'homme). La vie de cette communauté de cellules suppose des interactions et des communications entre les différents membres qui la composent afin que l'ensemble puisse fonctionner de façon coordonnée.

A. Modalités et niveaux de communication

I. Différentes modalités

1. Par contact direct

- Soit par *jonctions communicantes de type gap*
- Soit par les *molécules d'adhérence*

2. Par molécules de signalisation ou molécules-signaux ou molécules informationnelles

Ce sont des produits chimiques élaborés et sécrétés par des cellules et qui vont agir, après un trajet plus ou moins long sur une *cellule-cible* en se liant à un *récepteur*.

II. Niveau de communication par molécules informationnelle

1. Autocrine
2. Paracrine
3. Endocrine
4. Par le système nerveux, au niveau des synapses, par les *neuromédiateurs*

B. Les molécules informationnelles et leurs récepteurs

I. Les molécules informationnelles

1. Définition

Substance chimique produite par une cellule, circulant dans le milieu extracellulaire pour transmettre un signal à une autre cellule (parfois à la cellule qui l'a produite) via un récepteur spécifique. Cette substance est aussi qualifiée de **ligand**.

2. Nature chimique

• Molécules liposolubles

Molécules diffusant librement à travers la MP des cellules – cibles ; elles se lient à des récepteurs cytosoliques et nucléaires:

- Hormones stéroïdes
- Hormones thyroïdiennes
- Acide rétinoïque (dérivé oxydé de la vitamine A)
- Calcitriol (dérivé des vitamines D)

• Molécules hydrosolubles

Incapables de traverser la couche bilipidique ; elles sont reconnues par des récepteurs de la MP des cellules- cibles.

Il s'agit d'un groupe très divers :

- Médiateurs locaux
Polypeptides ou protéines de faible PM (< 30000 daltons)
 - * Facteurs de croissance
 - * Des dérivés d'acides aminés comme l'histamine et la sérotonine.

Stimulent la multiplication cellulaire ; certains interviennent au cours du développement embryonnaire.

Exemples : *EGF* (Epidermal Growth Factor), *FGF* (Fibroblast Growth Factor), *TGF β* (Transforming Growth factor β) ...

- Neurotransmetteurs
Acides aminés (*glycine, glutamate...*) et molécules apparentées (*acétylcholine...*) ; sécrétées dans la fente synaptique par le neurone présynaptique, elles se fixent sur des récepteurs de la membrane postsynaptique.

- Hormones
Peptides et polypeptides (*TRH, GH, insuline...*), glycoprotéines (*FSH, TSH...*) ou dérivés d'un acide aminé (*adrénaline*) sécrétés par une cellule endocrine ou (neuroendocrine). Ces molécules diffusent dans tout l'organisme (par voie sanguine, lymphatique...) et sont reconnues par des récepteurs membranaires des cellules-cibles.

- **Les radicaux libres gazeux**

Diffusent librement au travers la MP, agissent directement sur des protéines cytosoliques. Le mieux connu est le *monoxyde d'azote (NO)*.

II. Les récepteurs

1. Définition

Un récepteur est une protéine ayant pour *ligand* une molécule informationnelle provenant du milieu extracellulaire.

2. Notions générales sur les interactions ligand-récepteur

- **Spécificité**

Les formes tridimensionnelles complémentaires du récepteur et de son ligand (mais également de ses agonistes et ses antagonistes) permettent la reconnaissance spécifique de l'un par l'autre.

- **Affinité**

Entre ligand et récepteur, faible pour les ligands très concentrés, forte pour les hormones.

- **Nombre de récepteurs**

Variable selon les types cellulaires. De façon générale, ce nombre varie entre 10.000 et 100.000 récepteurs par cellule, pour les différents signaux que la cellule reçoit.

- **Réversibilité**

Après interaction, la molécule - signal peut être détruite, immobilisée ou recyclée.

- **Conséquences de la liaison ligand – récepteur**

La formation du complexe ligand – récepteur membranaire sera suivie soit :

- De l'internalisation (endocytose du complexe) suivie de l'activation de voies catalytiques/ métaboliques cytosoliques. Exemple de l'insuline.

- De l'activation (sans internalisation) de voies catalytiques / métaboliques cytosoliques aboutissant à la production d'un ***second messenger***, le **premier messenger** étant le **ligand**.

Le second messager déclenche dans le cytosol un effet spécifique, activateur ou inhibiteur.

- Pour les molécules-signaux liposolubles qui franchissent librement la membrane plasmique, elles seront reconnues par des récepteurs cytosoliques ou nucléaires.

La liaison hormone-récepteur a lieu dans le cytosol pour certaines molécules, dans le noyau pour d'autres. Le complexe se lie ensuite à des séquences spécifiques de l'ADN pour activer la transcription de certains gènes.

3. Récepteurs de surface cellulaire des molécules informationnelles hydrosolubles

• Caractères généraux

Protéines intégrées constituées d'une ou plusieurs sous-unités; elles présentent trois domaines :

- domaine extracellulaire qui contient le site de liaison du ligand, une sorte de cavité de forme complémentaire à celle du ligand
- domaine transmembranaire
- domaine cytosolique en relation avec les molécules effectrices

• Les différents types de récepteurs

- Les Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)

Protéines caractérisées par:

- * 7 domaines transmembranaires (R7TM)
- * 3 boucles extracellulaires qui forment avec l'extrémité N-terminale le site de liaison du ligand : hormone, certains neurotransmetteurs, photons, molécules odorantes...
- * 3 boucles intracellulaires et l'extrémité C- terminale sont en relation avec une *protéine G*

- Les récepteurs- canaux

Sont principalement impliqués dans la transmission du signal synaptique.

- Les récepteurs catalytiques

Agissent directement comme des enzymes. La grande majorité sont des protéines transmembranaires ayant un domaine catalytique cytosolique qui fonctionne comme une *protéine kinase* spécifique de la tyrosine (dans ce domaine se trouvent plusieurs **tyrosines autophosphorysables**).

Remarque.

Les transporteurs membranaires sont des récepteurs dont les ligands, tel que le LDL, ne sont pas des molécules informationnelles.

C. Les RCPG et la transduction du signal

I. Les molécules impliquées

1. Le récepteur

Protéine à 7 domaines transmembranaires (R 7TM)

2. La protéine G

Superfamille de protéines liant le *GTP*, ancrées sur la face cytosolique de la MP par deux acides gras.

Ce sont des **héterotrimères** de *sous-unités α, β et γ*.

- C'est la sous-unité **α** qui :
 - se lie au récepteur
 - lie le GTP et l'hydrolyse en GDP (en s'aidant d'une autre protéine)
 - active l'effecteur primaire : *adényl-cyclase, phosphokinase Cβ, ... canal ionique*
- Les sous unités **β – γ** peuvent se lier à d'autres effecteurs
- Plusieurs types de protéines **G**, les unes stimulatrices, les autres inhibitrices

3. L'effecteur

Protéine qui traduit le signal reçu par le récepteur en un effet intracellulaire.

L'effecteur peut être :

- Un **canal ou une pompe** qui permet l'entrée dans le cytosol d'un *second messager, le Ca⁺⁺*
- Une **enzyme** qui catalyse la production cytosolique d'un *second messager*

II. Transduction du signal

Deux exemples d'effecteurs cibles des protéines G

1. la voie de l'adénylate cyclase-AMPc

Exemple de l'activation de la *glycogénolyse* (foie, muscle) par l'*adrénaline*.

L'*adénylate cyclase* en est l'effecteur. C'est une protéine constituée de 12 domaines transmembranaires qui, après activation, hydrolyse l'*ATP* en *3', 5' AMP cyclique* (AMPc), ce qui se traduit par une augmentation de l'AMPc cytosolique.

• Les différentes étapes

- L'adrénaline est une hormone qui se lie à son récepteur de surface cellulaire, le *récepteur β - adrénnergique couplé à une protéine G*. Cette liaison est suivie d'un largage du GDP, son remplacement par le GTP, la dissociation du trimère en γ - β et en α – GTP. Cette dernière transmet le signal à l'*adénylate cyclase β* qui produit dans le cytosol de l'AMPc à partir de l'ATP.
- L'AMPc, second messager, active des *protéines kinases A (PKA)*, dites AMPc dépendantes.
- La PKA est formée de 4 sous-unités ; 2 sous-unités catalytiques (C) et 2 sous-unités régulatrices (R). Sous cette forme, l'enzyme est inactive. L'AMPc se liant aux sous-unités R, dissocie l'ensemble et libère les sous-unités C qui deviennent actives.
- La PKA phosphoryle une autre enzyme pour l'activer, la *phosphorylase kinase* qui à son tour va activer une autre enzyme, la *glycogène phosphorylase* (cascade de réactions) avec formation de glucose -1- phosphate (G -1- P) à partir de glycogène.

Le G -1- P → G -6- P qui sera oxydé (glycolyse) pour fournir de l'ATP, d'où contraction musculaire.

Remarques

- * En même temps qu'il **active** la dégradation du glycogène, l'AMPc **inhibe** la *glycogène synthétase*.
- * L'AMPc, après activation de la PKA, est hydrolysé en 5'AMP par une *phosphodiesterase*.

2. Voie de la phospholipase C

La *phospholipase C* est une enzyme catalysant la réaction d'hydrolyse du *PIP2* (phosphatidylinositol bi-phosphate) en *IP3* (inositol-tri-phosphate) et *DAG* (diacylglycérol). Elle est activée par les sous-unités de la classe G α

L'*IP3* est le messager secondaire qui agit au niveau des *récepteurs* spécifiques, situés sur la membrane des compartiments REL, entraînant un relargage à l'intérieur du cytosol, des ions calcium contenus dans ces compartiments.

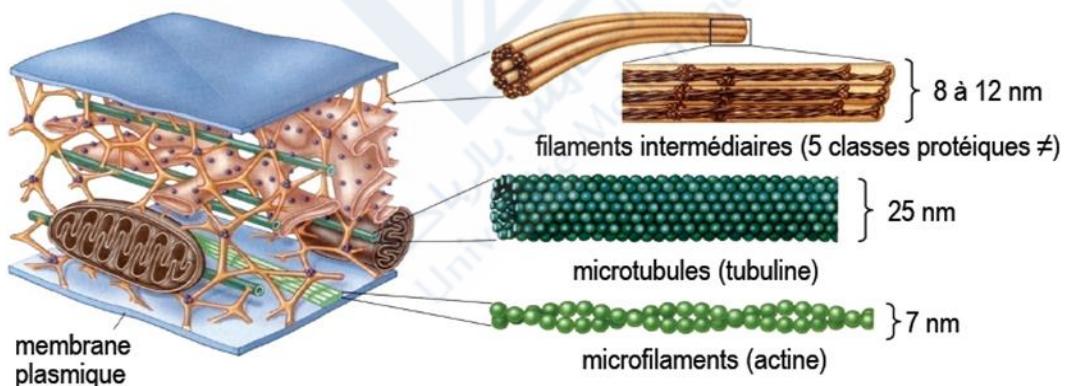
Le *DAG* quant à lui, il active la *protéine kinase C*, qui, elle aussi et tout comme la protéine kinase A, est capable de phosphoryler des protéines, afin d'en moduler l'activité.

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT

Laboratoire
Histologie-embryologie-cytogenetique



BIOLOGIE CELLULAIRE



Pr Jamal Eddine KHANFRI

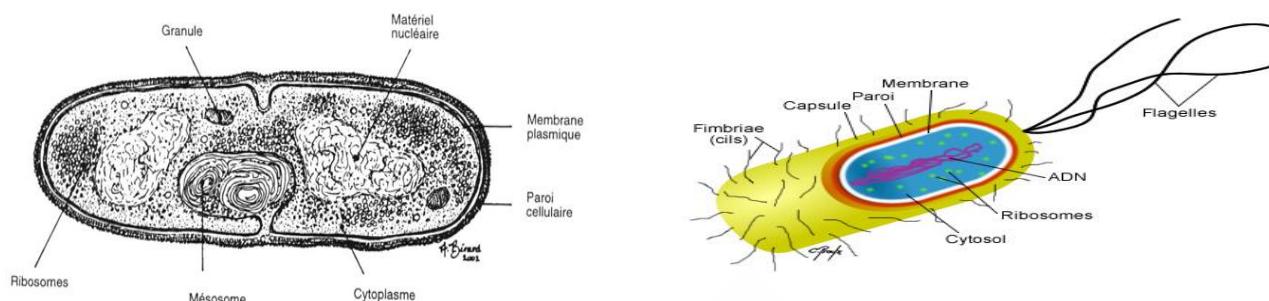
1^{ère} ANNEE MEDECINE

2020/2021

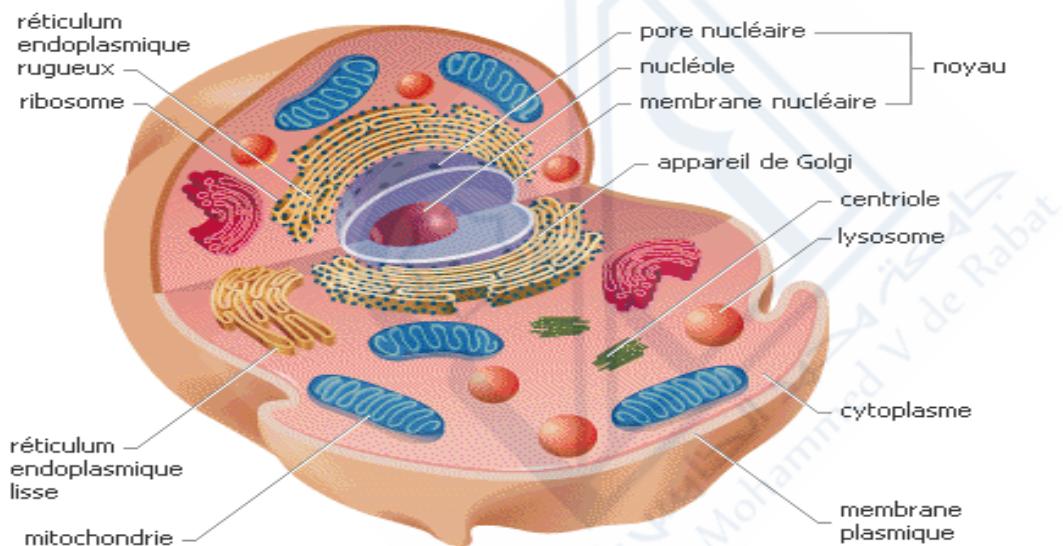
La biologie cellulaire

La cellule procaryote

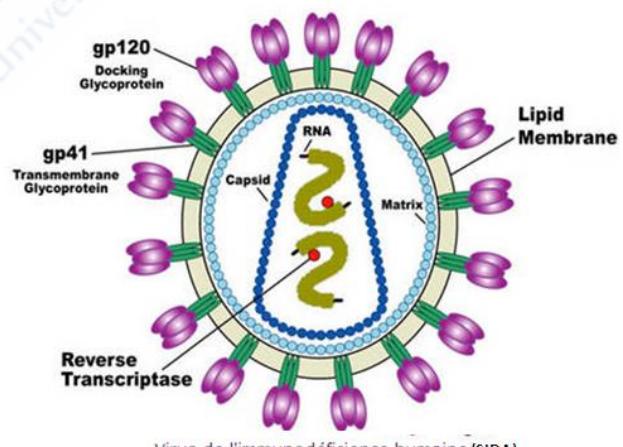
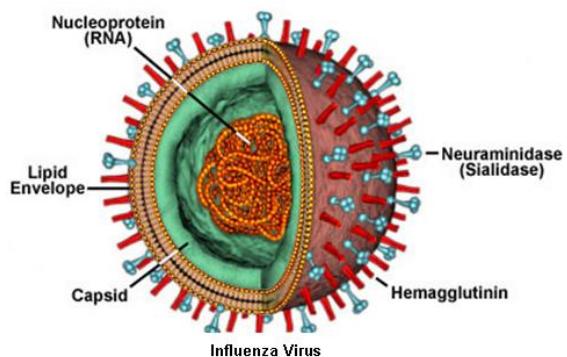
Bactéries



La cellule eucaryote



Virus

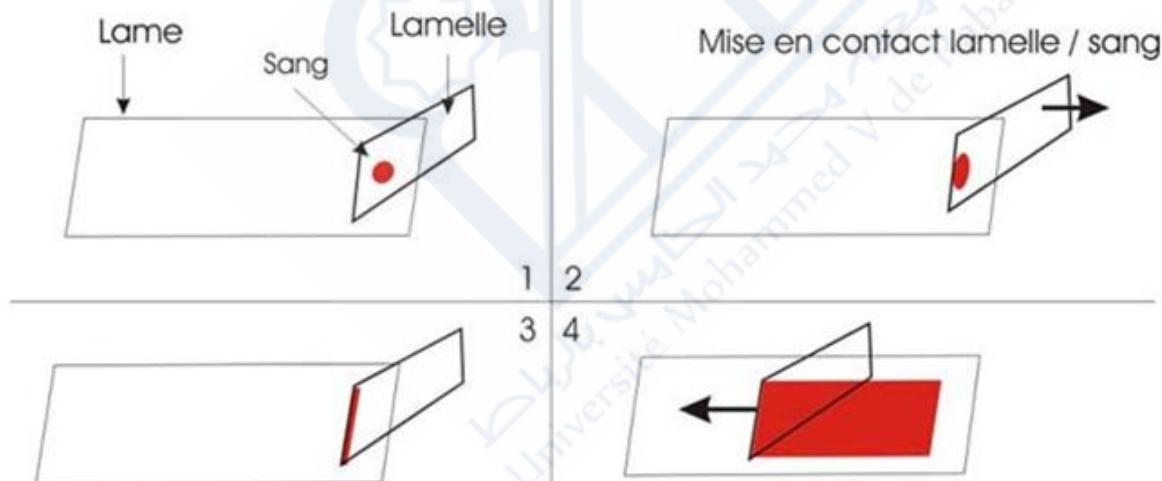


Virus de l'immunodéficience humaine (SIDA)

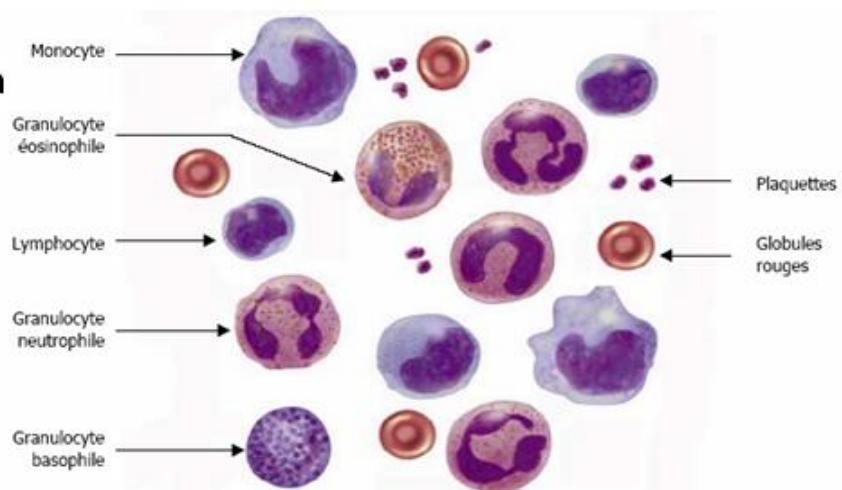
Quelques unités de mesure

Longueur	centimètre (cm)	$1 \text{ cm} = 10^{-2} \text{ m}$
	millimètre (mm)	$1 \text{ mm} = 10^{-3} \text{ m}$
	micromètre (μm)	$1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$
	nanomètre (nm)	$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$
	picomètre (pm)	$1 \text{ pm} = 10^{-12} \text{ m}$
	Ångström (\AA)	$1 \text{ \AA} = 0,1 \text{ nm}$
Masse moléculaire	dalton (Da, parfois d)	$1 \text{ Da} = \text{environ la masse d'un atome d'hydrogène}$ $(1,66 \times 10^{-24} \text{ g})$
	kilodalton (kDa)	$1 \text{ kDa} = 10^3 \text{ Da}$
Taille moléculaire	kilobase (kb)	$1 \text{ kb} = 1000$ paires de bases d'un acide nucléique bicaténaire ou 1000 bases d'un acide nucléique monocaténaire
	mégabase (Mb)	$1 \text{ Mb} = 10^3 \text{ kb}$

Frottis sanguin



MGG. Dessin



Instruments d'étude de la cellule

Techniques de préparation pour microscopie

▪ Microscopie optique

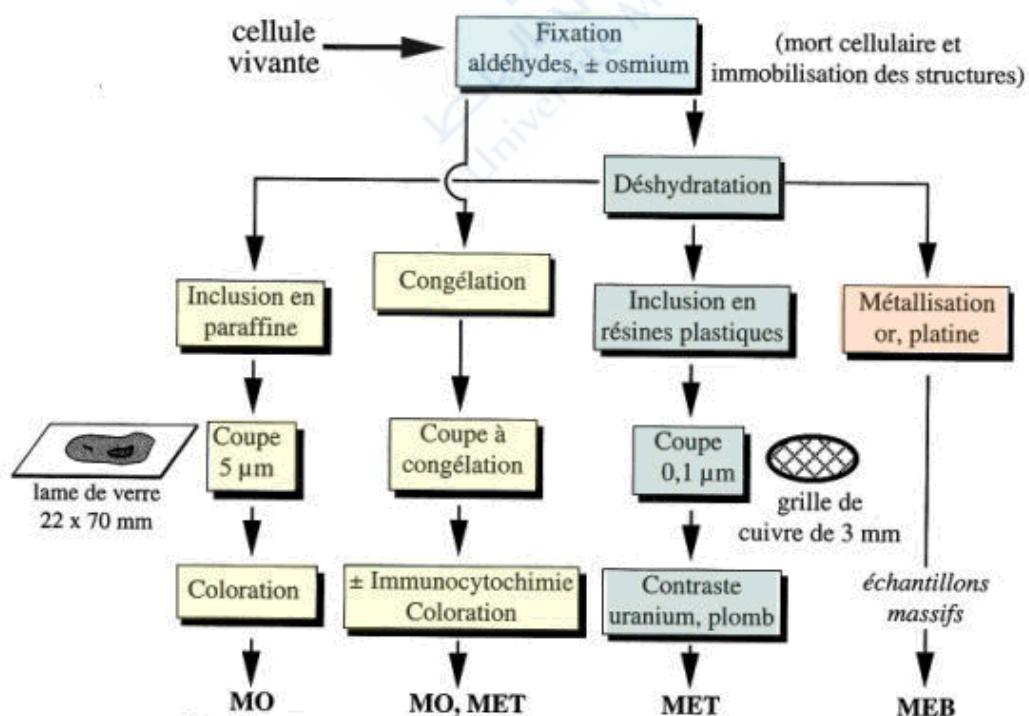
1. Fixation : éthanol, acide picrique...
2. Déshydratation
3. Inclusion : paraffine...
4. Microtomie : coupe de 1µm à 10µm d'épaisseur
5. Etalement sur lame de verre
6. Coloration
7. Observation

▪ MET :

Echantillon de petite taille (1 mm³)

1. Fixation: glutaraldéhyde, tétr oxyde d'osmium
2. Déshydratation
3. Inclusion : résine dans gélule
4. Ultramicrotomie: coupe fines, environ 30 nm d'épaisseur;
5. Recueil sur grilles métalliques
6. « Coloration » : métaux lourds : citrate de Pb, acétate d'uranyle
7. Observation

Préparation de l'échantillon pour l'observation au microscope

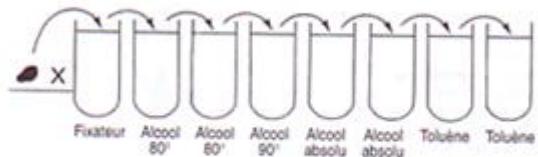


Techniques de préparation pour microscopie optique

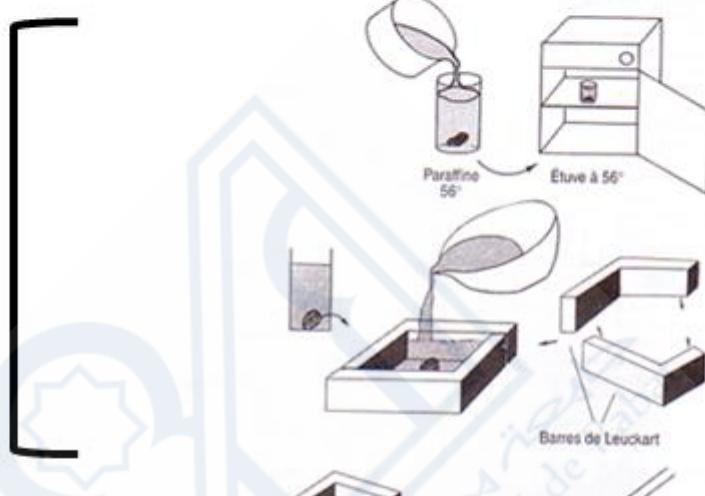
1- Fixation



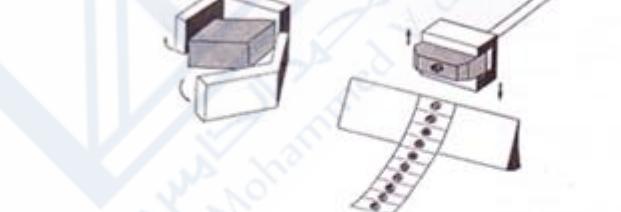
2- Déshydratation



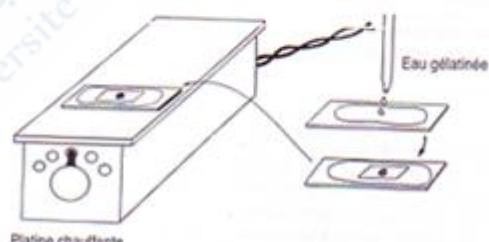
3- Inclusion



4- Microtomie



5- Etalement

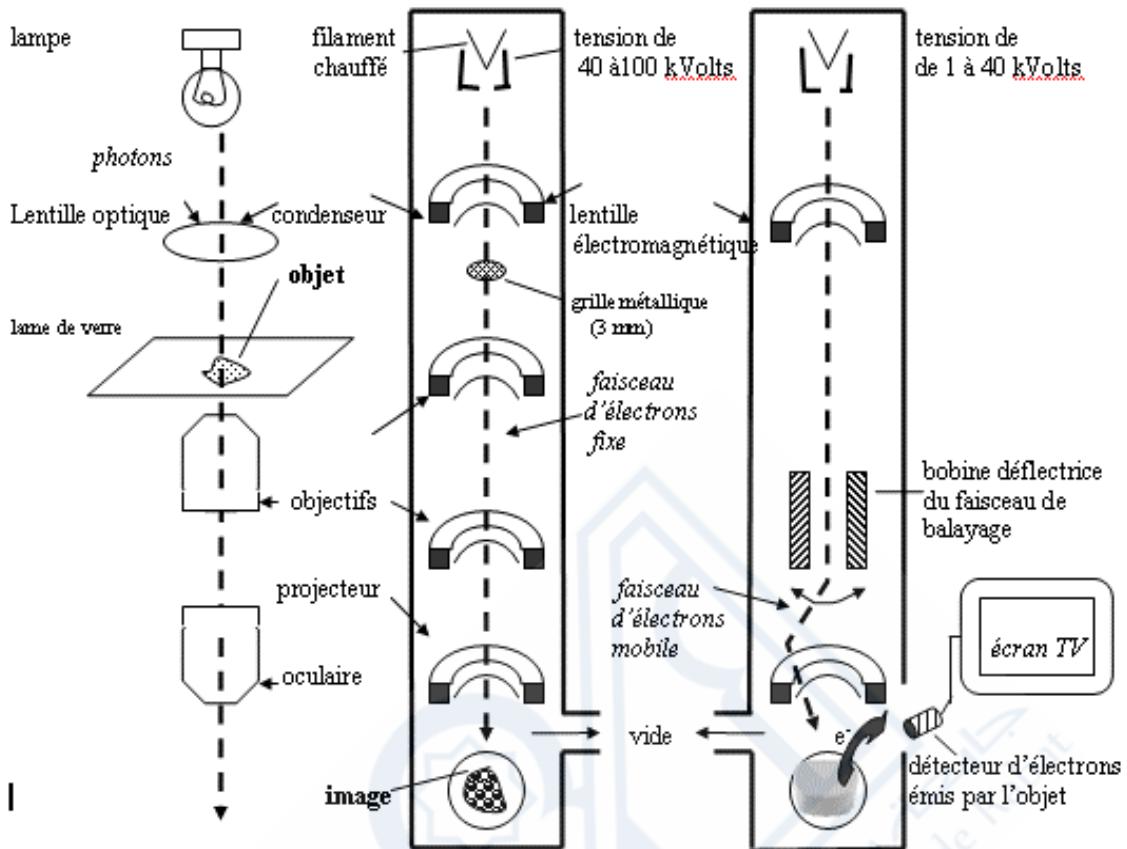


6- Coloration

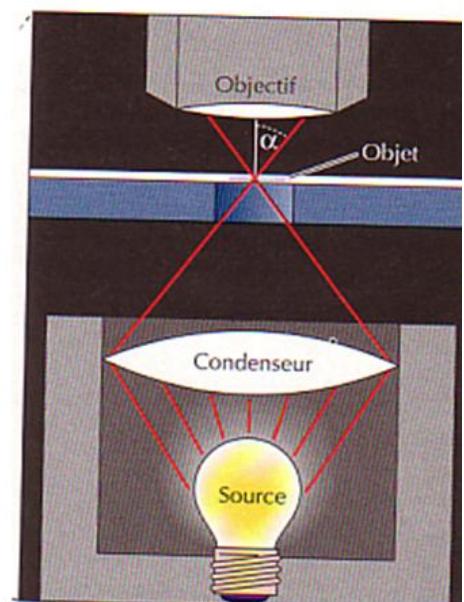
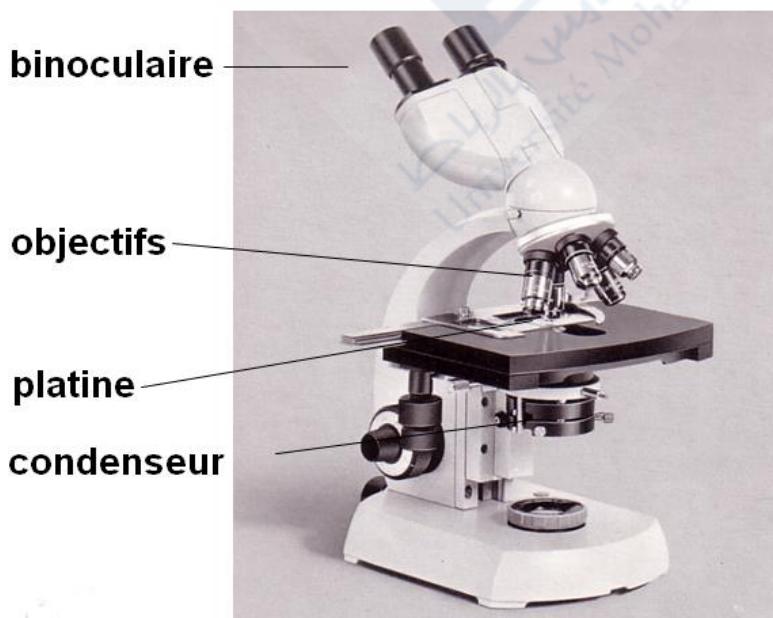


7- Observation (au Microscope Optique)

Comparatif: MO, MET, MEB

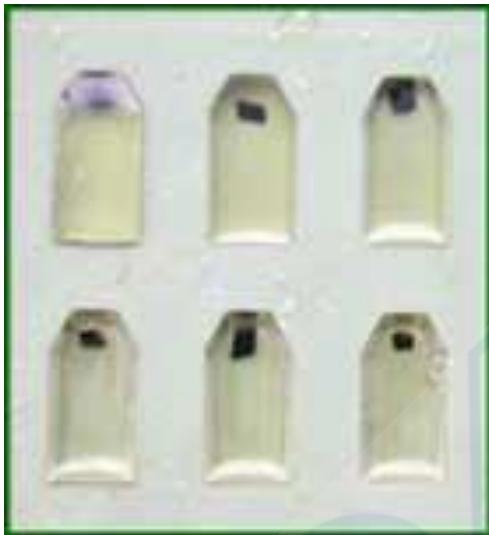


M.O



Ultramicrotomie

Inclusion des tissus dans
des gélules de résine



gélules



M.E.T



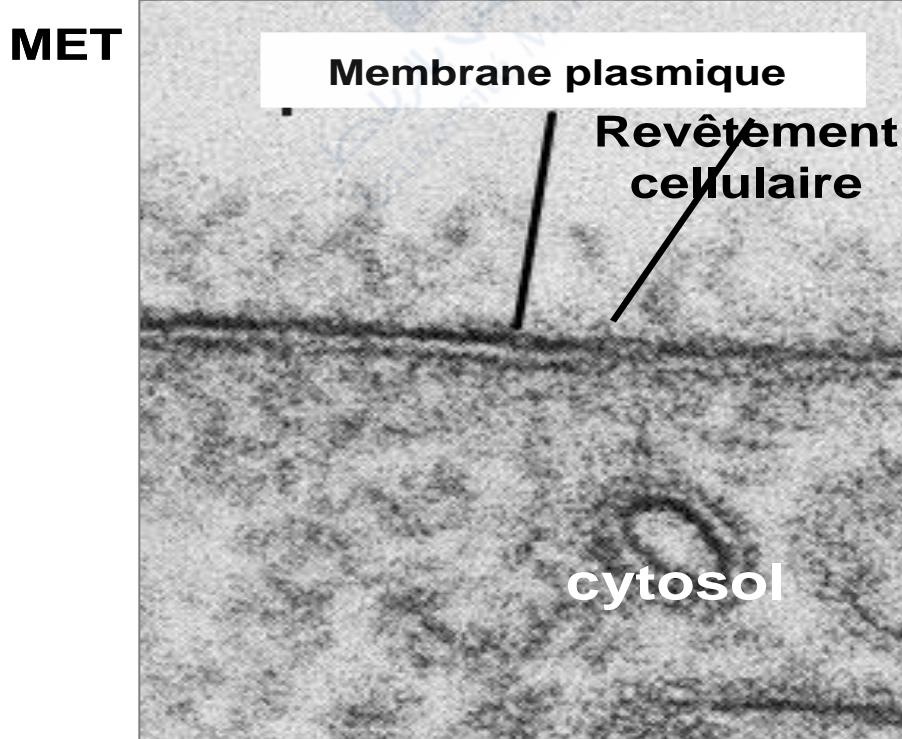
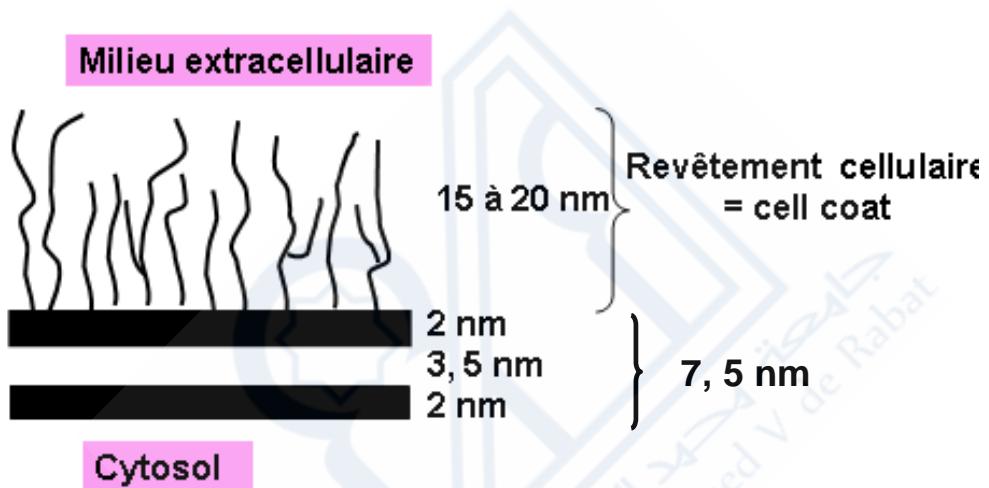
Microtome



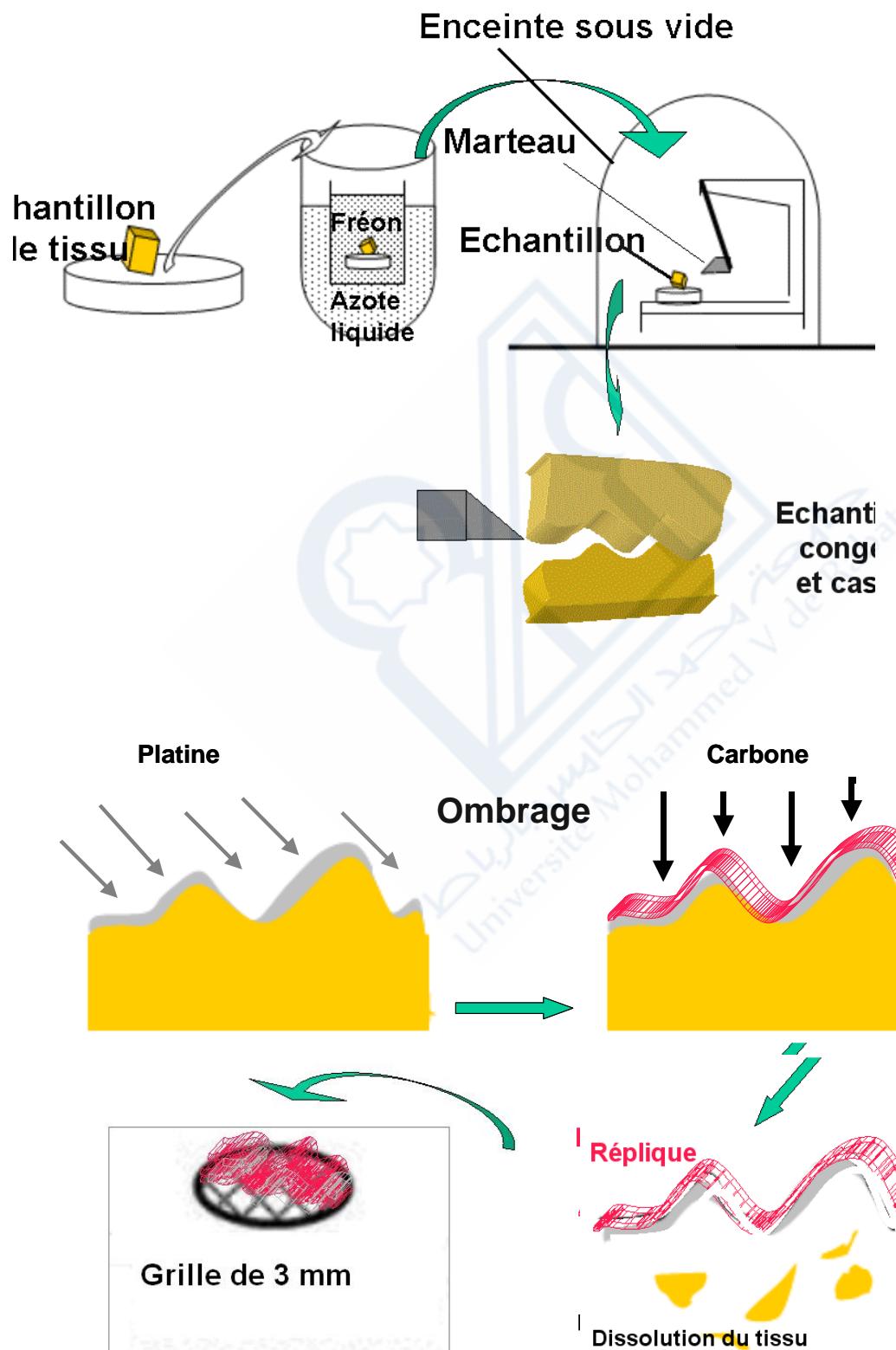
La membrane plasmique : structure, composition chimique, organisation moléculaire

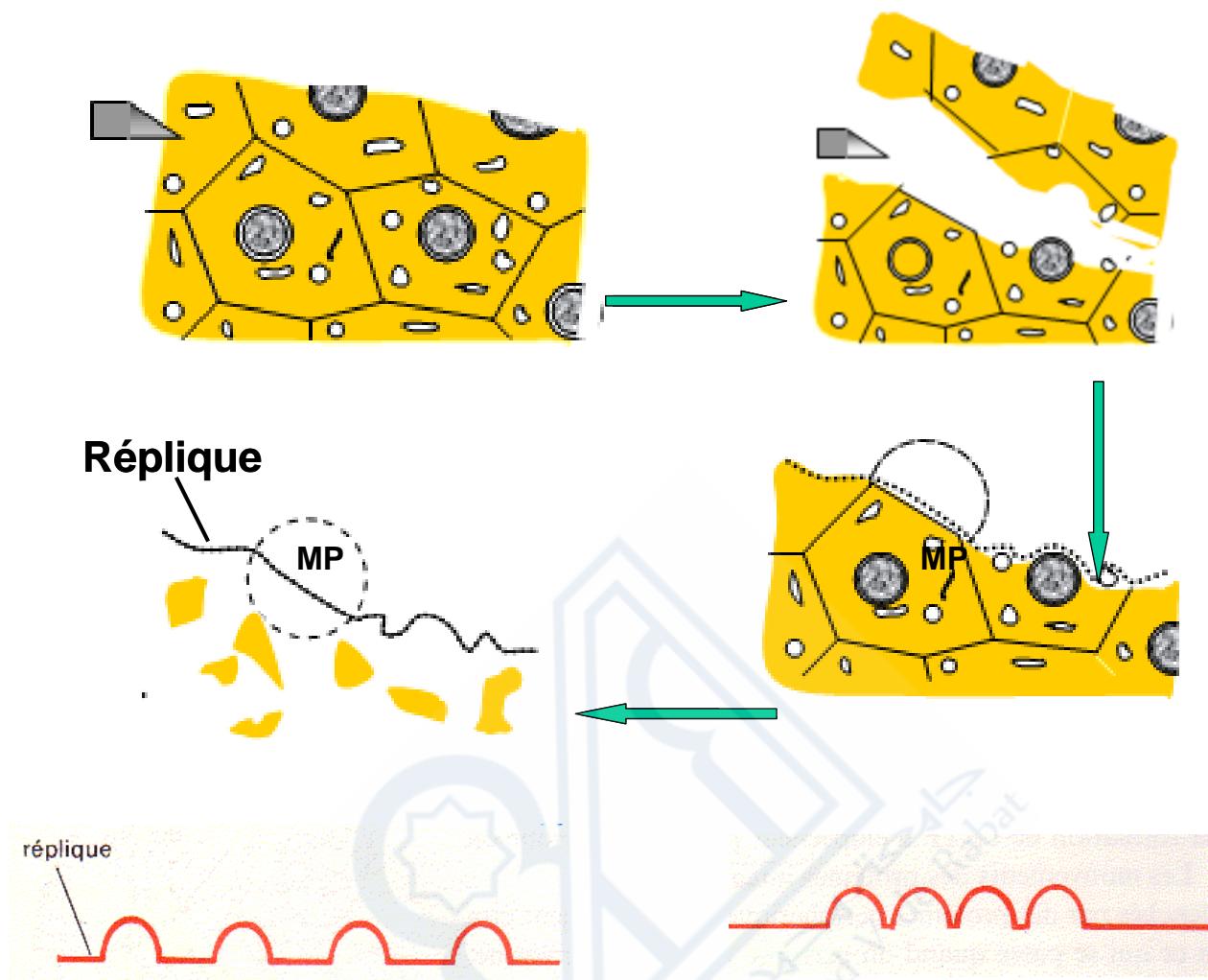
La membrane plasmique

MET. Représentation schématique



Cryofracture / cryodécapage et préparation de réplique

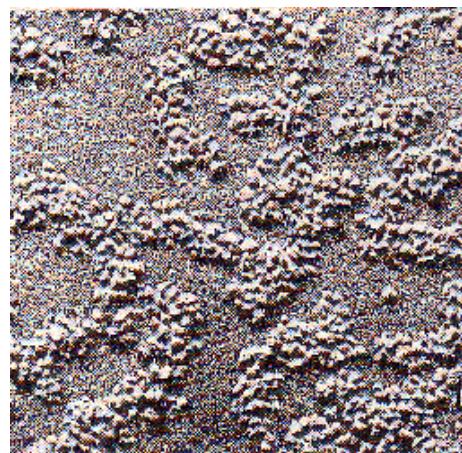




MET. Répliques de MP

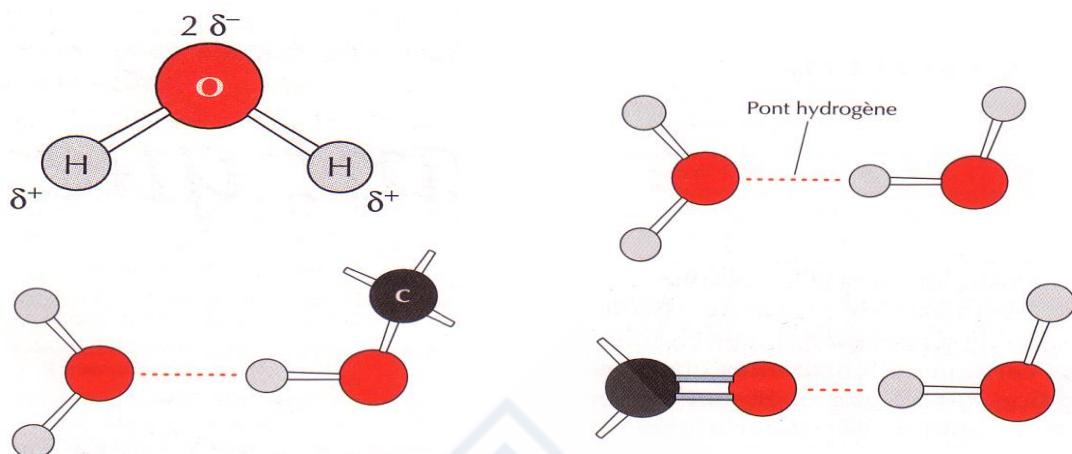


Particules dispersées

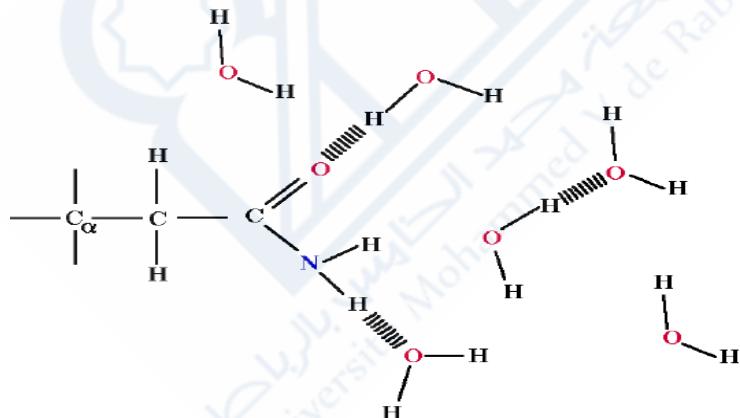


Particules agrégées

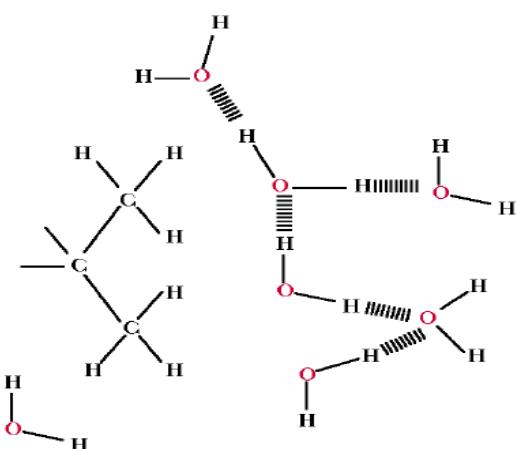
Molécules d'eau. Liaisons hydrogène



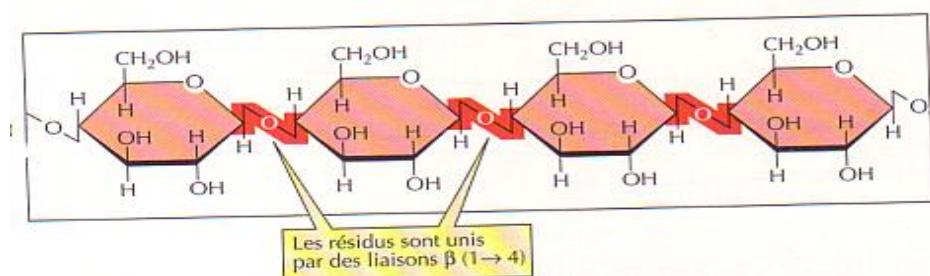
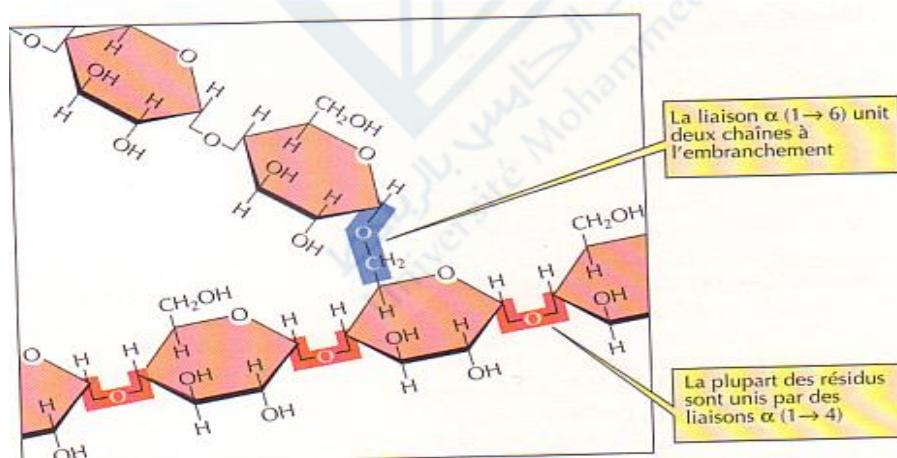
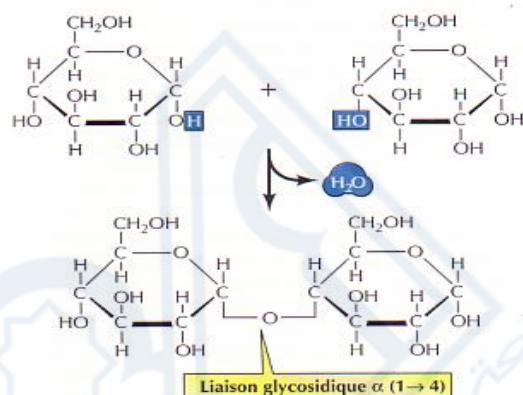
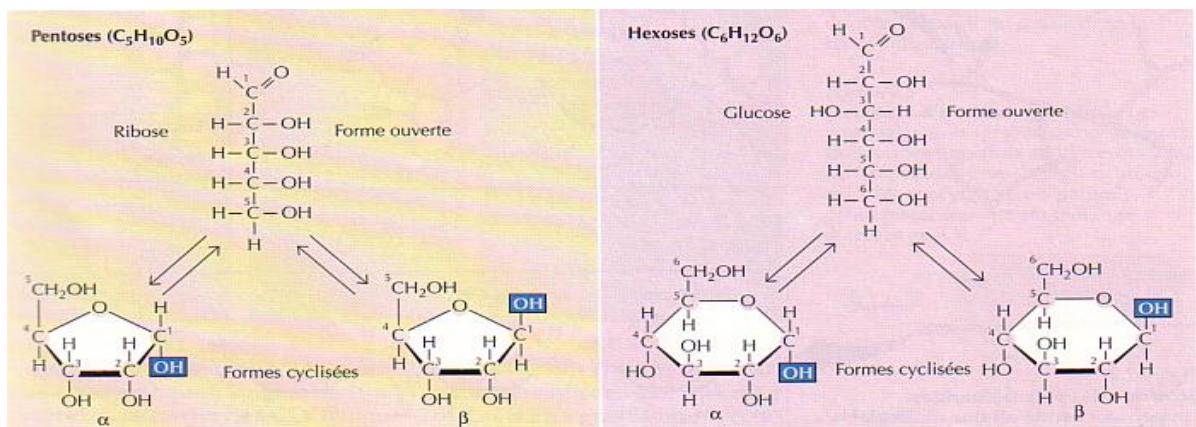
Molécules hydrophile, hydrophobe, amphiphile



Molécules hydrophile, hydrophobe, amphiphile



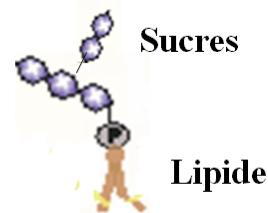
Les glucides



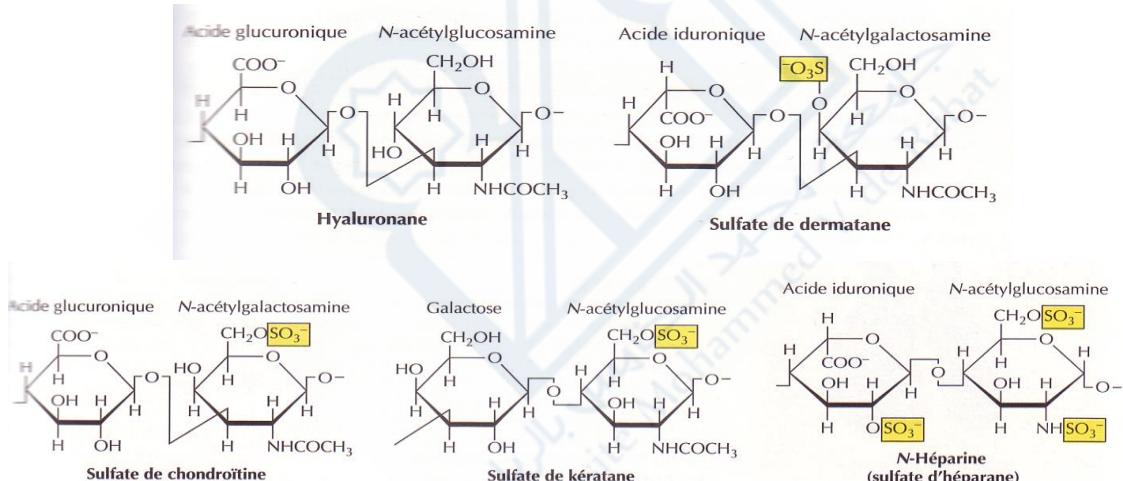
des glycoprotéines



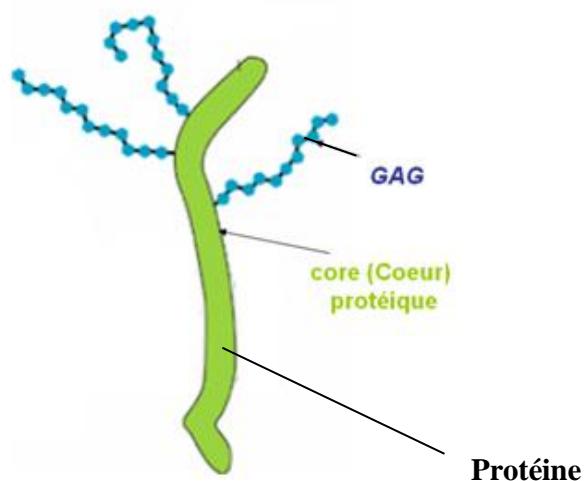
des glycolipides

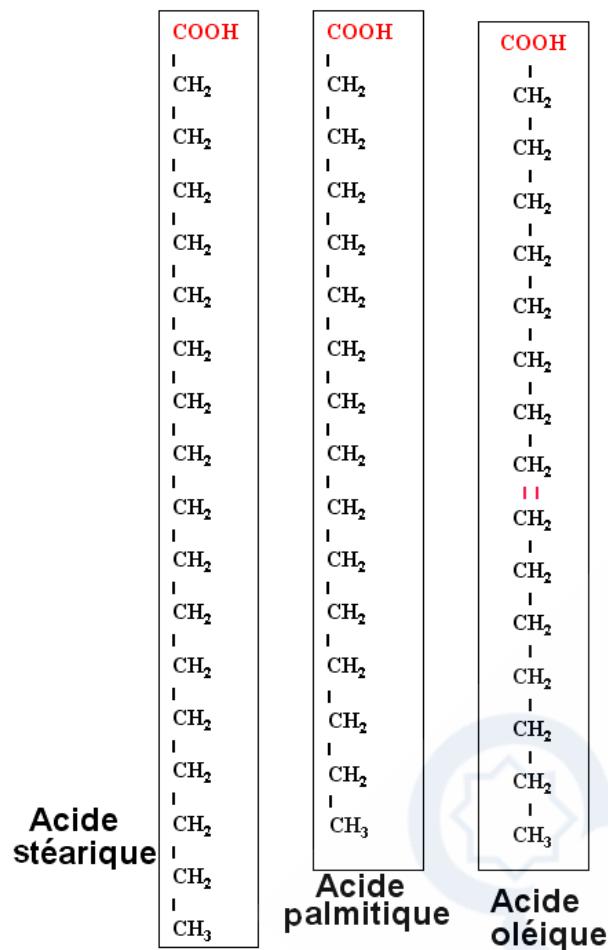


Glycosaminoglycans (GAG)

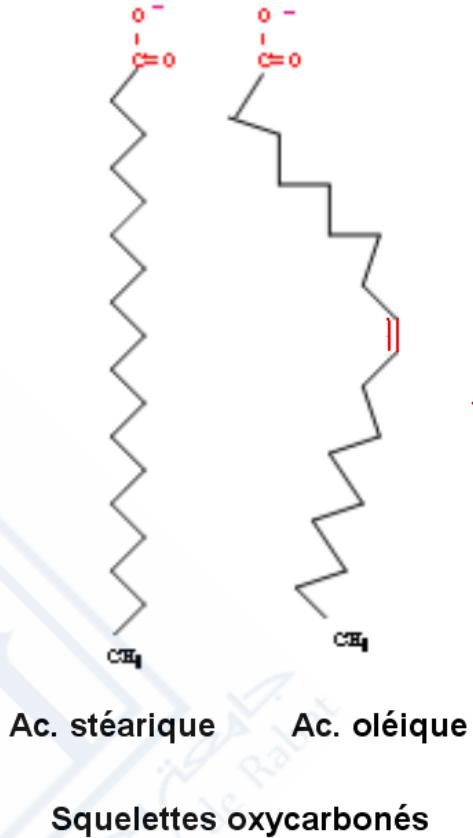


Protéoglycans ou Mucoprotéines

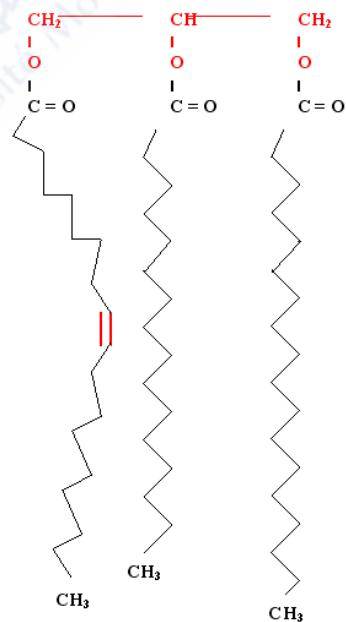
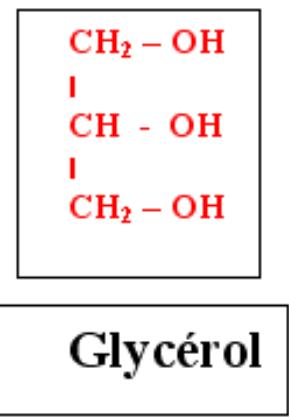




Lipides: acides gras



Lipides: glycérol, glycérides

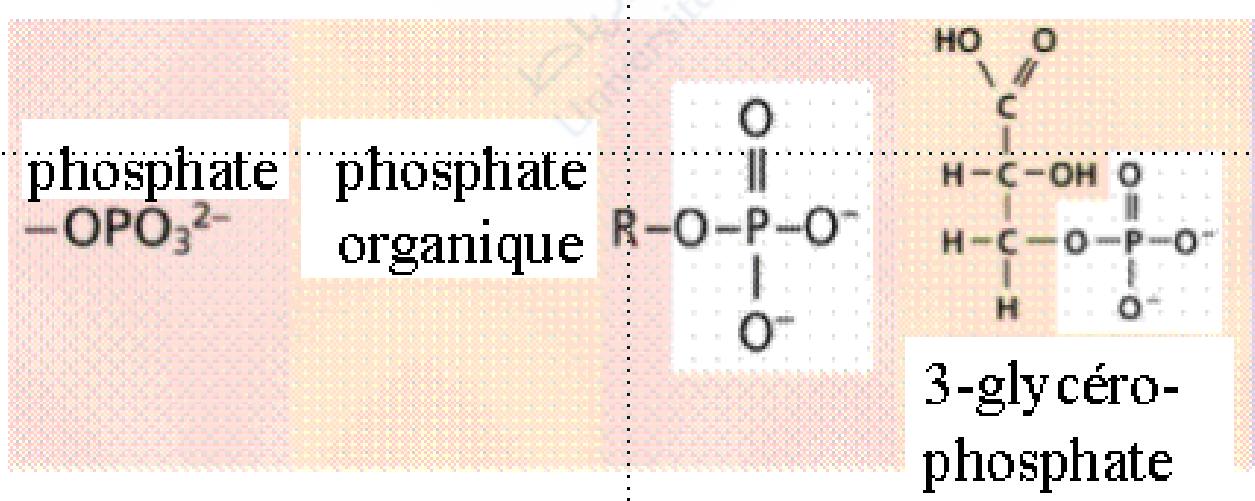


Triglycéride

Acide phosphorique. Phosphoryle

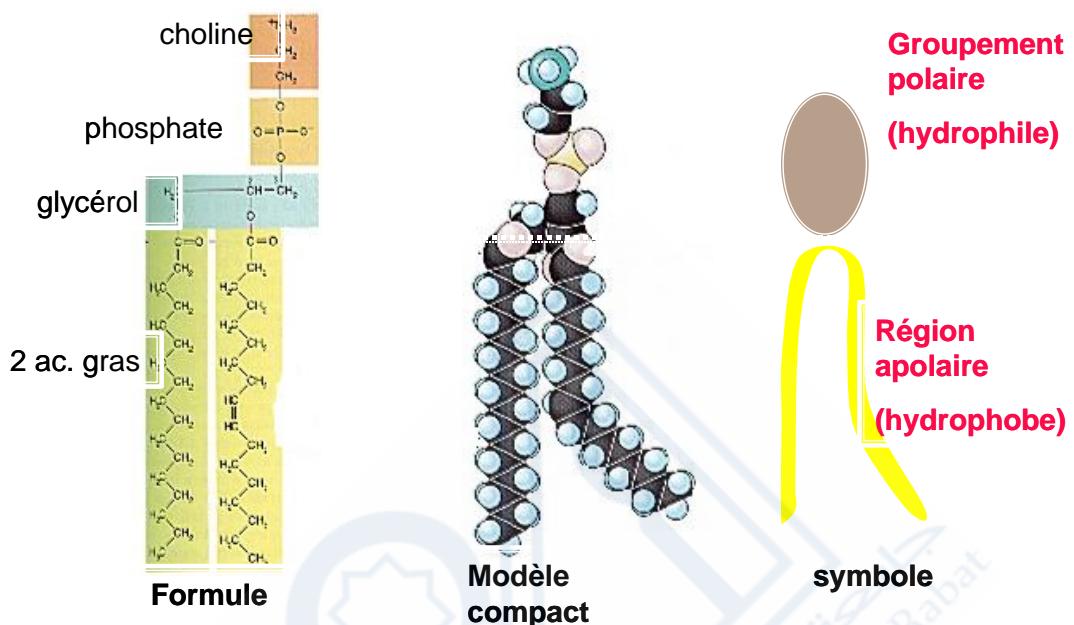
	Formule	Abréviation
Acide phosphorique	H_3PO_4	$(P)OH$
Phosphoryle (extrémité de chaîne)	$-P(OH)_2$	$-P$
Phosphoryle (milieu de chaîne)	$-P(=O)(OH)$	$-P-$

Phosphate. Glycérophosphate

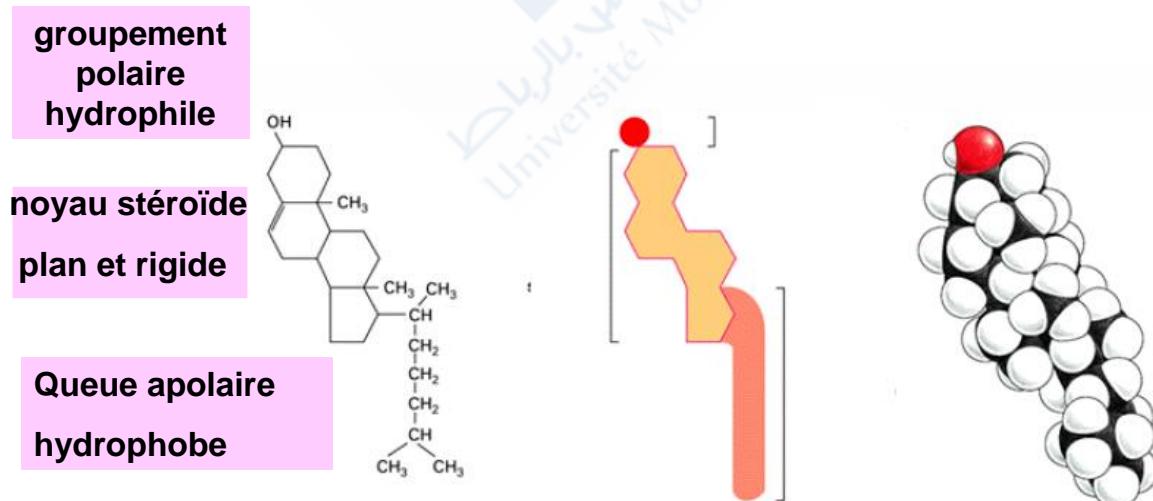


Phospholipide membranaire

Phosphatidylcholine



Le cholestérol

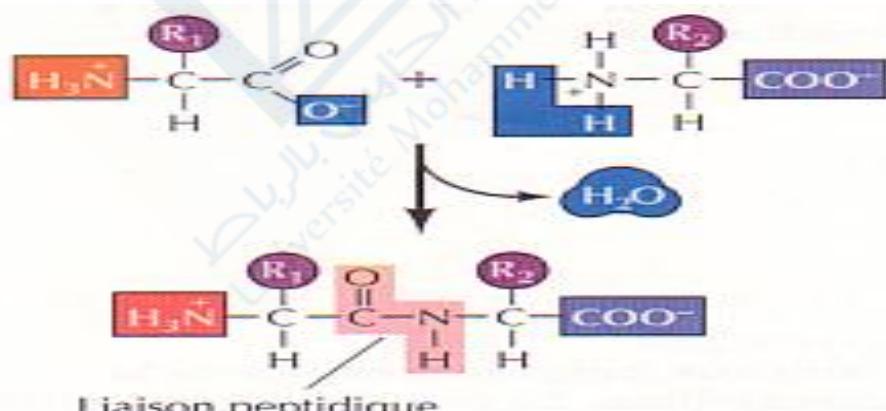


Les acides aminés

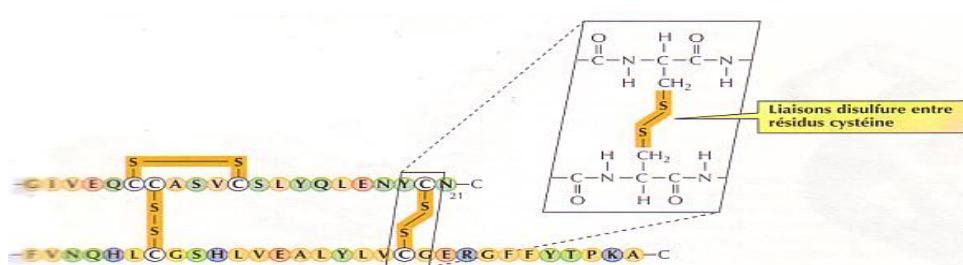
Les 20 acides aminés entrant dans la constitution des protéines

 Hydrophobes	 Hydrophiles neutres
 Hydrophiles acides (-)	 Hydrophiles basiques (+)

Liaison peptidique

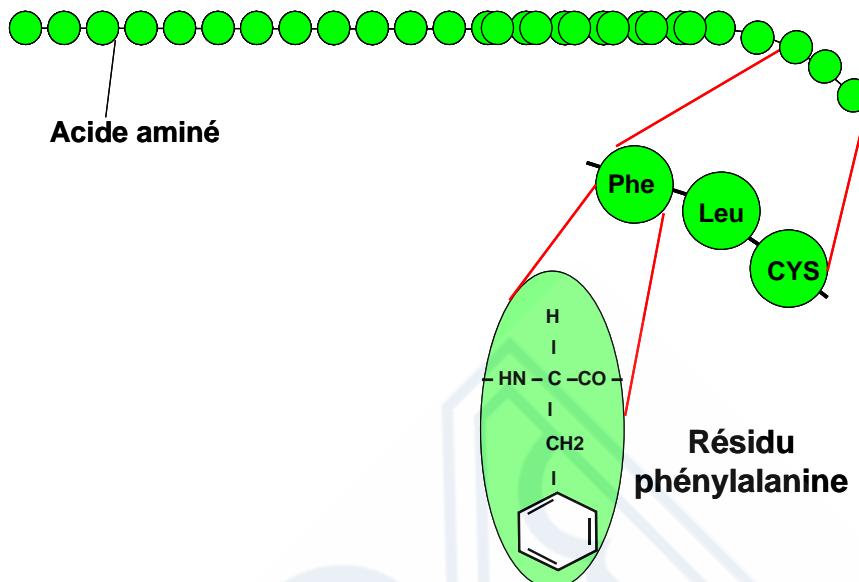


Pont disulfure



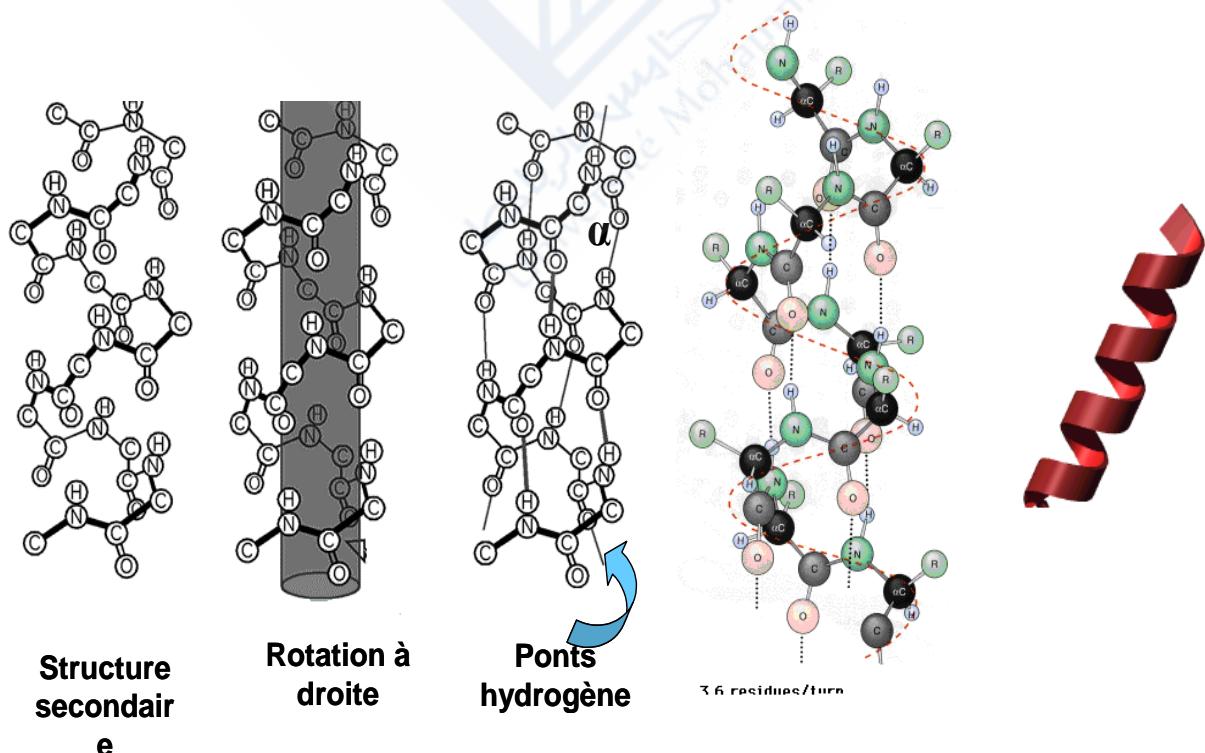
Structure des protéines

Structure primaire : séquence d'acides aminés

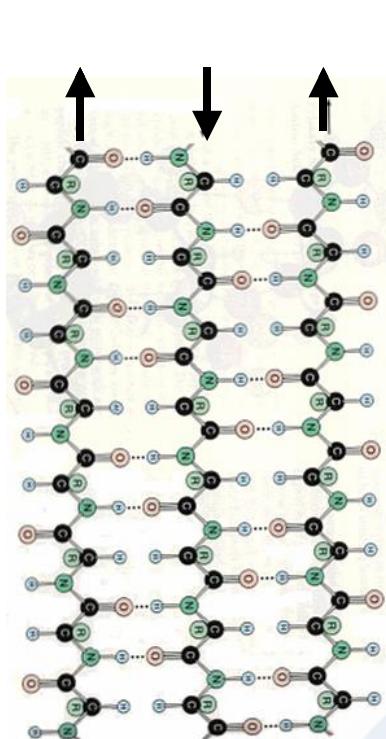


Structure secondaire

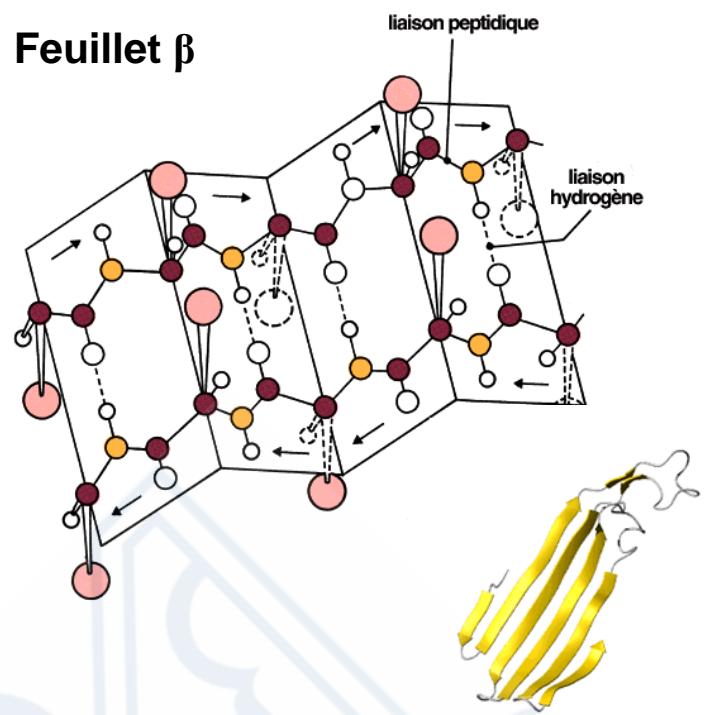
Hélice α



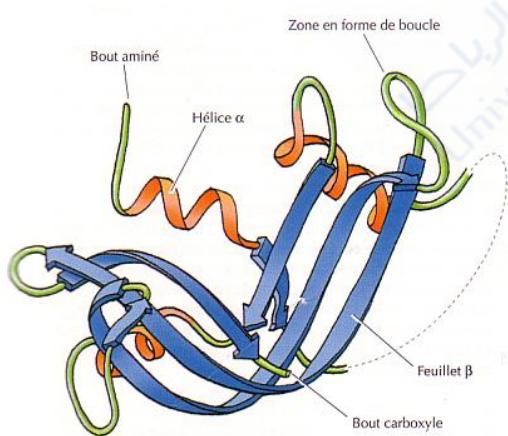
Structure secondaire



Feuillet β

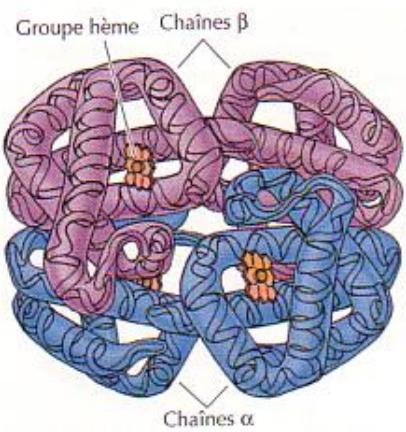


Structure tertiaire

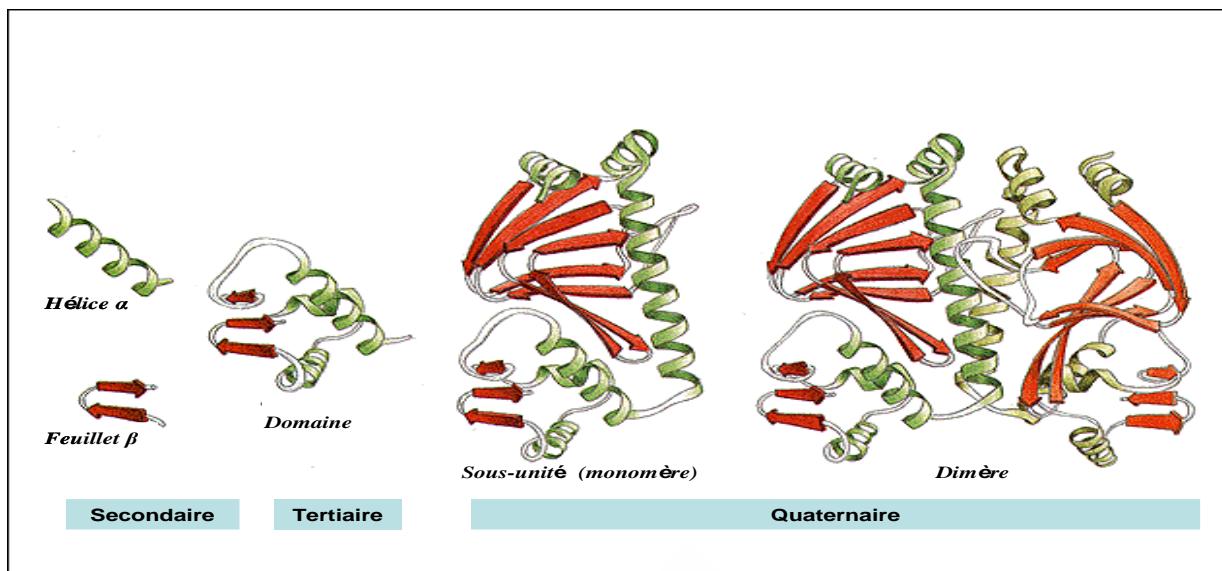


Globine

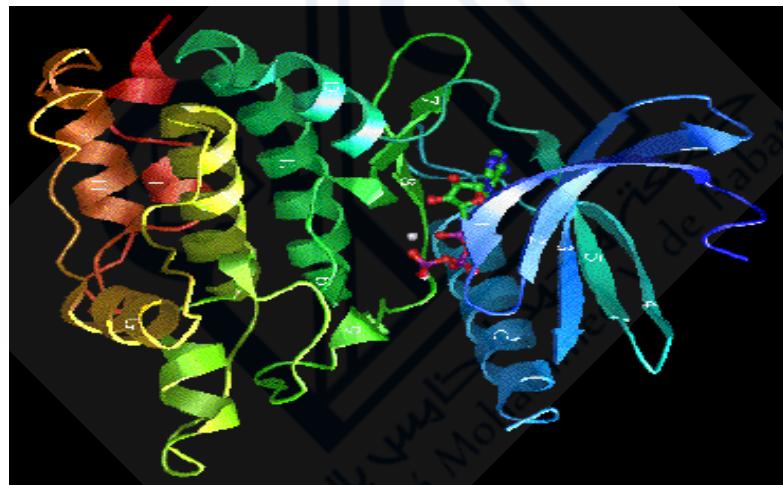
Structure quaternaire



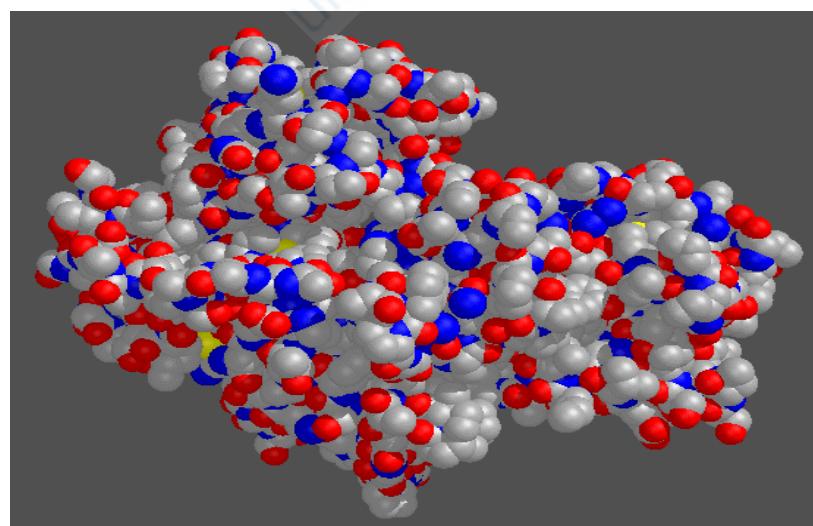
Hémoglobine (Tétramère)



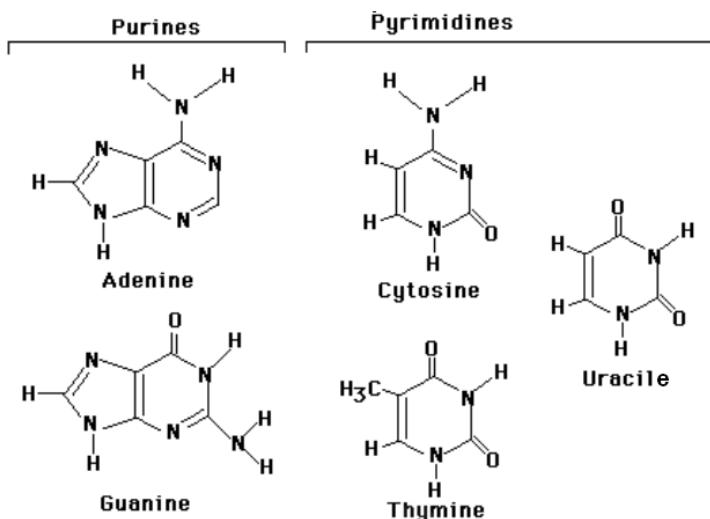
Modèles de structure tertiaire



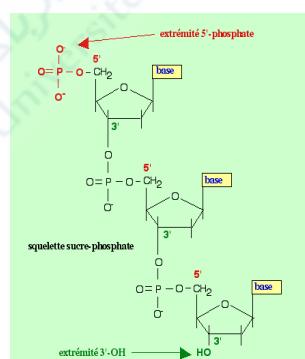
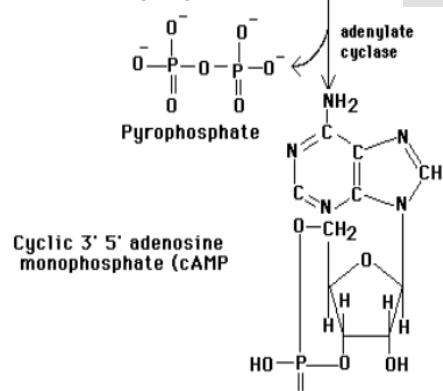
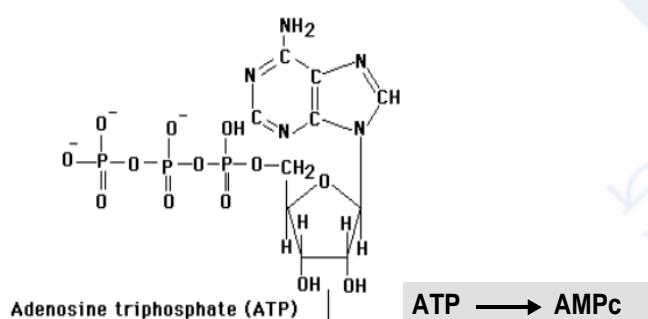
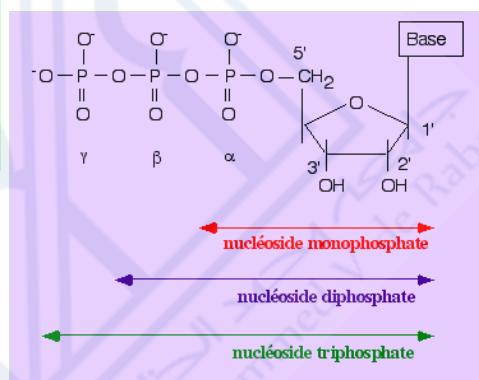
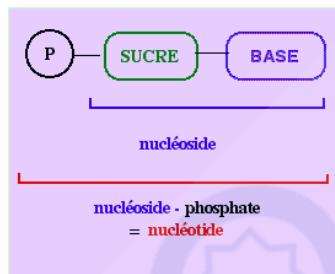
Modèle compact d'une protéine



Les bases



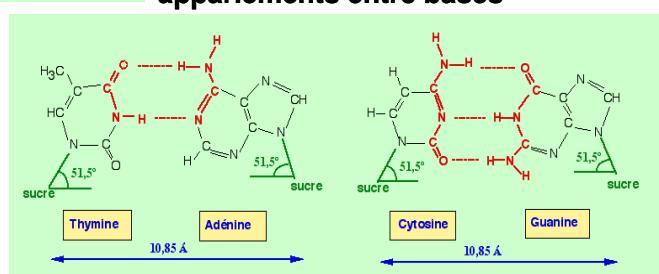
Nucléosides, nucléotides



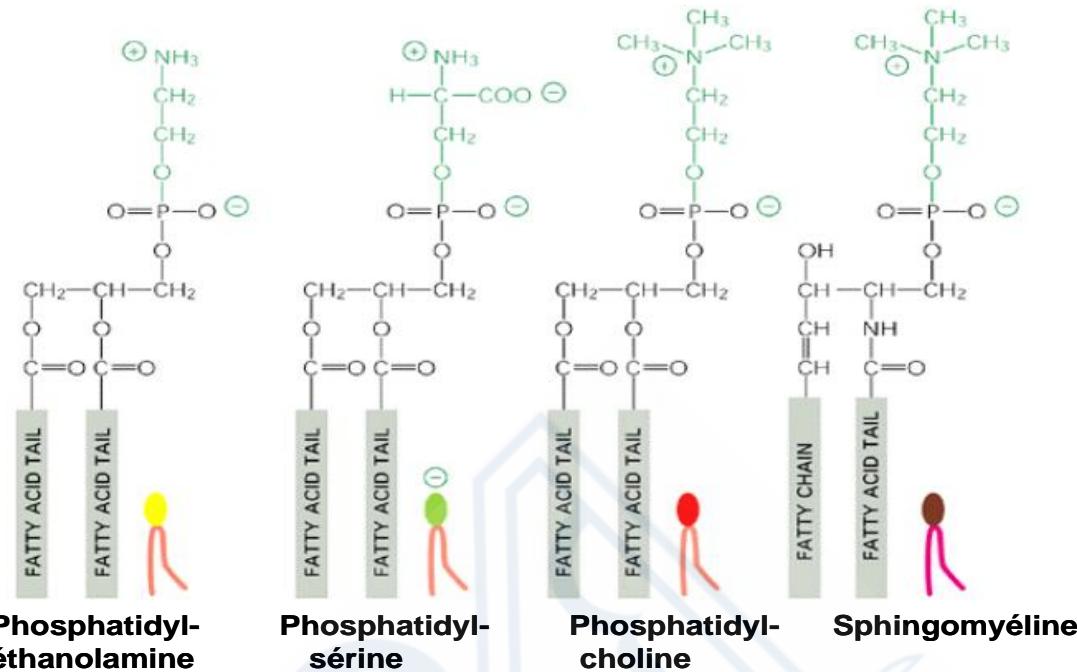
Acides nucléiques

Structure primaire de l'ADN:
la liaison phosphodiester

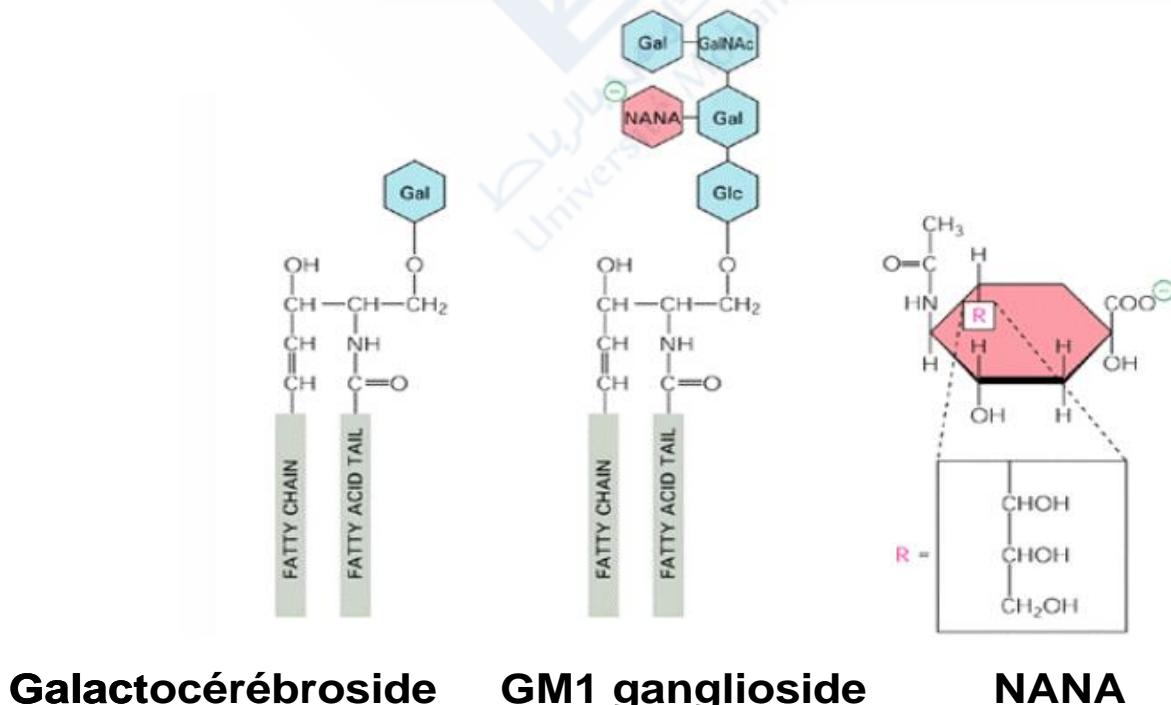
Structure secondaire de l'ADN:
appariements entre bases



Les principaux phospholipides membranaires



Les glycolipides



Galactocéribroside

GM1 ganglioside

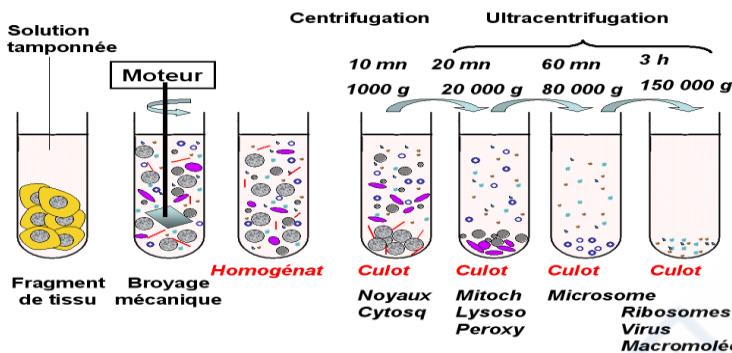
NANA

Méthodes de séparation des particules et des protéines

I. Fractionnement subcellulaire par centrifugation

- La centrifugation différentielle ou zonale

Les particules peuvent être séparées selon leur forme et leur taille par *centrifugation* et *ultracentrifugation*



- Les particules obtenues par ultracentrifugation sont caractérisées par leur **coefficient** ou **constante de sédimentation**. Ces coefficients (*s*), en secondes, sont donnés par l'équation

$$S = \frac{1}{\omega^2} \cdot \frac{dr}{dt}$$

où *r* est la distance à partir de l'axe de rotation en cm,

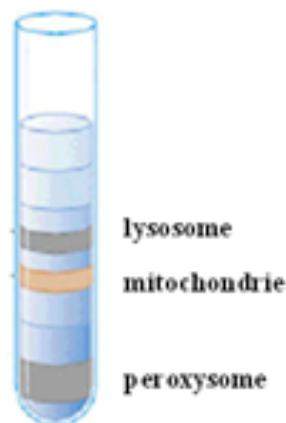
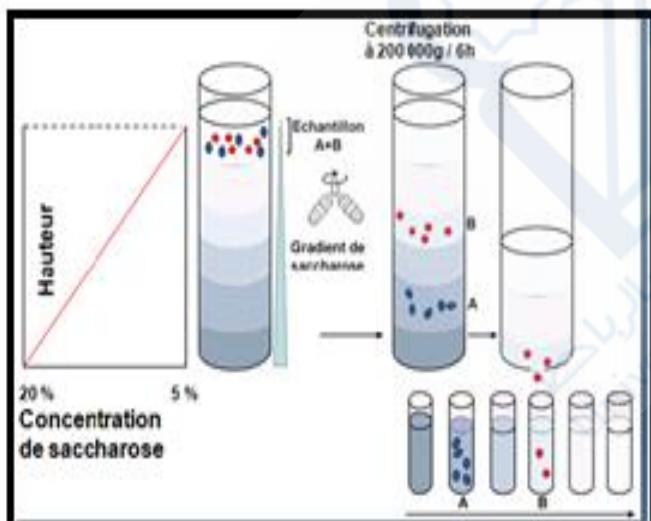
$\frac{dr}{dt}$ la vitesse de sédimentation en cm / sec et

ω est la vitesse angulaire du rotor en radians / sec.

- Etant donné que ces coefficients sont des nombres très petits, ils sont exprimés en unités Svedberg (S) où $1 S = 1 \times 10^{-13} \text{ sec}$

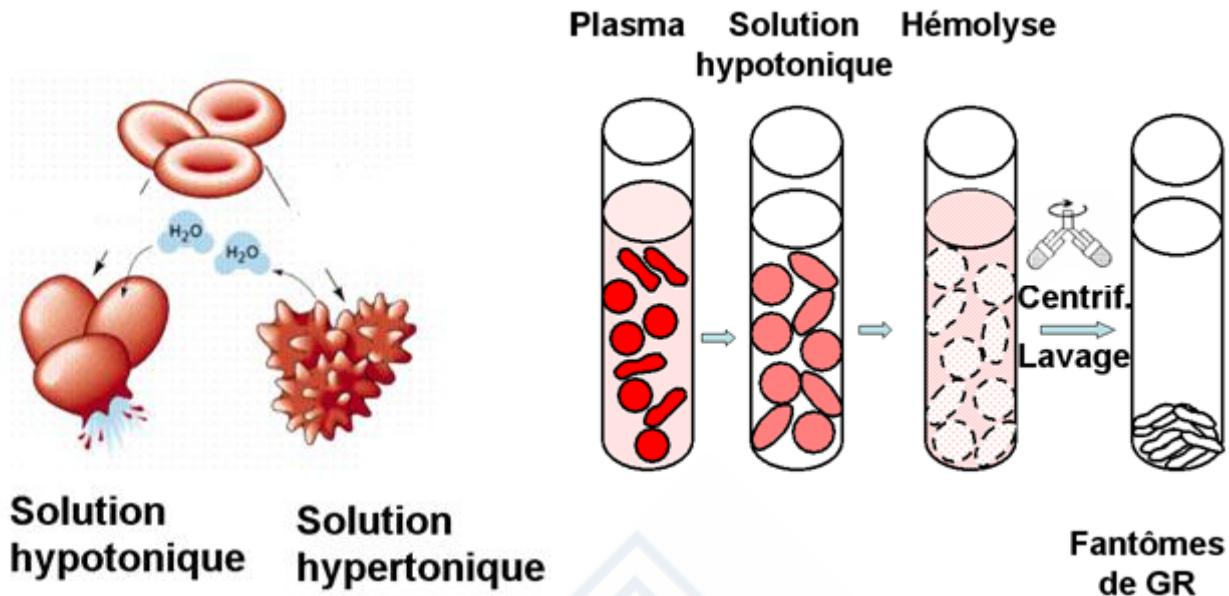
- La centrifugation isopycnique

Les fractions obtenues par centrifugation zonale ne sont pas suffisamment pures. Elles peuvent être soumises à une centrifugation *isopycnique* qui consiste en une centrifugation à l'équilibre en gradient de densité. Les fractions seront ainsi séparées en une série de bandes, indépendamment de leur forme et de leur taille mais selon leur *densité de flottaison*, dans un gradient de densité contenant une forte concentration de saccharose.



Particules et molécules	Densité	Coefficient de sédimentation
Lysosome	1, 18	9 400 S
Ribosome eucaryote petite sous-unité	1, 57	80 S
grande sous-unité	1, 57	40 S
ADN	1, 68	60 S
	2	10 à 10 000 S 2 à 100 S

Préparation de fractions de MP de GR



II. Chromatographie

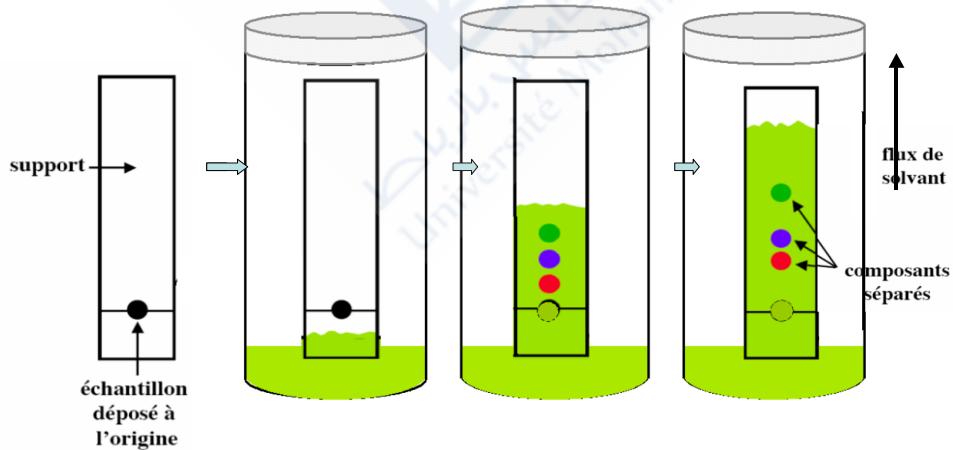
- **Principe**

Elle permet de séparer de petites molécules (oses, acides aminés, nucléotides), ainsi que des macromolécules au sein d'une phase mobile qui circule sur un support solide ou matrice

Deux grands types de chromatographie :

- Chromatographie de partage
- Chromatographie sur colonne

Chromatographie de partage



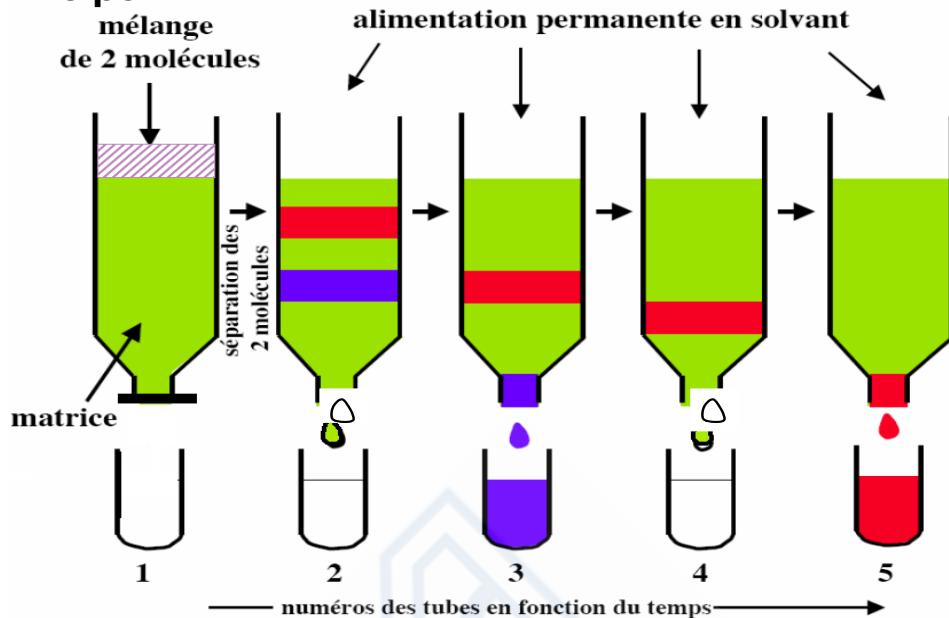
Sur papier ou sur couche mince

La séparation des molécules est fonction de leur solubilité relative dans un mélange de solvants (par exemple eau et alcool).

Les molécules les plus solubles dans la phase mobile migrent le plus loin, alors que les molécules les plus solubles dans la phase aqueuse migrent le moins loin

Chromatographie sur colonne

Principe

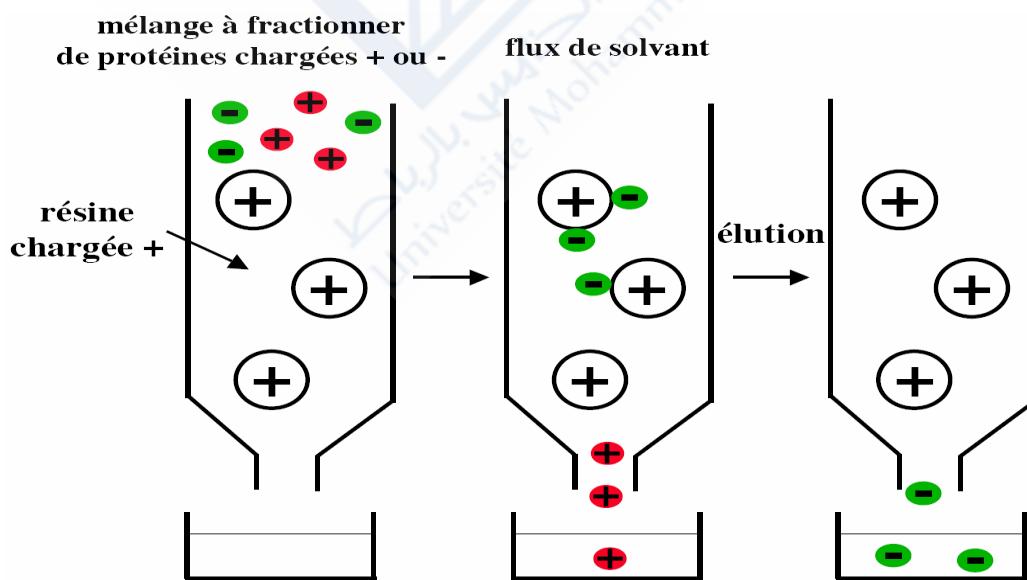


Le mélange de protéines entraîné par le solvant (*phase mobile*) passe à travers une colonne contenant une matrice poreuse (*phase stationnaire*). Les composants de l'échantillon se déplacent à des vitesses différentes selon leur interaction avec la matrice.

La matrice peut être de différents types :

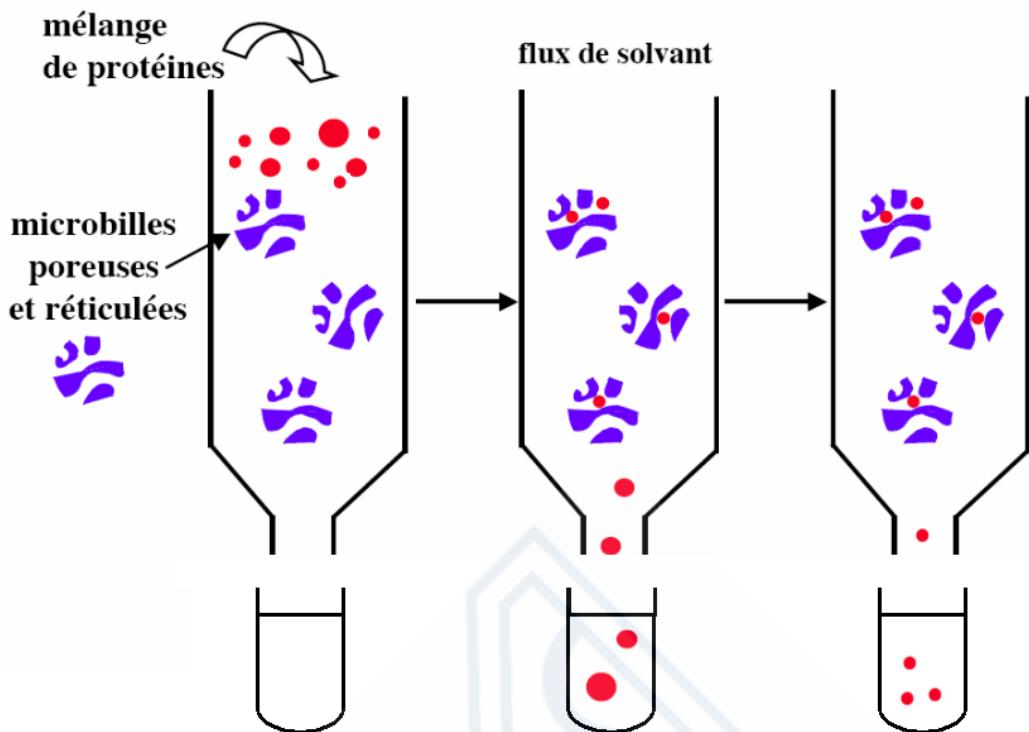
- chromatographie par échange d'ions
- chromatographie par gel filtration

Chromatographie par échange d'ions



- . Permet la séparation de molécules selon leur charge électrique
- . La matrice (*phase stationnaire*) est constituée de billes de cellulose auxquelles sont liées des groupements chargés + ou -
- Le solvant constitue la *phase mobile*

Chromatographie par gel filtration

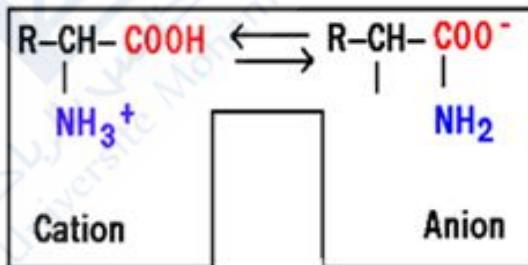


- Les molécules sont séparées selon leur taille
- La matrice est faite de microbilles poreuses et réticulées
- Les grosses molécules ne pénètrent pas dans les billes et sont non retardées
- Les petites molécules traversent les billes et sont retardées

III. Electrophorèse des protéines

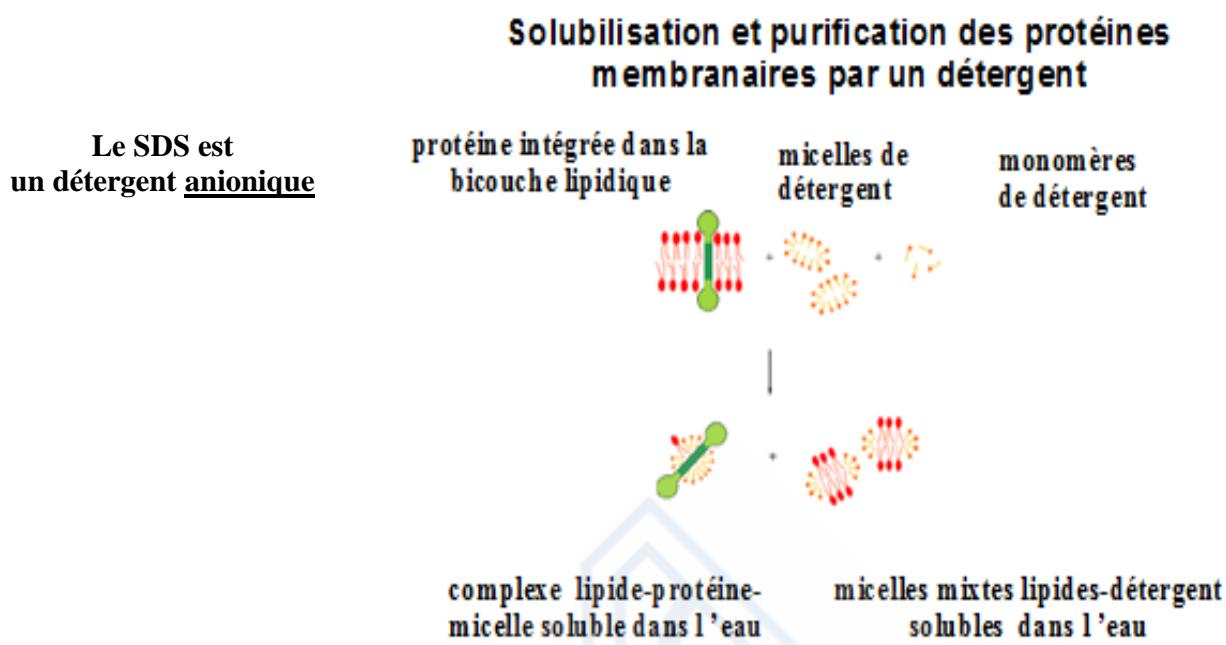


Ensemble du dispositif d'électrophorèse



Les protéines sont de grosses molécules qui peuvent être chargées électriquement. Elles migrent vers "plus" si elles sont chargées négativement, vers "moins" si elles sont chargées positivement. La méthode la plus performante est l'électrophorèse des protéines en présence de sodium dodécylsulfate (SDS). Le SDS est un détergent anionique. En présence de fraction MP, le SDS en excès forme des *micelles* aussi bien avec les lipides qu'avec les protéines.

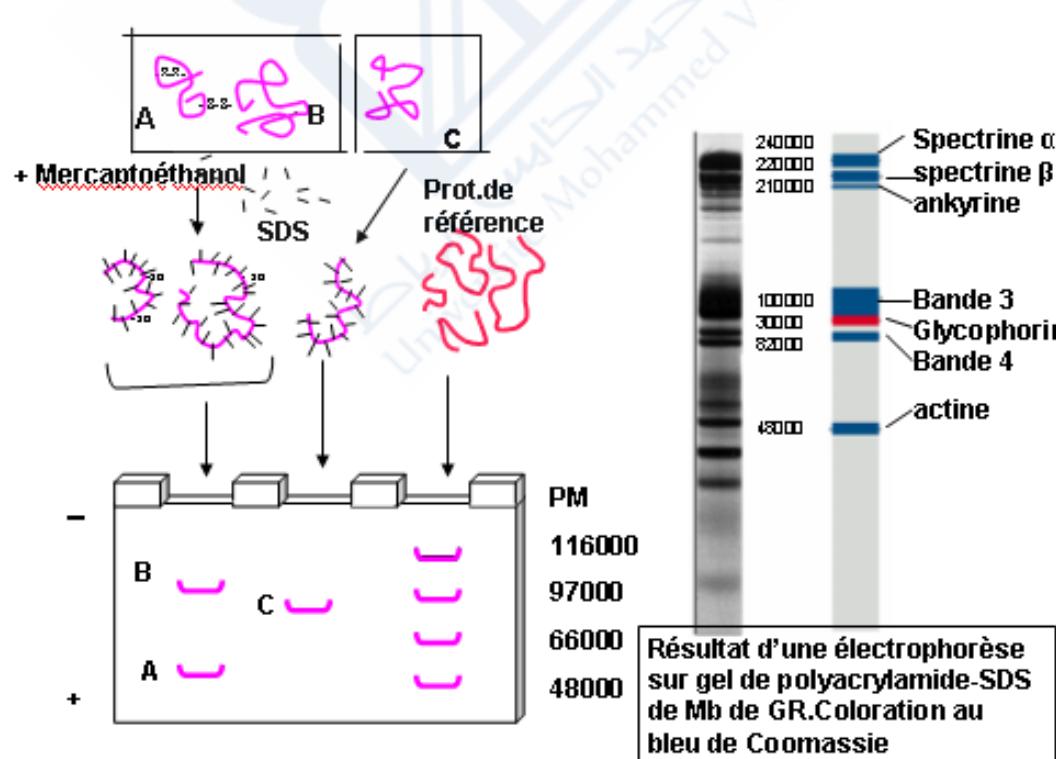
Le SDS, (ajouté à l'action d'une température élevée qui dénature les protéines et à l'action du *mercaptoéthanol* qui réduit les ponts disulfures éventuels) permet le dépliement des protéines et leur assure la même densité de charge. Ainsi les protéines vont migrer selon leur poids moléculaire (PM)



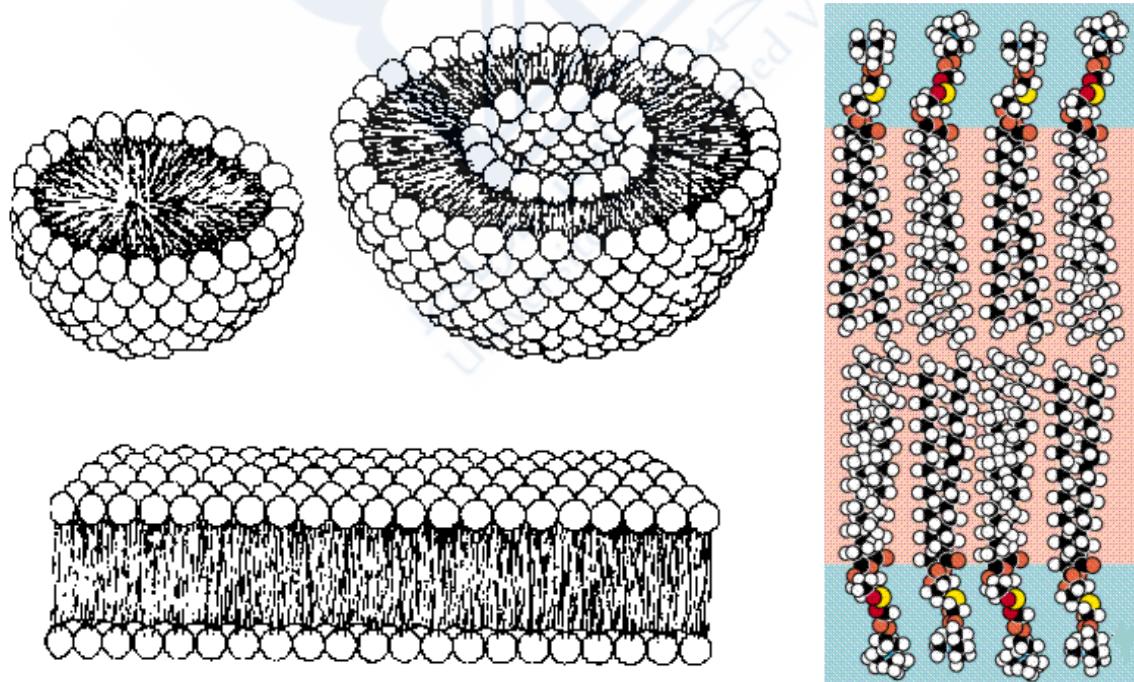
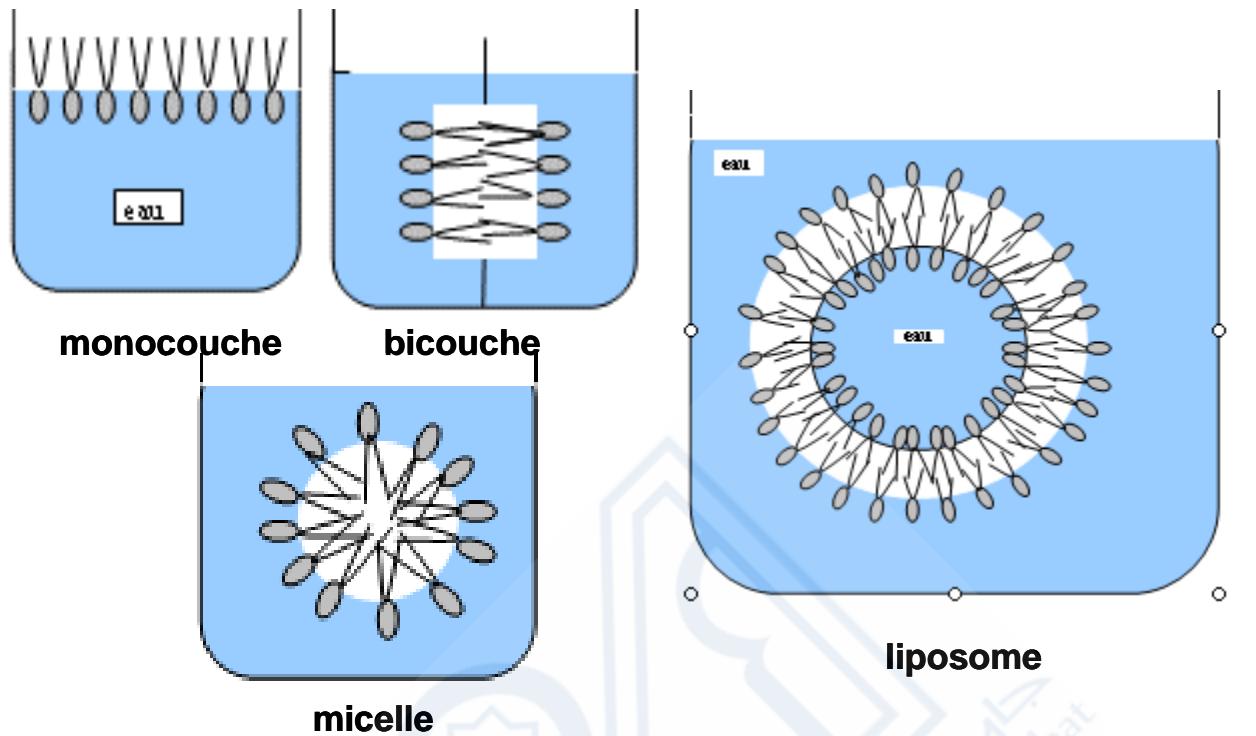
Dans le cas de la MP, on obtient un tracé électrophorétique sur lequel apparaissent plusieurs bandes après coloration correspondant à des protéines de différents PM.

NB: plus la bande est colorée, plus il y a de protéines.

Electrophorèse SDS-page

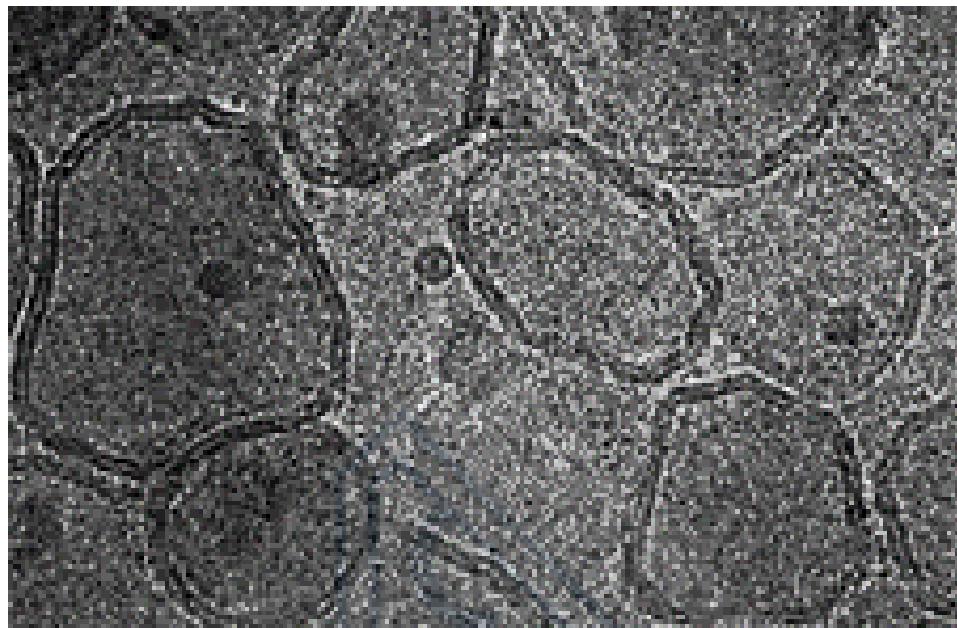


Les lipides membranaires sont des molécules amphiphiles

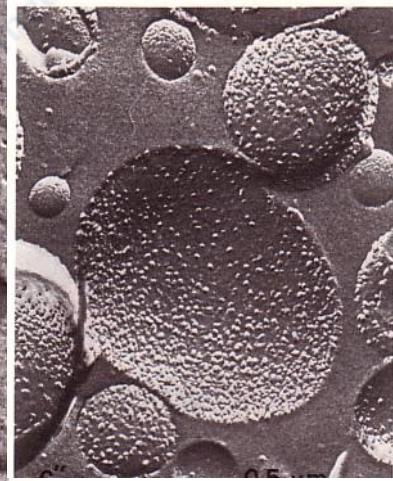
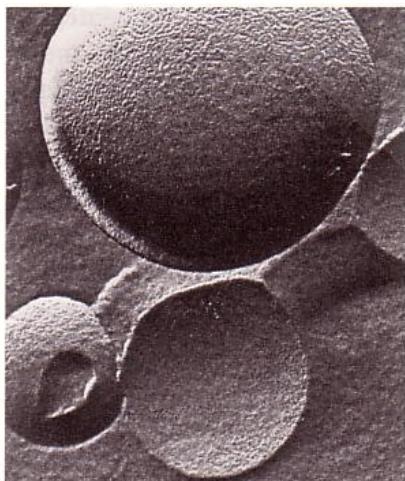


Liposomes

MET



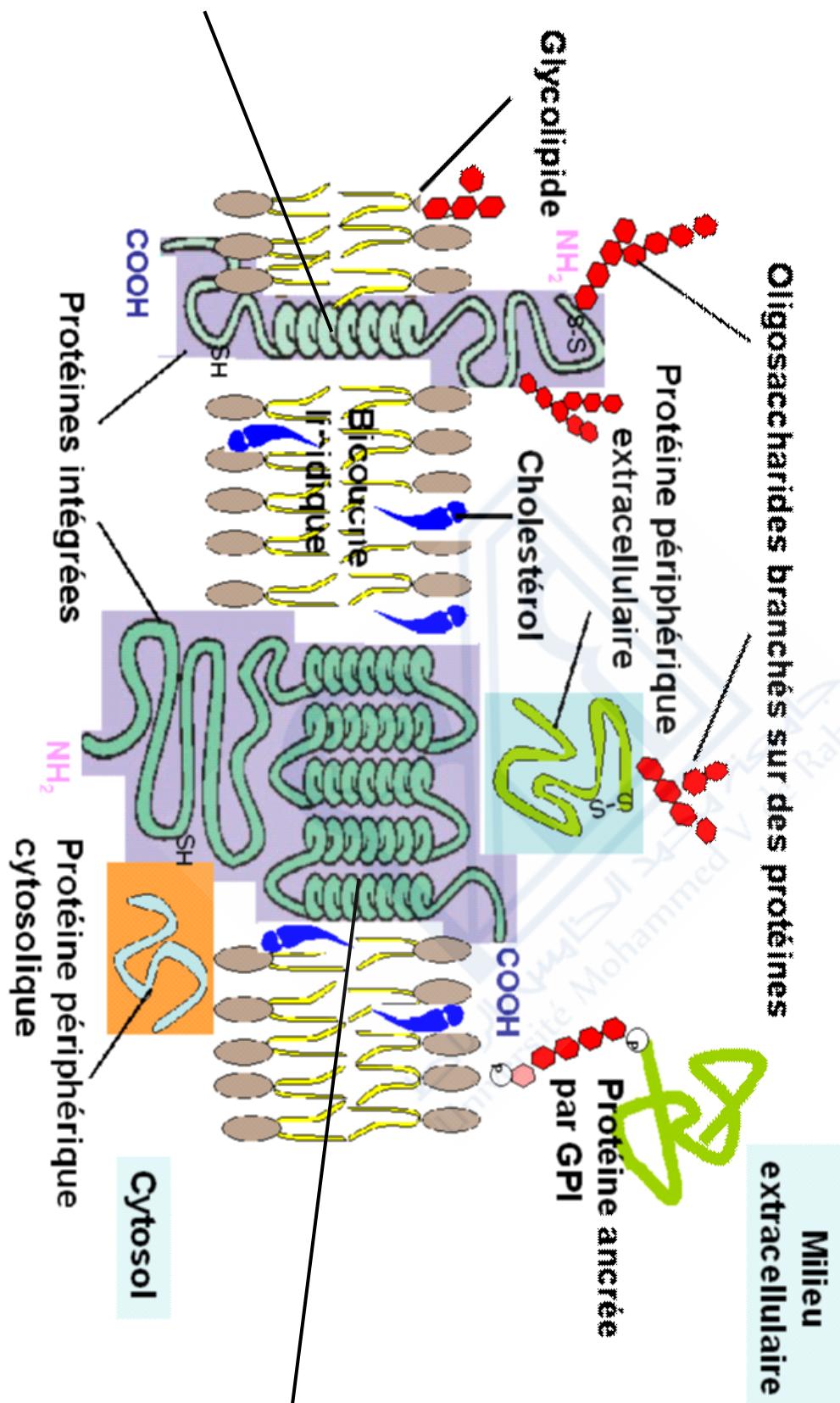
MET. Cryodécapage



Liposomes :
lipides seuls

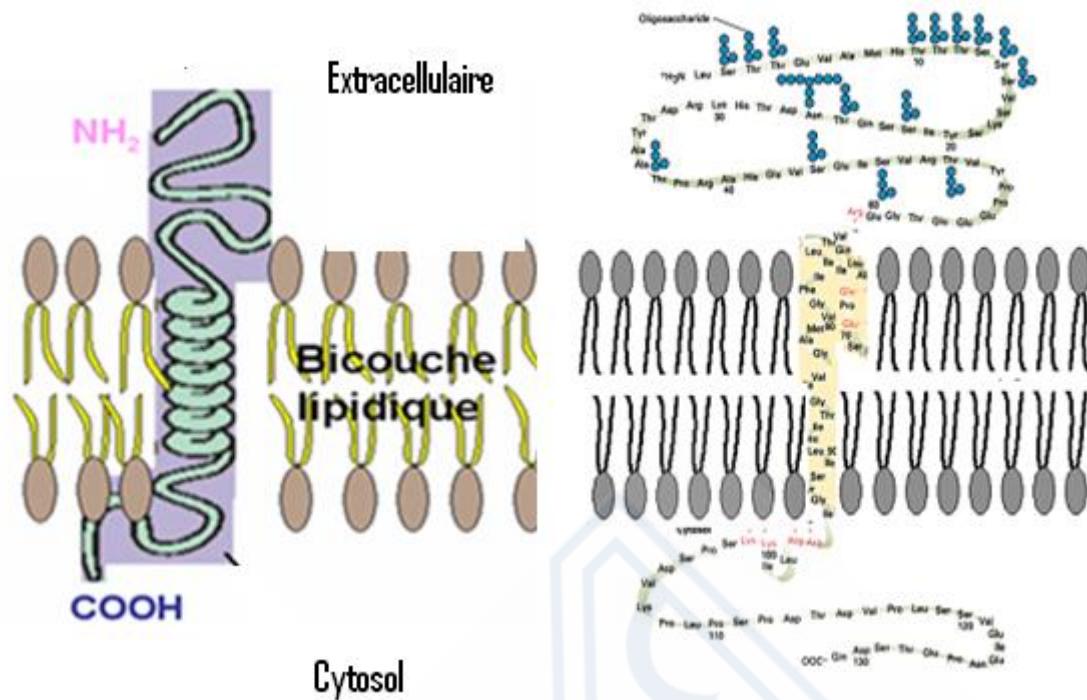
Liposomes:
lipides +
protéines
intégrées

Organisation moléculaire de la MP

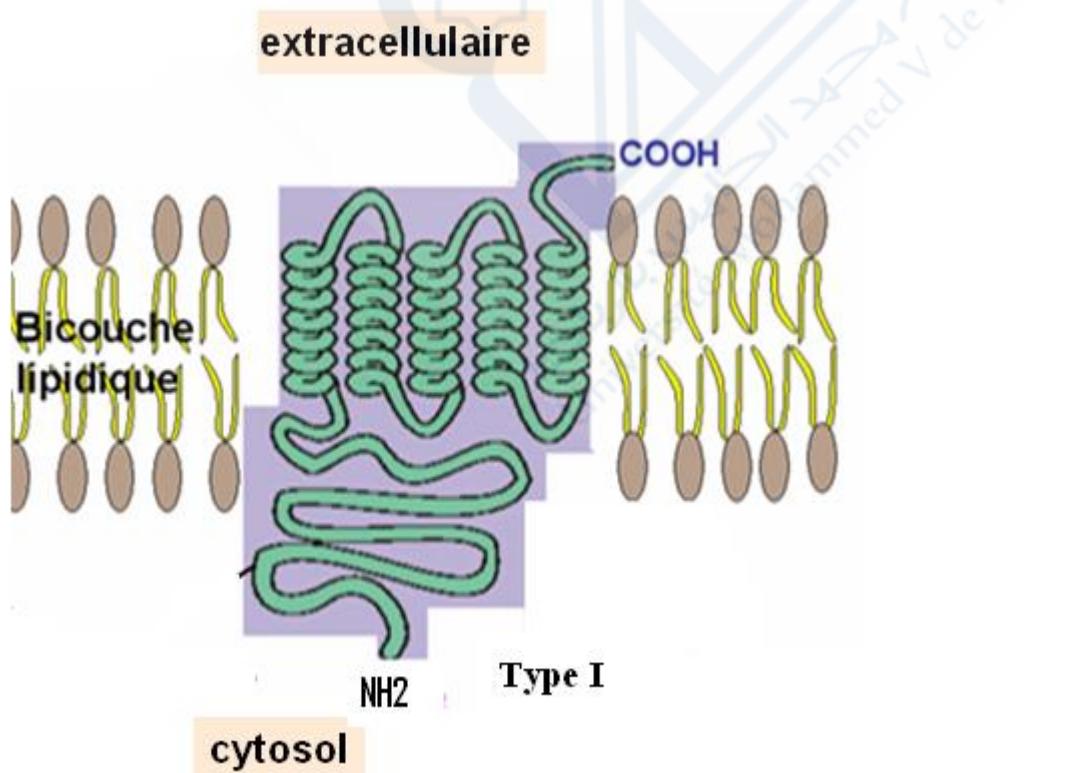


Protéine bitopique

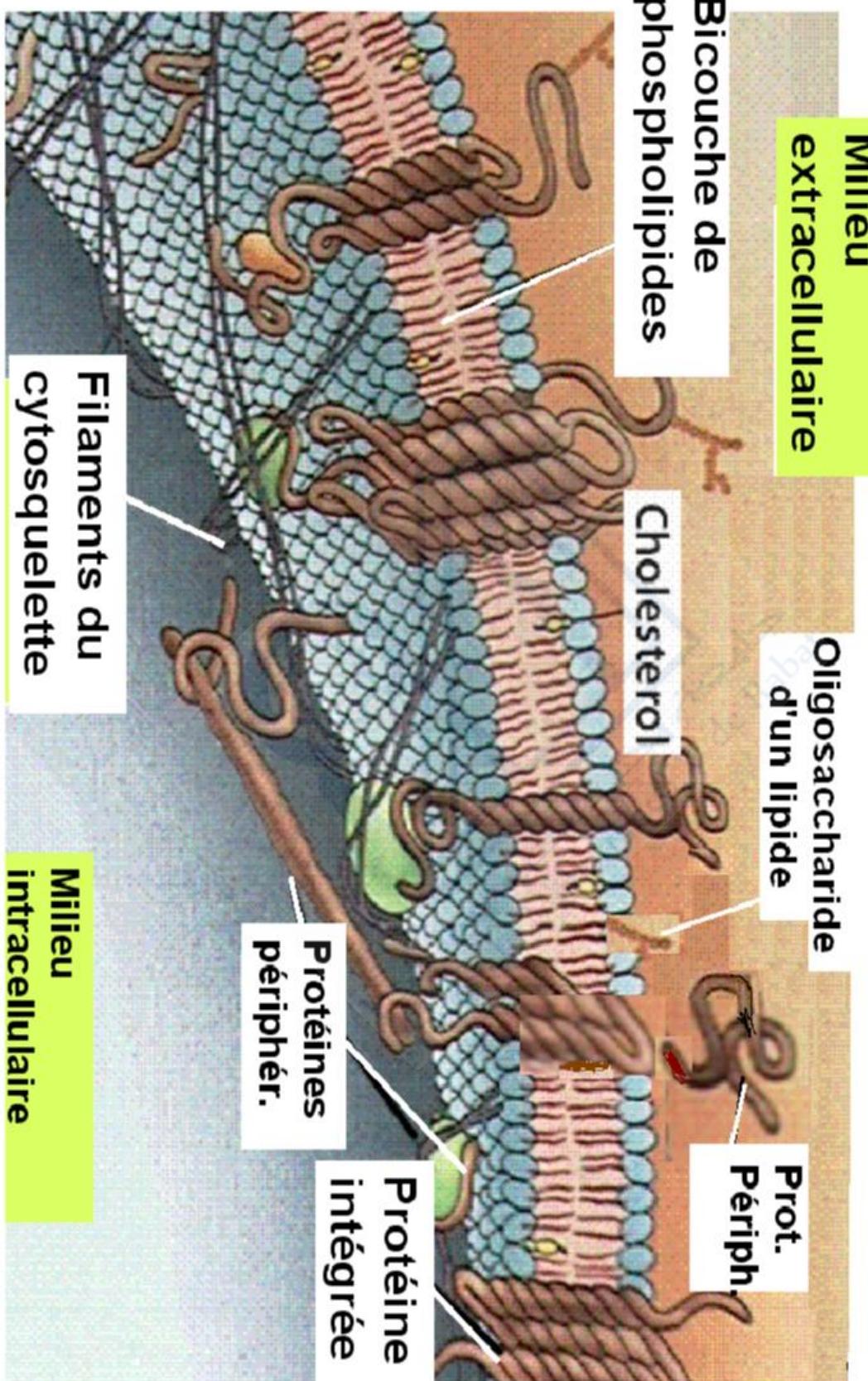
Exemple : Glycophorine



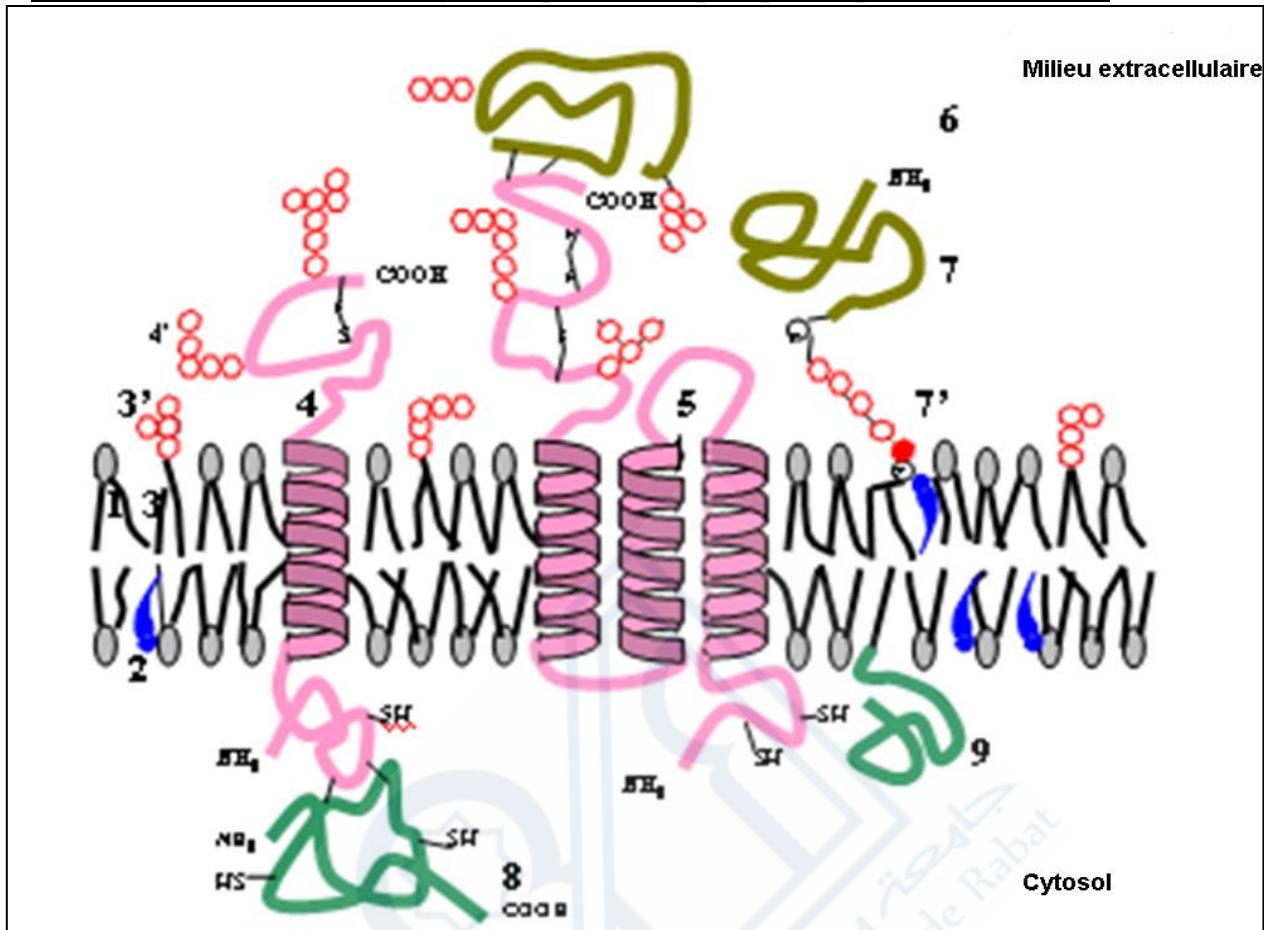
Protéine polytopique



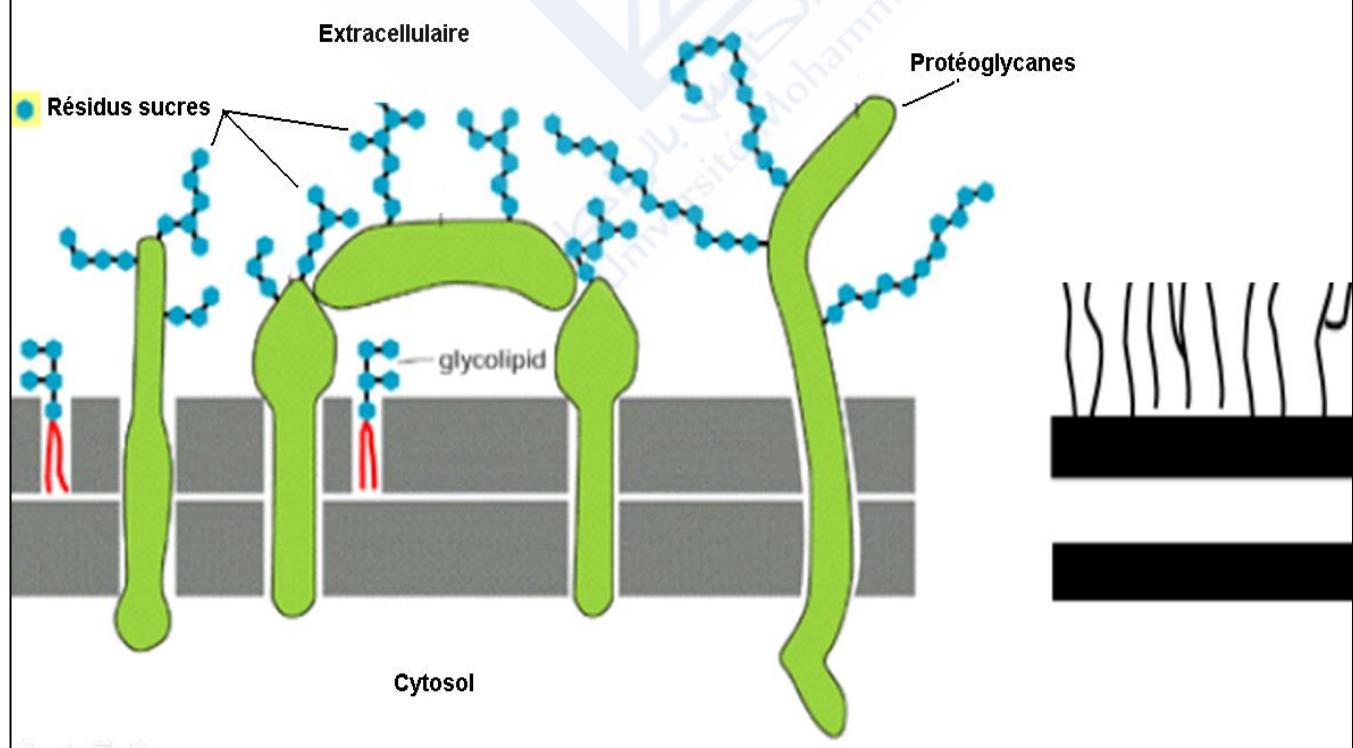
Organisation moléculaire de la MP



Différents modes d'ancrage des protéines périphériques dans la MP



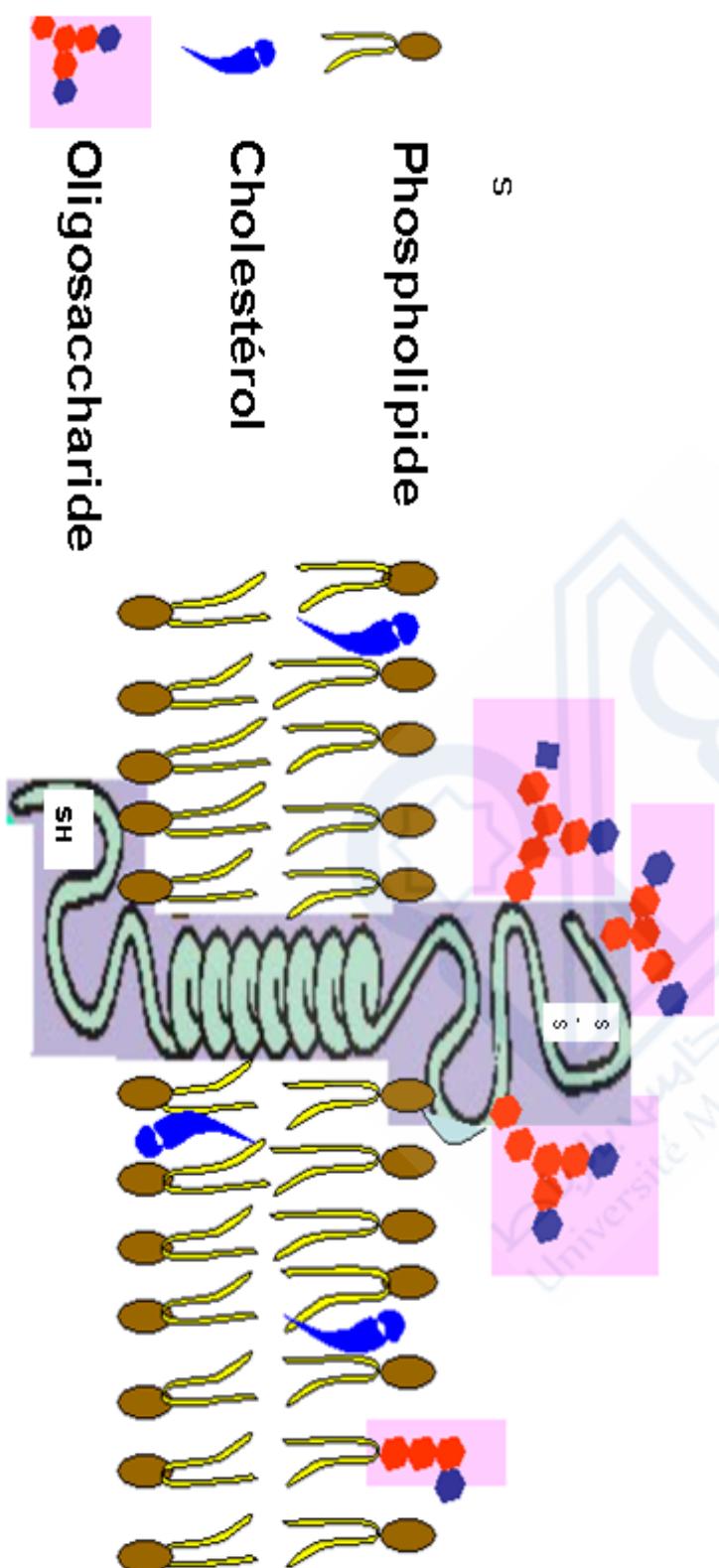
Revêtement cellulaire ou cell coat ou glycocalyx



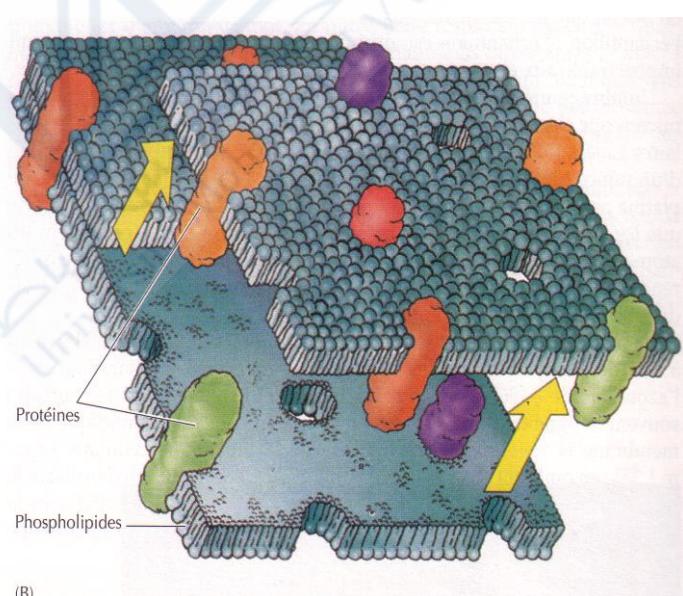
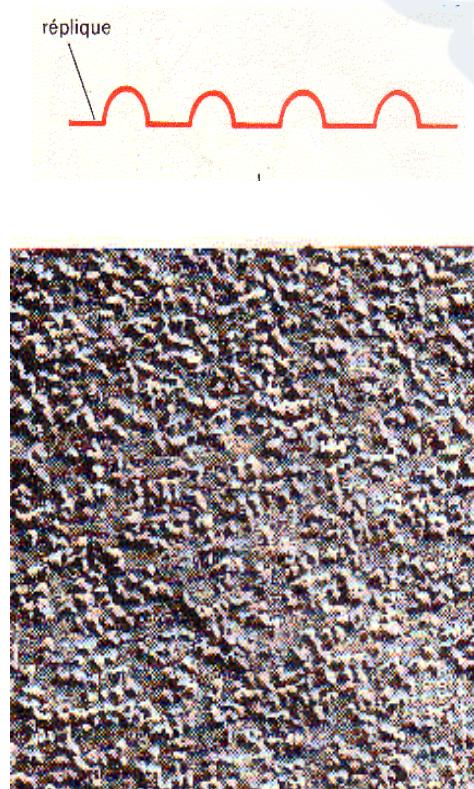
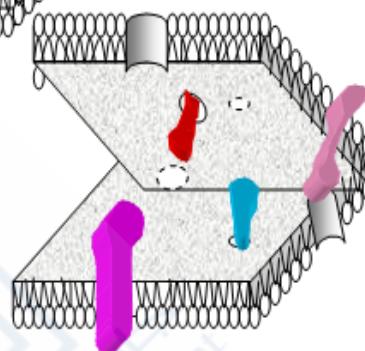
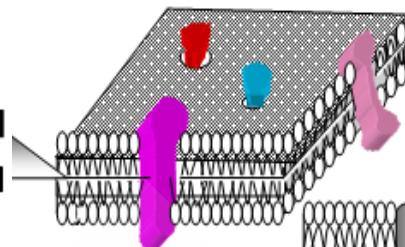
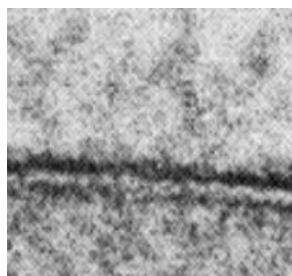
Organisation moléculaire de la MP

Les oligosaccharides des glycolipides et des glycoprotéines sont situés sur la face extracellulaire de la MP; ils contribuent à la structure du revêtement cellulaire (cell coat).

Les ponts S - S éventuels sont du côté extracellulaire alors que les SH sont du côté intracellulaire.



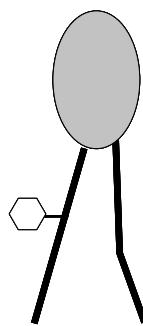
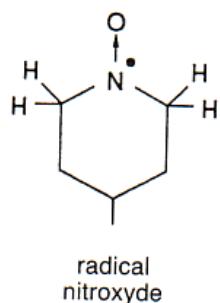
Corrélations entre les images de MET de coupes minces et de répliques d'une part, et l'architecture moléculaire de la MP d'autre part



(B)

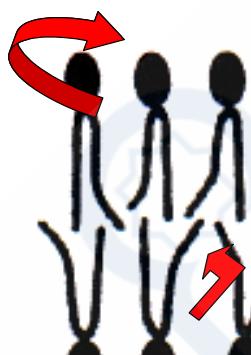
Mobilité des lipides

Phospholipide marqué par un groupe nitroxide

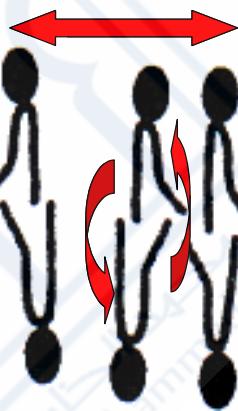


Différents mouvements

1. Rotation



2. Diffusion latérale

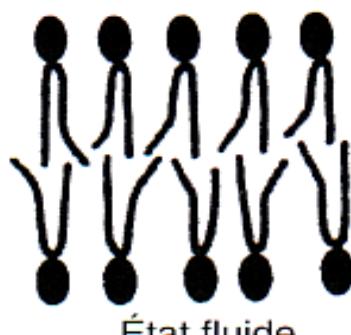


3. Flexion

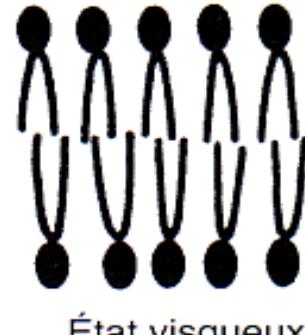


4. Bascule ou flip-flop
exceptionnel

Fluidité de la membrane



État fluide



État visqueux

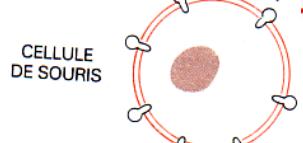
Acides gras insaturés

Acides gras saturés

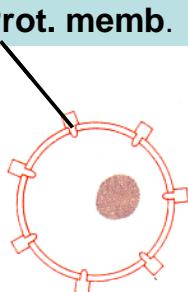
Mobilité des protéines

Production d' anticorps et leur marquage par des molécules fluorescentes

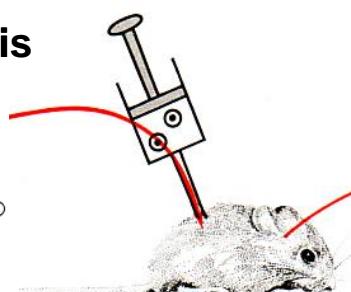
Cel. souris



Prot. memb.

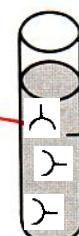


Cel. humaine

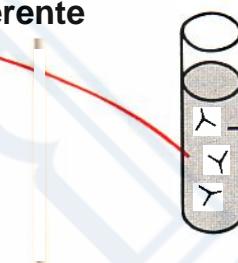


Souris d'une souche différente

Fluorescéine



sérum anti-cellule de souris

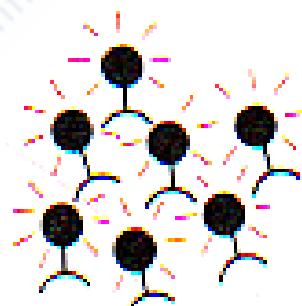


Rhodamine

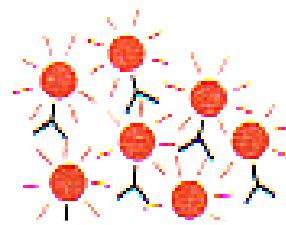


Production d' anticorps et leur marquage par des molécules fluorescentes

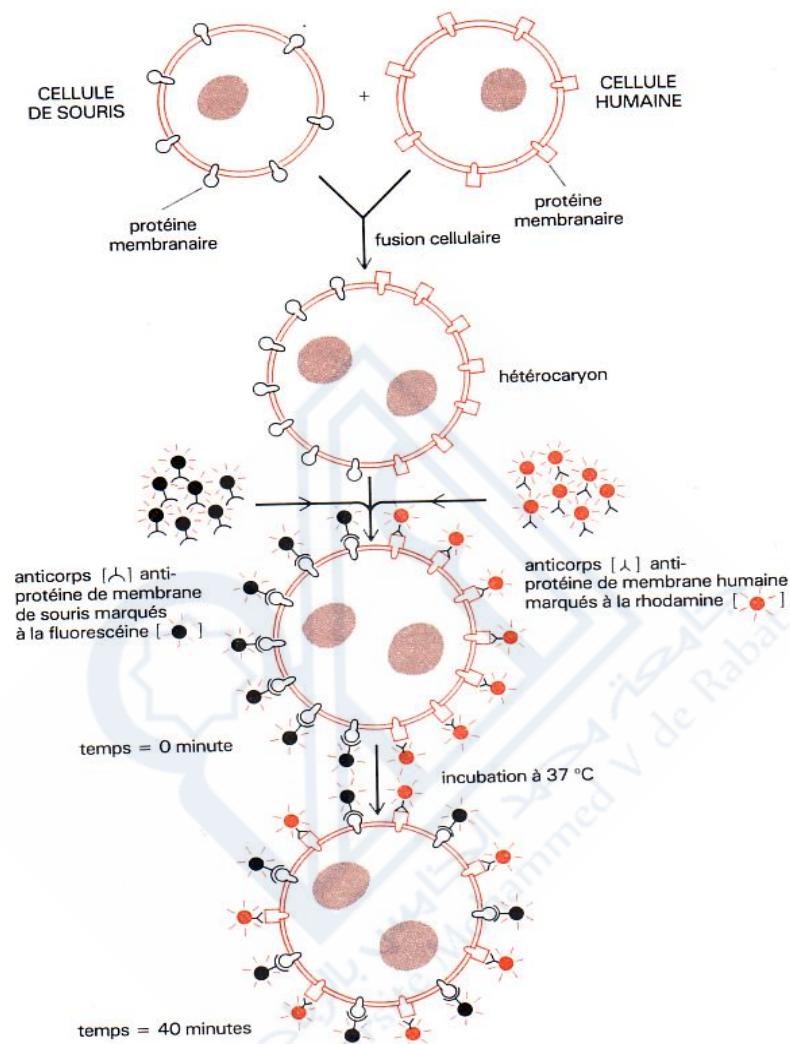
anticorps [Y] anti-protéine de membrane de souris marqués à la fluorescéine [●]



anticorps [Y] anti-protéine de membrane humaine marqués à la rhodamine [●]

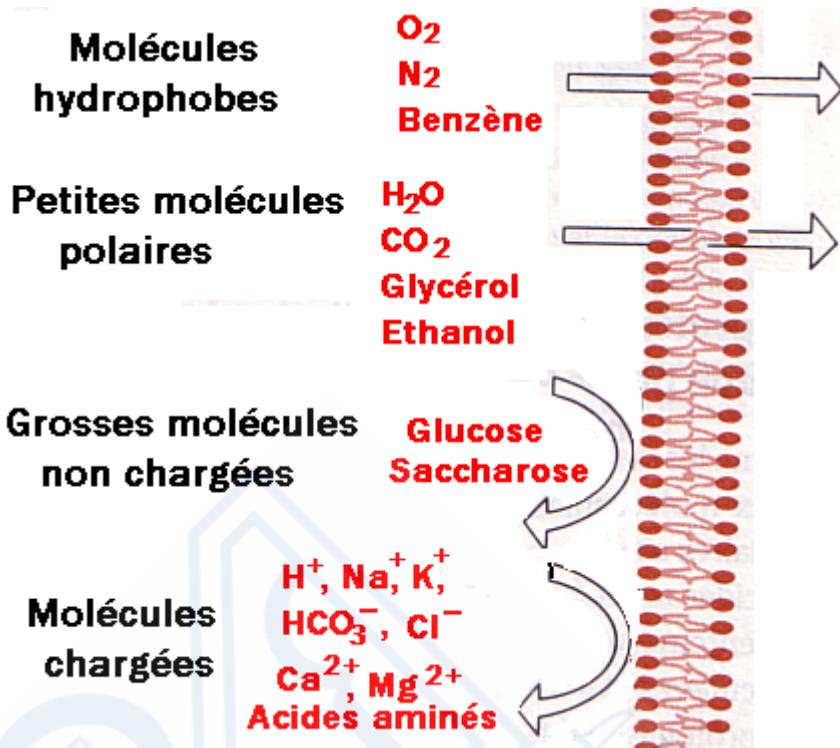


Hybridation somatique et marquage par anticorps fluorescents



Transport membranaire

Membrane artificielle lipidique



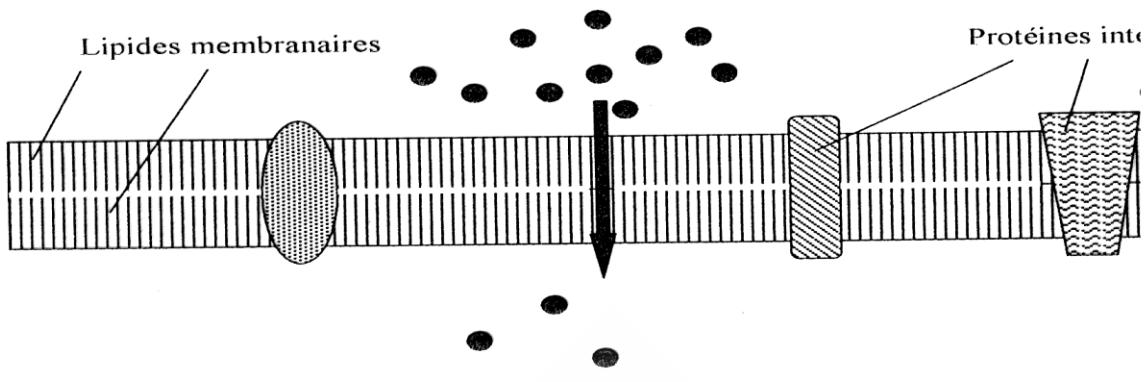
Concentrations (en mM) des principaux ions dans les milieux intracellulaire et extracellulaire d'une cellule de mammifère typique

[Na^+] 5-15	[Na^+] 145
[K^+] 139	[K^+] 5
[Mg^{2+}] 0,5	[Mg^{2+}] 1-2
[Ca^{2+}] 10^{-4}	[Ca^{2+}] 1-2
[H^+] 8×10^{-5} ($10^{-7,1}M$ ou pH 7,1)	[H^+] 4×10^{-5} ($10^{-7,4}M$ ou pH 7,4)
[Cl^-] 5-15	[Cl^-] 110
[HCO_3^-] 12	[HCO_3^-] 29
Protéines (-)	H ₂ O

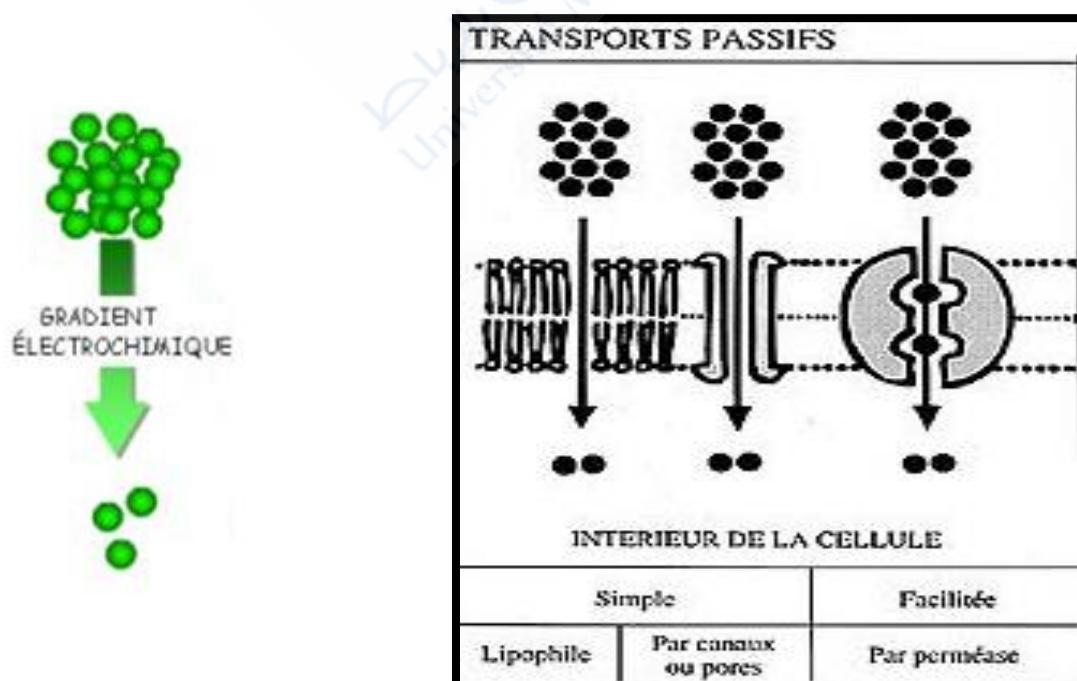
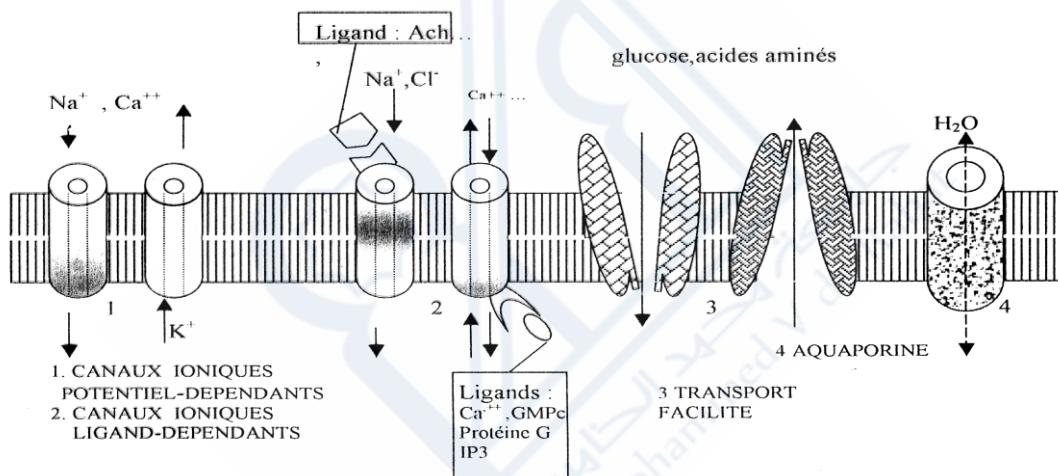
Les transports passifs

1. TRANSPORT PASSIF SANS TRANSPORTEUR OU DIFFUSION SIMPL
se fait dans le sens du gradient de concentration ,sans consommation d'énergie

O₂ , CO₂ ,NO, H₂O, ...



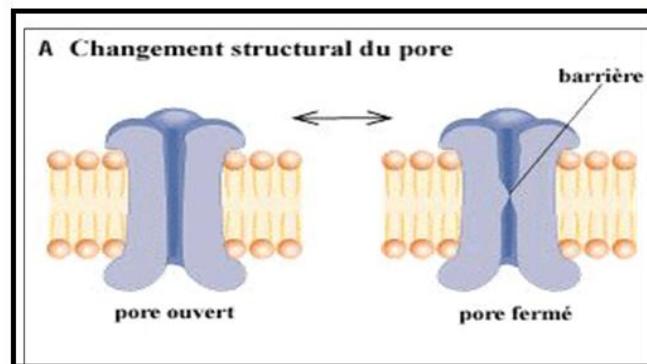
2. TRANSPORT PASSIF AVEC TRANSPORTEUR :
se fait dans le sens du gradient de concentration sans consommation d'énergie



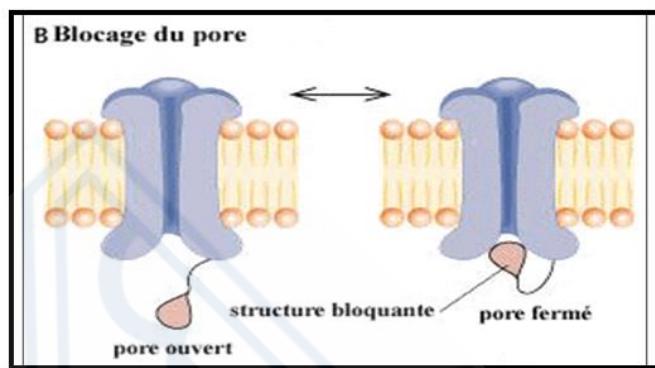
Les canaux ioniques

- Le canal peut être ouvert ou fermé selon deux modalités :

- Soit par changement de configuration de la protéine canal rétrécissant ou élargissant le canal.



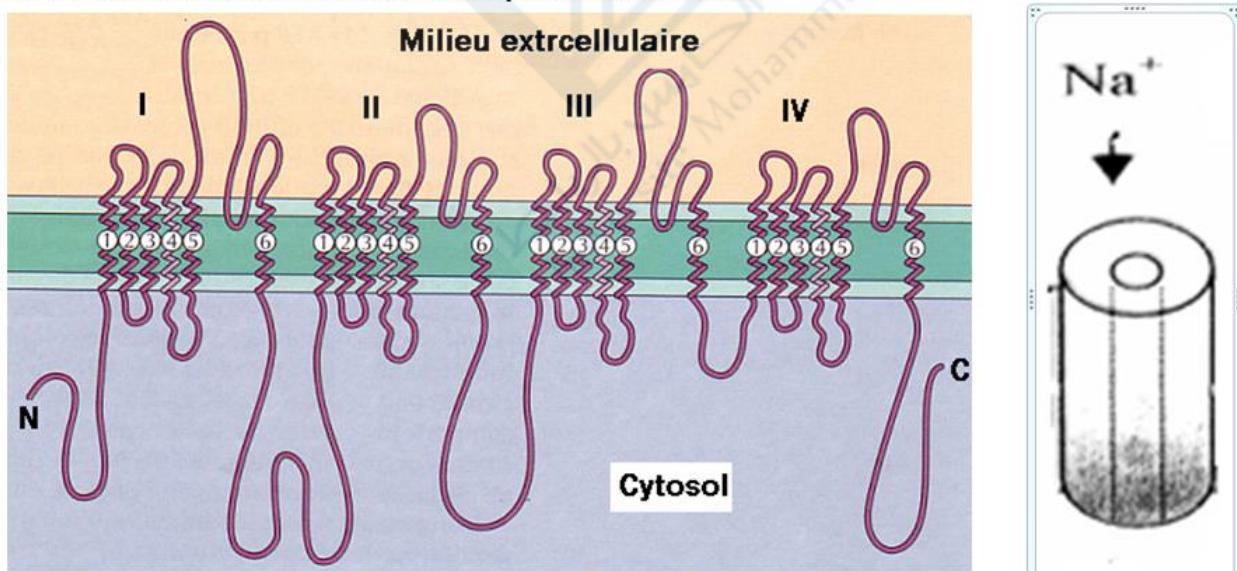
- Soit par l'intermédiaire d'une structure bloquante



- Le canal est spécifique d'un ion donné

Exemple: Canal Na^+

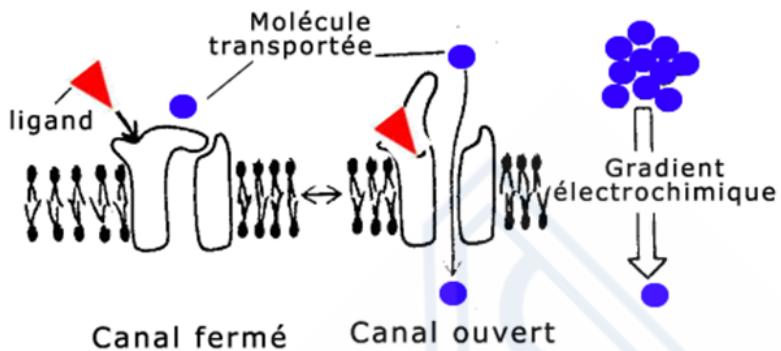
Un canal Na^+ est constitué par une seule chaîne polypeptidique à 4 domaines transmembranaires dont chacun comporte 6 traversées



■ Les canaux ioniques potentiel-dépendants (voir cours de physiologie en 2^{ème} année)

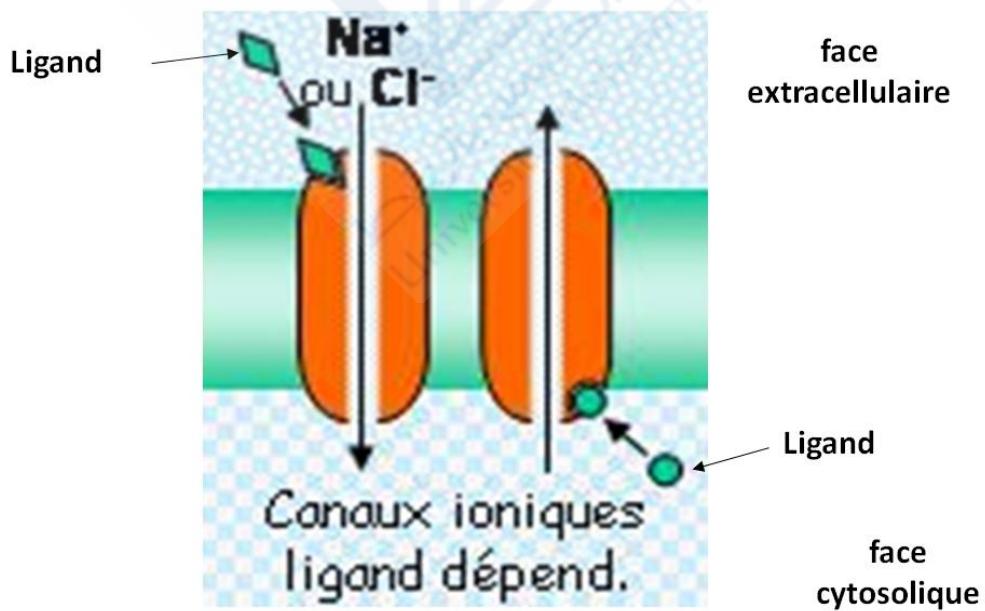
• Les canaux ioniques ligand-dépendants

Canaux dont l'ouverture dépend de la fixation d'un *ligand* (molécule capable de reconnaître spécifiquement une autre molécule ou un édifice moléculaire et s'y fixer)



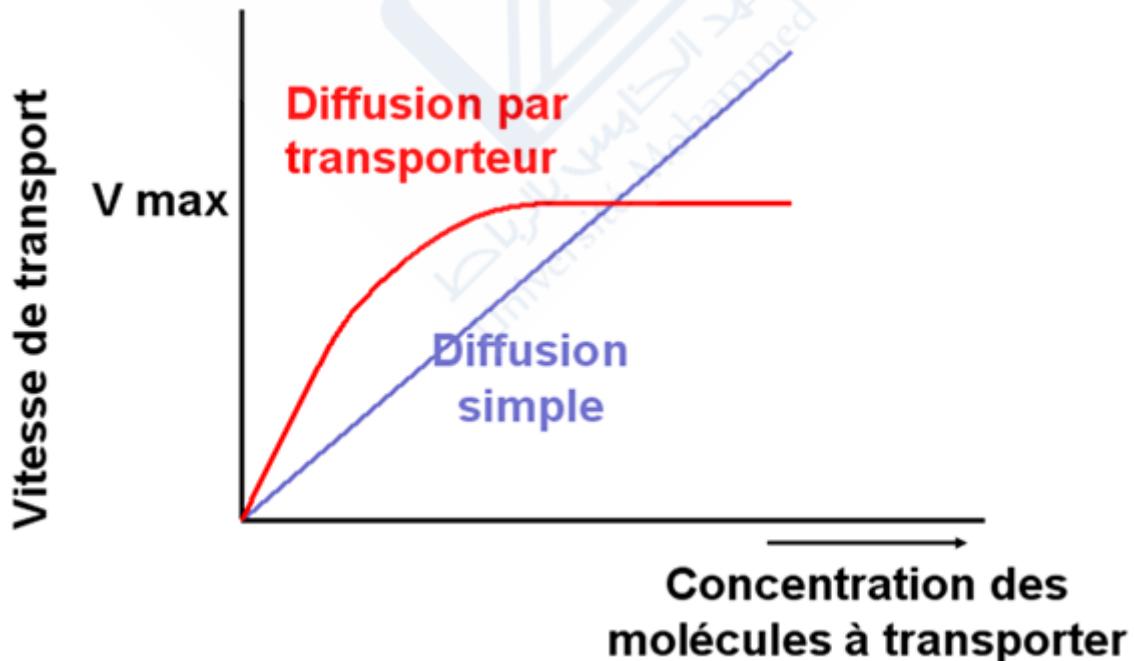
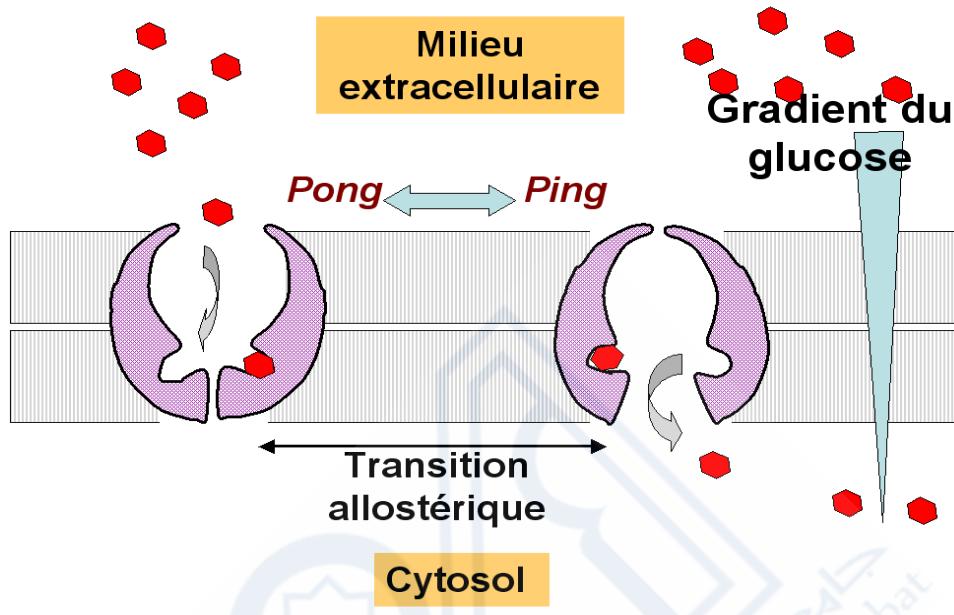
Le site de fixation du ligand peut être :

- sur la face extracellulaire: par exemple l'acétylcholine au niveau de la plaque motrice
- sur la face cytosolique : par exemple le Ca^{++}



Transport facilité

Modèle moléculaire du transport du glucose par le globule rouge humain

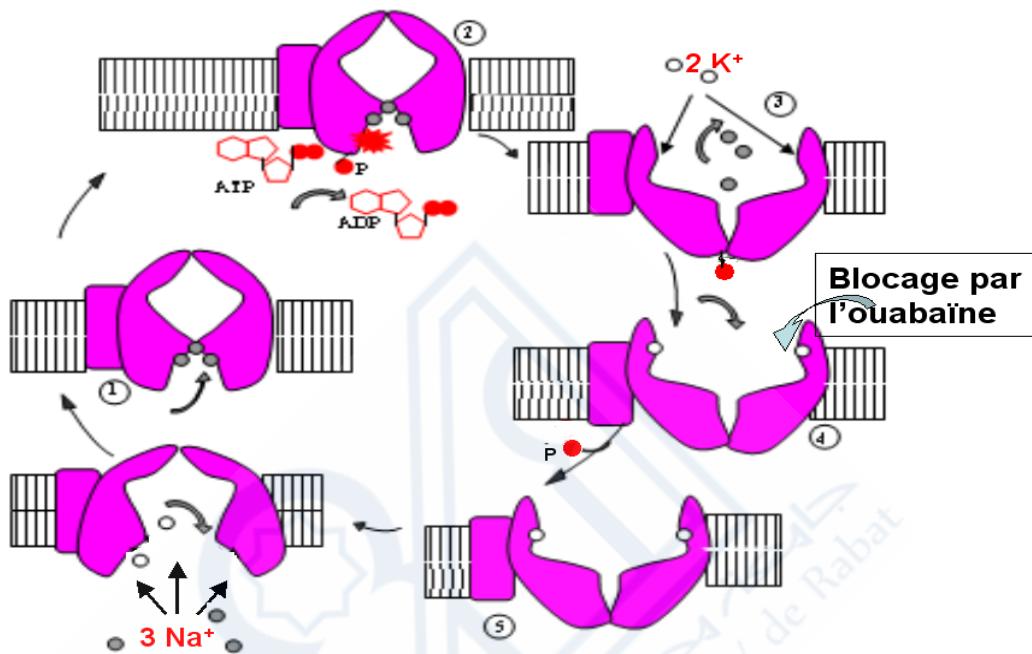


Les Transports actifs

* Transport actif par une ATPase

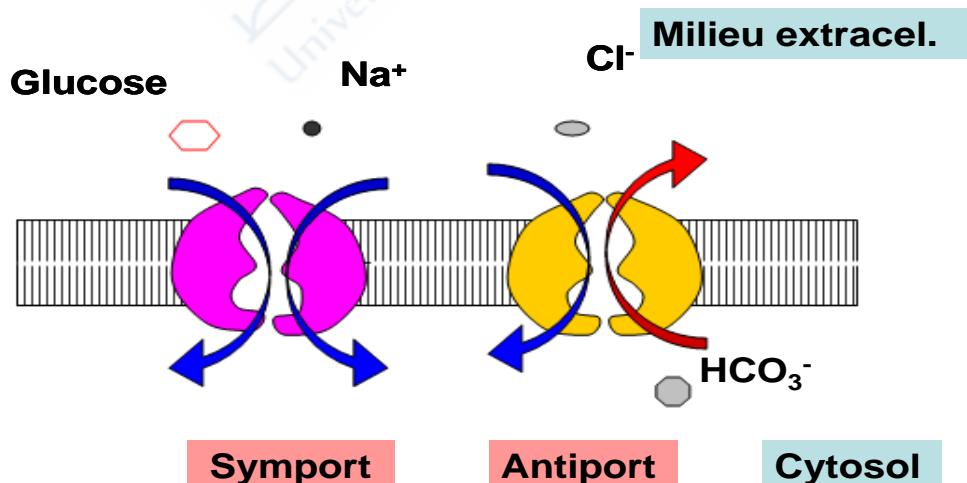
Pompe à Na⁺-K⁺

Modèle schématique du fonctionnement de l'ATPase Na⁺-K⁺

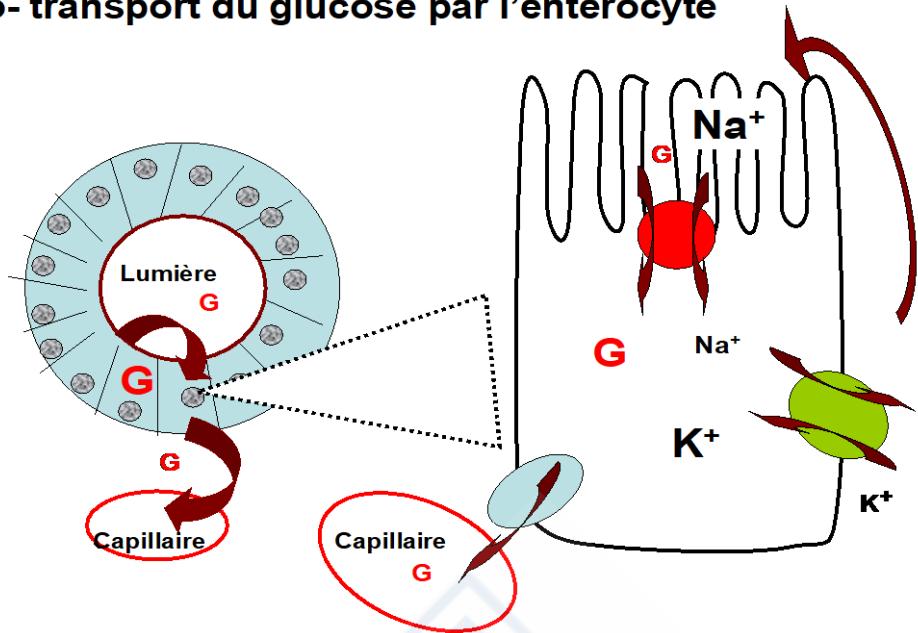


Les Co-transports

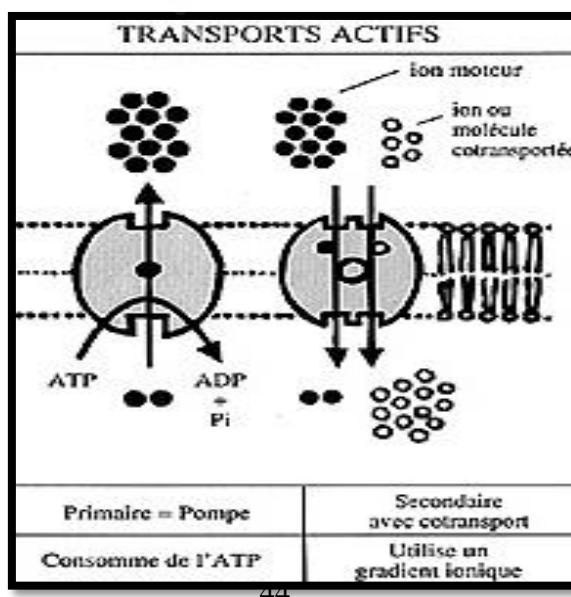
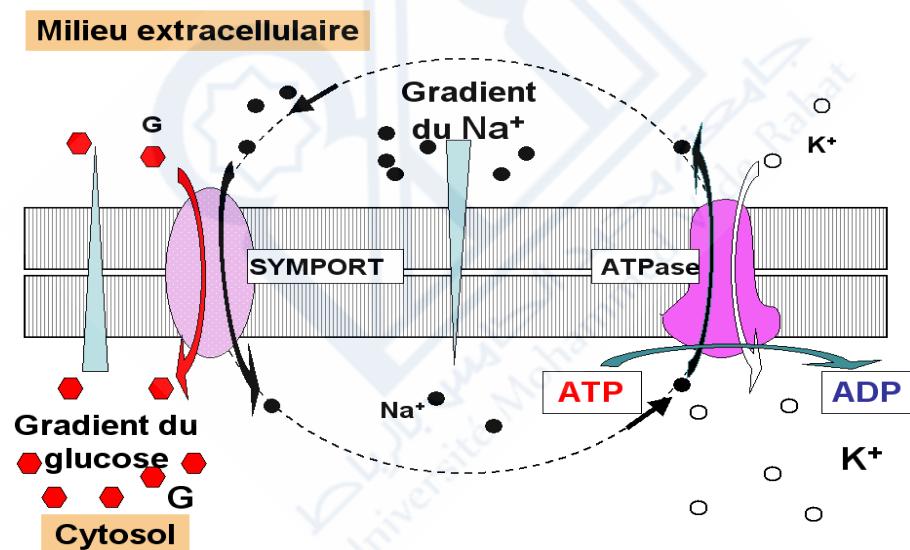
* Symport et Antiport



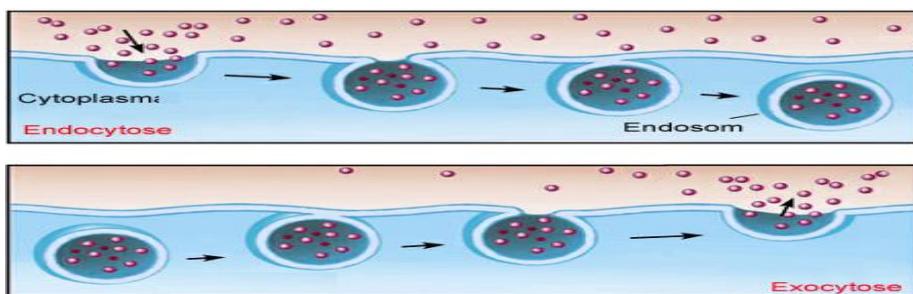
Co- transport du glucose par l'entérocyte



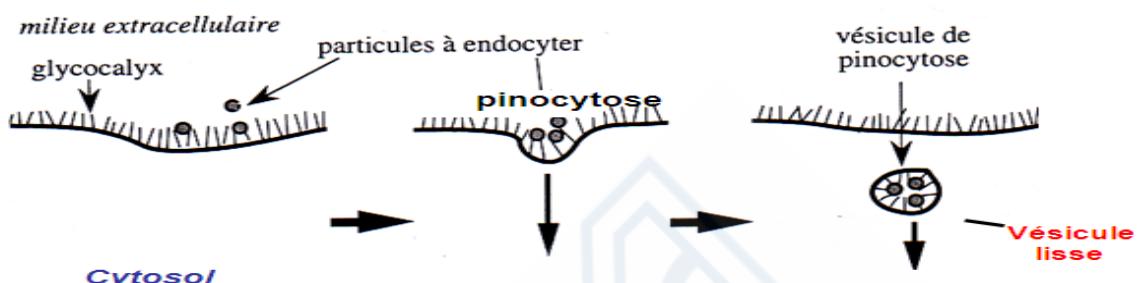
Sympport glucose- Na⁺



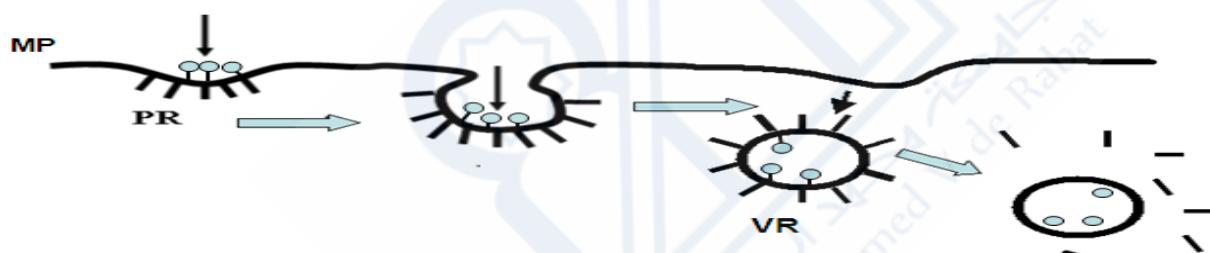
L'endocytose



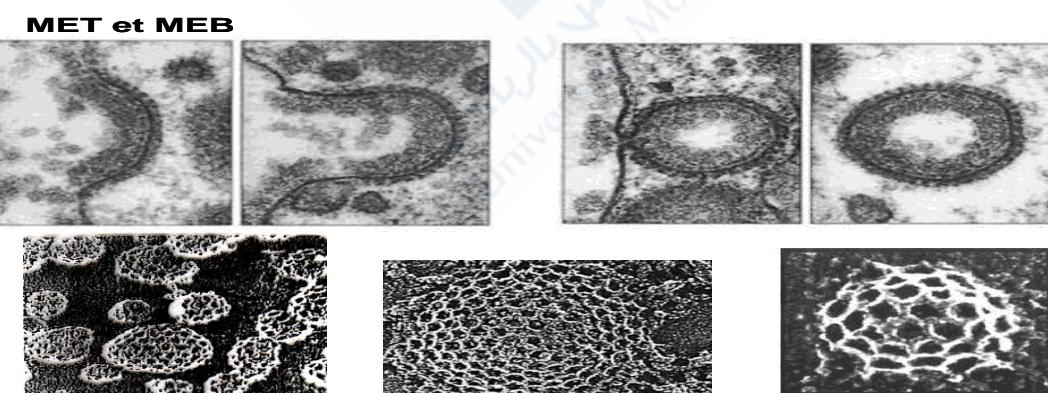
Vésicules non recouvertes



Vésicules recouvertes

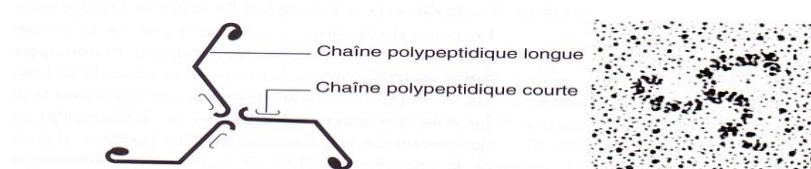


Puits et vésicules recouvertes de clathrine



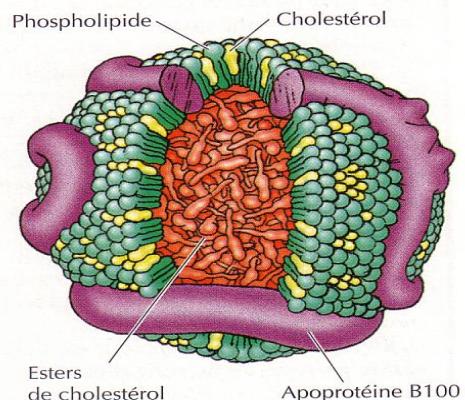
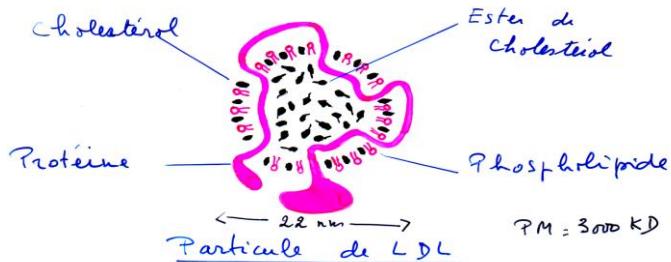
La clathrine

Des fractions de clathrine observées au MET après coloration négative? **triskélion**

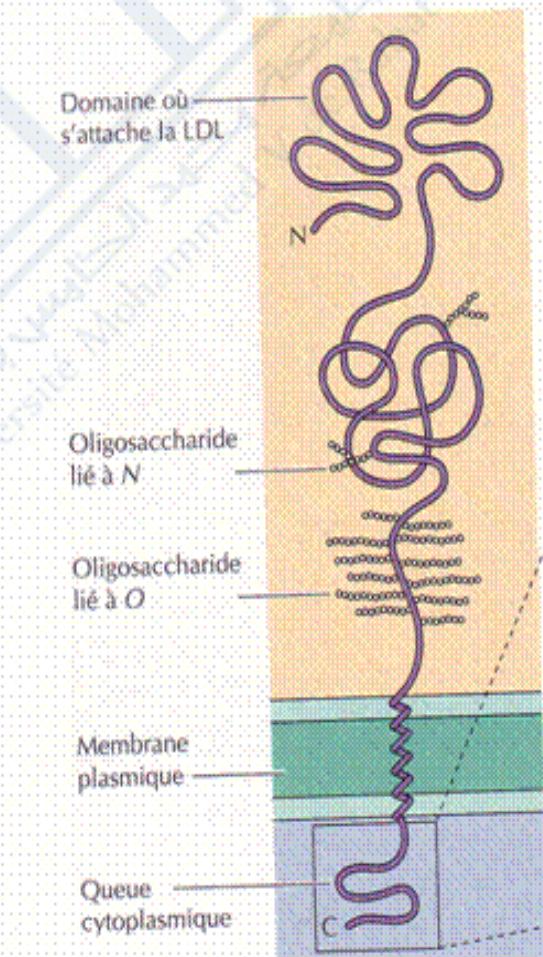
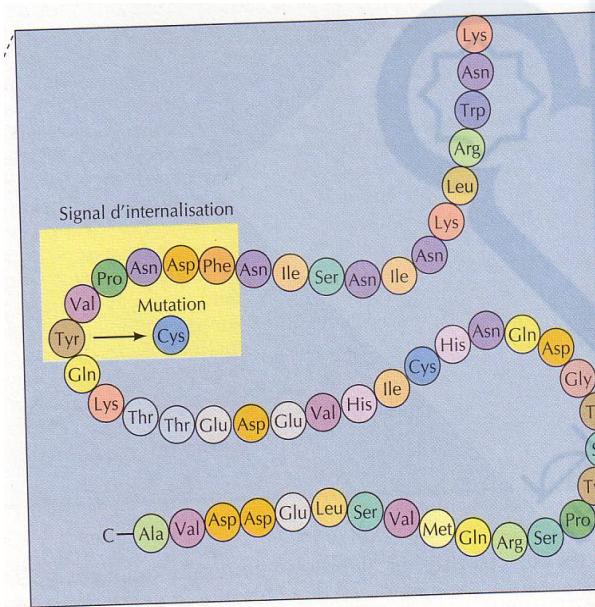


L'importation du cholestérol

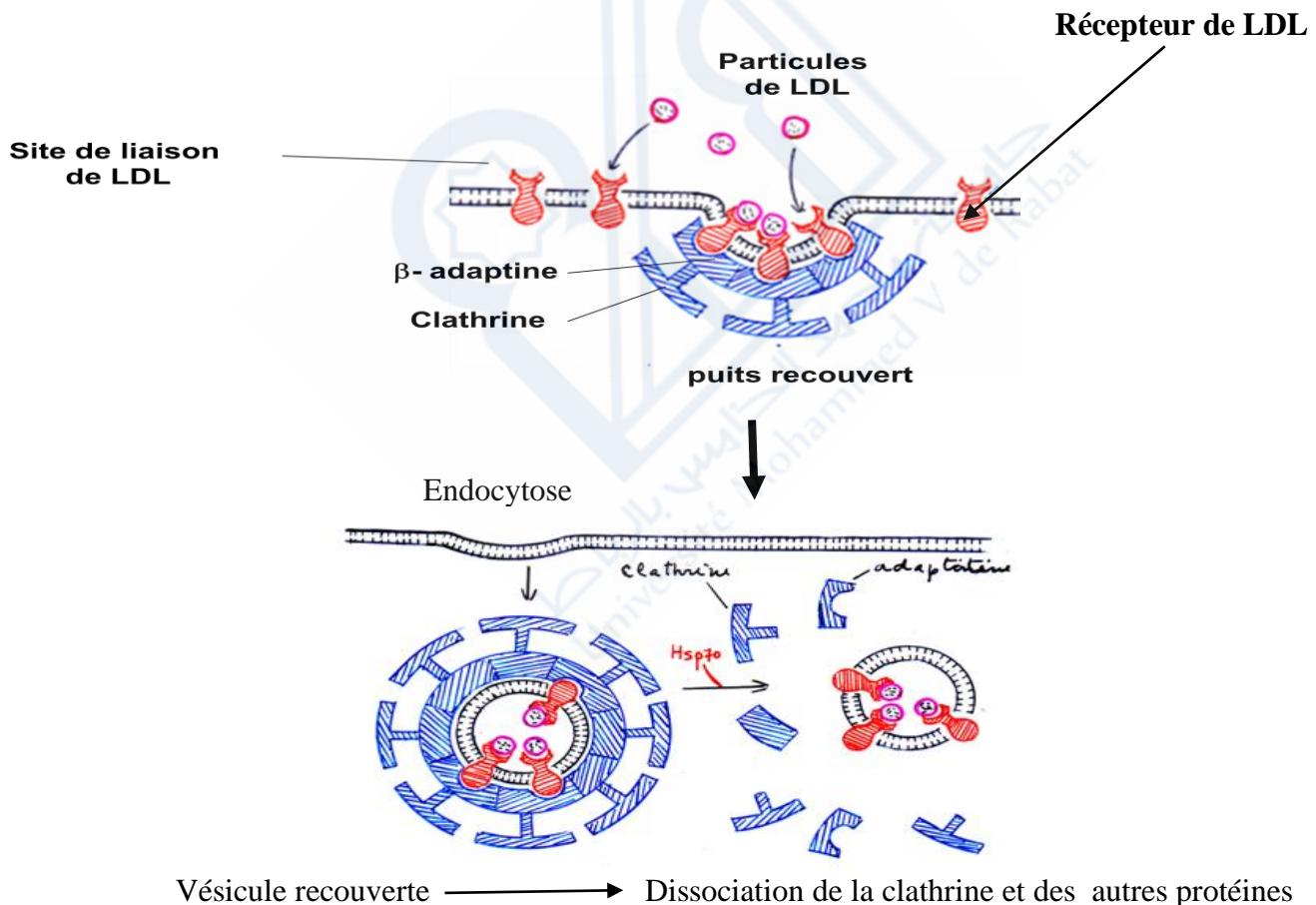
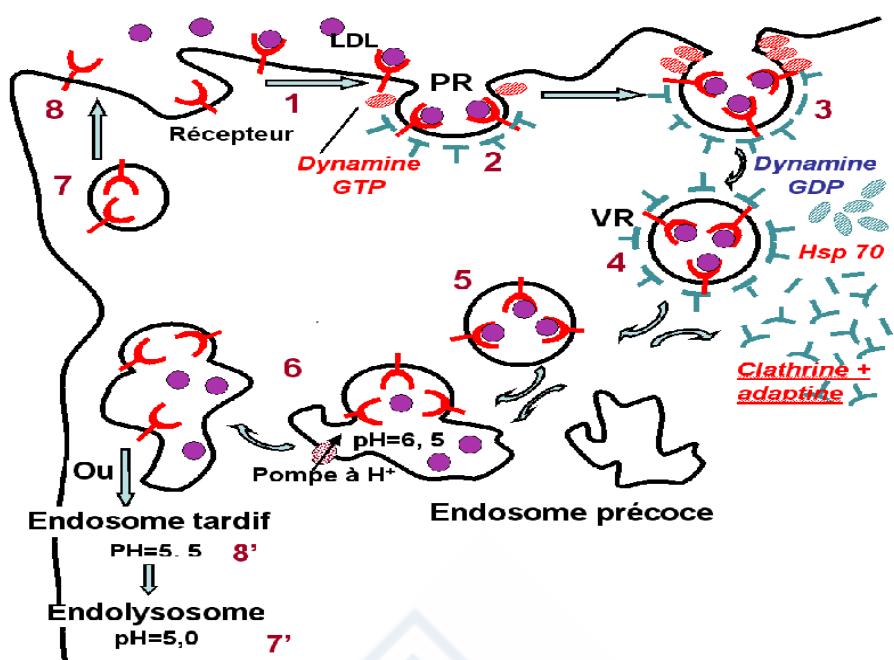
Particule de LDL (lipoprotéine de faible densité)



Récepteur de LDL



Les différentes étapes

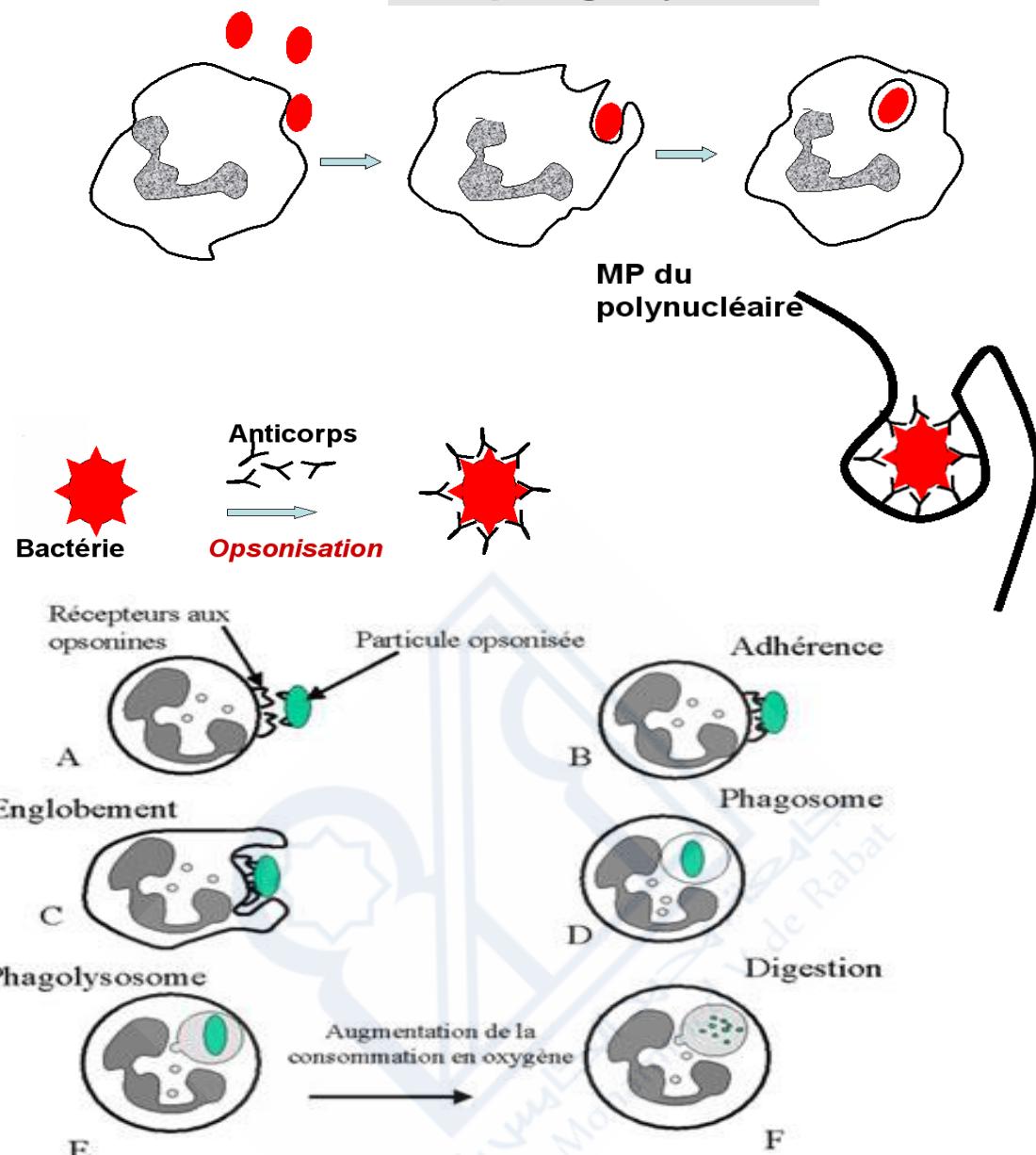


Remarque : Mutation → Hypercholestérolémie

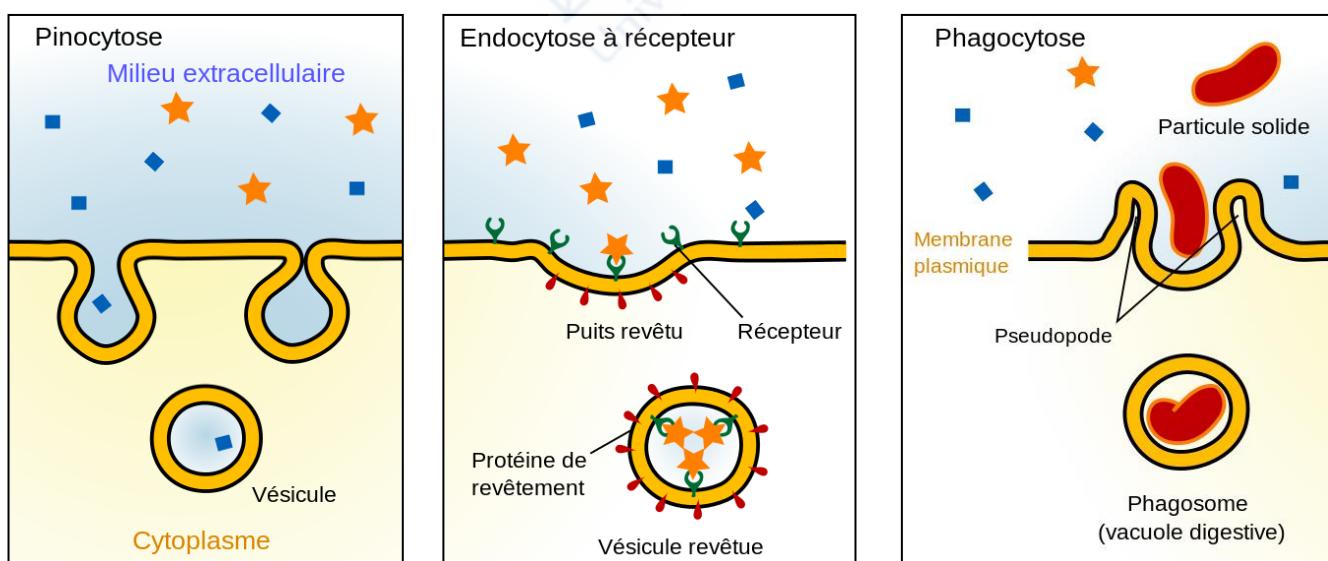


Récepteur anormal

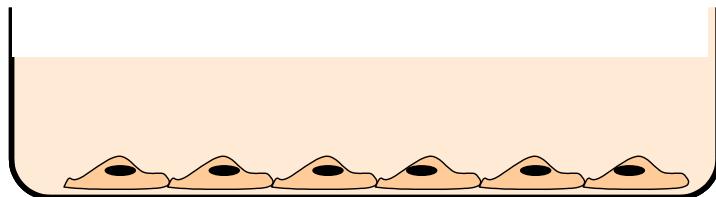
La phagocytose



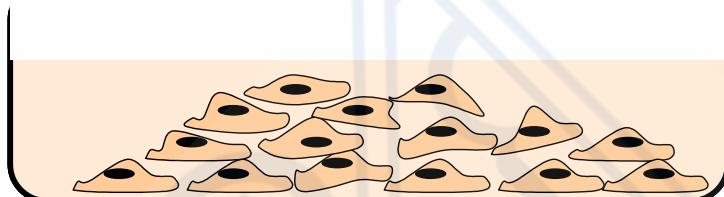
Comparaison des transports de macromolécules



L'inhibition de contact



Cellules normales

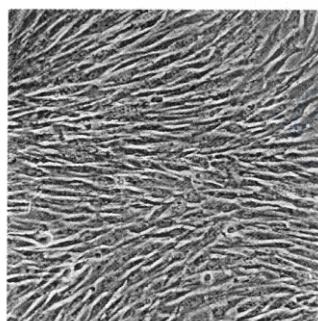


Cellules cancéreuses

Fibroblastes en culture

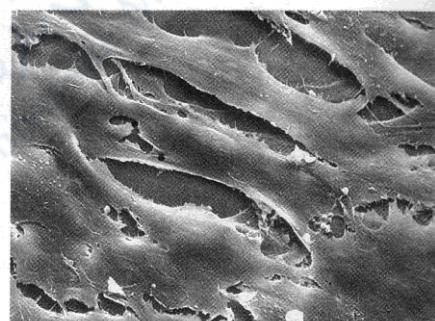
MO en contraste de phase

Cellules normales

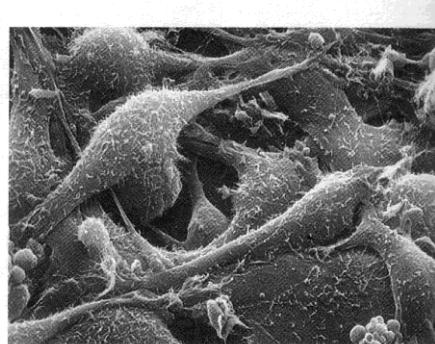
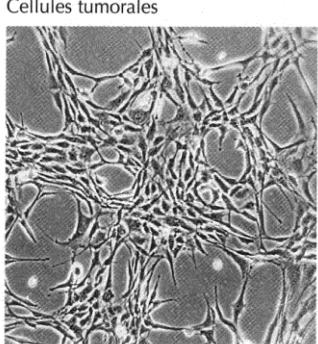


MEB

Cellules normales



Cellules tumorales

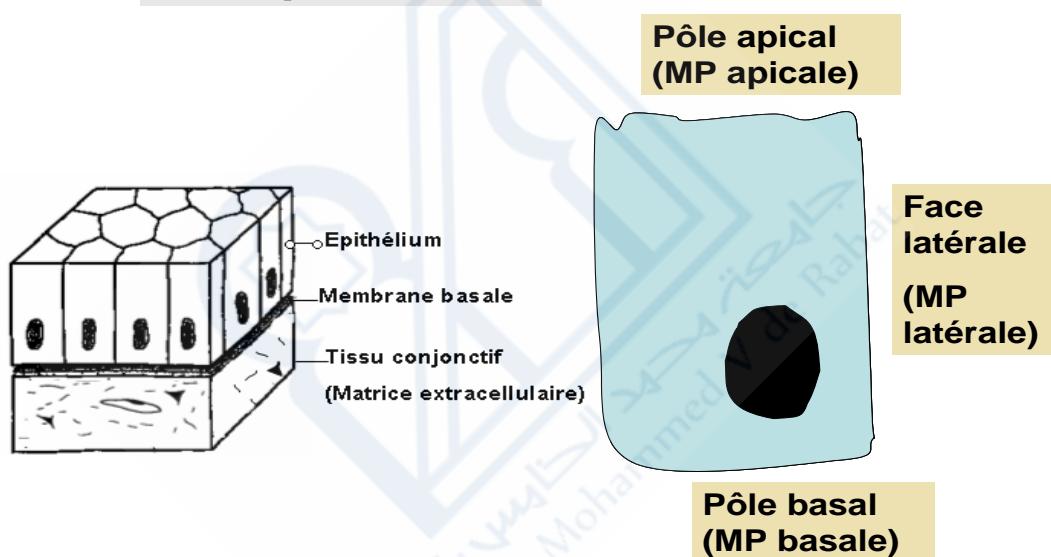


Cellules tumorales

La membrane plasmique

- Différenciations
- Molécules d'adhérence
- Jonctions cellulaires

Un épithélium

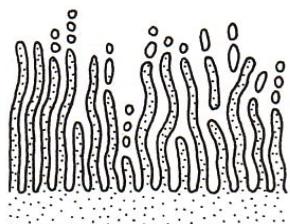


Les différenciations de la MP apicale

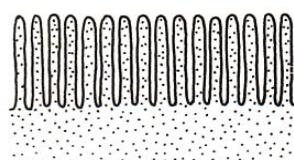
MET. Schémas



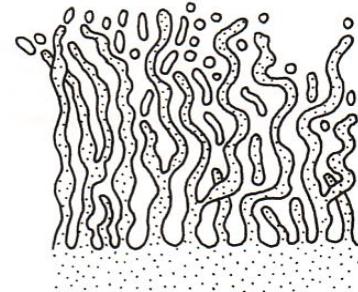
Microvillosités simples



Bordure en brosse



Plateau strié



Stéréocils

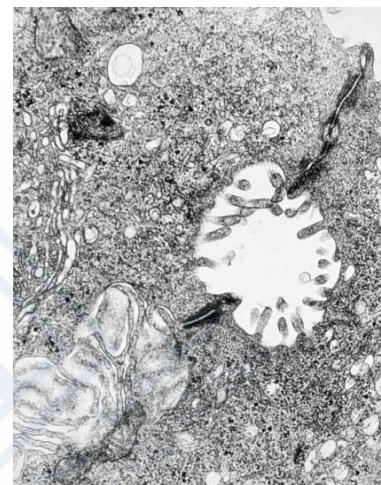
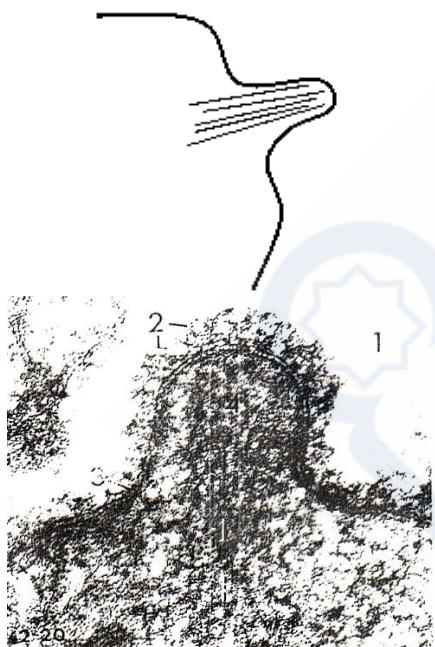
Les microvillosités simples

MET Faible grossissement



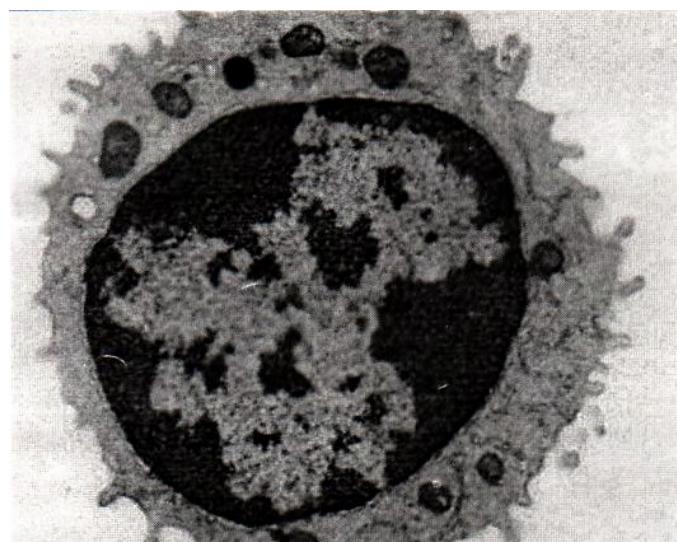
La microvillosité simple

MET. Schéma et microographies



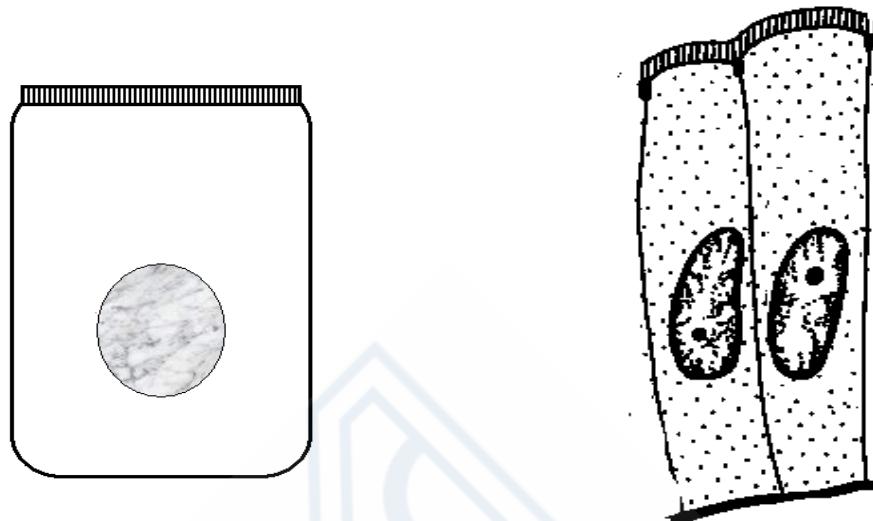
Hépatocyte

MET. Lymphocyte



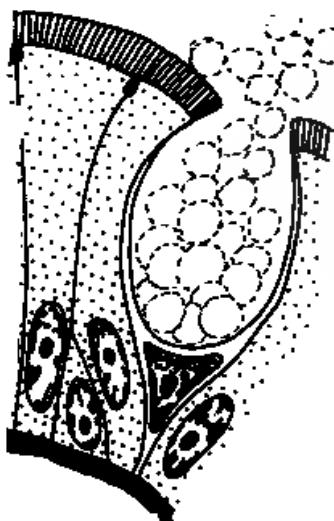
Le plateau strié

MO. Représentations schématiques d'entérocytes

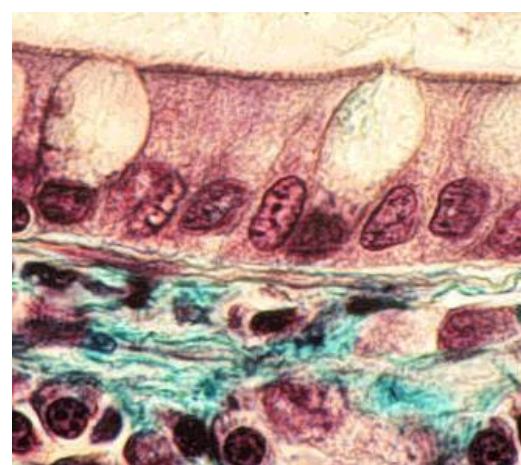


Le plateau strié

..MO.représentation schématique:
entérocytes (cellules à plateau strié)
et cellule caliciforme

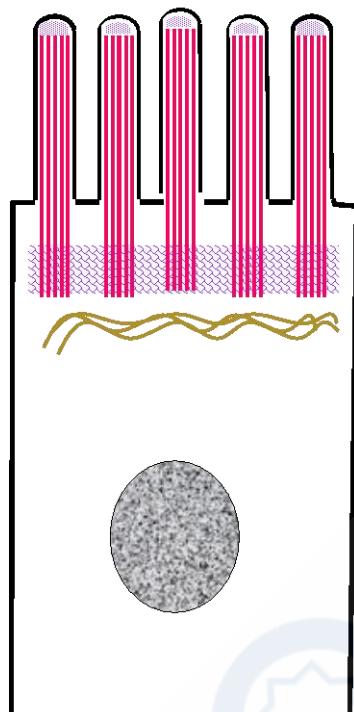


Epithélium intestinal au MO. Faible et fort grossissements



Le plateau strié

MET. Représentation schématique

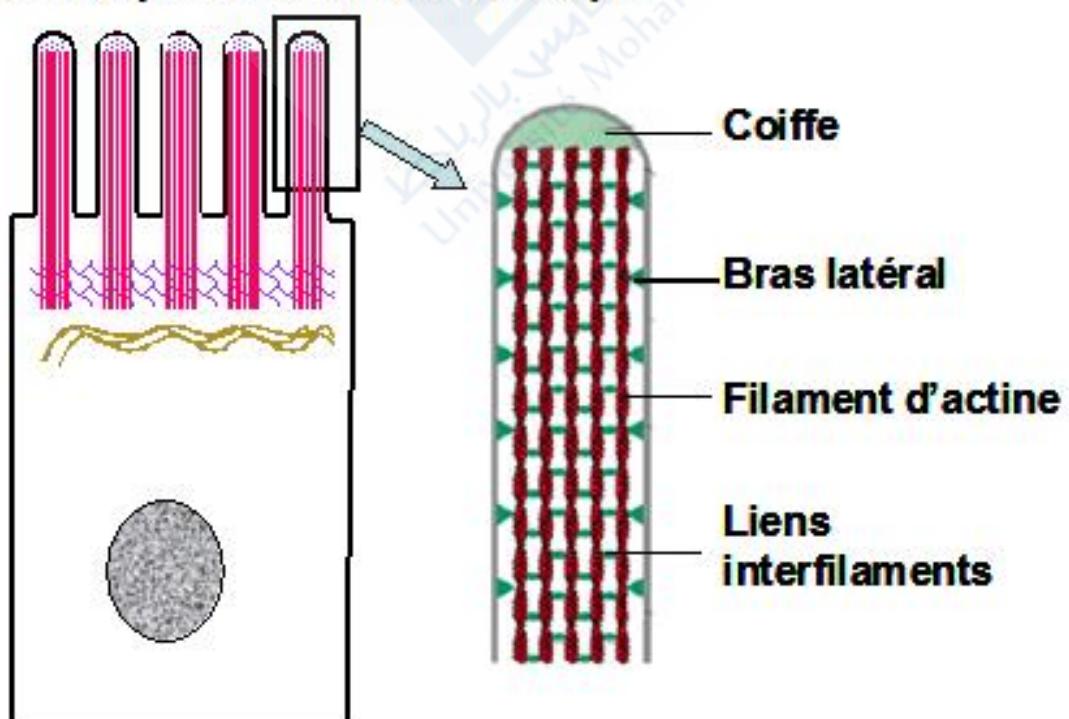


Microvillosités

**Filaments
d'actine**

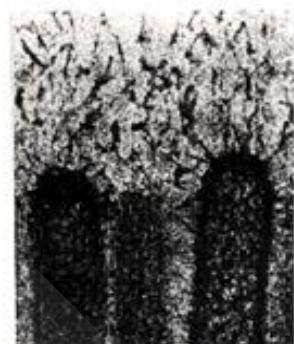
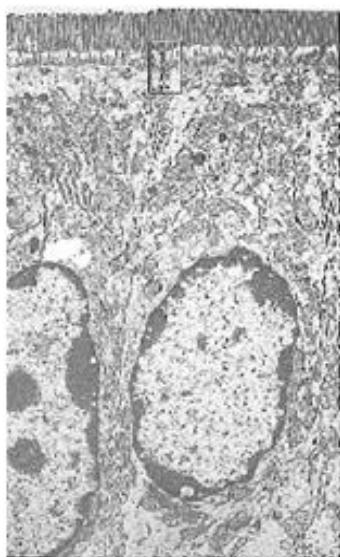
**Réseau terminal
Filaments
intermédiaires**

MET. Représentation schématique



Microvillosités

MET. Entérocytes

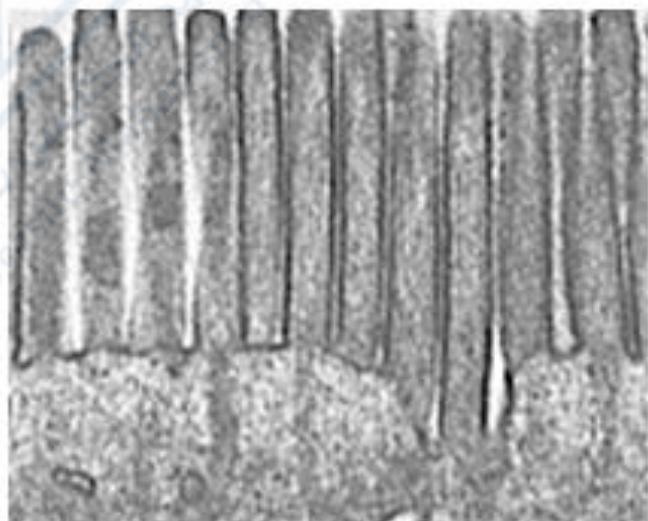


Plateau strié d'entérocyte au MET ou Microvillosités

Coupe transversale

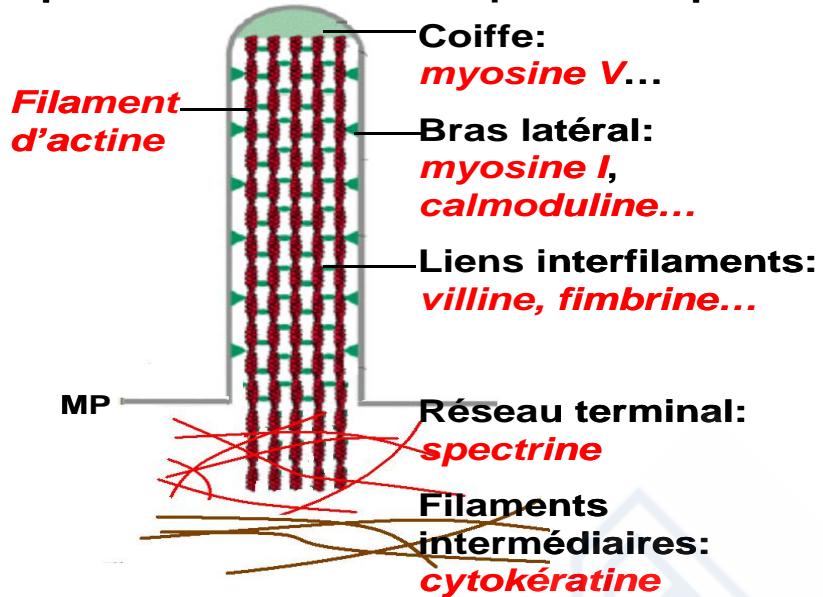


Coupe longitudinale



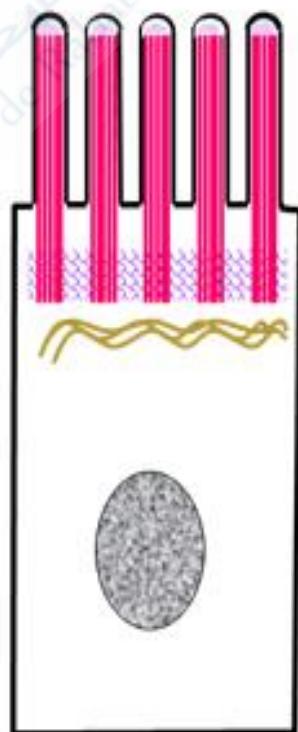
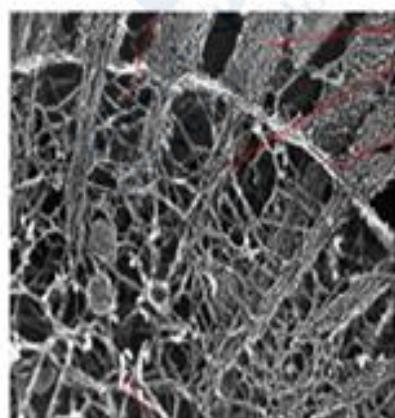
Microvillosité de l'entérocyte

Représentation schématique et composition moléculaire



Le réseau terminal

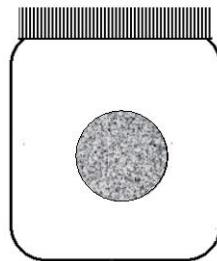
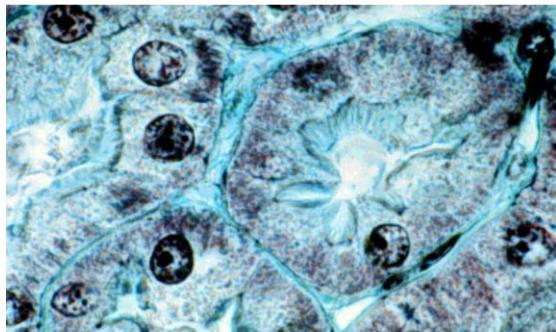
MET. Cryodécapage



Autres différenciations de la MP apicale

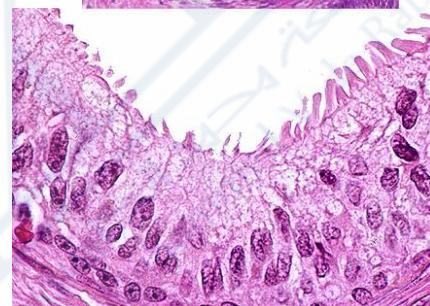
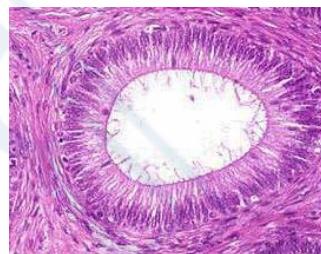
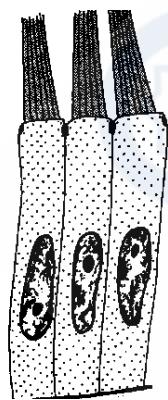
La bordure en brosse

MO. Tube proximal rénal. Image et schéma



Les stéréocils

Représentation schématique et MO du canal de l'épididyme



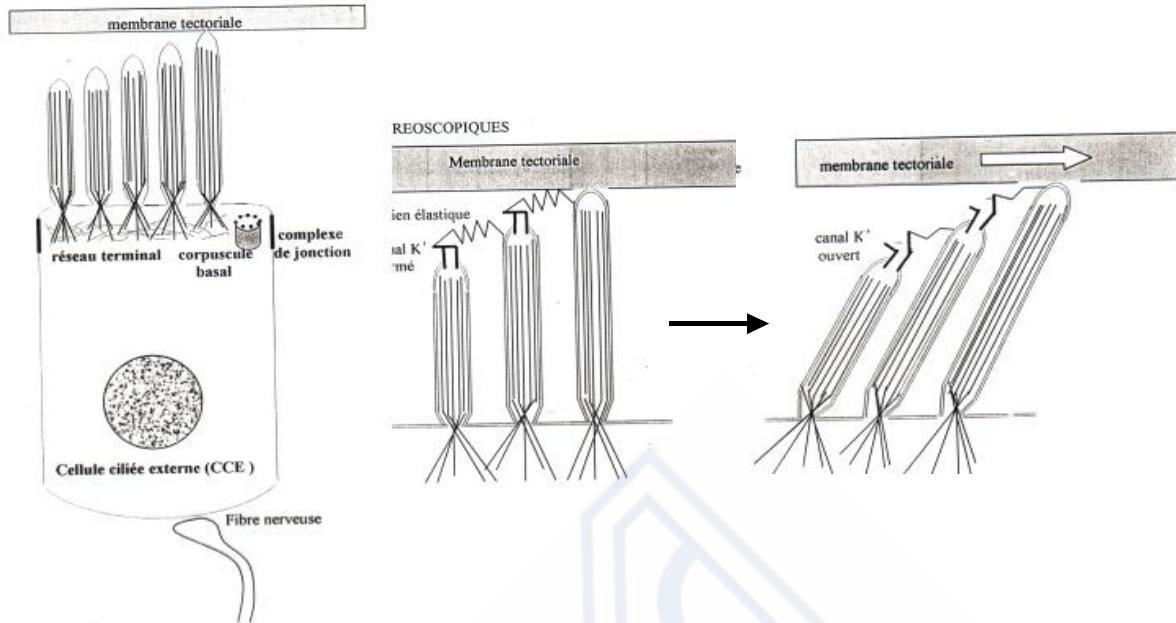
Les stéréocils

Représentation schématique et MEB

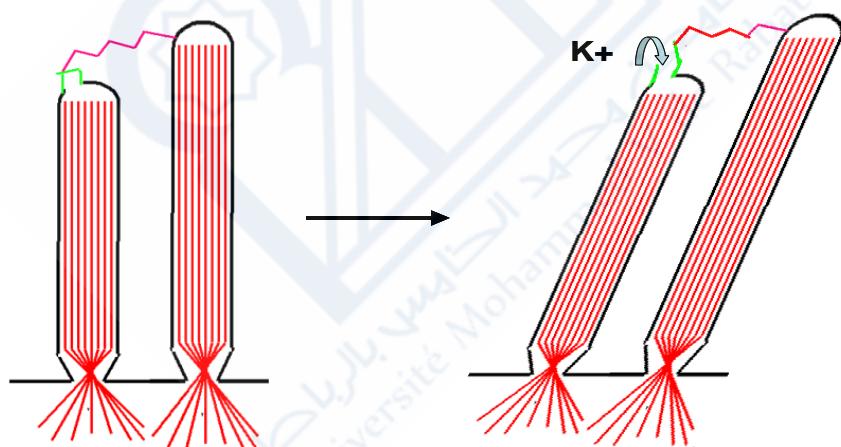


Les cils stéréoscopiques

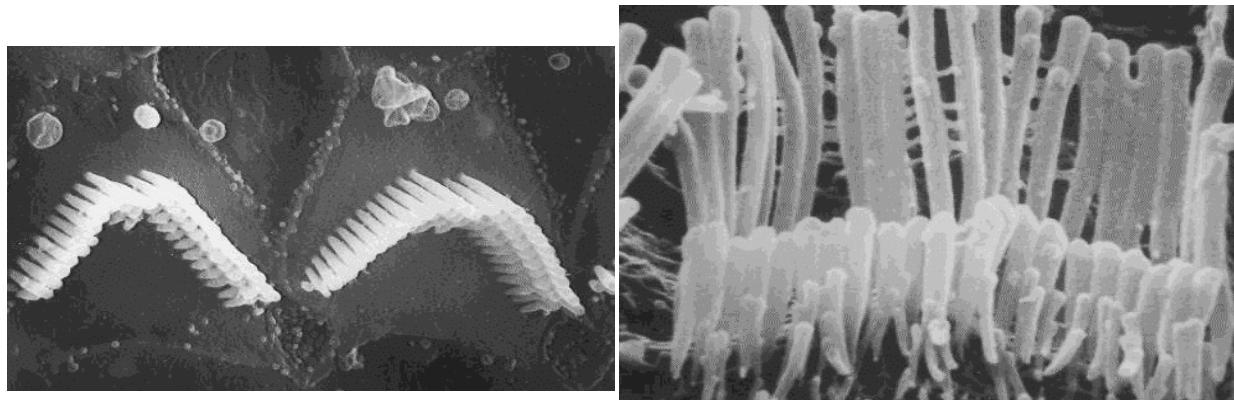
Représentation schématique et mode de fonctionnement



Représentation schématique et mode de fonctionnement

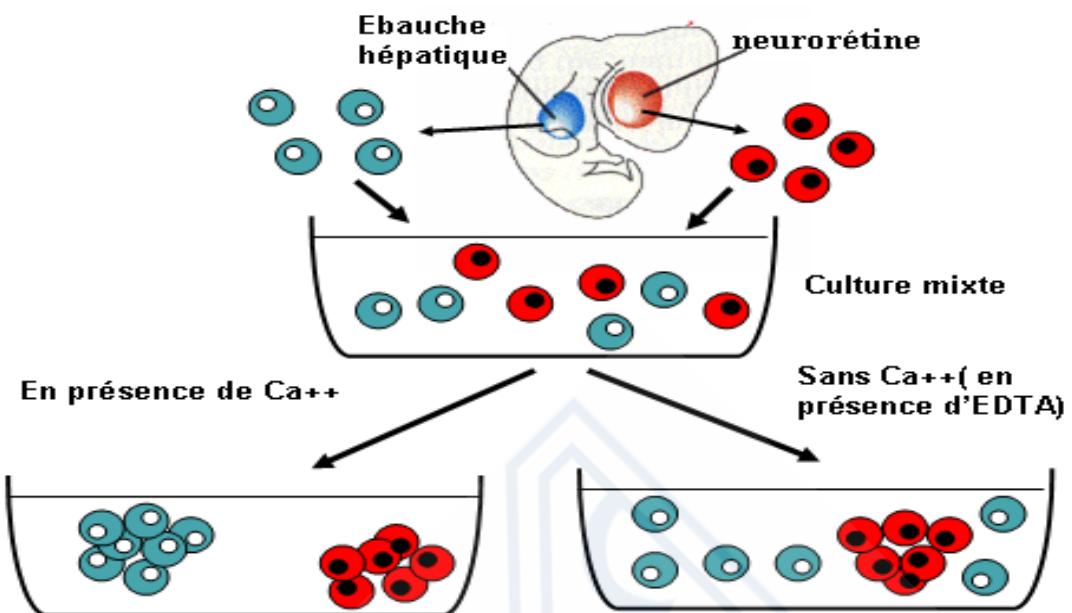


MEB. Cils stéréoscopiques



Les molécules d'adhérence

Mise en évidence sur des cultures cellulaires d'embryon de poulet

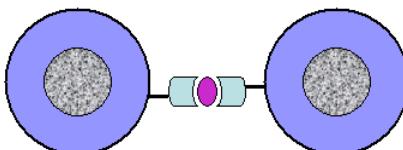


Les molécules d'adhérence

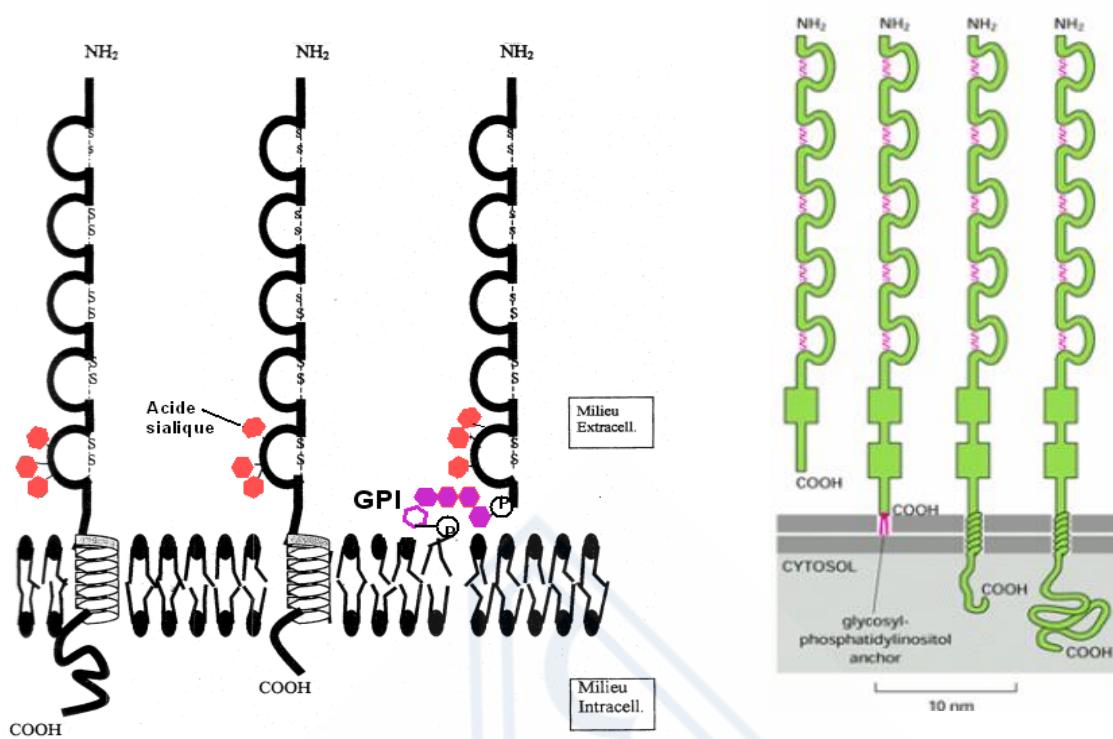
Types d'interaction

	Homophilique ↔ ■■■	Hétérophilique ↔ ■■■ ↔ ■■■
Homotypique		
Hétérotypique		
Par l'intermédiaire d'une molécule extracellulaire		

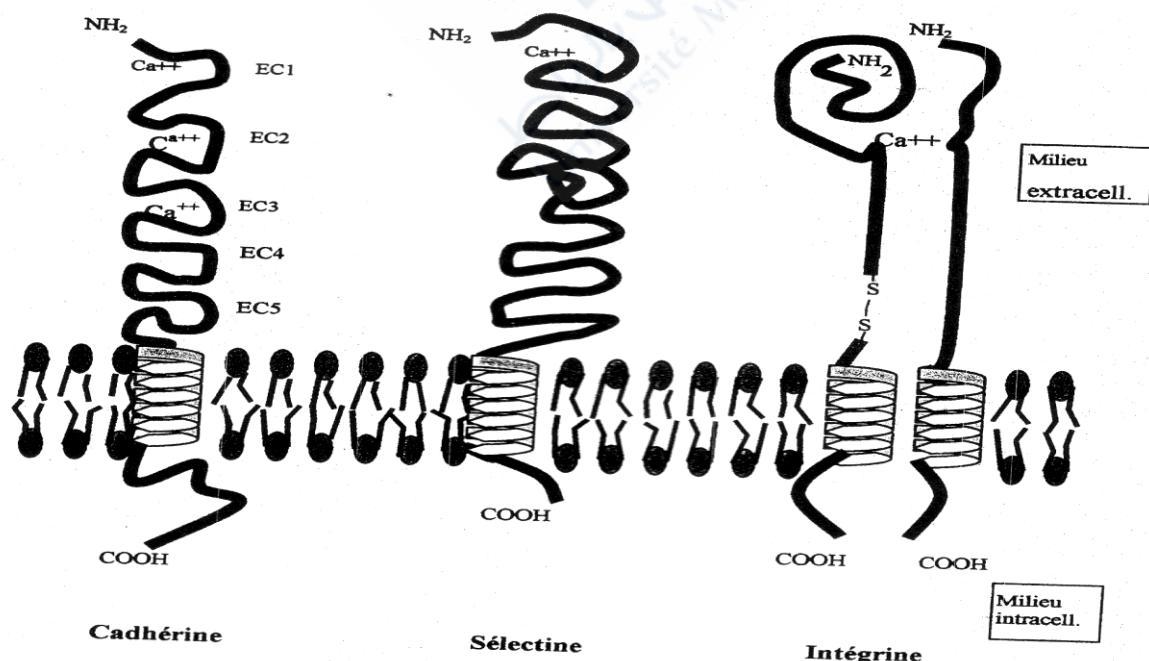
Par l'intermédiaire d'une molécule extracellulaire



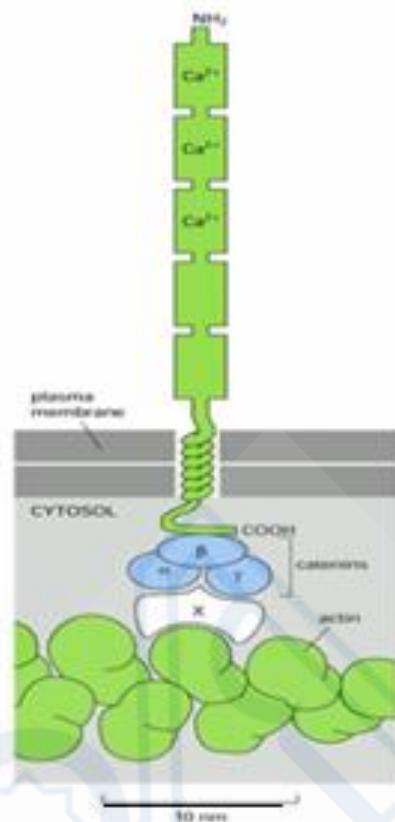
N-CAMS



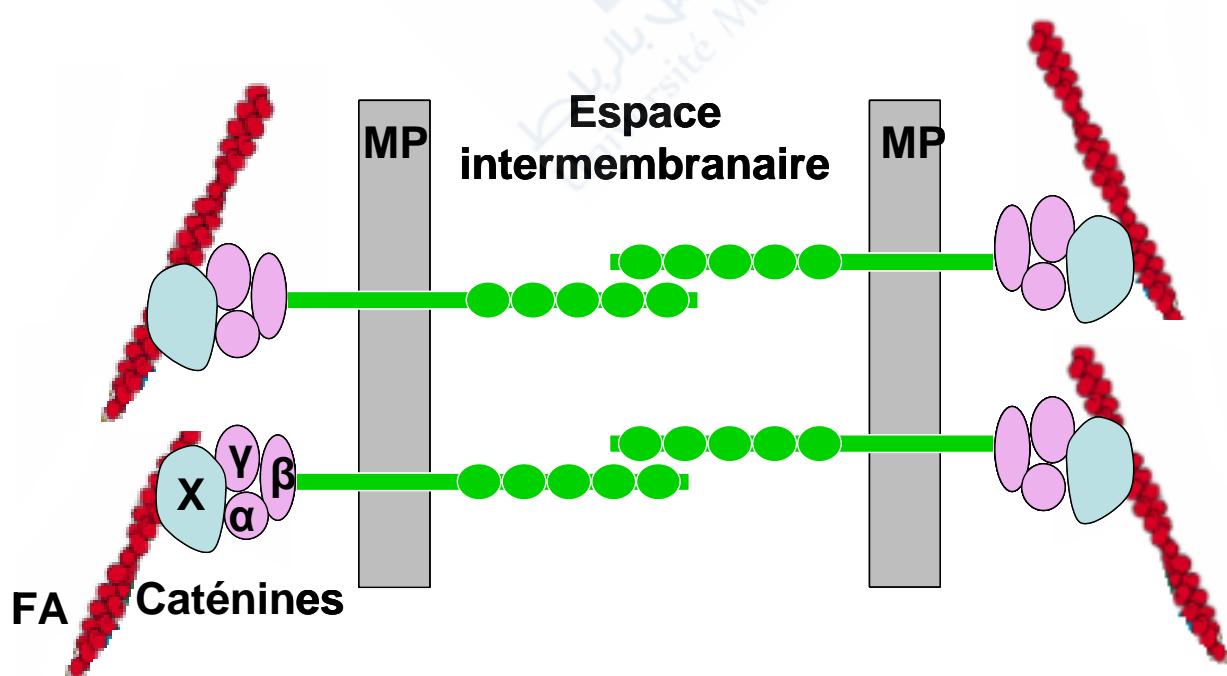
CAM Ca^{++} dépendantes et SAM



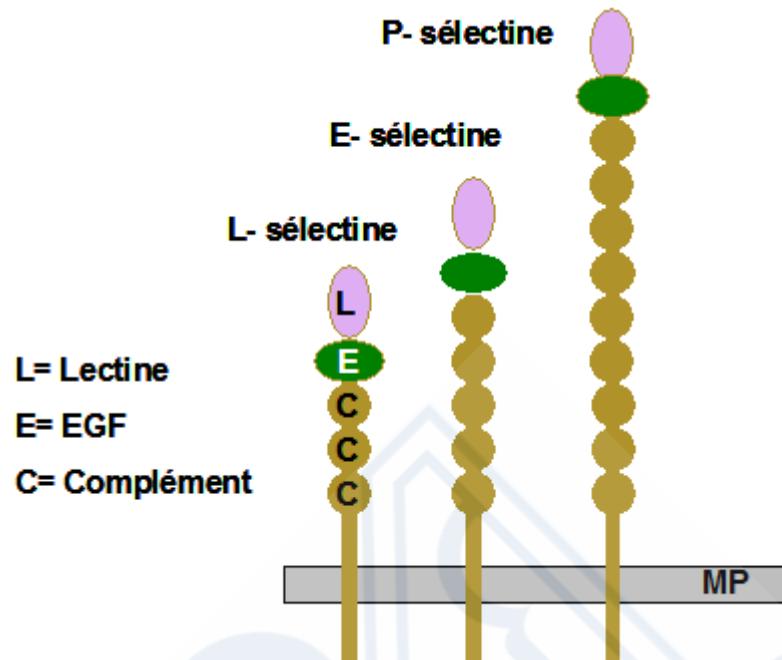
Les cadhérines



Interaction homophilique de cadhérines

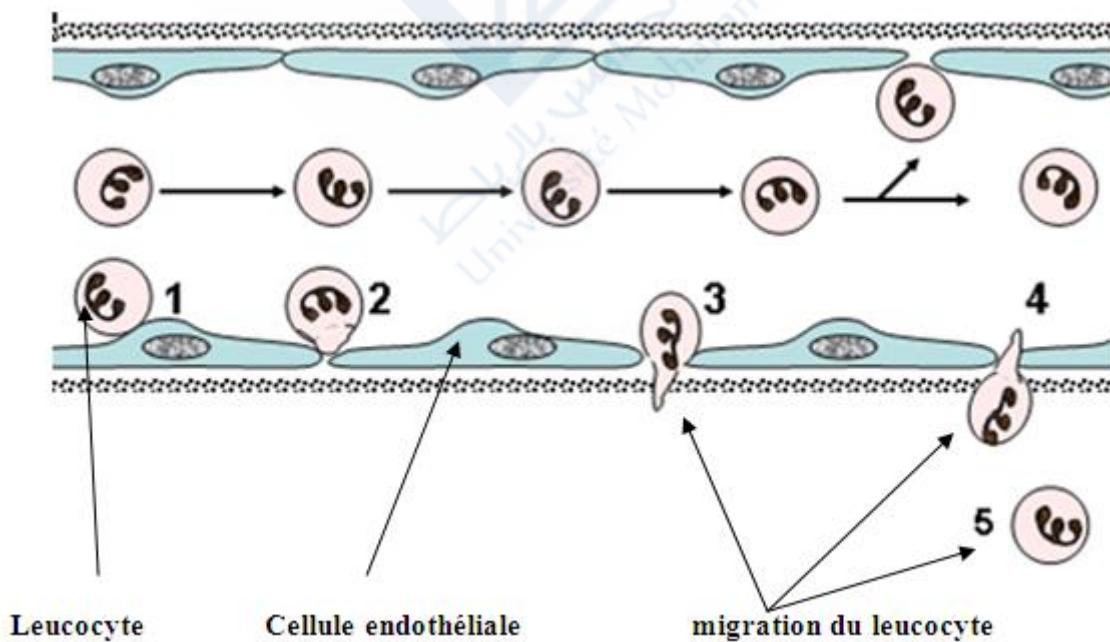


Les sélectines

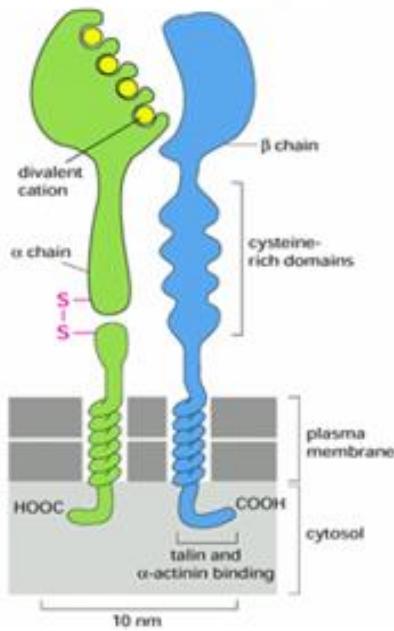


Diapédèse

Interaction leucocyte – cellule endothéliale au niveau d'un capillaire sanguin

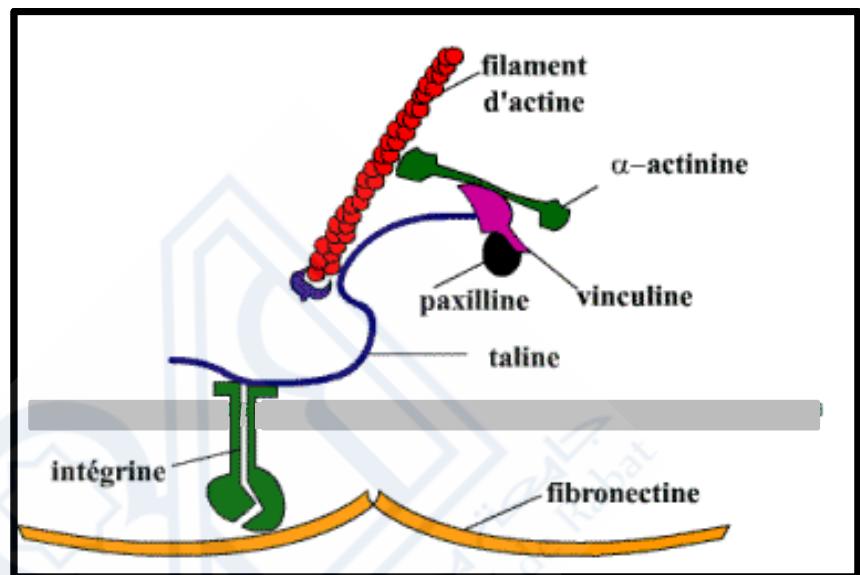


Les intégrines



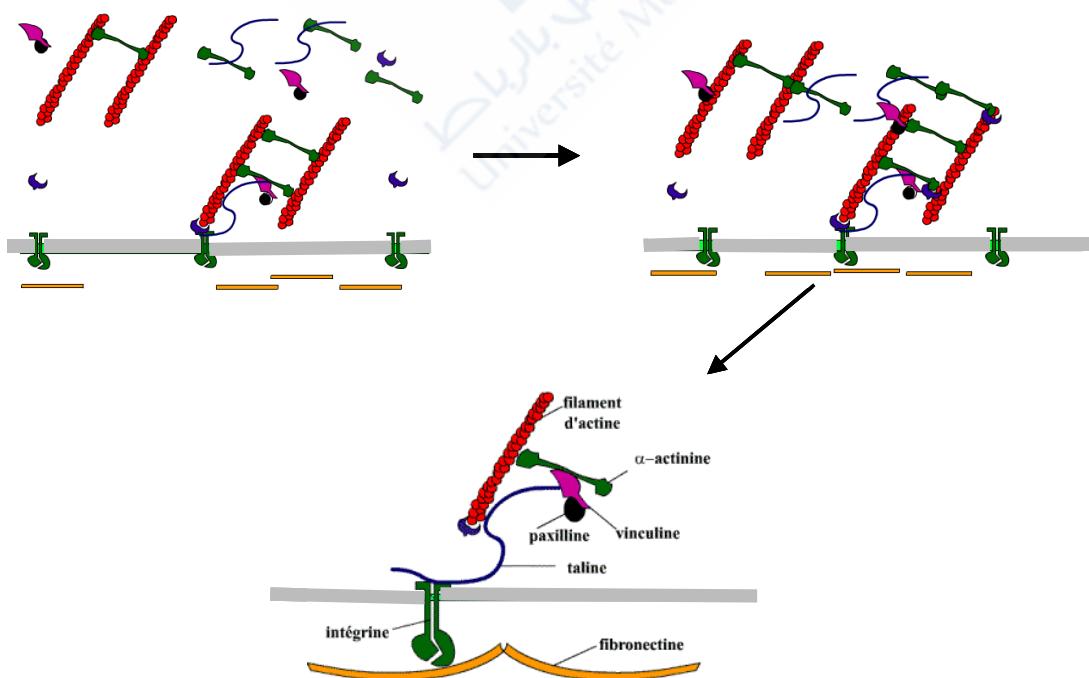
Le contact focal

Interactions entre différentes molécules



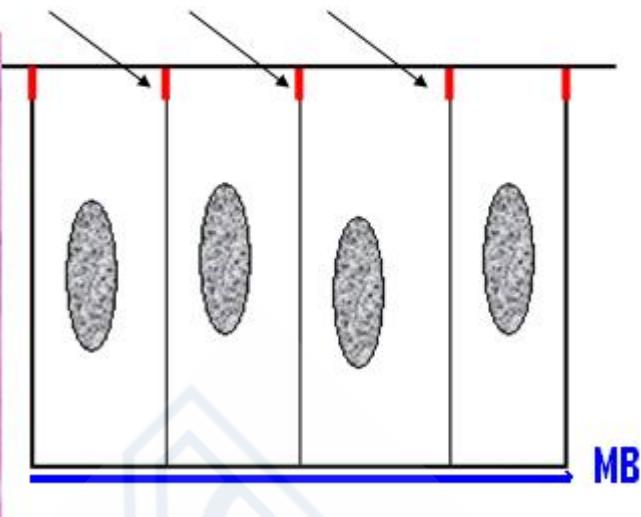
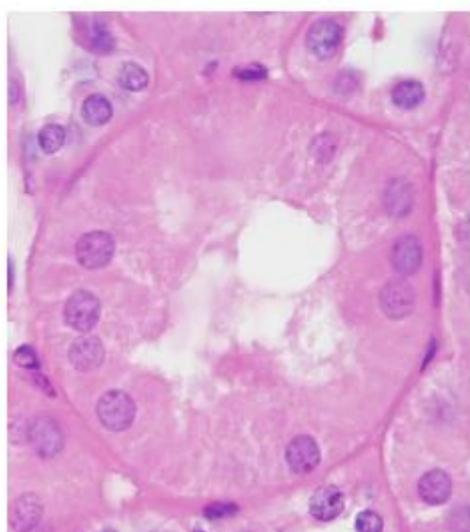
Le contact focal

Assemblage



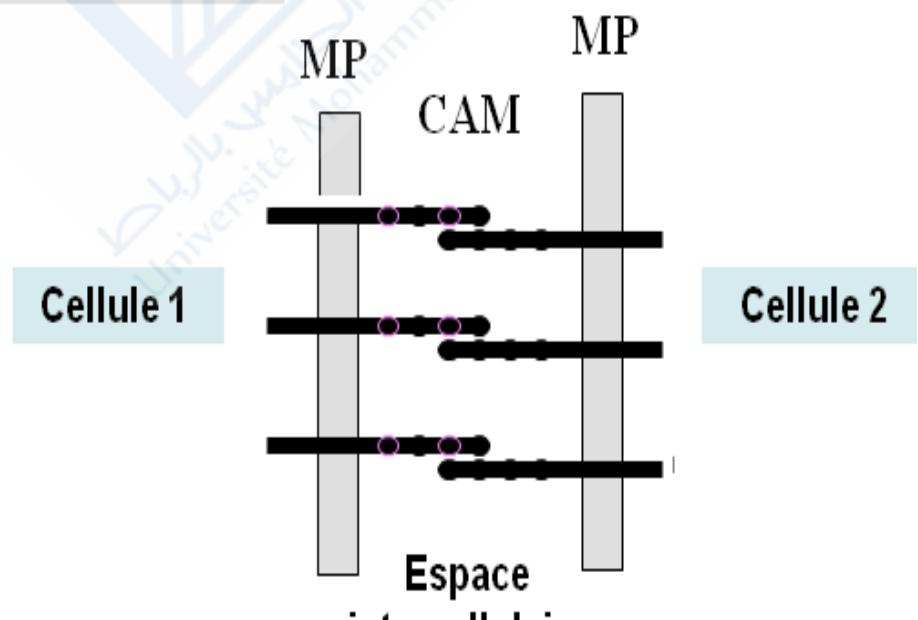
La juxtaposition simple de deux cellules voisines

Bandelettes obturantes



La juxtaposition simple de deux cellules

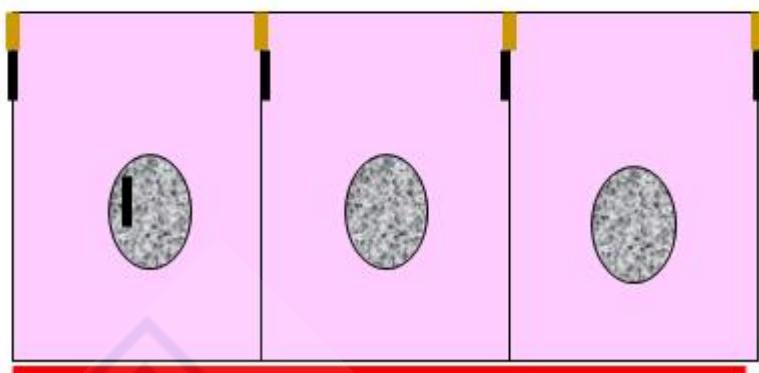
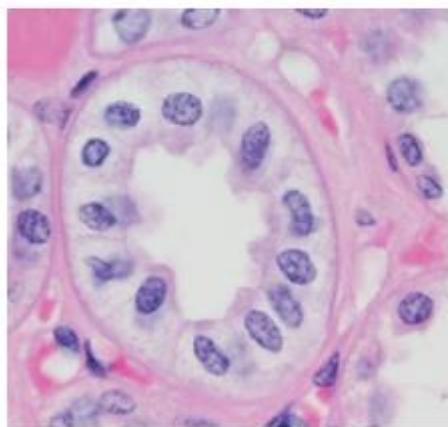
MET



200 – 250 Å

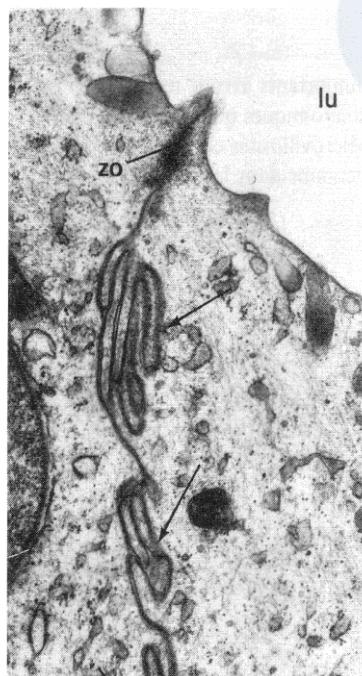
Les interdigitations

MO .Tube collecteur rénal. Image et schéma



Les interdigitations

MET



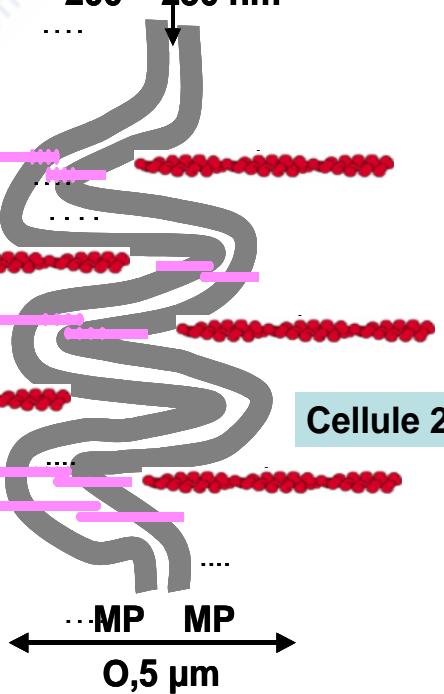
Les interdigitations

Schéma
ultrastructural
et moléculaire

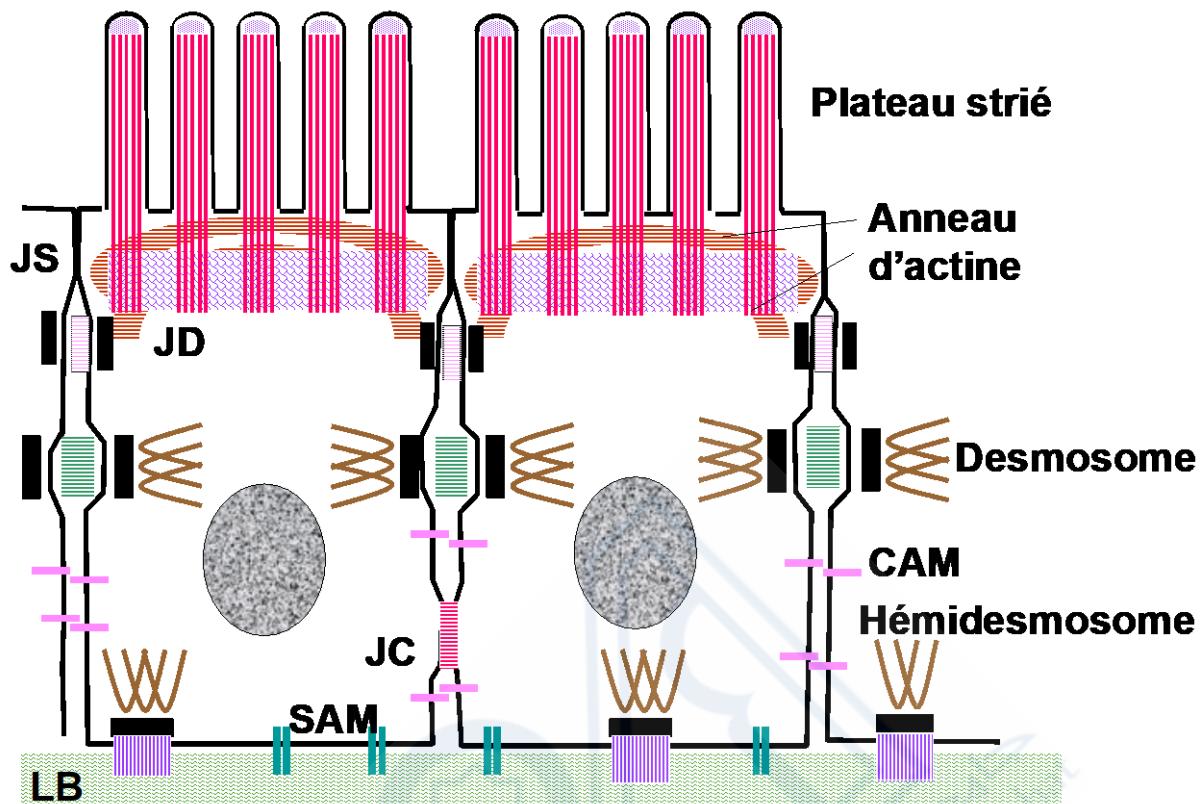
Espace
intercellulaire
200 – 250 nm

Cellule 1

Cellule 2

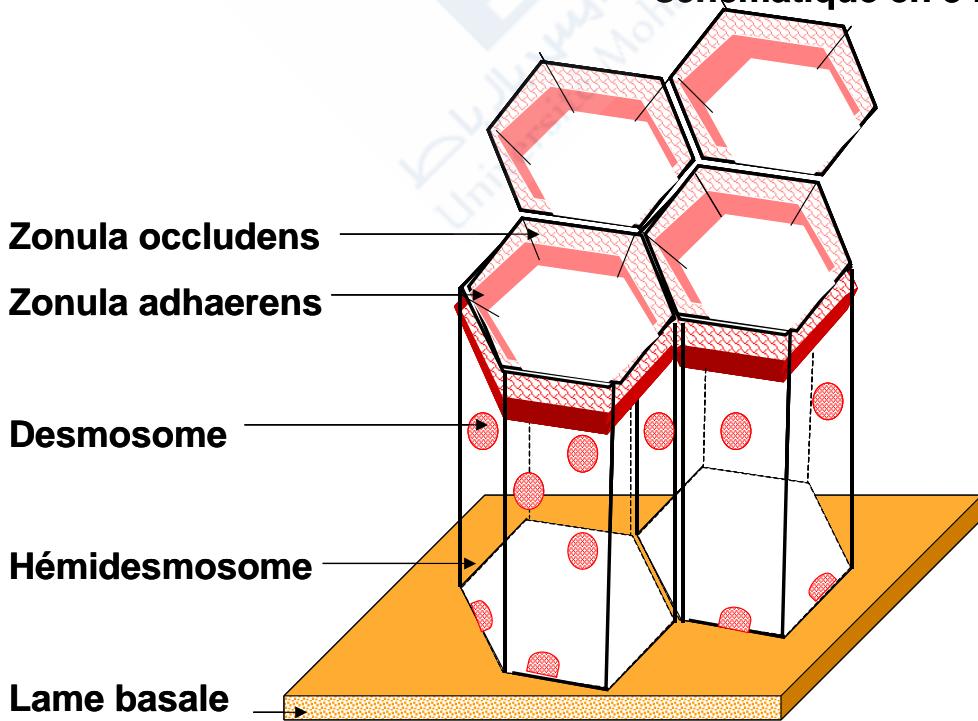


Différenciations de la membrane basolatérale et les différents types d'adhérence

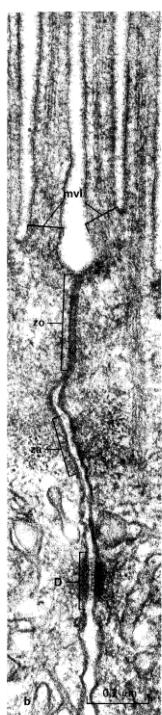


Les jonctions cellulaires

Représentation schématique en 3 D



Le complexe de jonction



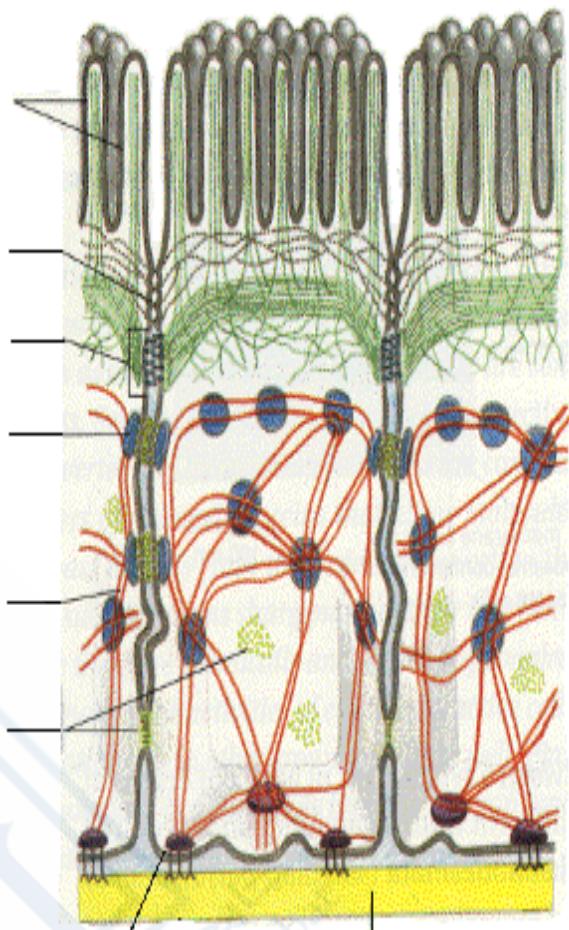
MET.

Entérocyte

**Jonction serrée
(zonula occludens)**

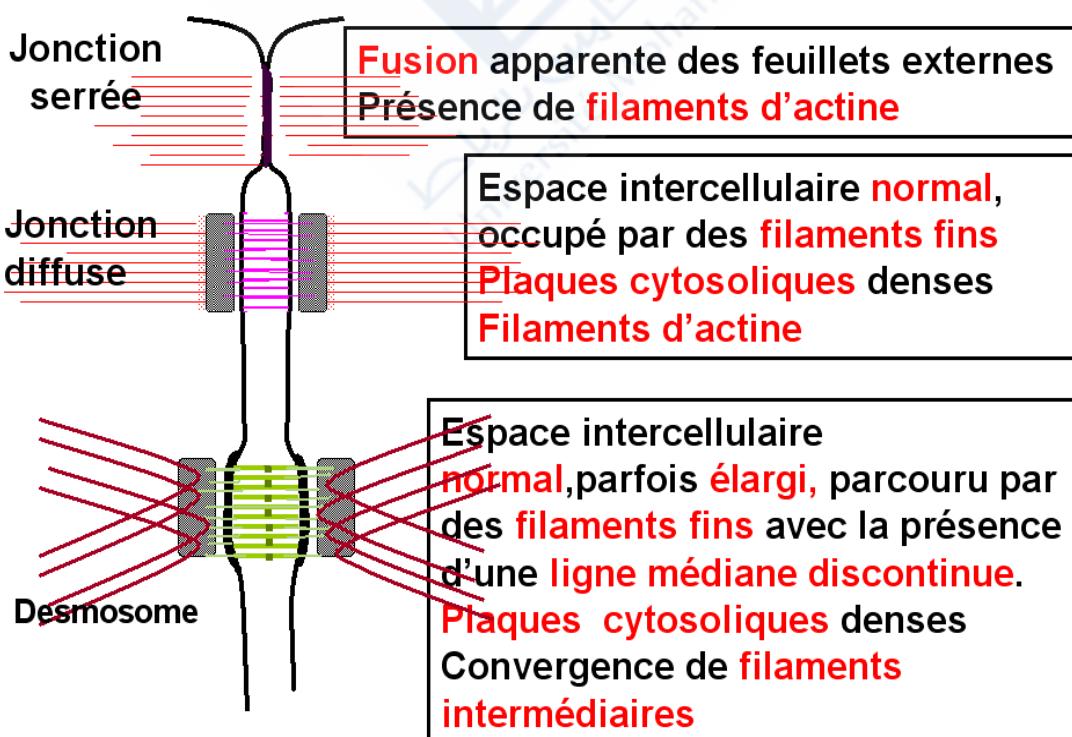
**Jonction diffuse
(zonula adhaerens)**

**Desmosome
(macula adhaerens)**



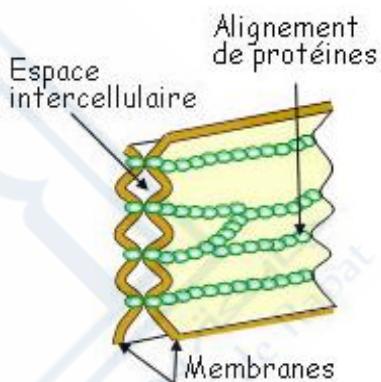
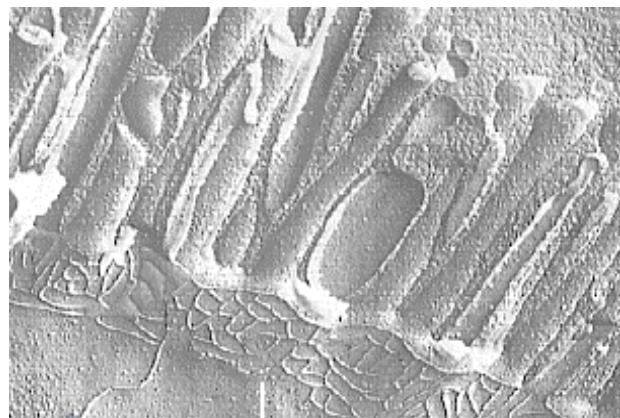
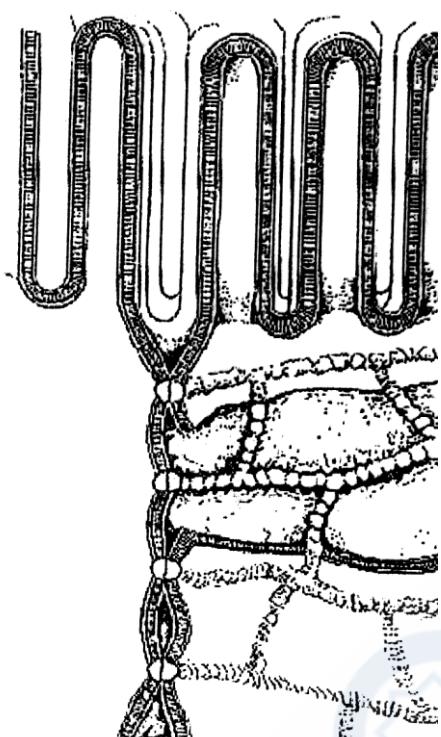
Le complexe de jonction

Représentation schématique au MET

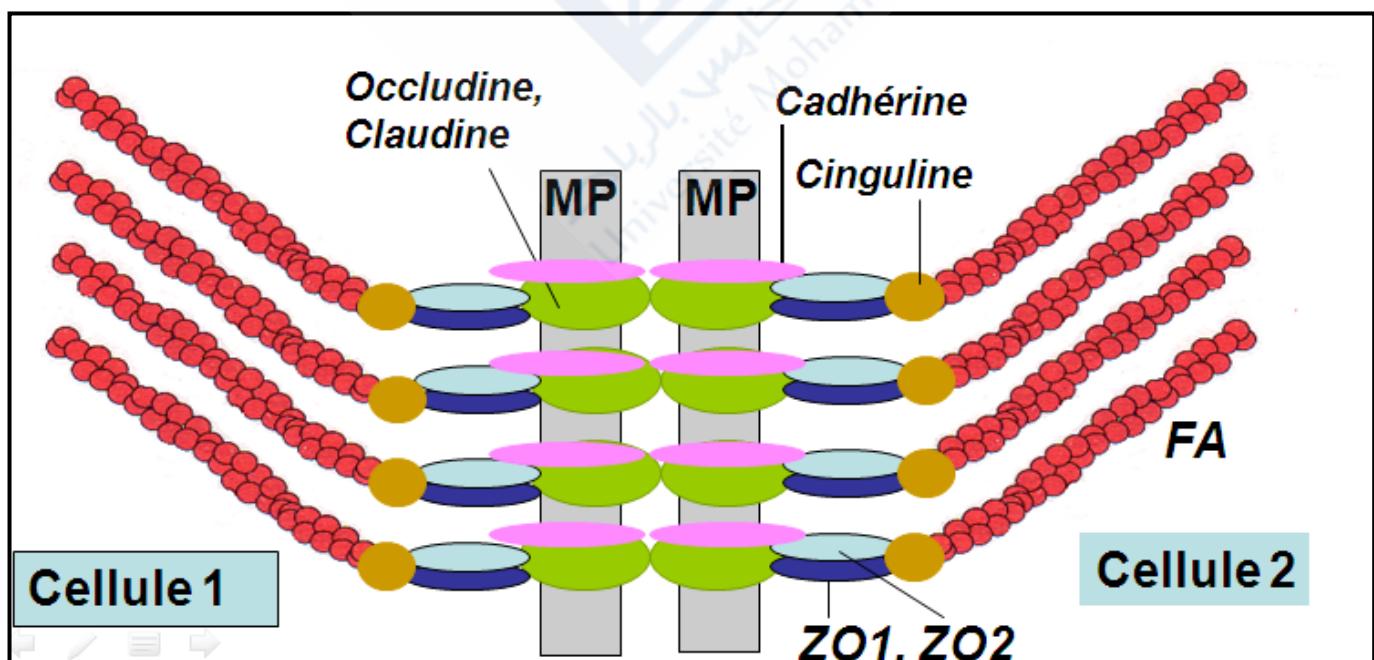


La jonction serrée

MET. Schémas et image d'une réplique



Représentation schématique avec quelques constituants moléculaires

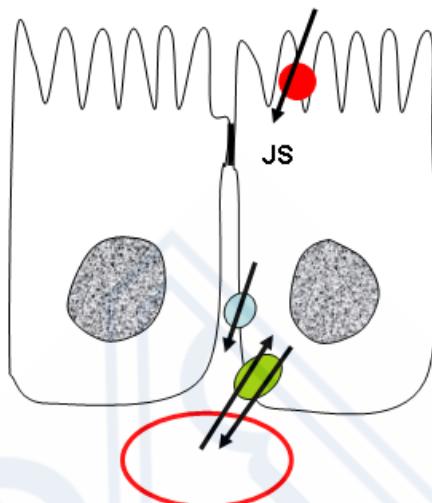


Fonctions de la jonction serrée

Fermeture de l'espace intercellulaire

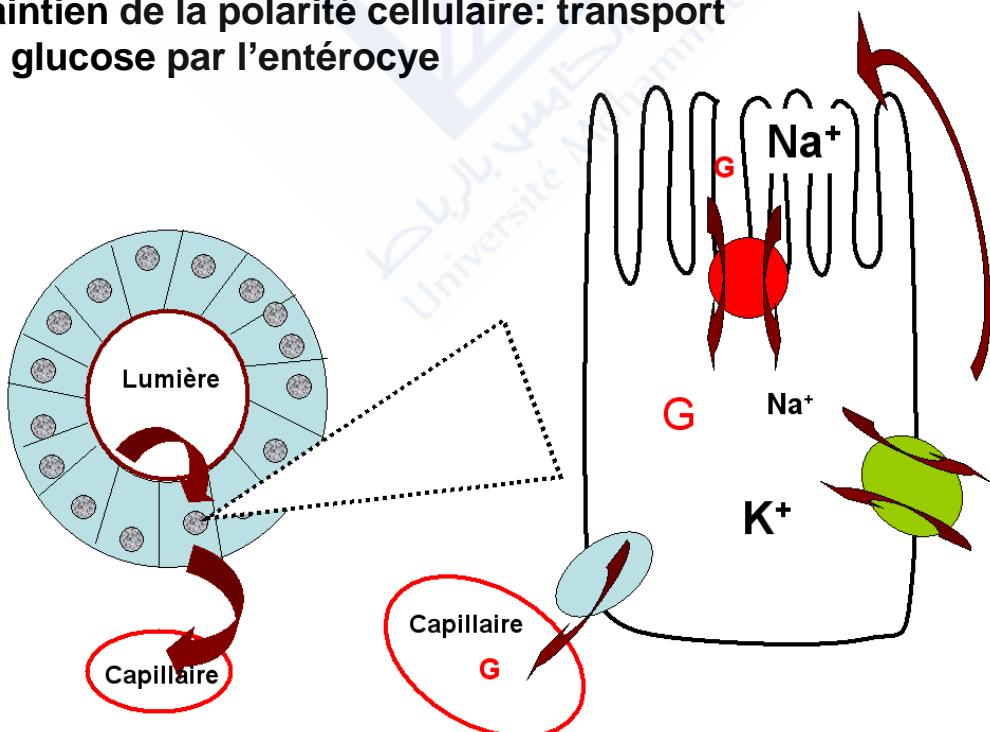
Maintien de la polarité cellulaire

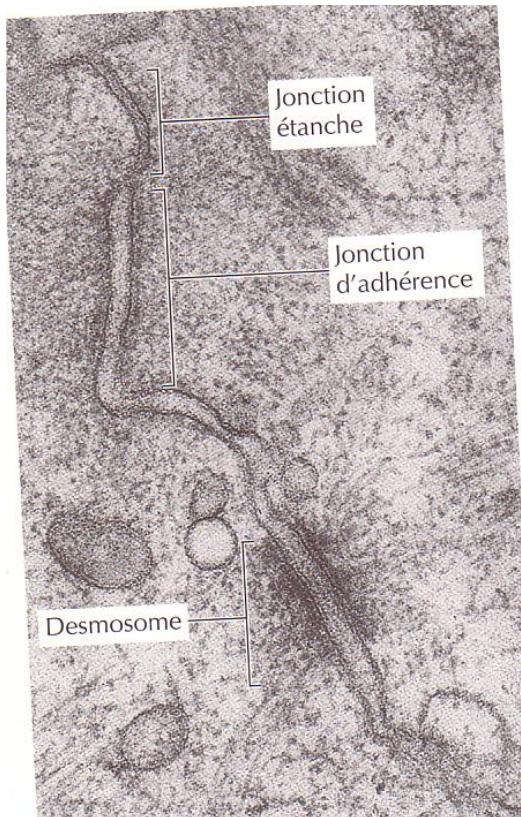
Exemple du transport du glucose par l'entérocyte



Fonctions de la jonction serrée

Maintien de la polarité cellulaire: transport du glucose par l'entérocyte



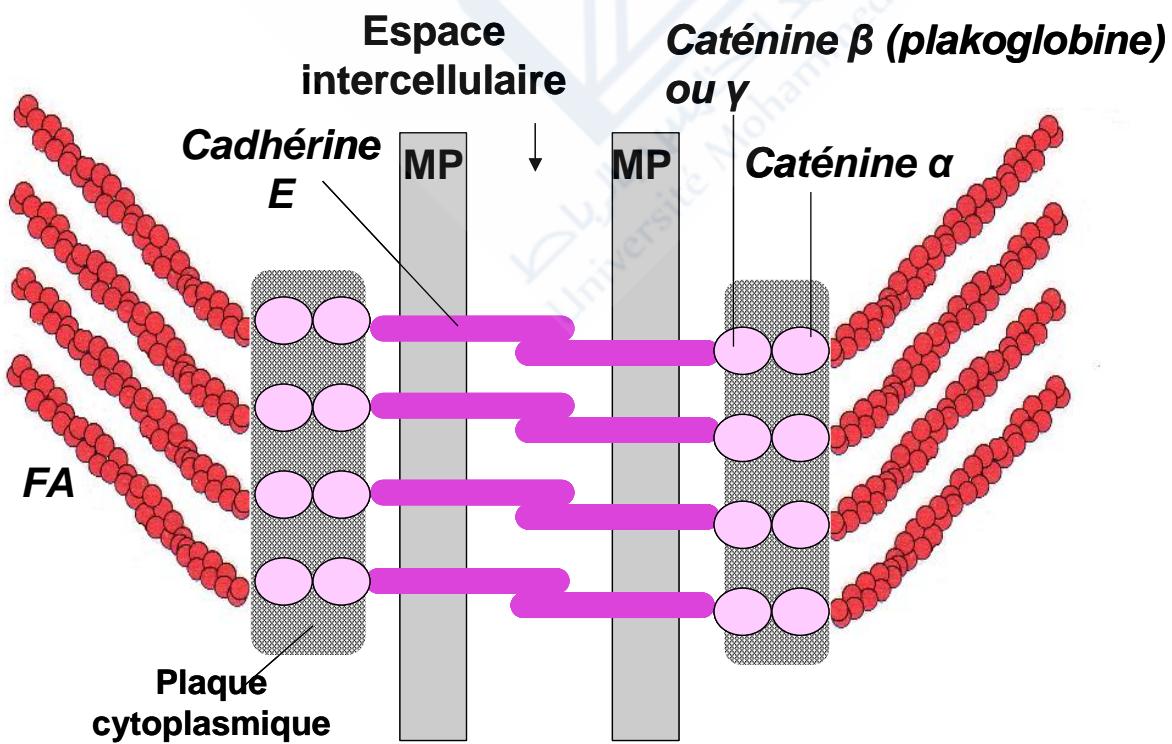


Complexe de jonction

MET

La jonction diffuse

Représentation schématique avec quelques constituants moléculaires

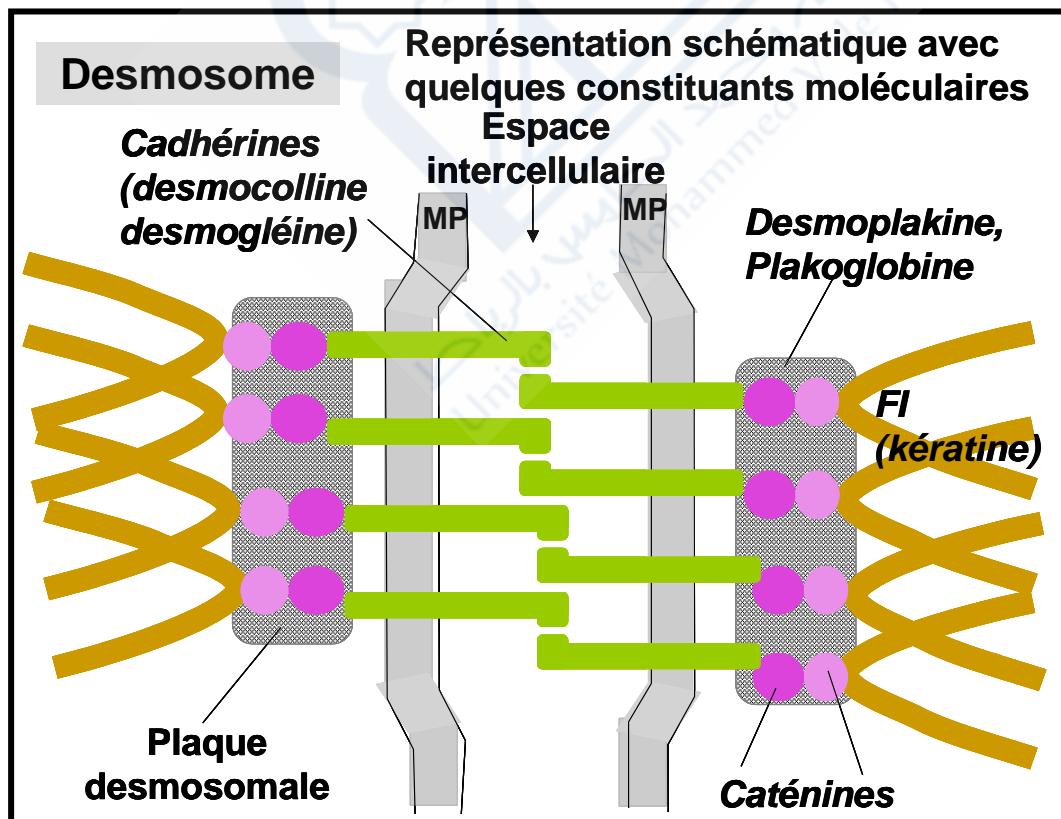
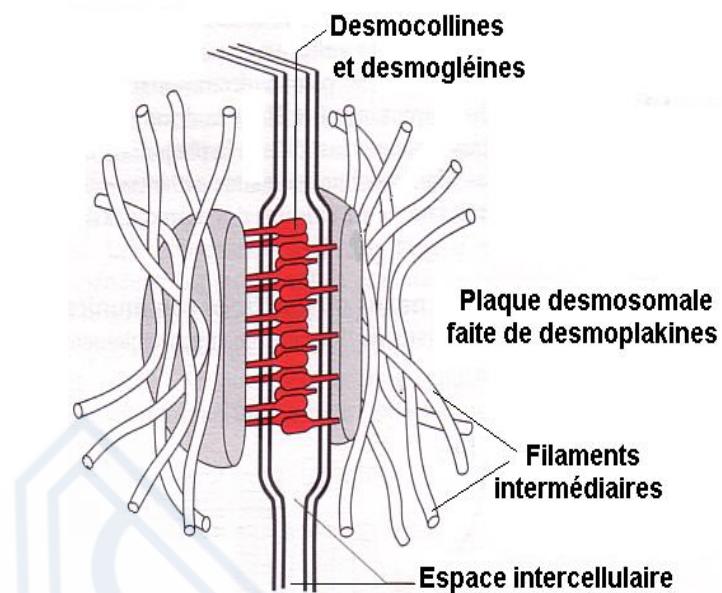


Le desmosome

MET. Cellules de l'épiderme



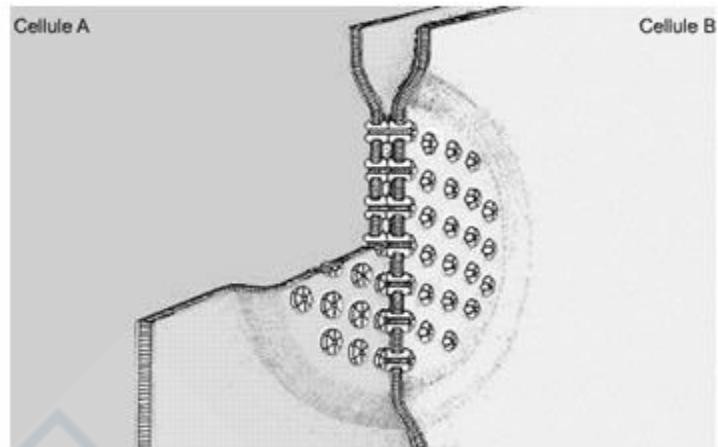
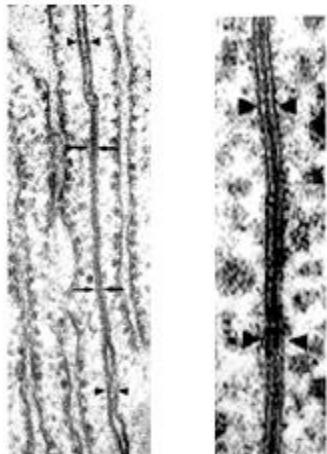
Représentation schématique en 3 D



La jonction de type gap ou jonction communicante

Représentations en 3 D

MET



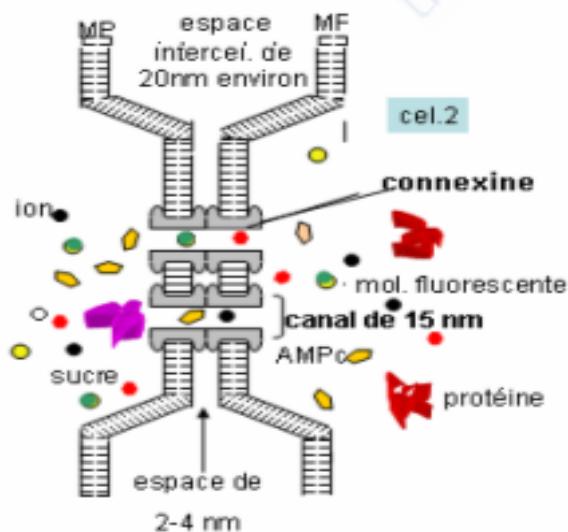
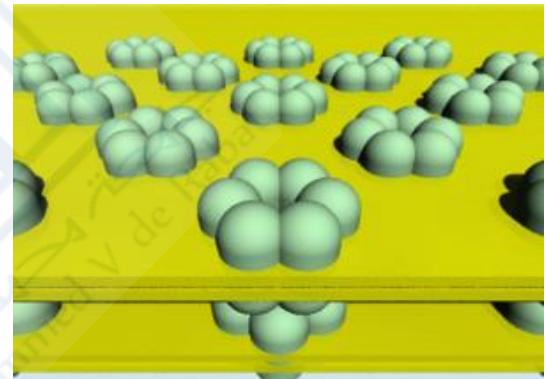
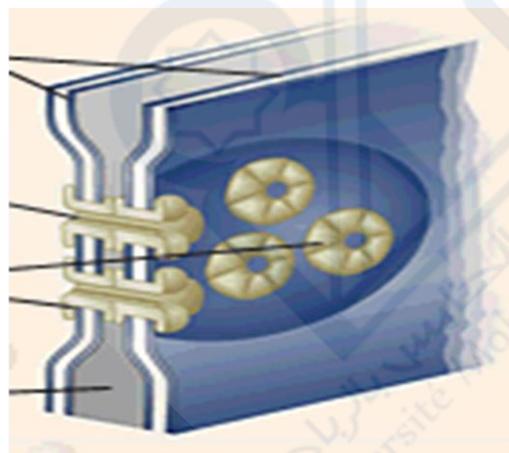
Formations hexagonales

MP cellules adjacentes

Canal

Connexines

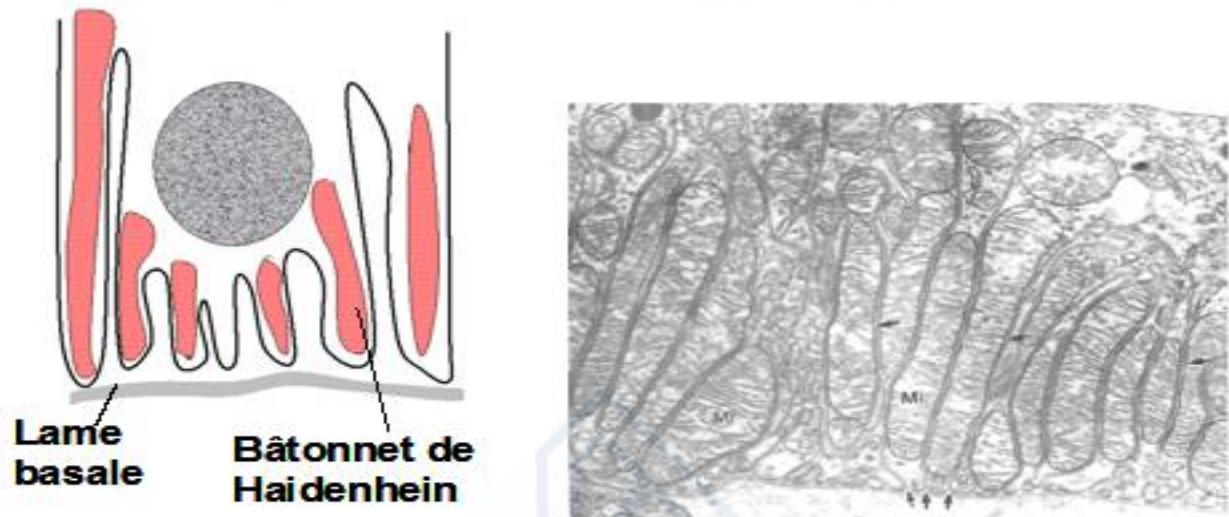
Espace intercellulaire



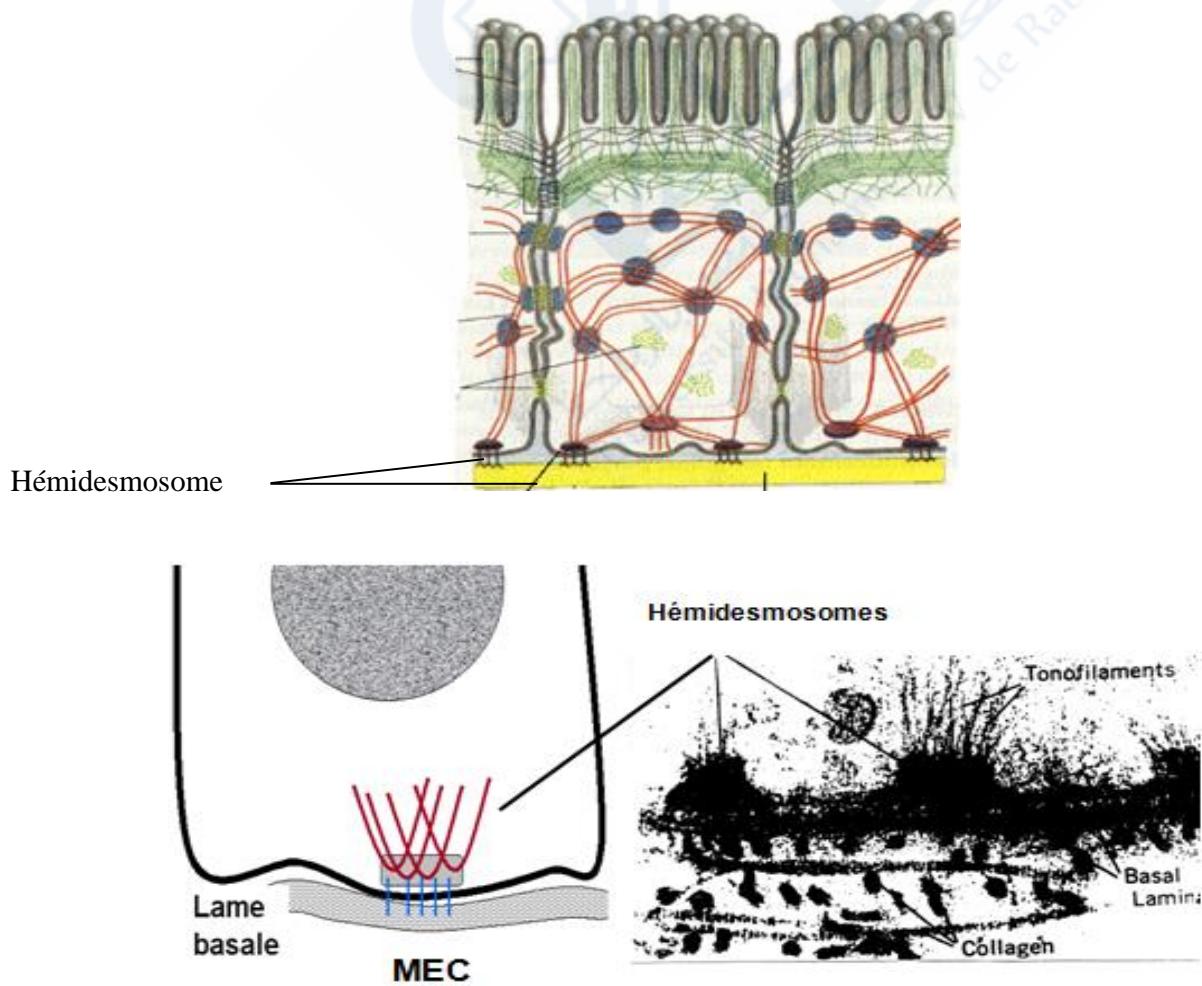
L'injection de jaune de lucifer (auquel la MP est imperméable) dans le cytoplasme de la cel.1 passe dans le cytoplasme de cel.2 dans le cas uniquement où les deux cellules sont reliées par des j. de type gap.

Les invaginations

**Cellule du tube proximal rénal.
Représentation schématique et MET**

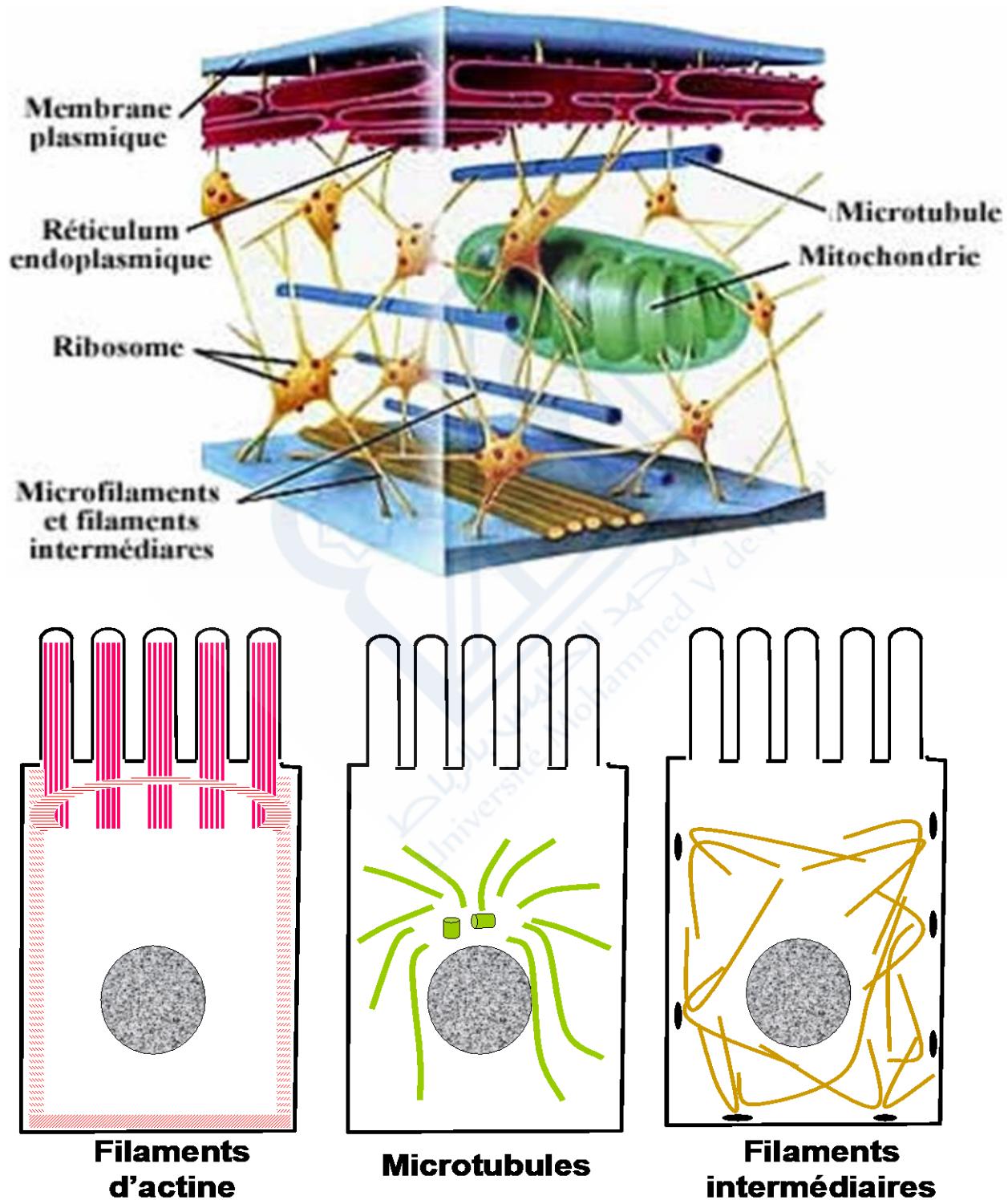


L'hémidesmosome



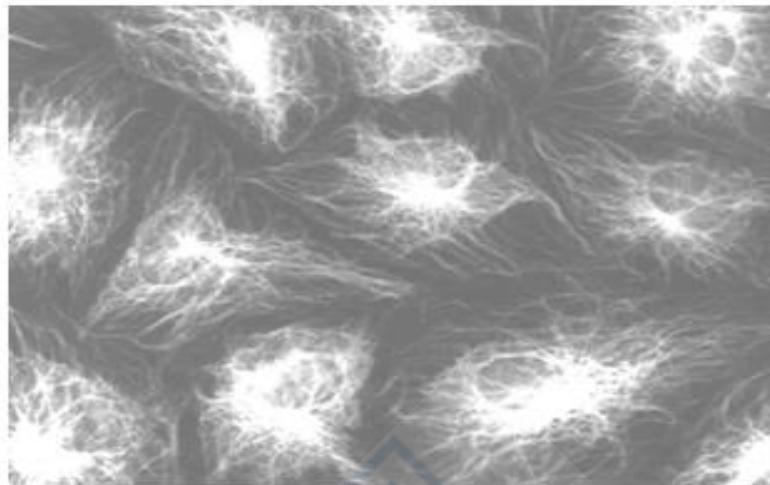
Le cytosquelette

Répartition des MT, des FA et des FI

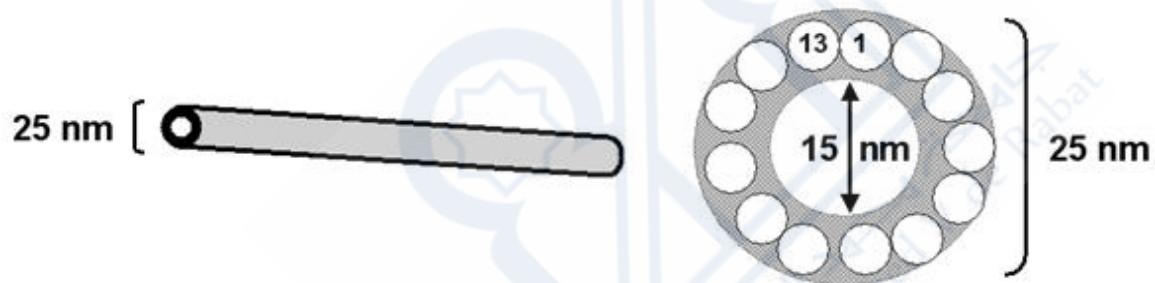


Les microtubules

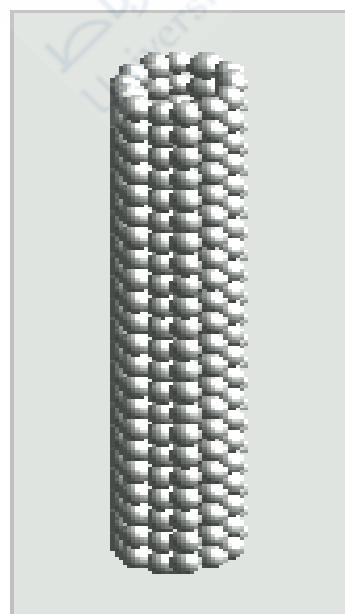
Cellules en culture. MO. Acs fluorescents anti- tubuline



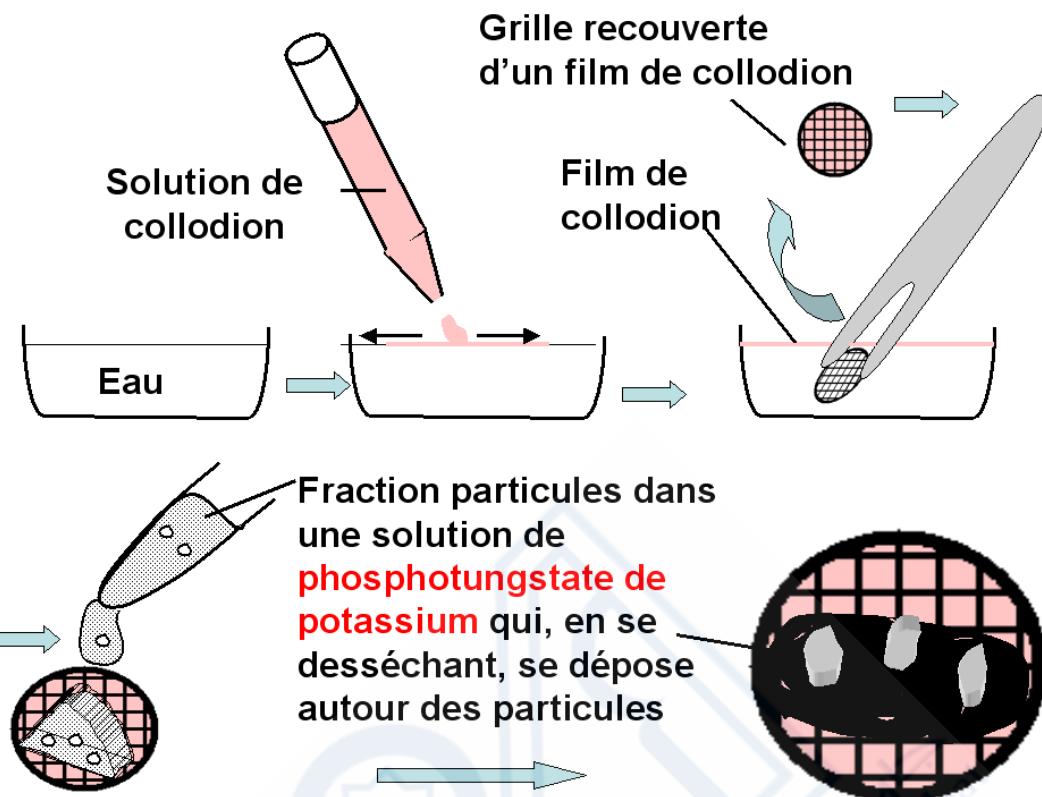
MET. Schémas de MT en coupe longitudinale et en coupe transversale (coloration négative)



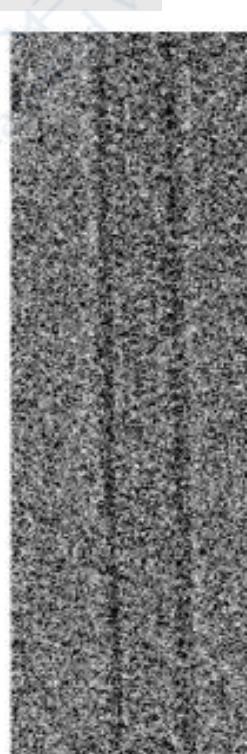
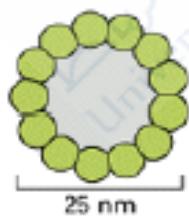
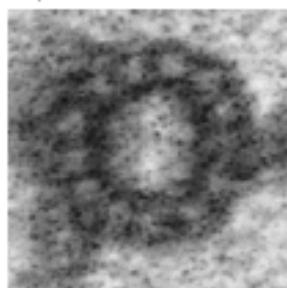
Un MT constitué de 13 protofilaments



La méthode de coloration négative

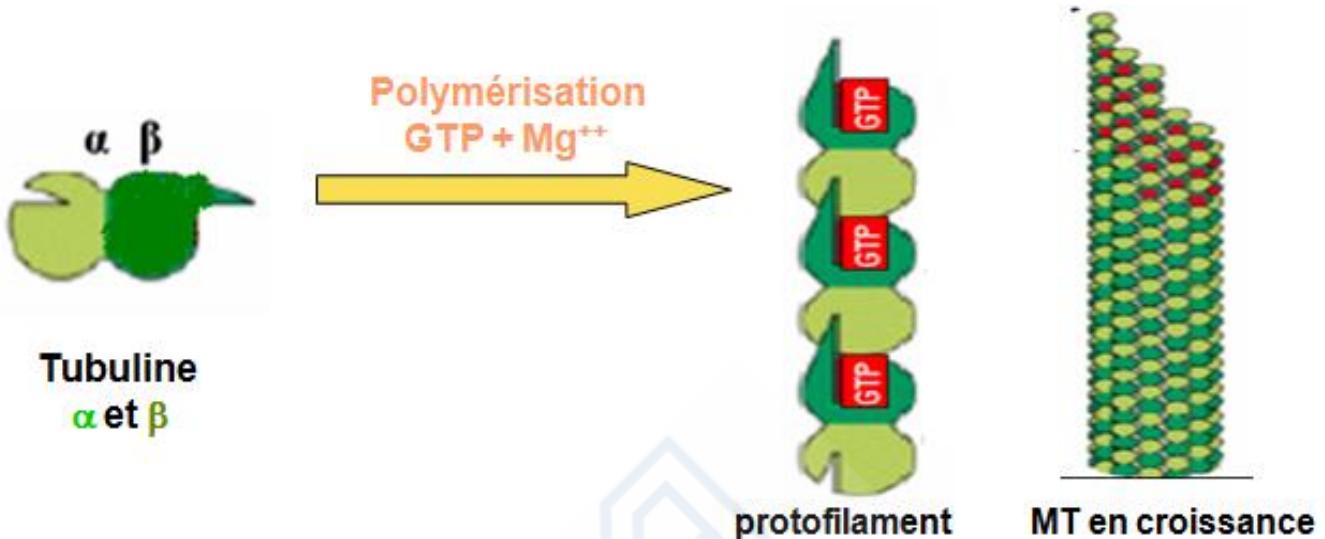


Les microtubules

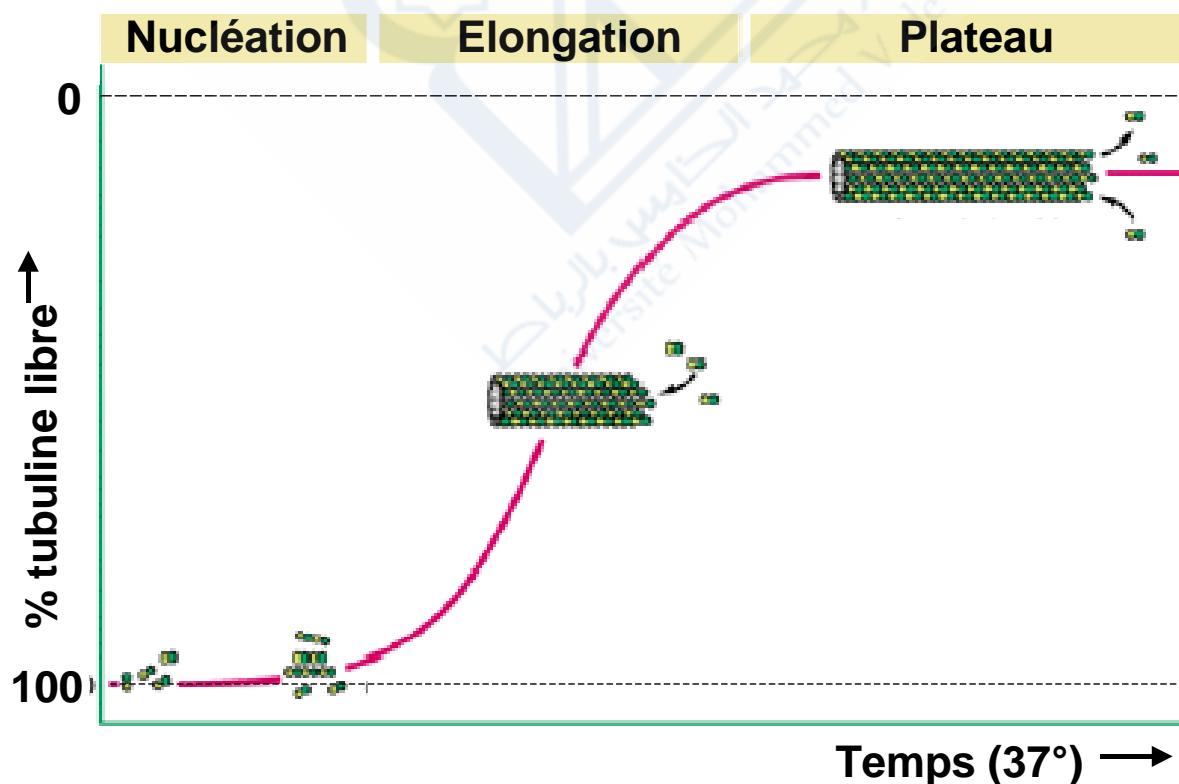


MET . Coloration négative et représentations schématiques et dessin

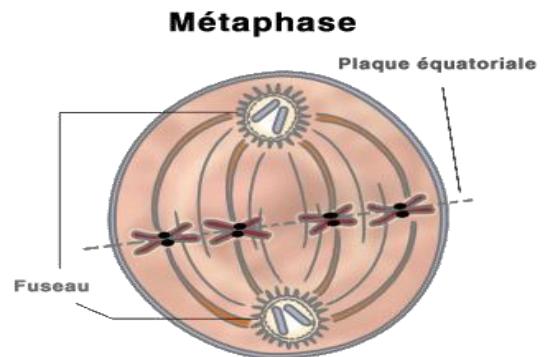
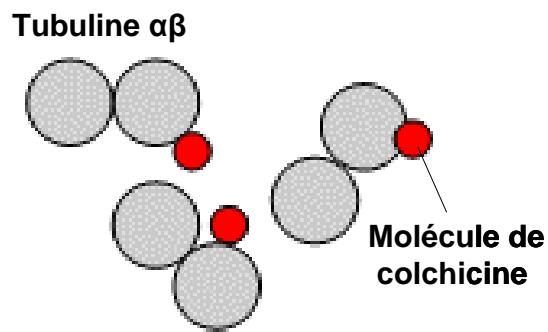
Polymérisation des MT



Dynamique des MT



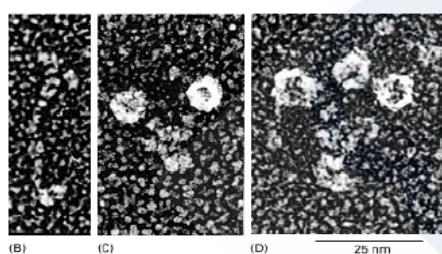
Mode d' action de la colchicine



Les MAPs

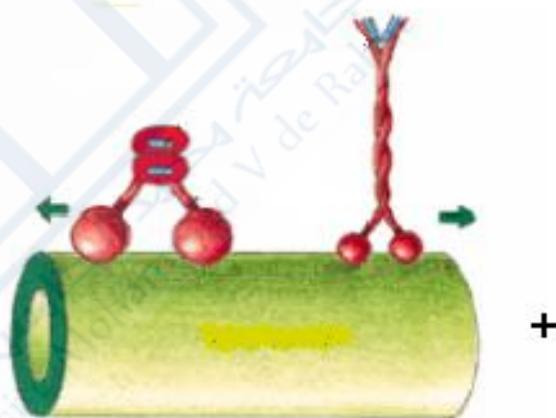
MET.coloration négative et schéma

Kinésine Dynéine



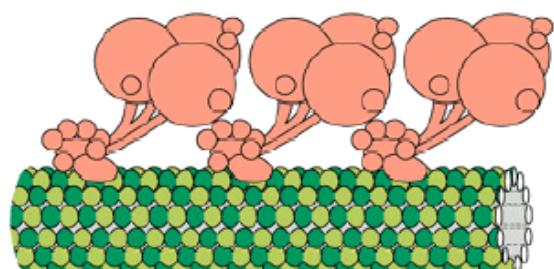
Dynéine

Kinésine

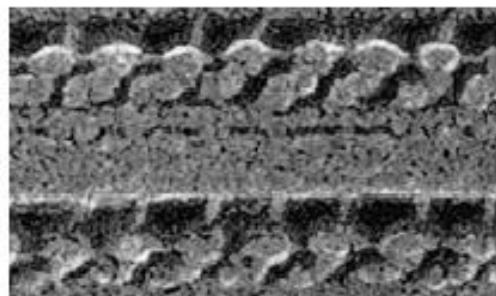


Dynéine

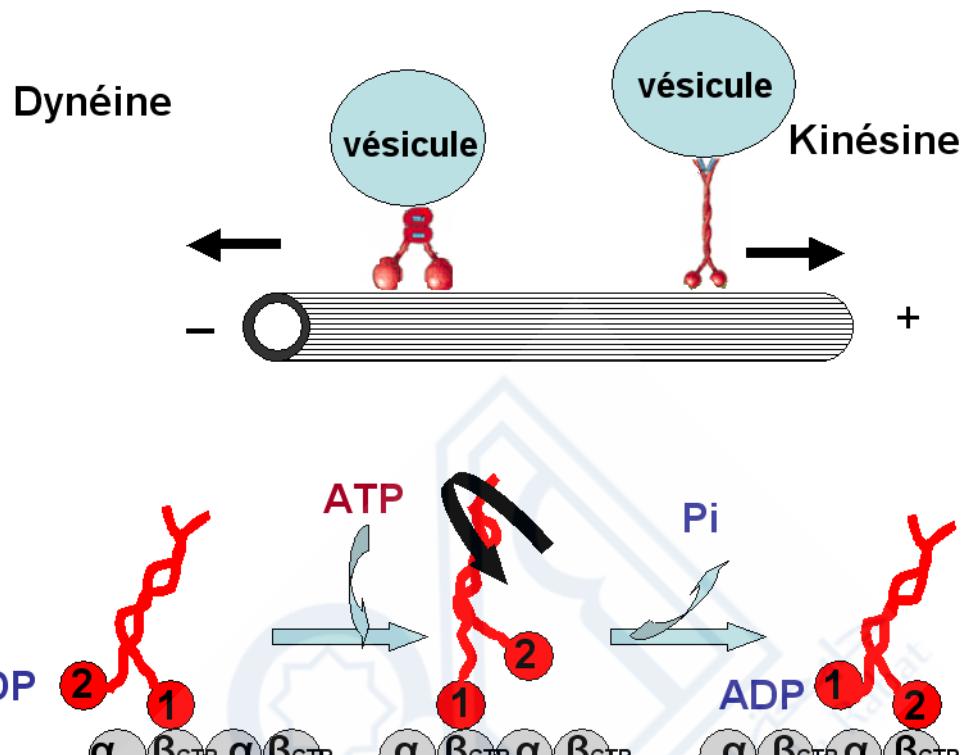
Modèle de dynéine



MET. Cryodécapage



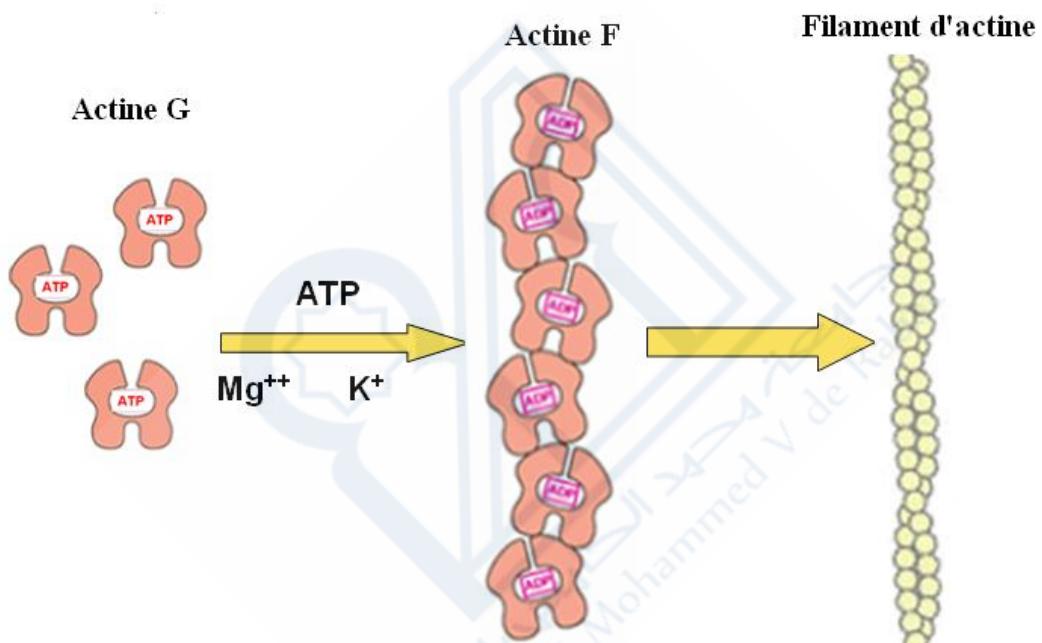
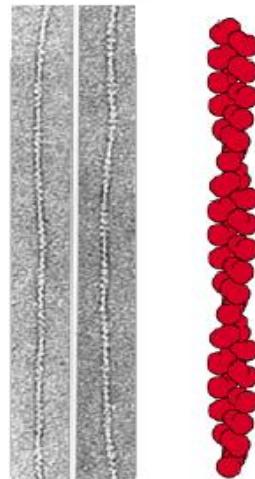
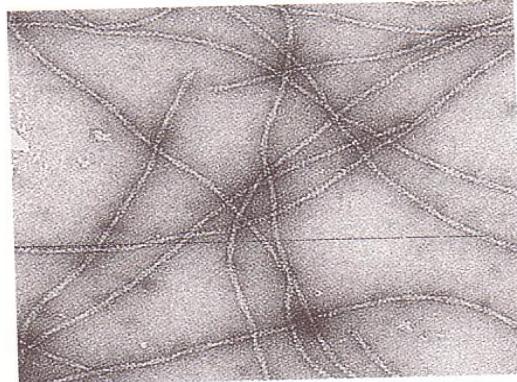
MT et Maps: transport de vésicules



1 et 2 : domaines ATPasiques

Les filaments d'actine

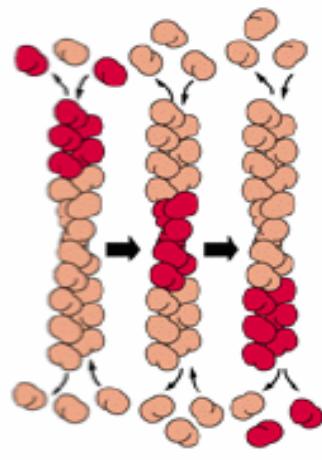
Coloration négative et schéma



Dynamique des filaments d'actine

Les molécules d'actine s'incorporent dans le FA ou le quittent à la façon d'un tapis roulant

Plus

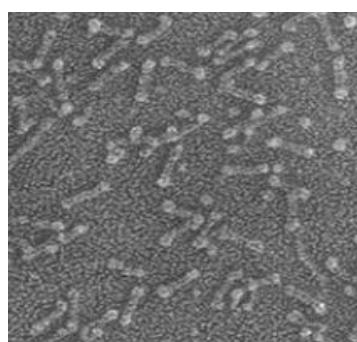


Les protéines associées à l'actine

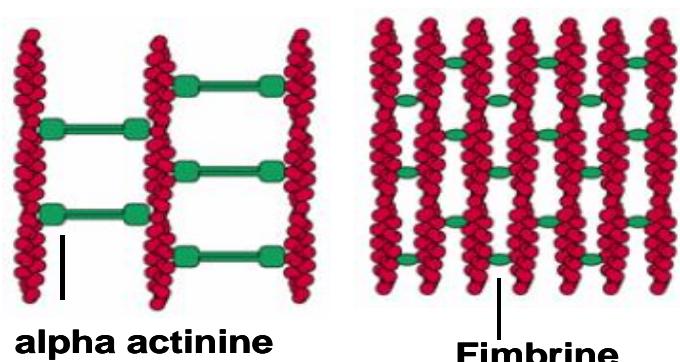
Protéines	Tailles et formes	Interaction	Fonctions
Actine			Forme les FA
tropomyosine			Consolidation
filimbrine			Faisceaux serrés
alpha-actinin			Faisceaux large. Se fixe au bout +
filamine			Stabilisation en réseau (gel)
gelsoline			Fragmentation
myosine II			Glissement
myosine I			Mouvement de vésicules
spectrine			Attachement à la MP
thymosine			Séquestration de monomères

Filaments d'actine et protéines associées

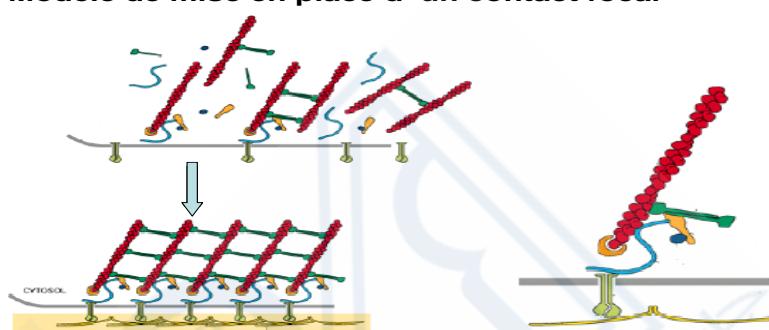
MET. Molécules d' alpha actinine purifiées



Schémas. Faisceau contractile et faisceau serré



Modèle de mise en place d'un contact focal



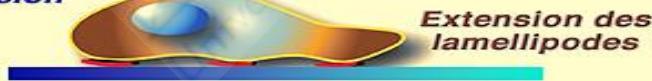
Au cours de son déplacement sur le support, la cellule détruit et constitue alternativement les **contacts focaux**

La migration cellulaire

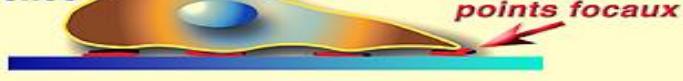
1-Adhérence



2-Extension



3-Nouvelle adhérence



4-Translocation

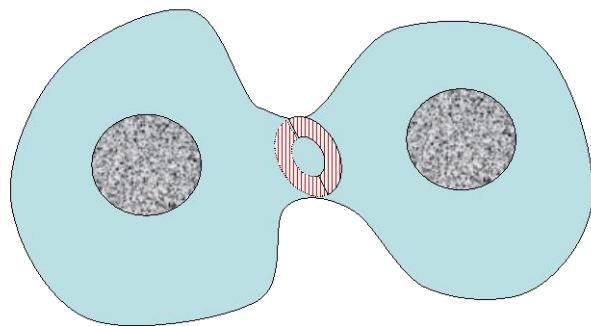


5-Décollement

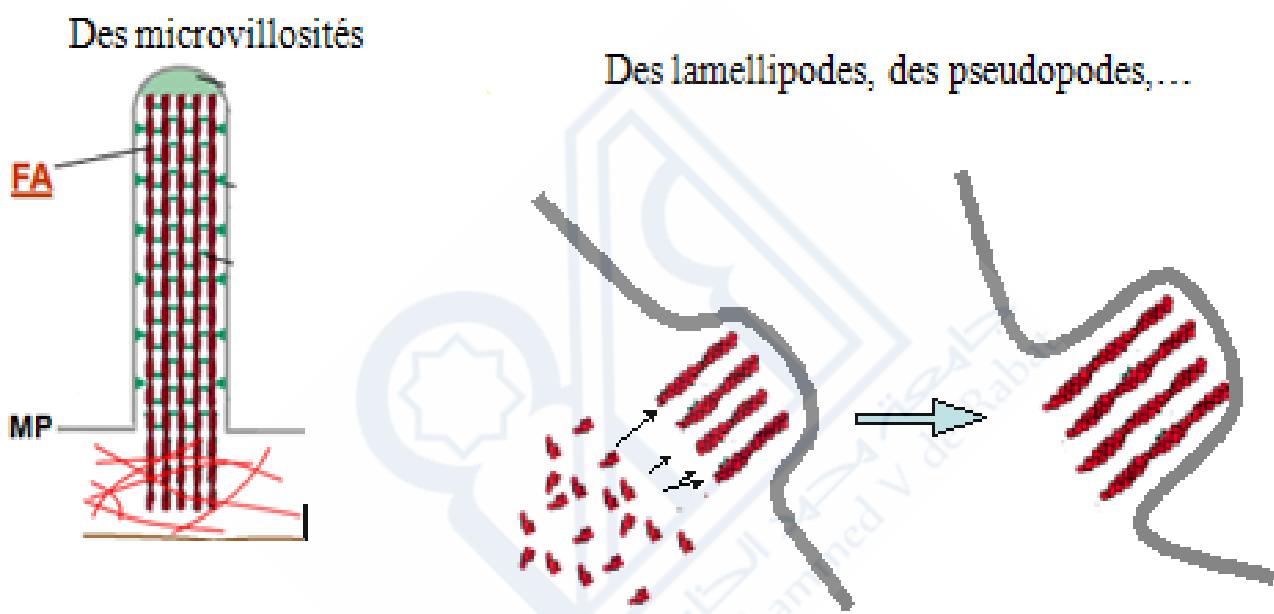


Sens du déplacement

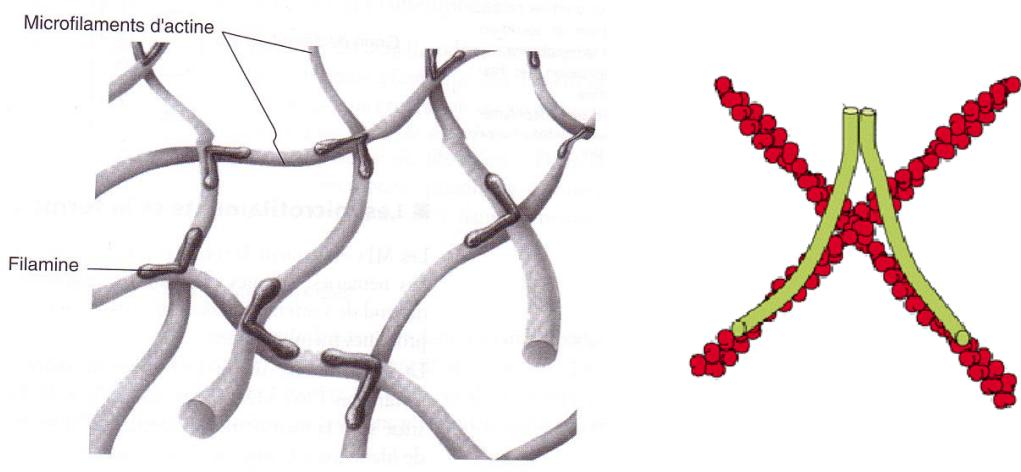
Anneau contractile de la cytodièrèse



Les faisceaux serrés au niveau :

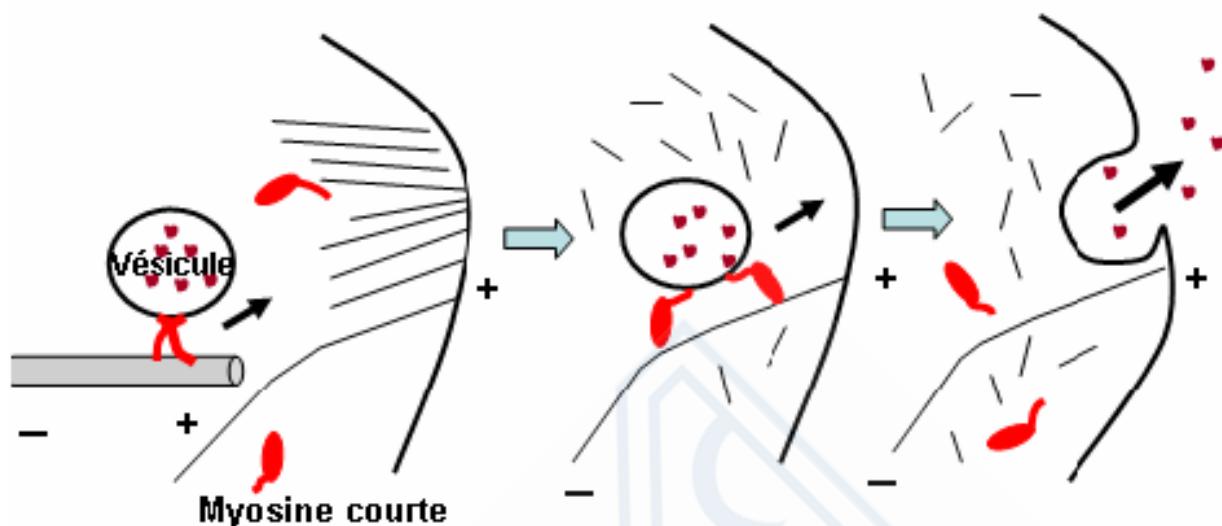


Le réseau d'actine. Rôle de la fimbrine



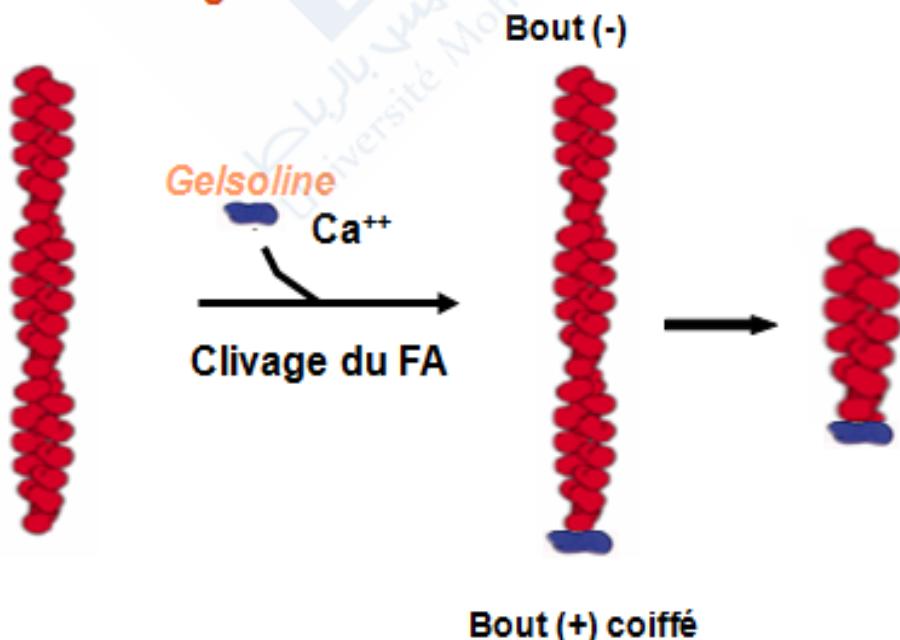
Les filaments d'actine

Fluidification du cortex cellulaire. Rôle de la gelsoline



La gelsoline en présence de Ca^{++} , coiffe le bout (+) et empêche sa polymérisation , alors que le bout (-) perd des dimères. Ce qui aboutit *in fine* au raccourcissement et à la fragmentation des FA

Action de la gelsoline



Des bactéries utilisent les FA pour passer directement d'une cellule à l'autre pour pouvoir échapper aux mécanismes de défense exemple de *Listeria monocytogenes*

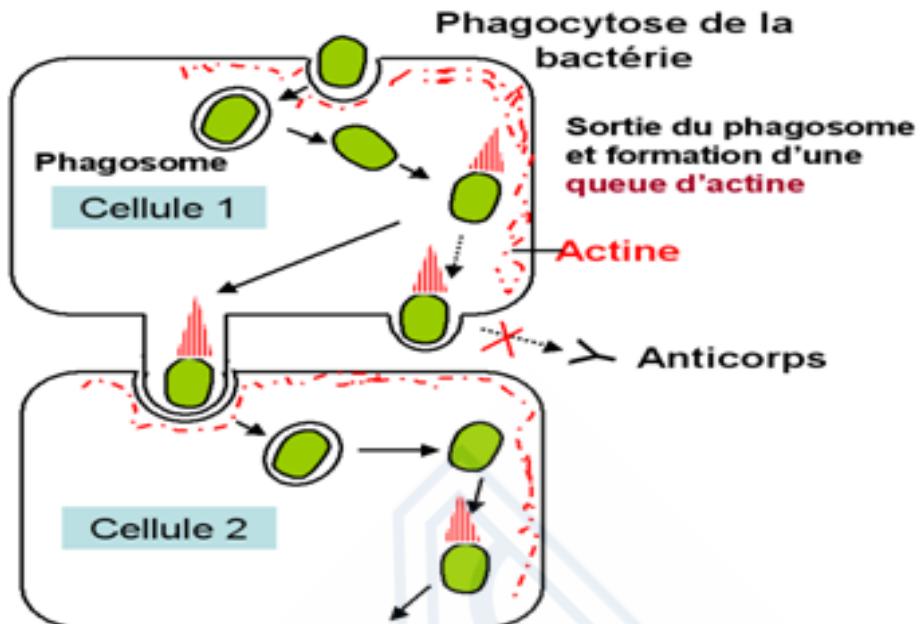
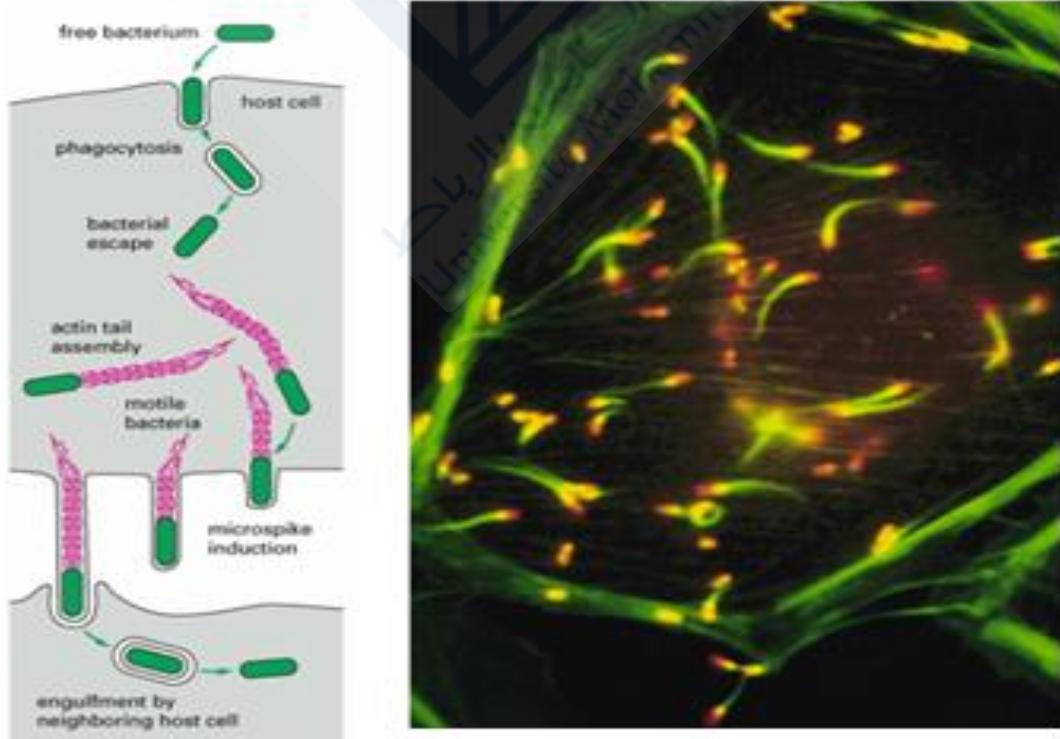


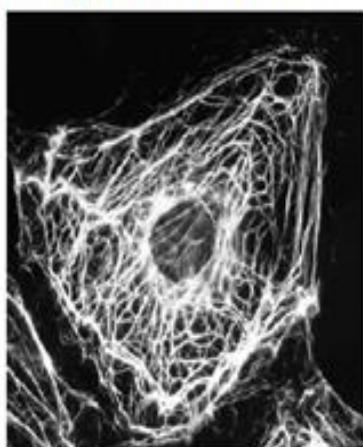
Schéma et MO en fluorescence



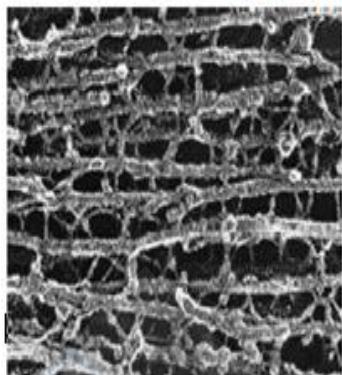
Les filaments intermédiaires

Cellule épithéliale de rat en culture.

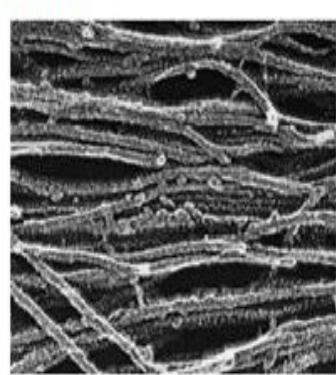
Anticorps anti-kératine



MET. Cryofracture

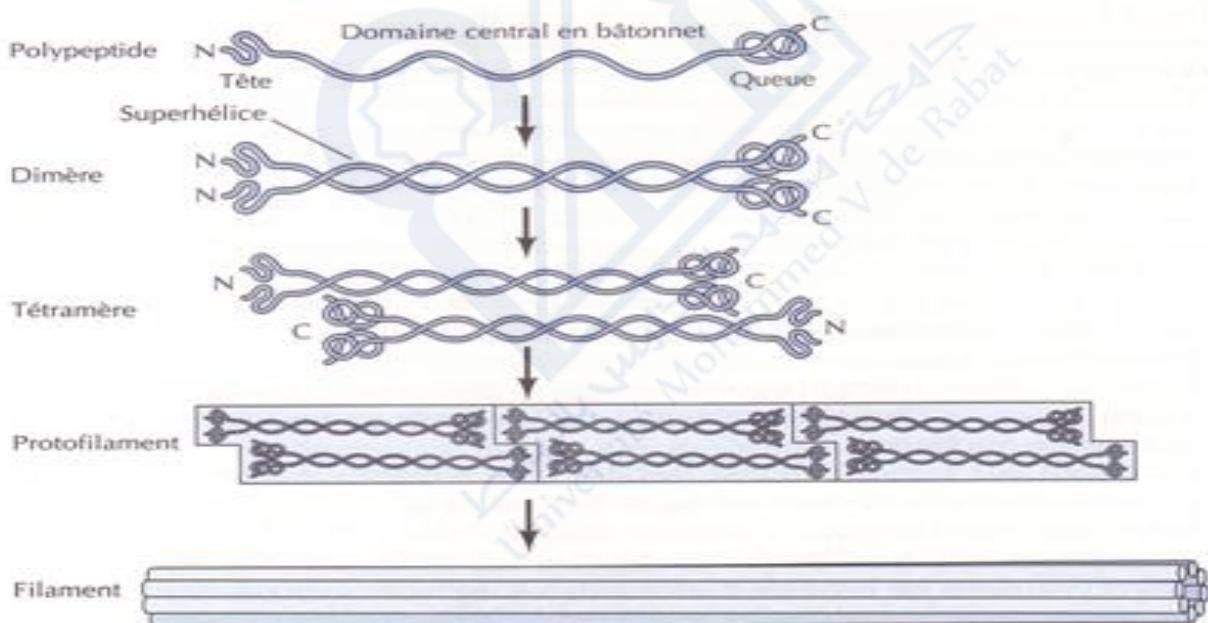


neurofilaments

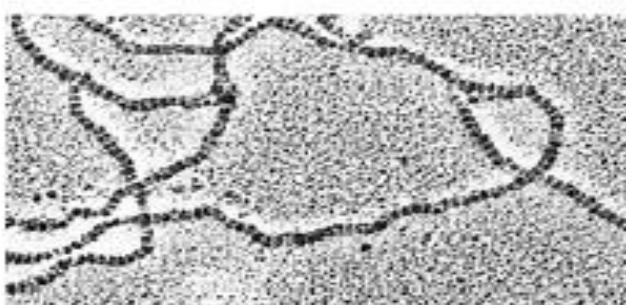


gliofilaments

Organisation moléculaire



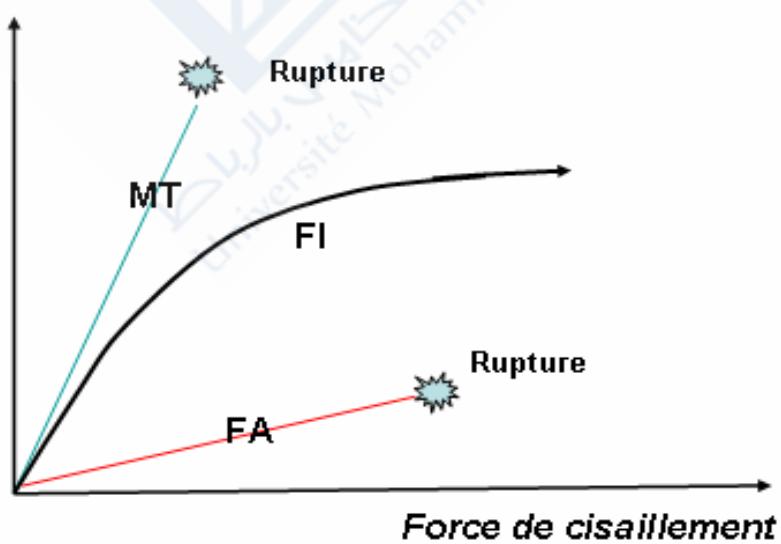
Monomère en MET



Classes des filaments intermédiaires

Type de filament	Composant protéique	Localisation
I	kératines acides	cellules épithéliales
II	kératines neutres et basiques	dérivés épidermiques: ongles, cheveux
III	vimentine	cellules d'origine mésodermique, cellules de Schwann
	desmine	cellules musculaires
	GFAP (protéine acide gliofibrillaire)	astrocytes et certaines cellules de Schwann
IV	protéines des neurofilaments	neurones
V	laminines A, B, C	noyaux de toutes les cellules
Autres (non classés)	filensine	cristallin
	phakinine	cristallin
	tanabine	cône de croissance du neurone

Déformation

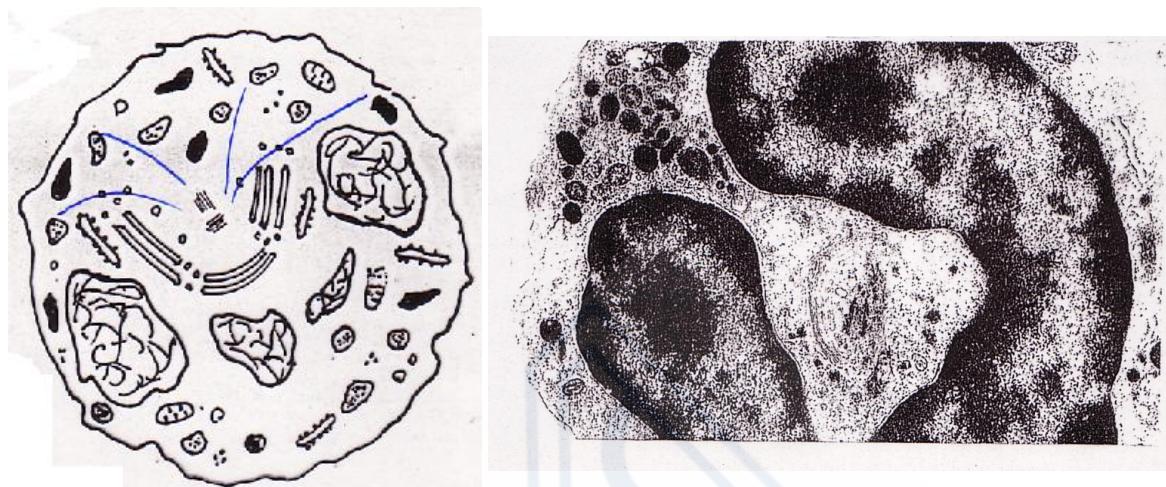


Mesures dans un viscosimètre

Le centriole et ses dérivés

Le centrosome

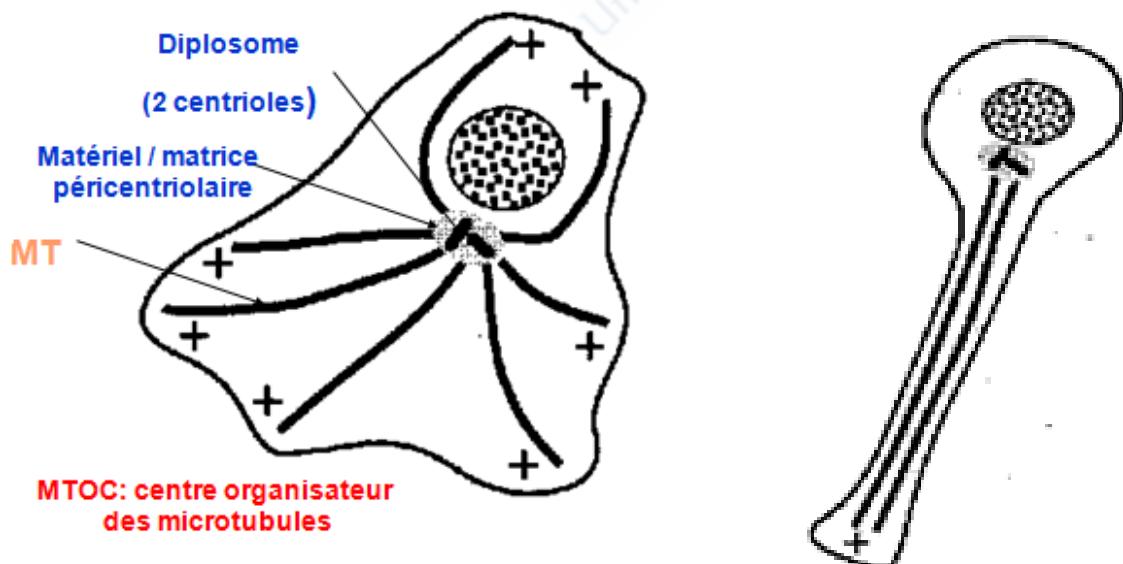
Polynucléaire .Schéma et MET



Diplosome = une paire de centrioles

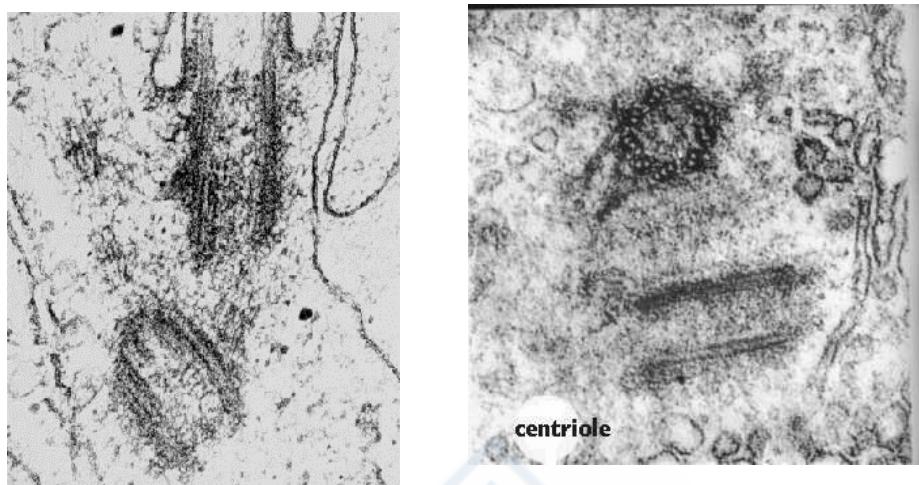


Représentation schématique et relation avec les MT

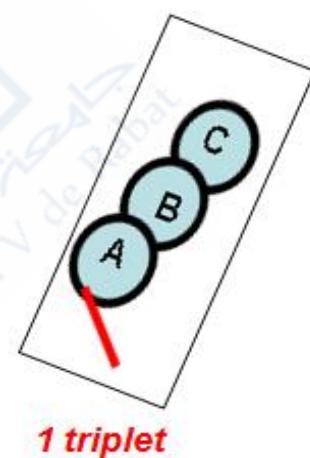
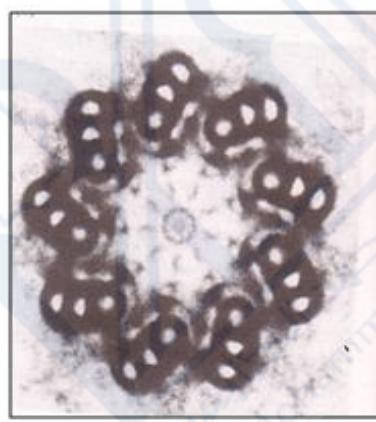
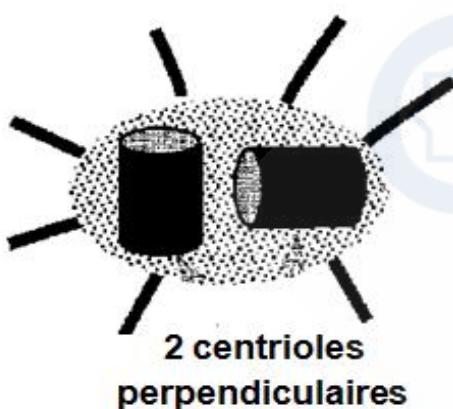


Le centriole

MET

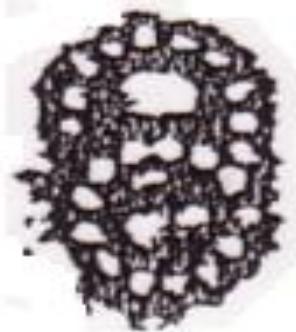


coupes transversales et longitudinale

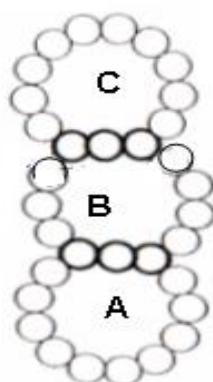
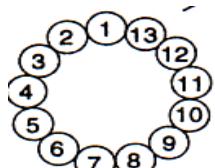


MET coloration négative et représentation schématique

Coloration négative
d'un doublet



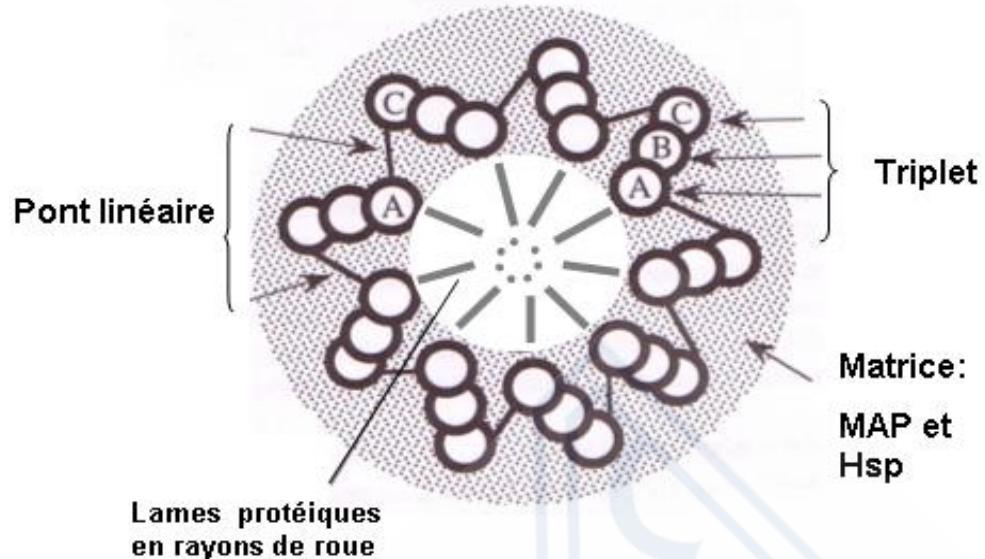
Triplet montrant les sous
unités communes



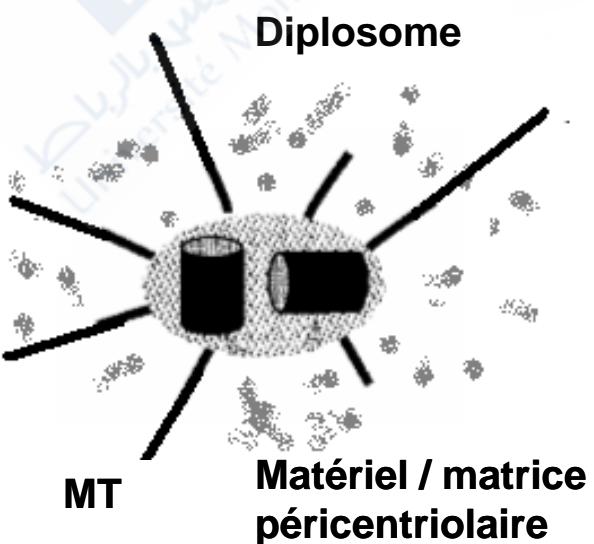
Le centriole

Représentation schématique en coupe transversale.

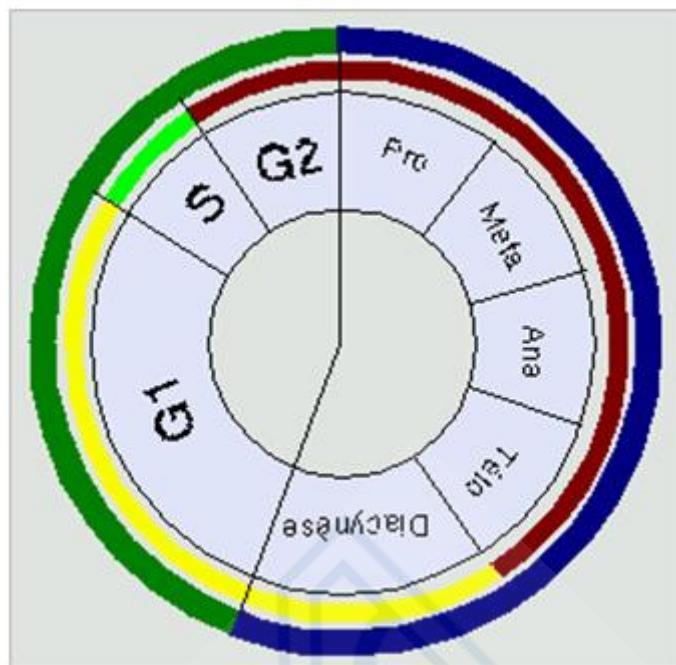
Structure en roue de charrette du côté distal



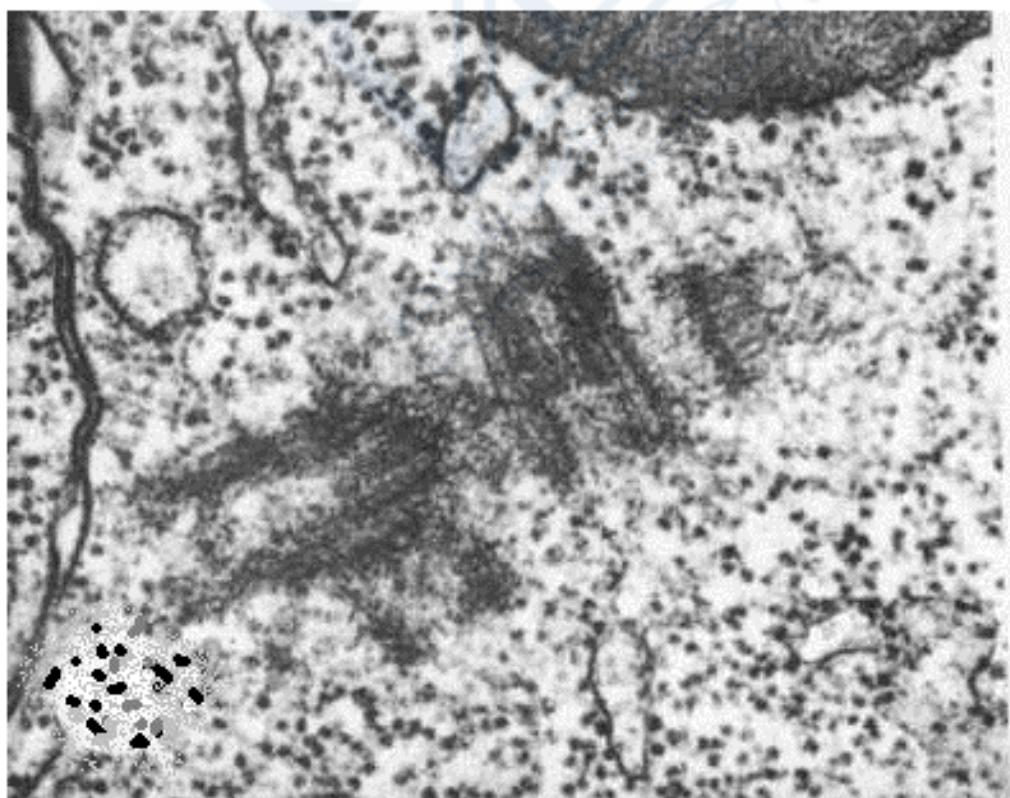
MTOC: centre organisateur des microtubules



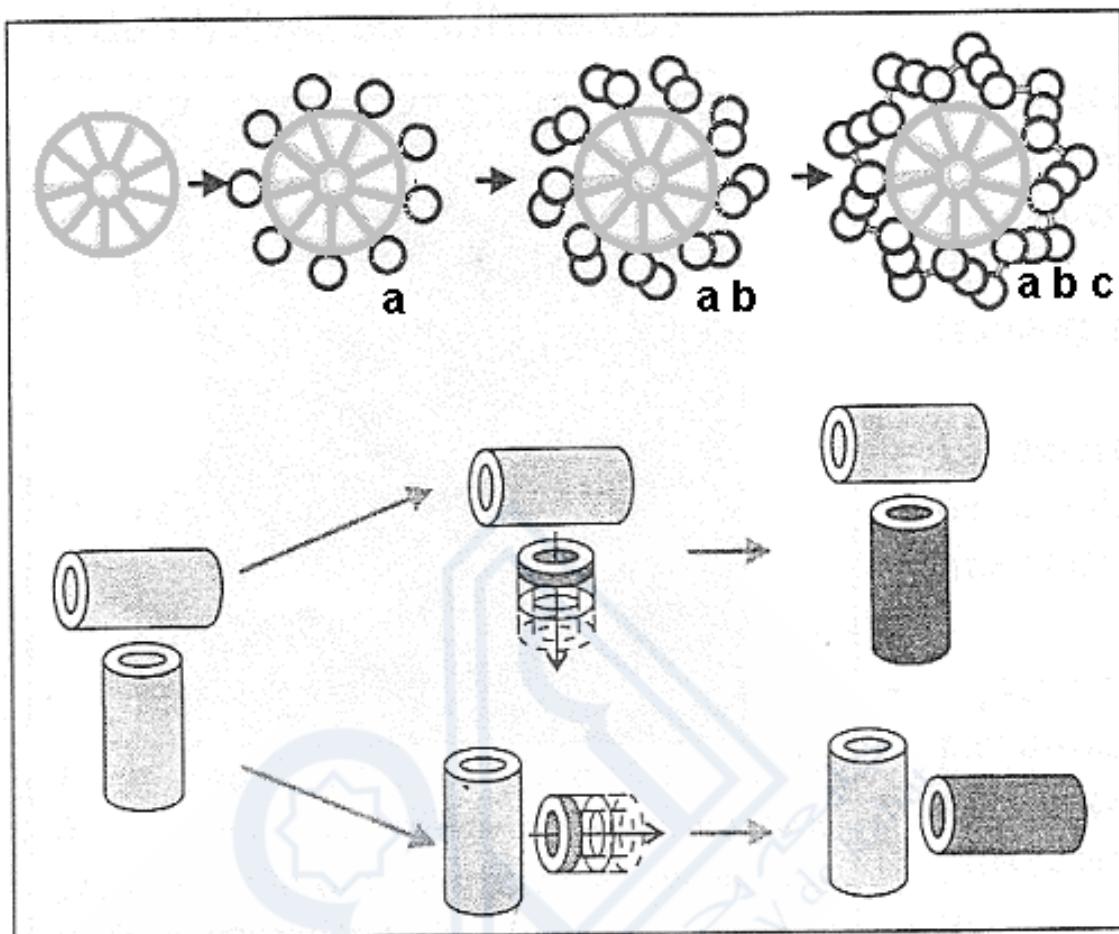
Le cycle cellulaire



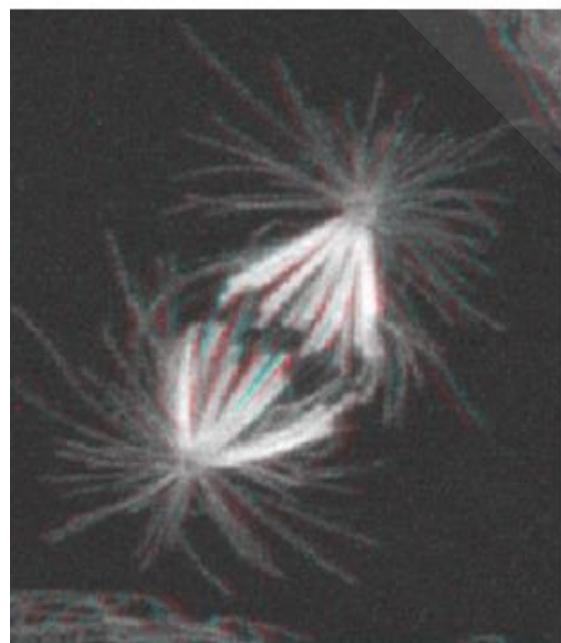
MET. Duplication du diplosome



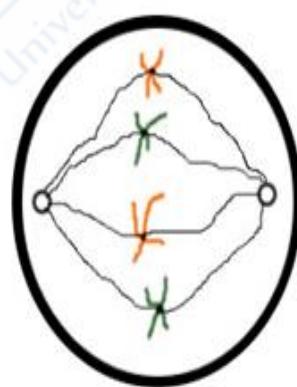
Duplication des centrioles



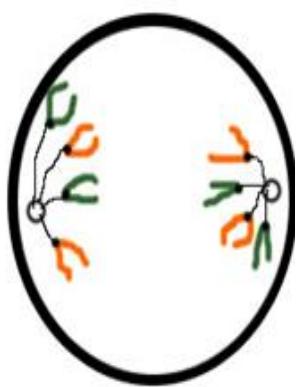
MET. Fuseau mitotique



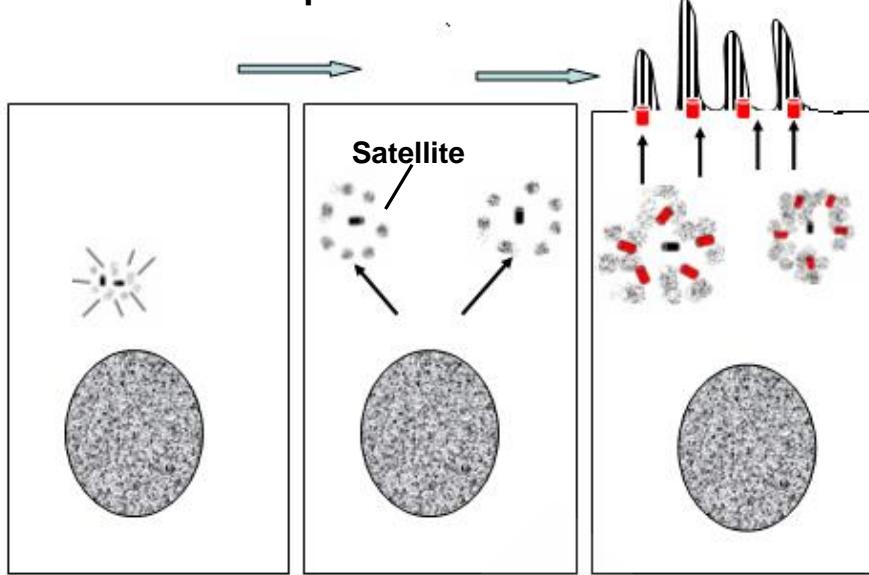
Metaphase



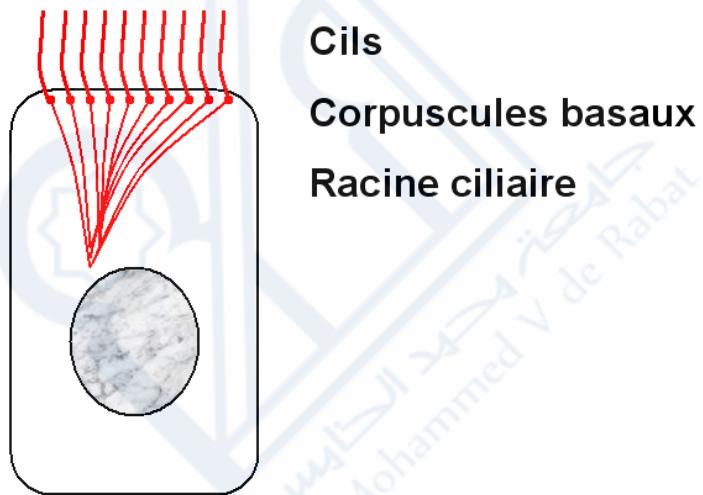
Anaphase



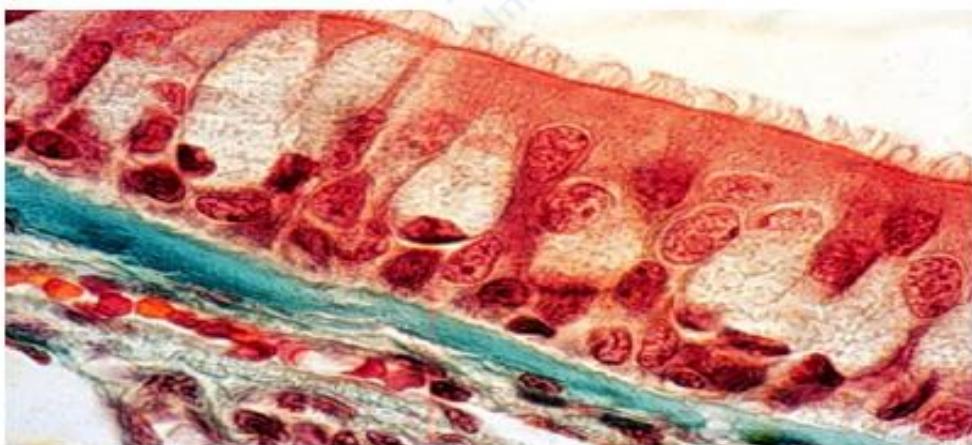
Formation des corpuscules basaux



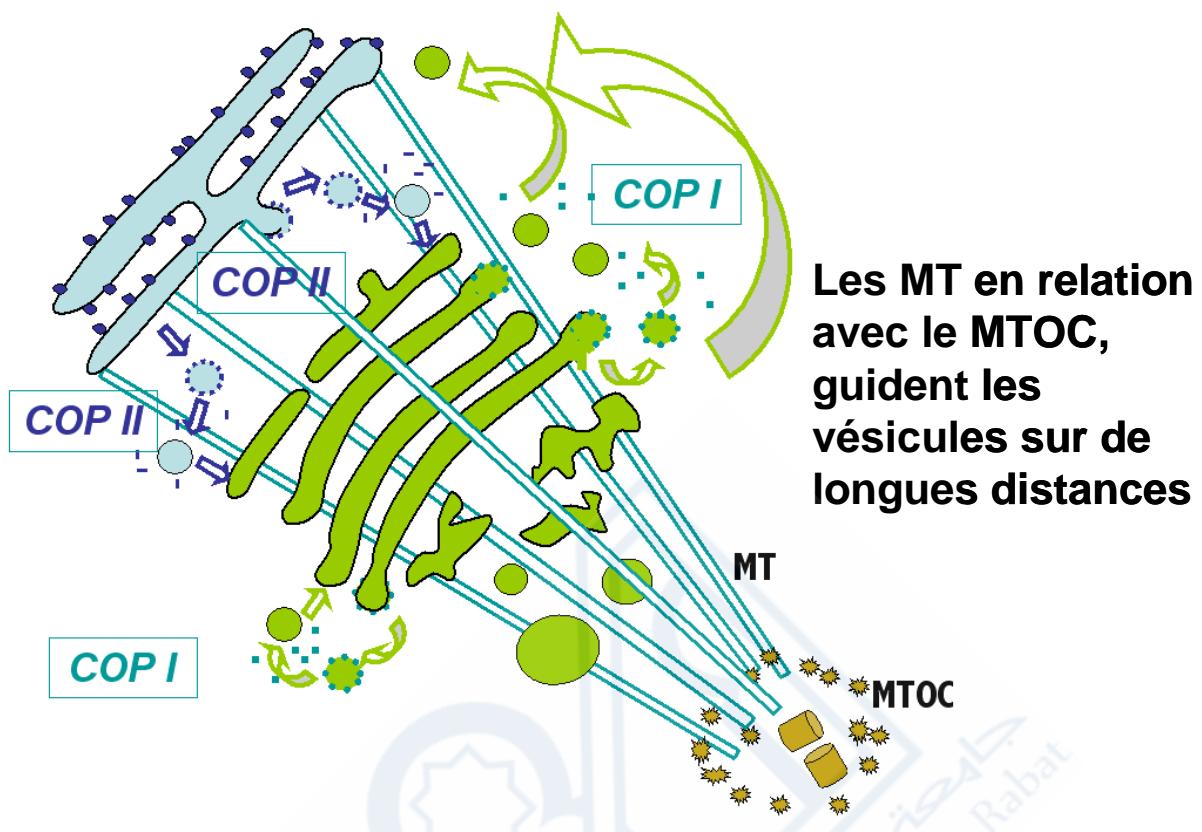
Représentation schématique au MO



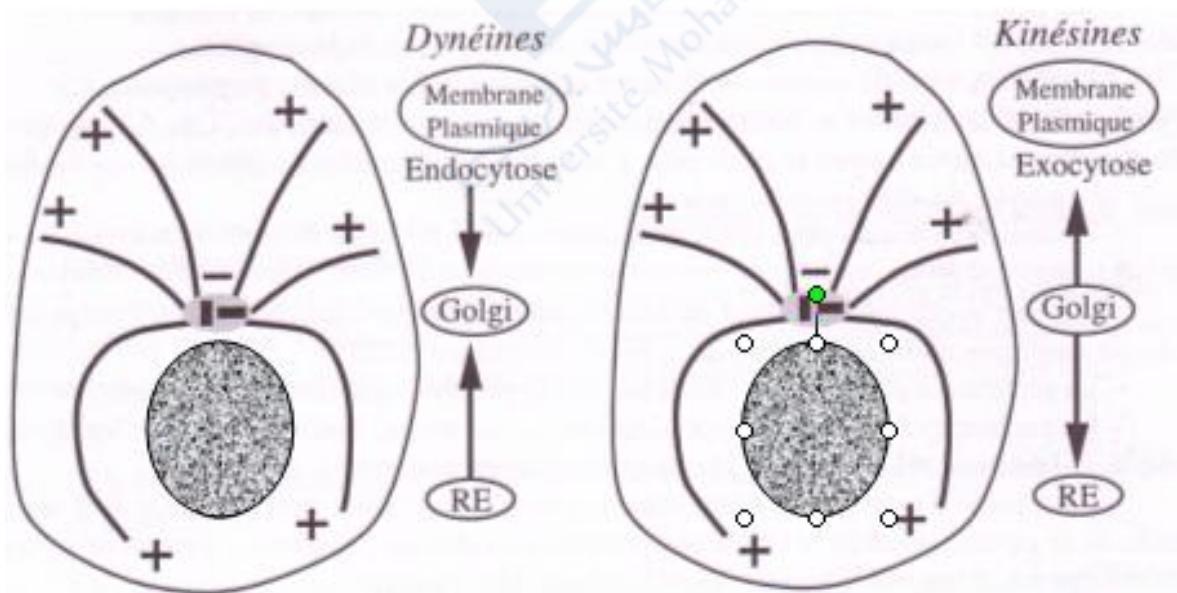
MO. La trachée : épithélium cilié



Flux membranaires entre RE et AG



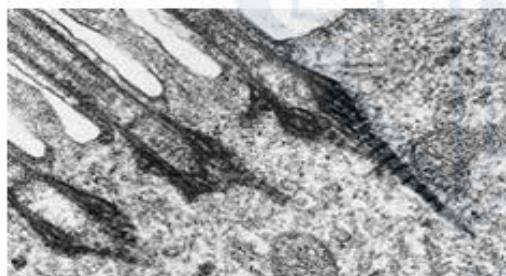
Centrosome et transport de vésicules



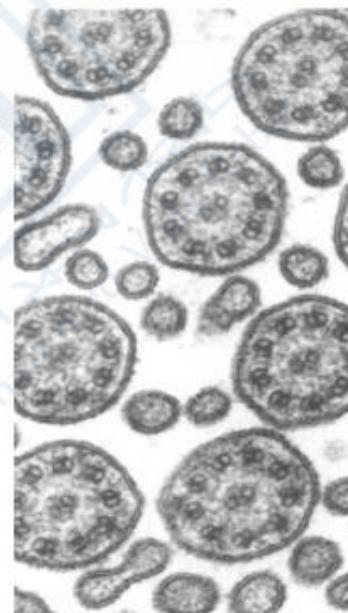
Le cil vibratile



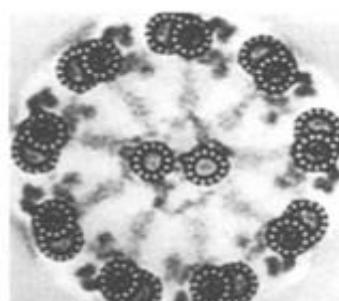
MET. Coupe longitudinale montrant cils, corpuscules basaux et racine ciliaire



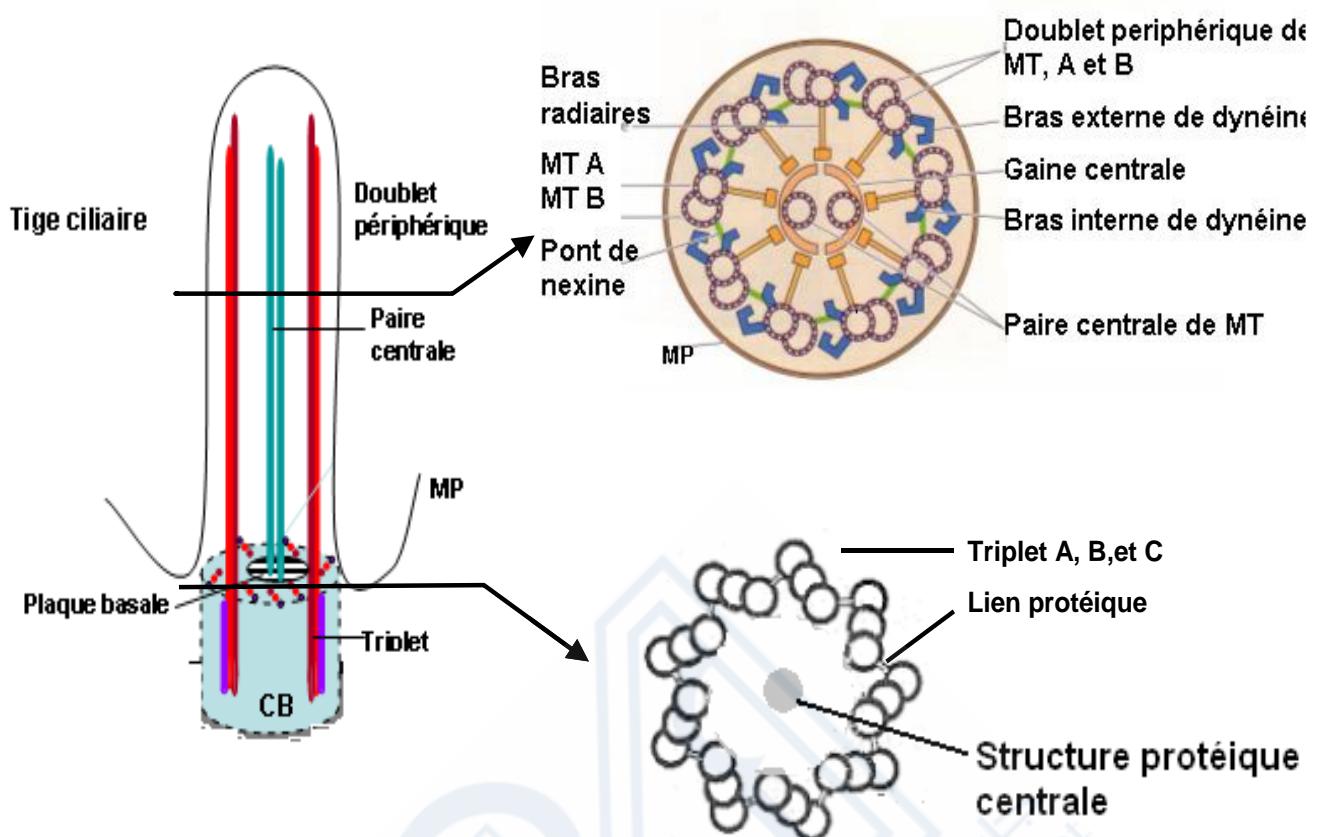
MET.Coupe transversale



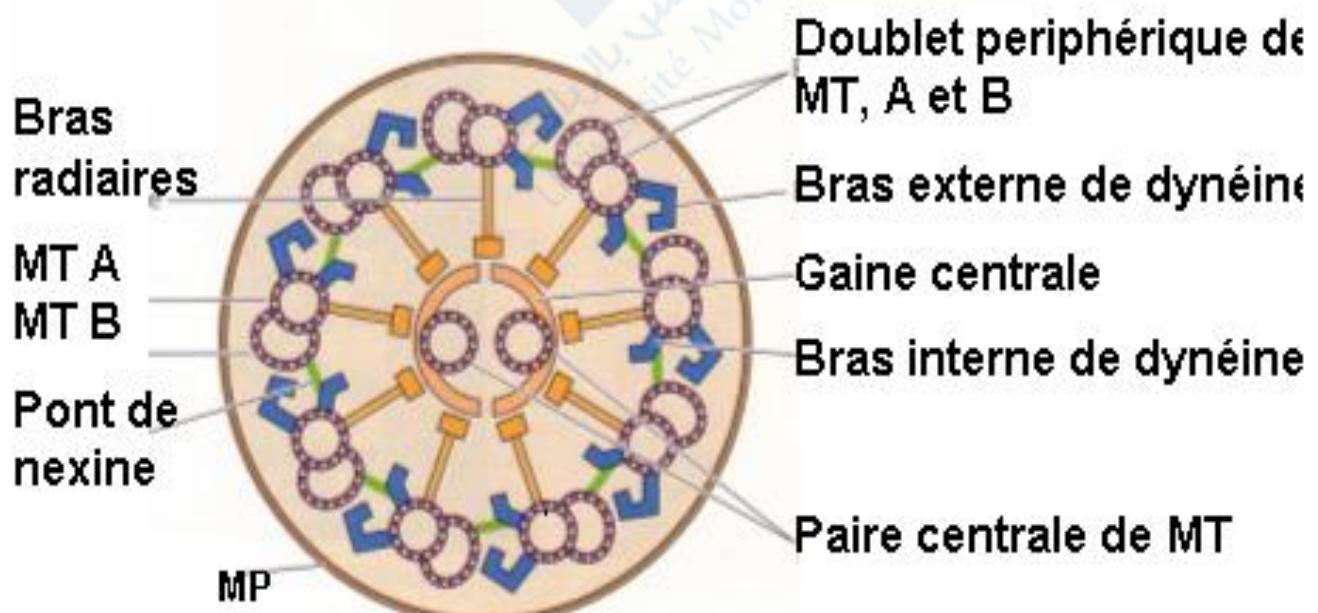
**MET. Coloration négative
(9 doubles périphériques + 1 paire centrale)**



Le cil dans ses parties moyenne et basale

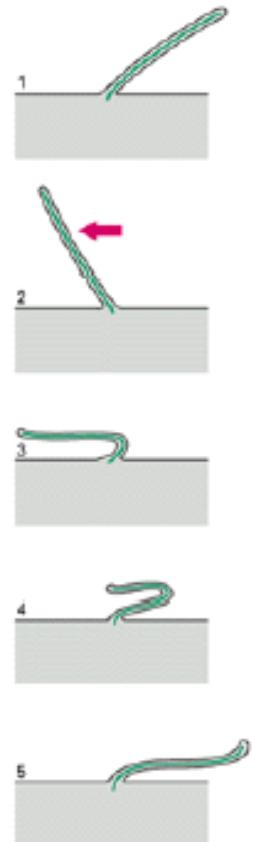
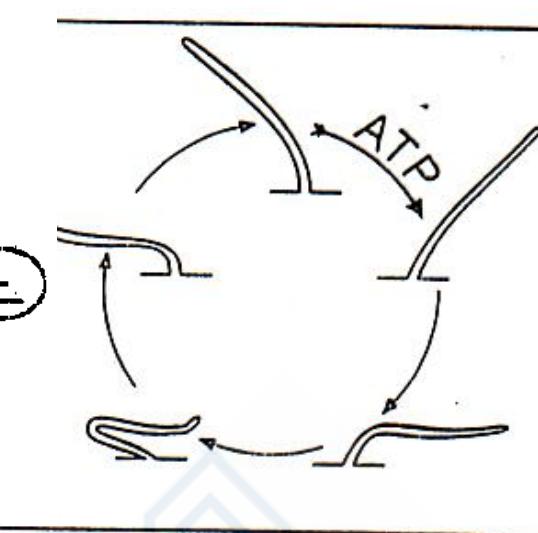
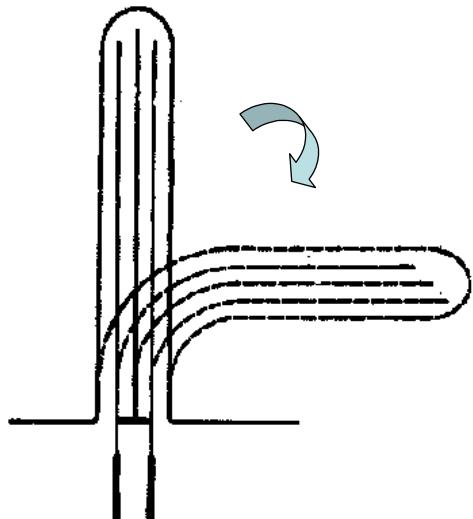


MET. Schéma Coupe transversale dans la partie moyenne

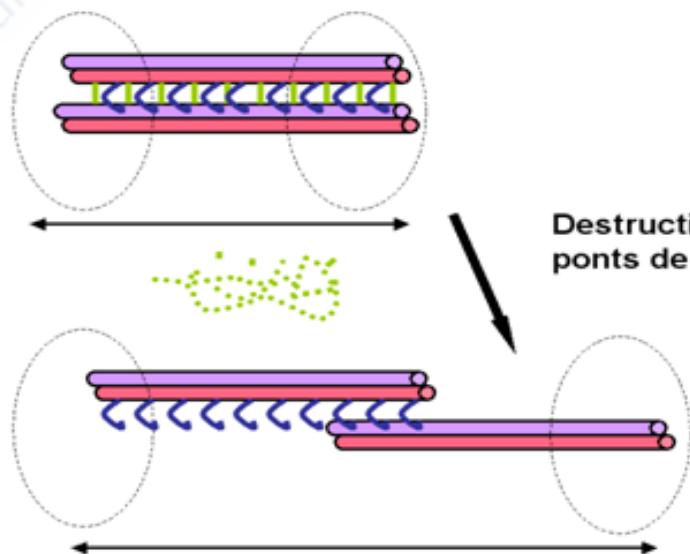
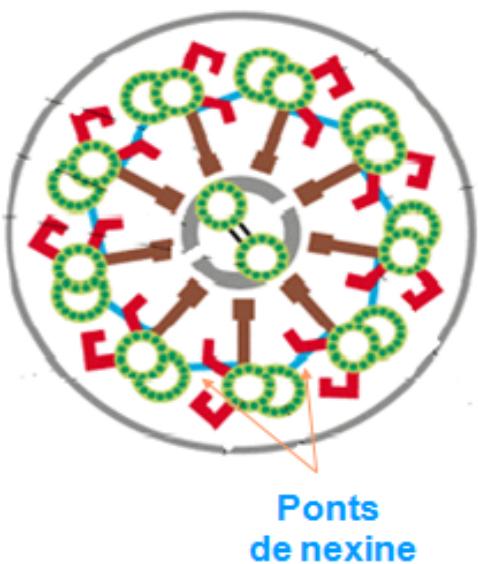
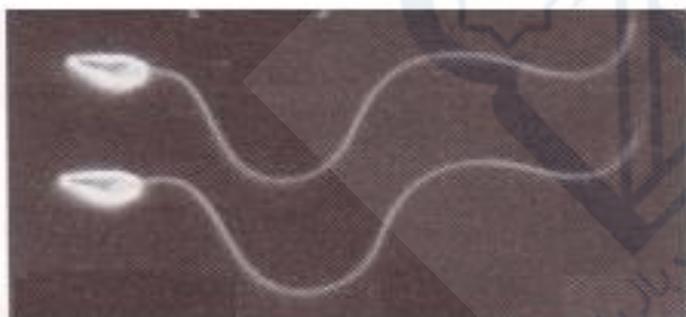


Le cil vibratile

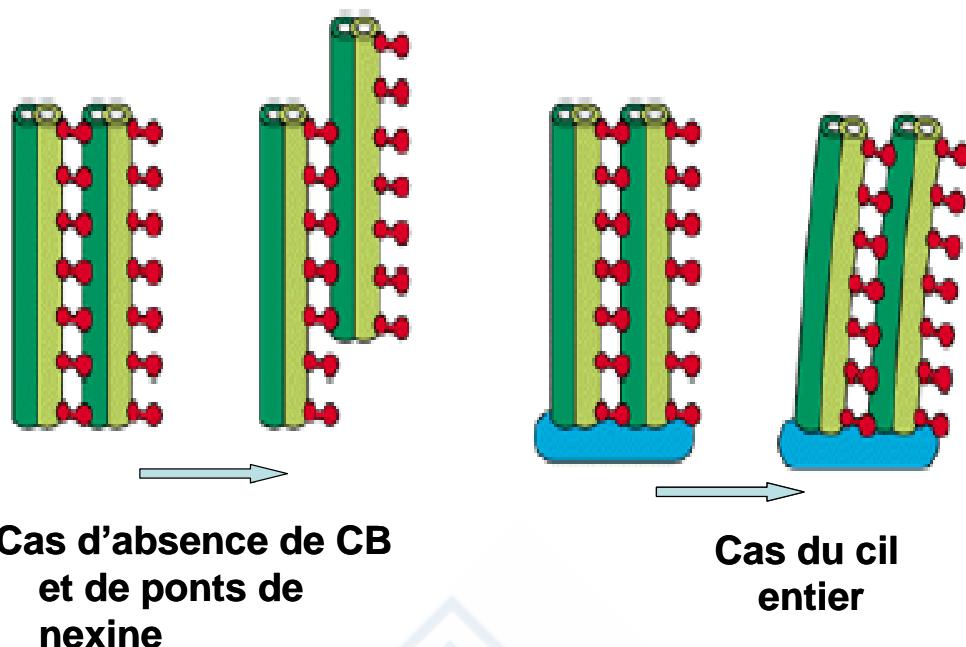
Le mouvement ciliaire



Le mouvement du flagelle d'un spermatozoïde

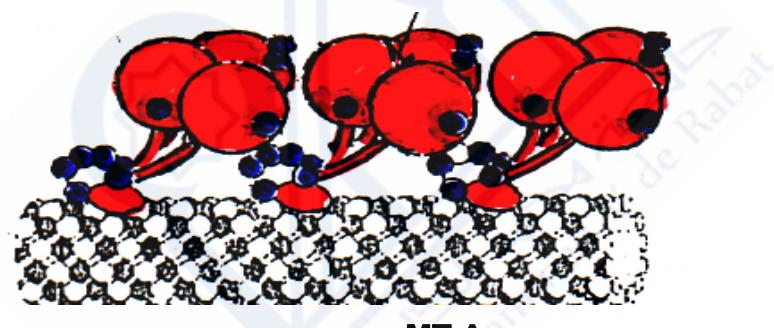


Mécanisme moléculaire du mouvement ciliaire

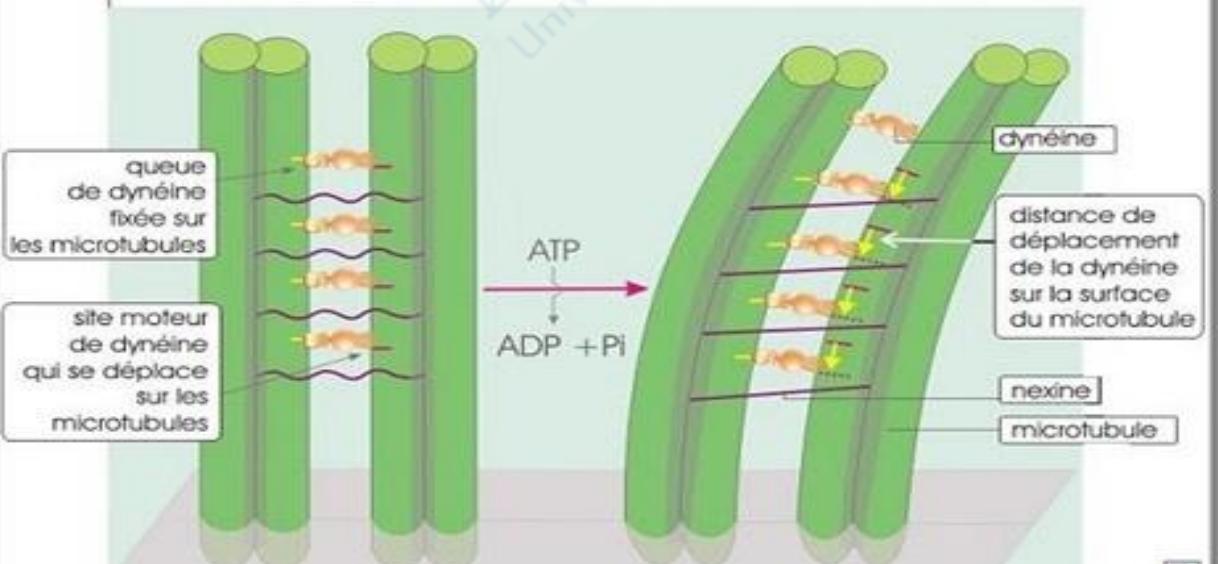


Mécanisme moléculaire du mouvement ciliaire

Rôle de la dynéine



le déplacement simultané des dynéines engendre la flexion du cil



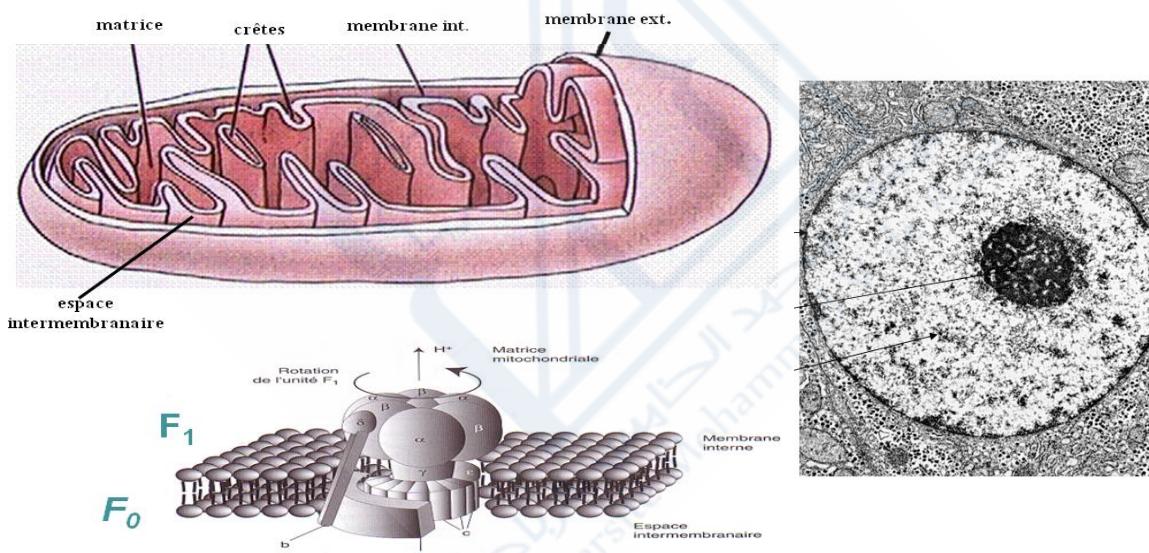
UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT

Laboratoire
HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE-CYTOGENETIQUE

SCHEMAS

II

BIOLOGIE CELLULAIRE



Pr Jamal Eddine KHANFRI

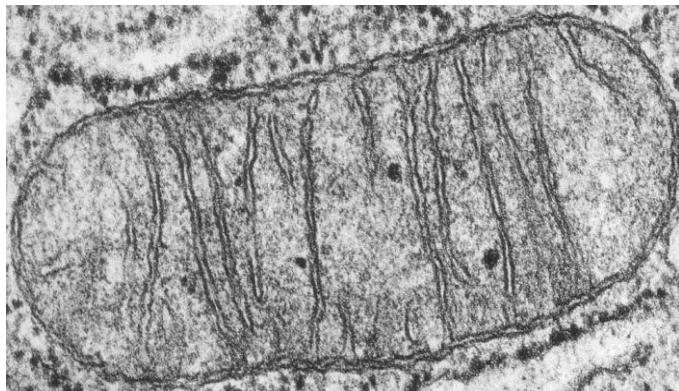
1^{ère} ANNEE MEDECINE

2020/2021

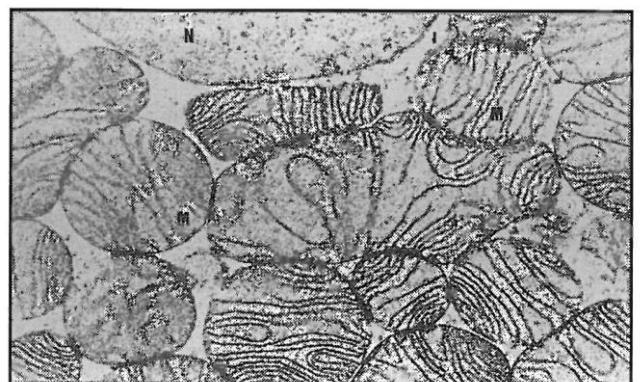
La mitochondrie

Forme

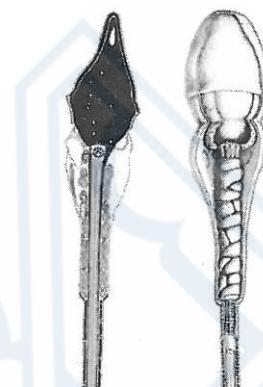
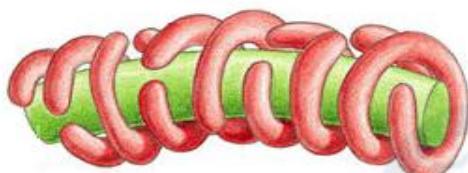
Mitochondrie ovalaire



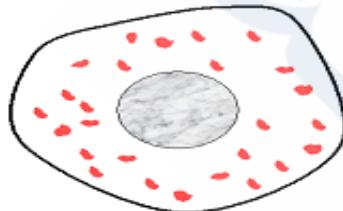
Mitochondrie arrondies



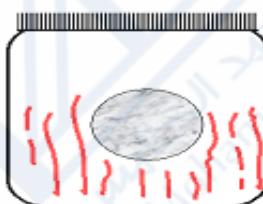
Représentation en 3 D
Mitochondries hélicoïdales au
niveau de la pièce intermédiaire du
spermatozoïde



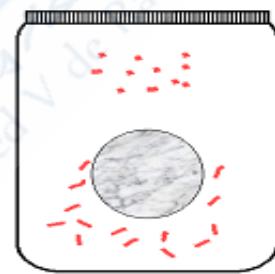
Répartition



Hépatocyte

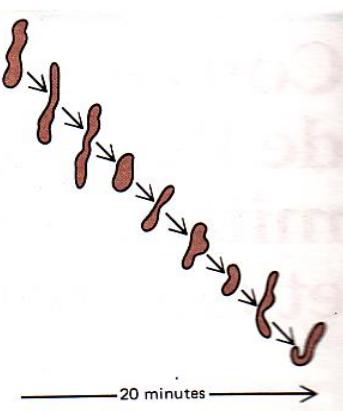


Cellule du tube
proximal du rein
(bâtonnets de
Haindenhein)

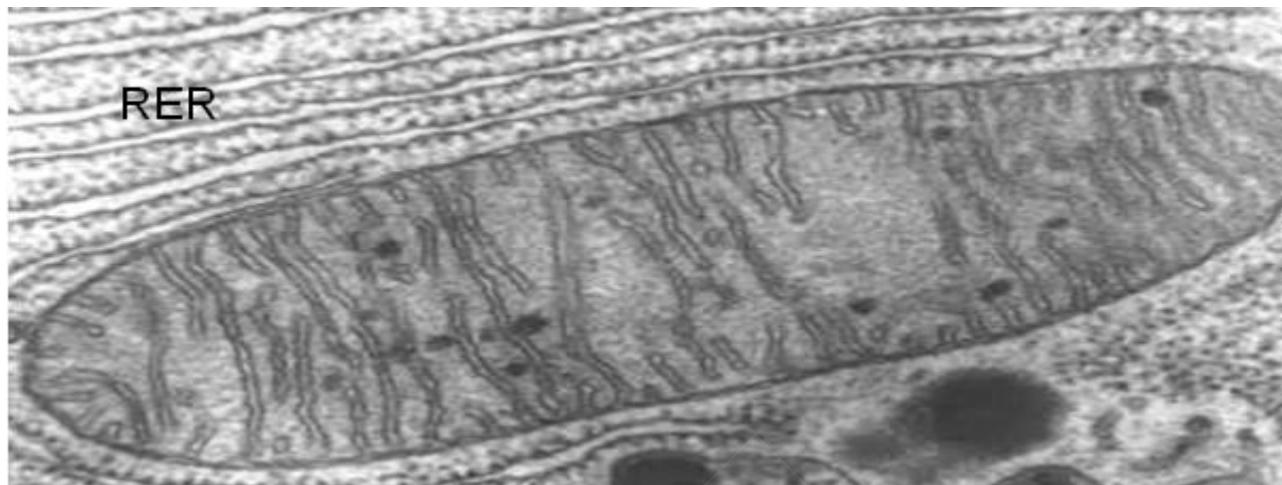


Entérocyte

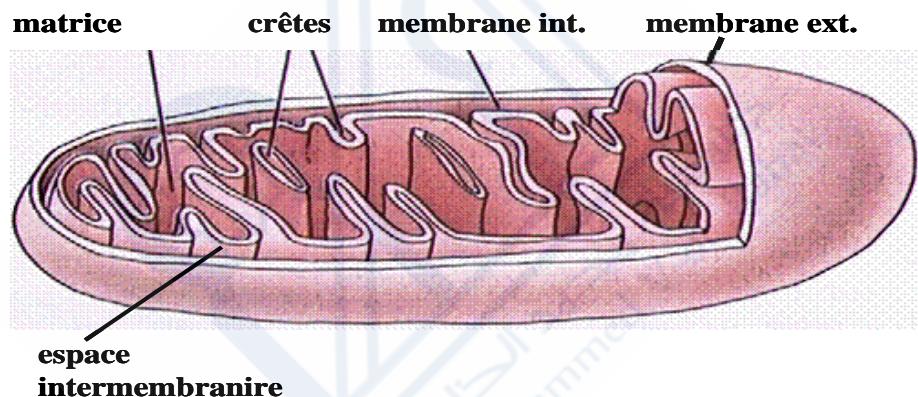
Modification de forme d'une mitochondrie observée dans
une cellule en culture



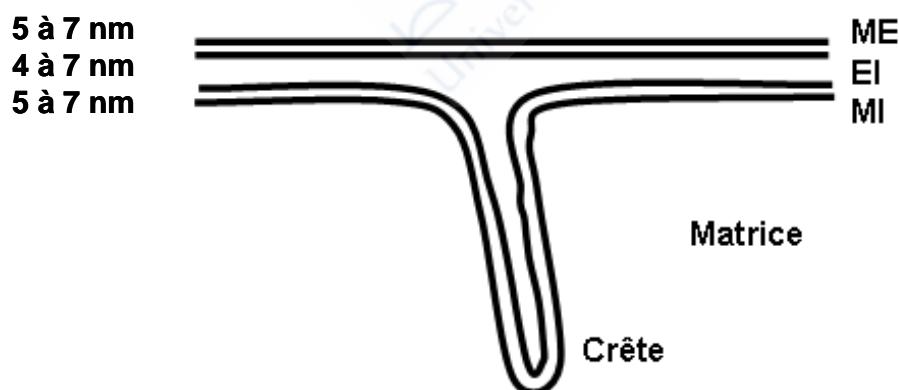
Mitochondrie au ME



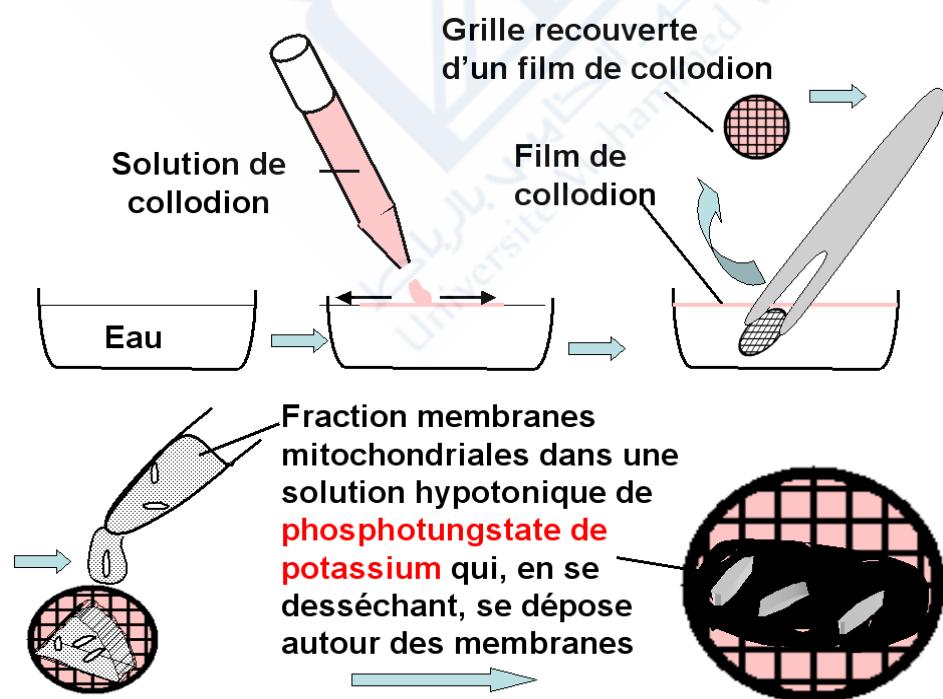
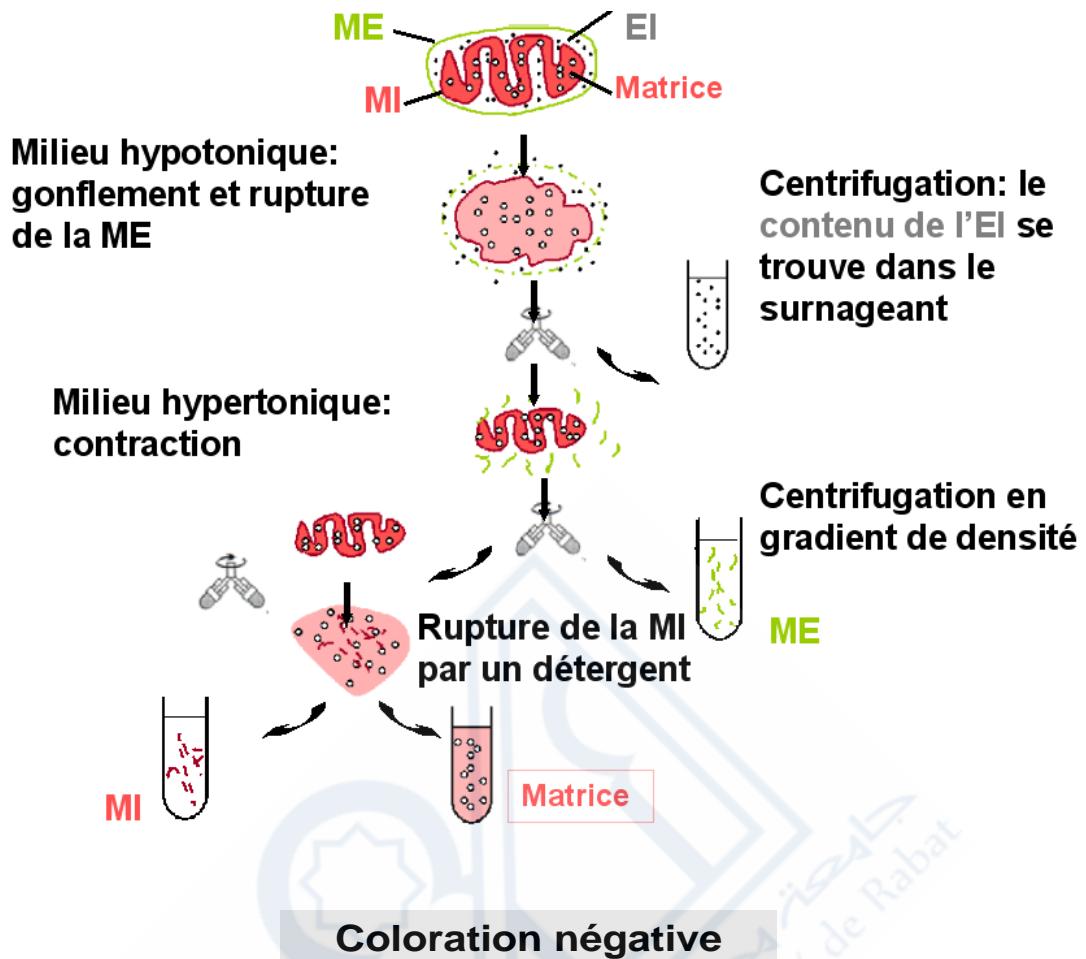
Représentation schématique en 3D



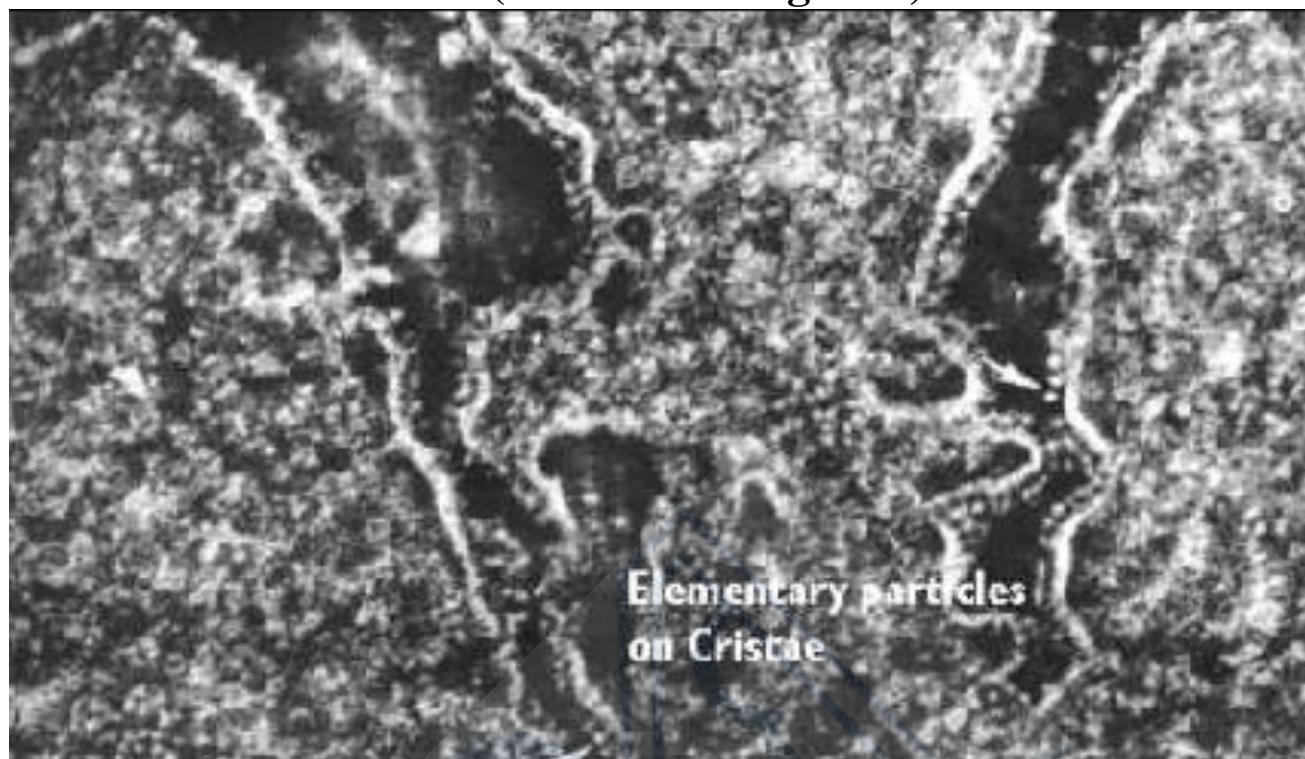
Représentation schématique au MET



Isolement de sous-fractions mitochondriales

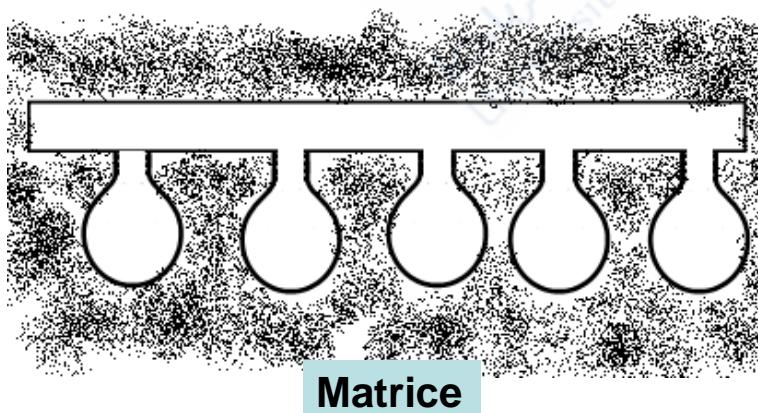


MI et crêtes avec particules élémentaires ou ATPosomes (Coloration négative)



Les particules élémentaires

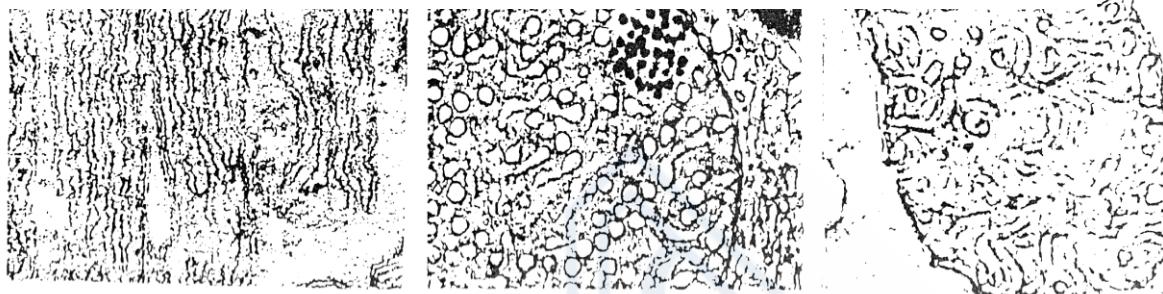
Elles sont révélées au niveau de la membrane interne après choc hypotonique et coloration négative



Pied et base hydrophobe (F₀)

Sphère / tête (F₁)

MET. Schémas et images de différents types de crêtes



Hépatocyte.
**Crêtes
lamellaires**

**Cellule de la
corticosurrénale.**
**Crêtes
tubulaires**

AstrocYTE.
**Crêtes à section
triangulaire**

MET. Corticosurrénale. Mitochondries à crêtes tubulaires crêtes tubulaires

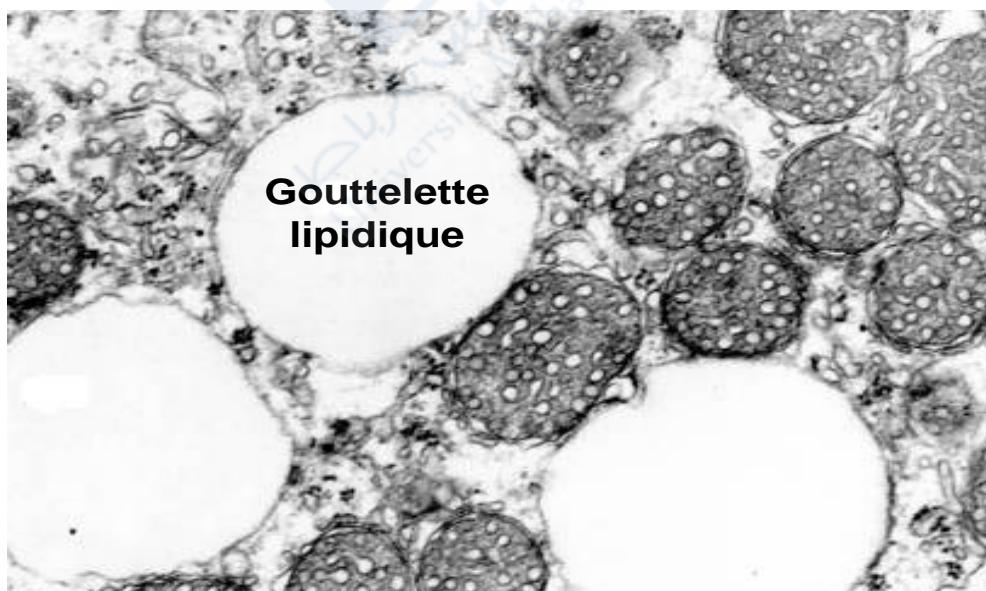


Diagramme de mitochondrie telle qu'on peut l'observer sur coupe mince en MET

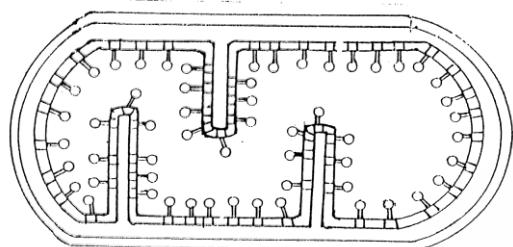
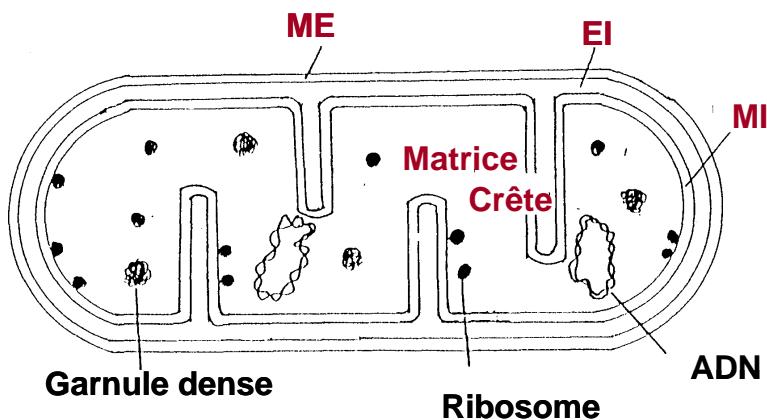
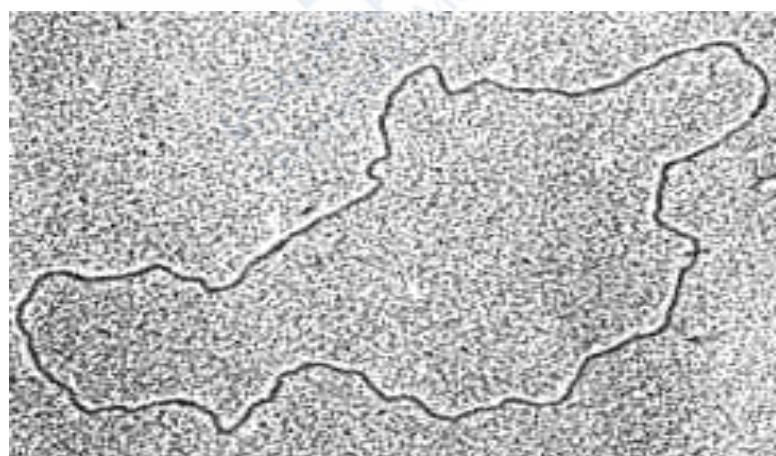
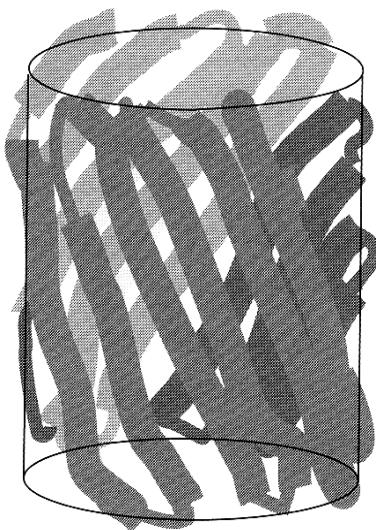


Diagramme et schéma montrant les particules élémentaires

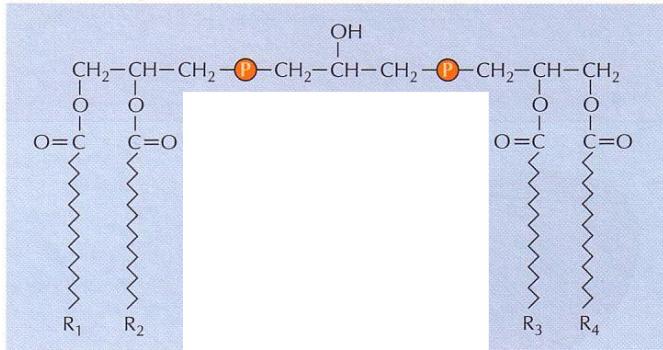
ADN mitochondrial



Porine

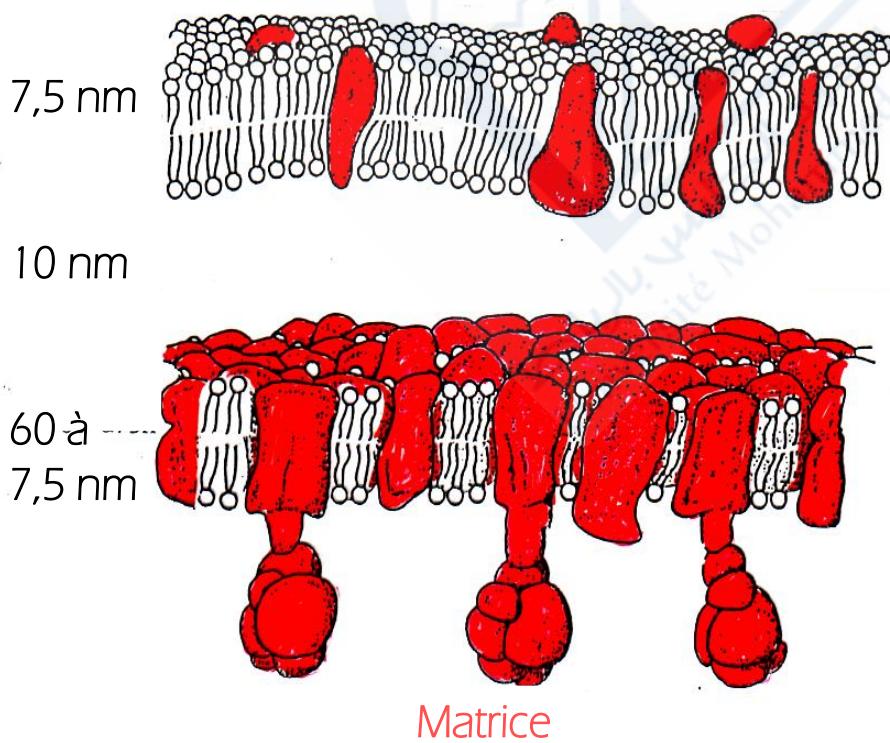


Cardiolipide



3 sous-unités forment un pore de 3 à 4 nm

Représentation schématique des protéines membranaires



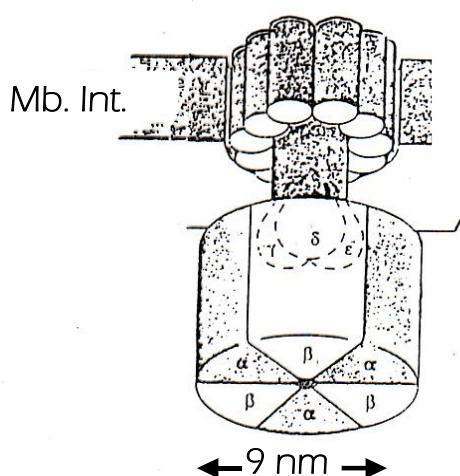
ME
3500
protéines/ μm^2

EI

MI
6300
protéines/ μm^2

ATPosomes
3000/ μm^2

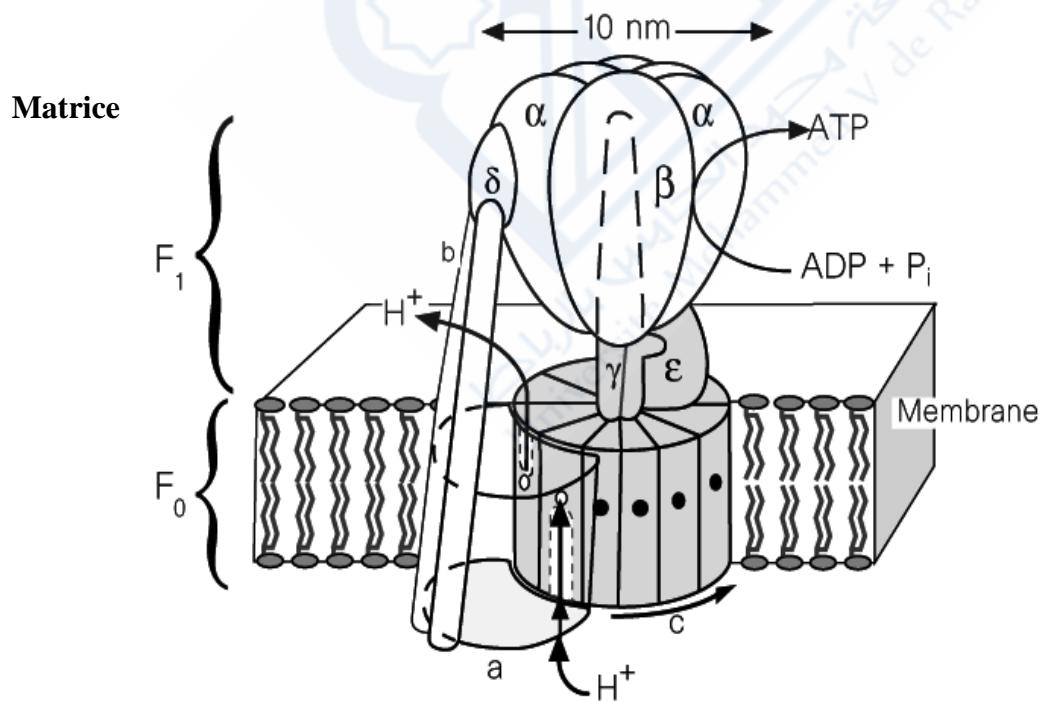
Particule élémentaire ou ATPosome



F₀: ensemble du pied et de la base hydrophobe constituées de sous-unités protéiques représentant le transporteur transmembranaire de protons

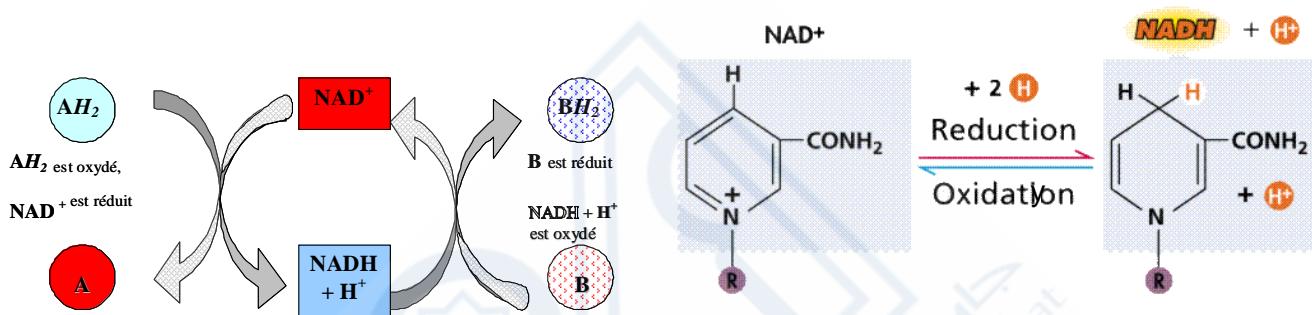
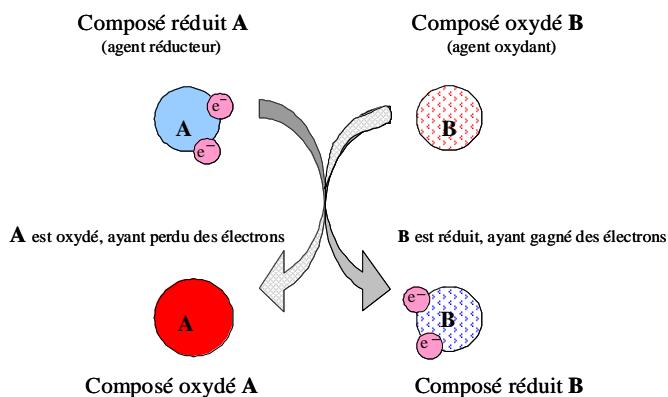
F₁: tête sphérique constituée de sous-unités protéiques représentant l'ATP synthase

Modèle d'une particule élémentaire ou ATPosome



OXYDOREDUCTION

Oxydoréduction



NADH + H⁺ et le FADH₂

□ Le NADH.

NADH = Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.

Le NAD⁺ est converti en NADH au cours de l'oxydation d'une molécule.

Le NAD⁺ est capable d'accepter deux électrons et un proton pour donner un NADH.

Le NADH est produit au cours de nombreuses réactions : glycolyse, hélice de Lynen et cycle de Krebs .

□ Le FADH₂.

FADH₂ = Flavine Adénosine Dinucléotide réduit.

Le FAD est converti en FADH₂ au cours de l'oxydation d'une molécule.

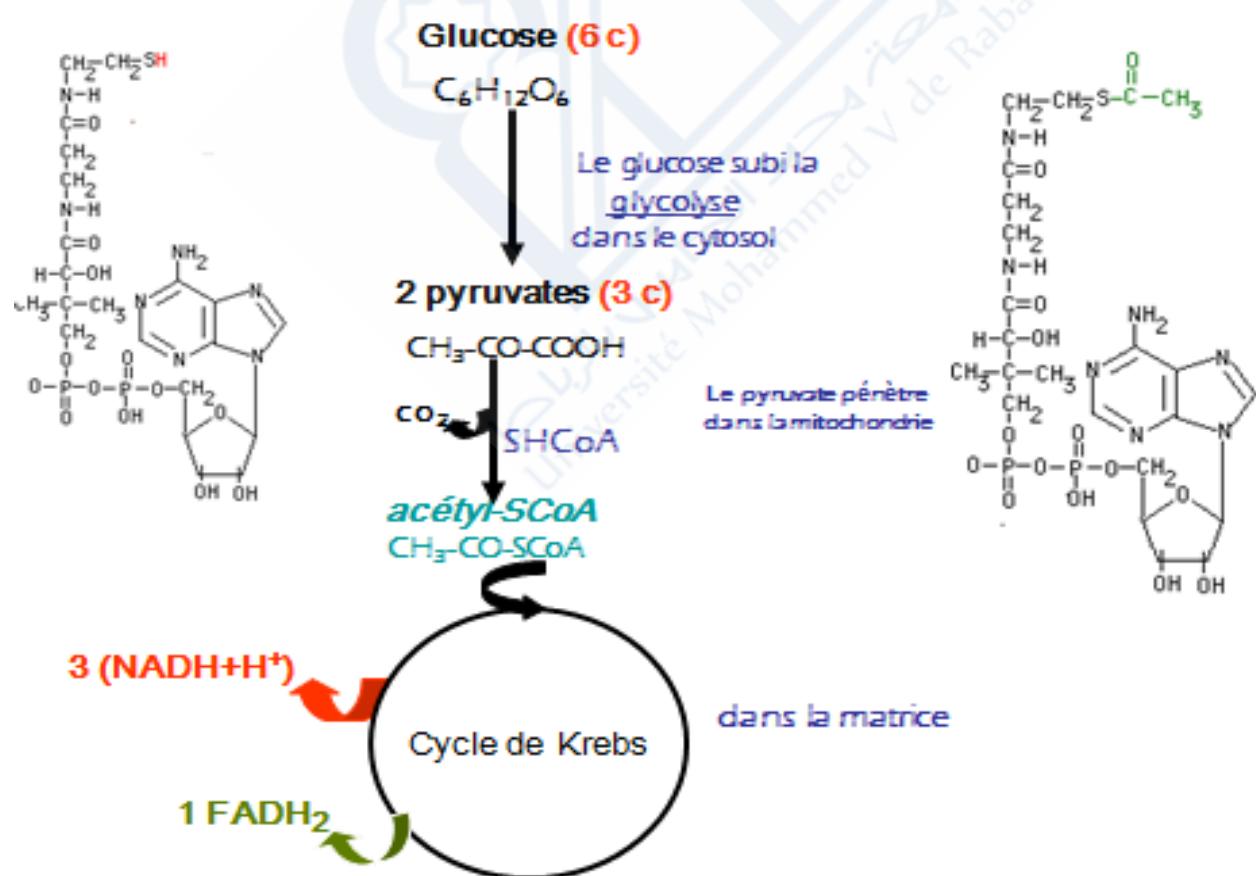
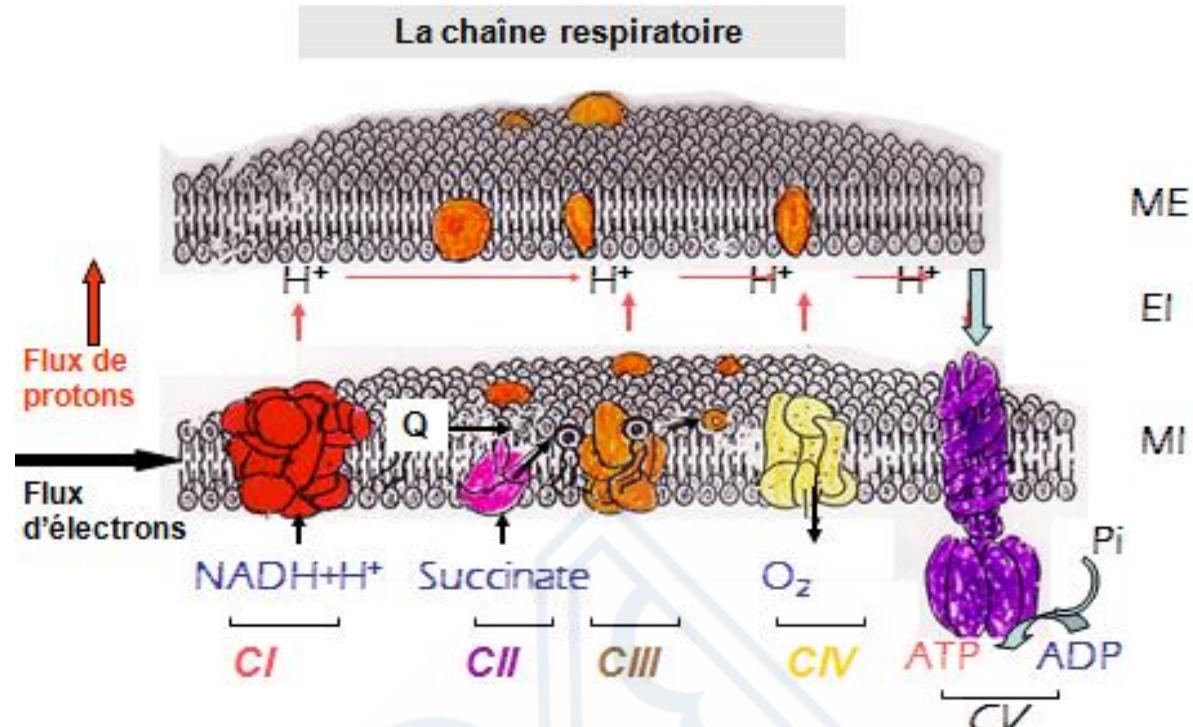
Le FAD est capable d'accepter deux électrons et deux protons pour former le FADH₂.

La principale réaction mitochondriale qui produit du FADH₂ est l'oxydation du succinate en fumarate au cours du cycle de Krebs . L'enzyme qui catalyse cette réaction (succinate déshydrogénase) est un des complexes de la chaîne respiratoire.

Le FADH₂ est également produit au cours de la transformation d'acides gras en acétylCoA .

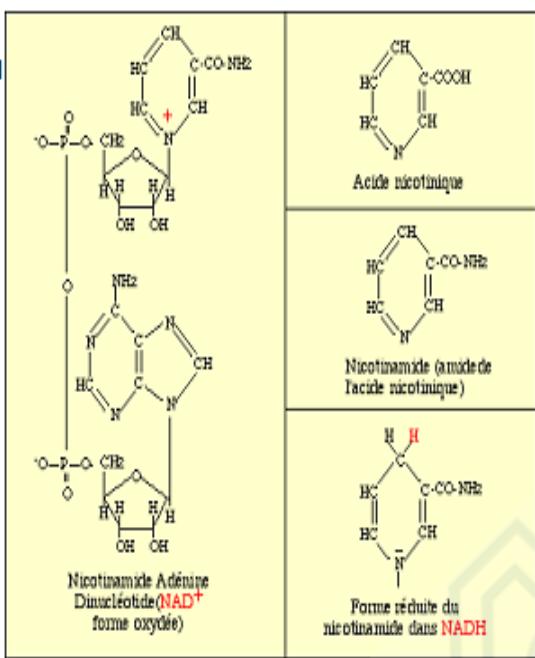
Les complexes protéiques de la chaîne respiratoire

Ce sont des accepteurs d'électrons qui catalysent des réactions d'oxydoréduction

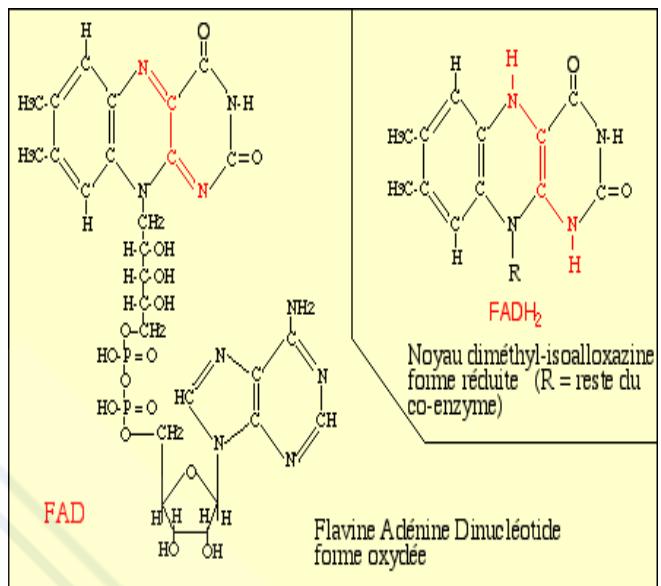


Molécules de la chaîne respiratoire

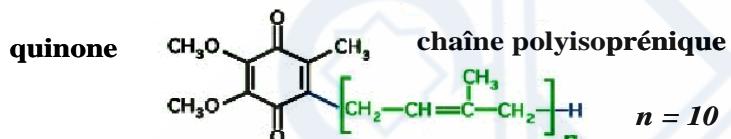
Structure du NAD⁺ et du NADH



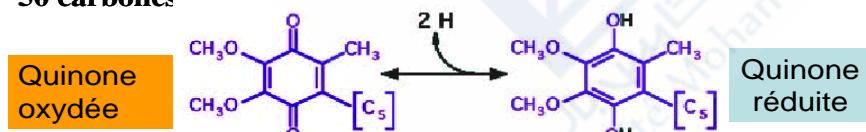
Structure du FAD et du FADH₂



Ubiquinone = coenzyme Q

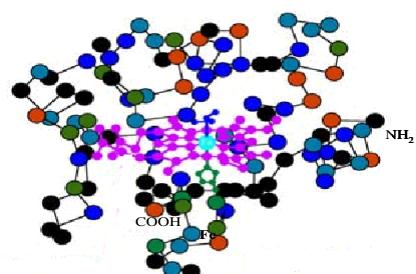


Coenzyme liposoluble transporteur d 'hydrogène. Cette propriété est due à une longue chaîne hydrophobe constituée d 'unités de 5 carbones appelées *isoprènes*, répétées 10 fois. (la chaîne comprend 50 carbones)

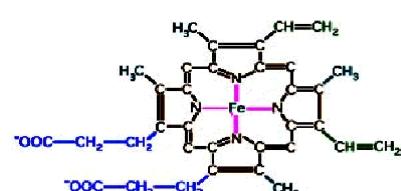


Le noyau quinone est réduit en noyau quinol lorsqu 'il fixe 2 atomes d 'hydrogène

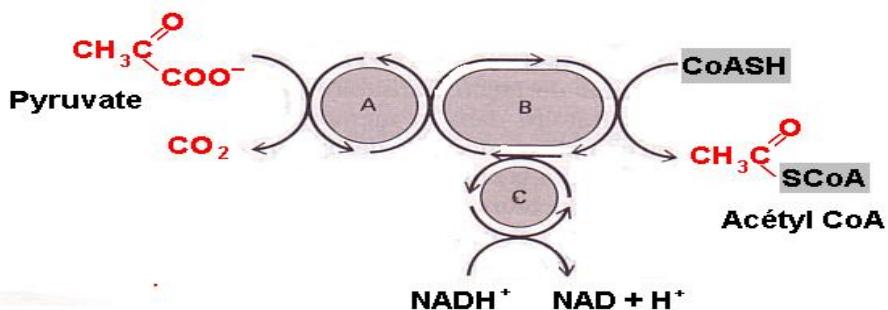
Cytochrome c



Structure tridimensionnelle du cytochrome c

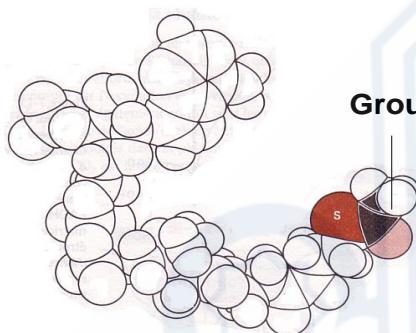


Le complexe pyruvate déshydrogénase



Ce gros complexe multienzymatique est constitué de nombreux exemplaires de chaque enzyme, ce qui permet le traitement simultané de plusieurs pyruvates dont les intermédiaires réactionnels sont transmis directement d'une enzyme à l'autre

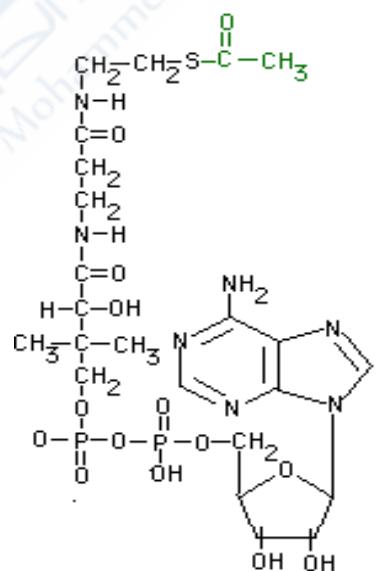
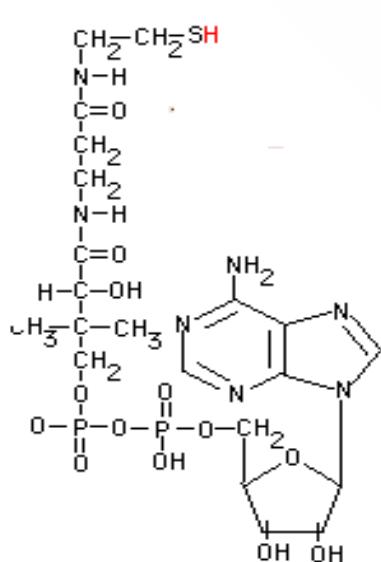
Modèle compact



Le Coenzyme A

Groupement acétyl

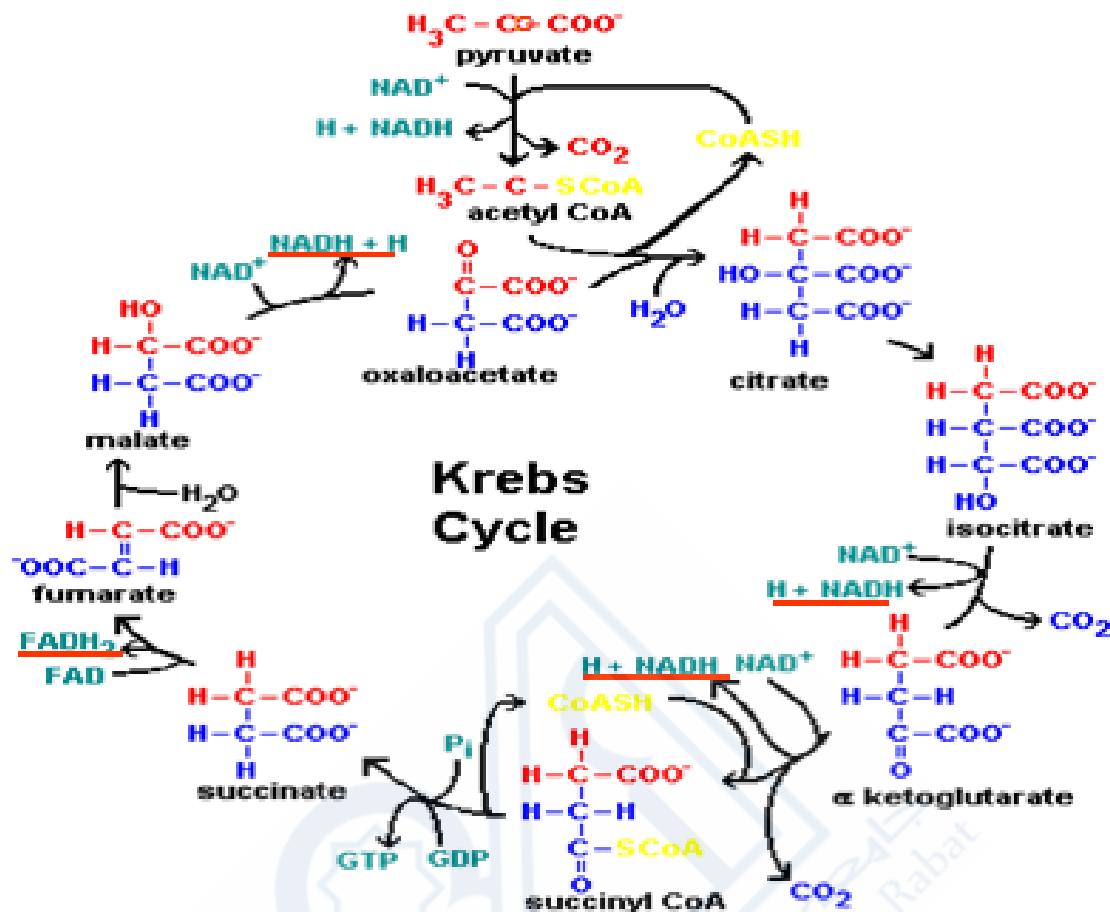
La liaison **thioester** formée entre le soufre et l'acétate est riche en énergie; l'acétate sera facilement transféré sur d'autres molécules



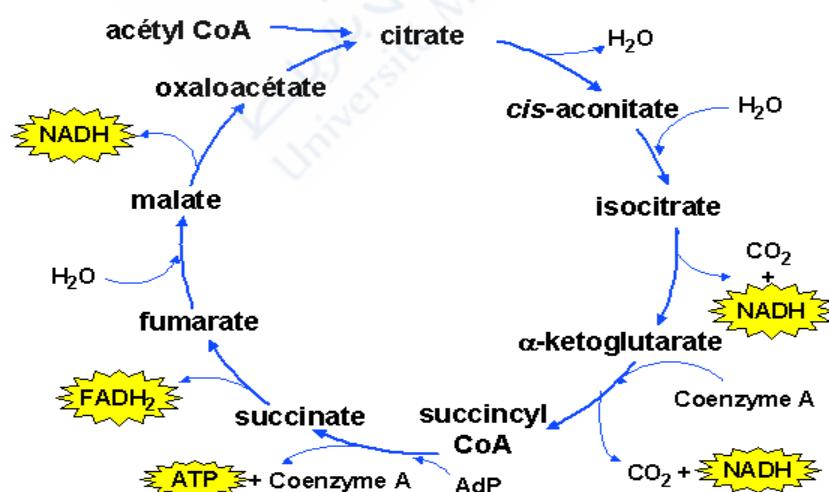
Coenzyme A

Acétyl-Coenzyme A

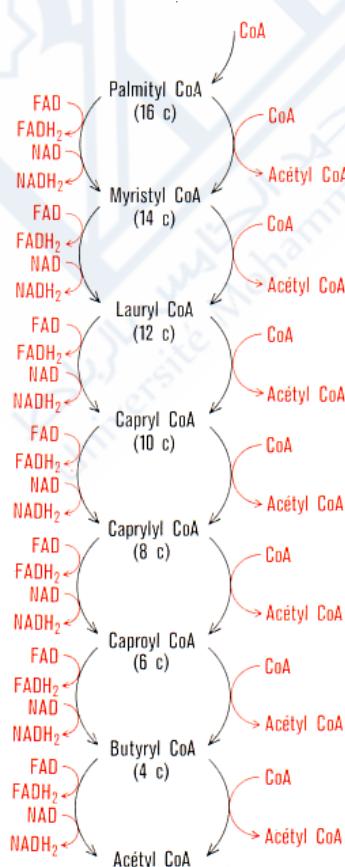
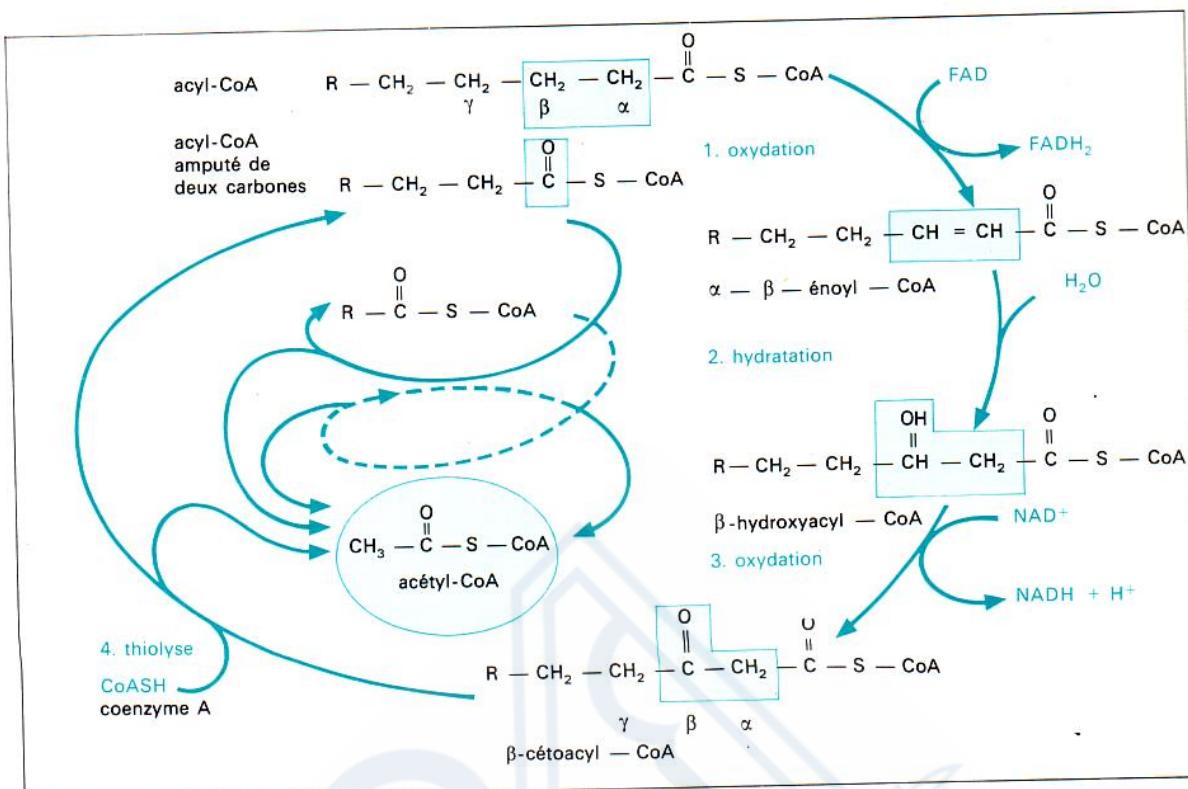
Cycle de Krebs



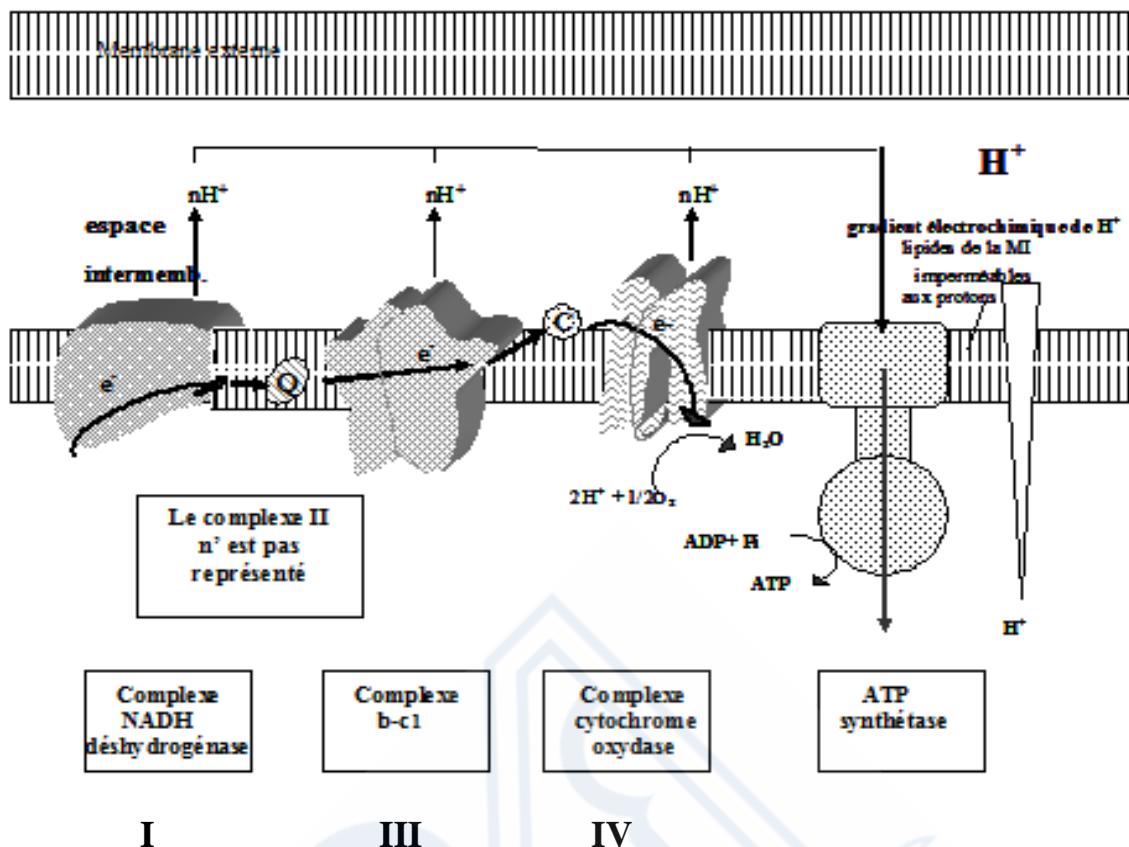
Le cycle de Krebs



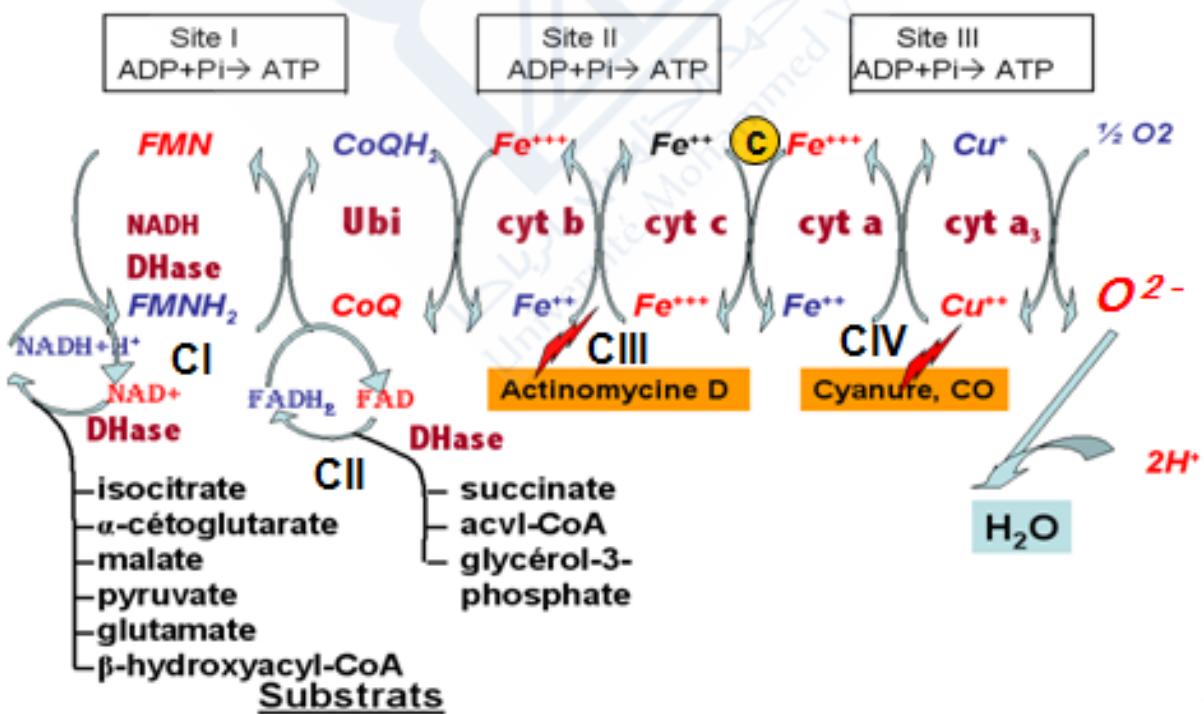
β -oxydation des acides gras ou hélice de Lynen



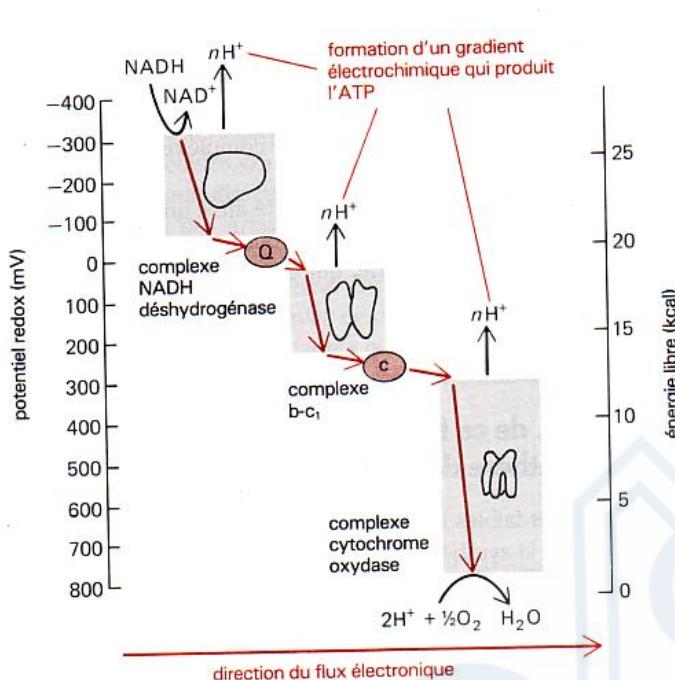
La chaîne respiratoire



Oxydo-réductions de la chaîne respiratoire



Conversion de l'énergie des électrons en transfert de protons par les 3 complexes “pompes à protons”



Le potentiel redox augmente lorsque les électrons dévalent la chaîne respiratoire jusqu'à l'oxygène.

La variation d'énergie libre, pour le transfert de chacun des 2 électrons donnés par une molécule de NADH est donnée sur l'ordonnée de droite.

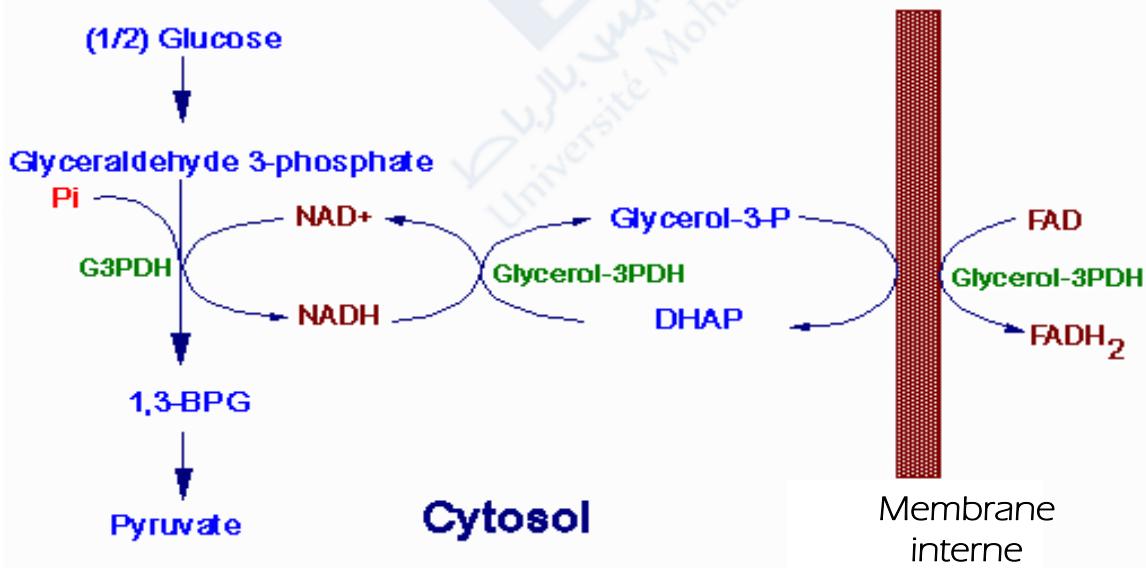
Les électrons circulent, à travers chaque complexe enzymatique, par transmission séquentielle d'au moins 4 transporteurs d'électrons.

Une partie de la variation d'énergie libre est captée par chaque complexe enzymatique pour pomper des protons à travers la membrane mitochondriale interne. Bien que le nombre de protons pompés par électron ne soit pas connu avec certitude, on estime que la NADH déshydrogénase et les complexes $b-c_1$ pompent chacun 2 H^+ , alors que le complexe de la cytochrome oxydase n'en pompe qu'un.

Les 2 électrons transportés à partir du $FADH_2$, engendré par l'oxydation des acides gras et par le cycle citrique, sont directement transférés à l'ubiquinone, et entraînent donc un pompage de H^+ moins important que les 2 électrons transportés à partir du NADH : 2 sites au lieu de 3.

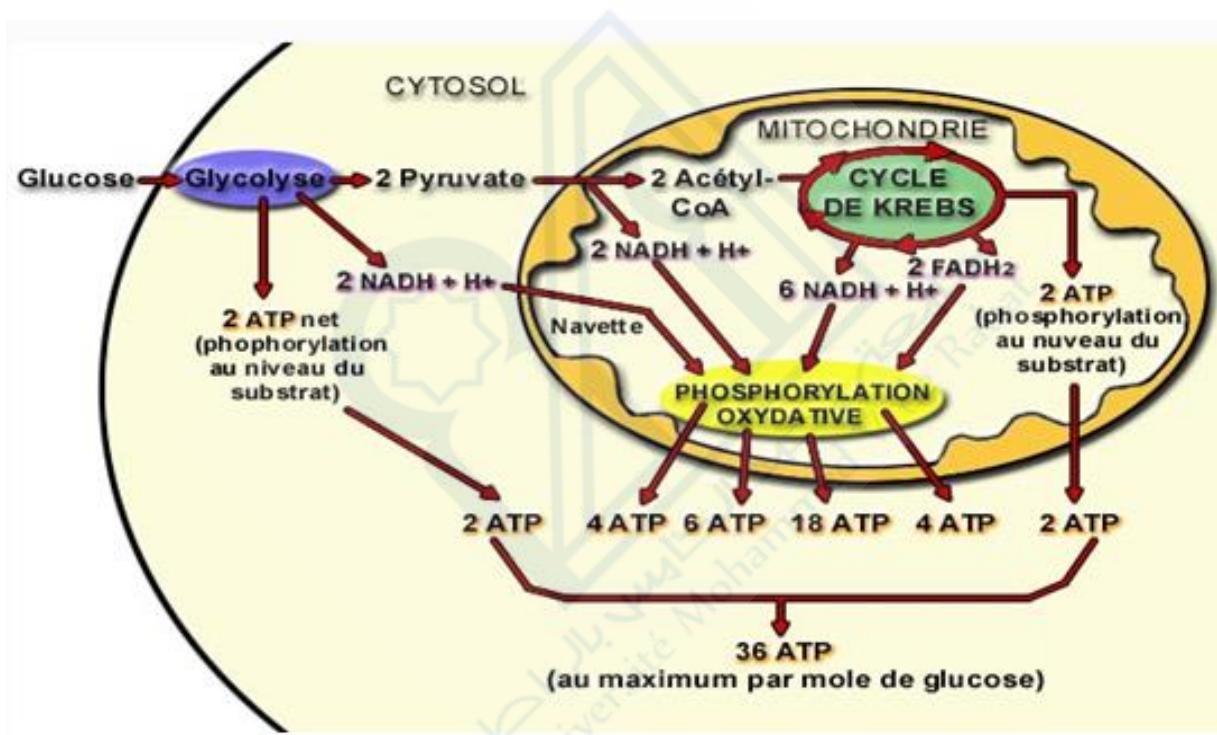
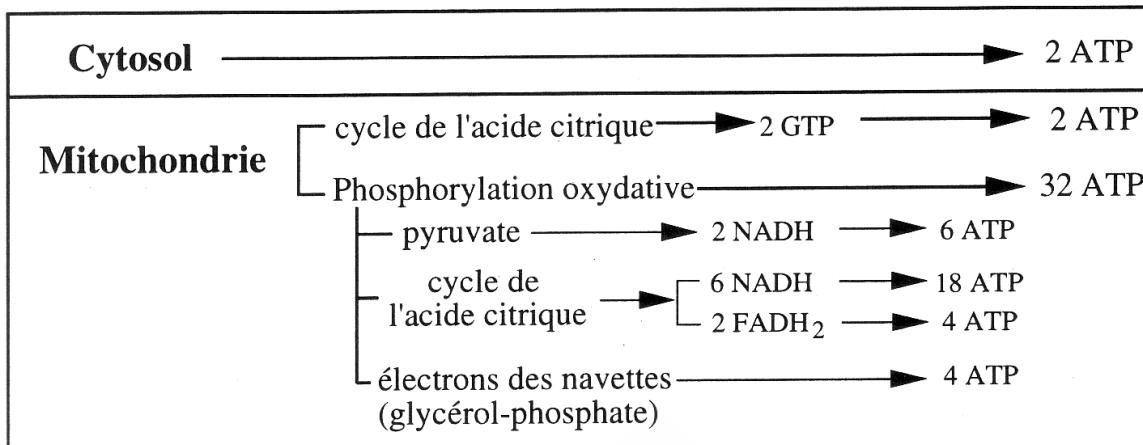
Les e- des navettes

Glycerol-3-phosphate déshydrogénase (glycerol-3-PDH)



Bilan énergétique global à partir d'une molécule de glucose

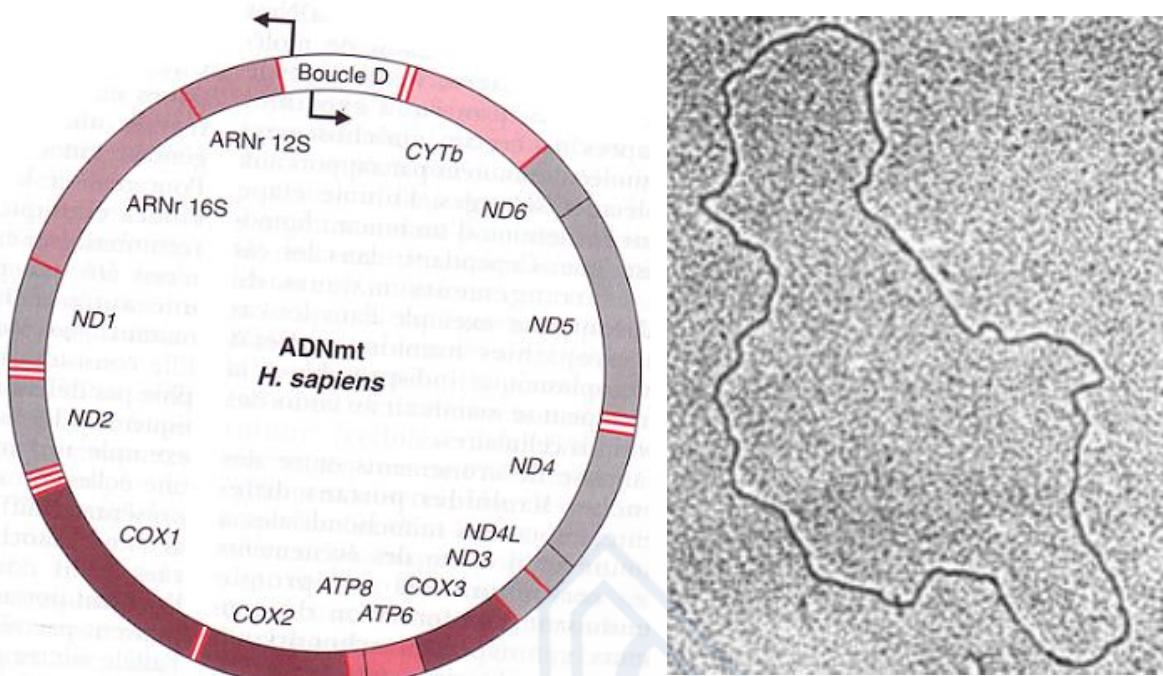
Bilan global à partir d'une molécule de glucose → 36 ATP



Quelques exemples de production énergétique

- 1 mol. de glucose produit, en glycolyse anaérobie seulement..... 2 ATP
- 1 mol. de glucose produit, en glycolyse aérobie..... 36 ATP
- 1 mol. d'acide gras (palmitique) produit par β-oxydation..... 130 ATP
- 1 mol. de glycogène produit environ..... 10⁶ ATP

Le génome mitochondrial chez l'Homme

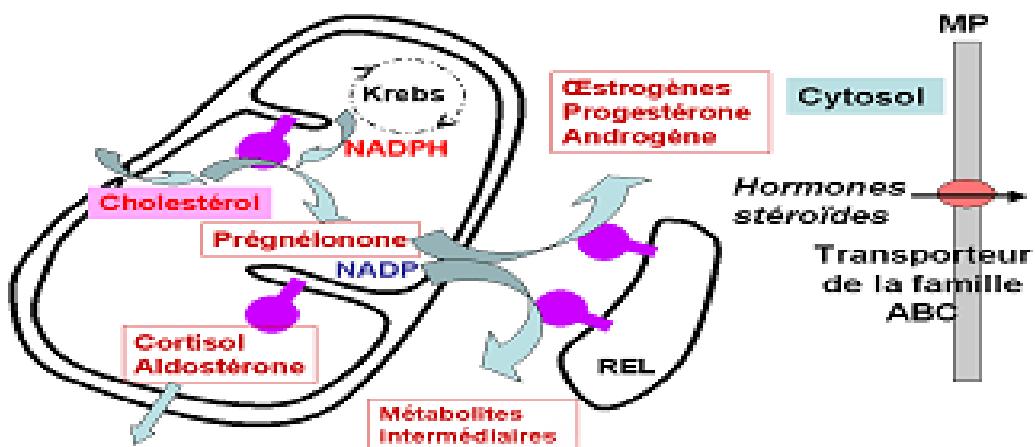


-*COX1*, *COX2*: sous-unités du cytochrome C oxydase
ATP6, *ATP8*: sous-unités de l'ATP synthase
ARN: ARN du ribosome mitochondrial...

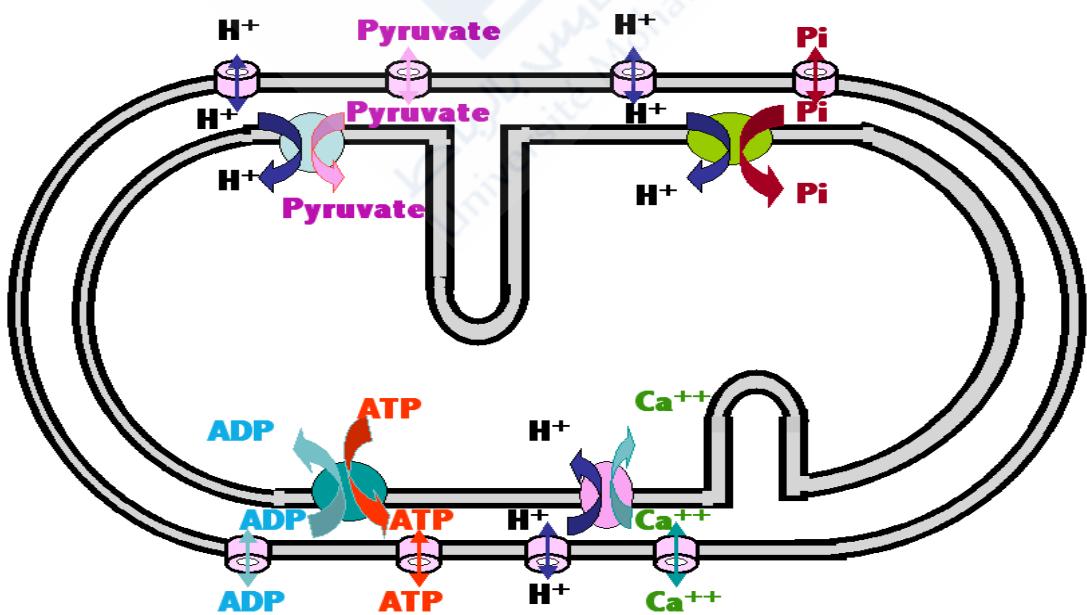
Différences entre codes génétiques universel et mitochondrial

Codon	Code universel	Code mitochondrie humaine
UGA	Stop	Trp
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop
AUA	Ile	Met

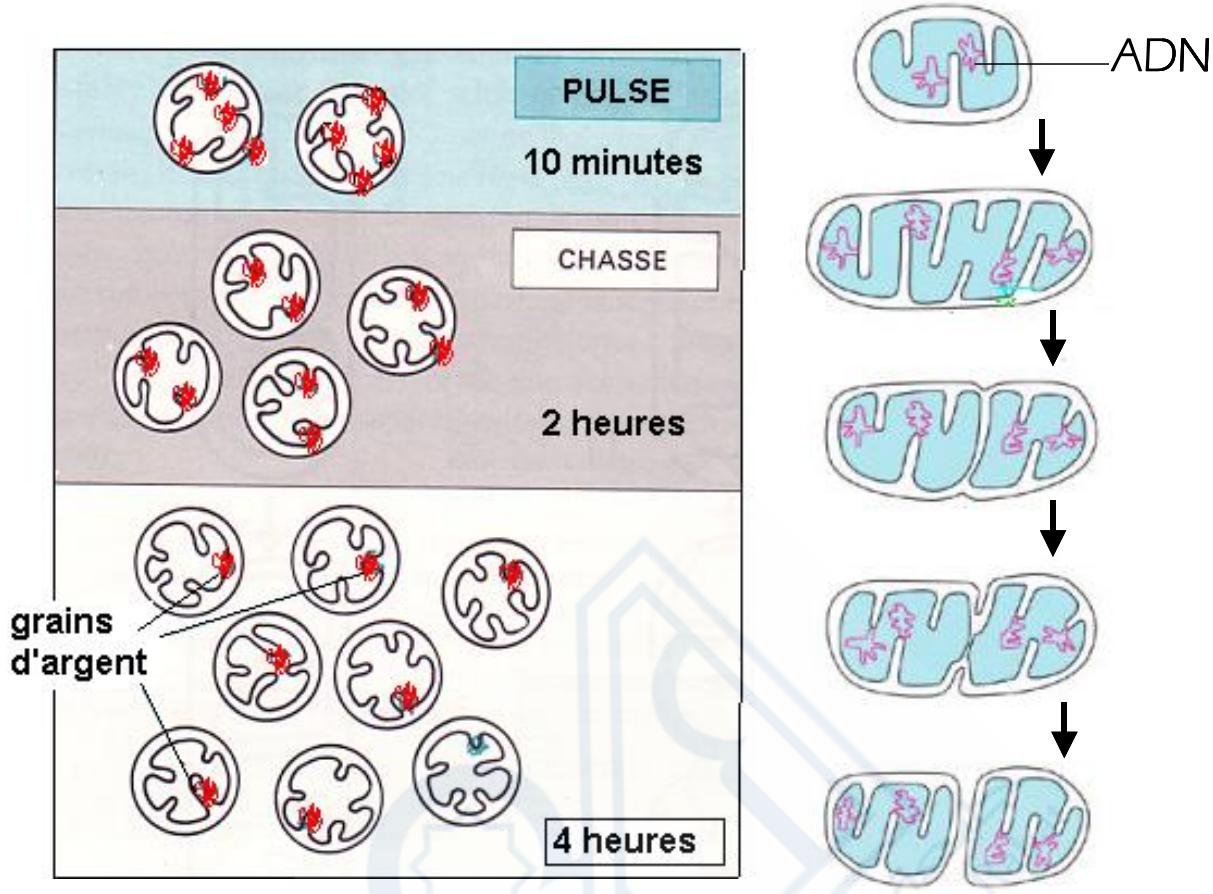
Synthèse de steroïdes. Coopération Mitochondrie - REL



Co-transports mitochondriaux

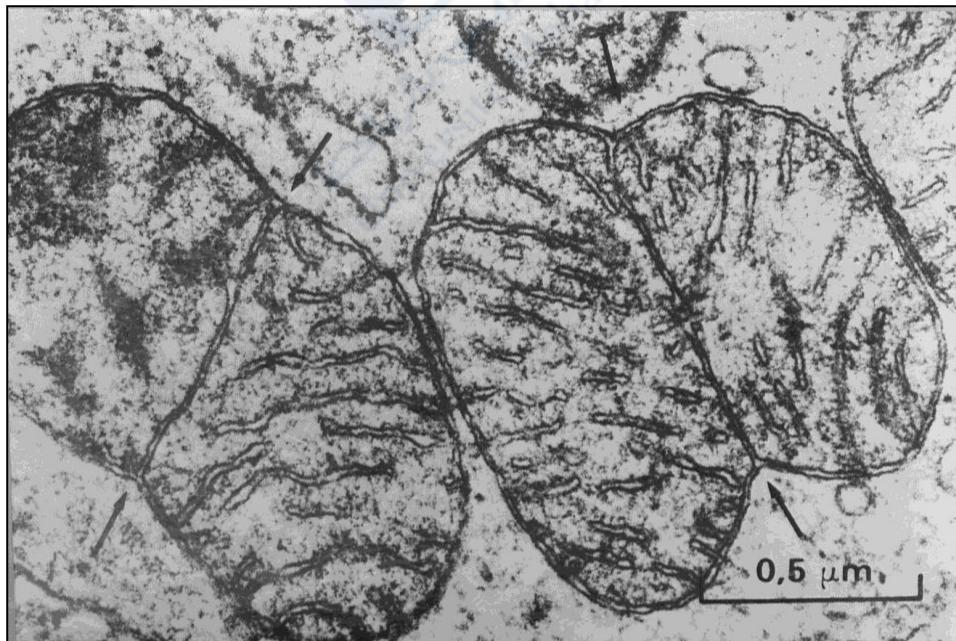


Biogenèse des mitochondries



Division de mitochondries

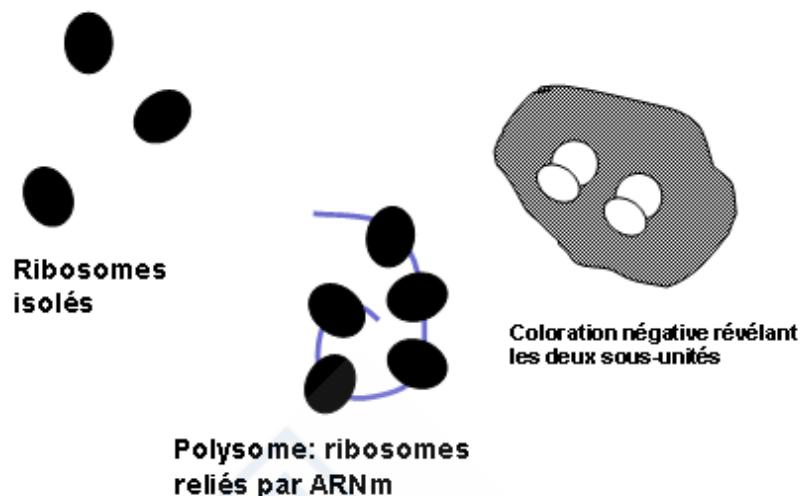
ME



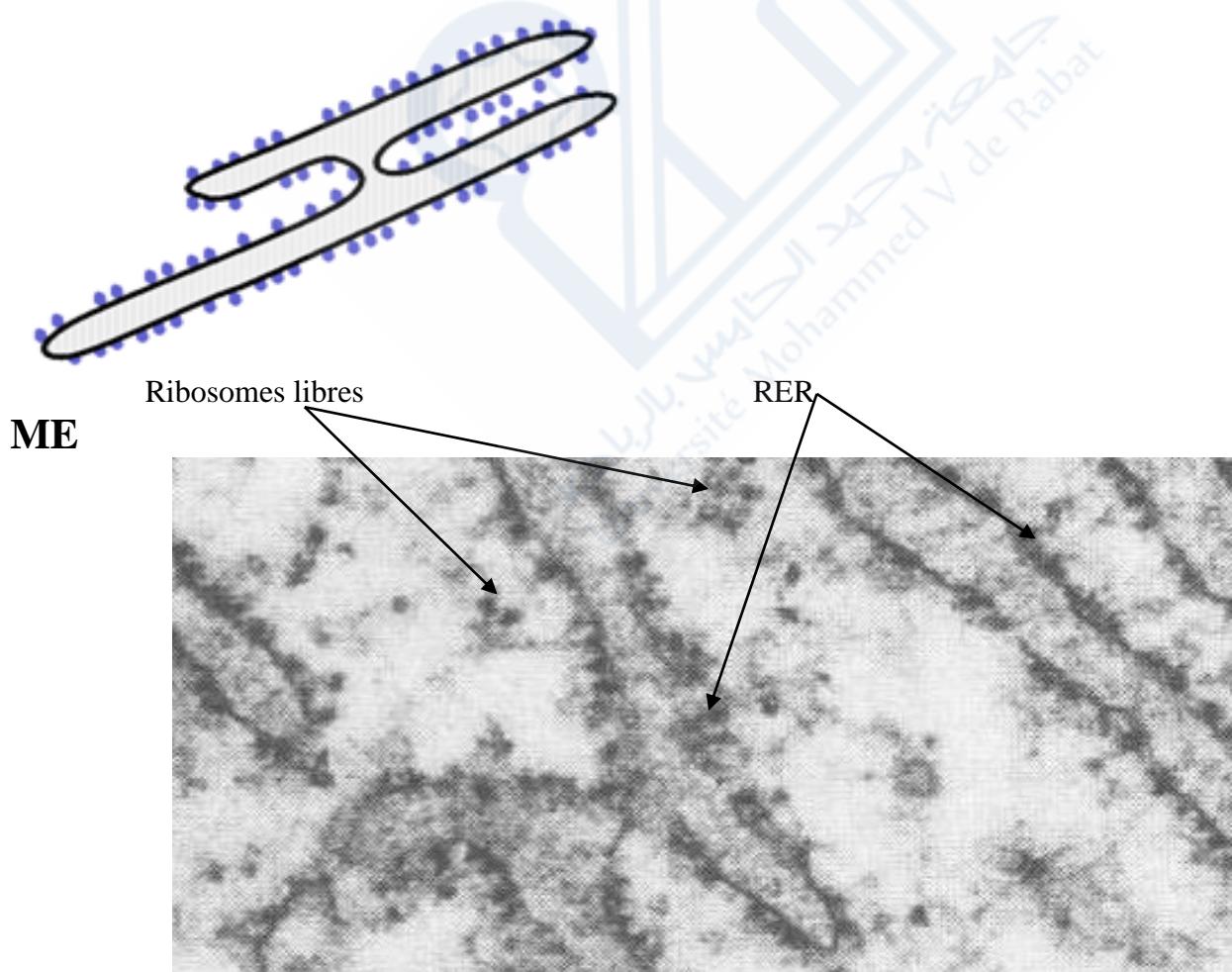
Le ribosome

MET. Schémas

Ribosomes libres



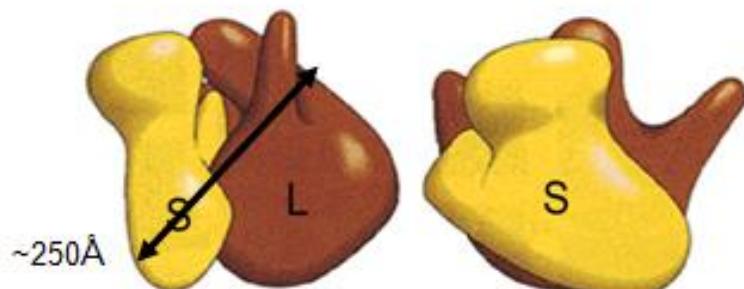
Ribosomes attachés aux membranes du réticulum endoplasmique (RER)



Le ribosome

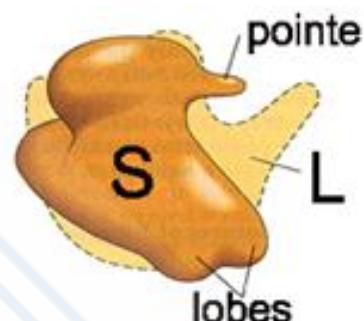
Bactéries:

Grande sous-unité 50S
Petite sous-unité 30S

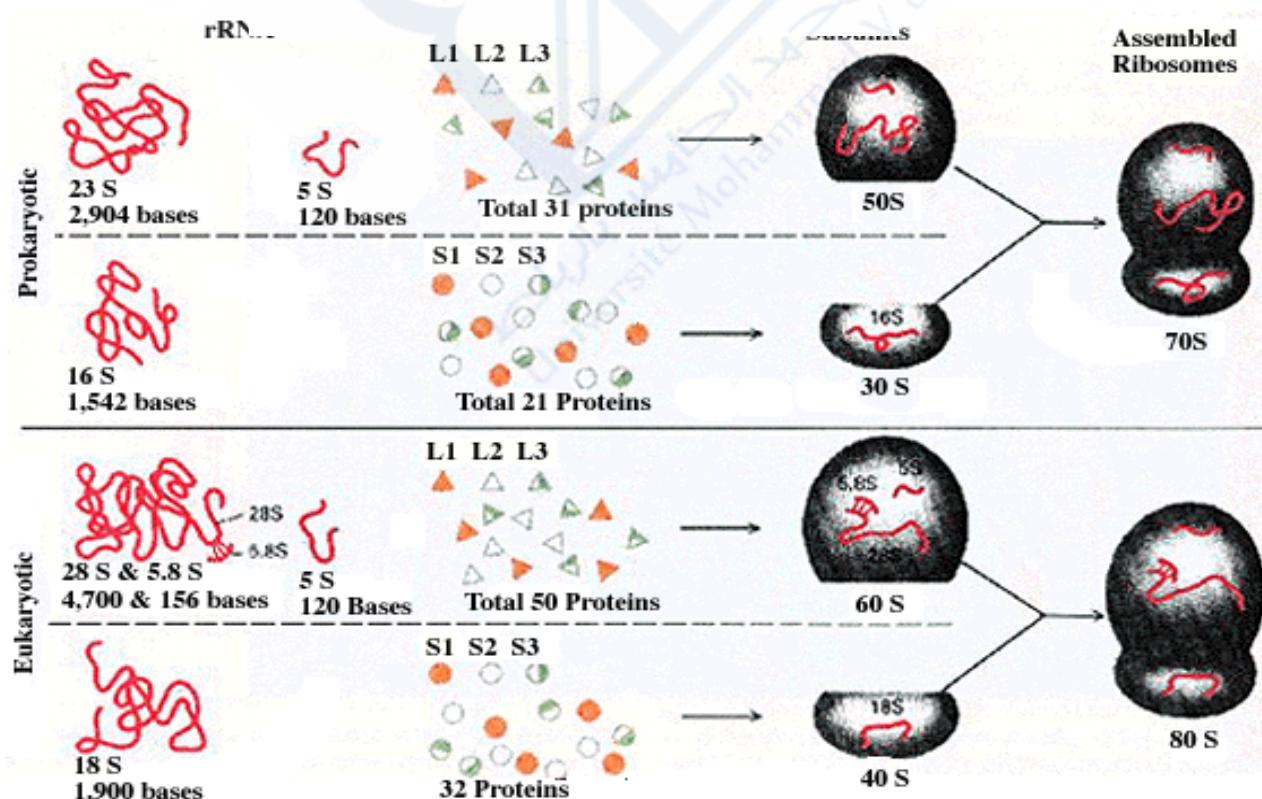


Sous unités des ribosomes en 3 D

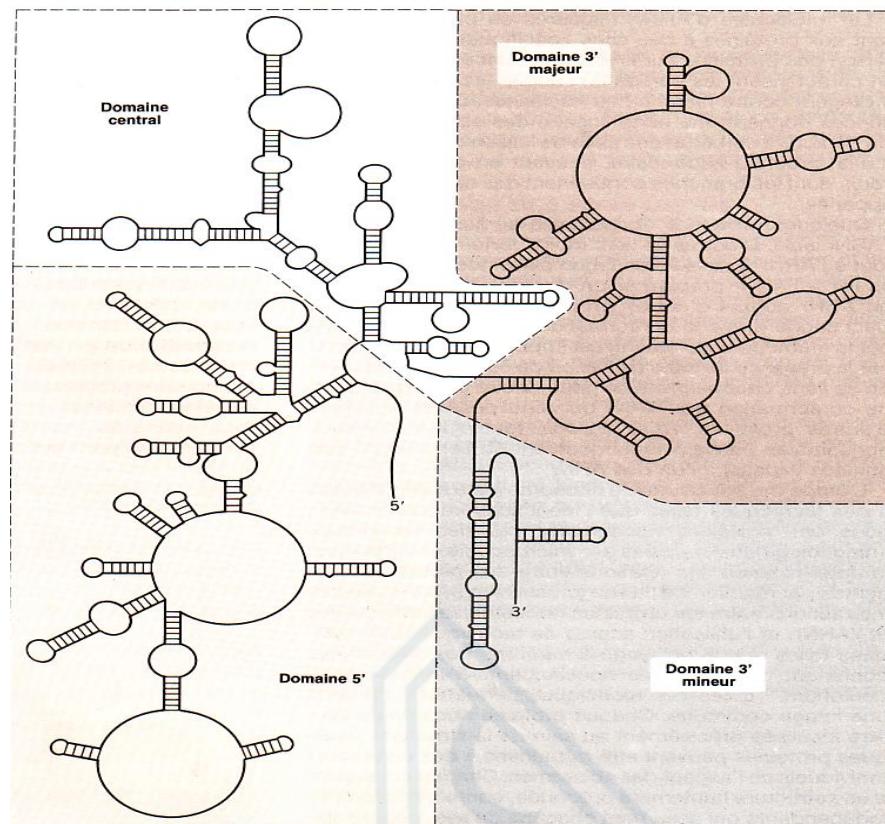
Eucaryotes: Grande sous-unité 60S
Petite sous-unité 40S



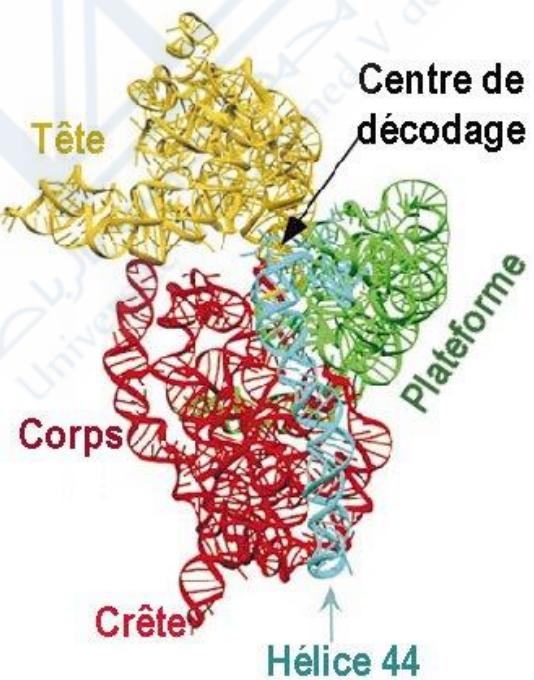
Composition chimique



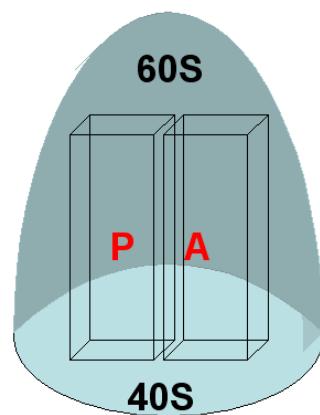
ARNr 16S d'Escherichia coli



ARNr 16S
(*T.thermophilus*):
domaines



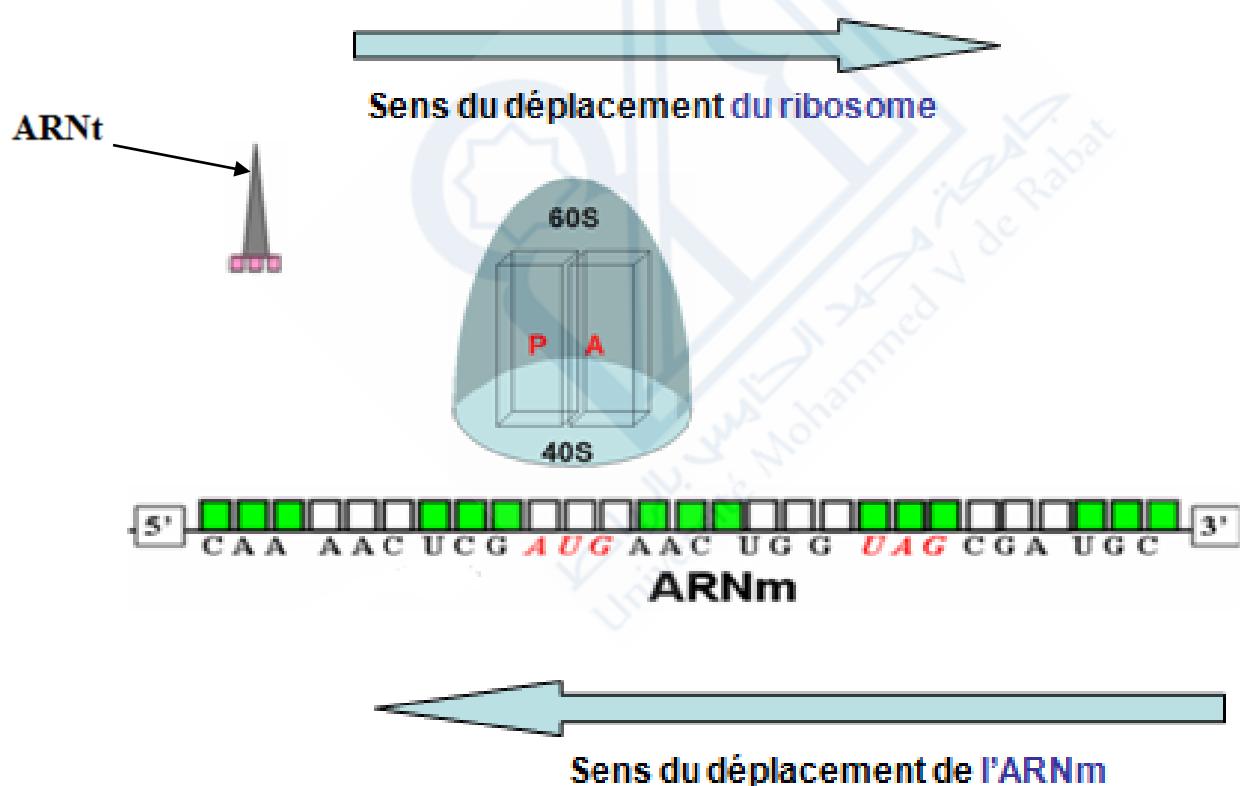
Le ribosome



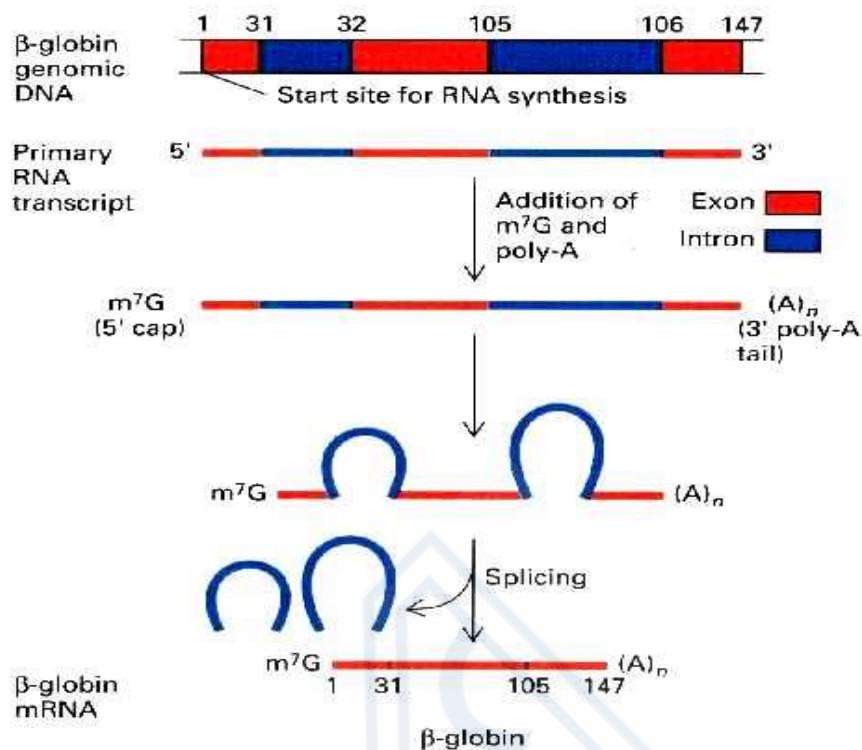
P peptidyl-ARNt

A aminoacyl-ARNt

E exit (sortie)



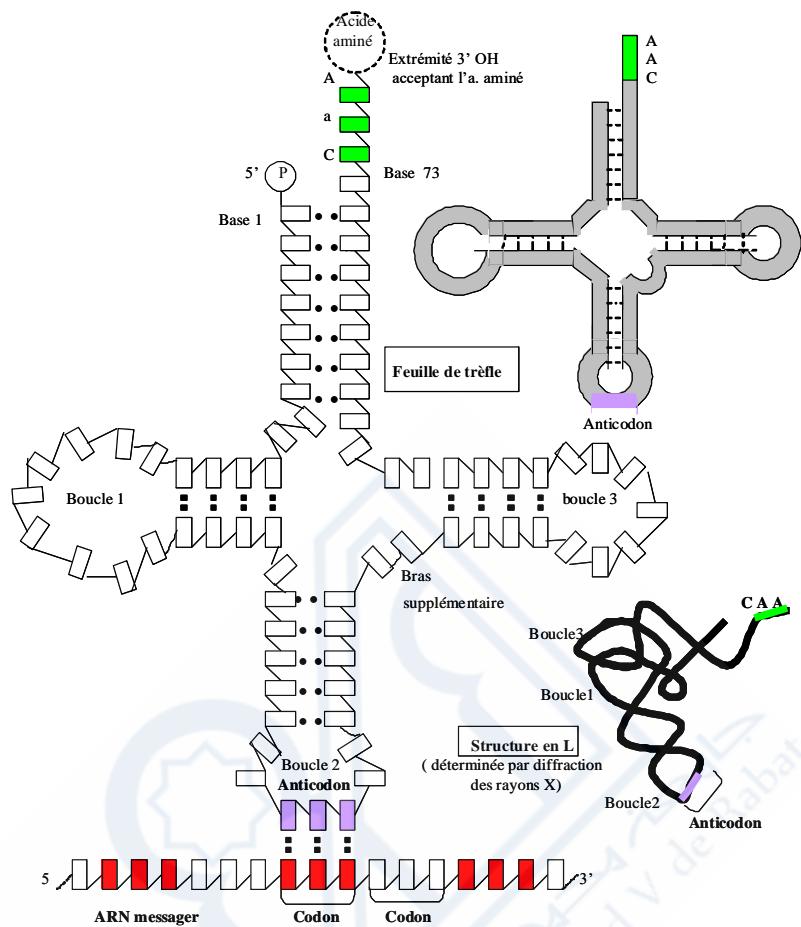
Transcription et maturation de l'ARNm



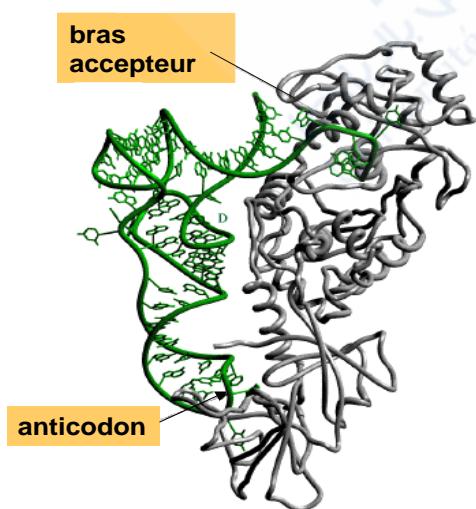
Le code génétique

Première lettre (extrémité 5')	Deuxième lettre				Troisième lettre (extrémité 3')
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Arrêt	Arrêt	A
	Leu	Ser	Arrêt	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

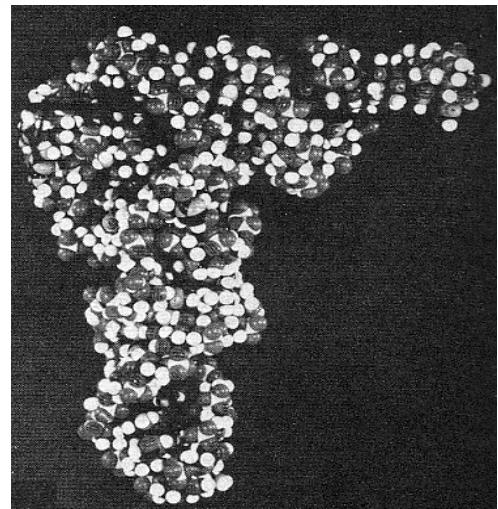
L'ARNt apporte les acides aminés



L'ARN de transfert

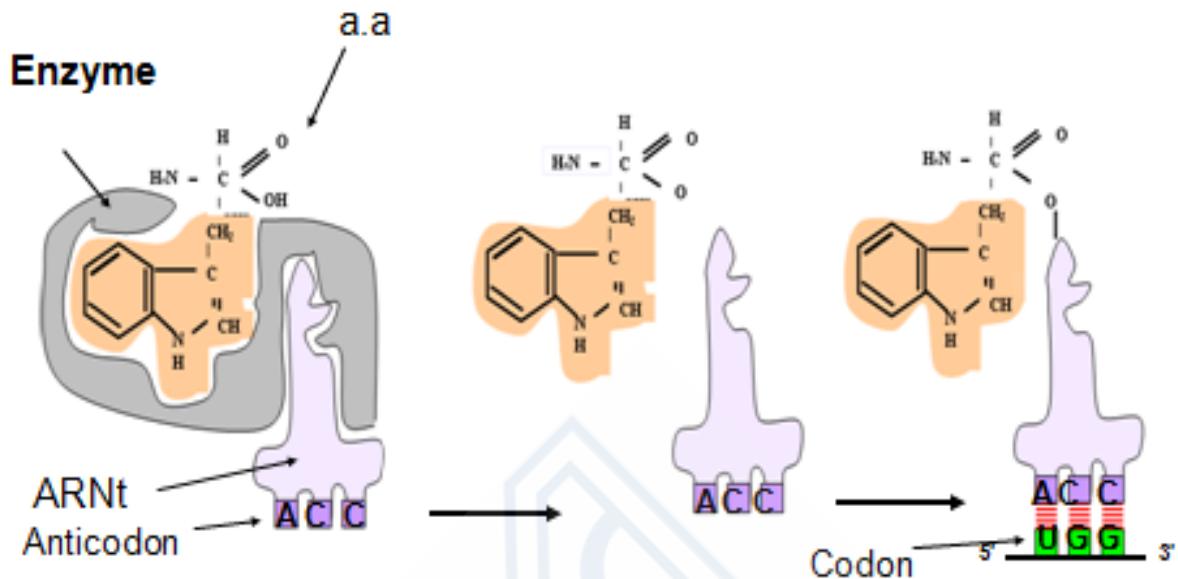


Structure tertiaire

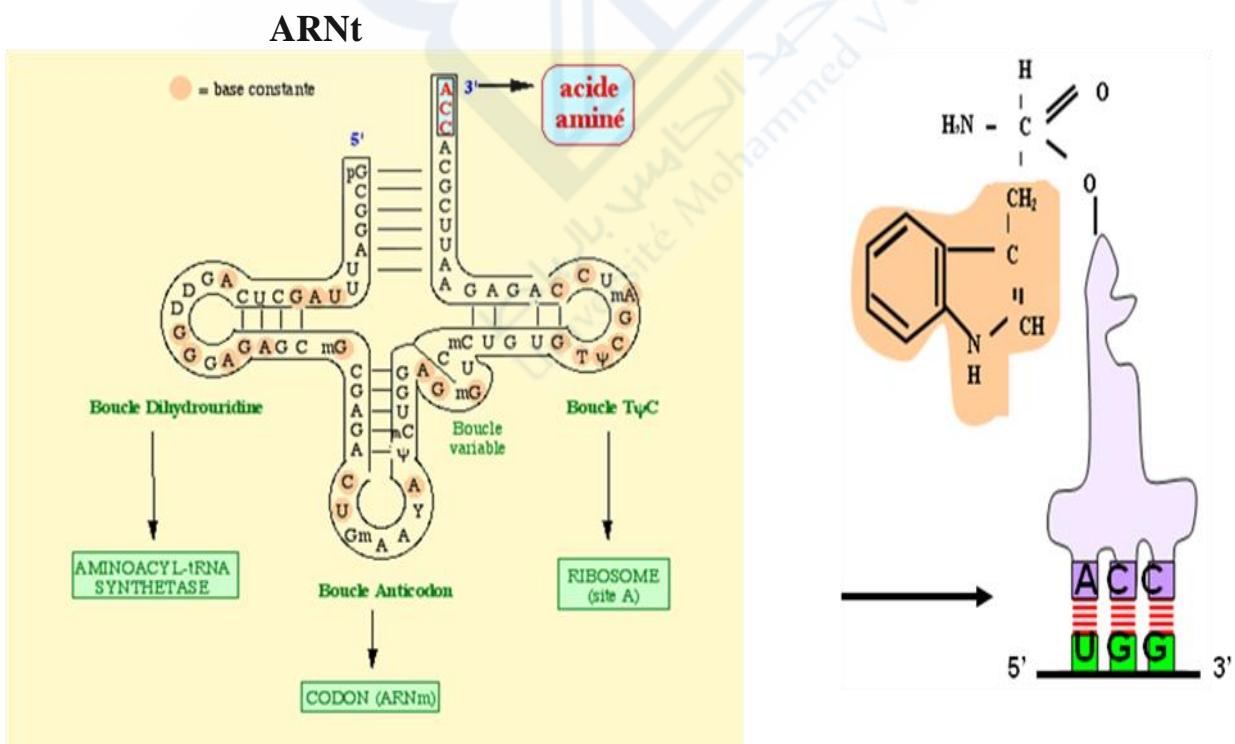


Modèle compact

L'aminoacyl – ARNt synthase

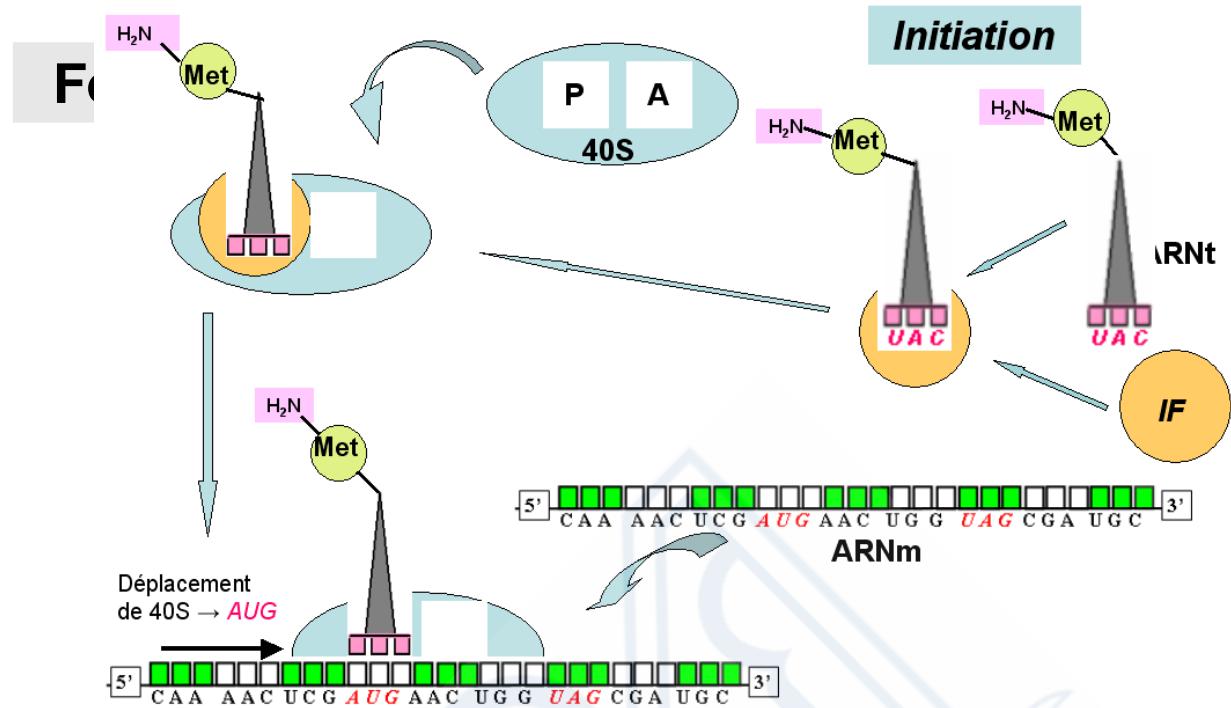


La boucle 2 de l'ARNt contient l'anticodon qui reconnaît l'ARNm lié au ribosome

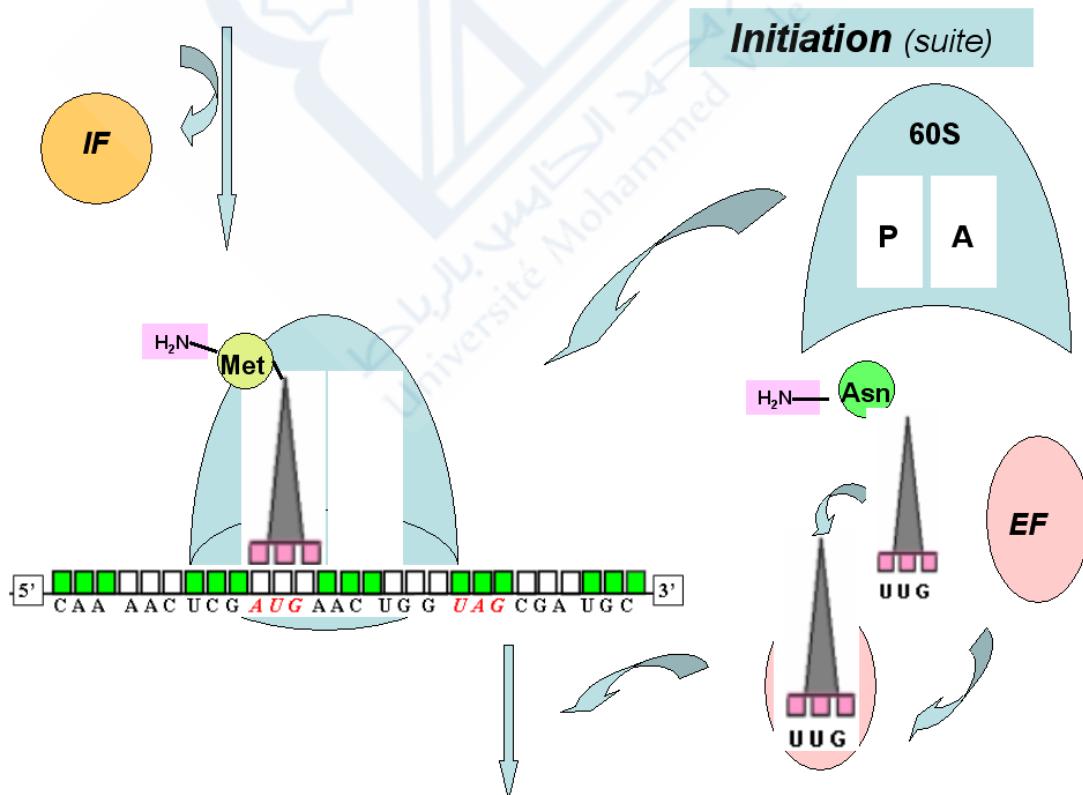


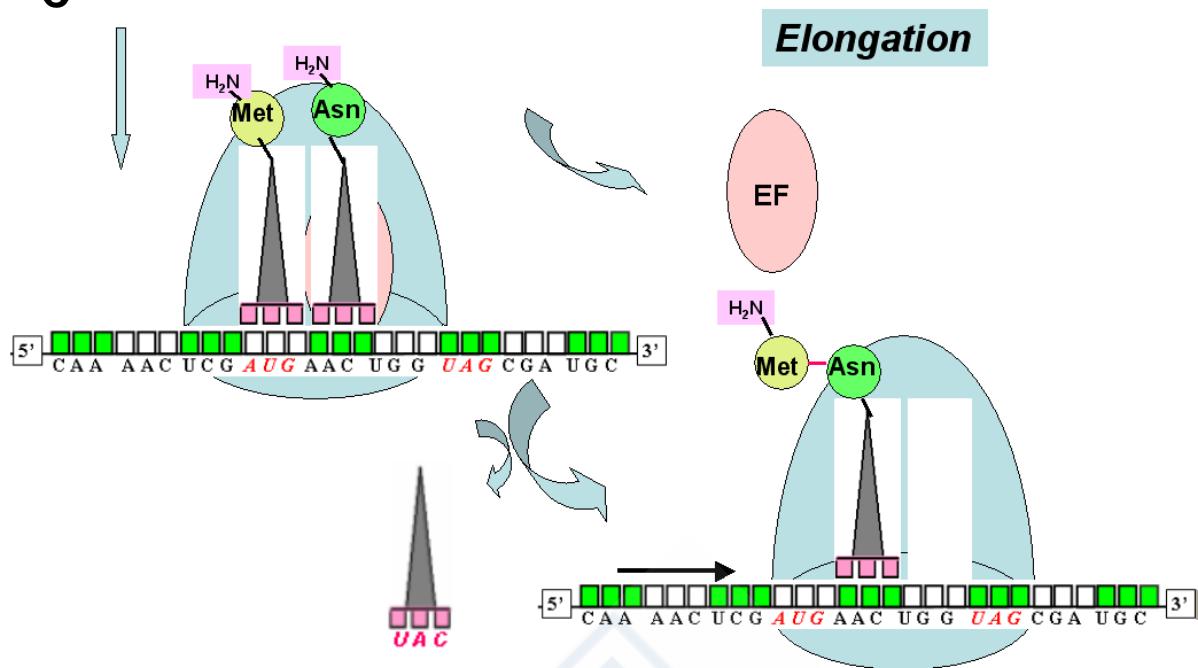
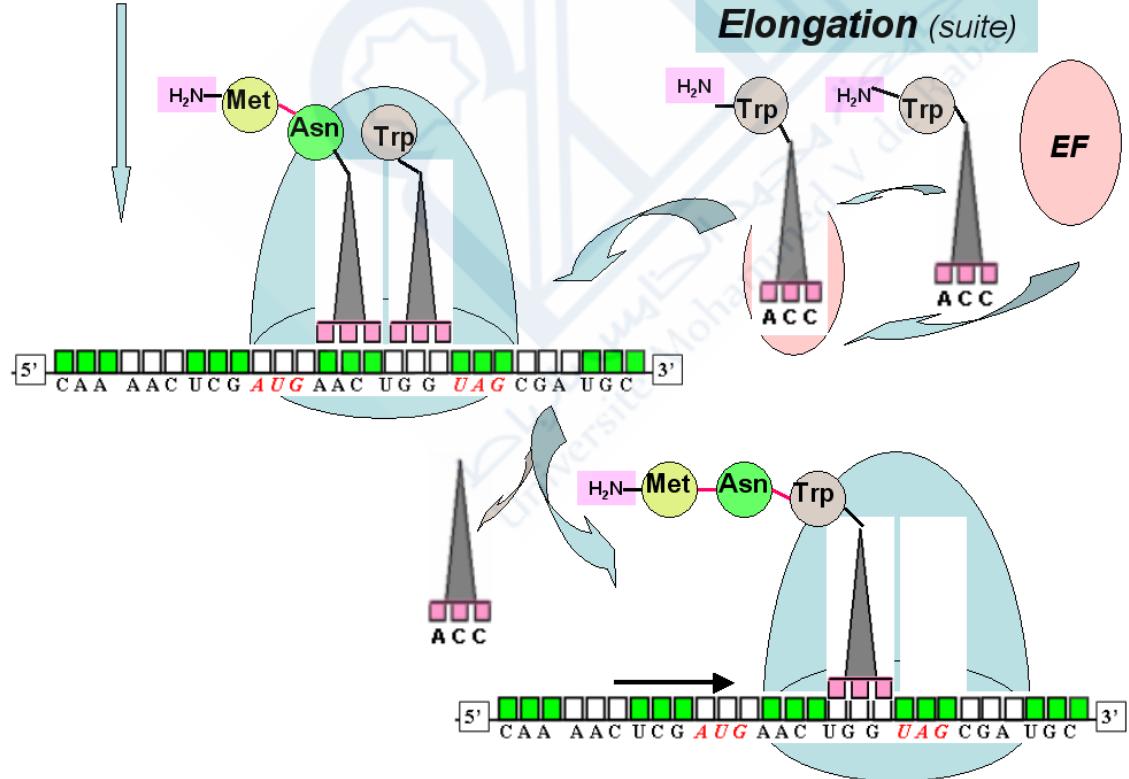
Etapes de la synthèse protéique

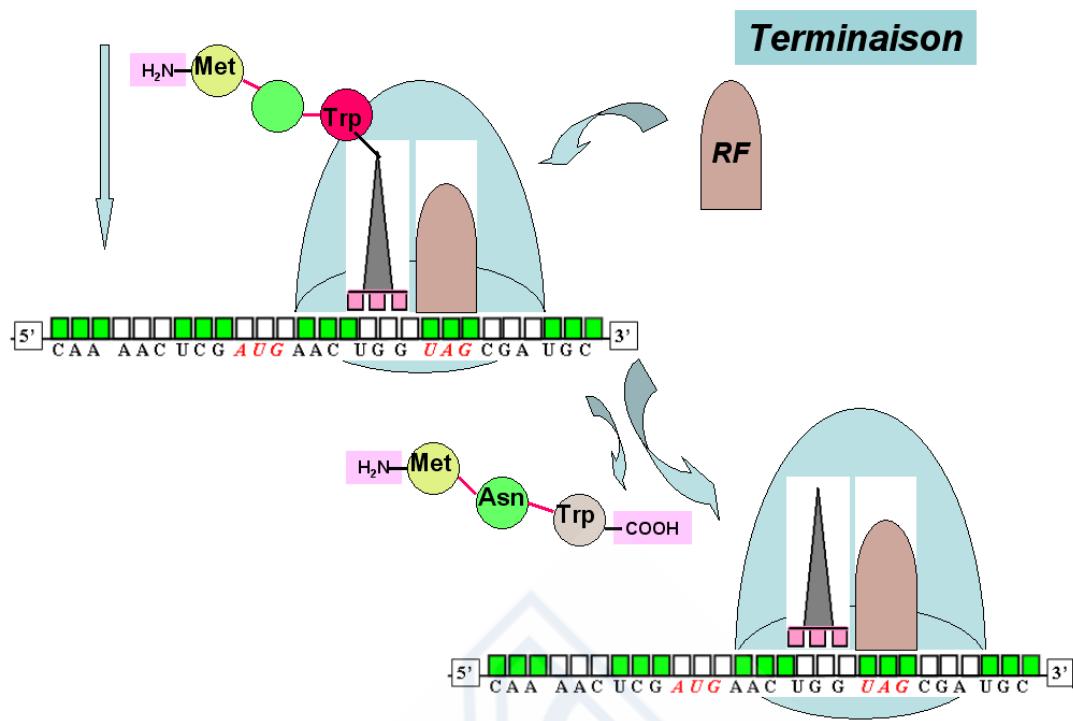
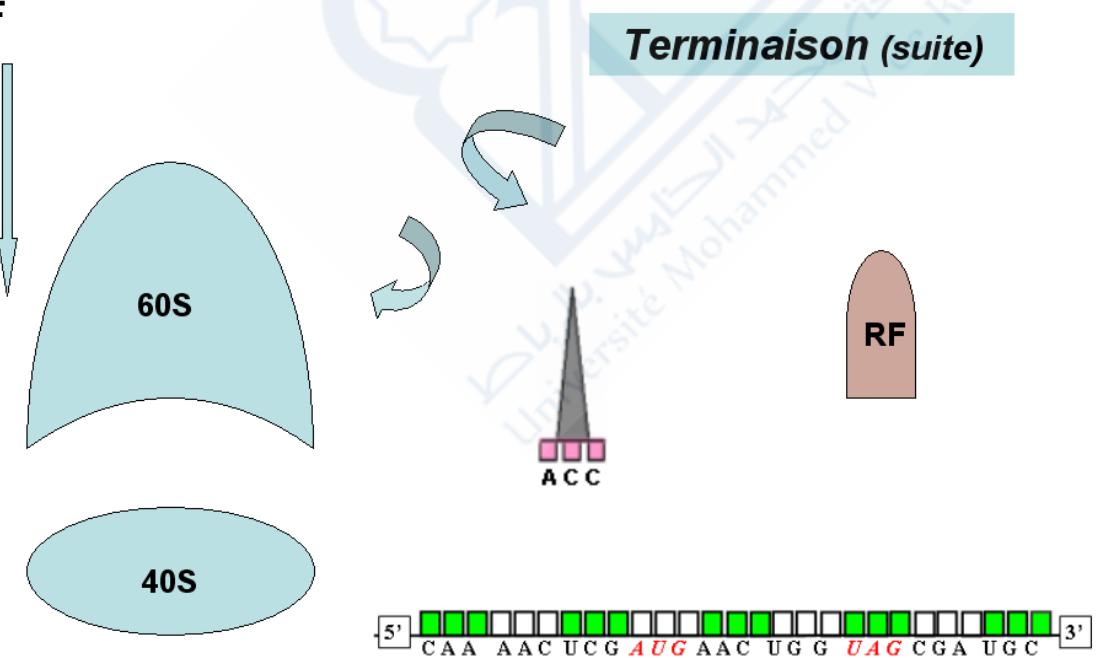
A



B

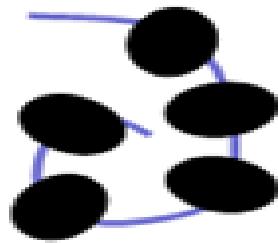
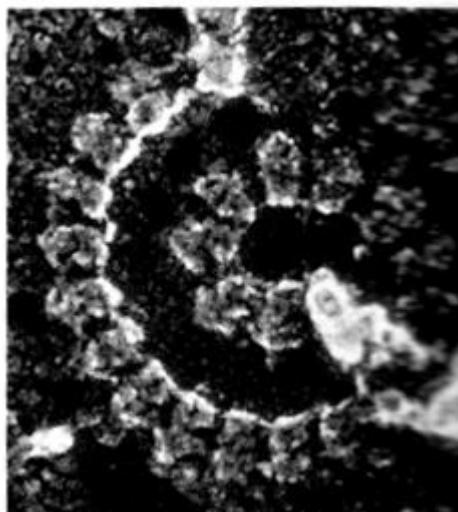


C**D**

E**F**

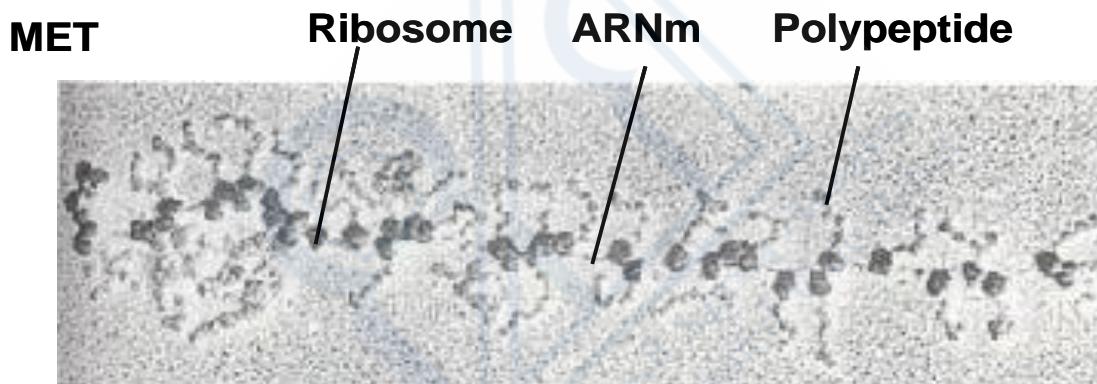
Polysome

MET. Cryodécapage

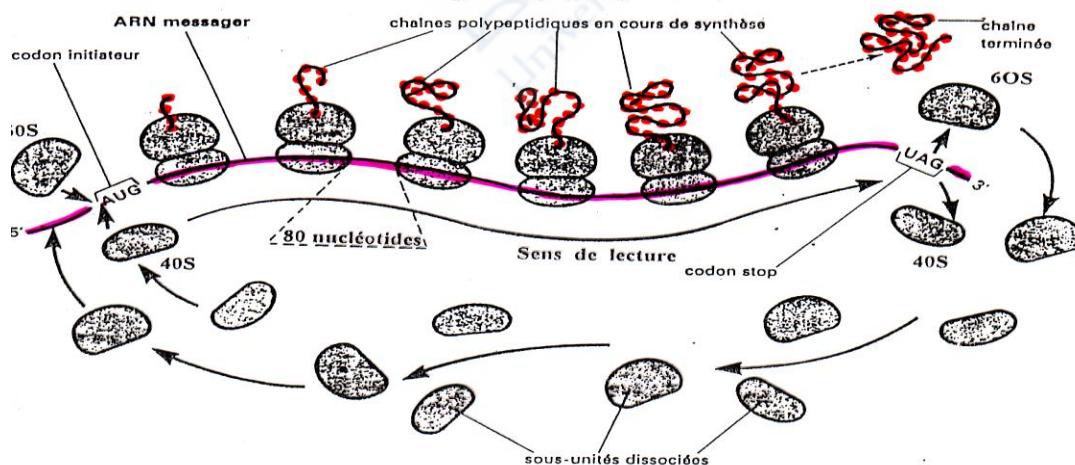


Polysome: ribosomes reliés par ARNm

Amplification de la synthèse protéique



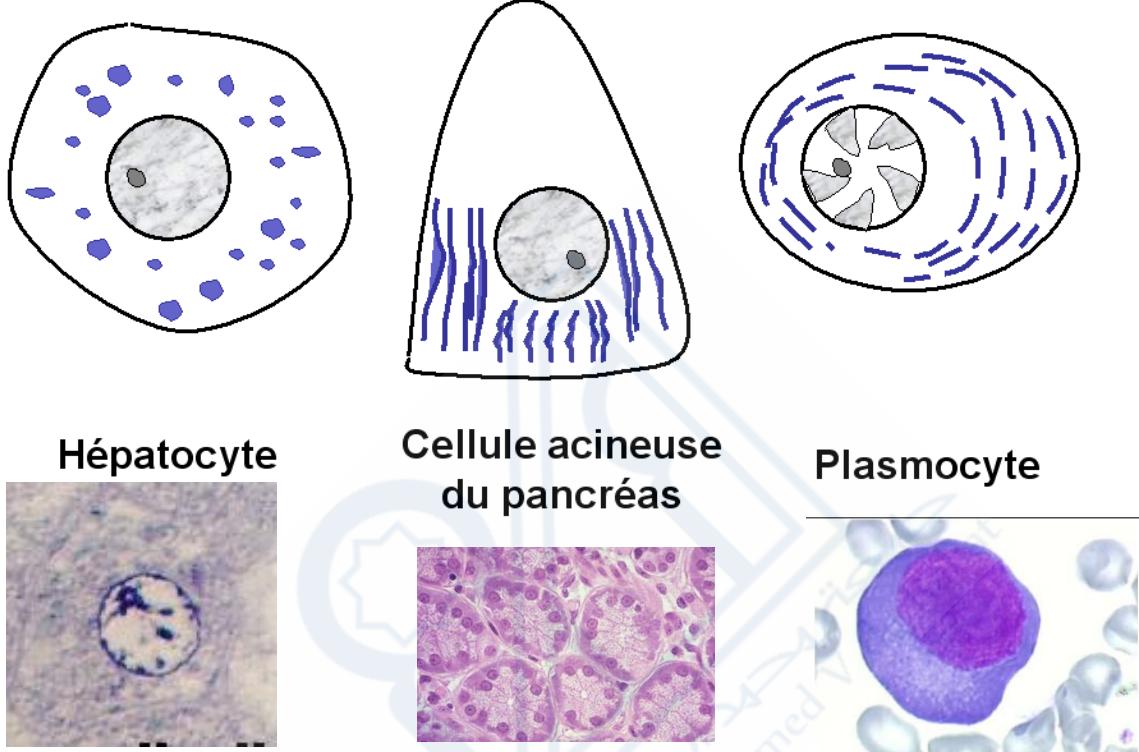
Amplification de la synthèse protéique



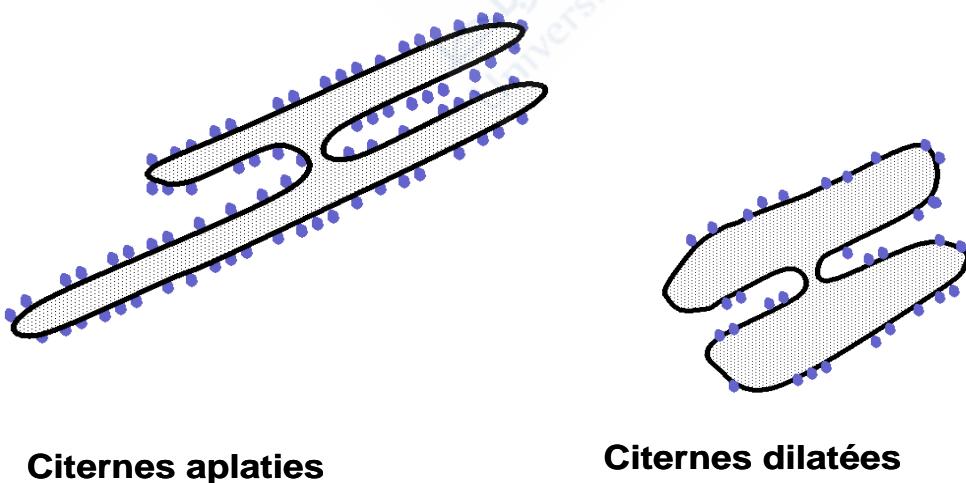
Le reticulum endoplasmique rugueux

RER

La basophilie

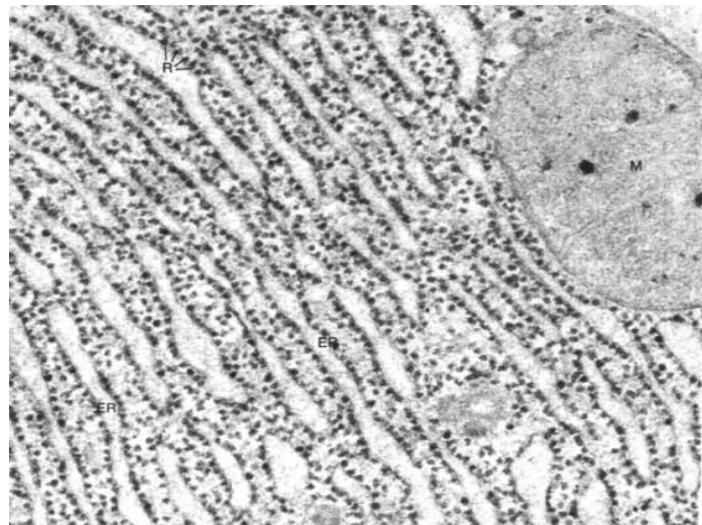


MET. Représentation schématique

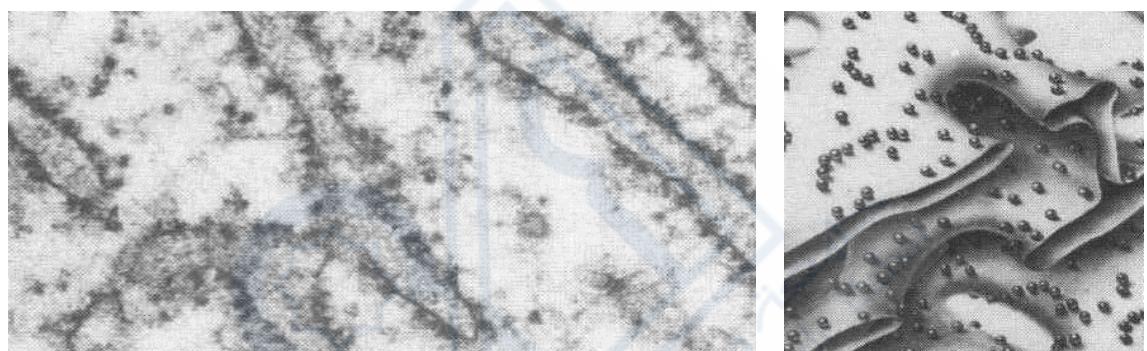


RER

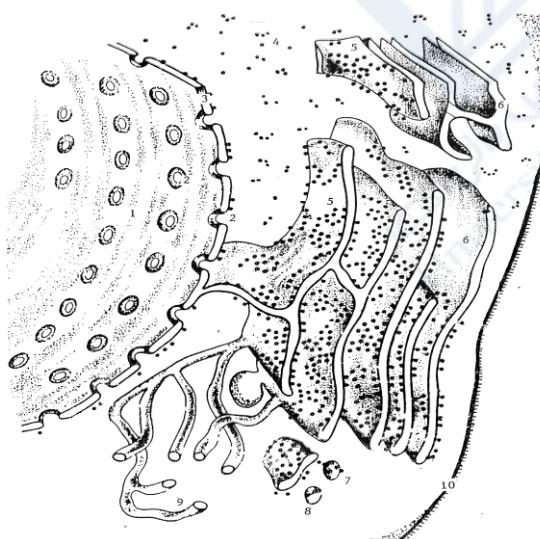
MET



MET et représentation en 3D

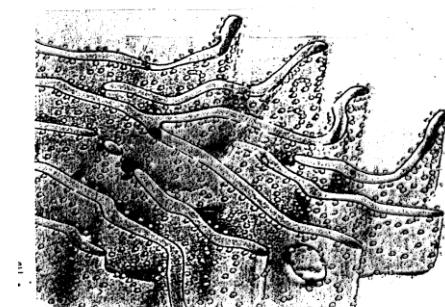


Représentation tridimensionnelle du RER



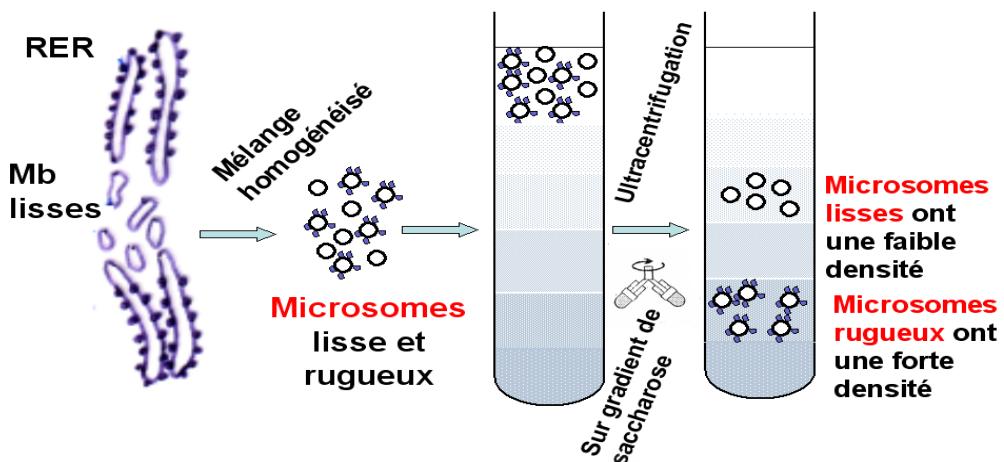
Continuité avec REL

Continuité avec enveloppe nucléaire

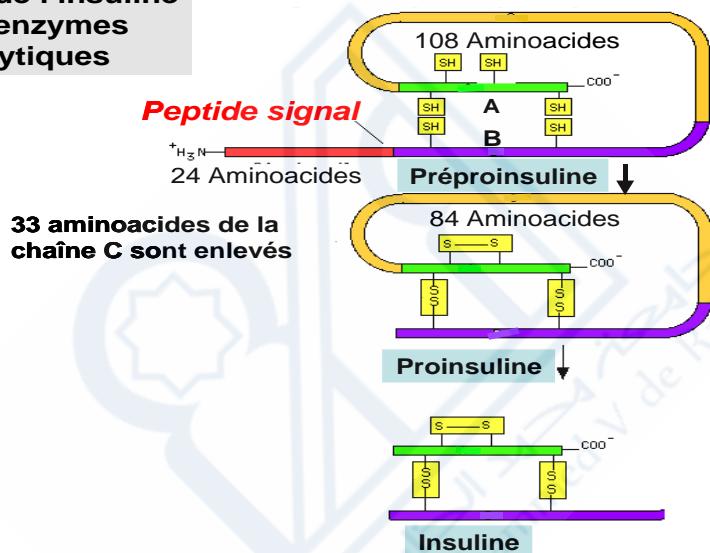


- | | | |
|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 1. noyau | 4. ribosomes libres | 7. vésicule de RER |
| 2. pore nucléaire | 5. citerne de RER | 8. vésicule de REL |
| 3. enveloppe nucléaire | 6. citerne de REL | 9. tube ou canalicule de REL |
| | | 10. membrane plasmique |

Obtention de la fraction microsome par ultracentrifugation

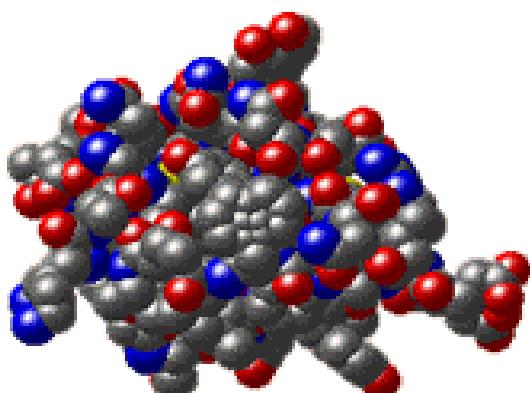
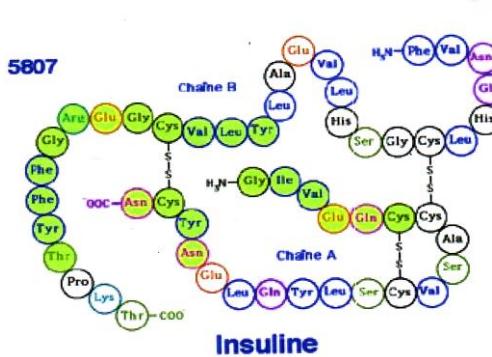


Maturation de l'insuline par des enzymes protéolytiques

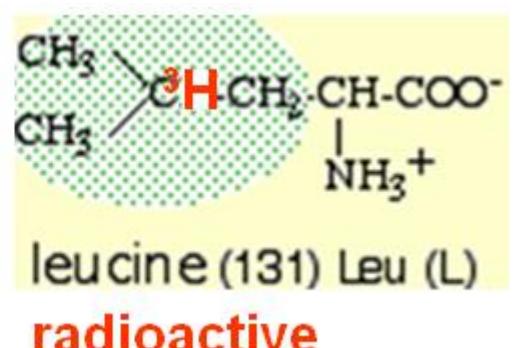
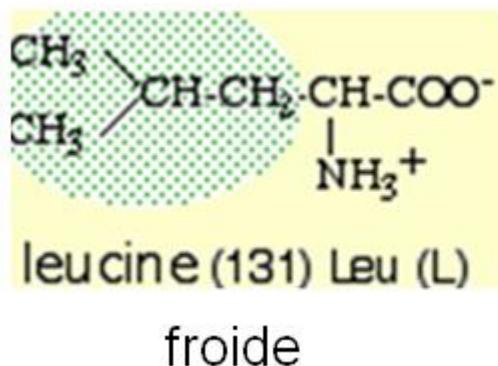
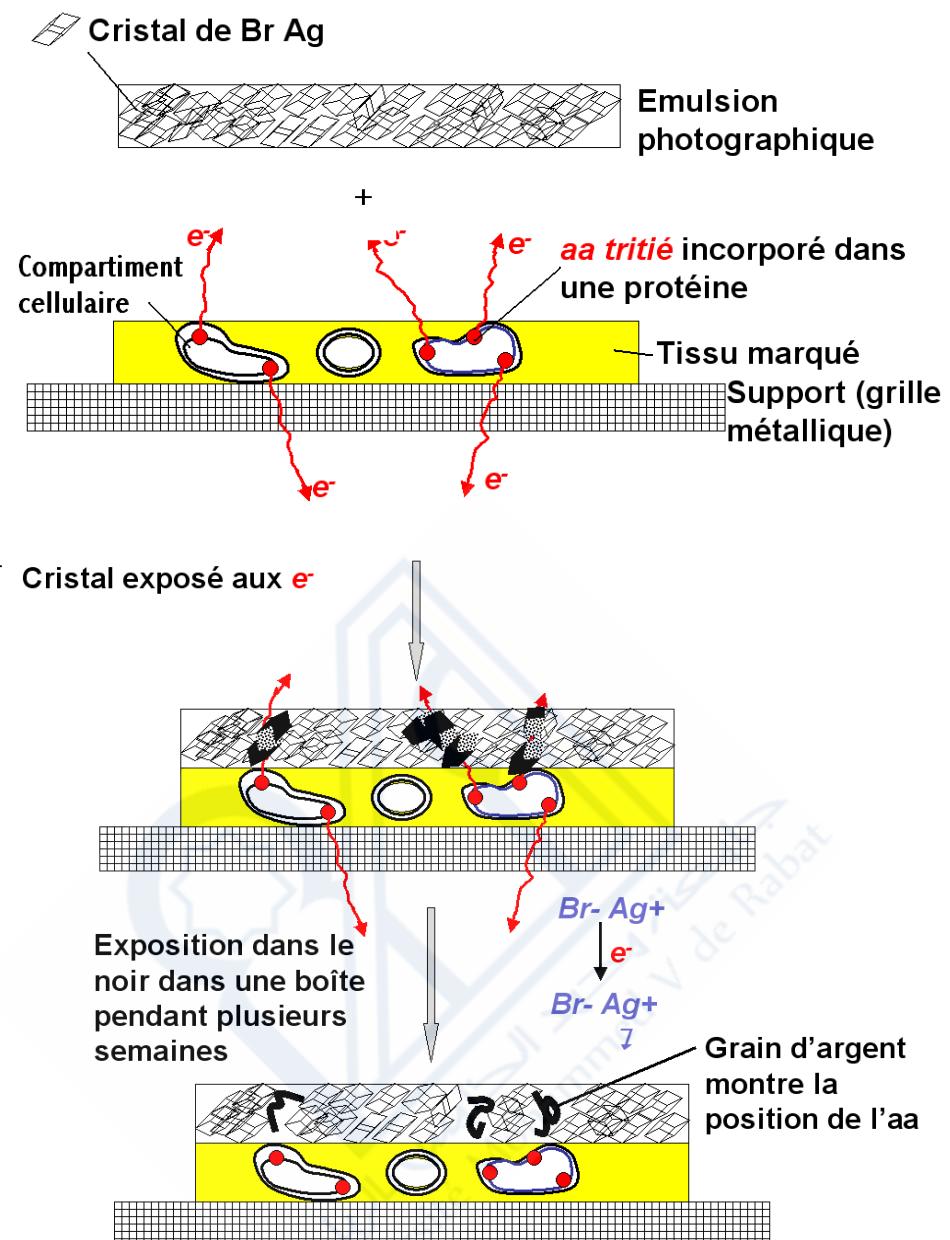


Molécule d'insuline

Insulin
 $C_{254}H_{377}N_{65}O_{76}S_6$



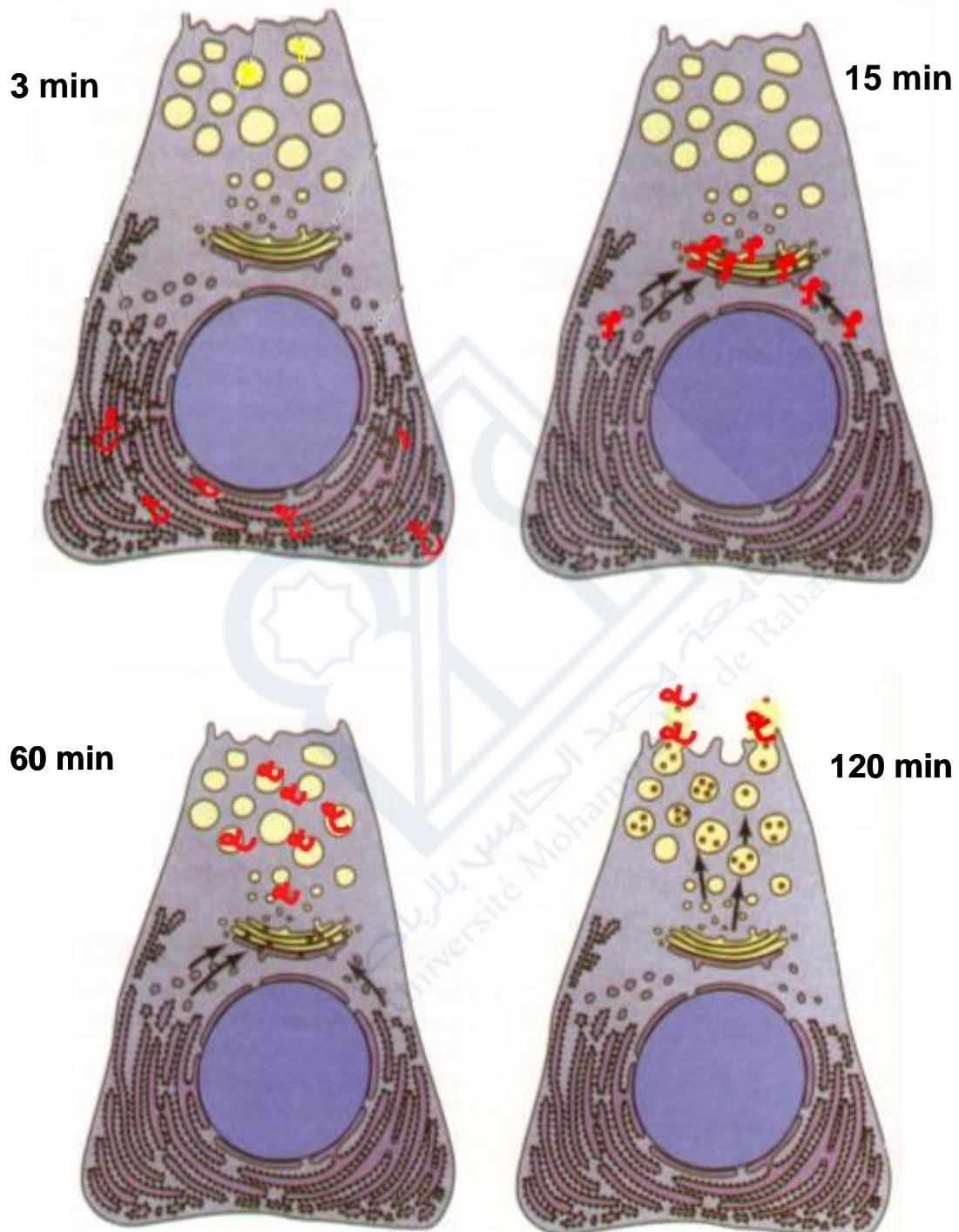
Autoradiographie



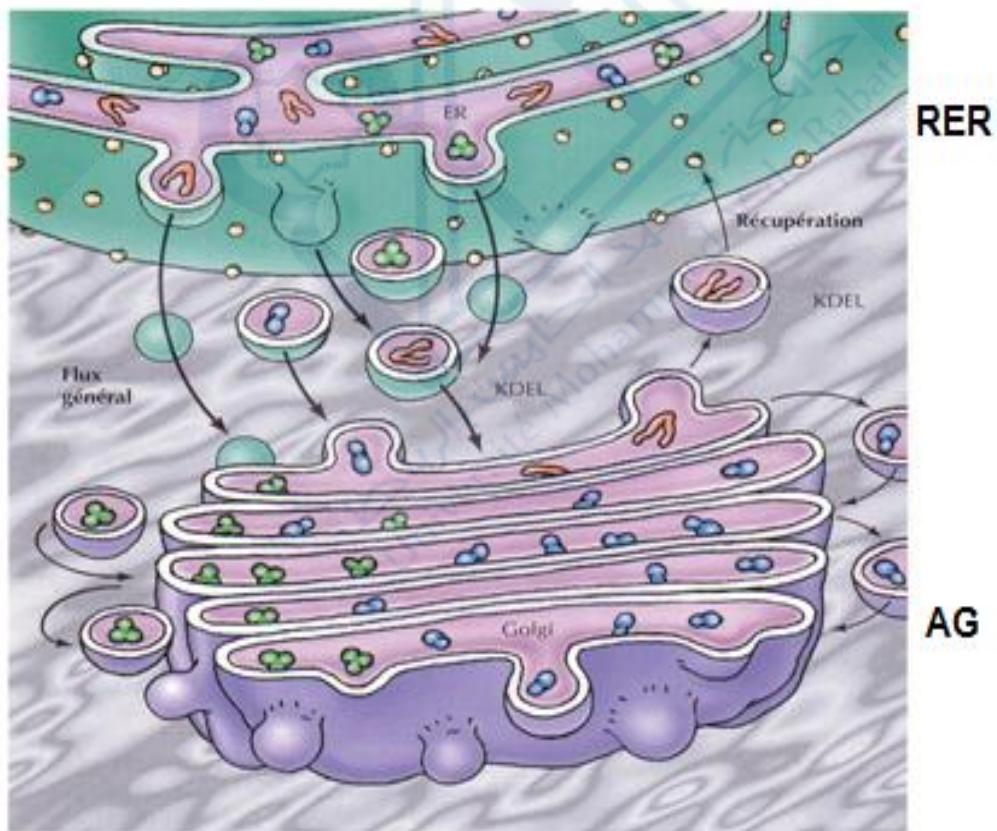
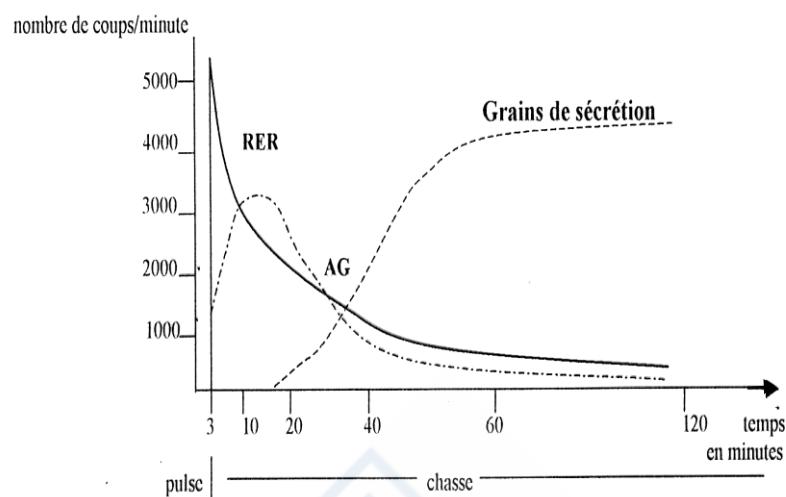
Autoradiographie

Cellule acineuse du pancréas

Révélation de grains d'argent au niveau
de différents compartiments

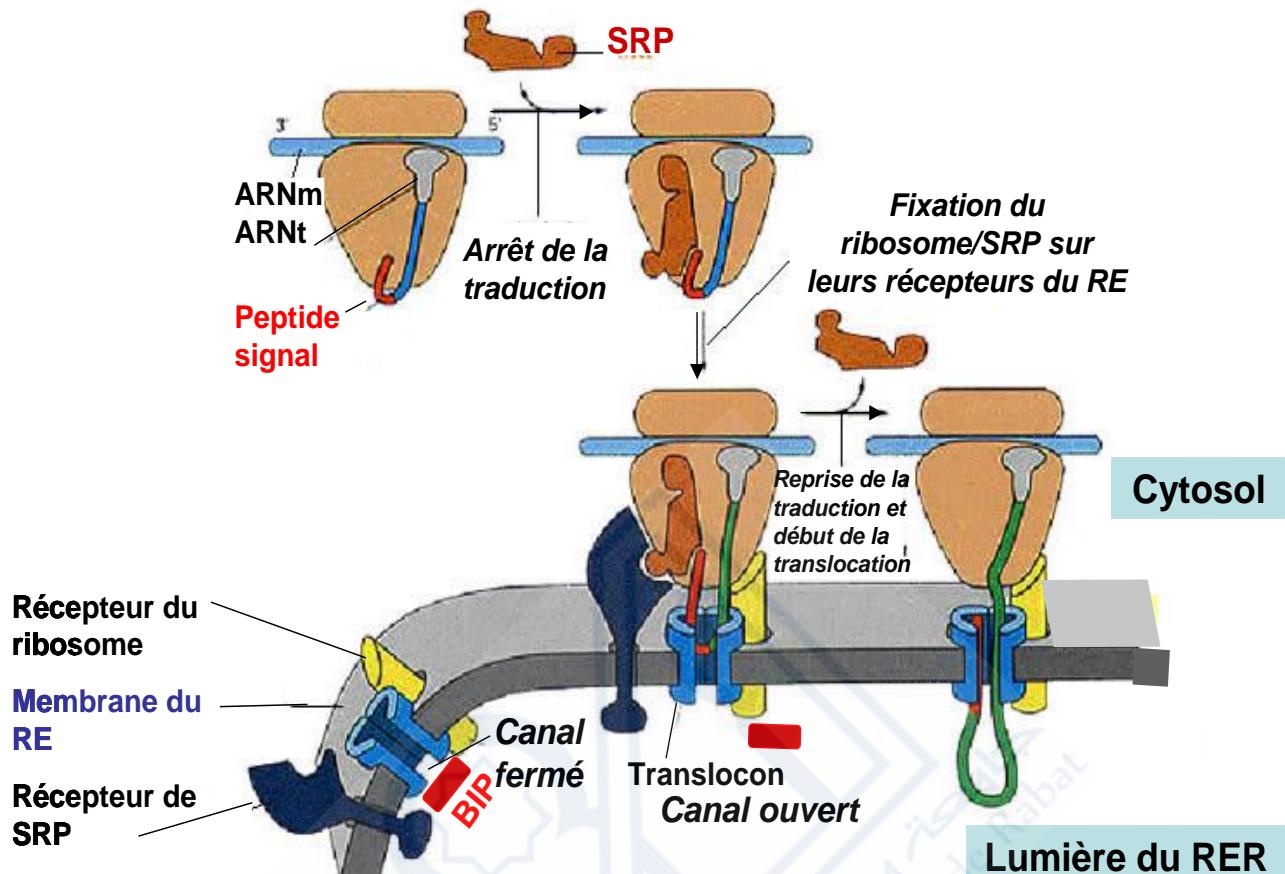


Mesure de la radioactivité de fractions cellulaires de cellules acineuses de foie de rat
Les rats ont reçu une injection de leucine ^{3}H pendant un pulse de 3 minutes.

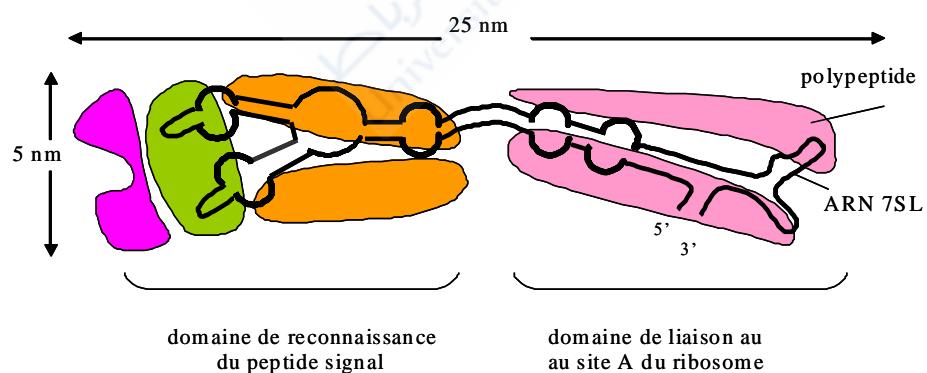


Translocation d'une protéine dans le RER

A

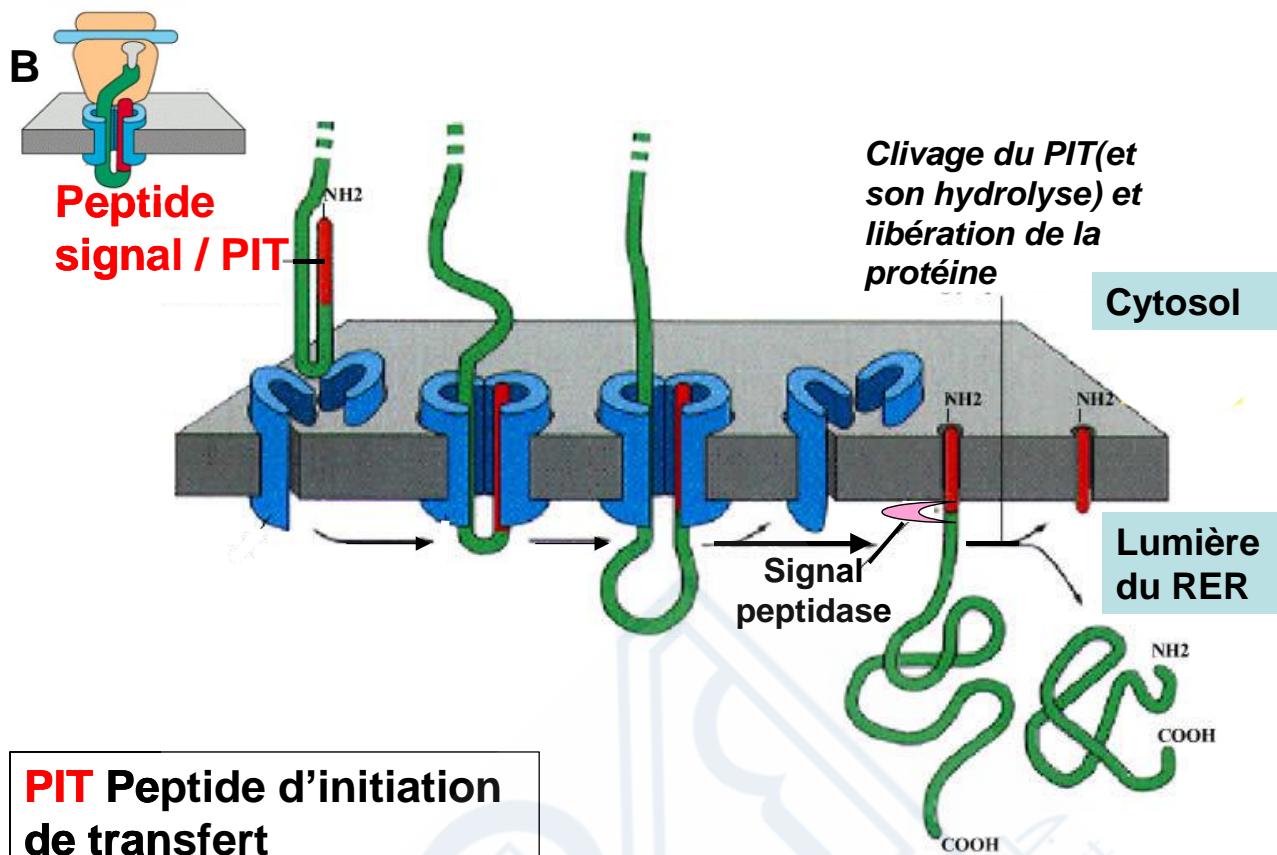


La SRP

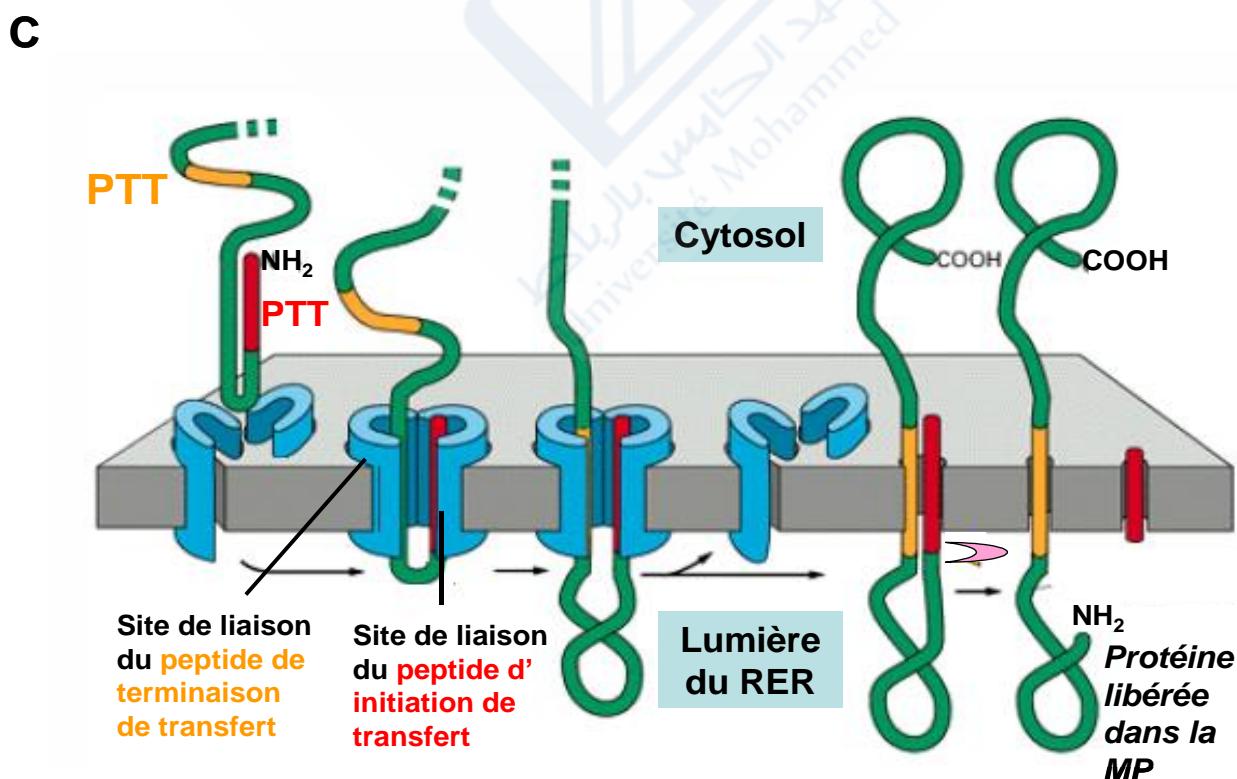


Représentation schématique de l'ARN 7SL

1. Translocation d'une protéine soluble ou lumineale

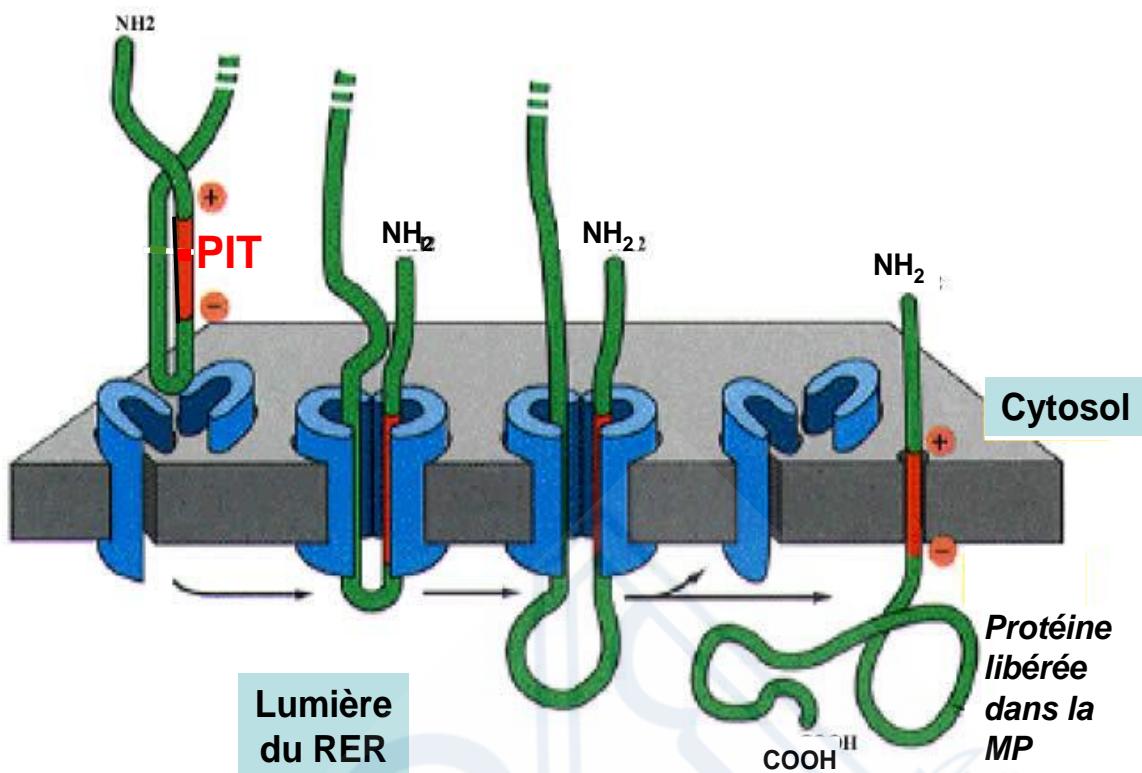


2. Translocation d'une P1TM dont NH₂ est du côté luminal



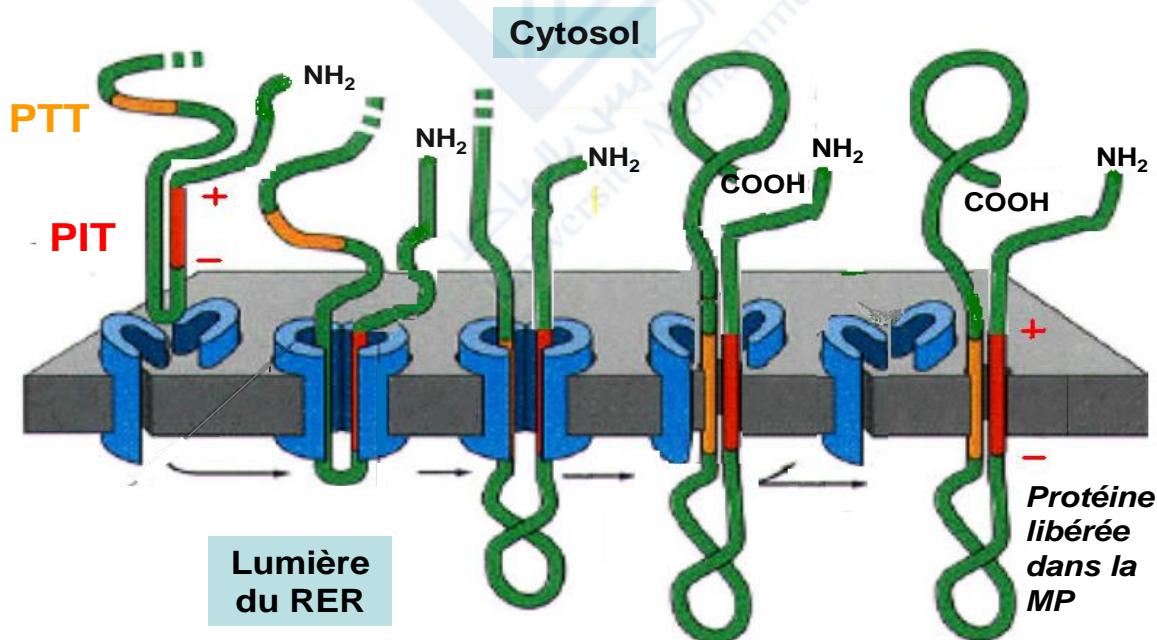
3. Translocation d'une P1TM dont COOH est du côté luminal

D



4. Translocation d'une P2TM avec COOH et NH2 côté cytosolique

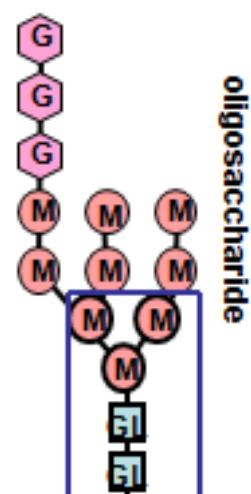
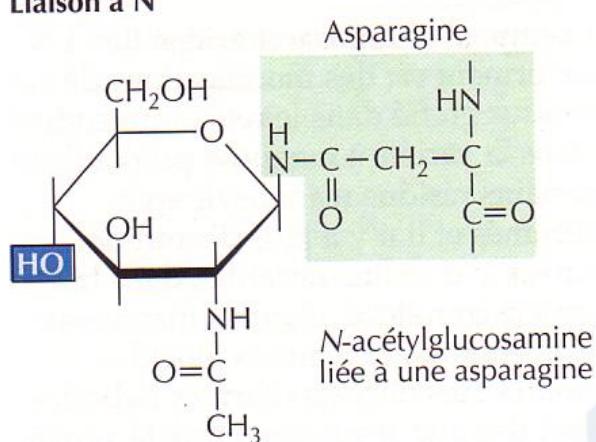
E



La N - glycosylation

Oligosaccharide N – lié à une asparagine

Liaison à N



Asparagine

Protéine

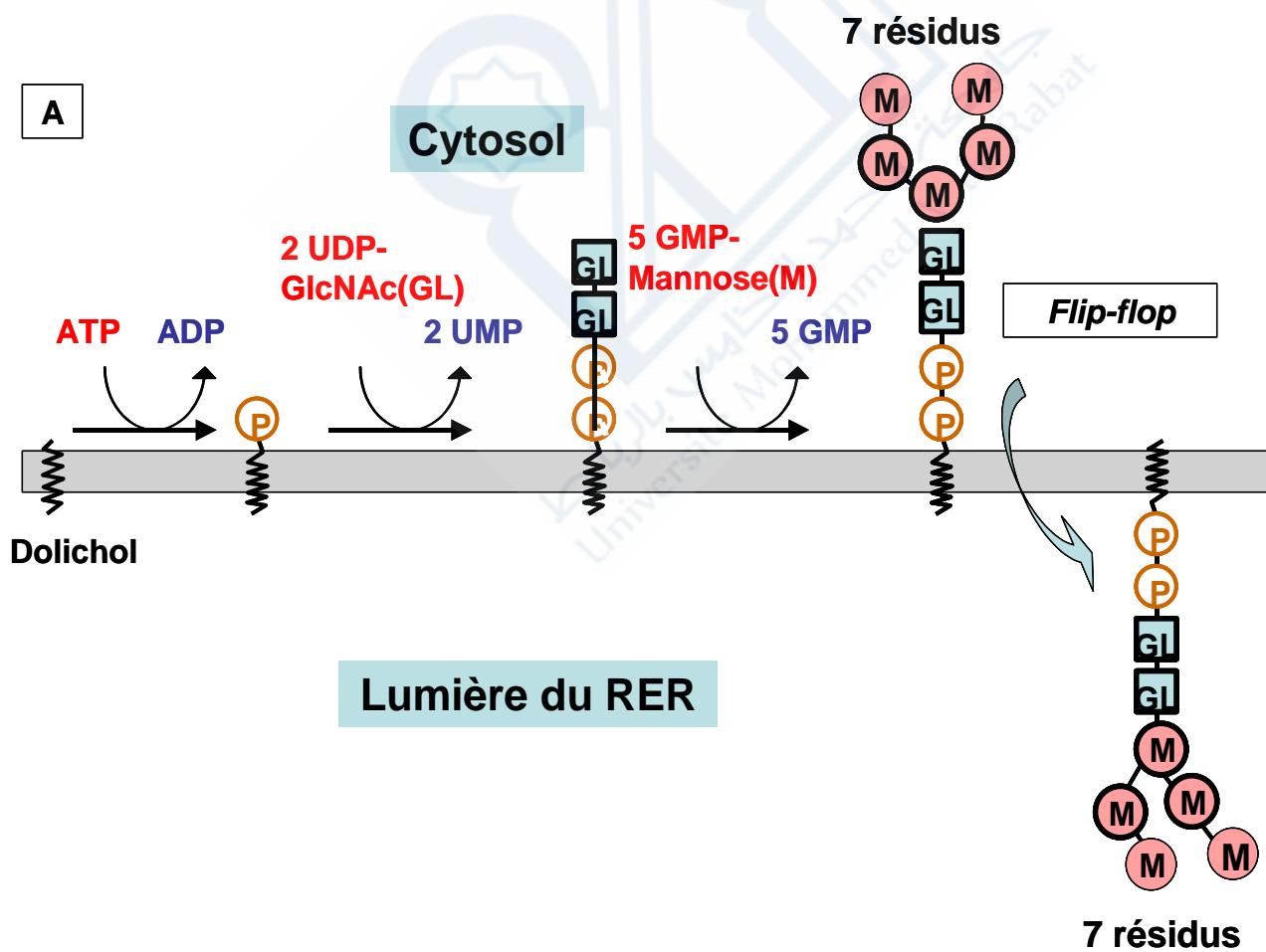
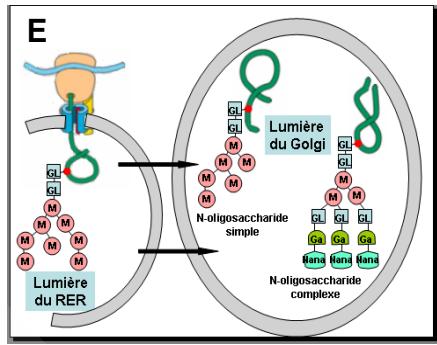
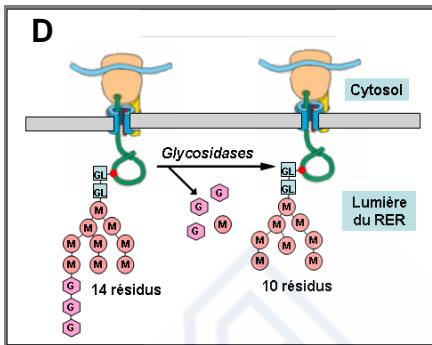
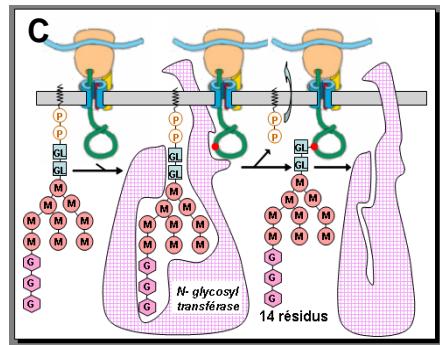
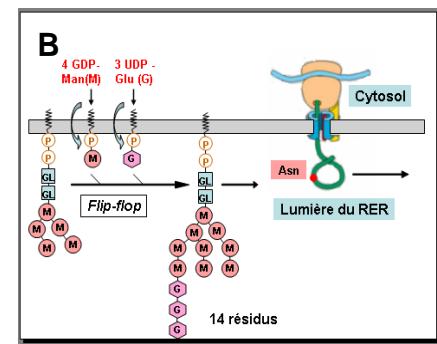
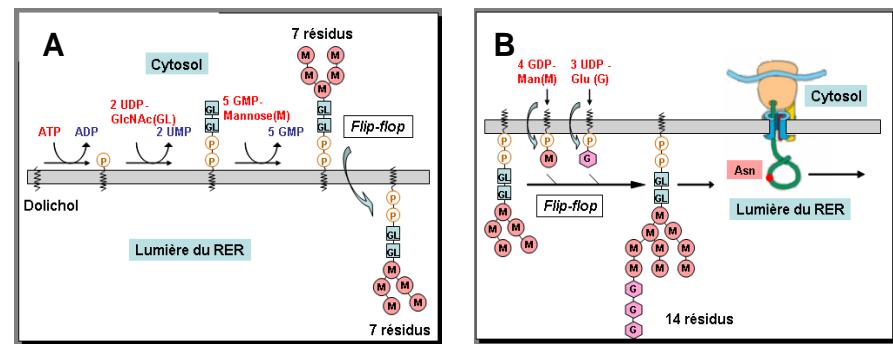
oligosaccharides

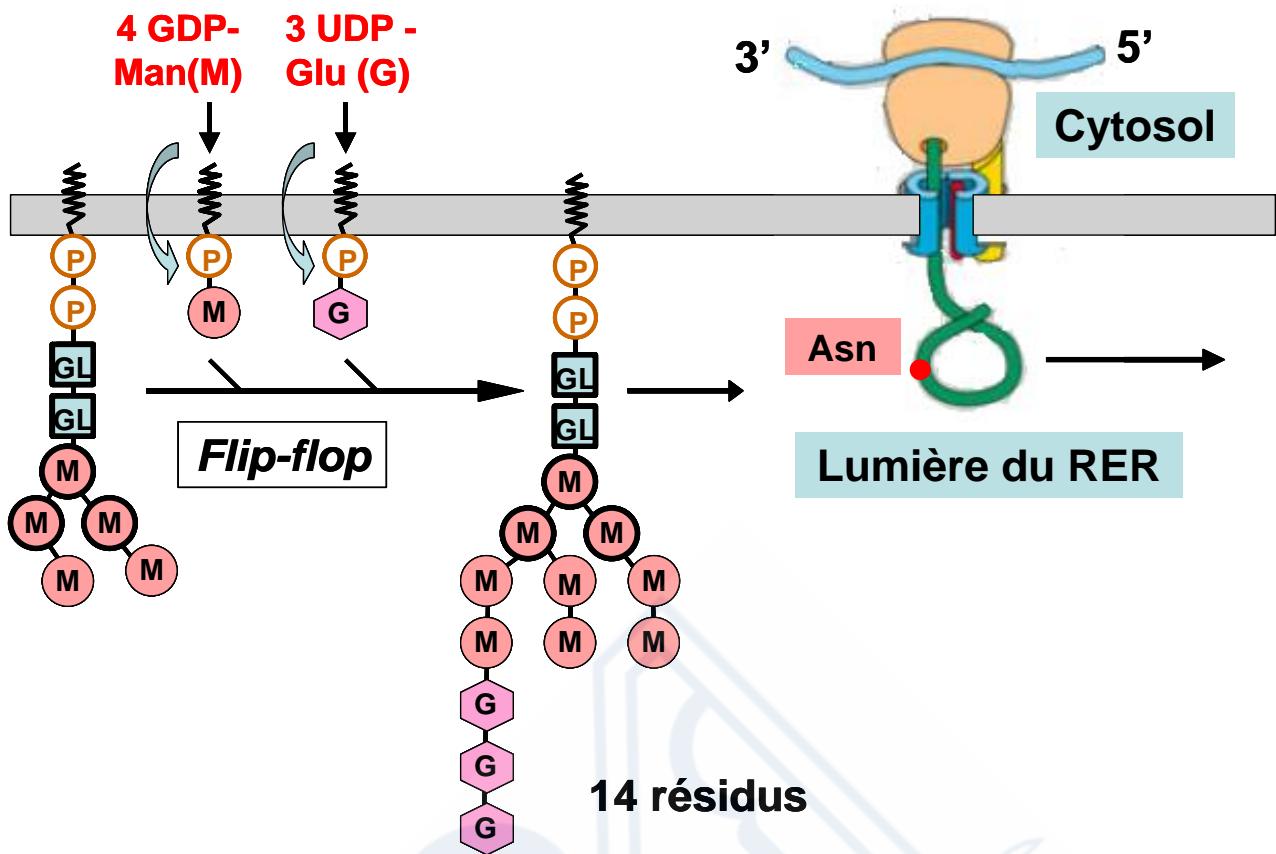
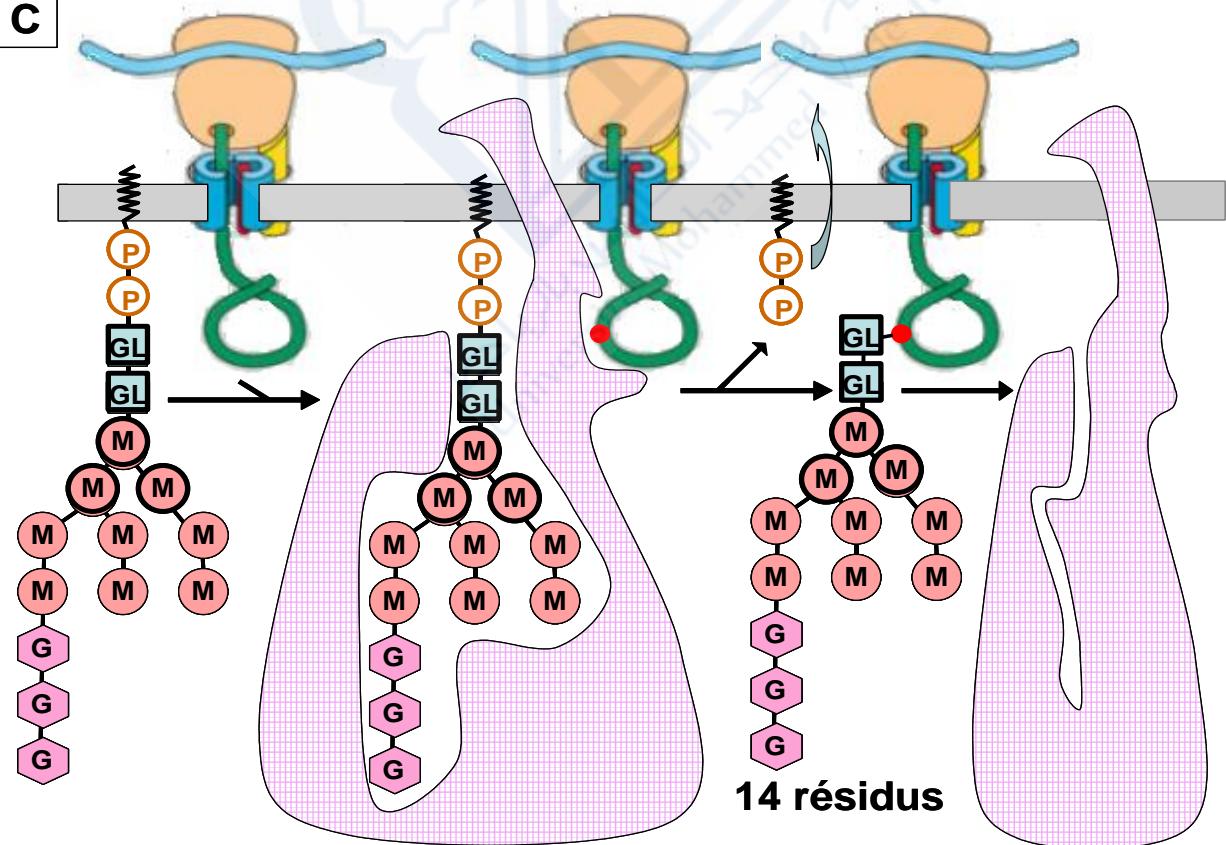
protéine

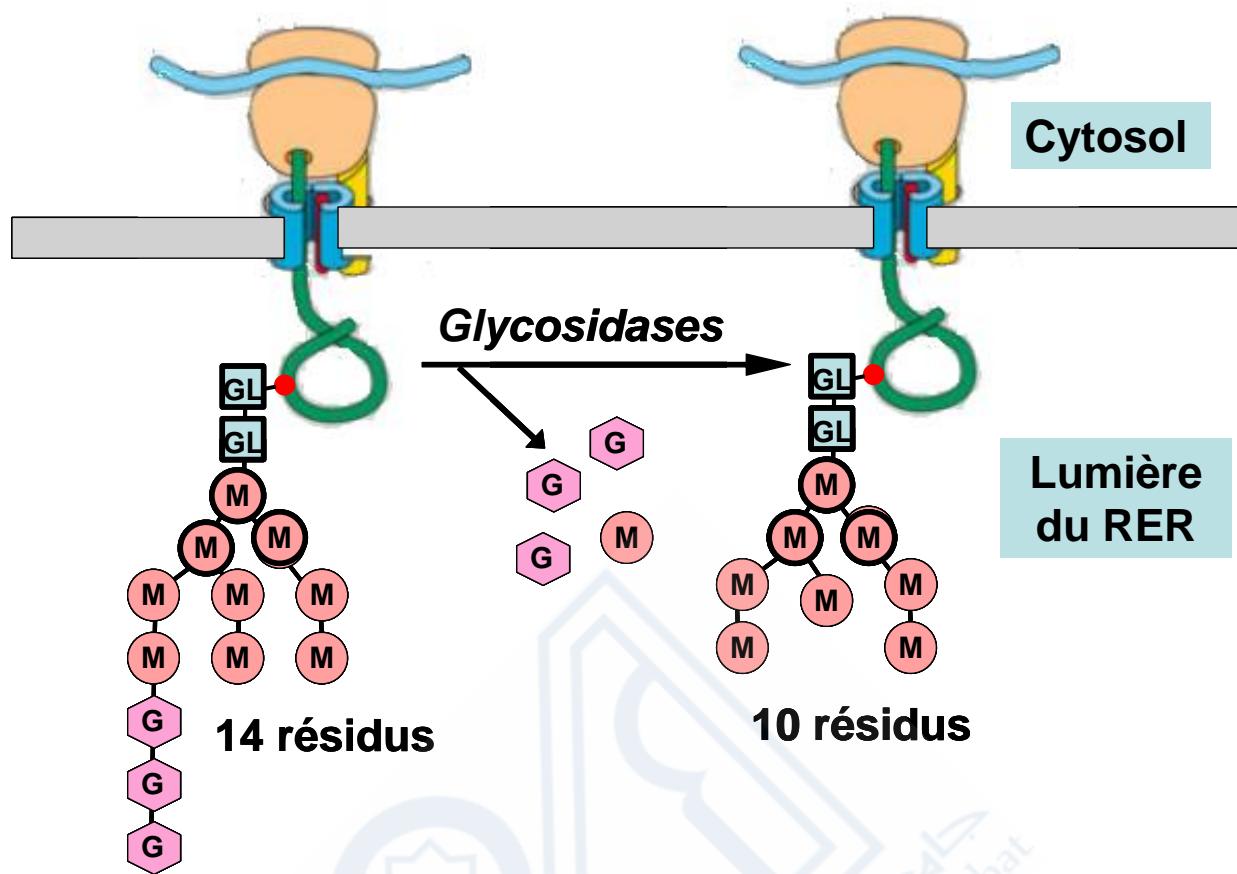
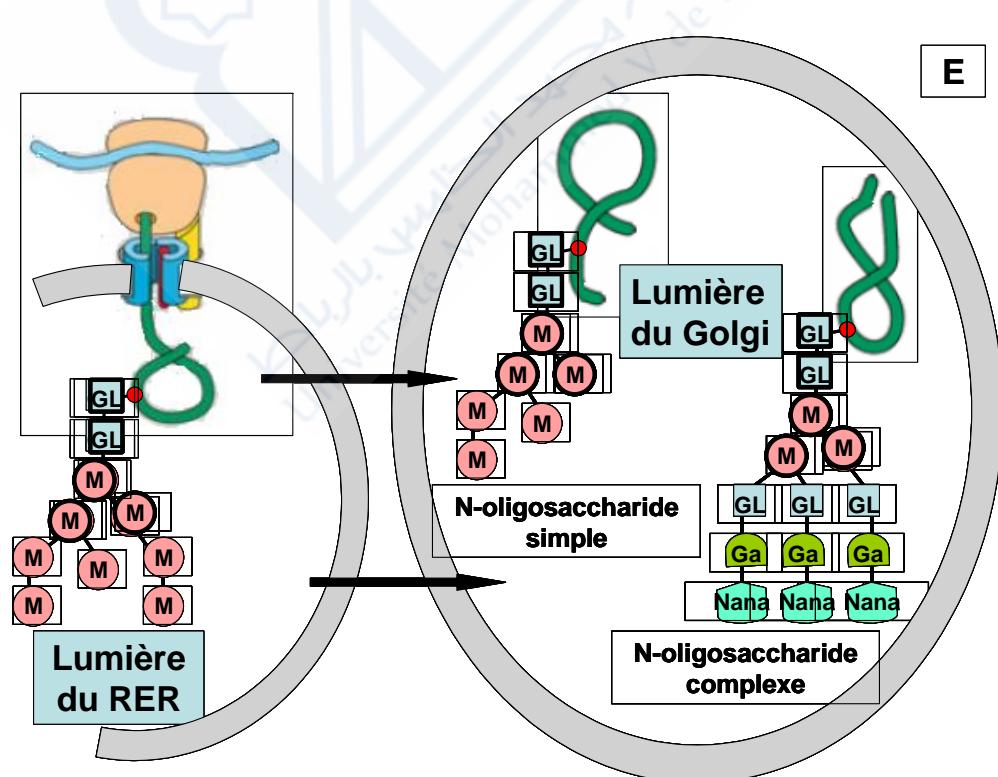
protéine

Glycoprotéine

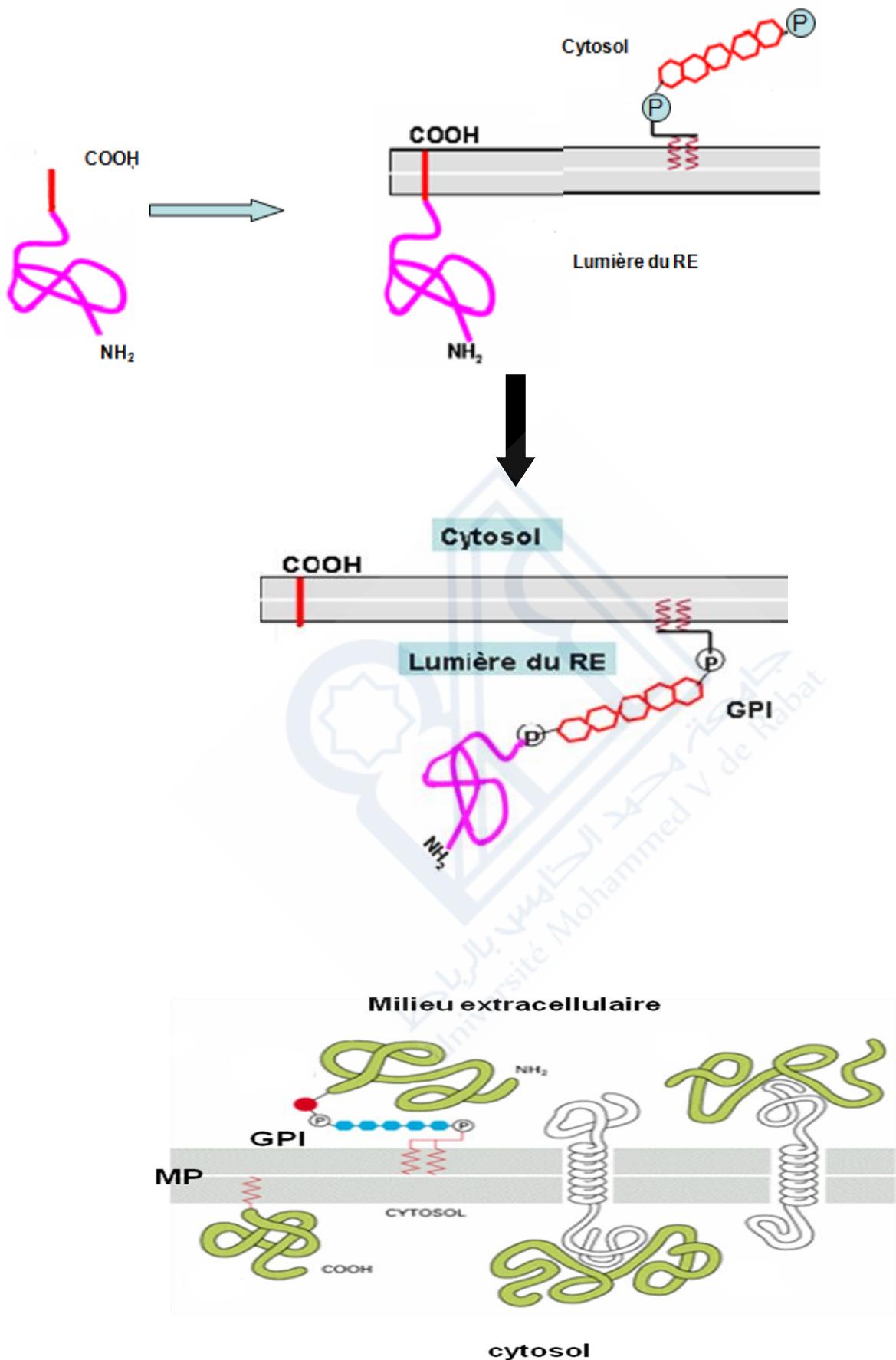
La N-glycosylation



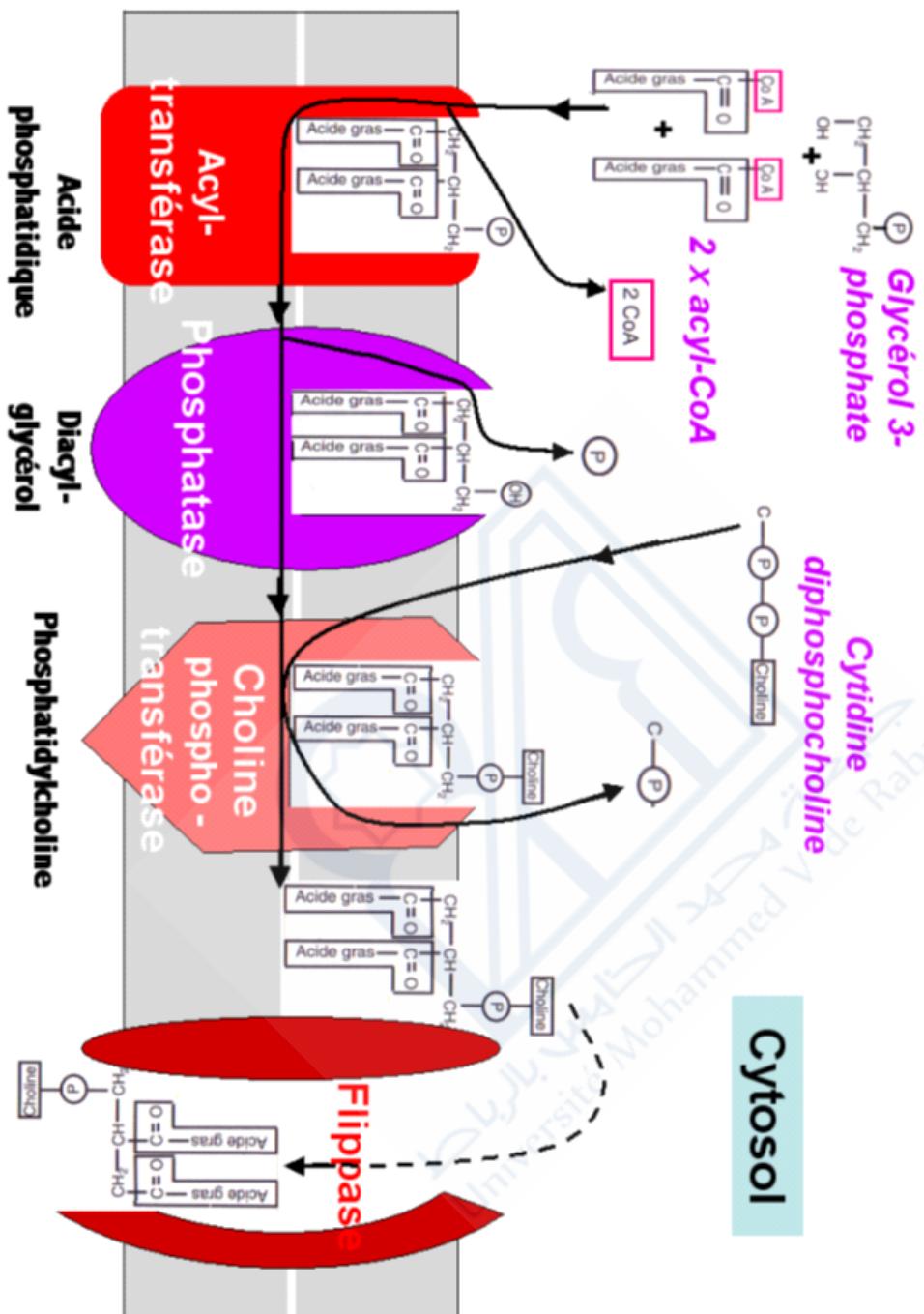
B**C**

D**E**

Glycoprotéines liées au GPI



Synthèse de la phosphatidylcholine

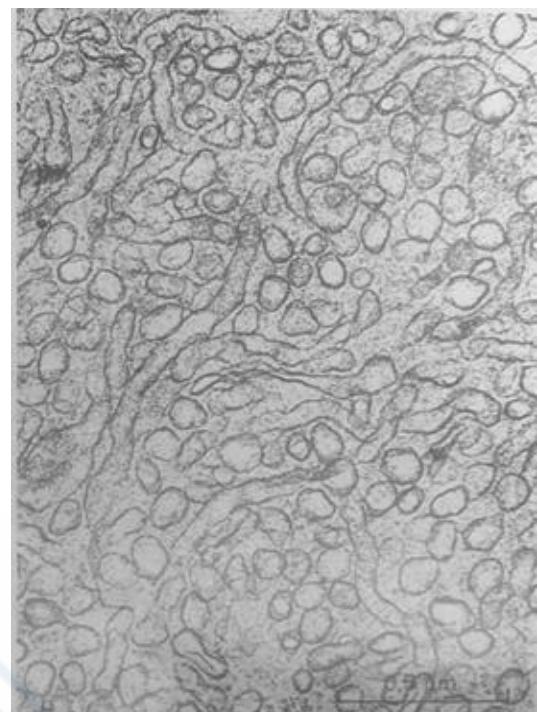
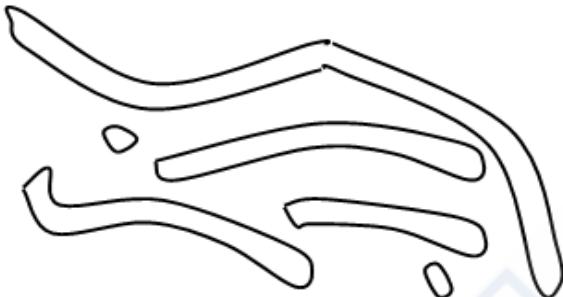


Le reticulum endoplasmique lisse

REL

Représentation schématique en MET

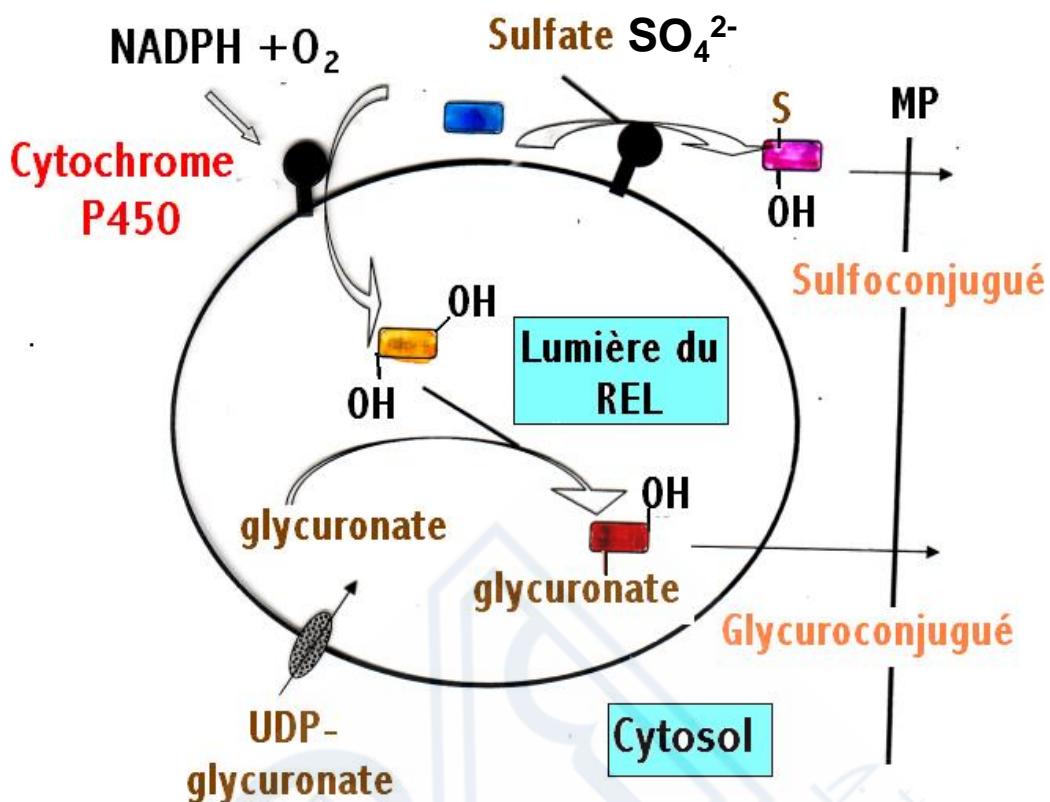
Canalicules et vésicules



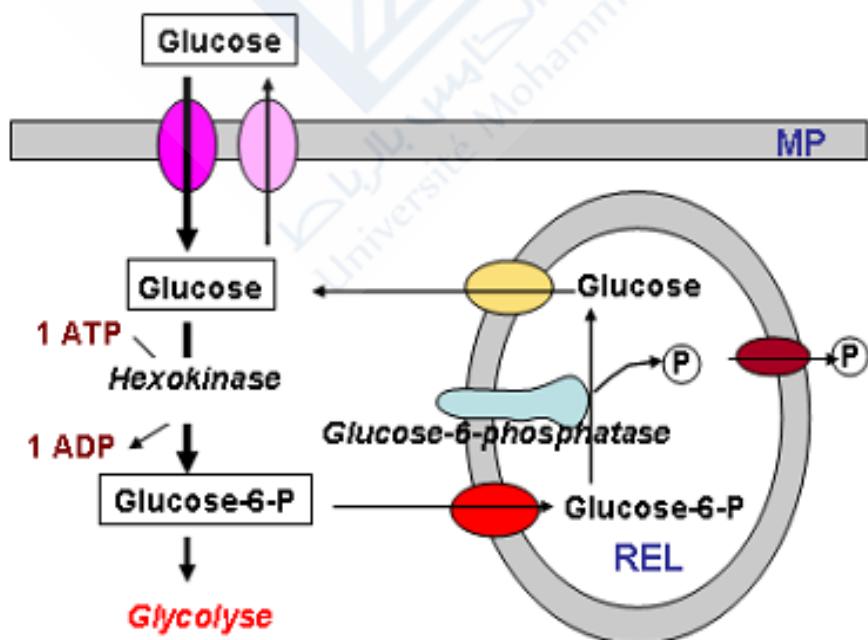
RER et REL



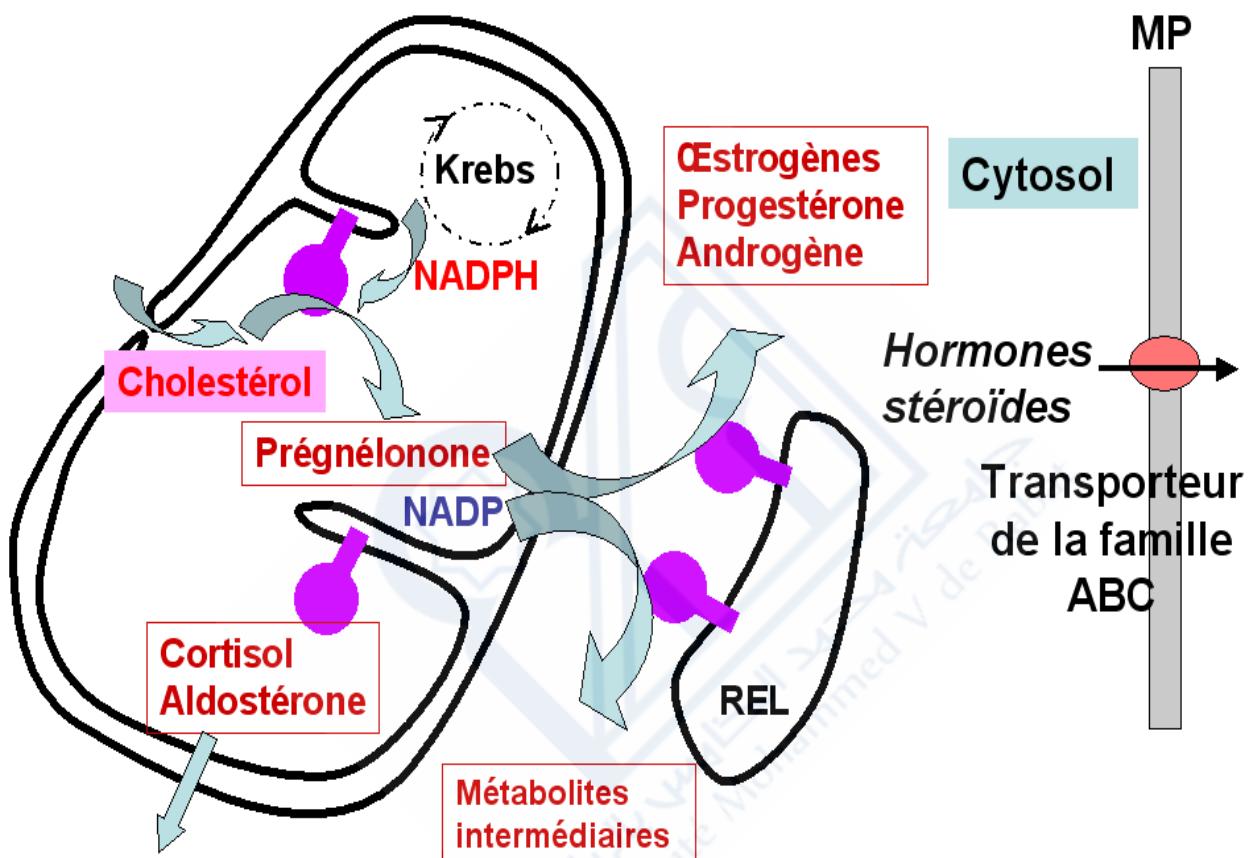
REL. Détoxification



REL. Métabolisme du glucose



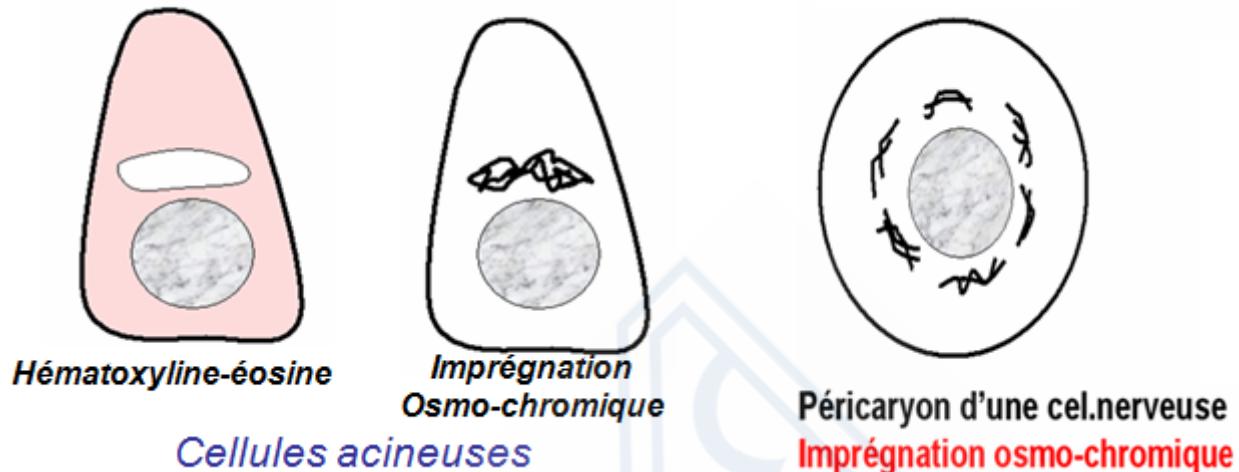
Synthèse de stéroïdes. Coopération REL-mitochondrie



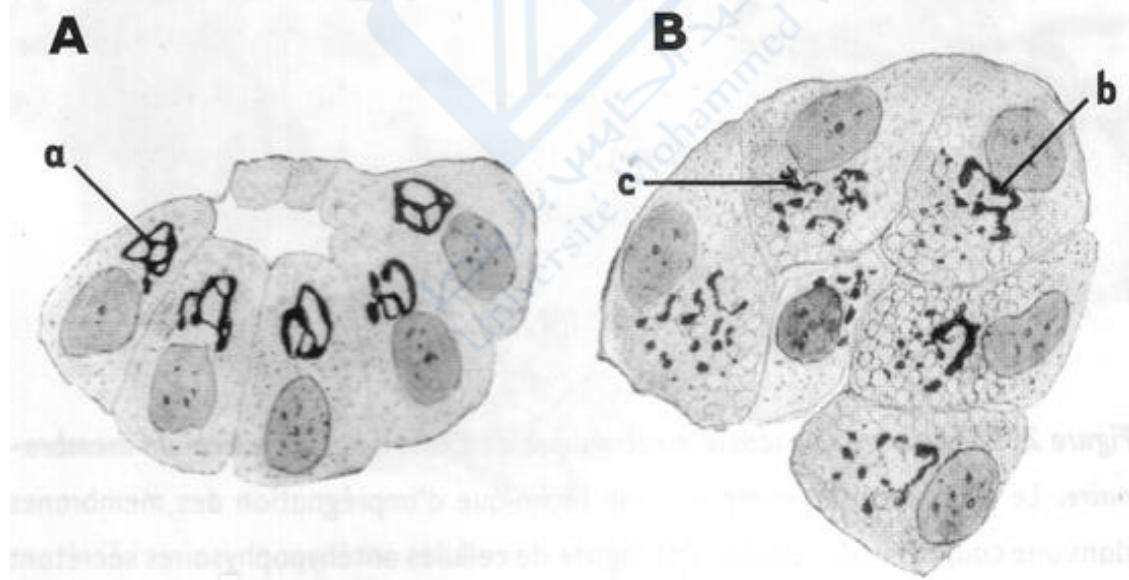
L'appareil de Golgi

AG

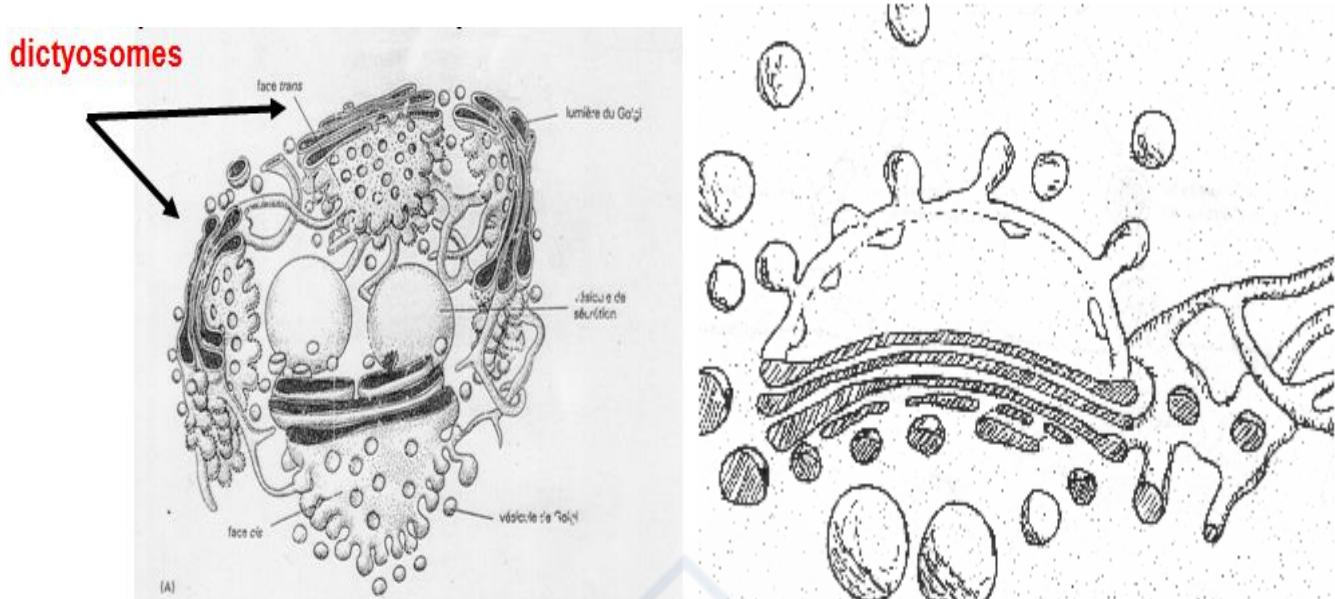
Schémas en MO



AG observé en MO dans des cellules acineuse de pancréas de jeune lapin. (A)cellules pauvres et (B) cellules riches en grains de zymogène. Dessin de Cajal (1914)

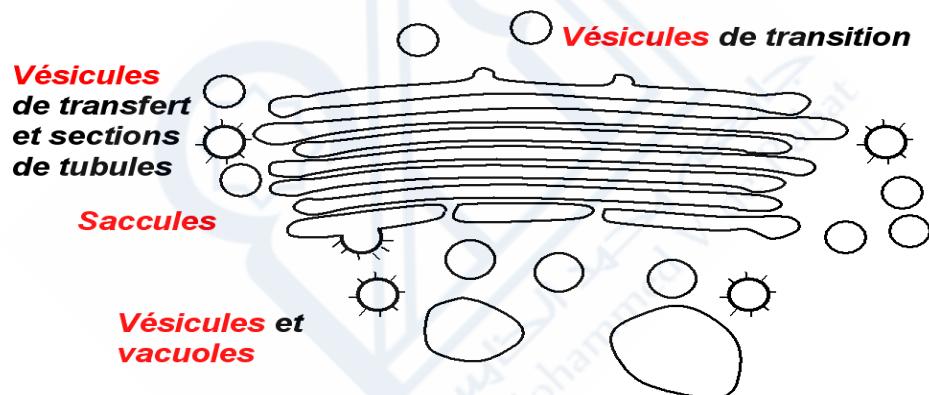


Représentation schématique tridimensionnelle



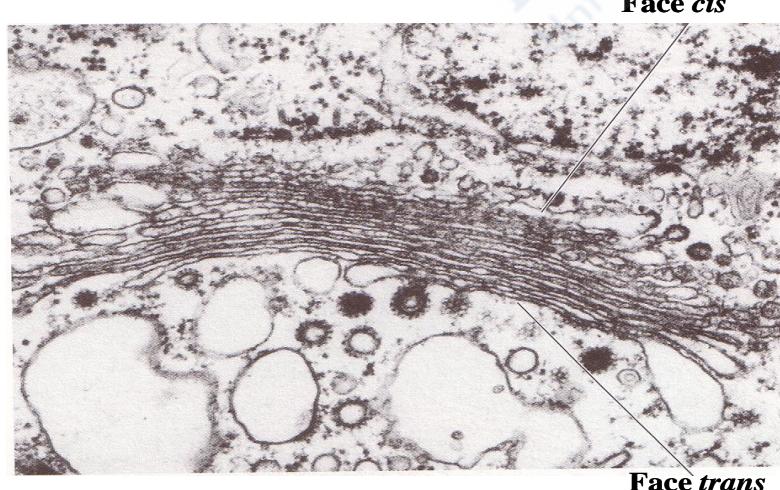
MET. Représentation schématique

Face cis / de formation



Face trans / de maturation

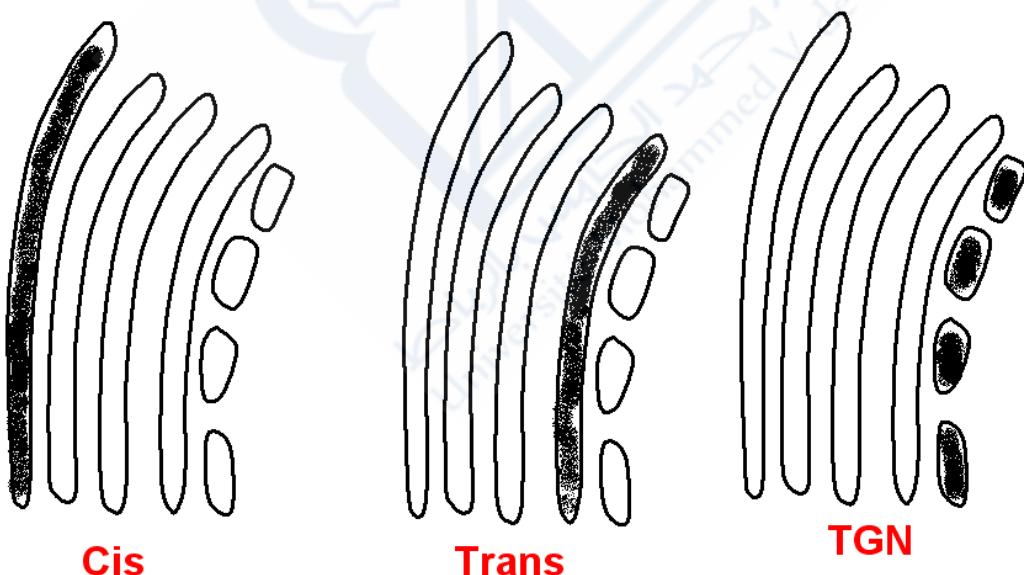
MET



Cytochimie et cytoenzymologie sur coupes minces

	<i>Cis</i>	<i>Méedian</i>	<i>Trans</i>	<i>TGN</i>
Réduction à l'osmium	+			
Phosphate transférase	+			
Mannosidase		+		
N-acétyl glucosamine transférase		+		
Galactosyl transférase			+	
Nucléoside-diphosphatase			+	
Phosphatase acide				+

Cytochimie et cytoenzymologie de dictyosomes

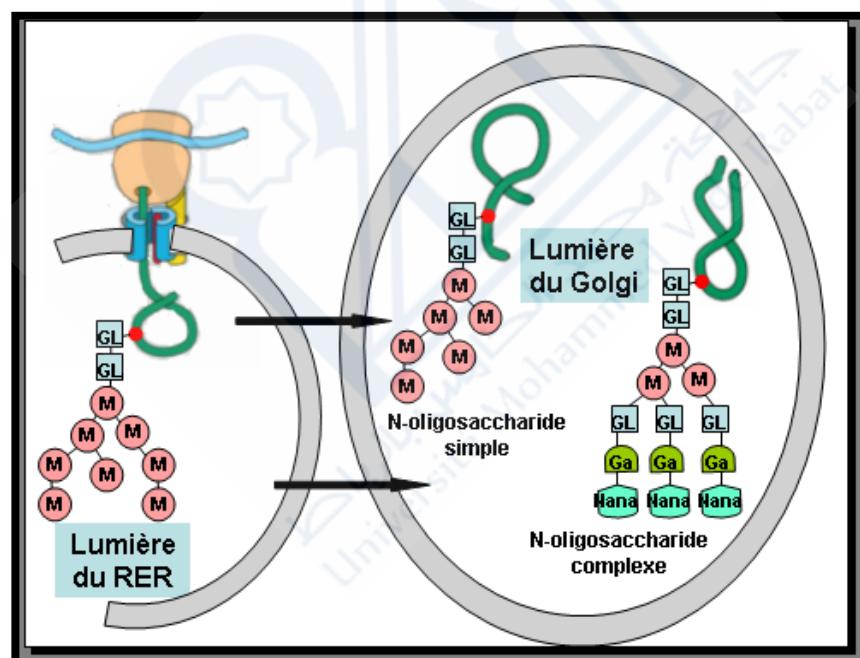
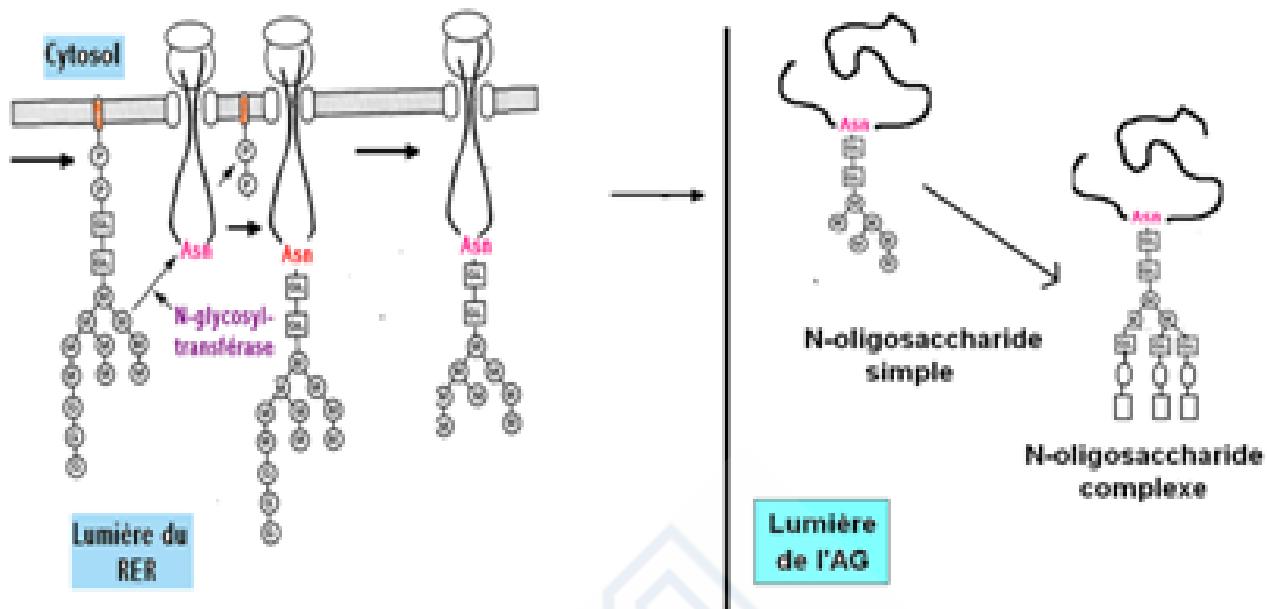


Réduction à l'osmium

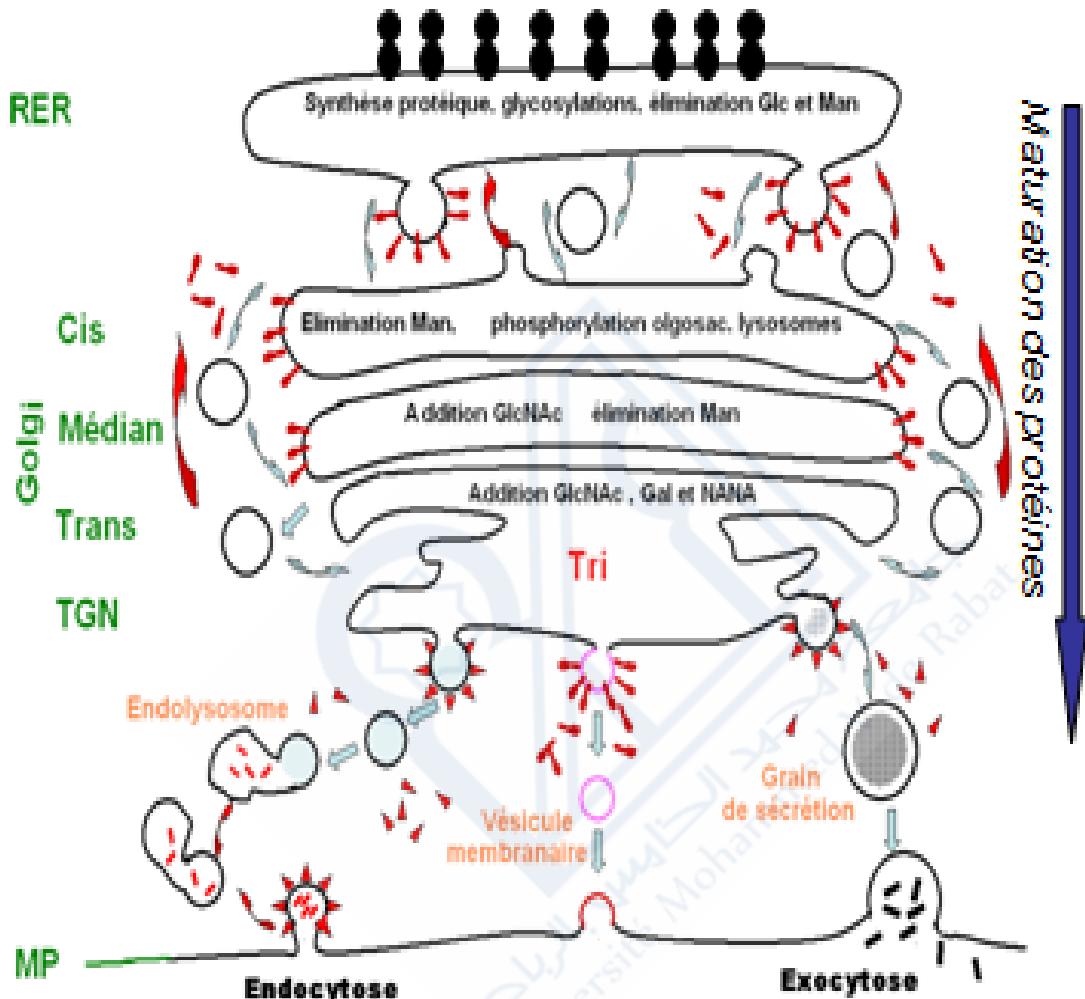
Nucléoside-diphosphatase

Phosphatase acide

Modification des oligosaccharides N - liés



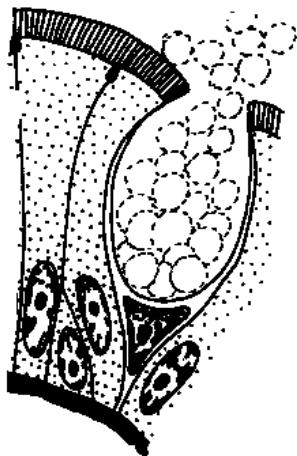
AG: modifications, transport et tri des protéines



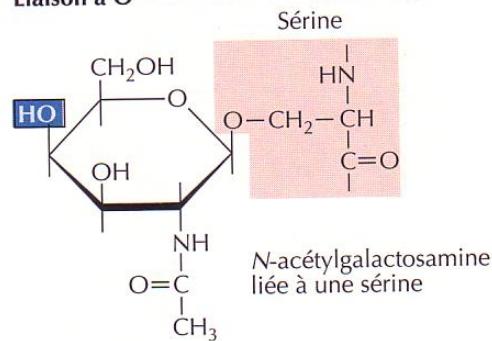
O-glycosylation de protéines

Sucre O-lié à une sérine

Représentation schématique d'une cellule caliciforme

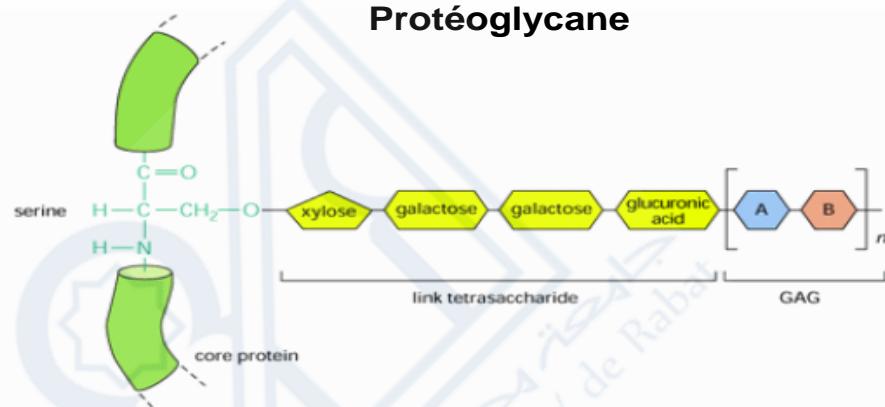


Liaison à O

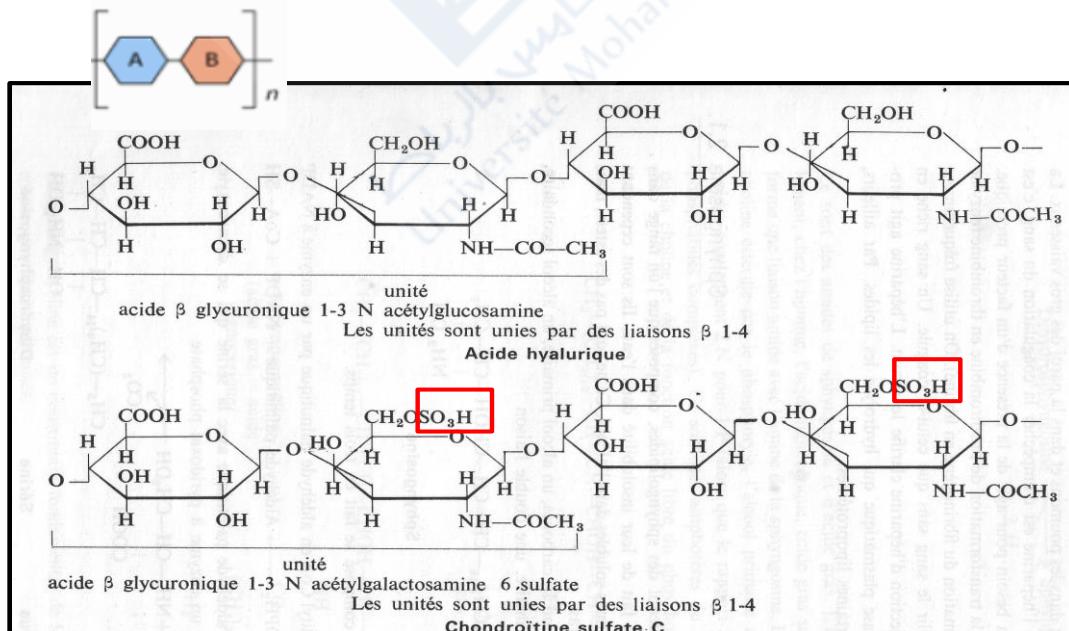


Polysaccharide O-lié

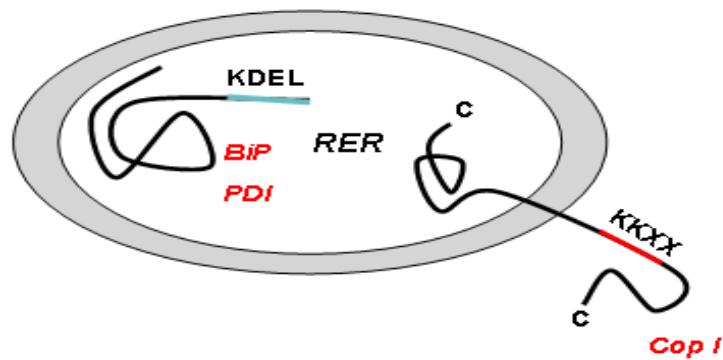
Protéoglycane



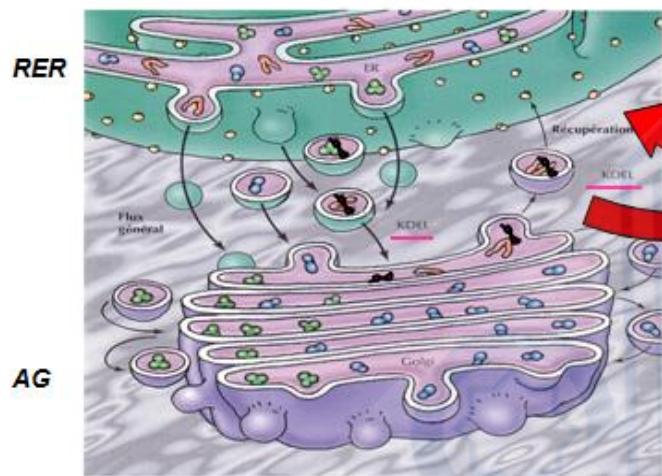
Glycosaminoglycans



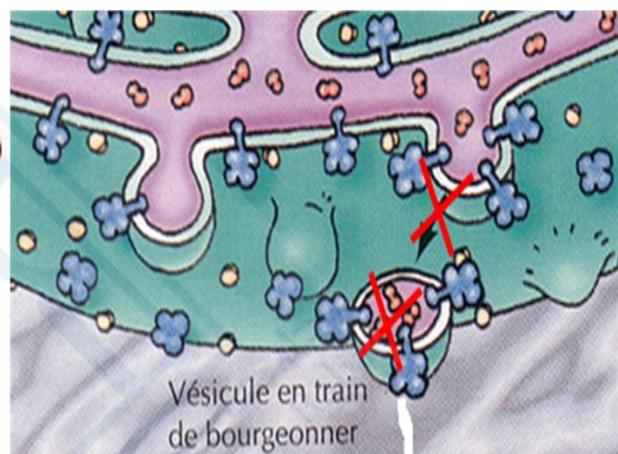
Signaux de rétention



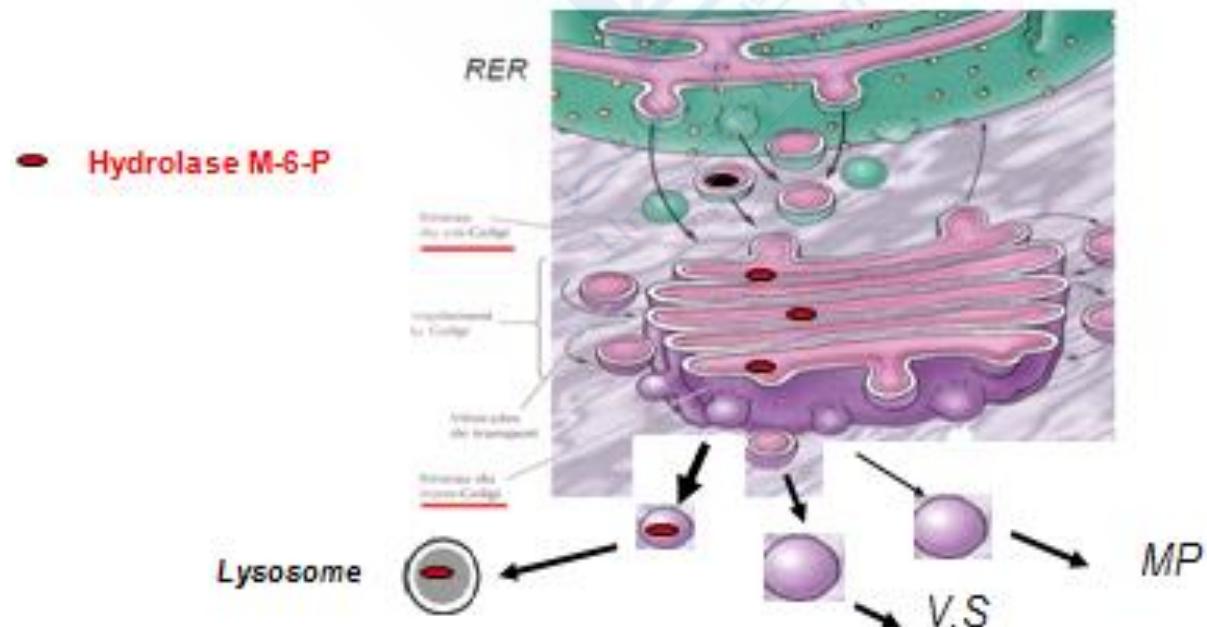
KDEL provoque flux en retour



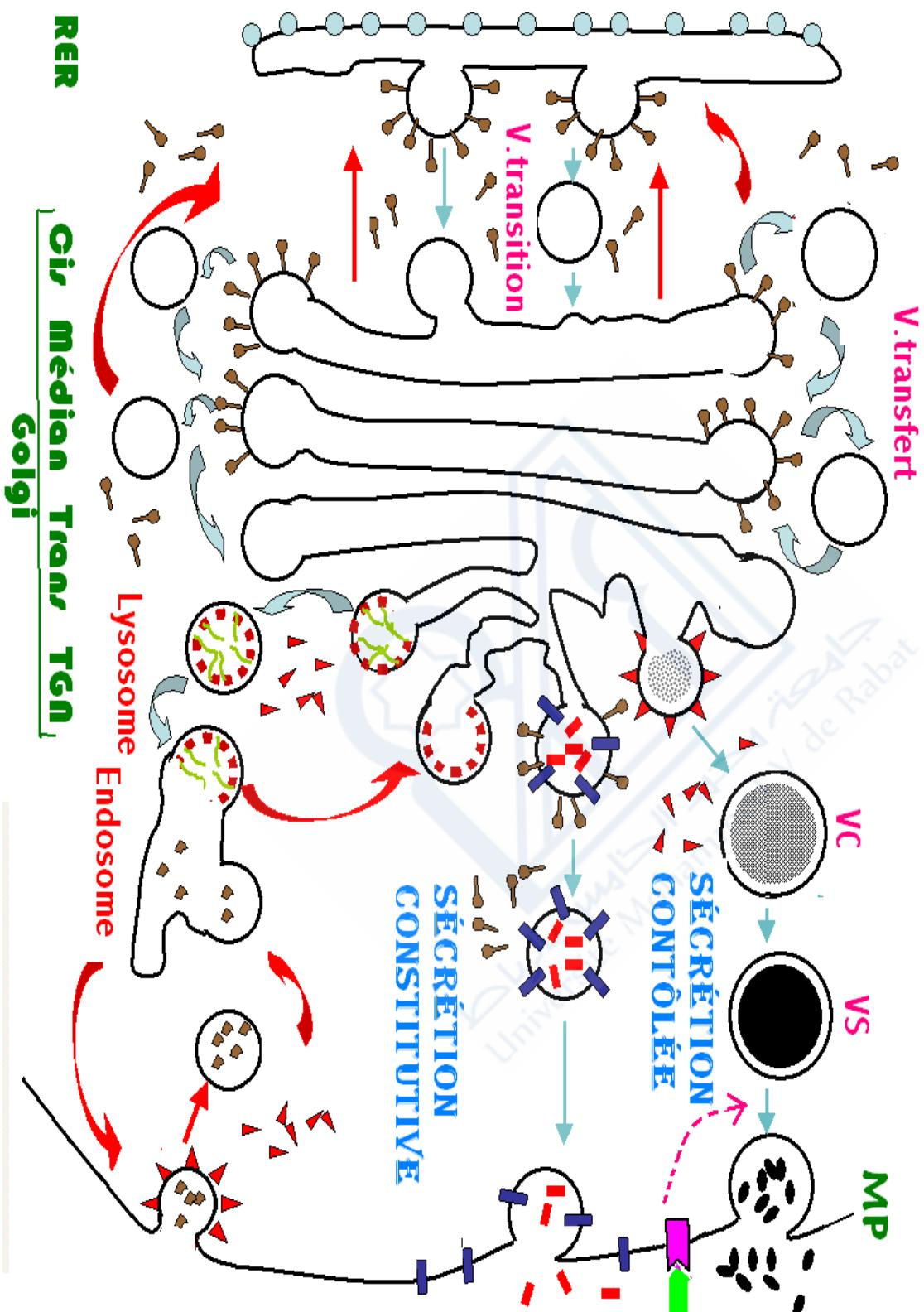
KKXX empêche la vésicularisation



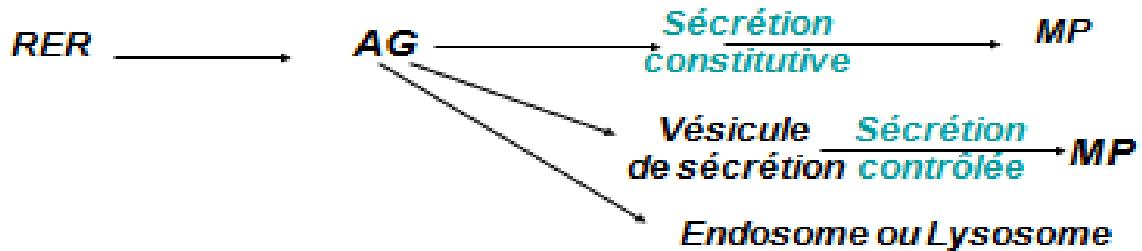
Signaux d'adressage aux lysosomes



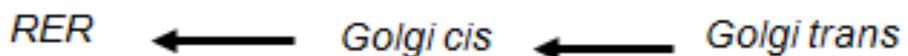
Transport de protéines et flux membranaires



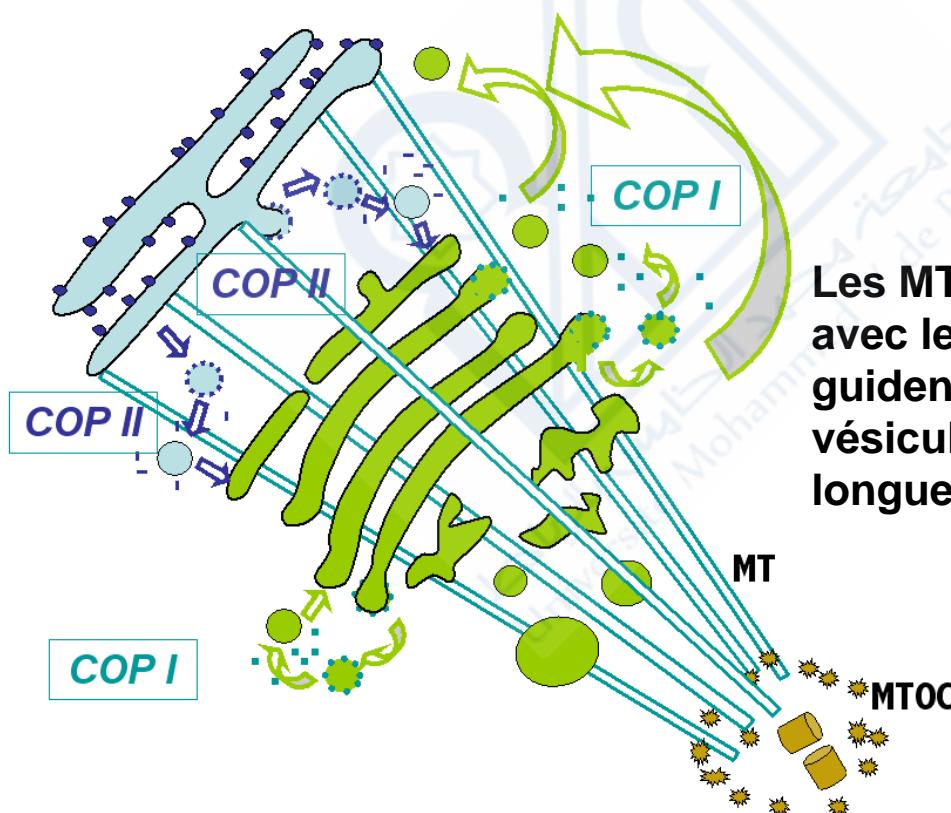
Flux vectoriels centrifuges ou antérogrades



Flux rétrogrades

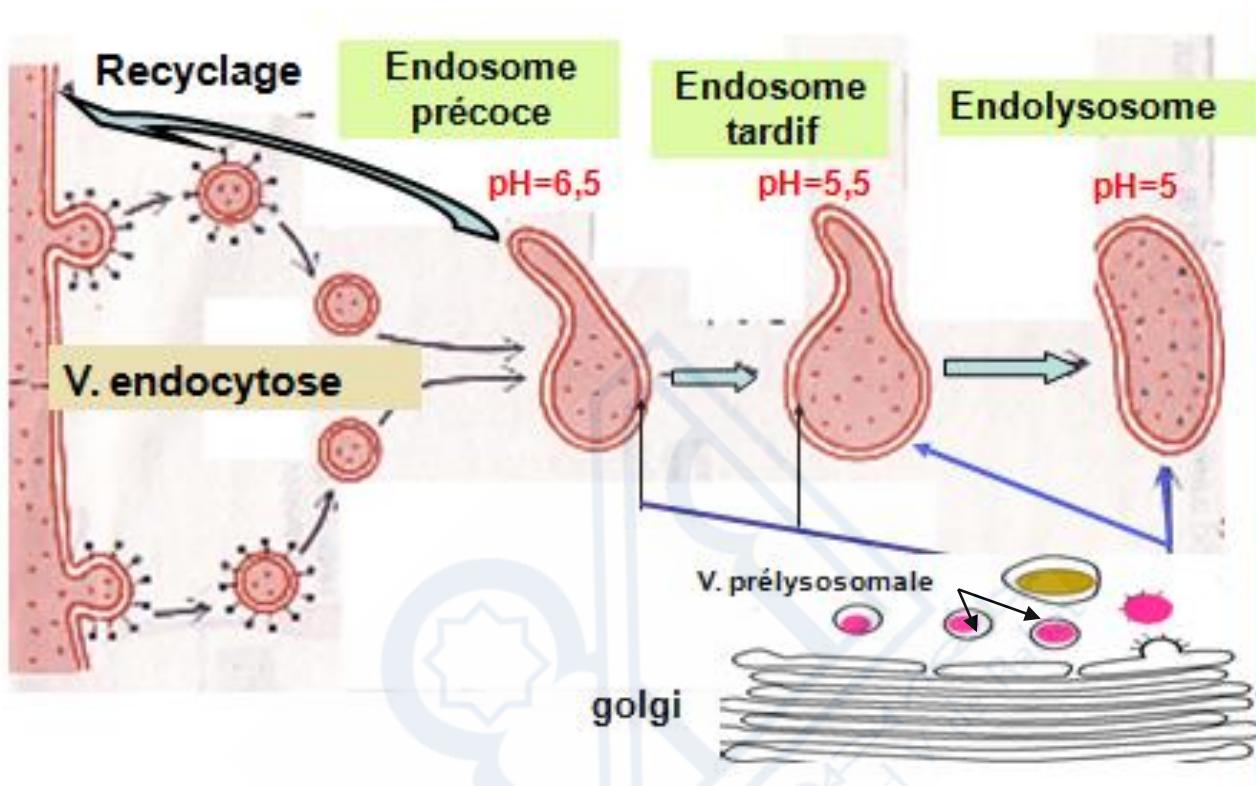


Flux membranaires entre RE et AG

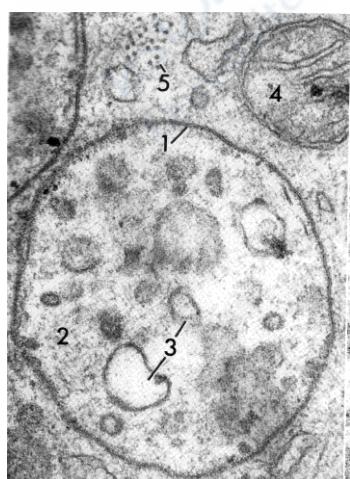


Les MT en relation avec le MTOC, guident les vésicules sur de longues distances

Les endosomes

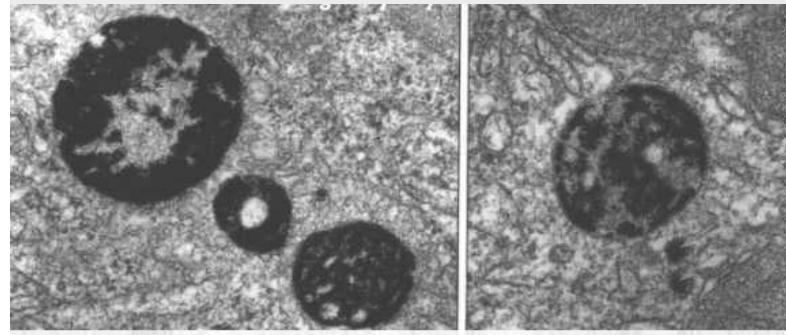


Corps multivésiculaire

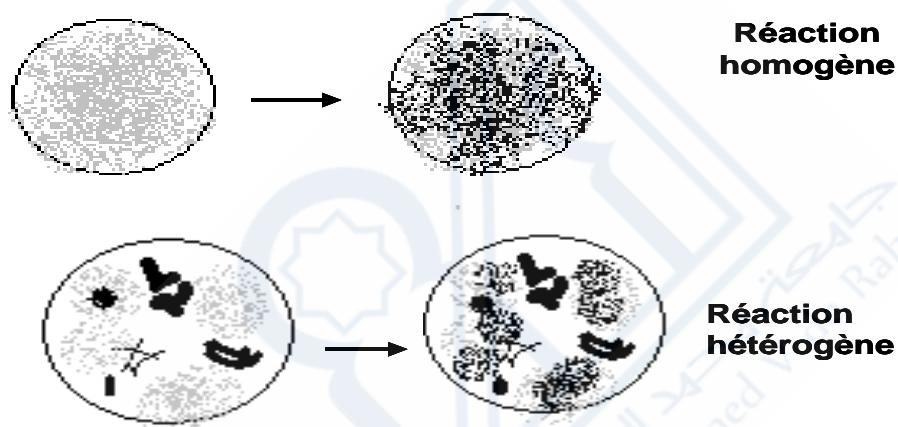


Les lysosomes

MET. Hétérogénéité des lysosomes

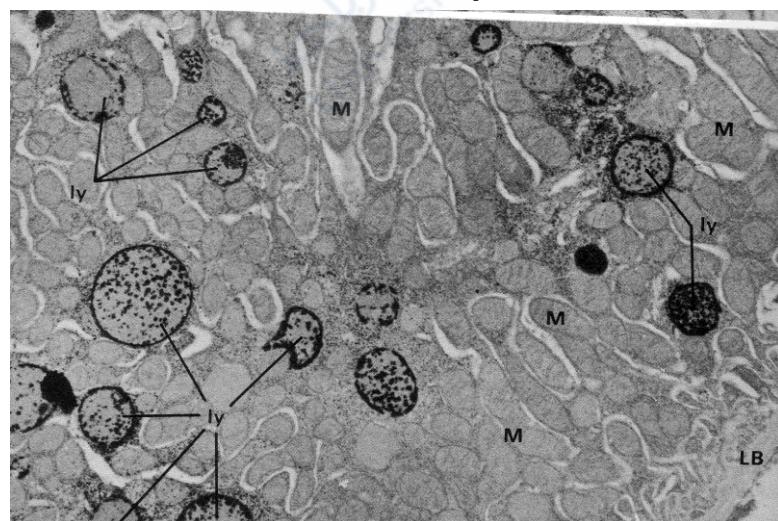


Réaction à la phosphatase acide

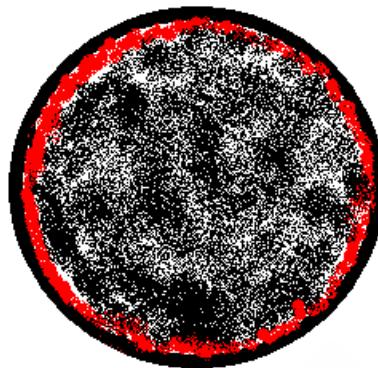


Activité phosphatase

MET. Cellule de tube proximal rénal

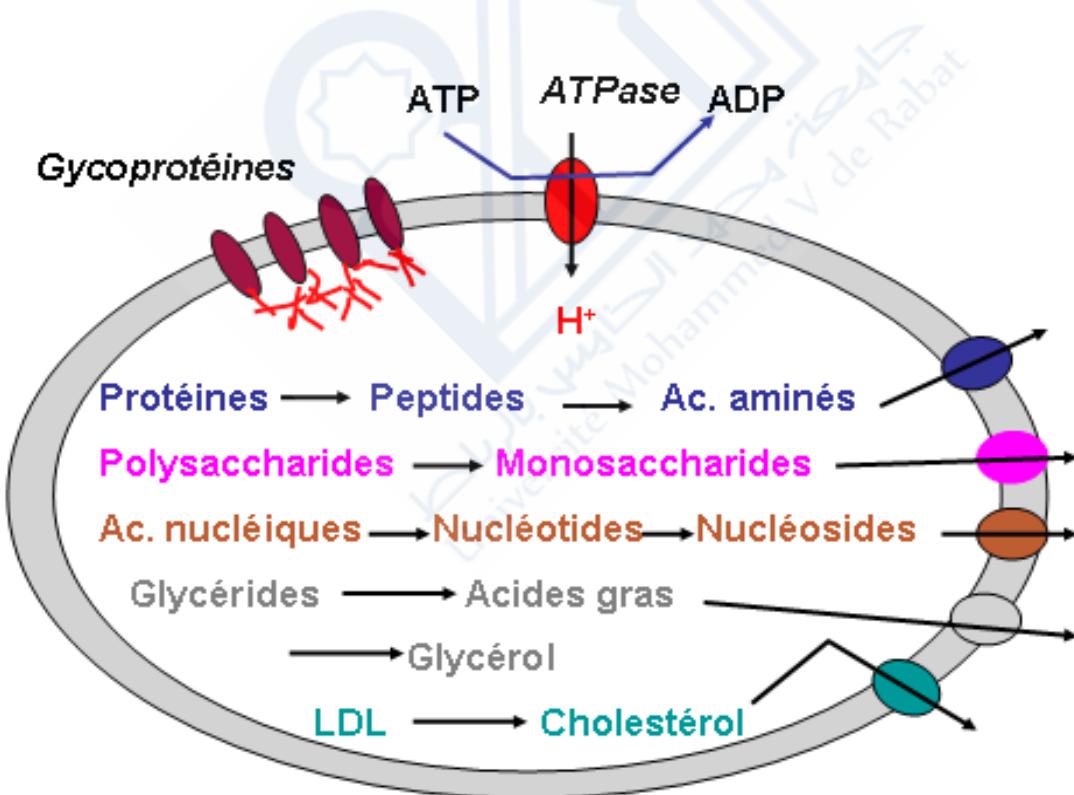


Les oligosaccharides des glycoprotéines de la membrane du lysosome forment une véritable couche périphérique protectrice contre le pH acide et les hydrolases



Le lysosome

Structure schématique de la membrane. Substrats dans la matrice



Modes de formation des lysosomes

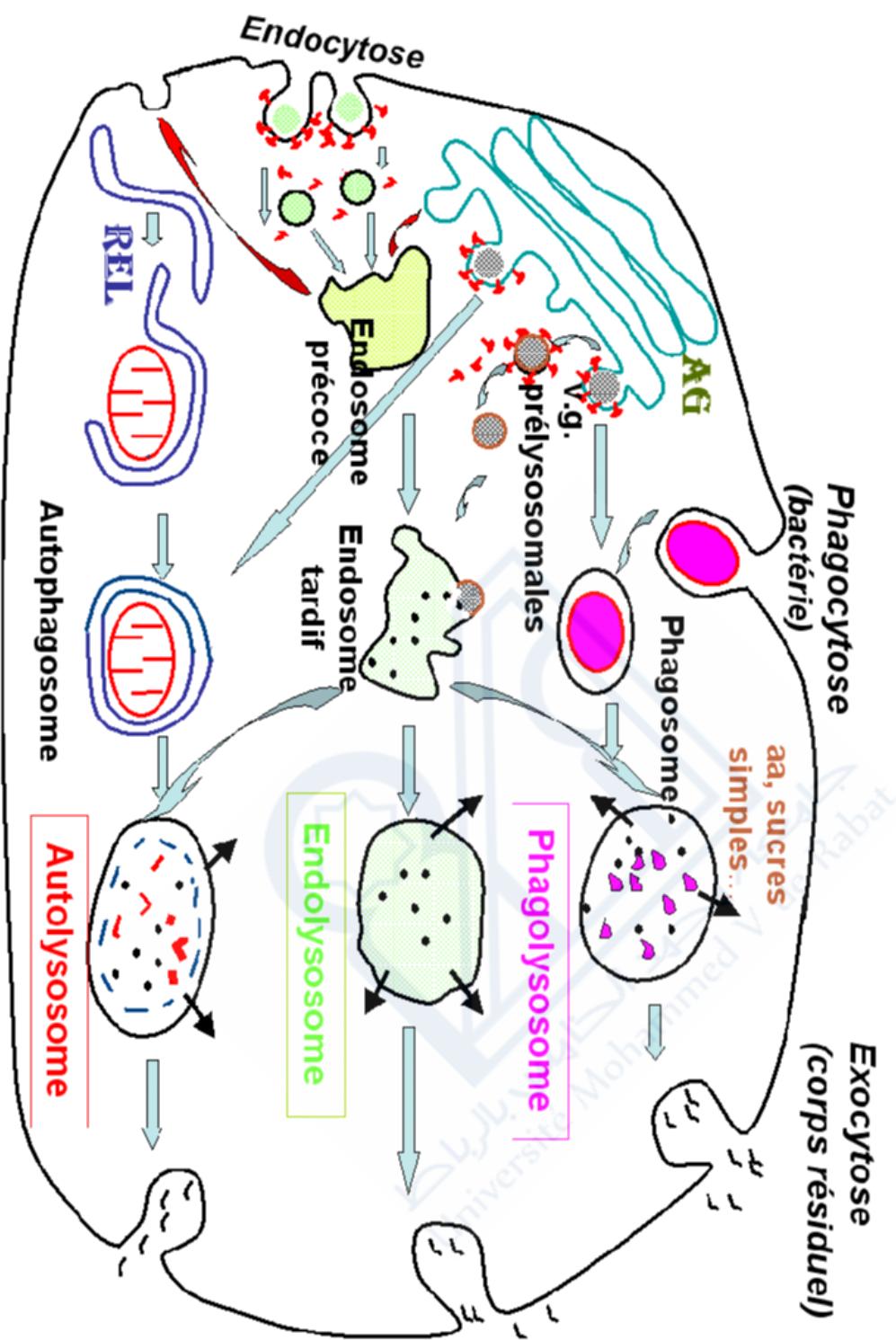
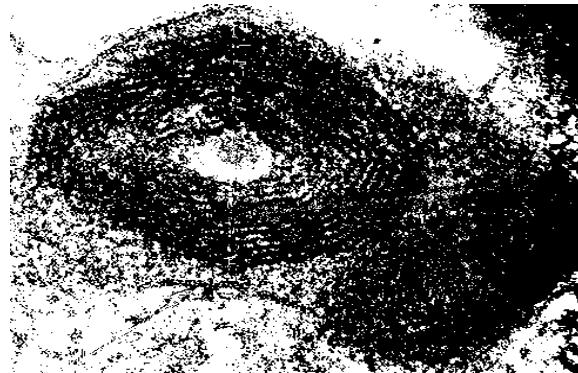


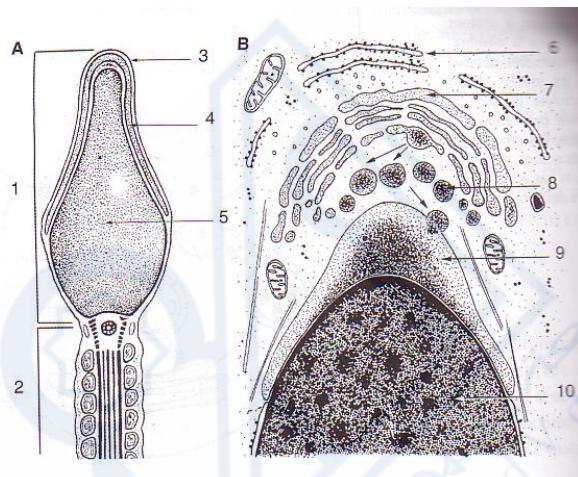
Figure myélinique

MET

Schéma



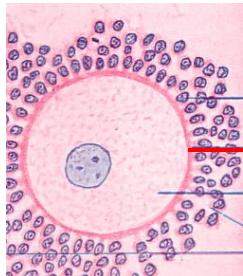
Formation de l'acrosome du spermatozoïde



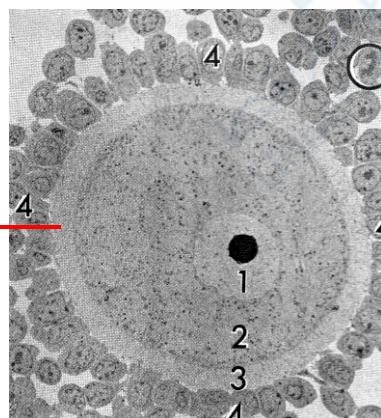
Ovocyte entouré par la corona radiata

MET

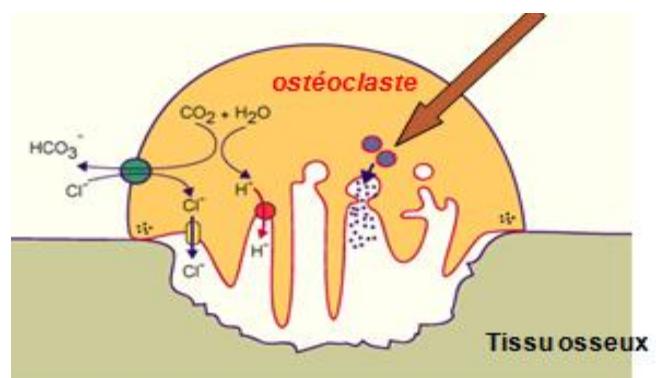
Schéma au MO



Zone pellucide



La résorption osseuse

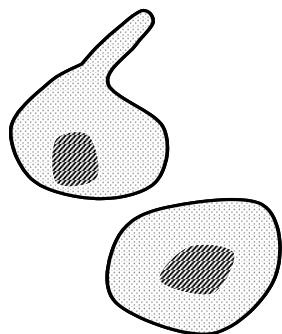


Lysosomes : les maladies de surcharge

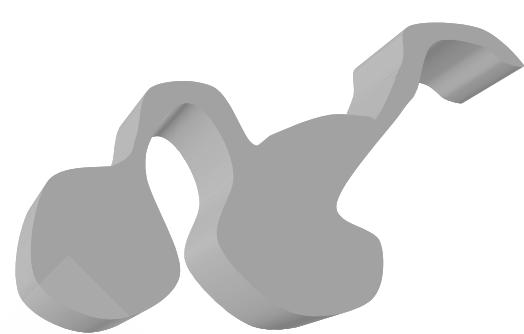
Thésaurismoses génétiques	Substance chimique accumulée	Enzyme absente
Maladie de POMPE (Glycogénose généralisée)	<p>Glycogène</p>	α -1-4- Glucosidase
M. de NIEMANN-PICK (Sphingomyélinose)	<p>Sphingomyéline</p>	Sphingomyélinase
M. de GAUCHER (Glucocérébrosidose)	<p>Glucocérébroside.</p>	B - Glucocérébrosidase
M. de FABBRY (Triglycosylcéramidose)	<p>Céramide trihexoside</p>	α - Galactosidase

Le peroxysome

Représentation schématique au MET

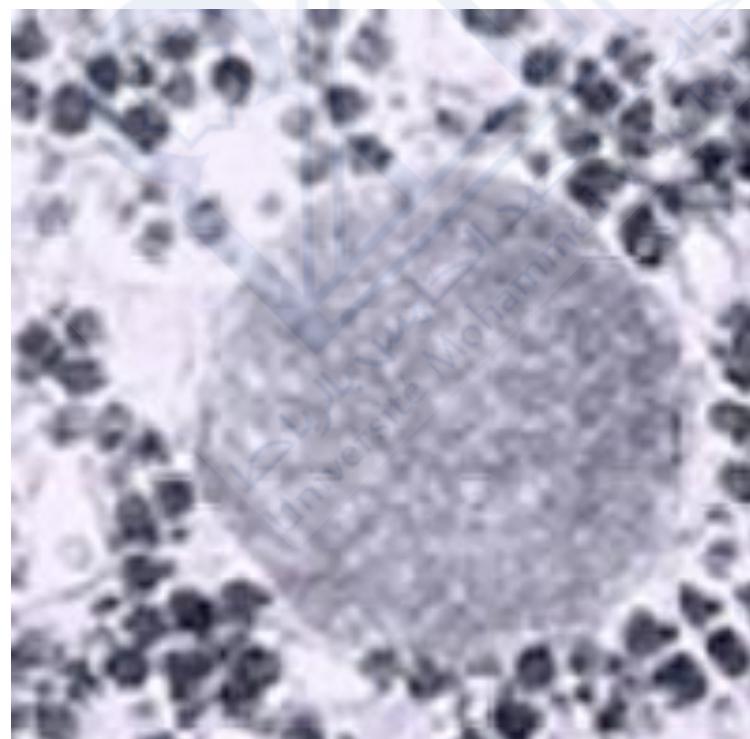


Coupe mince

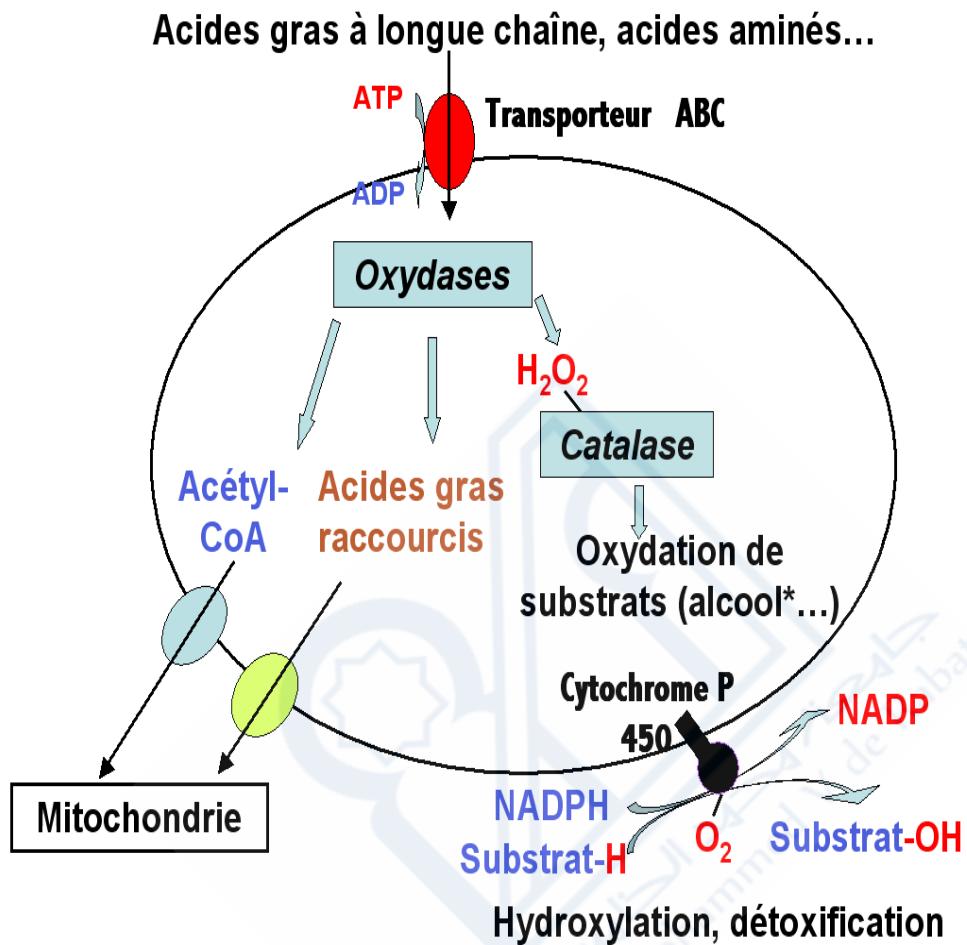


Reconstitution dans l'espace à partir de plusieurs coupes minces sériées

MET



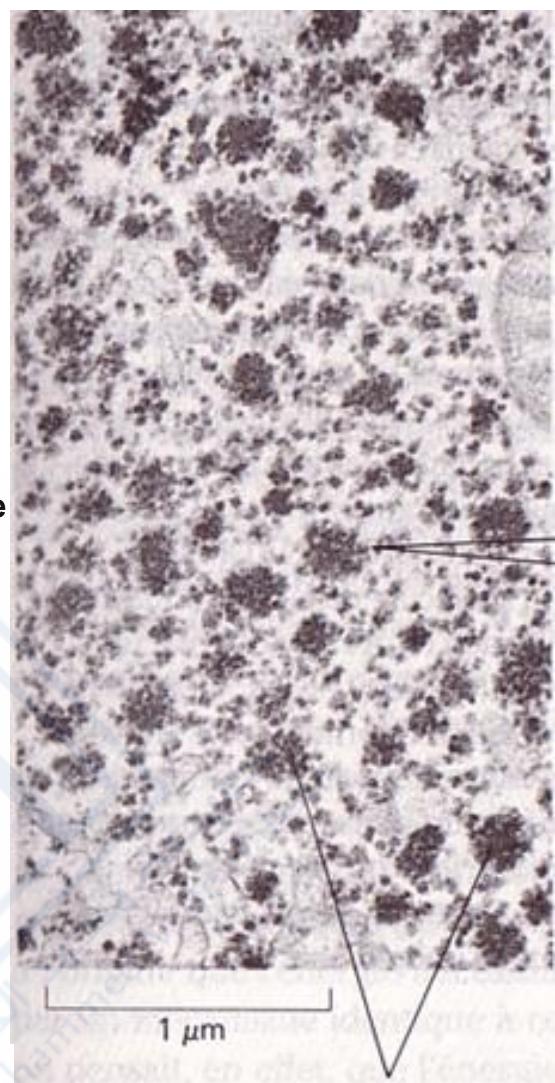
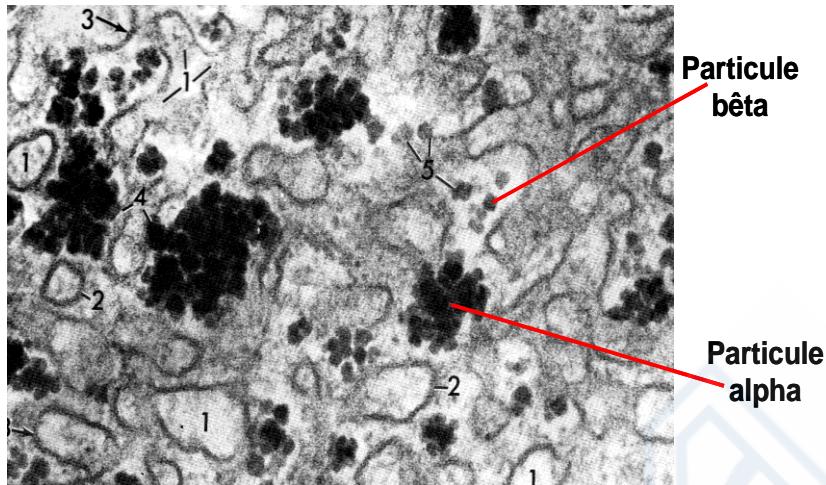
Les principales fonctions du peroxysome



Le compartiment cytosolique

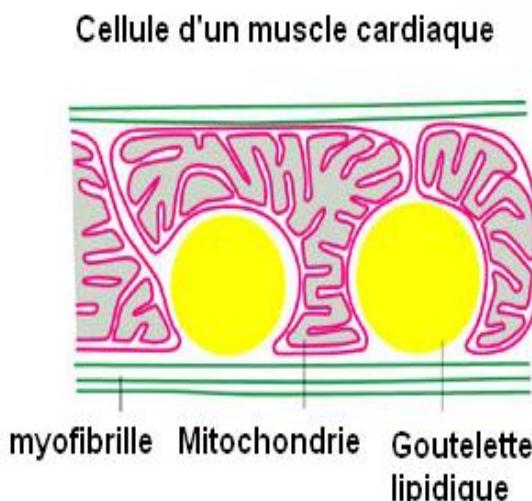
Particules de glycogène

MET. Fort grossissement. Cellule hépatique

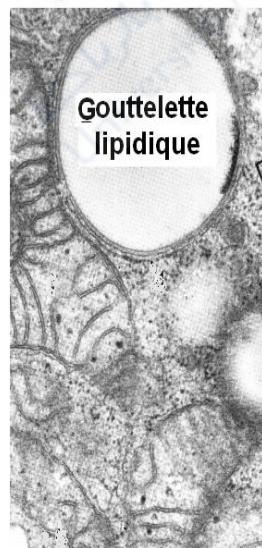


Gouttelettes lipidiques

Contact étroit avec les mitochondries



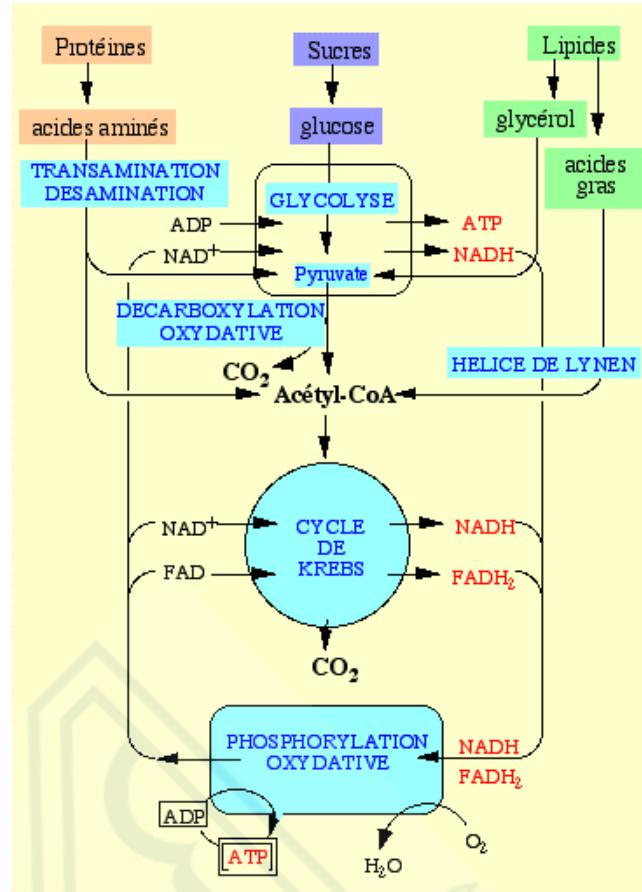
MET. Jeune cellule adipeuse



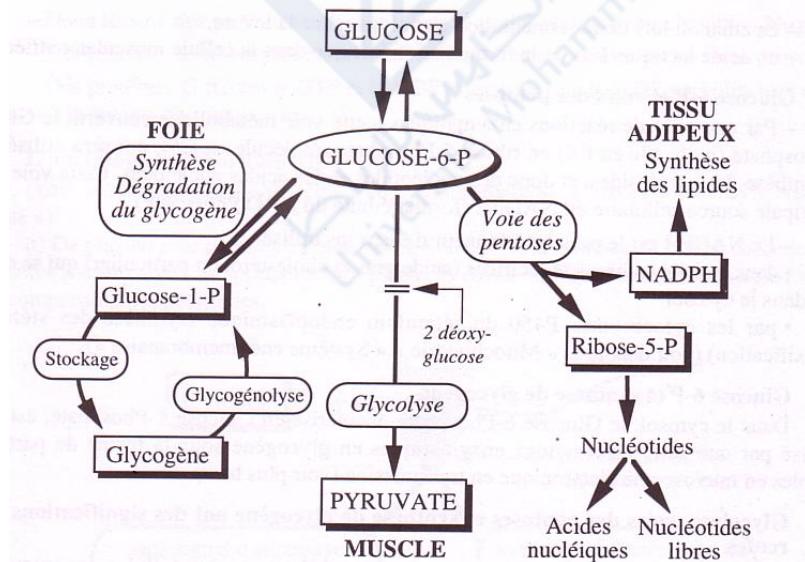
Granules de glycogène

Catabolisme

Les voies cataboliques aboutissent à des produits terminaux communs et conduisent à la synthèse d'ATP.

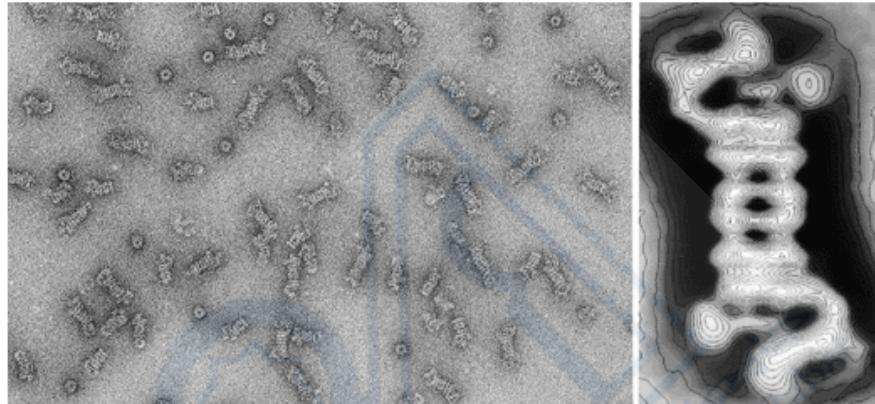
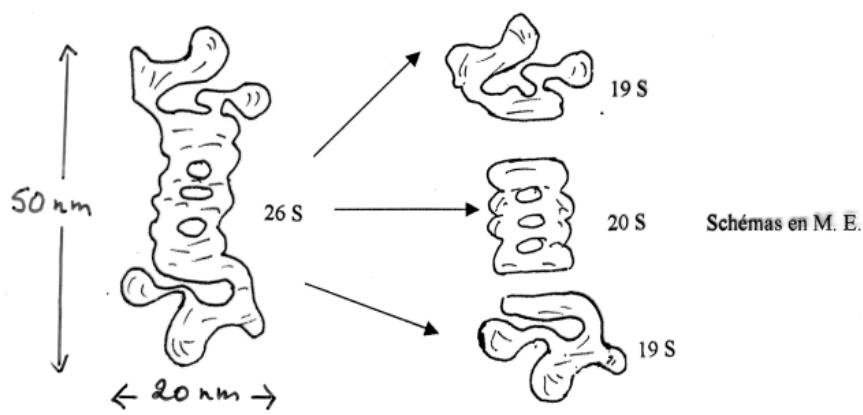


Les Trois voies du métabolisme du G-6-P est le carrefour obligatoire



Le protéasome

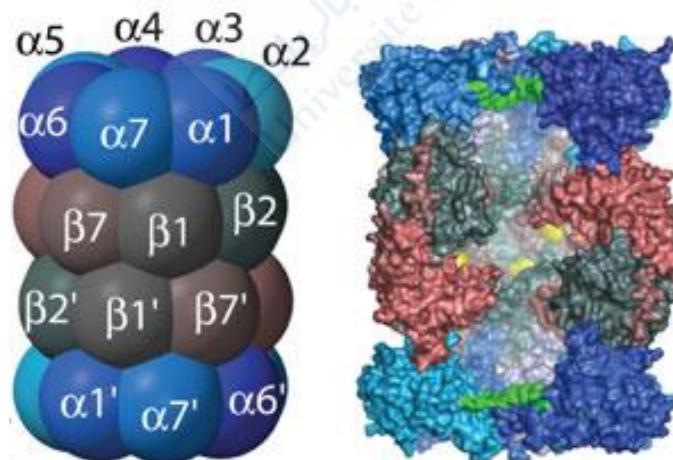
Schéma en MET



MET

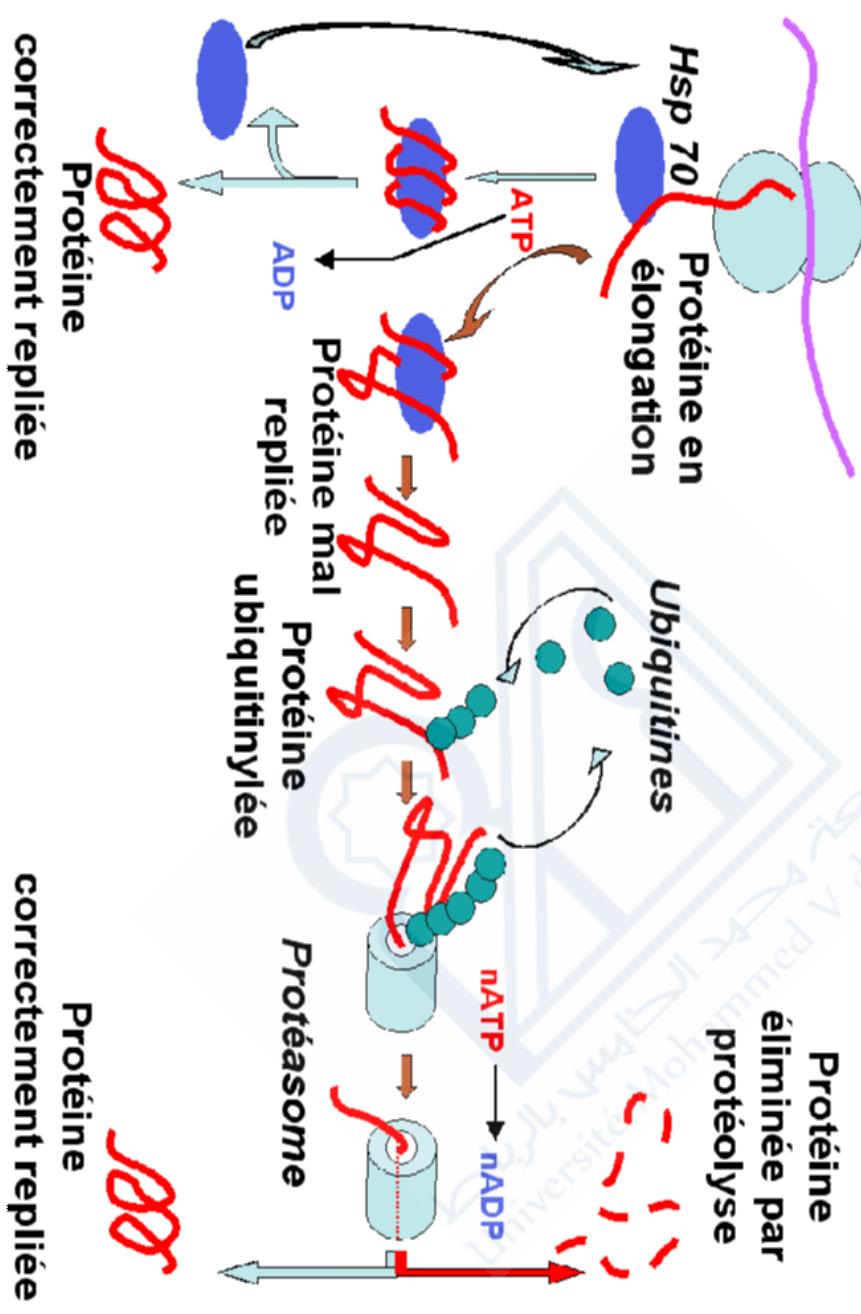
Reconstitution
d'un protéasome

Modèles moléculaires



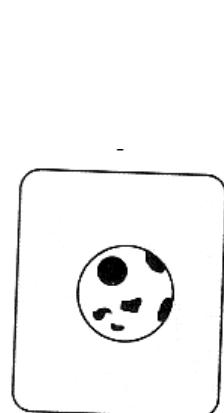
Fonction du protéasome

Intervention du protéasome sur une protéine mal repliée



Le noyau

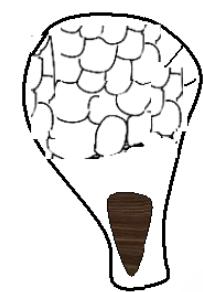
Différentes formes



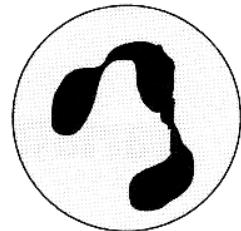
Sphérique



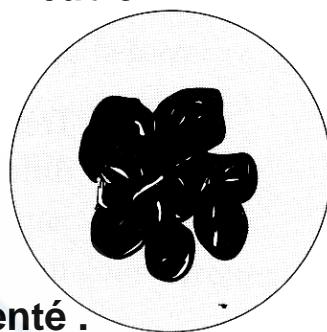
Ovoïde



Triangulaire
cellule caliciforme

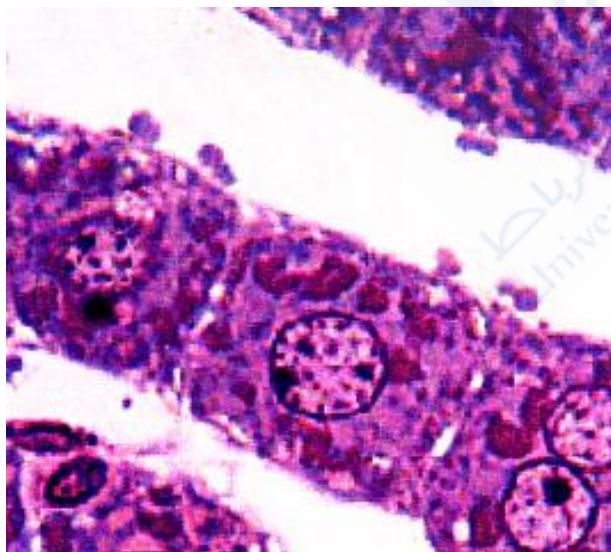


Polylobé.
Poly. neutro



Indenté .
bourgeonnant.
mégacaryocyte

MO. Différents formes

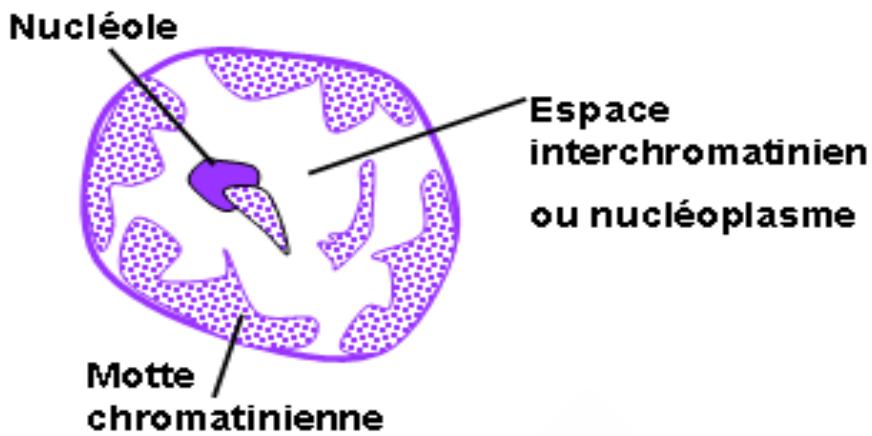


Hépatocytes



Entérocytes
et cellules caliciformes

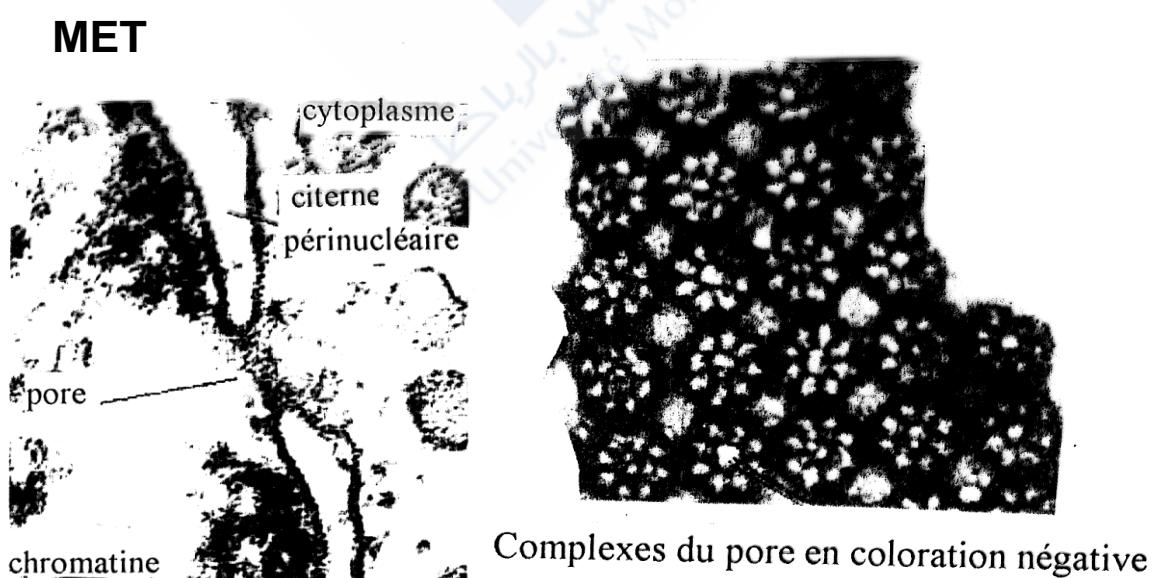
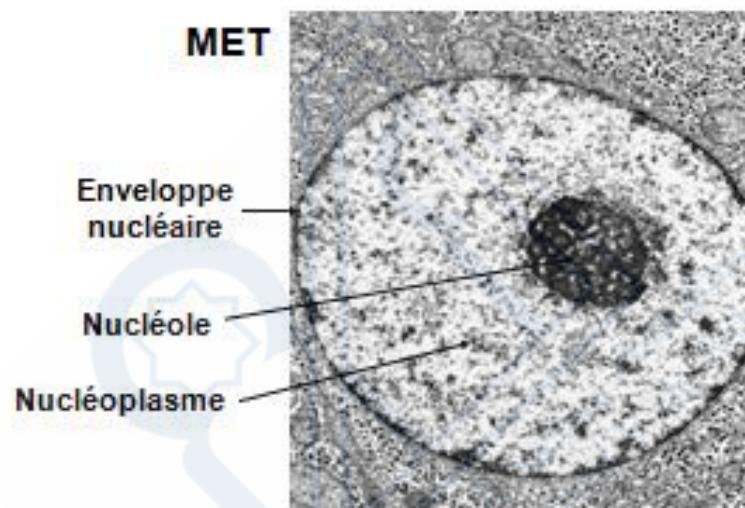
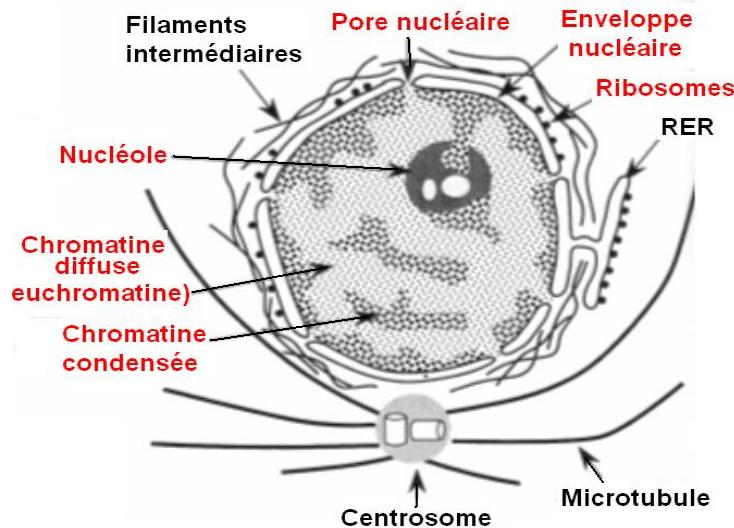
**MO. Structure. Représentation schématique.
Col. hématoxyline-éosine**



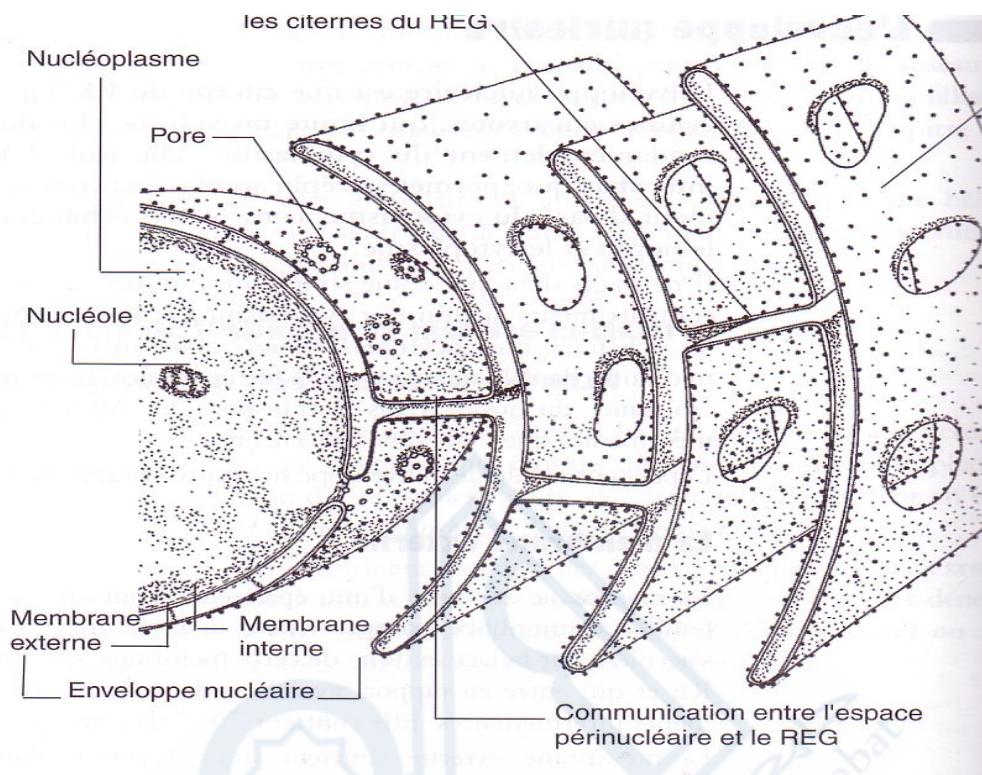
MO. Différents composants. Col. Bleu de toluidine



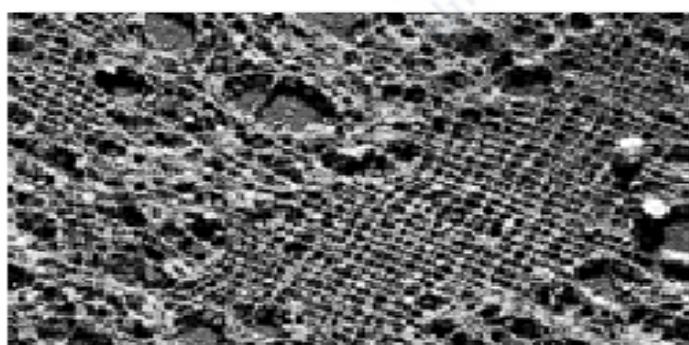
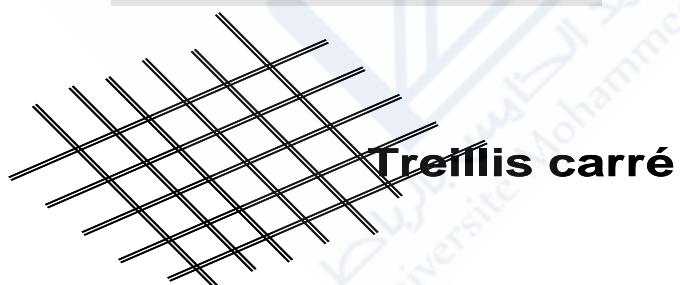
MET. Représentation schématique des différents composants



Continuité enveloppe nucléaire - RER



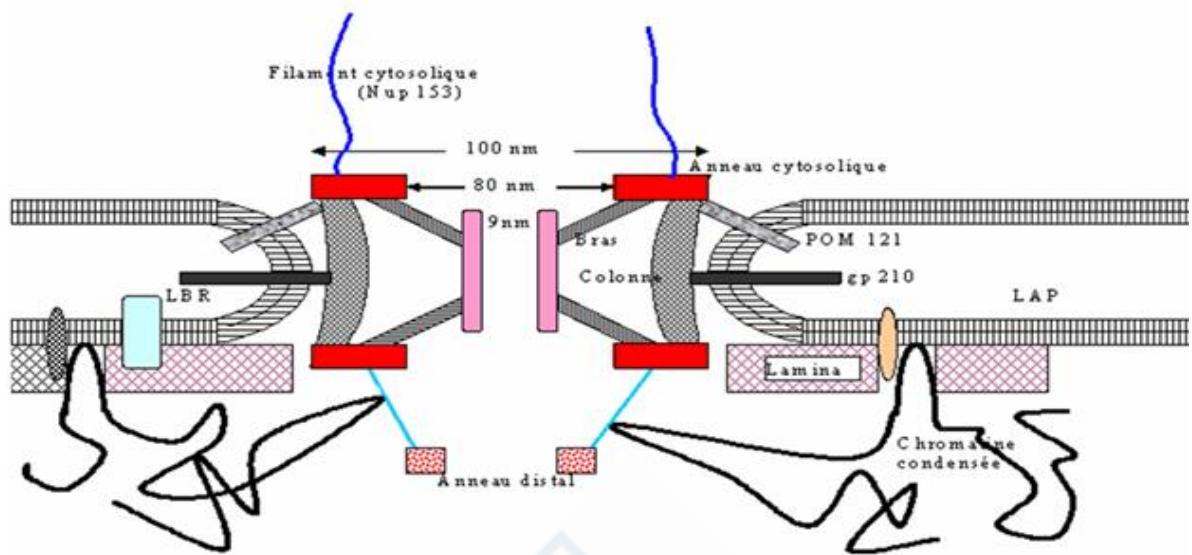
La lamina nucléaire



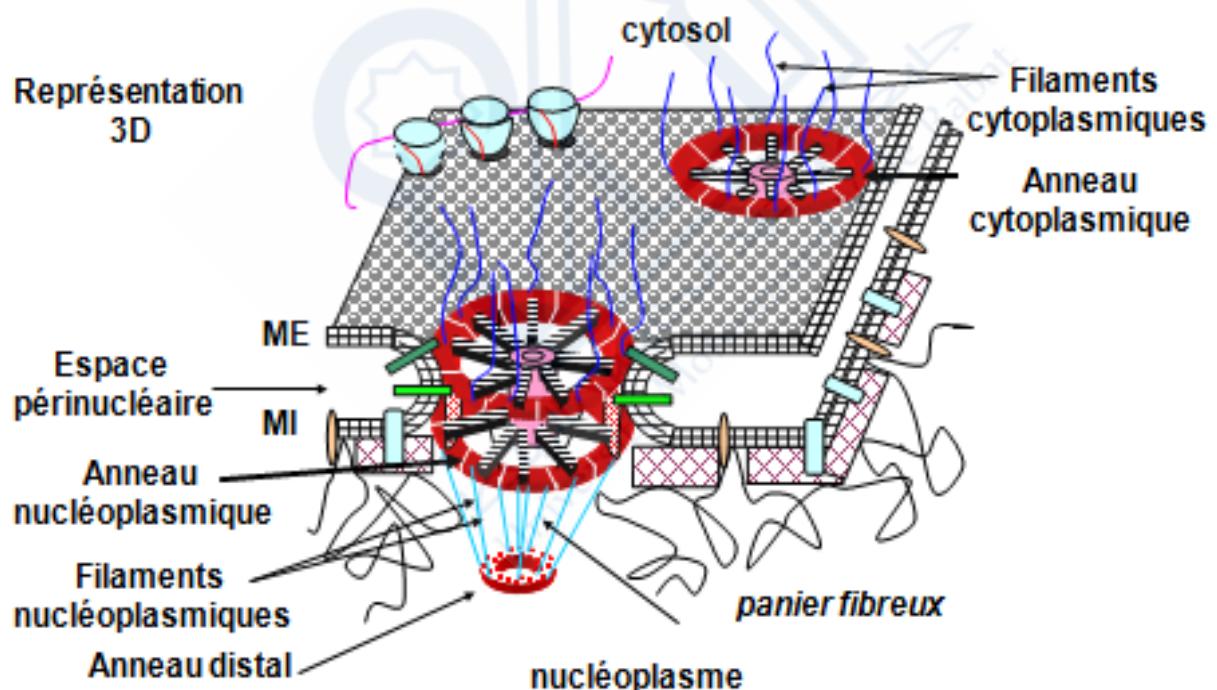
Lamina d 'ovocyte de grenouille préparée par cryodécapage

COMPLEXE DU PORE NUCLEAIRE

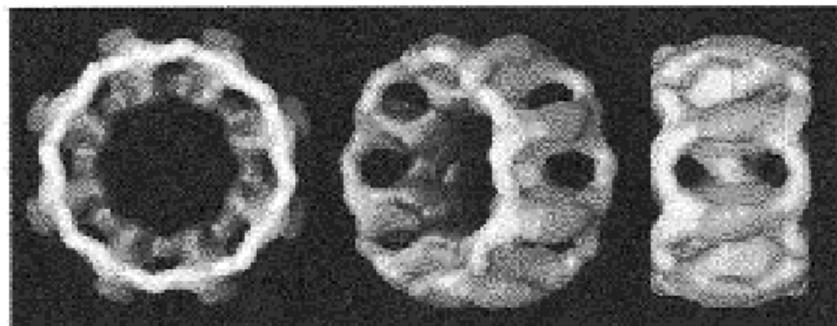
VUE DE PROFIL



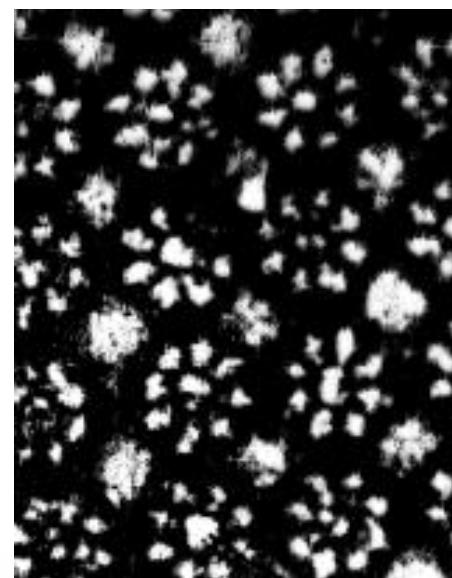
Le complexe du pore : Représentation en 3D



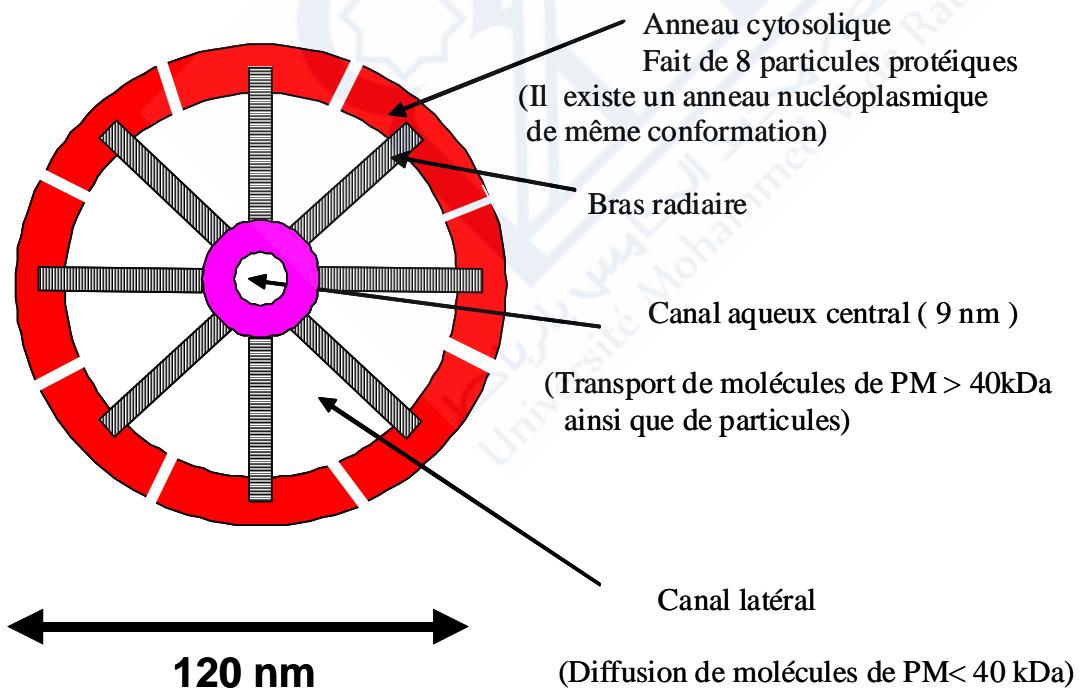
Reconstitution



MET. Coloration négative



Fonctions des pores nucléaires



Les fonctions du pore nucléaire

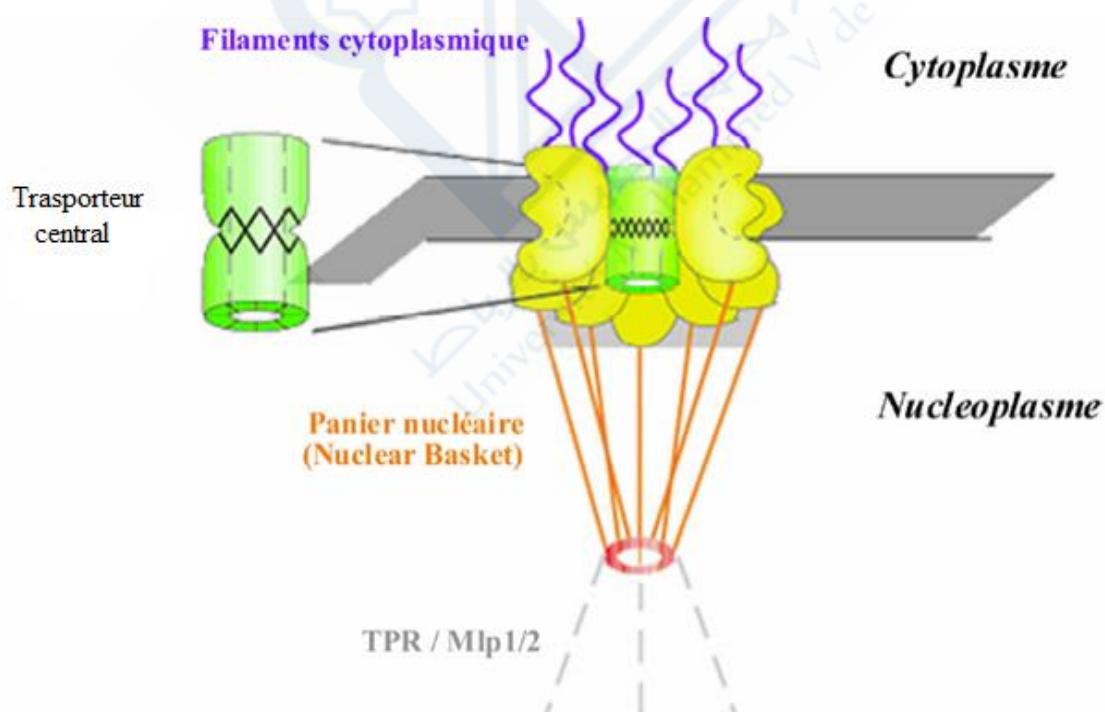
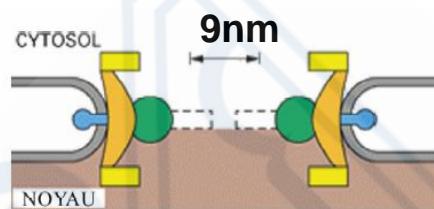
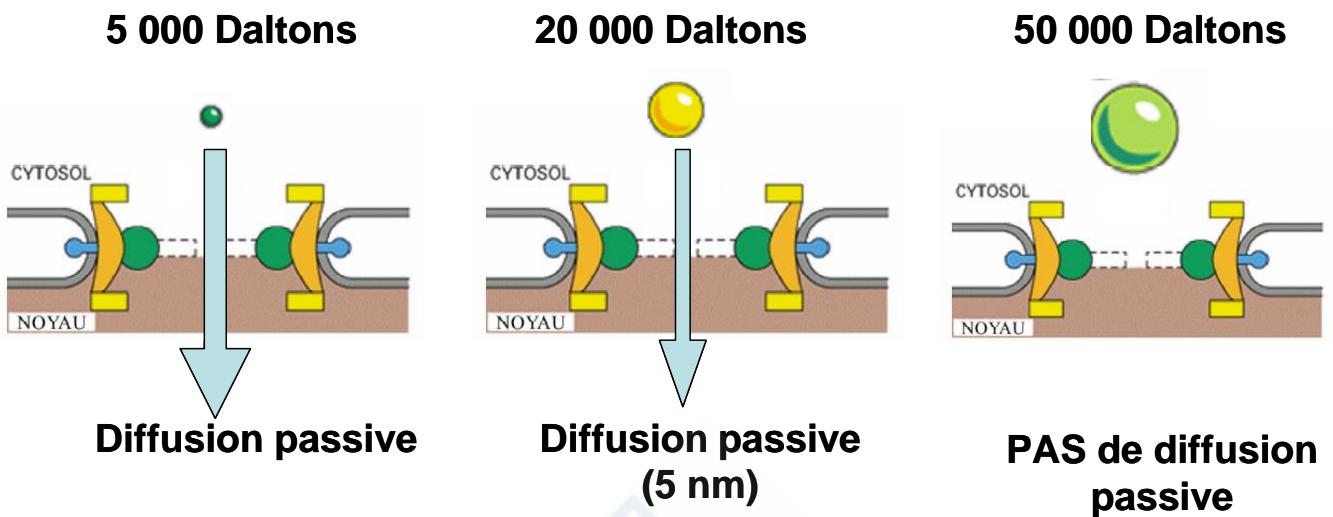
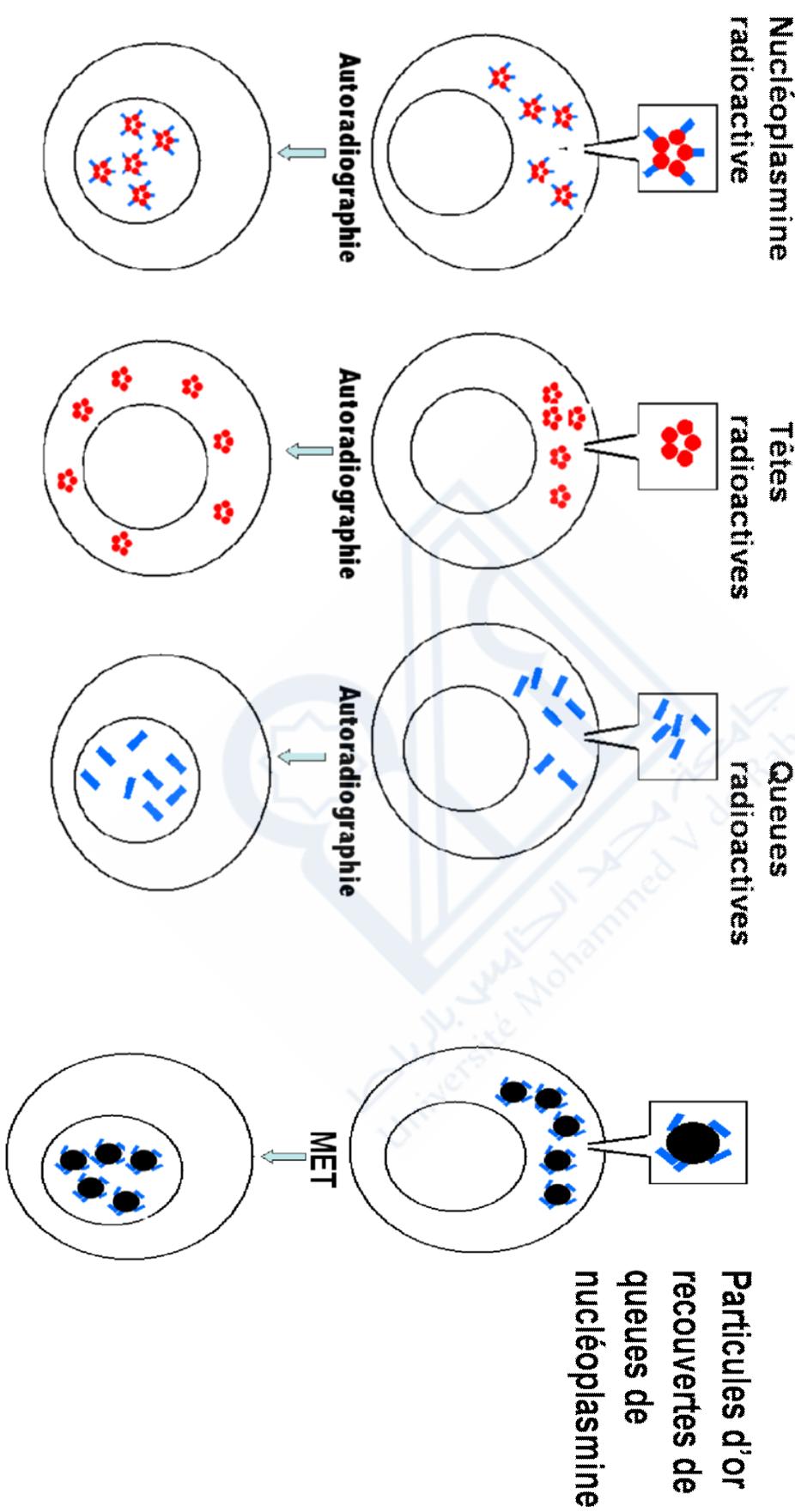
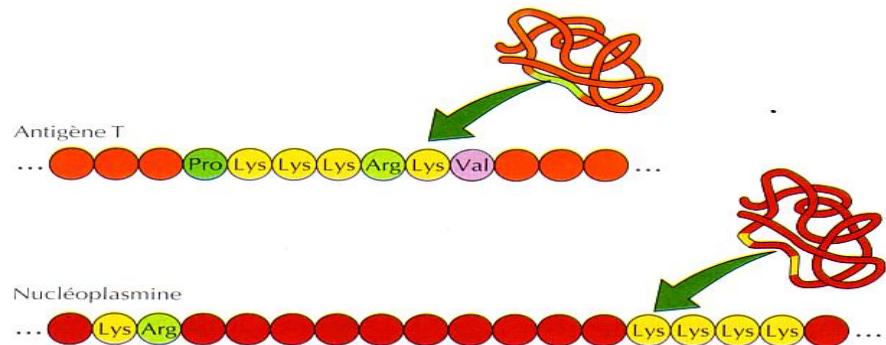


Schéma général d'un Complexe de pore nucléaire

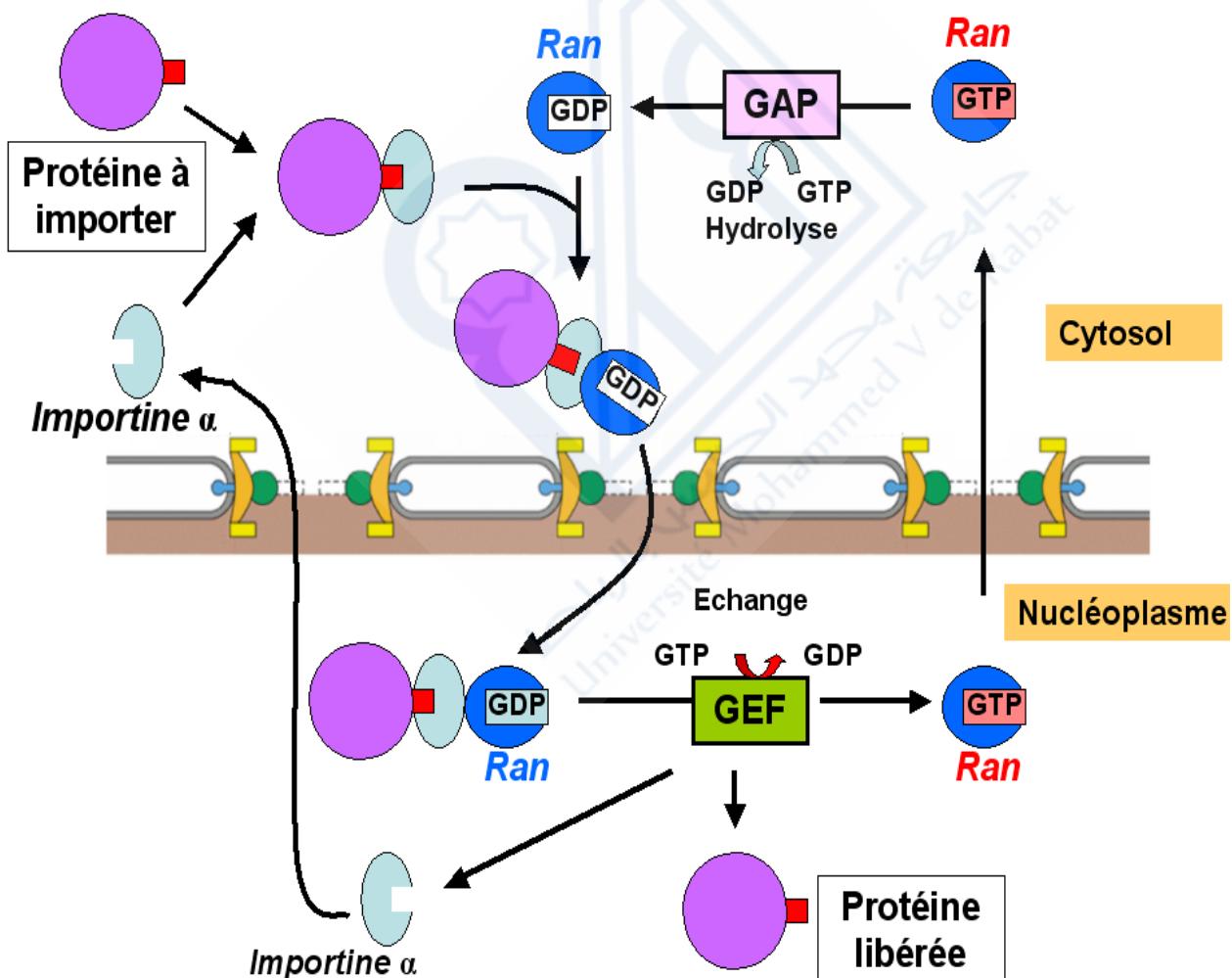
**Expériences démontrant le caractère contrôlé du transport à travers
le pore nucléaire**



NLS: séquences de localisation nucléaire

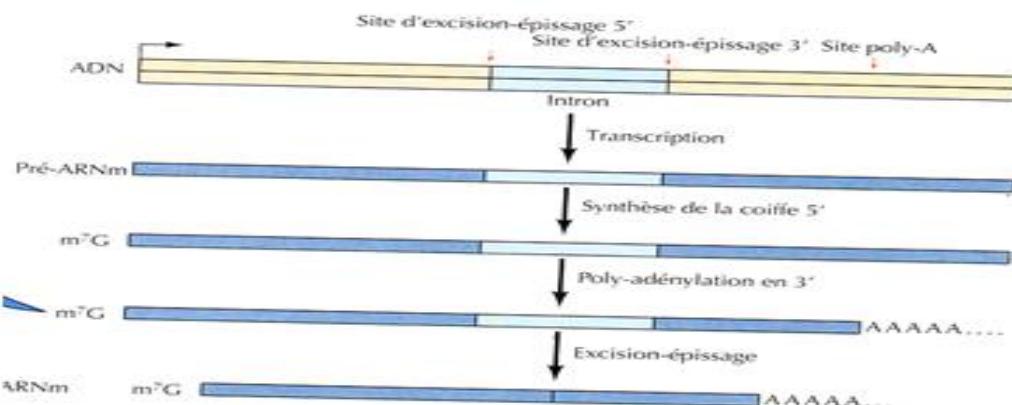


Importation d'une protéine

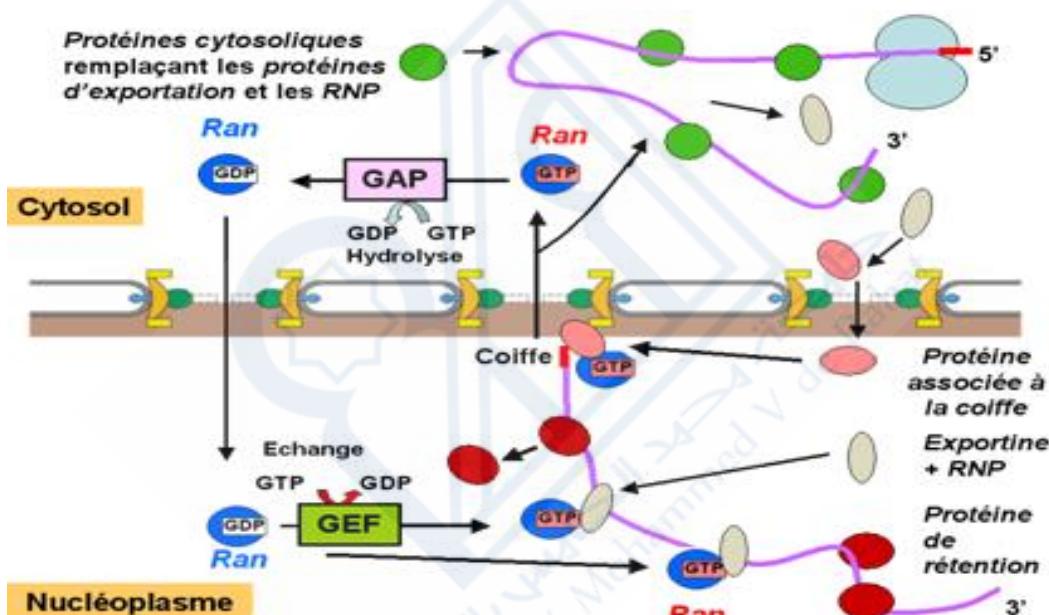


Maturation et exportation de l'ARNm des eucaryotes

Maturation de l'ARNm



Exportation de l'ARNm

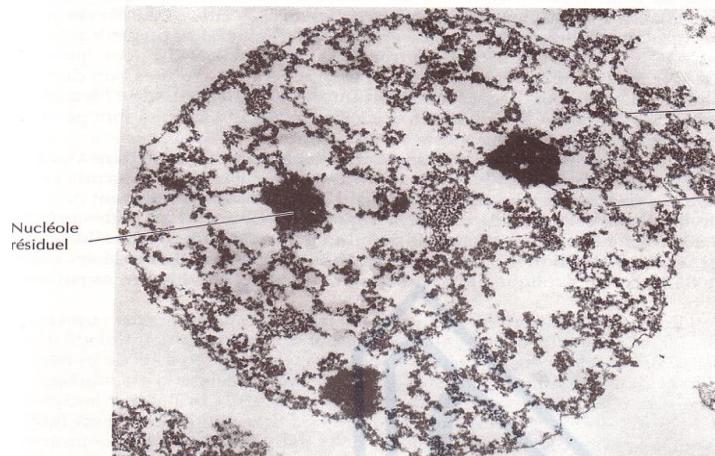


Conclusion: Le Transport Nucléaire

- I. Les échanges se font au travers des pores nucléaires
- II. Il y a deux types de transport, actif ou passif
 - Transport passif: petites molécules, inférieures à 50kDa environ
 - Transport actif: grosses molécules, ARN
 - Le transport actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP
- III. Les protéines possèdent des séquences de localisation
 - Le NLS est la séquence de localisation nucléaire
 - Le NES est la séquence d'export nucléaire
- IV. Le transport actif s'explique par la fixation des protéines sur l'importine (via le NLS)
- V. Les ARN sont exportés vers le cytoplasme via les pores nucléaires
 - Les ARN ne sont exportés qu'après avoir été modifiés
 - 5' Cap et 3' Poly A
 - Épissage, Association RNP
- VI. Le couple Ran-GTP/Ran-GDP joue un rôle central dans la translocation

La matrice nucléaire

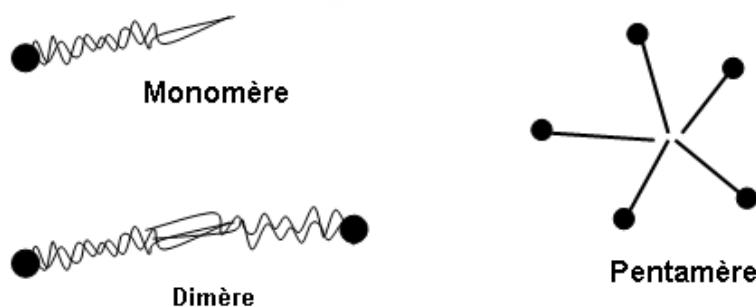
MET. Noyau après digestion de l'ADN par la DNase et extraction des protéines solubles Subsistent la lamina, les nucléoles et un réseau fibreux



NuMA est une protéine qui s'associe au domaine péricentrosomal des chromosomes au cours de la mitose.

NuMA possède une tête globulaire et une queue séparées par une hélice de 1500 acides aminés. L'absence de la tête empêche la **cytodiéresse** (division cytoplasmique) ce qui entraîne la formation de plusieurs petits noyaux.

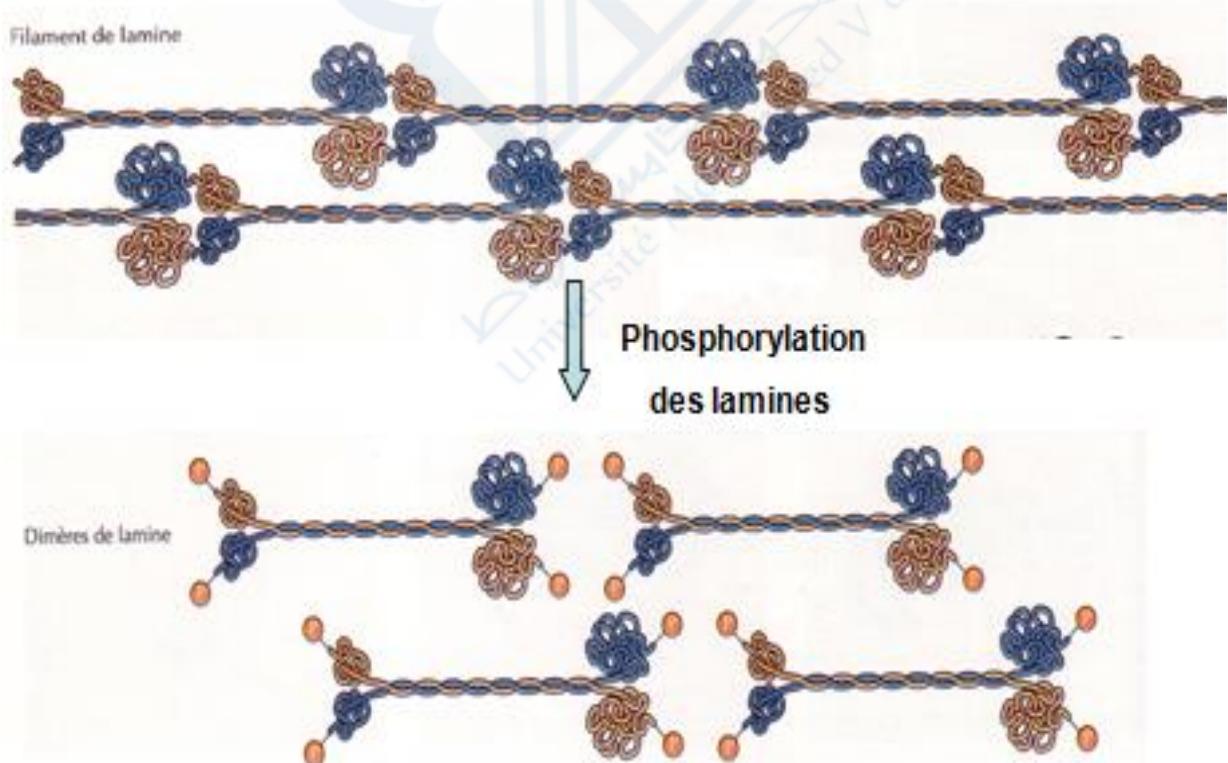
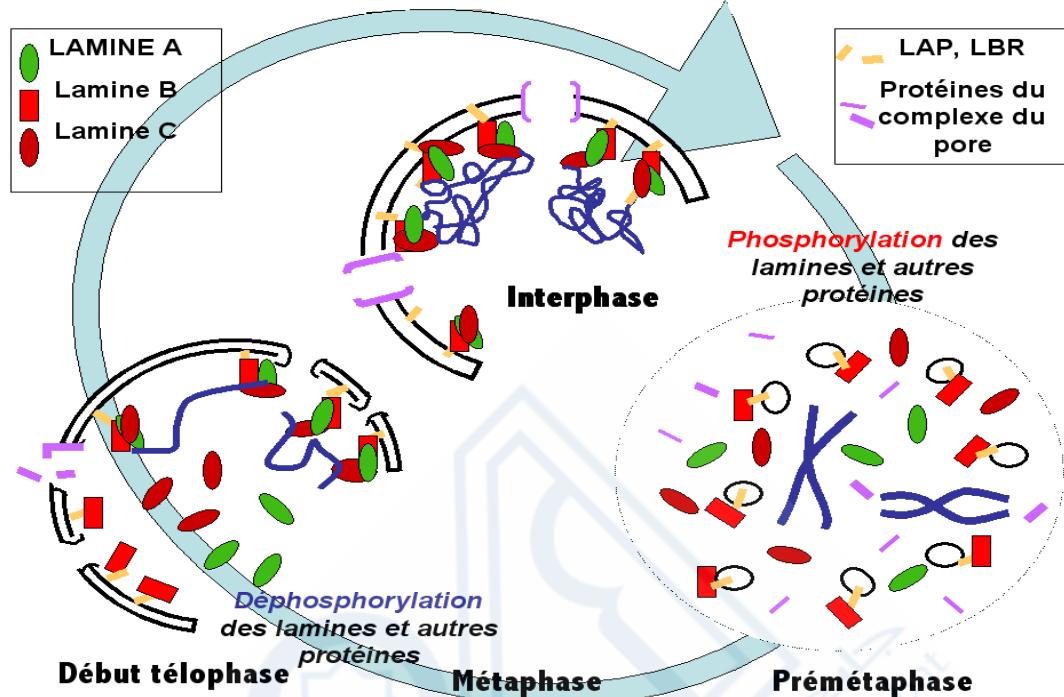
Des éléments de la matrice sont intimement liés aux fibres nucléosomiques.



Fonctions de la lamina nucléaire

Phosphorylation des lamines → dissolution de l'enveloppe

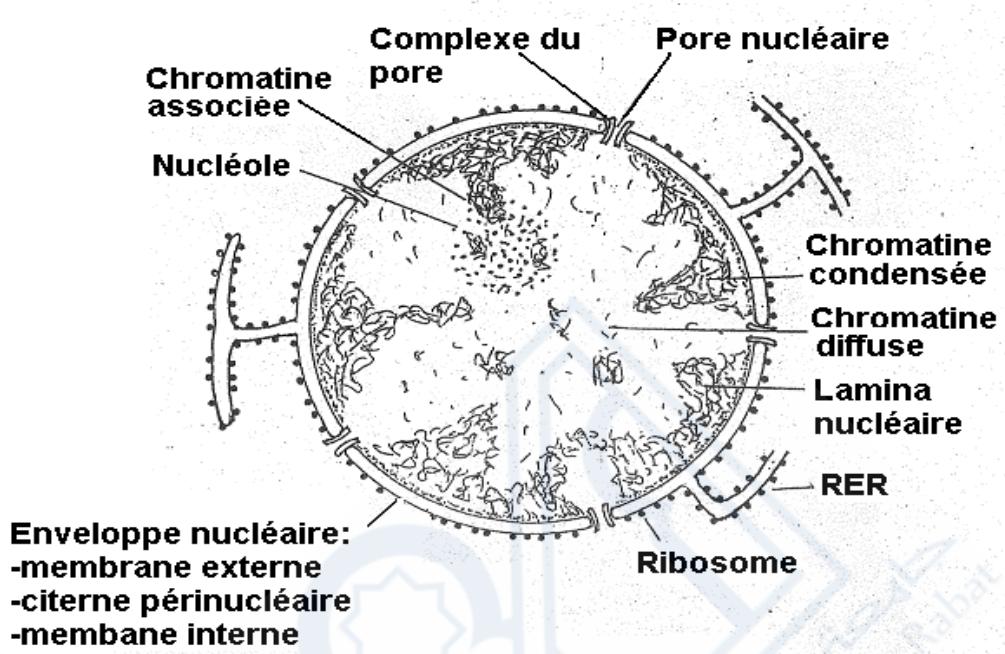
Déphosphorylation des lamines → reconstitution de l'enveloppe



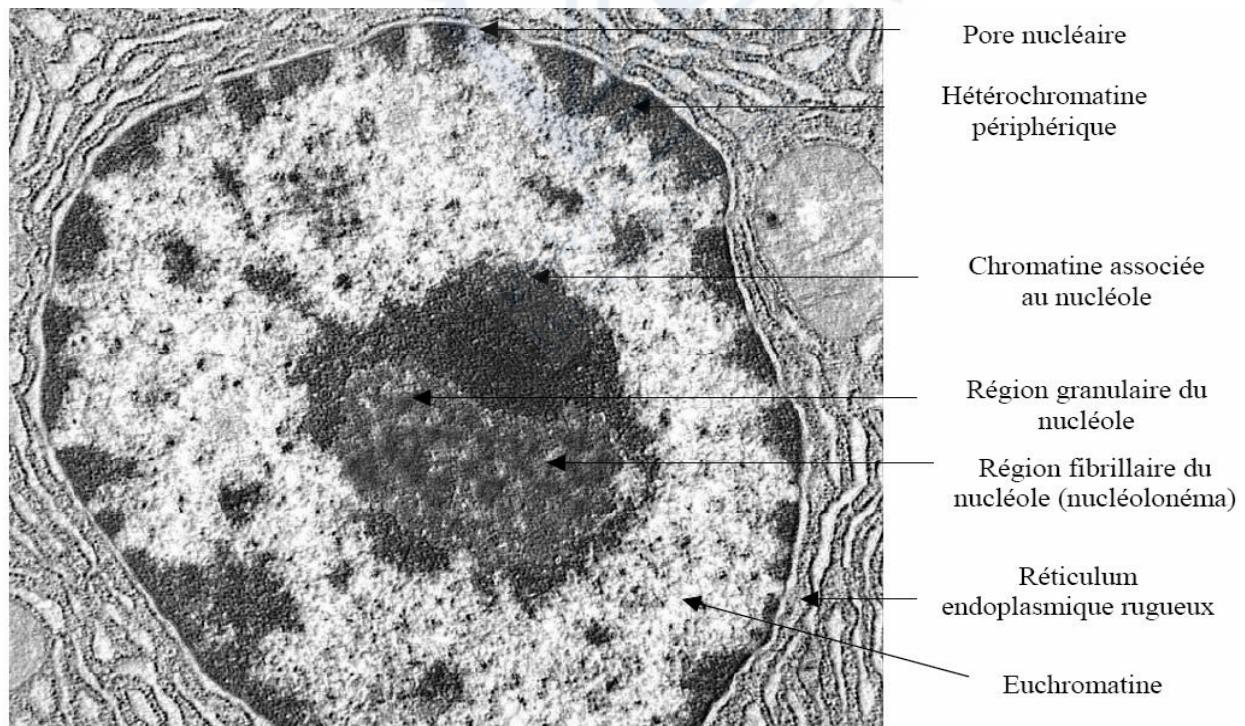
La chromatine

Le noyau

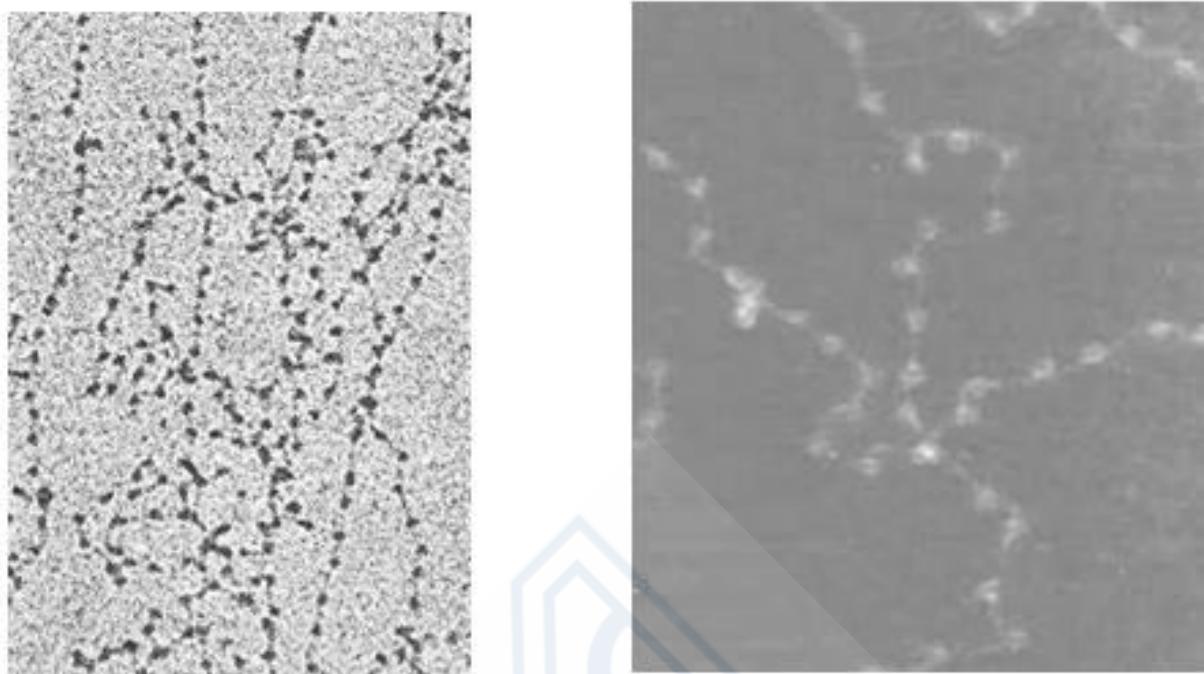
MET. Représentation schématique



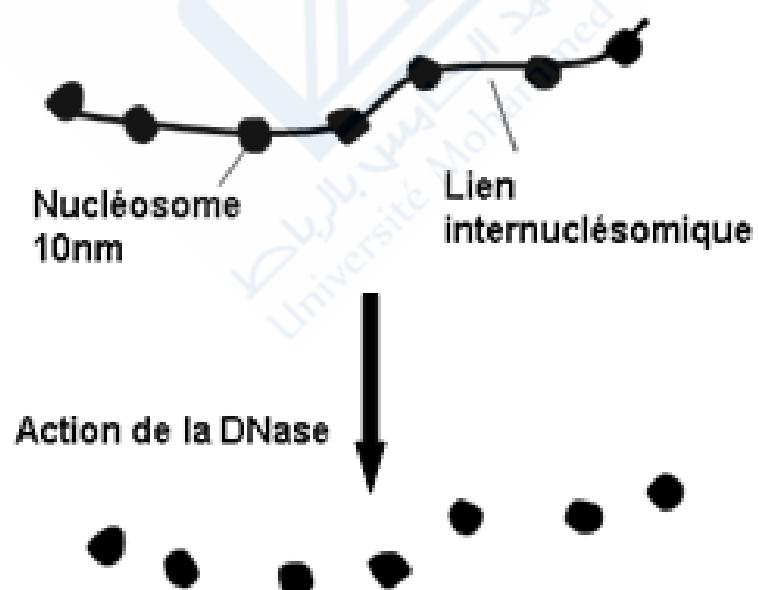
MET



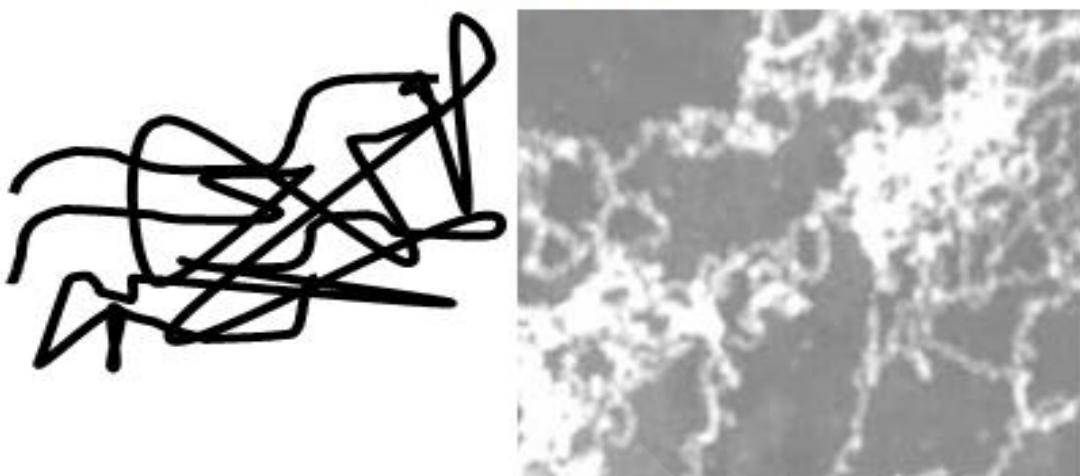
MET. Fibres nucléosomiques de 10 nm



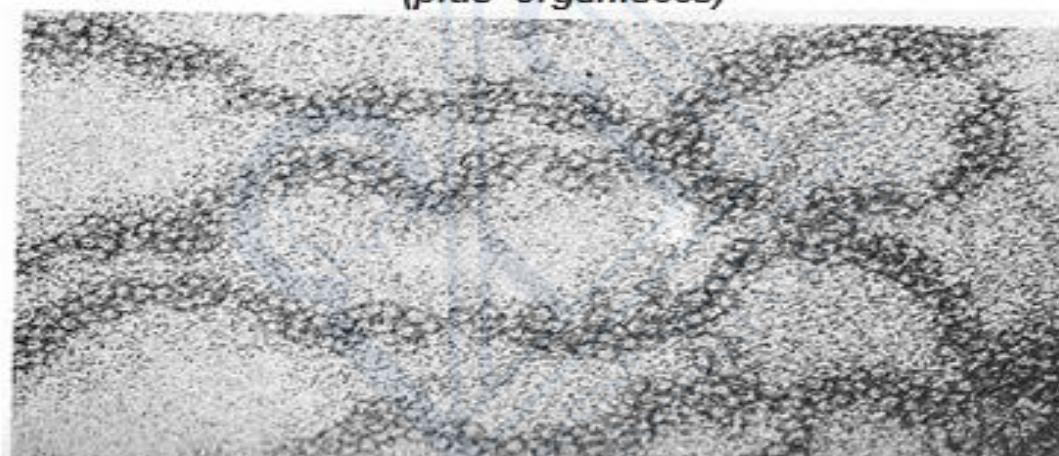
MET. Fibre nucléosomique ou "collier de perles"



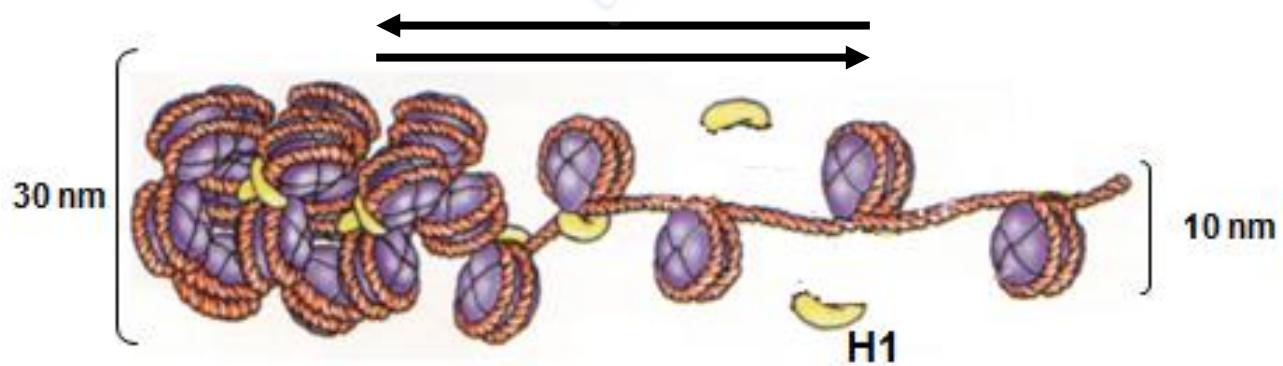
*fibres chromatiniennes de 30 nm
(non organisées)*



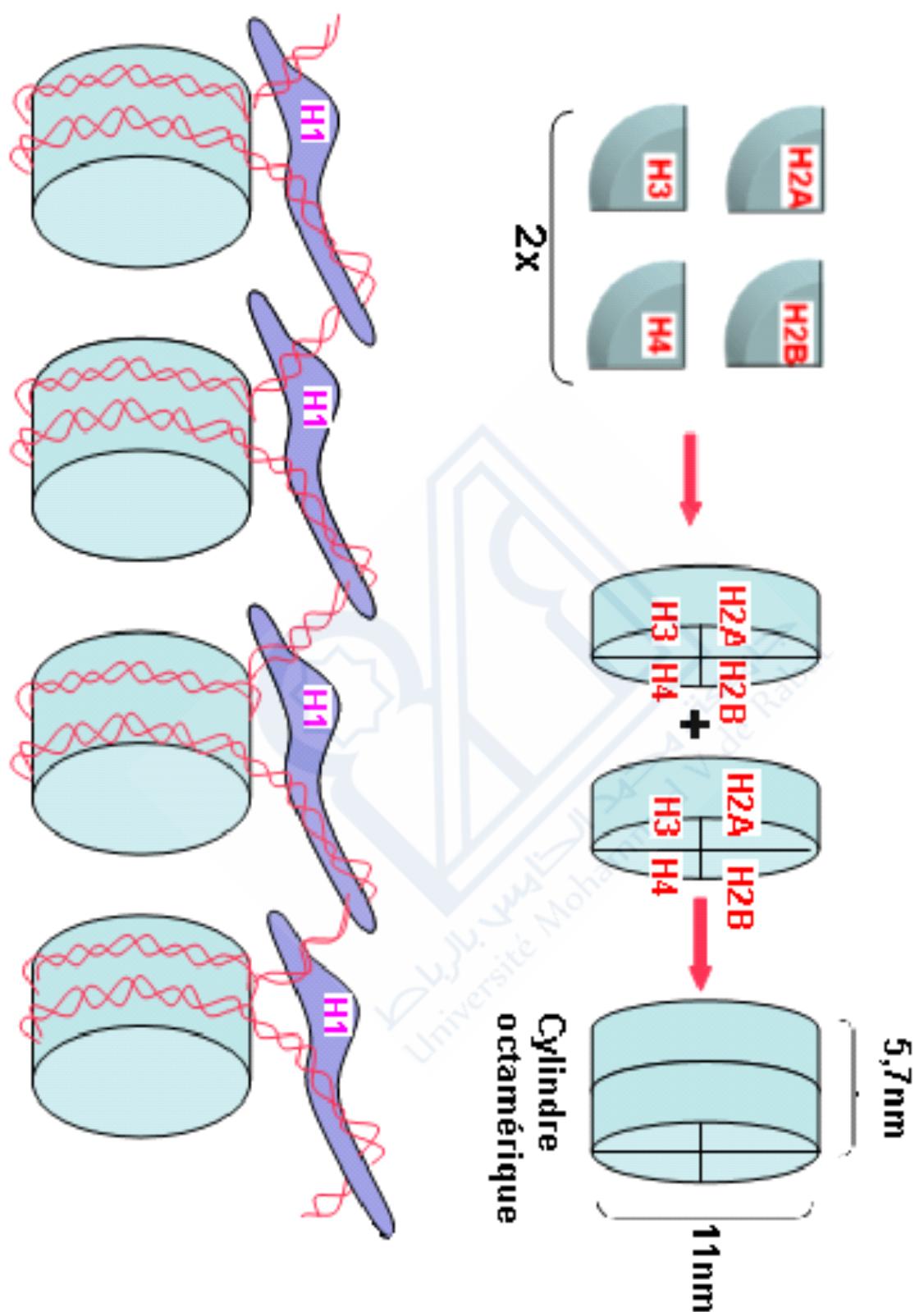
*fibres chromatiniennes de 30 nm
(plus organisées)*



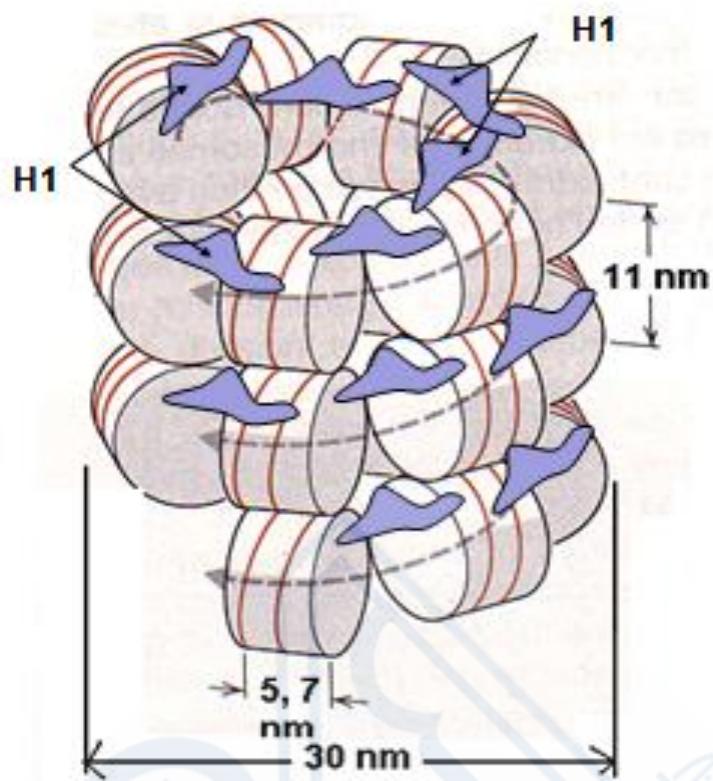
Fibre chromatинienne de 30 nm ⇔ Fibre nucléosomique de 10nm : rôle de H1



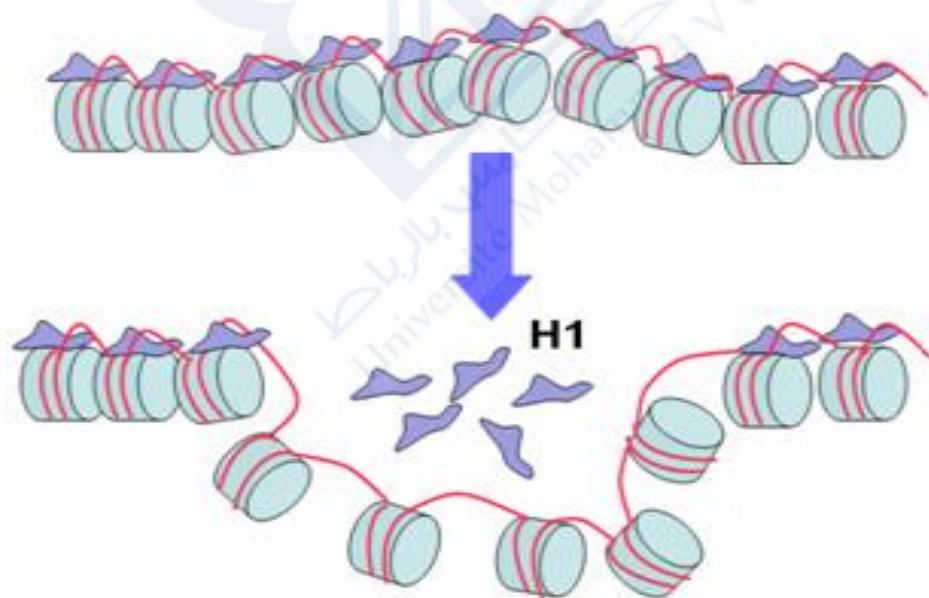
Organisation moléculaire de la fibre nucléosomique



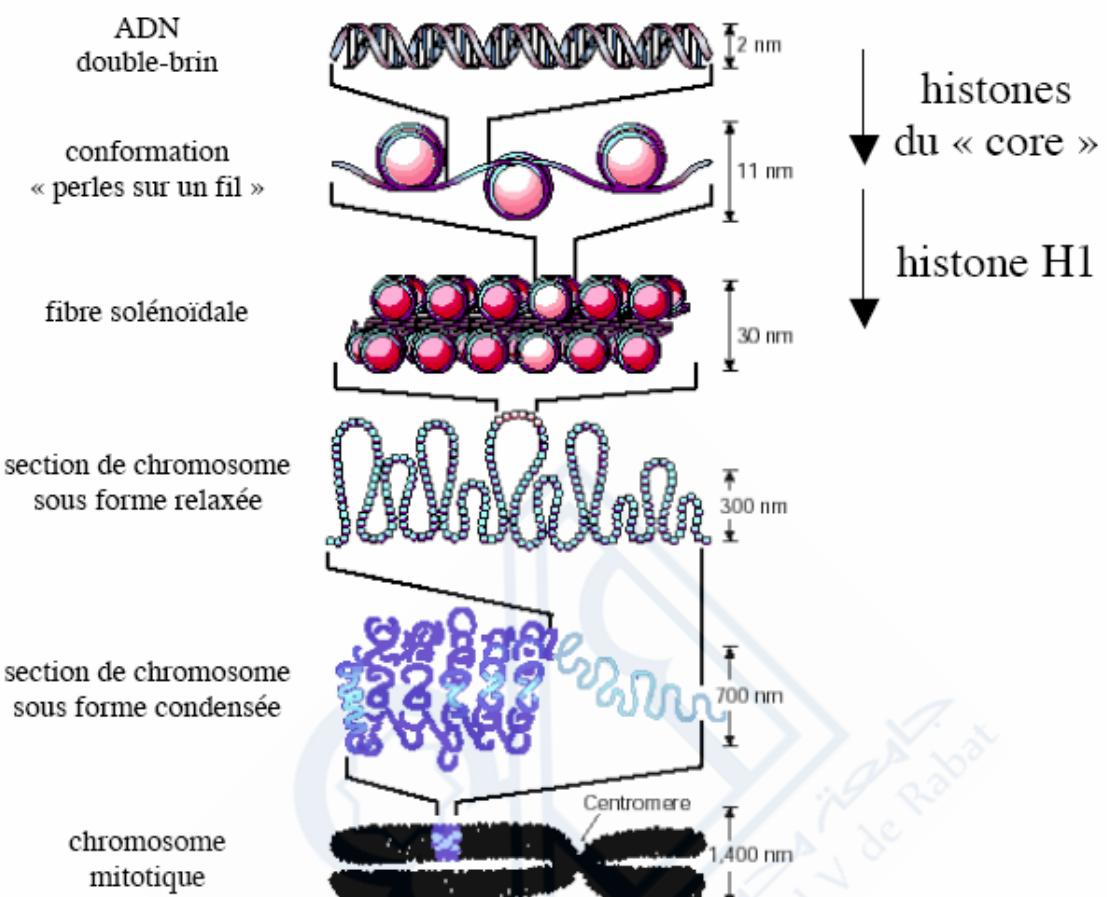
Organisation moléculaire de la fibre chromatinienne de 30 nm



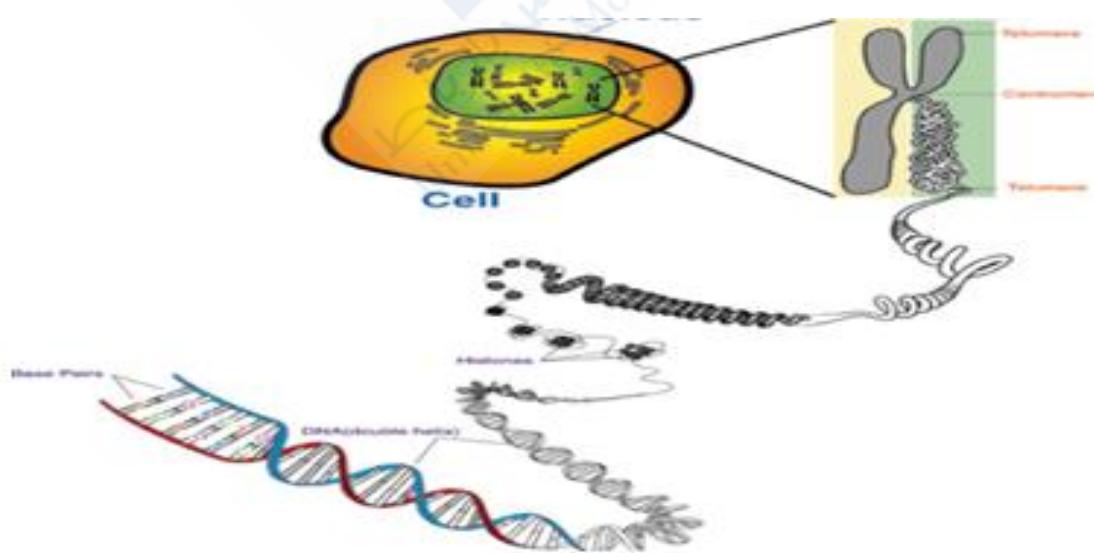
Formes condensée et relâchée de la chromatine



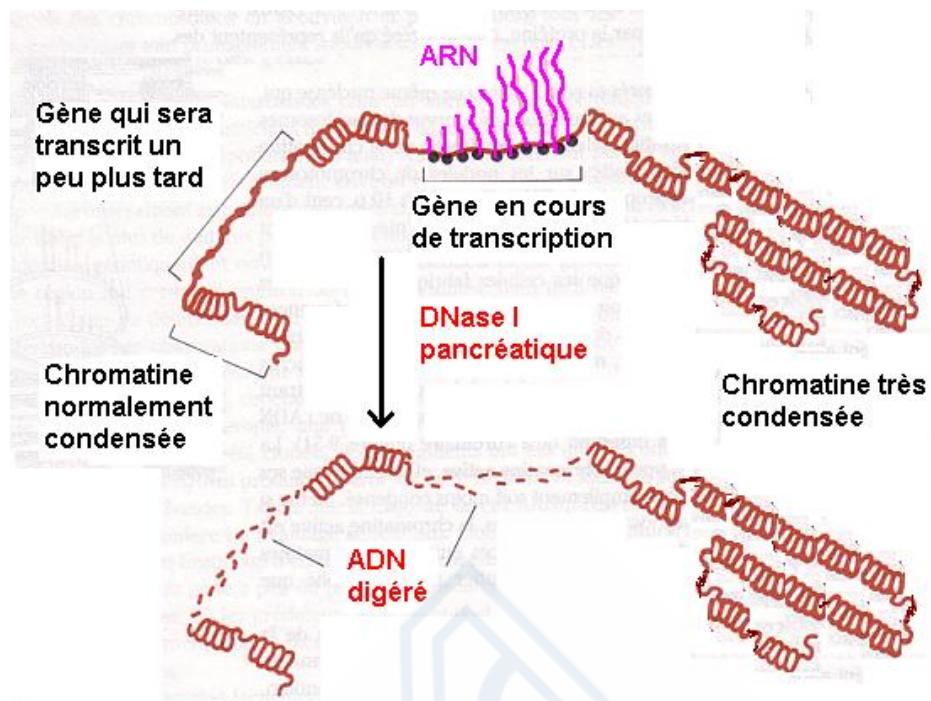
Différents niveaux de la condensation et l'ADN et de la chromatine



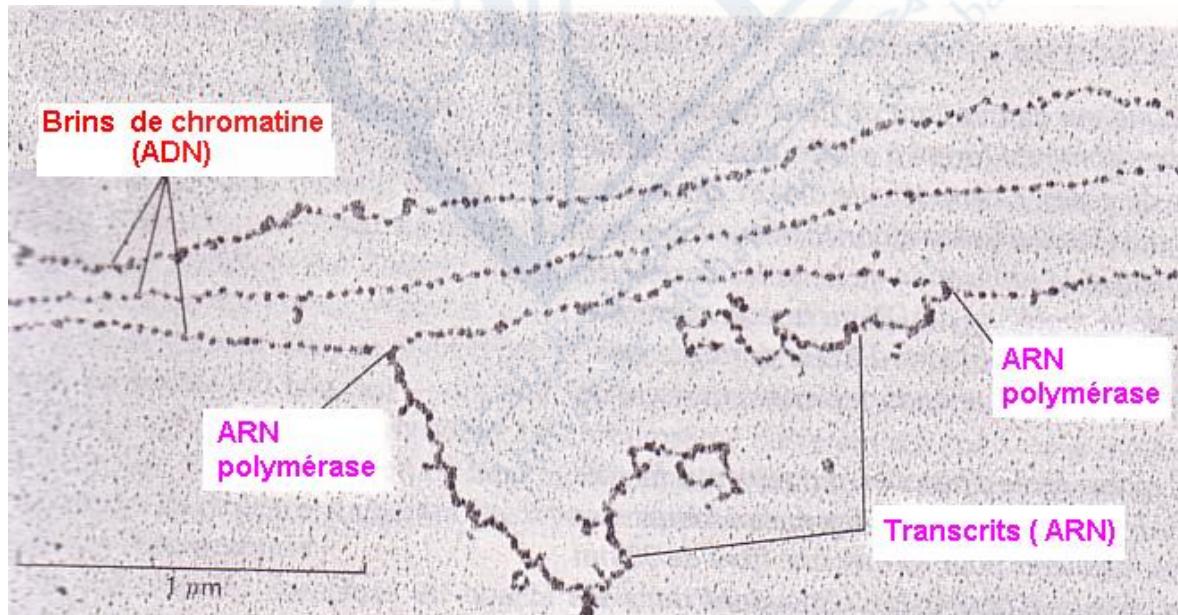
(d'après Felsenfeld et Groudine, 2003)



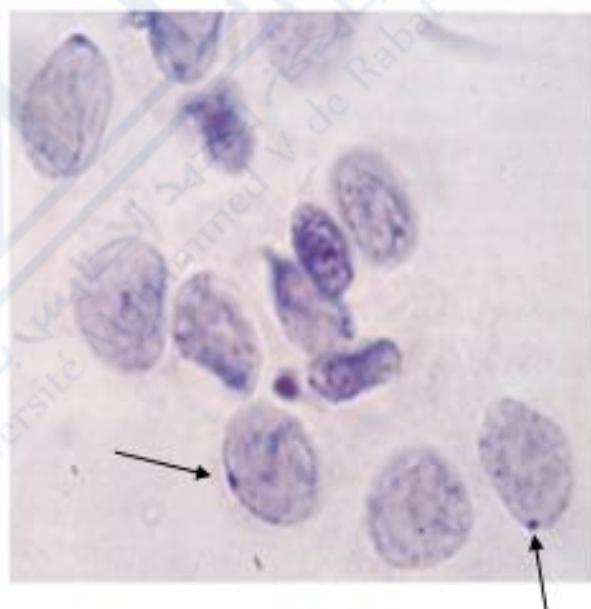
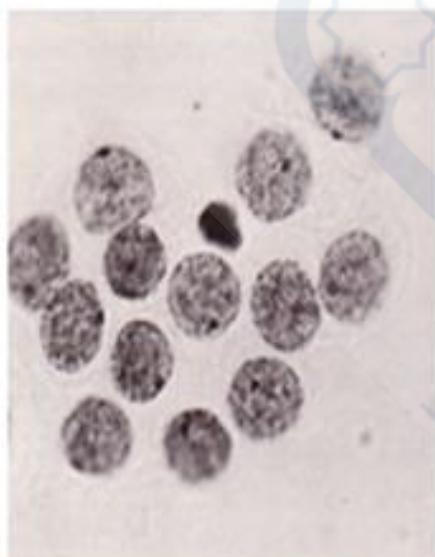
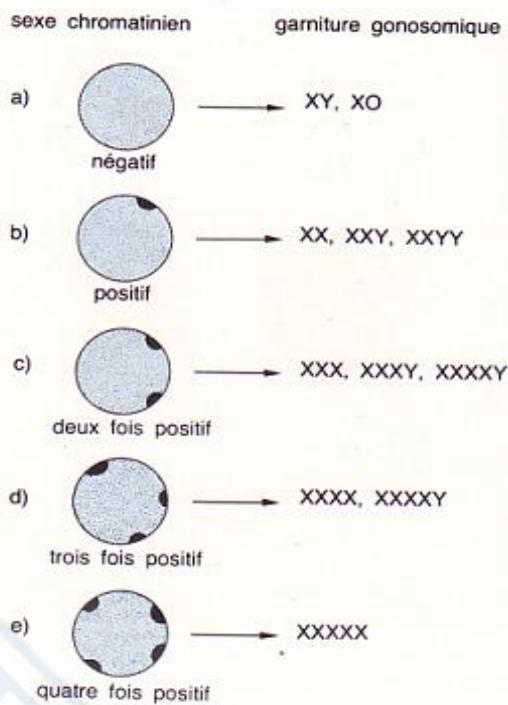
Action de la DNase I pancréatique



MET

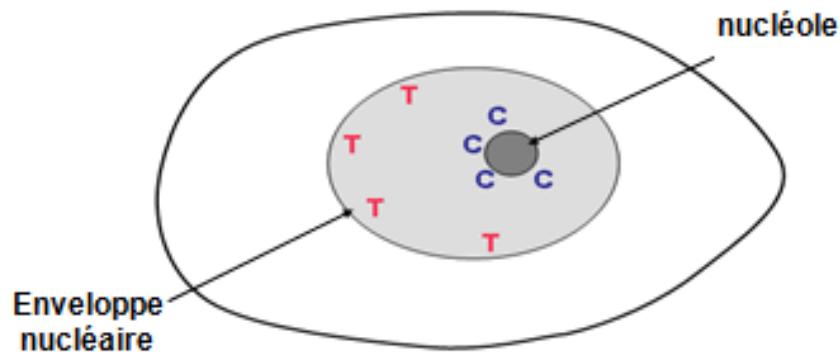


Chromatine sexuelle et nombre de chromosomes

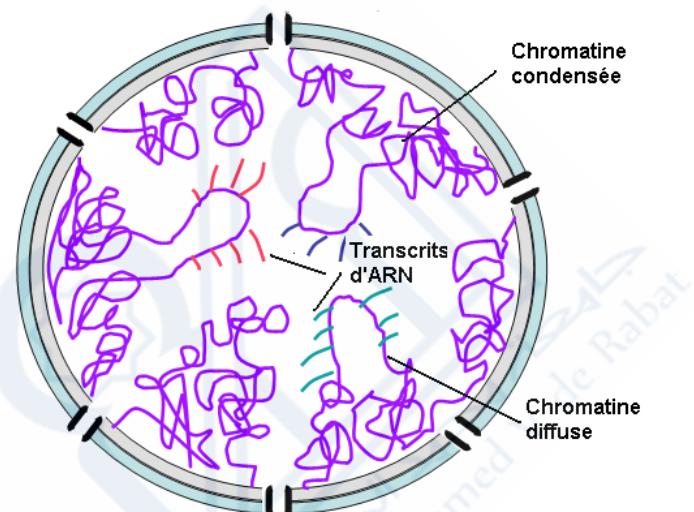


MO. Chromatine sexuelle ou corpuscule de Barr

Schéma montrant la localisation des centromères et des télomères



Modèle d'organisation d'un noyau interphasique

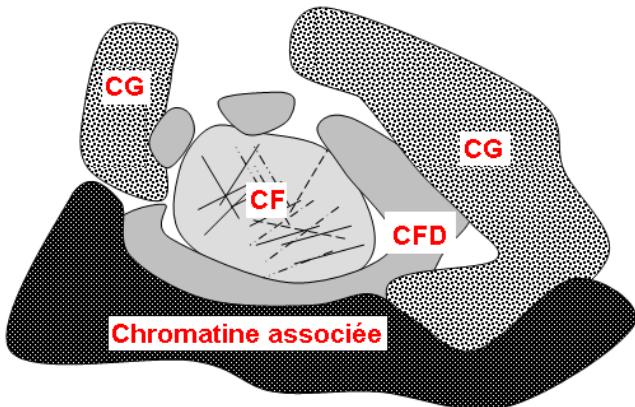


Caryotype normal

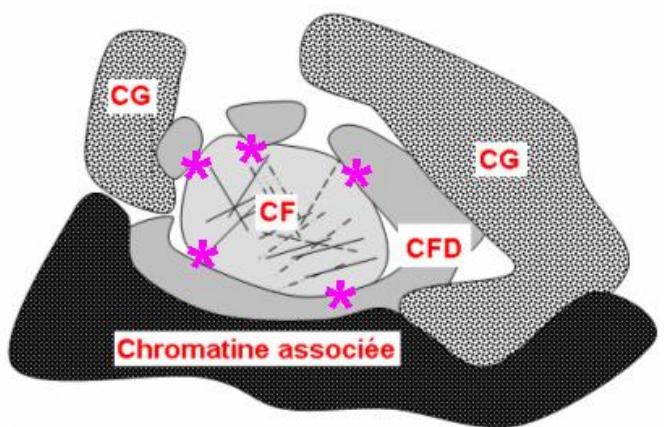


Le nucléole

MET. Représentation schématique



MET. Représentation schématique et sites de transcription de l'ARNr



MET. Nucléole d'un ovocyte primaire de rat

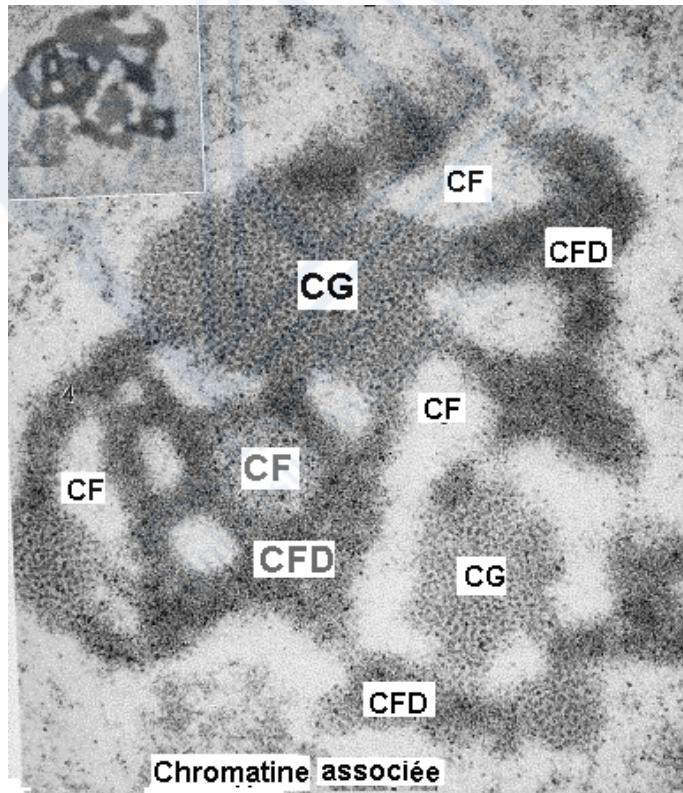
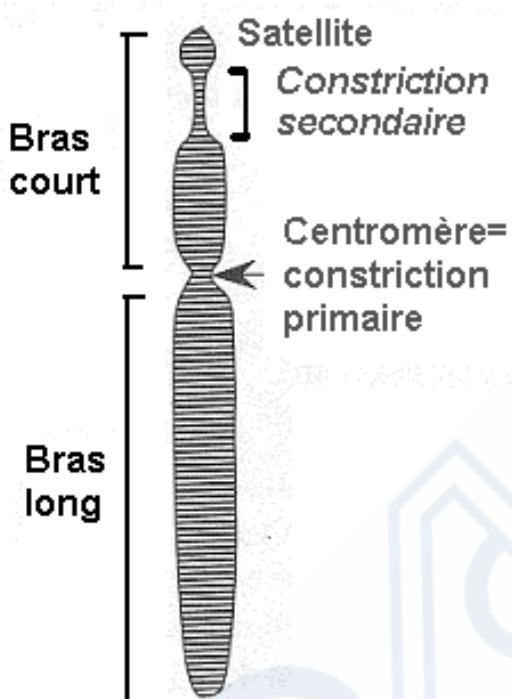


Schéma d'un chromosome acrocentrique



Les relations chromosomes acrocentriques-nucléole

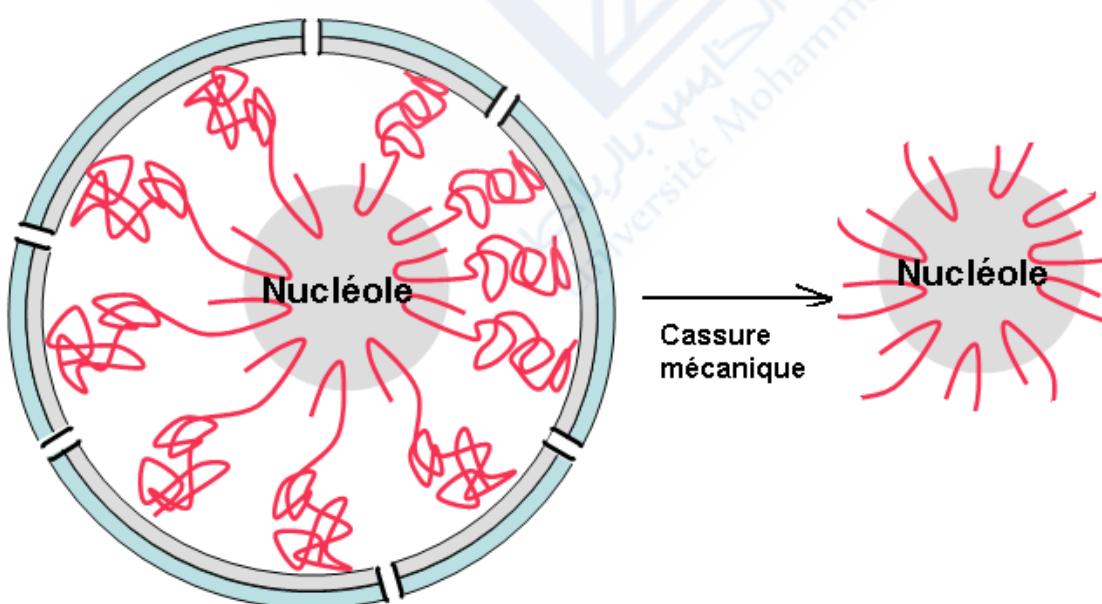
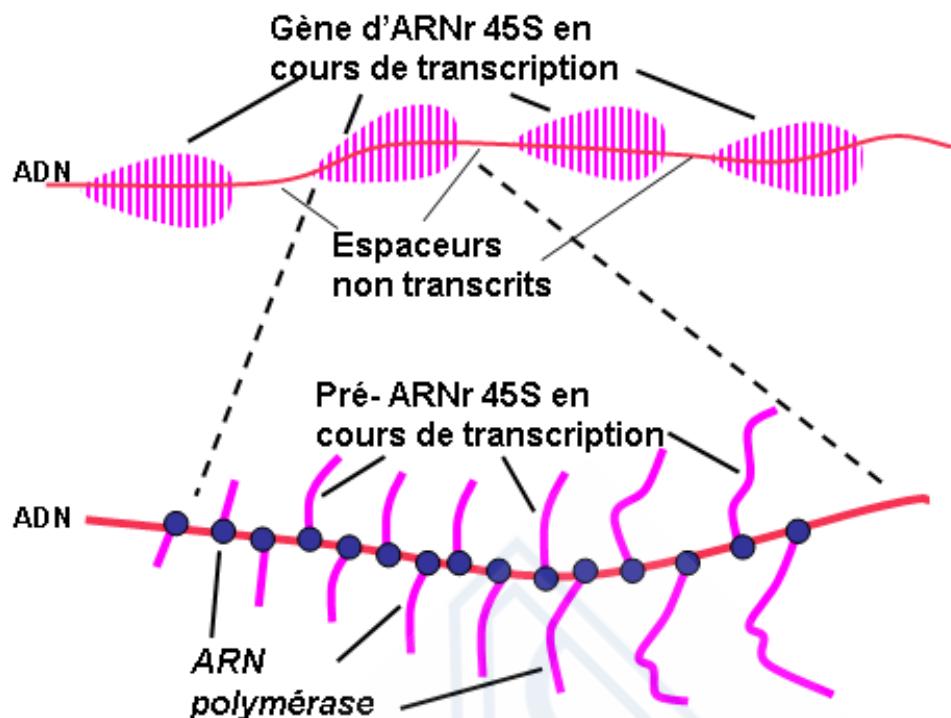
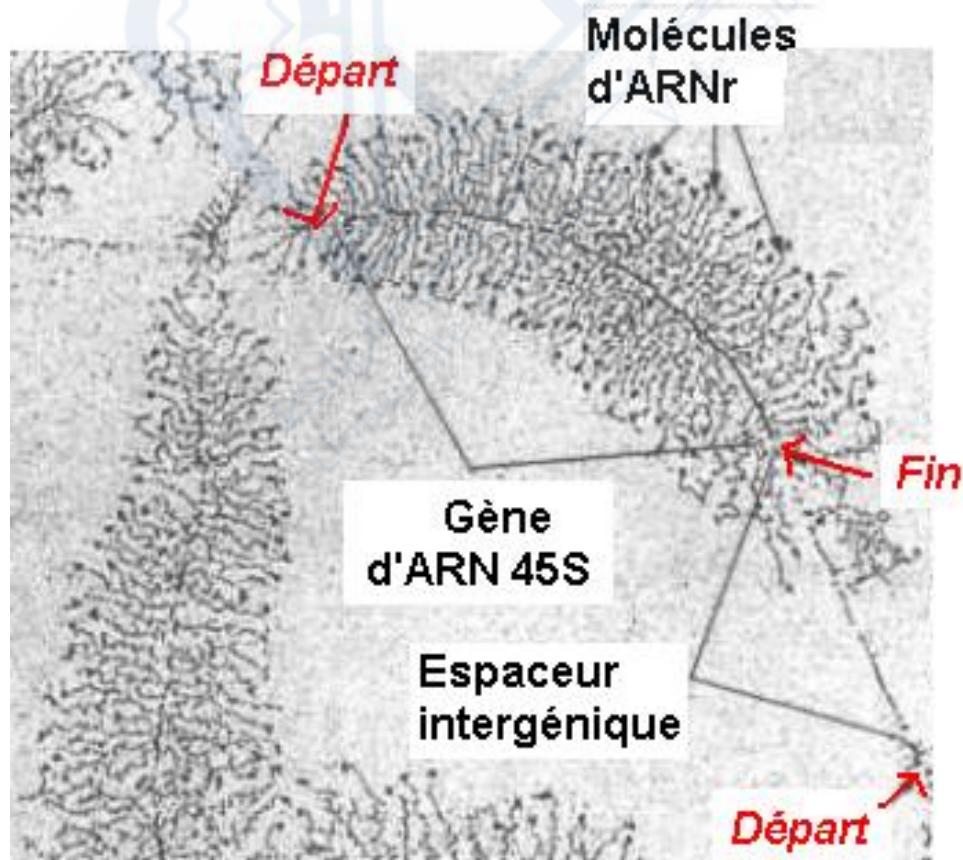


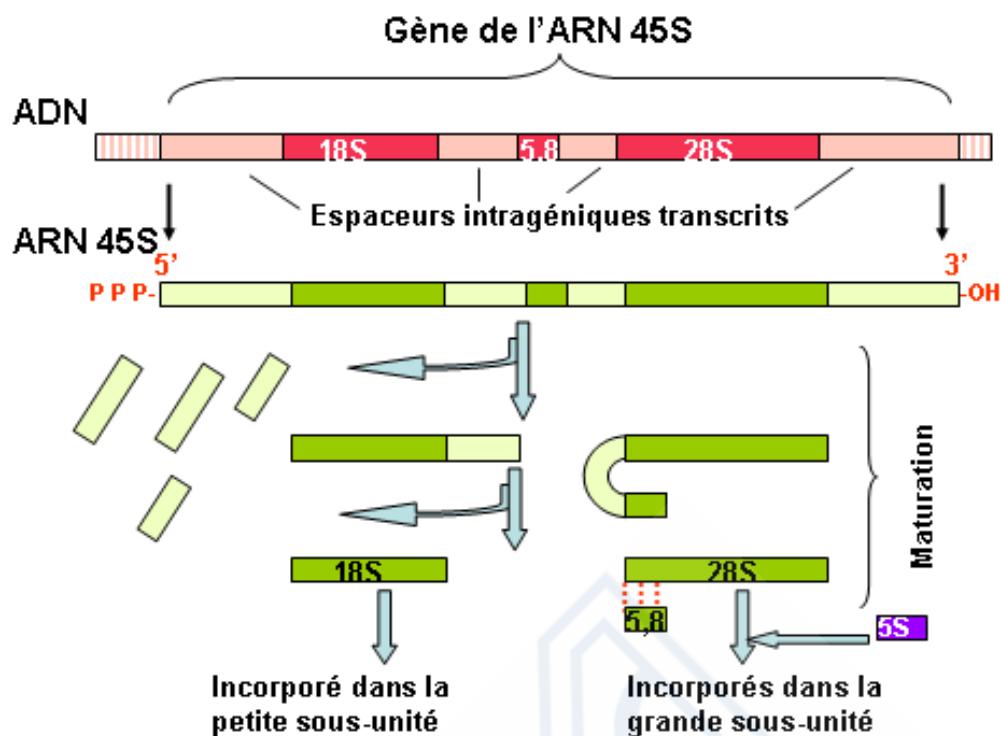
Schéma de la transcription de l'ARNr



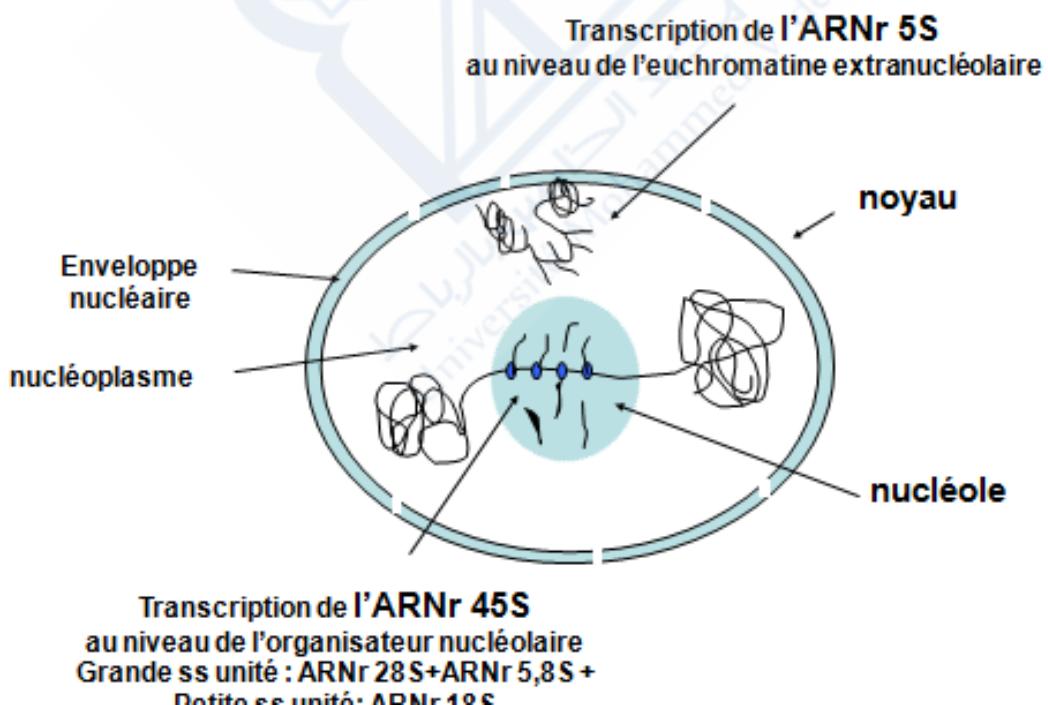
MET. Transcription de l'ARNr



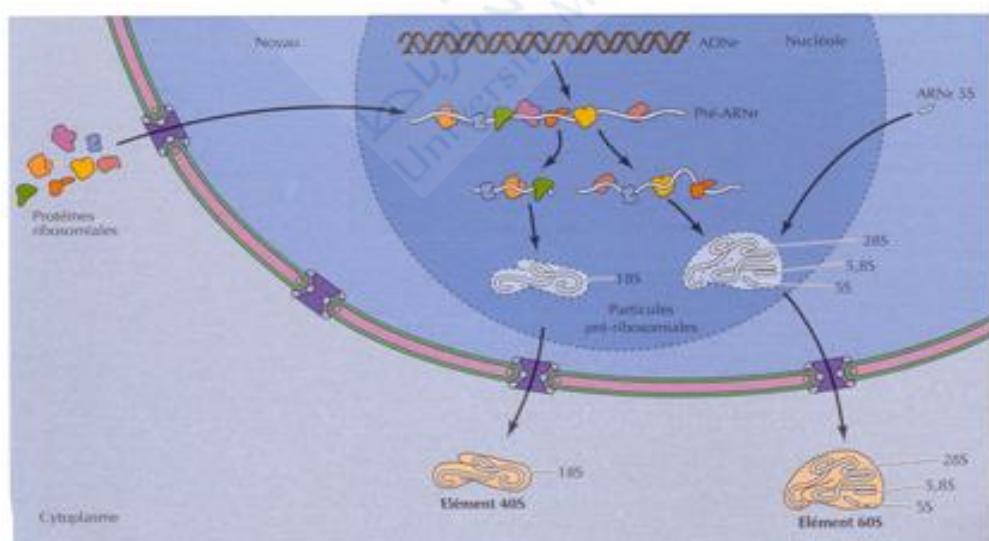
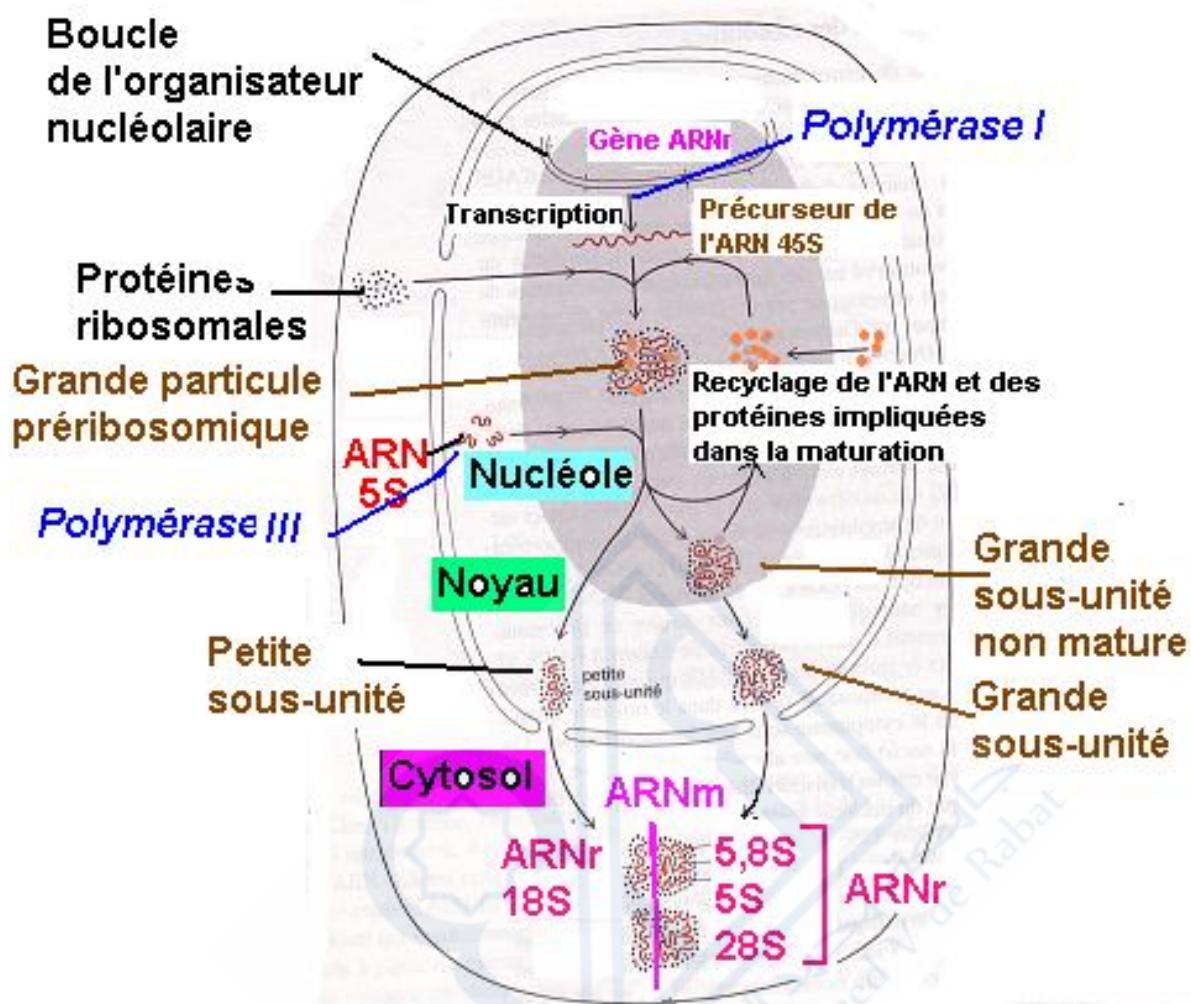
Transcription et maturation de l'ARNr



Représentation schématique d'un organisateur nucléolaire et de la transcription de l'ARNr 45S et de l'ARNr 5S



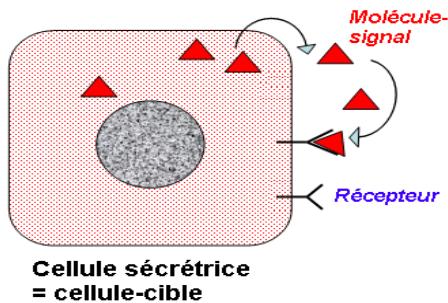
Mode de formation des ribosomes



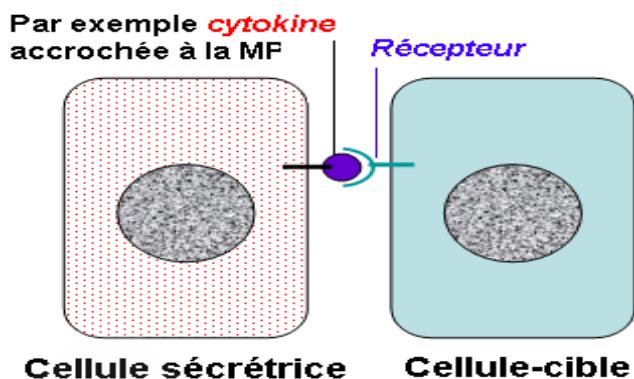
Communications

Différents niveaux :

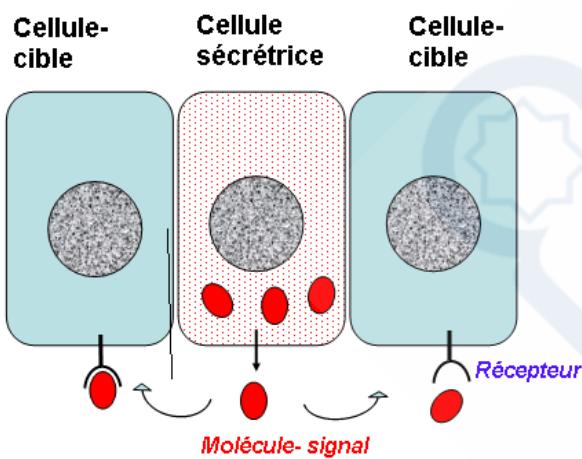
Autocrine



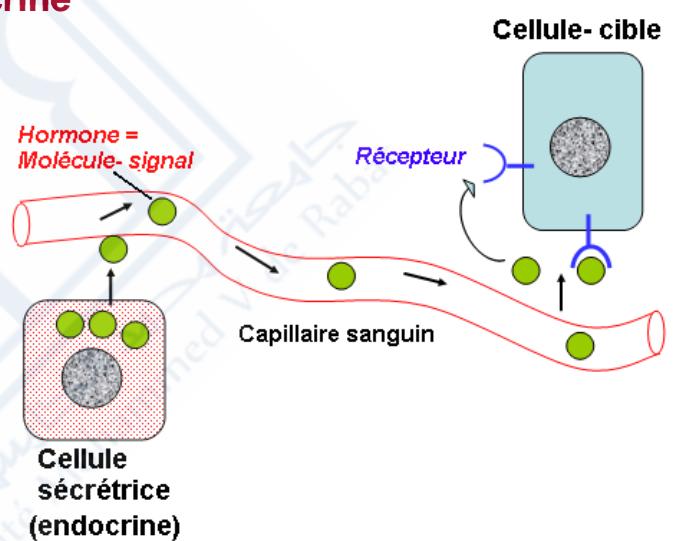
Juxtacrine



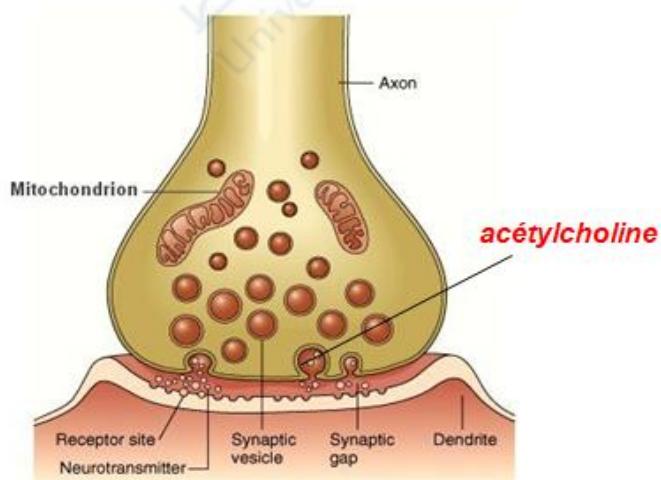
Paracrine



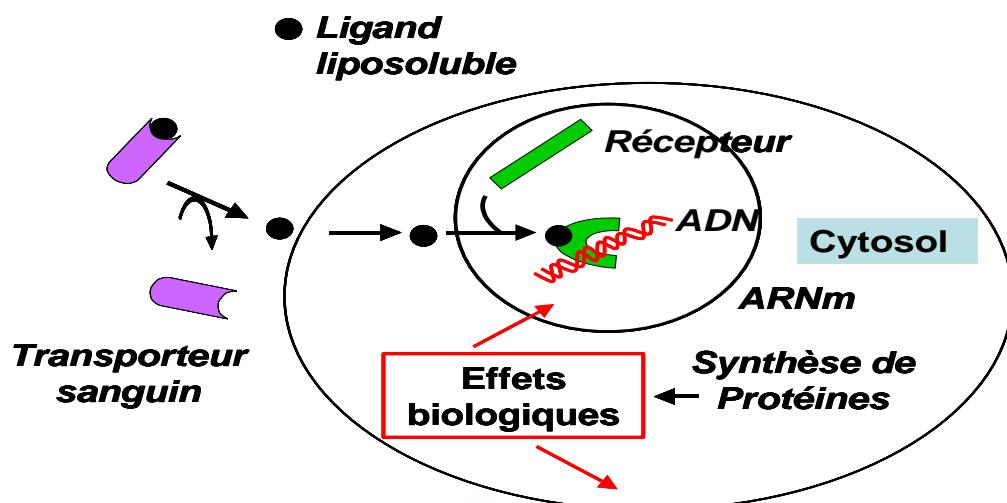
Endocrine



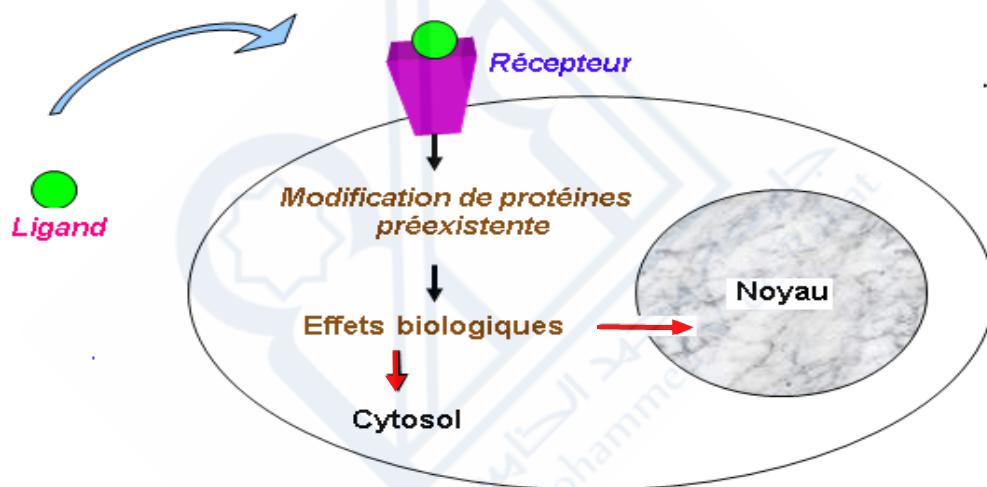
Par le système nerveux



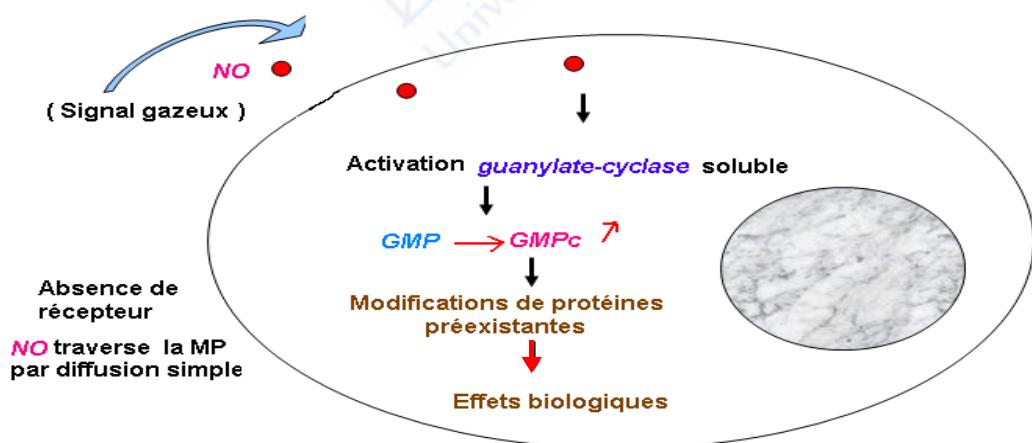
Molécule informative liposoluble



Molécule informative hydrosoluble

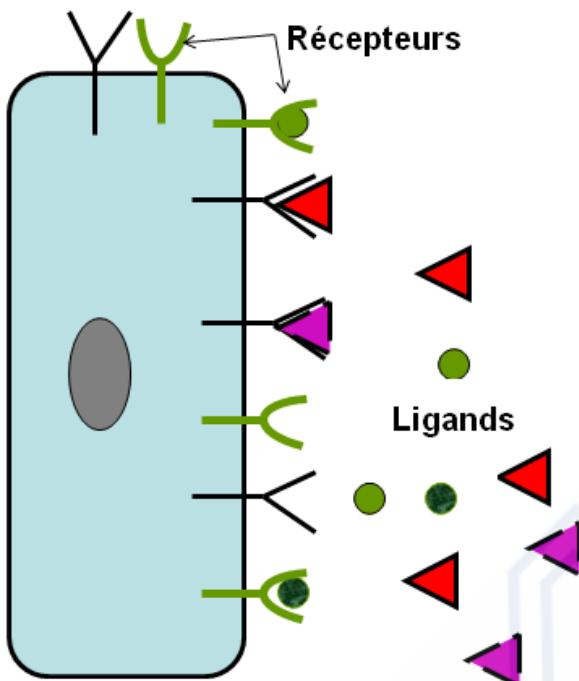


Molécule informative de type gazeux



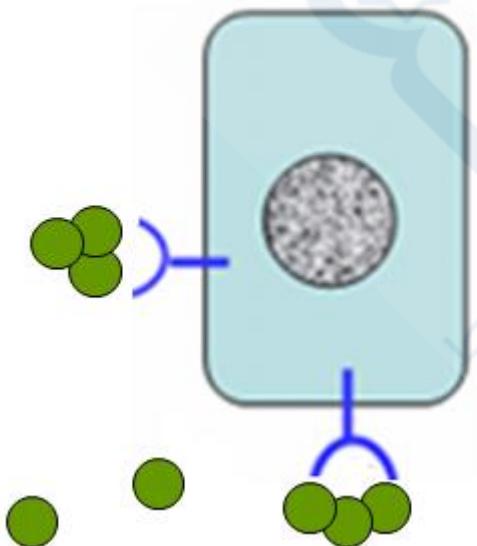
Quelques caractéristiques des récepteurs

- Spécificité

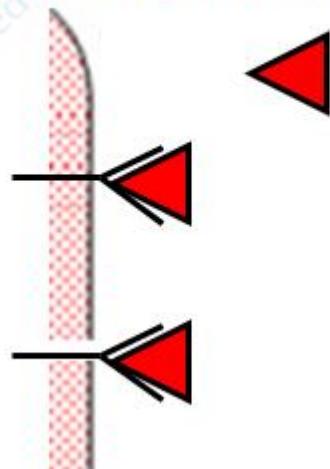


- Affinité :

faible pour les ligands très concentrés



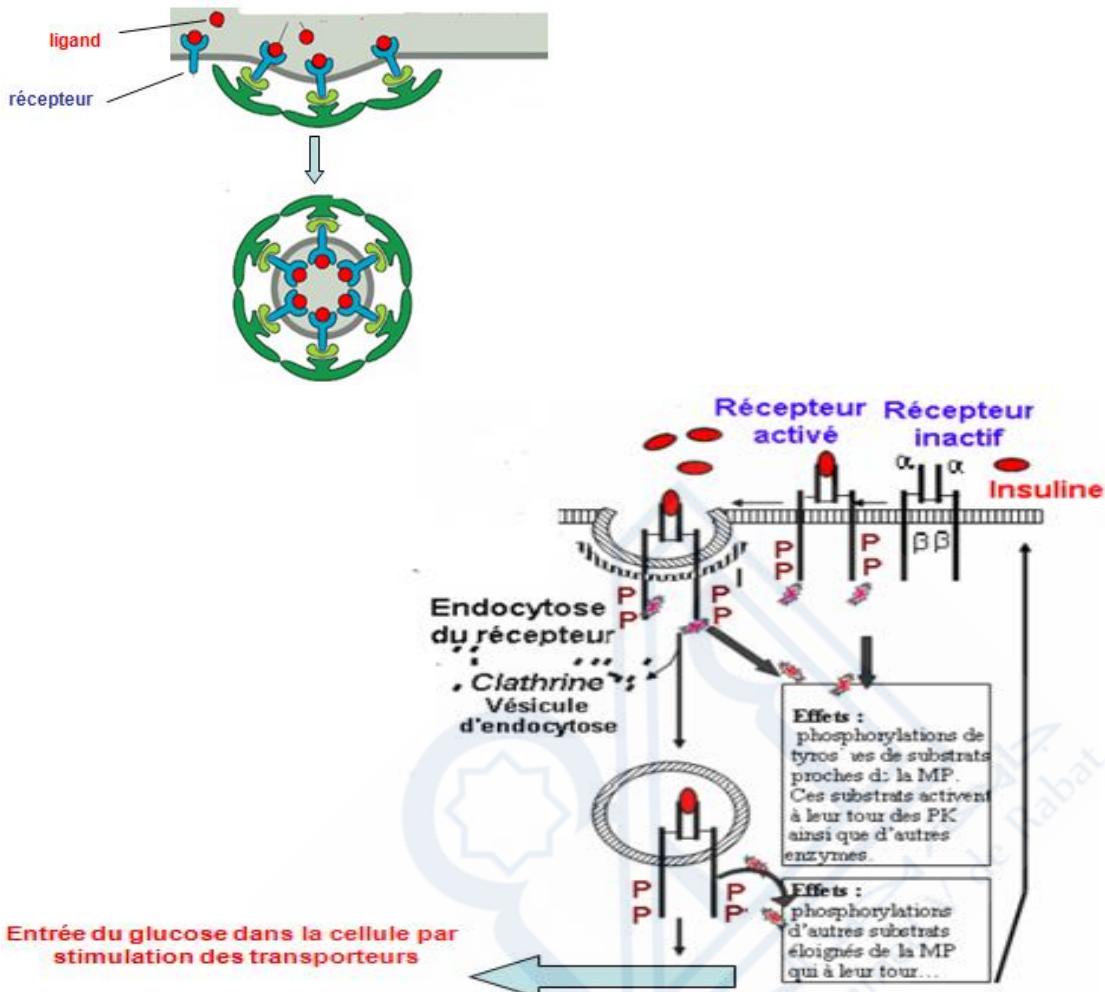
forte pour les hormones



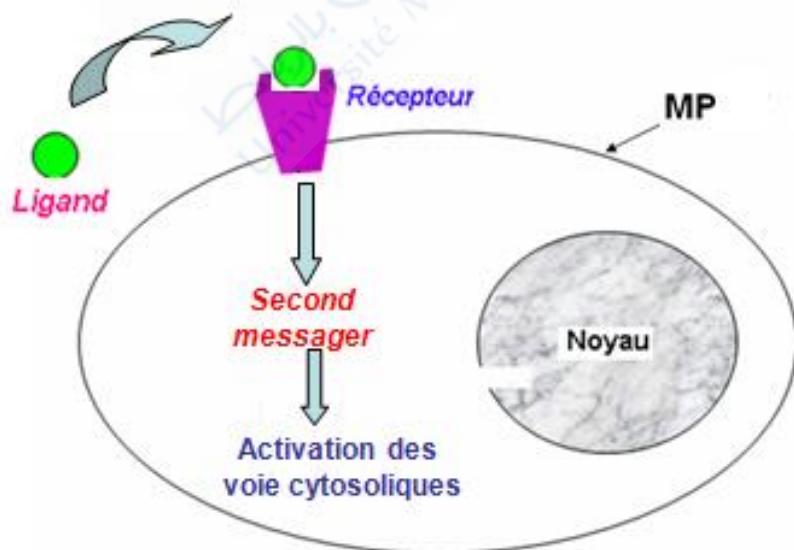
- Conséquence de la liaison ligand – récepteur

La formation du complexe ligand – récepteur membranaire sera suivie soit :

De l'internalisation : cas du LDL ou de l'insuline

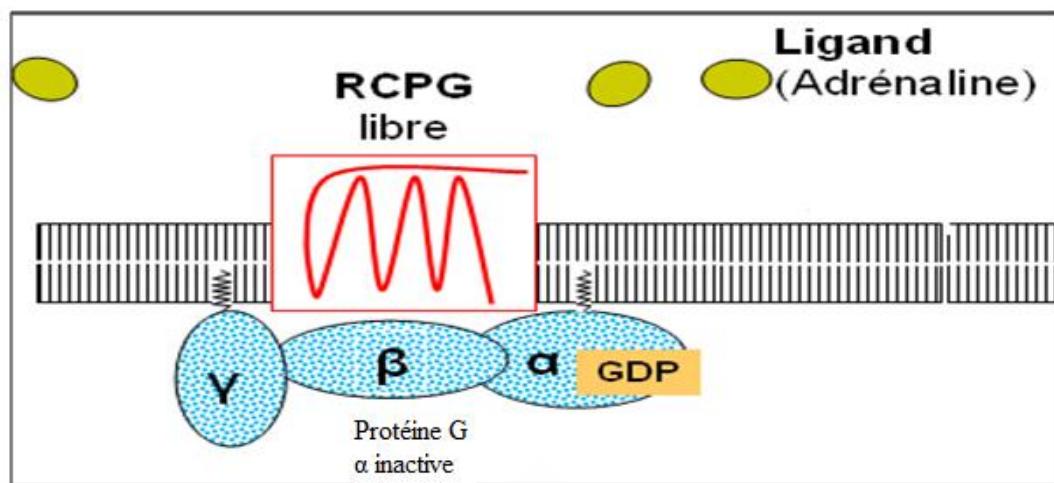


De l'activation (sans internalisation)

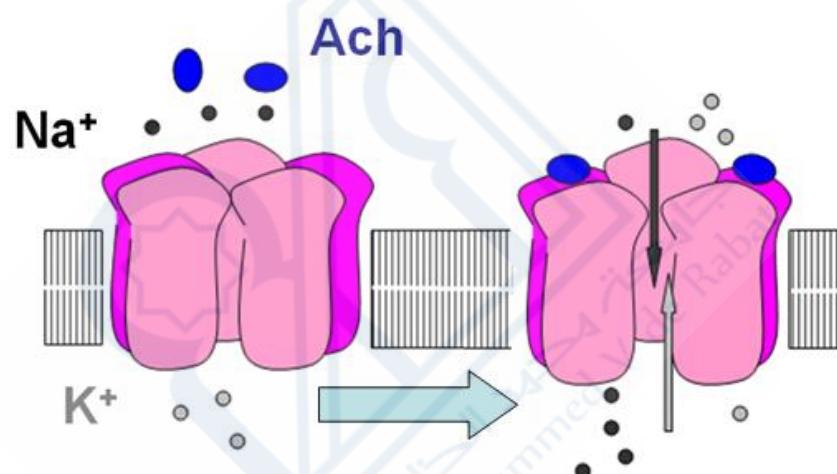


Les récepteurs de surface

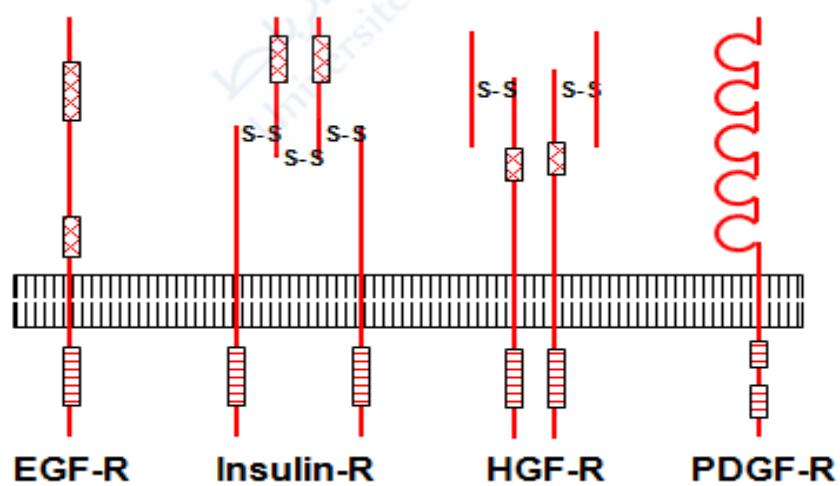
- RCPG



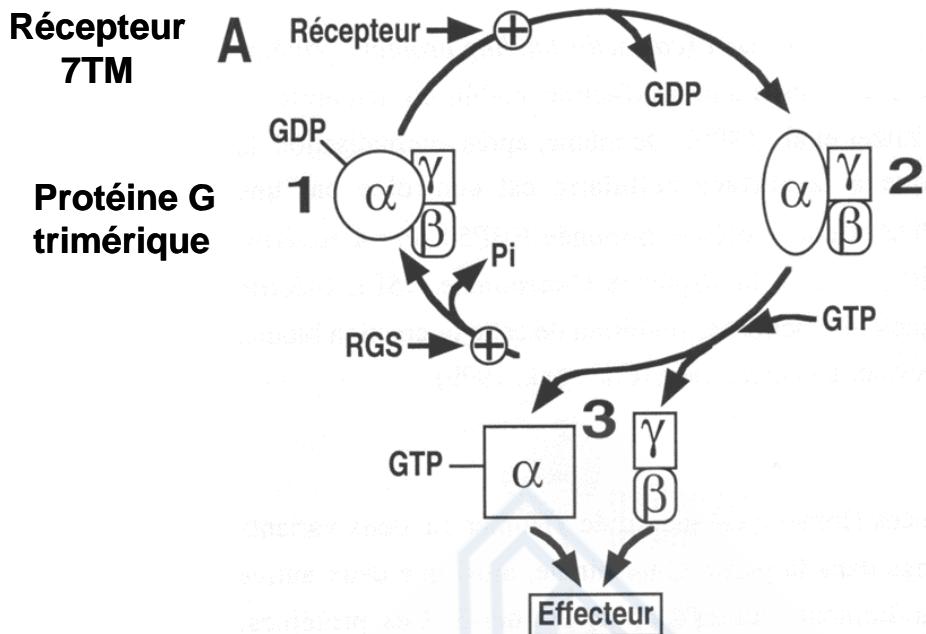
- Récepteurs canaux ioniques



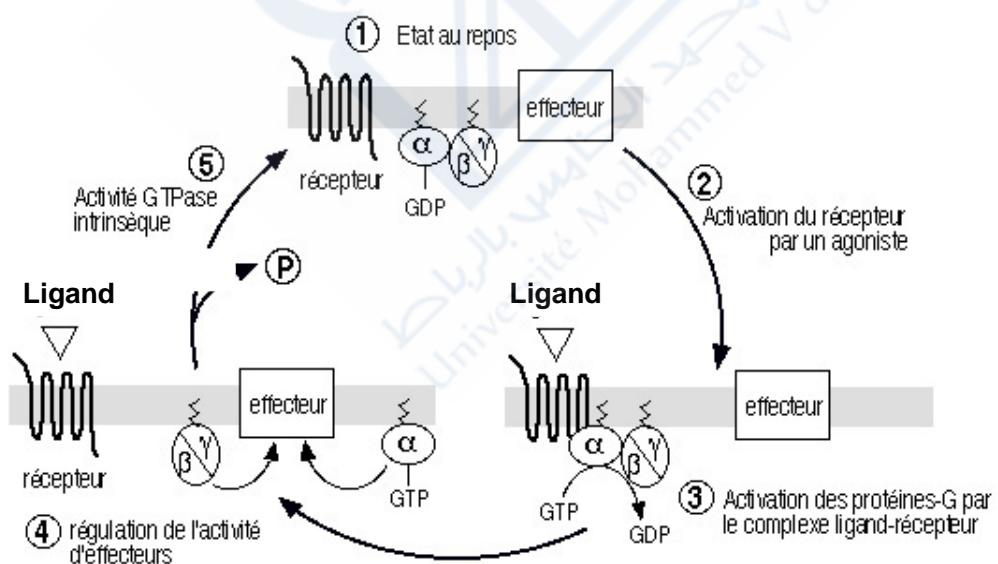
- Récepteurs catalytiques



Mécanisme de la signalisation médiée par un récepteur couplé à une protéine G

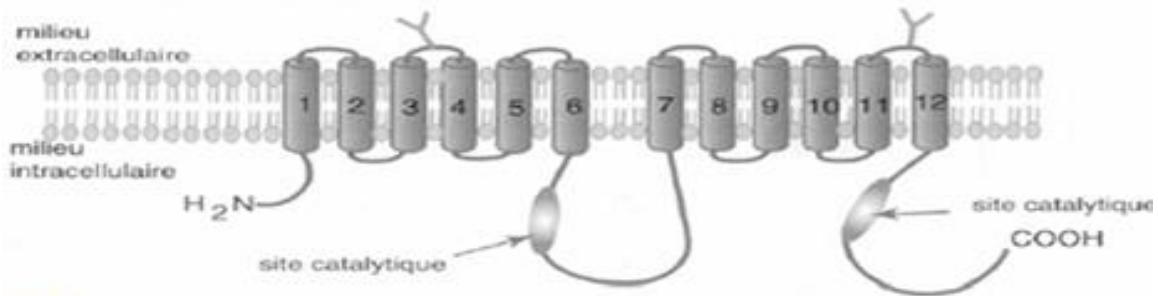


Cycle d'activation- inactivation d'une RCPG

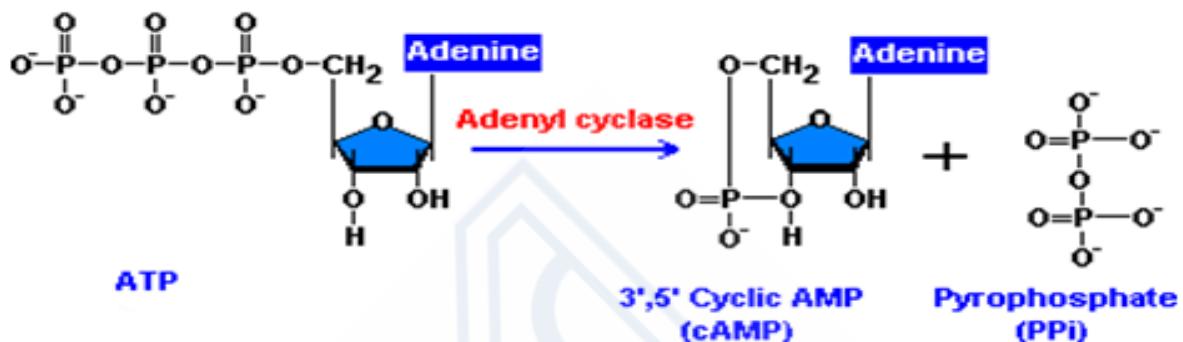


Voie de l'adénylate cyclase- AMPc

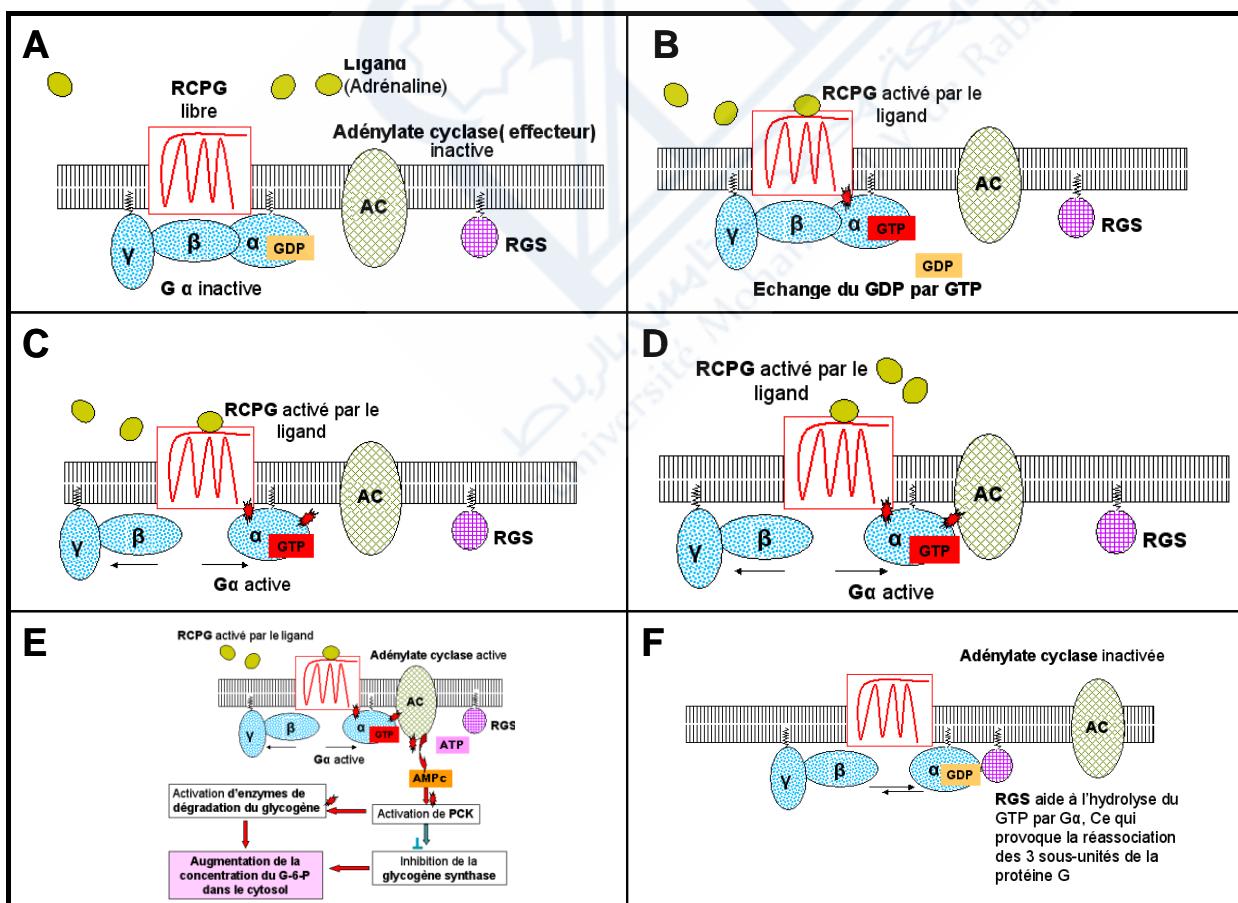
Effecteurs : adénylyl cyclases membranaires

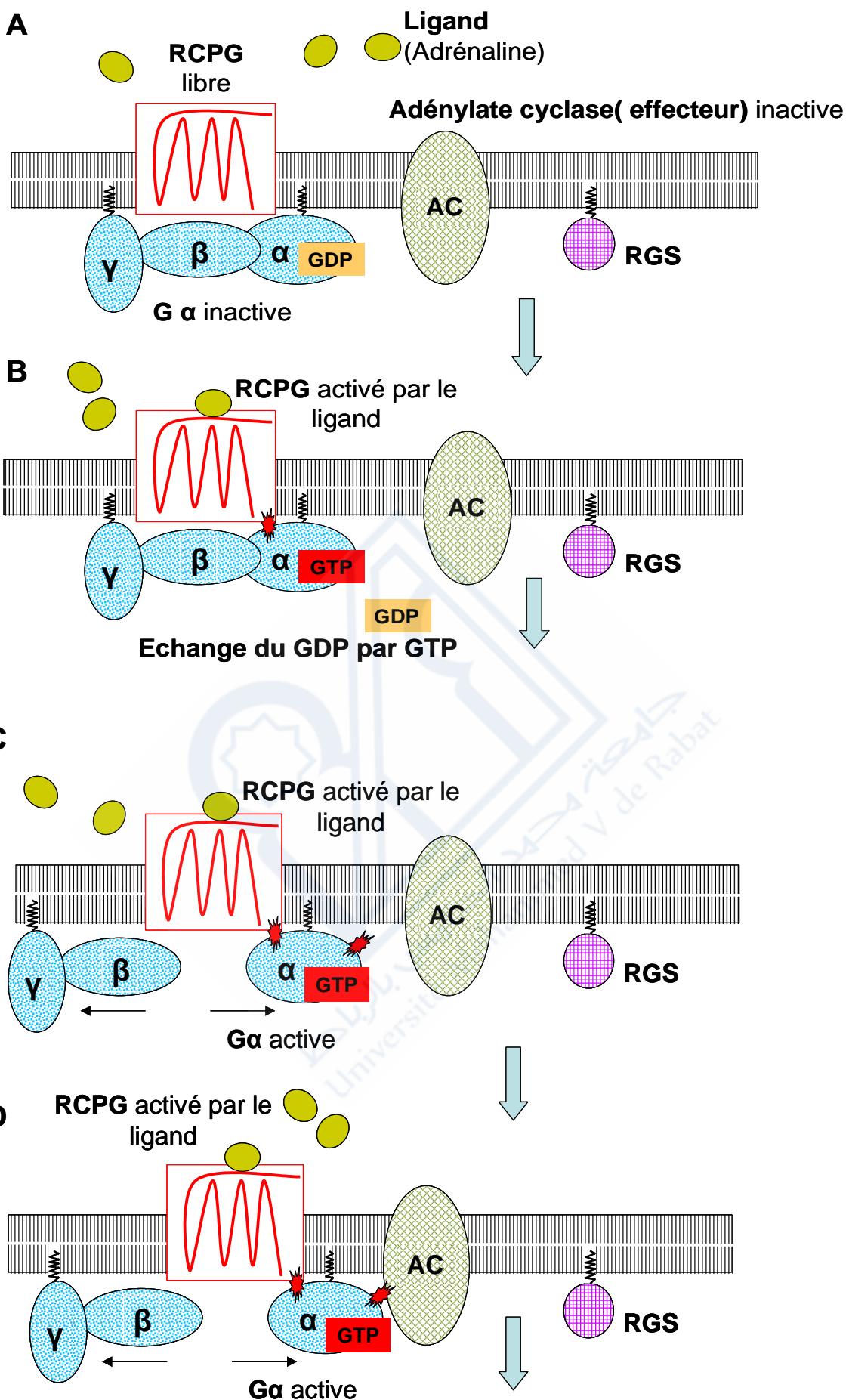


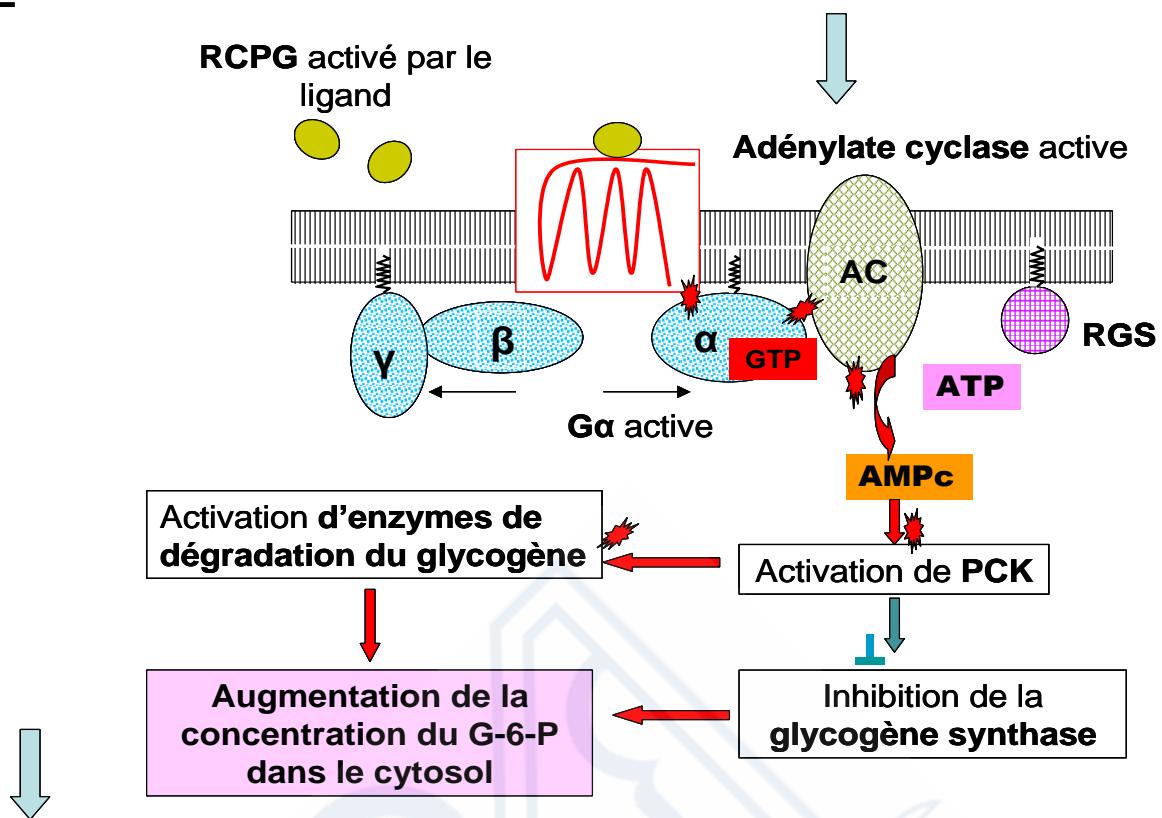
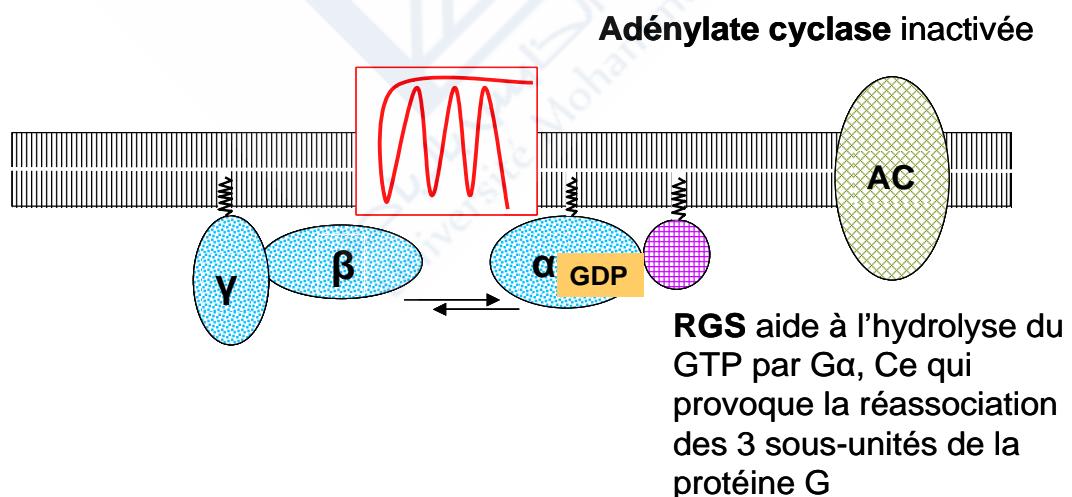
Formation de l'AMPc



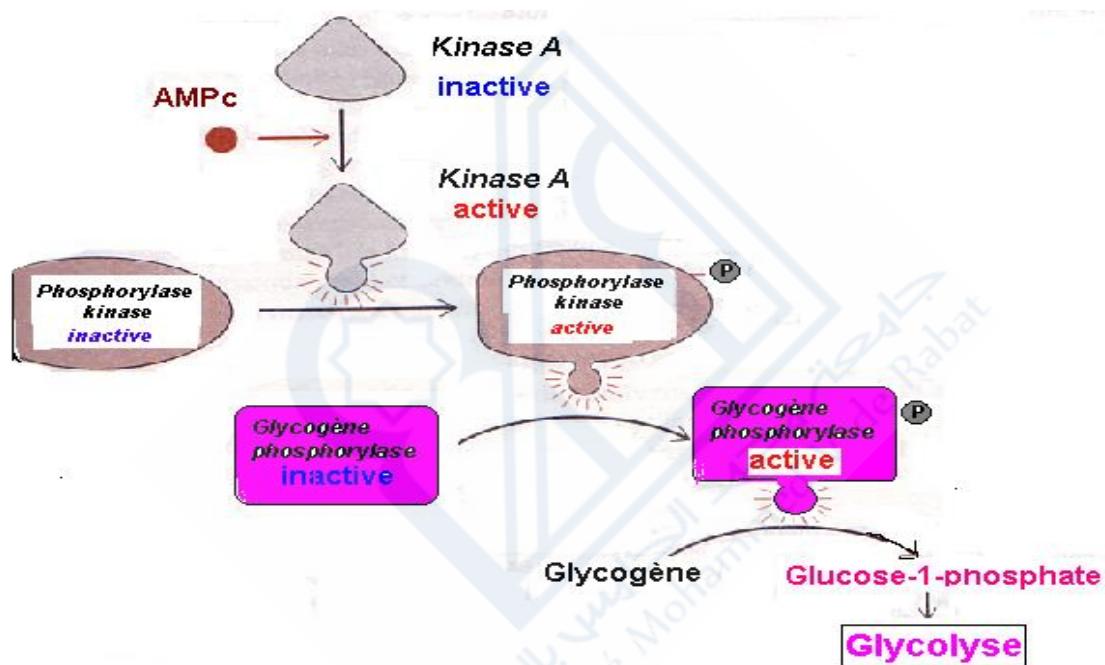
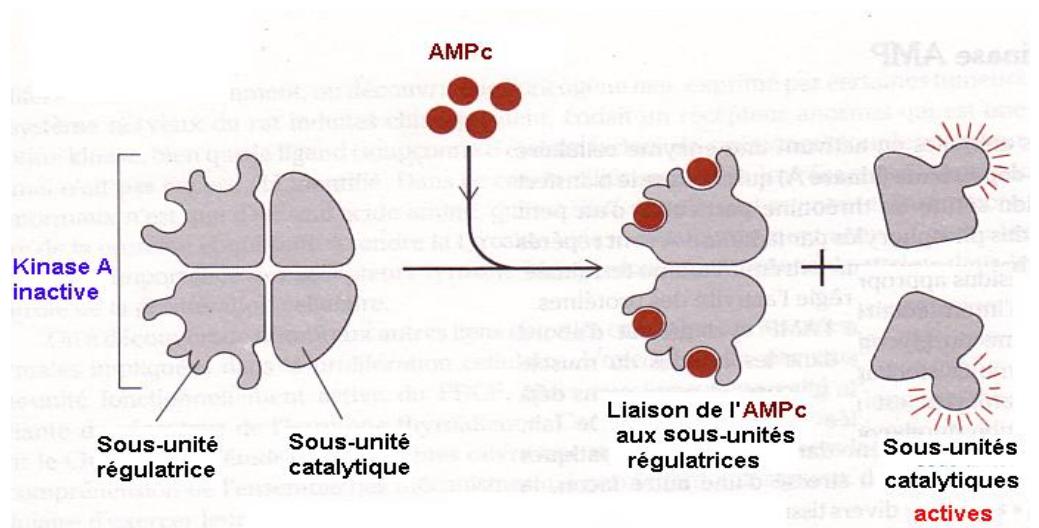
Les différentes étapes



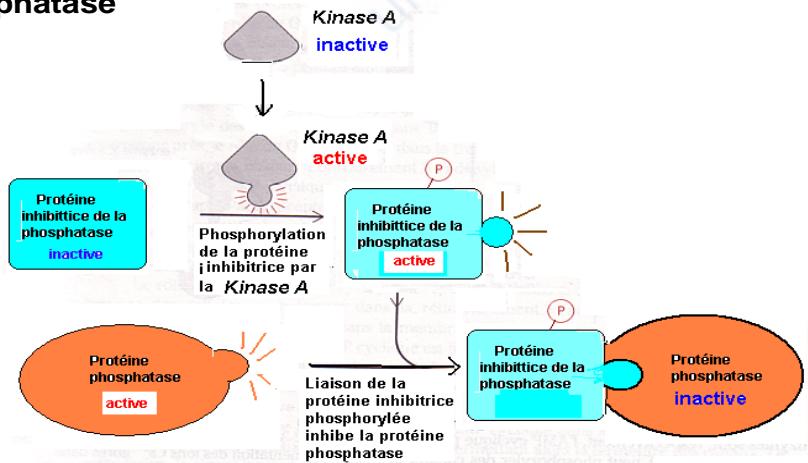


E**F**

Mode d'action de l'AMPc : activation de la glycolyse

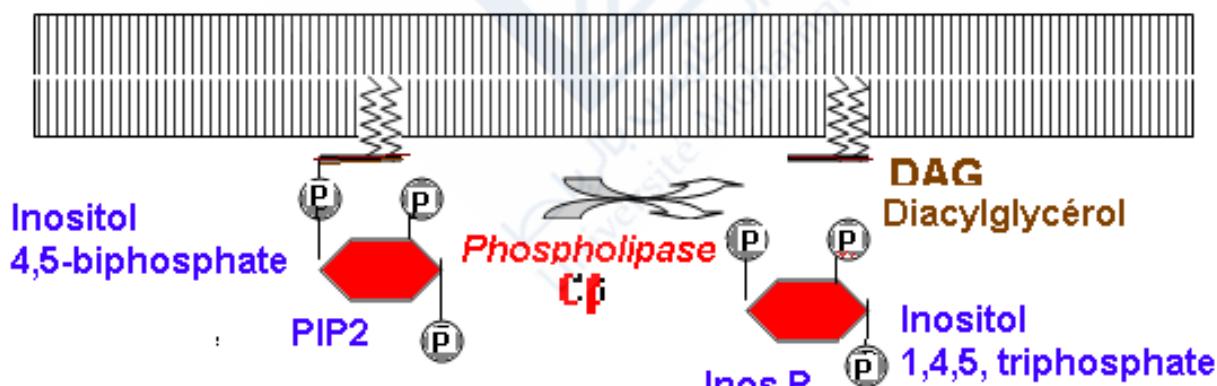
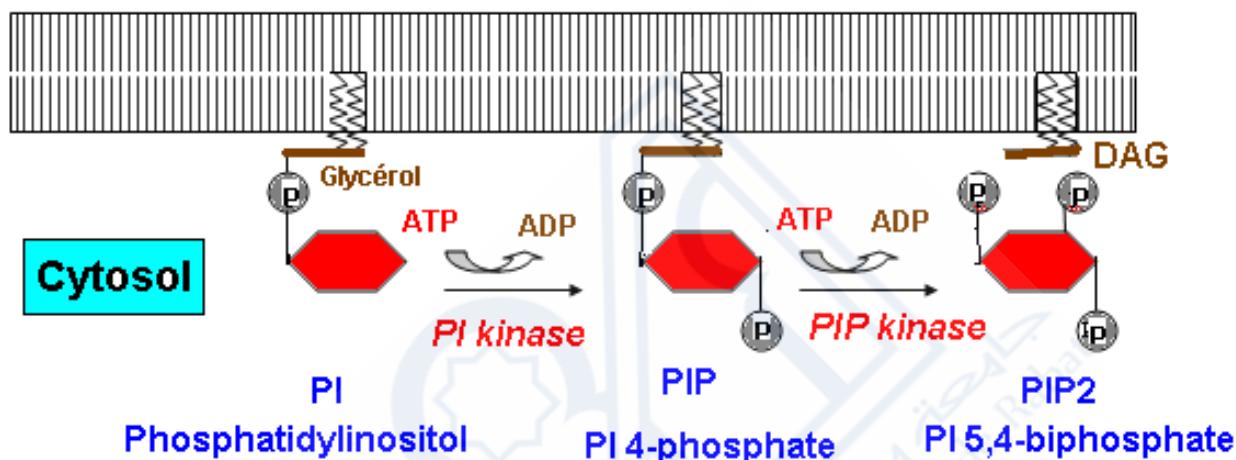
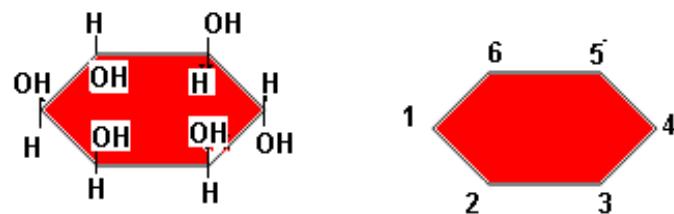


Mode d'action de l'AMPc : inhibition de la protéine phosphatase



Voie de la protéine Gq- phospholipase C β - Phosphoinositides

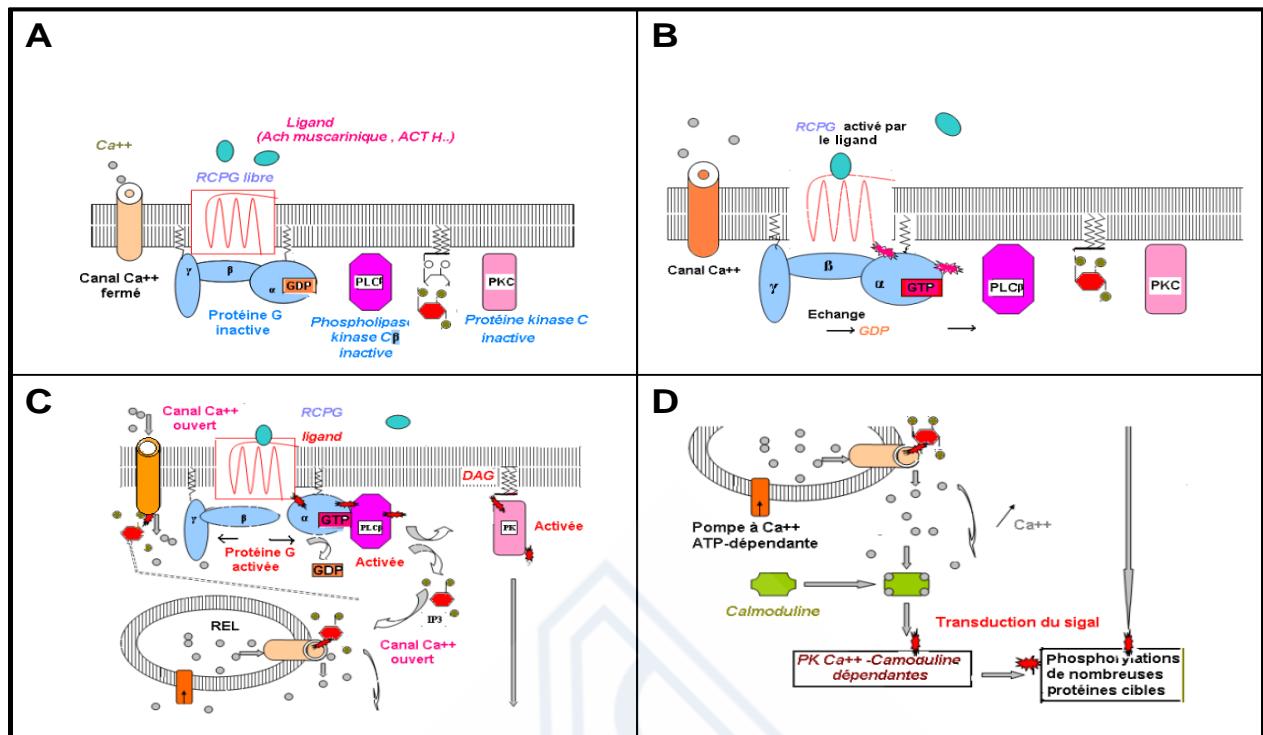
L'*inositol*
est un hexalcool
apparenté aux oses



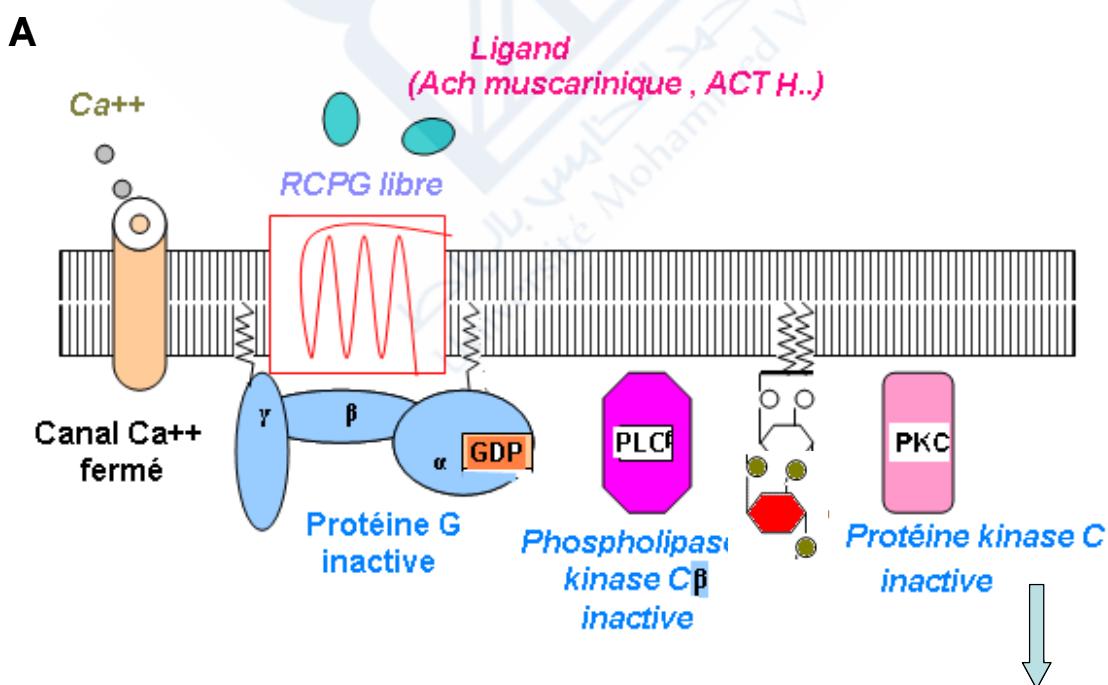
En réponse à une protéine G, une enzyme liée à la MP, la **phospholipase C β** clive la **PIP2** EN **IP3** et en **DAG**

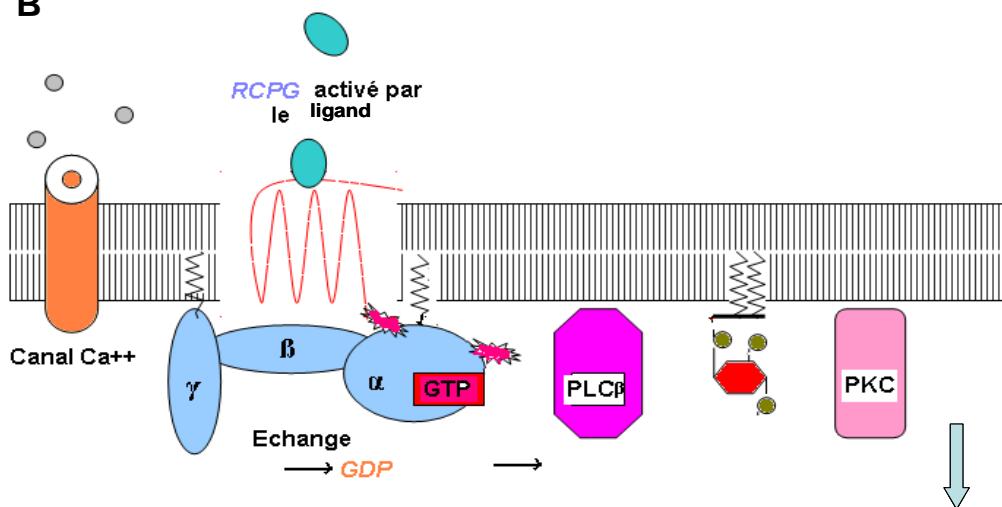
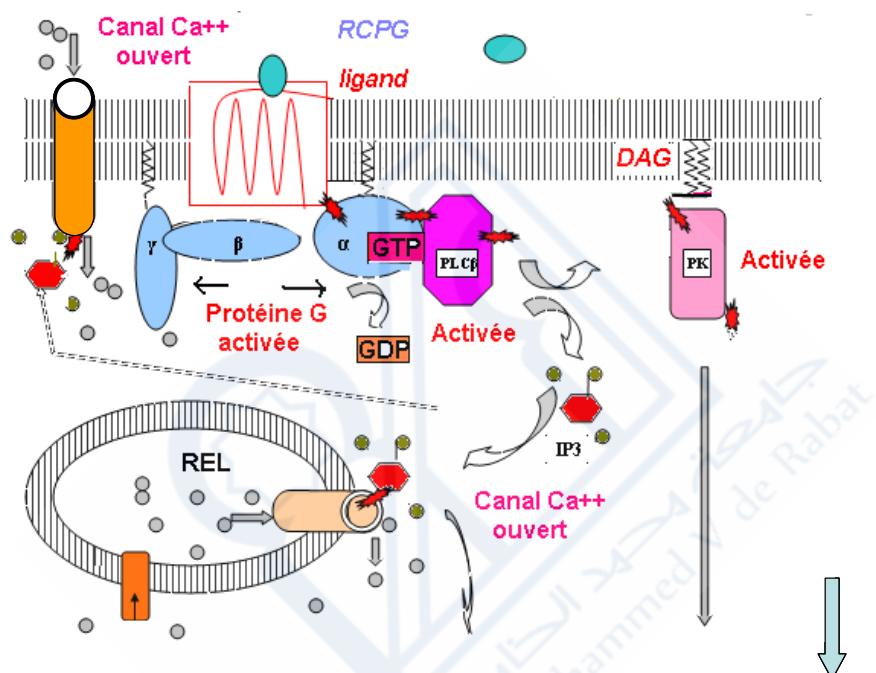
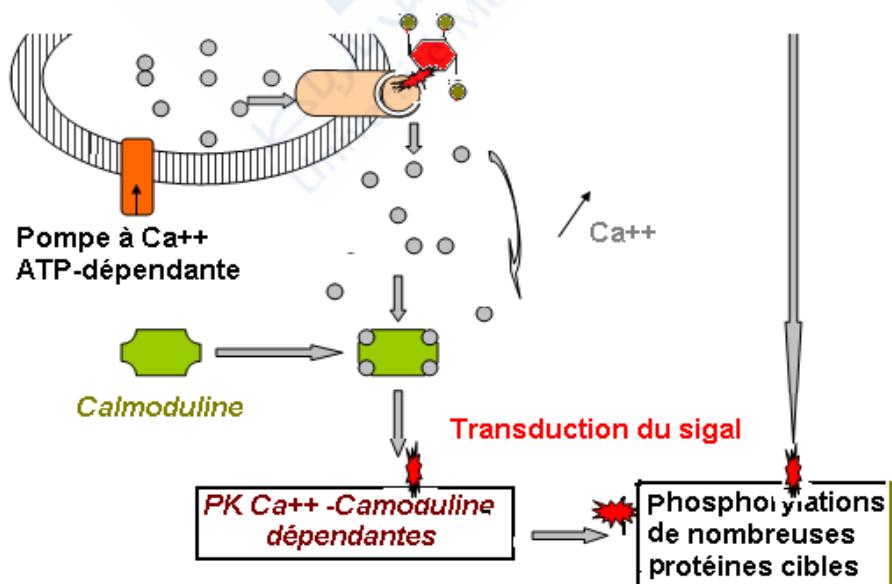
Les **inositolphosphates** et le **DAG** agissent comme seconds messagers

Les différentes étapes

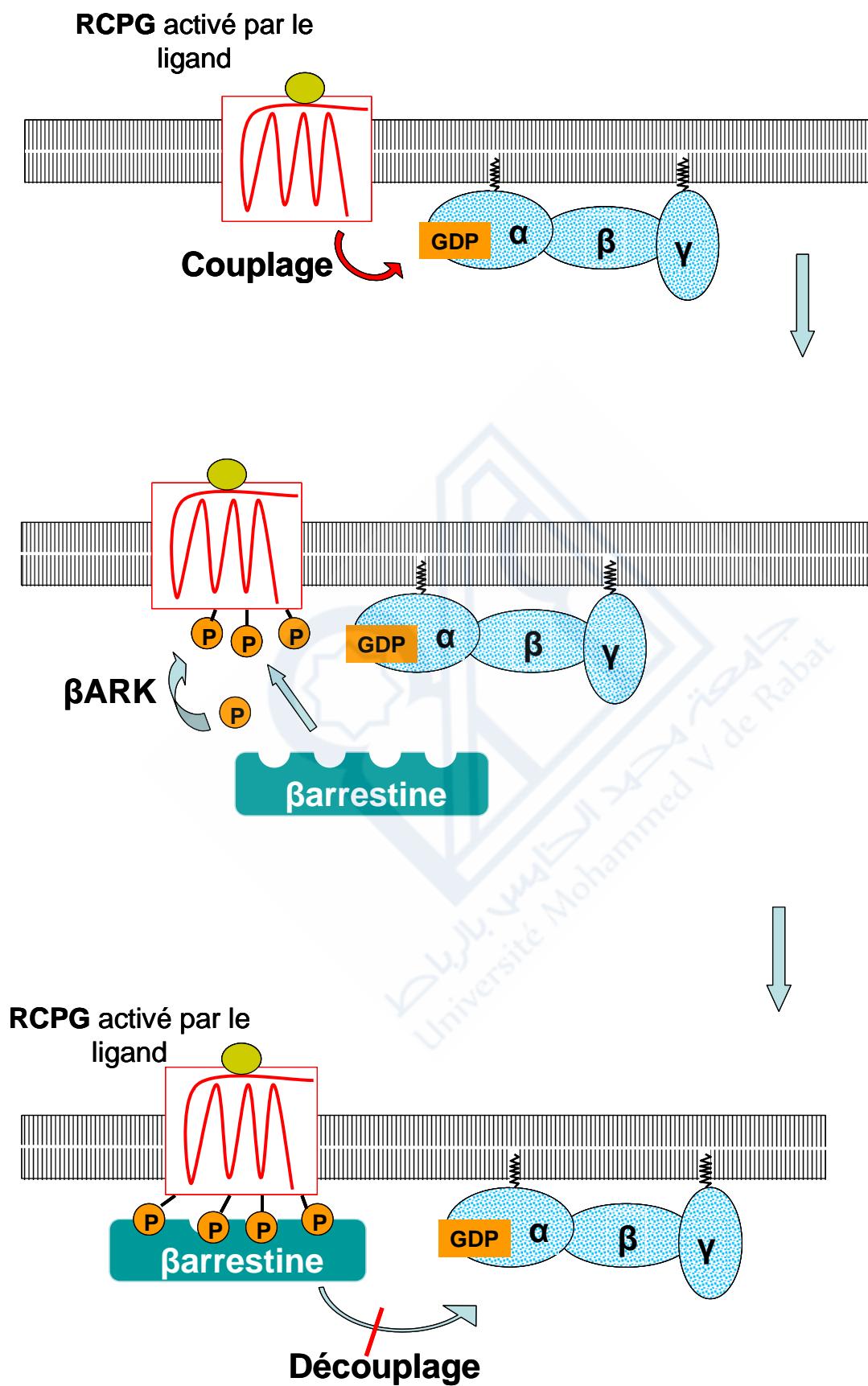


Les différentes étapes

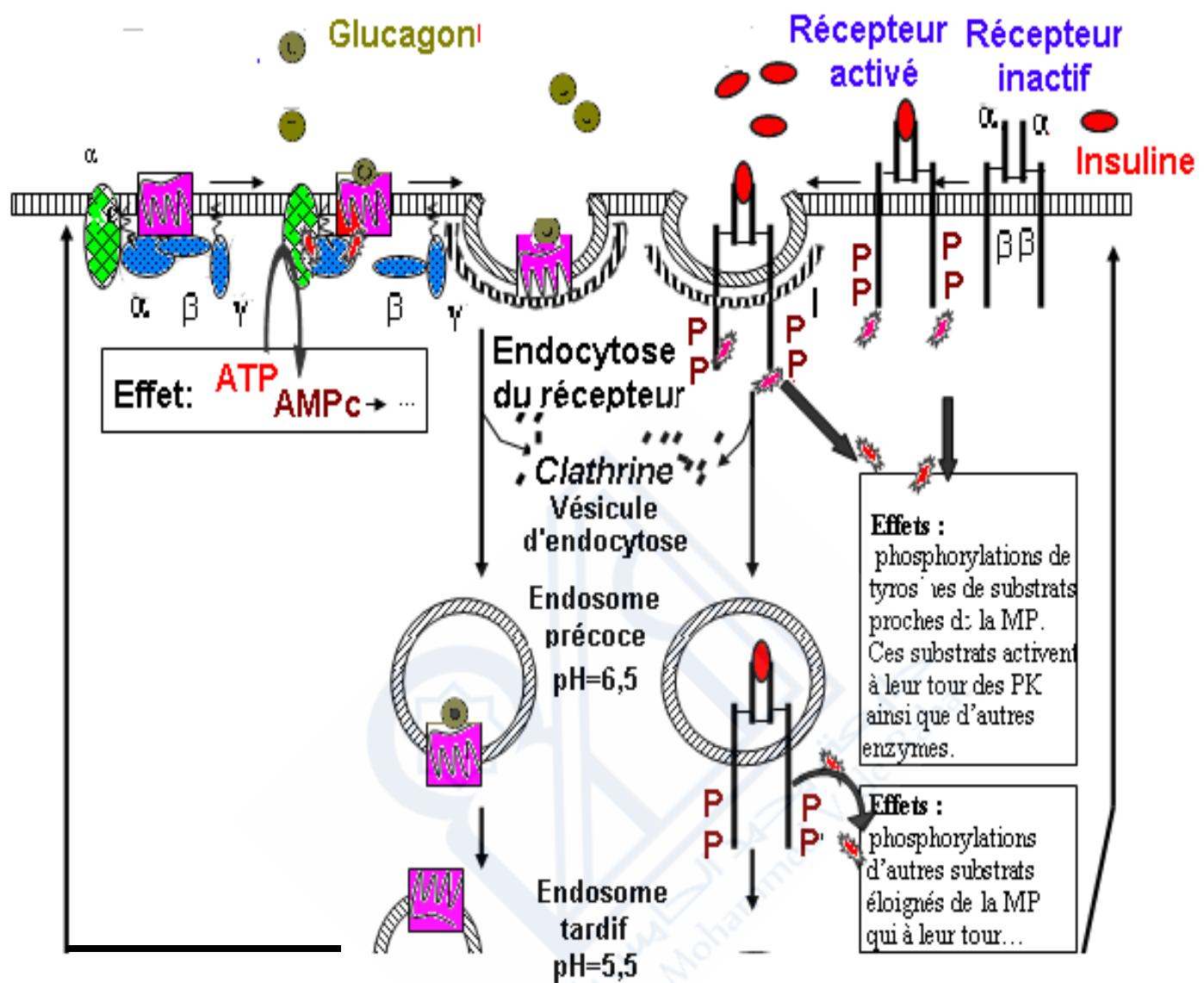


B**C****D**

Inactivation par phosphorylation



Voie du récepteur de l'insuline (et du glucagon)





2^{ème} année Médecine Sémiologie Chirurgicale Digestive 2018-2019

Ce polycopié est élaboré sous la coordination de :

Pr A. ZENTAR: Directeur d'UPR de Chirurgie Générale

PrF . SABBAH : Chef du départementmédico-chirurgicale

Ont participé à la rédaction de ce polycopié :

Pr F. Sabbah, Pr A belkhouchi, Pr L. Ifrine ; Pr malqi .O ; Pr mdaghri .j ; Pr masrouri ; Pr chefchaouni ; Pr hrora . ; Pr Ouanani ; Pr Absi ; Pr moujahid . PR benkabou

Pr M. Ahallat: Coordonnateur de la Sémiologie Chirurgicale

Pr M. Amraoui: membre du collège et coordonnateur de la commission de FMC

Pr S. Benamar: Membre actif de l'UPR

Pr H. Hachi : Membre du collège

Pr A. Hrora: Membre du collège

Pr A. Ait Ali : Membre du collège

Pr R MOUHCINE: Membre du collège et coordonnateur de la commission des stages

Pr M. raiss .m: Membre du collège et de la commission de FMC

SOMMAIRE

DIAGNOSTIC D'UNE DOULEUR ABDOMINALE AIGUE	10
LES PERITONITES AIGUES	14
LES OCCLUSIONS INTESTINALES AIGUES	19
LES HEMORRAGIES INTERNES	24
LES TRAUMATISMES DE L'ABDOMEN	27
MASSES PALPABLES DE L'ABDOMEN	32
SEMOLOGIE GENERALE DES TUMEURS	37
LES ICTERES RETENTIONNELS	41
SEMOLOGIE DES GOITRES ET DES NODULES THYROÏDIENS	45
SEMOLOGIE DE LA GLANDE MAMMaire	49
HERNIES ET EVENTRATIONS DE LA PAROI ABDOMINALE	53
SEMOLOGIE PROCTOLOGIQUE	57
INFECTION CHIRURGICALE AIGUE DES PARTIES MOLLES	63

PLAN DE COURS
MODULE : sémiologie chirurgicale
SOUS MODULE : sémiologie digestive

1. Identification du cours

UPR	Chirurgie viscérale et digestive
Titre du sous module	Sémiologie Chirurgicale Digestive
Période	1 ^{ère} semestre
Volume horaire	14 heures
Etudiants cibles	Etudiants de 2 ^{ème} année de Médecine
Lieu et heure	Salle des cours de la faculté de médecine et pharmacie rabat (Sites du stage)
Enseignants	Professeurs membres actifs de l'UPR
Coordinateur du sous module	Nommé annuellement par l'UPR
Contact	Directeur UPR : zentaraziz@gmail.com Coordinateur du module: ahallat@gmail.com Chef du département MC : faridsabbah@gmail.com
Site Web :	http://medramo.ma/

2. Introduction

Ce cours est l'un des quatre sous module formant le module sémiologie chirurgicale (sémiologie digestive, sémiologie traumato-orthopédique, sémiologie urologique, sémiologie vasculaire). Le contenu de l'enseignement est le même quelque soit le site du stage car il se réfère à un même polycopié de sémiologie digestive chirurgicale préparé par un groupe d'enseignants et validé par l'UPR de chirurgie générale. Le lieu (faculté de médecine et de pharmacie rabat) vise une intégration cours-stage.

3. But du cours

Ce cours vise à faire acquérir aux étudiants les compétences théoriques et pratique dans le domaine de la sémiologie digestive chirurgicale, en leur permettant d'acquérir la manière de relever un signe clinique(interrogatoire, examen physique) et d'analyser ce signe pour lui donner un sens c'est à dire une signification diagnostique

4. Les objectifs d'apprentissage

4-1 : Objectifs généraux

Au terme de ce cours l'étudiant doit être capable de :

1. Maitriser la technique de l'interrogatoire clinique en pathologie chirurgicale digestive pour transformer un symptôme (allégué par le patient) en signe à valeur diagnostique,
2. Maitriser la technique de l'examen physique des patients selon une approche topographique, ou fonctionnelle,
3. analyser le signe clinique relevé par l'interrogatoire et l'examen physique pour aller

- du signe au sens du signe,
4. évaluer la situation clinique pour reconnaître les grands syndromes dans le domaine des urgences chirurgicales digestives,
 5. initiation au raisonnement clinique : le recueil des signes en constitue la première étape et préparation des étudiants aux cours de pathologie chirurgicale.

4-2Programme et objectifs spécifique

Cours n°1 :Diagnostic d'une douleur abdominale aigue de l'adulte/Durée : 1 h

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Expliquer brièvement l'apport des données recueillies par un interrogatoire clinique mené de manière systématique devant une douleur abdominale aigue). --- Décrire la technique et les principaux signes cliniques que peut relever l'examen physique devant une douleur abdominale aigue. --- Organiser les données cliniques selon une orientation étiologique . 	<ul style="list-style-type: none"> --- Données à rechercher systématiquement par Interrogatoire pour donner un sens à une douleur abdominale aigue : liste de 13 questions. --- Comment conduire l'examen clinique et quel signe particulier à rechercher dans ce contexte d'urgence. --- Sémiologie analytique : regrouper les différentes données recueillies selon des vignettes évocatrices: abdomen aigu fébrile, abdomen aigu occlus, abdomen aigu hémorragique, abdomen aigu ischémique.

Cours n°2 :Les péritonites aigues/Durée : 1h 15mn

Objectifs :	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Expliquer les principaux faits et conséquences physiopathologiques au cours d'une péritonite aigue. --- Reconnaître au cours d'un abdomen aigu les signes cliniques et para cliniques d'une péritonite aigue. --- Identifier devant une péritonite aigue les signes permettant d'orienter vers l'origine de la péritonite. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Etiopathogénie des péritonites et processus immuno -inflammatoire au cours d'une péritonite. --- Conséquence sur les grandes fonctions de l'organisme : les défaillances viscérales et métaboliques. --- Signes cliniques d'une péritonite : le syndrome péritonéal. --- Particularités sémiologiques des principales péritonites : ulcéruse, appendiculaire gynécologique.

Cours n°3 :Les occlusions intestinales aiguës/Durée : 1h 15mn

Objectifs :	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Illustrer par des exemples les différents mécanismes d'une occlusion intestinale aigue. --- Expliquer de manière schématique les principaux faits physiopathologiques et leurs conséquences au cours d'une occlusion. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Occlusion mécanique≠occlusion fonctionnelle. --- Occlusion par strangulation≠ occlusion par obstruction. --- Physiopathologie d'une occlusion et explication des signes du syndrome occlusif. --- Signes fonctionnels d'une OIA. --- Signes physiques d'une OIA.

<ul style="list-style-type: none"> --- Diagnostiquer une occlusion intestinale sur l'anamnèse, les signes de l'examen physique et les données de l'ASP. --- Identifier au cours d'une OIA les signes permettant d'évoquer son mécanisme. --- Distinguer cliniquement et par l'ASP une occlusion grêlique d'une occlusion colique. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Signes radiologiques d'une OIA. --- Signes cliniques et radiologique d'une occlusion du grêle et d'une occlusion du colon : tableau comparatif --- Signes cliniques et radiologiques d'une occlusion par strangulation et d'une occlusion par obstruction : tableau comparatif.
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Cours n°4 :Les hémorragies internes/*Durée : 1h*

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Reconnaître cliniquement une hémorragie interne. --- Evaluer par la clinique et les examens para clinique la gravité d'une hémorragie interne. --- Identifier les signes cliniques et para clinique de l'hémopéritoine. --- Identifier les signes cliniques et para clinique de l'hémothorax. --- Enumérer les étiologies des hémorragies internes. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Circonstances cliniques devant lesquelles une hémorragie interne doit être évoquée de principe. --- Signes généraux et fonctionnels d'une hémorragie interne. --- Signes de l'examen physique d'une hémorragie interne : signes cutanés, signes cardiovasculaires, signes respiratoires, signes urinaires, signes neurosensoriels. --- Estimation de la perte sanguine et évaluation de la gravité de la situation. --- Particularités sémiologiques des principales situations rencontrées en clinique : hémopéritoine, hémothorax, saignement d'origine gynécologique

Cours n°5 :Les traumatismes de l'abdomen/*Durée : 1h*

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Définir les principaux termes employés en traumatologie abdominale. --- Relever les signes cliniques évoquant un traumatisme de l'abdomen. --- Relever les signes d'alarme traumatique imposant l'hospitalisation. --- Evaluer immédiatement par la clinique l'état d'un blessé pour reconnaître une urgence vitale. --- Evaluer secondairement par la clinique l'état d'un traumatisé de l'abdomen. --- Décrire les principaux tableaux cliniques. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Introduction définition et ampleur du problème. --- Définition des termes : contusion, plaie, plaie pénétrante ou non pénétrante, mécanisme direct ou indirect. --- Approche général et méthodique d'un traumatisé de l'abdomen : <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Quel malade doit-on hospitaliser ? <input type="checkbox"/> Critères d'alarme traumatique --- Evaluer les grandes fonctions et reconnaître les situations nécessitant un geste urgent. --- Examen méthodique en dehors de l'urgence. --- Principaux tableaux cliniques: tableaux évidents: (hémorragie interne, péritonite), tableau incertain.

Cours n°6 : Les masses palpables de l'abdomen/Durée : 1h 15mn

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Décrire les signes d'appel d'une masse abdominale. --- Décrire la technique de l'examen clinique et les éléments à préciser devant une masse abdominale. --- Identifier les caractéristiques cliniques des masses palpables de l'abdomen selon leur origine : rate, rein, foie, vésicule biliaire, pancréas, Gynécologique, péritoine, paroi, anévrisme. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Définition d'une masse abdominale, masse abdomino pelvienne, tumeur abdominale. --- Interrogatoire clinique d'un patient présentant masse abdominale: données concernant le patient lui-même, données concernant la masse. --- Conditions de l'examen clinique pour l'examen d'une masse abdominale notamment pour éliminer ce qui n'est pas masse abdominale : grossesse, fécalome, globe vésicale. --- Eléments à rechercher par l'inspection --- Caractéristiques palpatoires à rechercher devant une masse abdominale --- particularité sémiologique d'une masse d'origine hépatique, vésiculaire, rénale, splénique, pariétale, péritonéale, colique

Cours n°7 : Sémiologie générale des tumeurs/Durée : 1h

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Définir les termes : tumeur, tumeur bénigne, tumeur maligne, pseudotumeur. --- Emmettre l'hypothèse d'une tumeur devant un syndrome d'altération de l'état général. --- Illustrer par des exemples le diagnostic d'une tumeur par un syndrome endocrinien. --- Expliquer par des exemples ce que c'est un syndrome tumoral. --- Définir le syndrome para néoplasique. --- Organiser les données cliniques en syndromes : général, hormonal, tumoral, paranéoplasique. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Définitions : tumeur, masse, cancer, Caractères distinctif entre tumeur bénigne et tumeur maligne : tableau comparatif. --- Le syndrome général. --- Le Syndrome endocrinien:hormones, polypeptides --- Le Syndrome tumoral. --- Syndrome paranéoplasique : clinique, radiologique, biologique.

Cours n°8 : Les icteres rétentionnels/Durée : 1h 15mn

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Expliquer de manière schématique les conséquences physiopathologiques d'un obstacle sur les voies biliaires. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Physiopathologie de l'ictère obstructif.

<ul style="list-style-type: none"> --- Identifier chez un malade présentant un ictère les signes orientant vers sa nature obstructive. --- Situer le niveau de l'obstacle à la lumière des données cliniques et radiologiques. --- Identifier les signes en faveur de la nature lithiasique, ou tumorale de l'obstacle. 	<ul style="list-style-type: none"> - Signes cliniques d'un ictère choléstatique. --- Le syndrome biologique de la cholestase. --- Signes échographiques de l'ictère choléstatique. --- Signes tomodensitométrique. --- Sémiologie IRM. --- Principales étiologies
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Cours n° 9 :**Sémiologie des goitres et nODULES thyroïdiens/Durée : 1h**

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Définir les termes d'usage courant en pathologie thyroïdienne. --- Mener correctement l'interrogatoire et l'examen physique de la glande thyroïde. --- Identifier chez un patient présentant un goitre les signes cliniques et biologiques d'une hyperthyroïdie. --- Identifier chez un patient présentant un goitre les signes en faveur de la malignité. --- Connaitre les principaux examens complémentaires à demander devant un goitre ou nodule thyroïdien. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Définitions : goitre, nodule, goitre simple, goitre endémique, goitre sporadique, goitre multi hétéro nodulaire. --- interrogatoire d'un patient présentant un goitre. --- Technique de l'examen physique de la glande thyroïde. --- signes cliniques et biologiques de l'hyperthyroïdie. --- les signes de malignité d'un goitre : caractéristiques palpatoires, signes de compressions, adénopathies cervicales. --- Examens complémentaires.

Cours n° 10 :**Sémiologie de la glande mammaire/Durée : 1h**

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Mener correctement l'examen clinique du sein. --- Décrire les signes cliniques à préciser devant un nodule du sein. --- Décrire les signes cliniques et radiologiques en faveur de la malignité d'un nodule du sein. --- Décrire les particularités d'un nodule bénin du sein. --- Reconnaître les signes cliniques d'un abcès du sein. --- Connaitre les principaux examens complémentaires à demander devant une atteinte de la glande mammaire. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Conditions d'examen clinique du sein. --- Caractéristiques sémiologiques d'un nodule du sein --- Nodule Malin du sein : signes (cliniques, échographiques et mammographiques). --- Nodule bénin du sein : signes (Cliniques, mammographiques et échographiques). --- Abcès du sein. --- Examens complémentaires.

Cours n°11:Hernies et éventration de la paroi abdominale/Durée : 1h

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Définir : une hernie, une éventration, une éviscération. --- Mener correctement l'examen clinique d'un patient présentant une hernie de l'aine. --- Diagnostiquer cliniquement une hernie de l'aine non compliquée. --- Préciser les éléments cliniques aidant à différencier le type anatomique de la hernie l'aine. --- connaître les signes cliniques d'une hernie étranglée. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Définitions : hernie, éventration, éviscération. --- Hernies de l'aine : Interrogatoire, Examen physique (Inspection, Palpation, examen des orifices inguinal et crural, examen systématique des autres orifices herniaires). --- Caractéristiques sémiologiques d'une hernie non compliquée. --- Formes anatomiques de la hernie de l'aine : hernie inguinale, hernie crurale. --- signes cliniques d'une hernie de l'aine étranglée.

Cours n°12 : Sémiologie proctologique/Durée : 1h

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Mener correctement l'examen clinique en proctologie. --- Décrire les différents signes fonctionnels en proctologie. --- Définir les principales affections proctologiques. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Prérequis:Anatomie de l'anus et plancher pelvien. --- Examen proctologique: conditions, inspection, Toucher rectal. --- Interrogatoire : signes fonctionnels en proctologie. --- Principales affections proctologiques (Hémorroïdes, fissure anale, fistule anale, sinus pilonidal).

Cours n°13 : Infection chirurgicale aigue des parties molles/Durée : 1h

Objectifs	Contenus essentiels
<ul style="list-style-type: none"> --- Reconnaître cliniquement une inflammation suppurée des parties molles : abcès chaud, panaris et phlegmon de la main. --- Décrire les signes cliniques de la gangrène gazeuse. 	<ul style="list-style-type: none"> --- Infection suppurée des parties molles, description d'un abcès chaud : type de description de l'abcès de la fesse. --- Cas particuliers fréquents : le panaris, le phlegmon de la main. --- infection nécrosante des parties molles : type de description : la gangrène gazeuse.

5. Les méthodes d'enseignement et les activités d'apprentissage

Méthodes d'enseignement

- Cours intégré en petit groupe au sein d'un Service de Chirurgie.
- Stages de sémiologie dans un service de chirurgie.

Méthodes d'apprentissage :

- Préparation et lecture préalable du cours: polycopié disponible au service de regraphie de la FMPR.
- Cours en petit groupe : cas clinique réel ou dossier de patient illustrant aux référentiels notamment le polycopié de sémiologie.
- Travail personnel: ouvrages, CD d'auto-apprentissage (disponibles à la faculté), Sites Web.

6-Modalités d'évaluation

Examen final

- En fin de semestre, date fixée par la faculté
- Durée : 30 mn
- Modalités: - questions rédactionnelles
-cas clinique

Barème: Note/20, le barème détaillé est précisé le jour de l'examen.

7. Autres informations

- Polycopié à retirer avant le début des cours (service de regraphie) si non un CD contenant l'ensemble des cours sera remis à un représentant des étudiants pour duplication et tirage.

DIAGNOSTIC D'UNE DOULEUR ABDOMINALE AIGUE NON TRAUMATIQUE DE L'ADULTE

Prérequis : Anatomie topographique de l'abdomen

Objectifs :

- Décrire les caractéristiques sémiologiques d'une douleur abdominale aigue non traumatique
- Savoir réaliser l'examen clinique d'un patient présentant une douleur abdominale aigue
- Reconnaitre les signes de détresse vitale
- Connaître les principales étiologies responsables d'une douleur abdominale aigue

1. INTRODUCTION –DEFINITION

La douleur abdominale **AIGUE** est définie par sa survenue brutale et une durée d'évolution de moins de 7 jours en dehors de tout contexte traumatique.

Motif fréquent de consultation aux urgences, elle peut révéler plusieurs pathologies abdominales : digestives urologiques vasculaires..., voire des causes extra-abdominales.

C'est un **symptôme** qui peut révéler une **urgence** médicale ou chirurgicale pouvant menacer le pronostic vital.

2. EXAMEN CLINIQUE

Il doit être complet et méthodique, englobant l'abdomen et tous les autres appareils.

Il doit étudier la gravité du tableau clinique en recherchant les signes de détresse vitale, sélectionner les patients relevant d'une hospitalisation et d'une prise en charge médicale ou intervention chirurgicale urgente.

Il doit recueillir les éléments d'orientation pour le diagnostic étiologique.

1. Signes de détresse vitale

3 situations peuvent engager le pronostic vital à court terme, le patient doit être immédiatement hospitalisé et admis en unité de soins intensifs :

- Troubles de conscience** : agitation, obnubilation ou coma (GCS¹). Ceci peut être la conséquence de la défaillance hémodynamique
- Etat de choc hémodynamique** : TA<100mmHg, Tachycardie >100/mn, SaO₂<90%, oligurie (<30ml/h)
- Détresse respiratoire** : cyanose, polypnée, sueurs

2. Interrogatoire

Il doit recueillir les antécédents médico-chirurgicaux, les prises médicamenteuses, les prises de toxiques (alcool, tabac...),

Il doit également préciser les caractéristiques sémiologiques de la douleur

1. **Mode de début** : survenue brutale d'emblée ou intensité progressivement croissante. Chercher le caractère récurrent de la douleur.
2. **Type de douleur** : crampe, pesanteurs, torsion ou brûlures
3. **Siège** : initial est indiqué par le patient. Son siège sur le quadrant abdominal peut orienter sur l'organe en cause. Ensuite la douleur peut rester localisée ou se généraliser à tout l'abdomen.
 - Douleurs hépatobiliaires : hypochondre droit et épigastre
 - Douleurs ulcérées et pancréatiques : l'épigastre
 - Appendicite aigue : fosse iliaque droite

- Sigmoïdite diverticulaire : fosse iliaque gauche
- Douleurs rénales : fosses lombaires

4. **Irradiations** : certaines sont typiques orientant vers l'étiologie

- Colique hépatique : douleur de l'hypochondre droit qui irradie vers la région scapulaire droite.
- Colique néphrétique : douleur lombaire irradie vers les organes génitaux externes.

5. **Caractère évolutif** de la douleur :

La douleur peut être permanente sans accalmie (ex : péritonite) ou intermittente et rythmée dans la journée (douleur intestinale, biliaire)

Une douleur intense qui ne cède pas prend un caractère urgent et doit faire chercher une urgence médicale ou chirurgicale.

6. **Facteurs déclenchant ou soulageant** la douleur : ils peuvent déclencher une douleur ou l'aggraver, comme ils peuvent la soulager.

Une position particulière, un médicament, repas copieux, le jeun, l'effort, émission de gaz ou de selles

7. **Signes associés** :

-Signes généraux : fièvre, anorexie, amaigrissement

-Signes digestifs : modification du transit intestinal (diarrhée, constipation, arrêt du transit intestinal), nausée, vomissement, hémorragie digestive (hématémèses, mélèna, rectorragie)

-Signes extra-digestifs : signes urinaires (brûlures mictionnelles, dysurie, rétention d'urine, hématurie), signes gynécologiques (date des dernières règles, métrorragie, aménorrhée, leucorrhée) ...

8. **Examen physique**

Réalisé chez un patient en décubitus dorsal, aussi détendu que possible, jambes semi-fléchies.

1. **Examen général**

-Apprécie l'état de conscience, l'état respiratoire, prise de température

-Mesure de la TA, chercher pâleur cutanéo-muqueuse, ictère cutanéo-muqueux

-Mesure du poids, de la taille, calcul de l'IMC (Index de Masse Corporelle : Kg/m²)

2. **Examen abdominal**

1. **Inspection** :

Rechercher cicatrice d'intervention, voissure abdominale, ballonnement, trouble de respiration abdominale

2. **Palpation**

Précise le siège de la douleur, recherche une défense² ou contracture³ abdominale. Réalise l'examen des orifices herniaires, des organes génitaux externes, chercher un globe vésical⁴ et l'examen des fosses lombaires (rechercher un contact lombaire⁵)

3. **Percussion**

Chercher un tympanisme abdominal (distension intestinale), matité déclive des flancs (épanchement liquidiens intra-péritonéal abondant)

4. **Auscultation**

Permet d'entendre les borborygmes (bruits intestinaux normaux). Ils sont augmentés en cas d'obstruction intestinale, ou complètement absents en cas d'iléus paralytique.

Il faut également chercher un souffle vasculaire abdominal (absent normalement).

5. **Les touchers pelviens**

Les touchers rectal (TR) et vaginal (TV) font partie intégrante de l'examen.

Le TR renseigne sur la prostate chez l'homme, l'état du rectum (présence de selles, tumeur, sténose rectale, rectorragie), peut palper le cul de sac de Douglas (douloureux en cas de péritonite).

Le TV chez la femme cherche des leucorrhées, une douleur des culs de sac vaginaux ou à la mobilisation utérine.

6. EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

Ils sont demandés en fonction du contexte clinique et du diagnostic suspecté. Leurs rôles est de confirmer un diagnostic suspecté afin d'aider à prendre une décision thérapeutique.

1. Examens biologiques :

- Numération formule sanguine, ionogramme sanguin, urée créatinine, glycémie, bilan d'hémostase (apprécient les paramètres biologiques du patient)
- CRP, bilan hépatique (Bilirubine totale et directe, ALAT⁶, ASAT⁷, γGT⁸, phosphatases alcalines), lipasémie (suspicion de pancréatite aigüe)
- Dosage de la Troponine (élevée en cas d'infarctus du myocarde), dosage de la procalcitonine⁹

2. Examens radiologiques

- L'abdomen sans préparation (ASP) peut montrer un pneumopéritoïne (perforation d'un organe creux), des niveaux hydro-aériques (occlusion intestinale).
- L'échographie abdominale très utile en cas de suspicion de pathologie biliaire, d'appendicite ou pathologie urinaire ou pelvienne. Elle est limitée par la distension intestinale (gaz) et elle est opérateur dépendant
- L'examen fondamental est la tomodensitométrie (TDM) ou scanner abdominopelvien. Permet une orientation étiologique dans 90% des douleurs abdominales en urgence

3. Autres examens

D'autres examens peuvent réalisés en fonction du contexte clinique et diagnostics suspectés :
à titre d'exemples :

- Examens cardioliques : Electrocardiogramme (ECG) et échographie cardiaque, dosage de la troponine¹⁰ : en cas de suspicion ischémie coronarienne avec risque d'infarctus du myocarde.
- Echographie pelvienne et βHCG¹¹ : chez une femme jeune, avec retard de règles, suspicion de grossesse extra-utérine

4. PRINCIPALES ÉTOLOGIES

Plusieurs étiologies peuvent être responsables d'une douleur abdominale aiguë. Certaines peuvent être traitées médicalement (causes médicales) d'autres nécessitent une intervention chirurgicale (causes chirurgicales). Nous allons en citer les plus fréquentes

1. Causes médicales

Crise ulcèreuse aiguë

Entérite ou gastro-entérite

Colique néphrétique

Infarctus du myocarde

Accès palustre

Crise de porphyrie

2. Causes chirurgicales

Perforation d'ulcère duodénal : tableau de péritonite aiguë

Appendicite aiguë

Cholécystite aiguë (complication de la lithiasis vésiculaire)

Pancréatite aiguë

Occlusion intestinale aiguë : portant sur le grêle ou colon d'origines diverses

Sigmoïdite aiguë

Grossesse extra-utérine

Réention aigue d'urine : hypertrophie de la prostate (bénigne ou maligne)
Infarctus mésentérique
Rupture d'anévrisme de l'aorte abdominale

DEFINITIONS, ABREVIATIONS :

- 1** : GCS : Glasgow Coma scale ou échelle de Glasgow : est un indicateur de l'état de conscience
- 2** : Défense abdominale : réaction pariétale entraînant une contraction musculaire involontaire qui reste initialement dépressible
- 3** : Contracture abdominale : contraction douloureuse, permanente et invincible des muscles de la paroi abdominale antérieure « ventre de bois »
- 4** : Globe vésical : masse douloureuse palpée dans l'hypogastre, grosse vessie pleine (réention aigue d'urine)
- 5** : Contact lombaire : la main antérieure refoule la masse rénale qui vient buter contre la main postérieure qui palpe la fosse lombaire
- 6** : ALAT (ou SGPT) : Alanine-Aminotransférase (ou Sérum Glutamopyruvate Transférase)
- 7** : ASAT (ou SGOT) : Aspartate-Aminotransférase (ou Sérum Glutamooxaloacétate) Transférase)
- 8** : γGT : gamma-glutamyltranspeptidase
- 9** : Procalcitonine : prohormone dont le taux sanguin s'élève et peut être mesuré en routine de façon précoce et spécifique lors d'une infection bactérienne
- 10** : Troponine : protéine qui entre dans la constitution des fibres musculaires et du muscle cardiaque ; élevée en cas d'ischémie coronarienne
- 11** : βHCG : β-humanchorionicgonadotropin, augmentée si grossesse

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

PATERON D, COLIGNON N. Douleurs abdominales aiguës non traumatiques. EMC - Médecine d'urgence 2017;12(1):1-7 [Article 25-050-A-20].

CHEREAU N, MENEGAUX F. Douleur abdominale aiguë non traumatique. EMC - Traité de Médecine Akos 2018;13(2):1-11 [Article 1-0418].

<http://www.e-semio.org/>

http://www.e-semio.org/spip.php?page=tableautype12&id_rubrique=1275

LES PERITONITES AIGUES

Objectifs :

- Expliquer les principaux faits et conséquences physiopathologiques au cours d'une péritonite aigue
- Reconnaître au cours d'un abdomen aigu les signes cliniques et para cliniques d'une péritonite aigue
- Identifier devant une péritonite aigue les signes permettant d'orienter vers l'origine de la péritonite

I-DEFINITION- INTRODUCTION

- Le terme de péritonite aigue signifie:
 - ✓✓ Littéralement inflammation aiguë de la séreuse péritonéale
 - ✓✓ Dans le langage médical courant : épanchement péritonéal plus ou moins septique suivant l'étiologie
- C'est une urgence chirurgicale diagnostique et
- thérapeutique Elle peut mettre en jeu le pronostic vital

II- ETIOPATHOGENIE

Une péritonite aigue est en général la conséquence d'une inoculation chimique et/ou septique du péritoine à partir d'un viscère péritonéal : on parle de péritonite secondaire.

Cette contamination peut se faire par :

- ✓✓ Perforation d'un organe creux : la brèche est apparente, secondaire à une inflammation (exemple : ulcère gastroduodénal perforé) ou a un traumatisme
- ✓✓ Diffusion de l'infection à partir d'un foyer septique : ici la brèche est inapparente (exemple : appendicite)

Quand il n'y a ni brèche, ni foyer septique on parle de péritonite primitive

III-PHYSIOPATHOLOGIE

III-1- REACTIONS PERITONEALES ET RETENTISSEMENT LOCOREGIONAL

❖❖ Sécrétion d'un liquide sérofibrineux

Le péritoine se défend à l'inoculation de la cavité péritonéale par l'exsudation d'un liquide sérofibrineux. Des substances (cytokines, complément...) sont sécrétés et vont initier une réaction immuno-inflammatoire avec libération de produits vaso-actifs. Ces derniers entraînent au niveau sous péritonéal une vasodilatation capillaire importante permettant la sécrétion d'un liquide abondant riche en immunoglobulines, opsonines, fibrinogène ; polynucléaires, macrophages et ayant un pouvoir bactéricide car tous ces facteurs contribuent

- la lutte anti-infectieuse par :

- ✓✓ phagocytose,
- ✓✓ cloisonnement de l'infection grâce à la formation d'adhérences qui peuvent, au début, être responsables de l'exclusion de foyers infectés et formation d'abcès.

Ces abcès peuvent se rompre secondairement et entraîner une péritonite (péritonite en deux temps).

Ces réactions péritonéales sont loin d'être toujours suffisantes et bénéfiques avec :

- ❖❖ Résorption des germes et de leurs toxines avec risque septicémique;
- ❖❖ Fragilisation des tissus avec risque accru de désunion des sutures et de complications infectieuses pariétales (abcès, éviscérations) ;
- ❖❖ Irritation des terminaisons nerveuses sensitives du péritoine avec réponse réflexe :
 - Au niveau de la paroi abdominale (douleurs et contracture) ;
 - Au niveau de l'intestin (iléus paralytique avec constitution d'un troisième secteur liquidien).

La péritonite peut se définir par trois éléments anatomiques :

- Un **épanchement péritonéal**
- Des **altérations du péritoine**, épaisse, dépoli, recouvert de fausses membranes ;
- Des **adhérences**.

III-2- RETENTISSEMENT GENERAL

Les grandes fonctions de l'organisme seront altérées avec

- ❖❖ **Défaillance hémodynamique** : elle résulte de
 - L'hypovolémie (fuite plasmatique dans la cavité péritonéale, troisième secteur de l'iléus paralytique)
 - Modification des résistances capillaires
 - Incompétence myocardique
- ❖❖ **Défaillance rénale** : due à la chute du flux sanguin rénal et à la diminution du débit de la filtration glomérulaire liée à l'hypovolémie et à l'action directe des toxines bactériennes
- ❖❖ **Défaillance respiratoire** *elle découle de la :*
 - Diminution de la fonction ventilatoire par mauvais jeu diaphragmatique à cause de la douleur, la distension et la contracture pariétale. Elle conduit à l'atélectasie des bases pulmonaires.
 - Formation d'épanchements pleuraux réactionnels à l'épanchement septique intra péritonéal sous jacent.
 - Diffusion de produits toxi-infectieux altérant la perméabilité de la membrane alvéolo-capillaire et entraînant un œdème pulmonaire aigu lésionnel voir un syndrome de détresse respiratoire aigue (SDRA)

❖❖ Défaillance hépatique

- Avec hépatite aigue infectieuse et diminution de la synthèse hépatique expliquant les troubles de la coagulation et l'ictère

IV-SEMOLOGIE CLINIQUE : LE SYNDROME PERITONEAL

Indépendamment de son étiologie, la PAG se traduit par un syndrome péritonéal constitué de signes fonctionnels, généraux et physiques

IV-1 : SIGNES FONCTIONNELS

IV-1-1 : Douleur abdominale

- ❖❖ Brutale : le malade peut préciser l'horaire exact
- ❖❖ Très intense (violente) ; d'emblée maximale
- ❖❖ En coup de poignard
- ❖❖ Rapidement généralisée
- ❖❖ Son siège et ses irradiations initiales peuvent avoir une valeur étiologique

IV-1-2 Vomissements

- ❖❖ Sont inconstants, précoces, répétés, alimentaires, bilieux puis fécaloïdes ❖❖ parfois nausées

IV-1-3 Troubles du transit

- ❖❖ L'arrêt des matières et des gaz
- ❖❖ Parfois diarrhée

IV-2 : SIGNES GENERAUX

- ❖❖ L'état général est conservé au début mais
 - Sujet anxieux avec un facies crispé (douleur, déshydratation et infection)
 - Pouls accéléré et tension artérielle normale
 - Fièvre précoce à 39°- 40° en cas de péritonite bactérienne et tardive si le liquide péritonéal est peu septique ;
 - Tardivement s'installe un choc toxi-infectieux avec AEG, fièvre et frissons, ou hypothermie hypotension voire collapsus, si des germes Gram négatif sont en cause.
 - Plus le temps passe plus le risque de toxi-infection augmente

IV-3 SIGNES PHYSIQUES

IV-3-1 : CONTRACTURE ABDOMINALE

C'est le maître symptôme qui permet d'affirmer le diagnostic de la péritonite.

❖❖ A l'inspection

L'abdomen ne respire pas, la paroi abdominale est rétractée et les muscles grands droits sont visibles sous la peau surtout quand le sujet est maigre « En bateau »

❖❖ A la palpation

La paroi abdominale est rigide : ne se laisse pas déprimer mais se contracte sous la main, C'est une rigidité pariétale

- permanente, invincible et douloureuse
- tonique
- généralisée, prédominant à l'endroit de la douleur initiale

IV-3-2 : Au toucher rectal

Le cul de sac de douglas est douloureux, c'est une douleur vive (cri du Douglas) qui a la même valeur sémiologique que les signes pariétaux

NB : Parfois les signes abdominaux sont modérés (simple défense abdominale = contraction involontaire et réflexe des muscles de la paroi abdominale qui se laisse vaincre par la palpation douce et prolongée) ou absents alors que les signes généraux sont graves et la défaillance multiviscérale est plus marquée : il s'agit de **péritonites asthéniques**. Se voient surtout chez le sujet âgé, taré, dénutri et/ou immunodéprimé

V- SEMIOLOGIE PARACLINIQUE : EXAMENS COMPLEMENTAIRES

V-1- RADIOGRAPHIE DE L'ABDOMEN SANS PREPARATION (ASP)

(facedebout, face couché, face centré sur les coupoles diaphragmatiques en expiration) peut montrer :

- ❖❖ La grisaille diffuse de l'épanchement intra péritonéal
- ❖❖ La distension gazeuse du grêle (aérogrêle) et du colon (aéocolie)
 - avec niveaux hydro-aériques de l'iléus reflexe
- ❖❖ Des signes d'orientation vers une étiologie
 - Pneumopéritoine : croissant gazeux clair interhépatodiaphragmatique et/ou sous phrénique gauche : Perforation d'un organe
 - creux Lithiase vésiculaire radio-opaque

V-2- AUTRES EXAMENS MORPHOLOGIQUES

Ils seront demandés en fonction de l'étiologie, il s'agit essentiellement de

- ❖❖ L'échographie
 - Confirme le diagnostic d'épanchement péritonéal
 - Oriente vers une étiologie : Signes de cholécystite aigue lithiasique (Péritonites biliaires), signes de pyosalpinx (Péritonites génitales)
 - ❖❖ La Tomodensitométrie : utile dans les cas douteux ou pour éliminer certains diagnostics différentiels (pancréatite aigue)
 - ❖❖ D'opacifications digestives aux hydrosolubles

V-3- EXAMENS BIOLOGIQUES

Les examens biologiques comportent : un hémogramme ;un ionogramme sanguin ; un bilan d'hémostase. Ils ont un intérêt pronostique et évolutif et guident la réanimation préopératoire.

VI- PRINCIPALES ETIOLOGIES

Des signes cliniques particuliers peuvent exister et orienter le diagnostic étiologique vers la cause de la péritonite notamment :

- ❖❖ Le siège initial de la douleur et ses irradiations
- ❖❖ Les antécédents du malade (UGD, LV ...)
- ❖❖ L'existence ou non du pneumopéritoine à l'ASP

Il peut s'agir de péritonite secondaire à une :

- Perforation d'un organe creux : posttraumatique (traumatismes de l'abdomen, iatrogène « explorations endoscopiques ») ou spontanée (perforation d'ulcère bulbaire, perforation colique)
- Appendicite, cholécystite, salpingite par diffusion par contiguïté de l'infection à la cavité péritonéale ou par perforation secondaire d'un abcès.

LES OCCLUSIONS INTESTINALES AIGUES

OBJECTIFS

- Illustrer par des exemples les différents mécanismes d'une occlusion intestinale aigue,
- Expliquer de manière schématique les principaux faits physiopathologiques et leurs conséquences au cours d'une occlusion,
- Diagnostiquer une occlusion intestinale sur l'anamnèse, les signes de l'examen physique et les données de l'ASP,
- Identifier au cours d'une OIA les signes permettant d'évoquer son mécanisme,
- Distinguer cliniquement et par l'ASP une occlusion grêlique d'une occlusion colique.

I- DEFINITION

- L'occlusion intestinale aiguë (OIA) est une interruption du transit intestinal qui traduit l'arrêt complet et persistant des matières et des gaz dans un segment intestinal.
- C'est une urgence chirurgicale diagnostique et thérapeutique qui peut mettre en jeu le pronostic vital

II- PHYSIOPATHOLOGIE : TDD: OIA grêle obstruction

L'existence d'un obstacle au transit entraîne :

- En aval : Arrêt des matières et des gaz
- En amont : une distension intestinale due à
 - Une accumulation de gaz : source principale de la distension (météorisme)
 - Une accumulation de liquides :(5 à 10 litres traversent quotidiennement l'intestin)
 - Cette distension entraîne elle même une exagération de la sécrétion dans l'intestin et une exsudation des protéines, cela va entraîner une augmentation de l'osmolarité à l'intérieur et un appel d'eau dans l'intestin
- Un reflux rétrograde du contenu intestinal et vomissements consommant ainsi le liquide séquestré dans l'intestin occlus
- Une exagération du péristaltisme intestinal ce qui va entraîner une augmentation de la pression endoluminale provoquant une stase lymphatique, veineuse voir une hypoxie locale responsable des troubles trophiques de l'intestin et de troubles de la perméabilité capillaire

Conséquences

- Trouble hydroélectrolytiques,
- Hypovolémie avec acidose métabolique,
- Troubles circulatoires avec diminution du débit cardiaque et une vasoconstriction,
- Insuffisance rénale fonctionnelle,
- Troubles respiratoires par hyperpression abdominale et acidose,
- La translocation bactérienne avec passage des germes dans la cavité péritonéale (Péritonite) et dans la circulation (choc septique).

Ce schéma doit être nuancé selon le siège et le mécanisme de l'occlusion

- Occlusion haute : la distension est moindre, alcalose
- Strangulation : la nécrose et la péritonite dominent la distension

III- MECANISMES DE L'OCCLUSION

III-1-OCCLUSIONS MECANIQUES

III-1-1 Obstruction : Rétrécissement de la lumière intestinale due à plusieurs causes :

- Endoluminales : calcul d'origine biliaire, corps étranger,
- Pariétales : épaissement de la paroi par : tumeur, sténose inflammatoire,
- Exoluminales : compression extrinsèque, bride, carcinose.

III-1-2 Strangulation : plusieurs types

- Volvulus : torsion,
- Etranglement : incarcération : dans une hernie, ou dans une brèche créée par une bride postopératoire ou défaut de péritonisation,
- Invagination : intussusception.

Ici la vascularisation de l'anse est entravée avec risque de nécrose d'où l'urgence du diagnostic et du traitement

III-2-OCCLUSIONS FONCTIONNELLES: faillite du péristaltisme :

III-2-1 Iléus réflexe : (postopératoire, de la colique néphrétique)

III-2-2 Aggression du péritoine : agression septique (péritonite, appendicite ...) ; mais aussi agression chimique ou de nature hypoxique

III-2-3 Métabolique (hypokaliémie)

IV- SEMIOLOGIE CLINIQUE : LE SYNDROME OCCLUSIF

IV-1 SIGNES FONCTIONNELS

IV-1-1 Douleur abdominale

- Souvent intense soit d'emblée soit secondairement
- Installation rapide ou progressive sur plusieurs heures ■■ Evolution continue ou paroxystique

IV-1-2 Vomissements

- Souvent répétés et bilieux
- Rarement alimentaires, Parfois fécaloïdes

IV-1-3 Arrêt des matières et des gaz Maître symptôme il est nécessaire est suffisant pour retenir le diagnostic d'occlusion

IV-2 SIGNES GENERAUX

Sont normaux au début, tout au plus il peut exister en cas de douleur intense une pâleur, une agitation et une accélération du pouls

A un stade plus tardif l'état général s'altère avec soif, pli cutané, sécheresse des muqueuses, pouls rapide, TA effondrée, oligurie ou anurie, confusion mentale ou torpeur

IV-3 SIGNES PHYSIQUESA l'examen de l'abdomen on peut retrouver à

IV-3-1 L'inspection

- Météorisme abdominal**
 - Distension de l'abdomen (ballonnement)
 - Diffus, symétrique ou asymétrique
 - Parfois localisé ce qui est évocateur
 - Peut faire défaut en cas d'occlusion très haute (à ventre plat)
- Ondulations péristaltiques**
 - Visibles sous la peau,
 - Survenant souvent au moment des paroxysmes de douleurs Rares mais évocatrices des occlusions par obstruction
- Respiration abdominale** : normale en général
- Une cicatrice abdominale**

IV-3-2 La palpation

- Douleur provoquée au même endroit que la douleur spontanée** **•• Pas de contracture**

IV-3-3 La percussion

- Tympanisme** : sonorité plus longue, plus intense que normalement

IV-3-4 L'auscultation

- Bruits intestinaux** qui peuvent être plus nombreux, plus rapprochés, plus localisés **•• A l'opposé** parfois ces bruits s'espacent jusqu'à disparition
- Mais le silence abdominal** n'élimine pas une occlusion

IV-3-5 Touchers pelviens

- En principe indolores**
- L'ampoule rectale est vide** surtout dans l'occlusion colique

IV-3-5. Examen systématique des orifices herniaires

V- SEMIOLOGIE RADIOLOGIQUE

V-1-RADIOGRAPHIES DE L'ABDOMEN SANS PREPARATION (ASP) (facedebout, face couché, face centré sur les coupoles diaphragmatiques) peuvent montrer

- Niveaux hydro-aériques (NHA)**: Ce sont des images caractéristiques qui permettent d'affirmer le diagnostic de l'occlusion intestinale aigue : ce sont des niveaux liquides horizontaux surmontés d'une distension gazeuse
- Absence de pneumopéritoine**

V-2- TOMODENSITOMETRIE

- Met en évidence les niveaux hydroaériques**
- Apprécie la gravité** : Paroi intestinale épaisse et/ou contenant de l'air Existence de l'air ou de liquide dans la cavité péritonéale

V-3 ECHOGRAPHIE :Utile pour le diagnostic de l'invagination chez l'enfant et encas d'iléus Biliaire

V-4 OPACIFICATIONS DIGESTIVES AUX HYDROSOLUBLES Utiles pour suivre surtout le niveau de l'obstacle

NB : Une authentique OIA doit être distinguée de certaines affections médicales (colique néphrétique, colique hépatique, diarrhée,...) et chirurgicales d'allure occlusive

VI- CARACTERISTIQUES SEMIOLOGIQUES PERMETTANT D'IDENTIFIER LE MECANISME

VI- 1 OCCLUSION FONCTIONNELLE OU ILEUS PARALYTIQUE

- Sujet souvent âgé
- Début en règle progressif
- Météorisme diffus, immobile et silencieux
- ASP distension intestinale globale portant sur le grêle et le colon mais avec peu de NHA

VI-2 OCCLUSIONS ORGANIQUES

	Strangulation	Obstruction
Signes fonctionnels: Début Douleur Vomissements	Brutal+++ Violente et permanente Précoces +++	Progressif +++ Paroxystiques Tardifs +++
Signes généraux	AEG rapide, fièvre possible	EG longtemps conservé
Signes physiques : Météorisme Ondulations péristaltiques Auscultation	localisé et symétrique Absentees Silence abdominal	Important et diffus Présentes Auscultation bruyante
Signes radiologiques	<ul style="list-style-type: none">○ Image en arceau au début avec 2 niveaux au pied de l'anse ++○ Puis NHA plus nombreux en amont○ TDM paroi épaisse, prenant le contraste en cible○ Ascite localisée, et infiltration du mésentère	NHA multiples et diffus

VII- CARACTERISTIQUES SEMIOLOGIQUES PERMETTANT DE DISTINGUER LESIEGED'UNE OIA (Tableau comparatif)

	OCCLUSION DU GRELE	OCCLUSION DU COLON
Signes fonctionnels :		
Douleur	Violente	Peu marquée
Vomissements	Précoces	Tardifs
AMG	Tardif et incomplet	Absolu et précoce
Signes généraux	AEG précoce	Signes généraux peu marqués
Signes physiques		
Météorisme	Discret, central et péri-ombilical	Important en cadre ou diffus
Signes radiologiques	<ul style="list-style-type: none"> ○ NHA multiples, centraux, Fins, plus large que hauts Portant les empreintes des valvules Conniventes ○ Absence de gaz dans le colon 	<ul style="list-style-type: none"> ○ NHA peu nombreux, périphériques volumineux, plus haut que larges portant les empreintes des haustiations coliques ○ Présence de gaz dans le colon

VIII - PRINCIPALES ETIOLOGIES

VIII-1 : OCCLUSIONS NEOPLASIQUES :Cancer colorectal, tumeur grêlique.

VIII-2 : OCCLUSIONS NON NEOPLASIQUES:Volvulus du sigmoïde,étranglement herniaire, occlusion postopératoire, MICI.

LES HEMORRAGIES INTERNES

OBJECTIFS DU COURS :

- Reconnaître cliniquement une hémorragie interne,
- Evaluer par la clinique et les examens para clinique la gravité d'une hémorragie interne,
- Identifier les signes cliniques et para clinique de l'hémopéritoine,
- Identifier les signes cliniques et para clinique de l'hemothorax,
- Enumérer les étiologies des hémorragies internes.

I- DEFINITION

L'hémorragie interne est tout saignement non extériorisé susceptible d'entraîner des signes plus ou moins franc du choc hémorragique. Il se produit généralement dans une cavité close, organe creux (Hémopéritoine, Hemothorax, Hématome rétro péritonéal, Hémorragie digestive non encore extériorisée).

C'est l'une des urgences les plus redoutée car le pronostic vital est mis en jeu : l'hémorragie va entraîner un arrêt circulatoire d'autant plus précoce que l'hémorragie est importante.

II- SIGNES CLINIQUES (EXAMEN CLINIQUE)

II-1 INTERROGATOIRE : caractérisques dlr+

II-1-1 : Douleur + tendance syncopale, syncope vraie, ou une lipothymie,
soif intense : bon signe d'hémorragie,

II-1-2 : Circonstances révélatrices La possibilité d'une hémorragie interne doit toujours évoquée de principe :

- ✓✓ Chez un malade victime d'un traumatisme,
- ✓✓ Chez une femme en activité génitale surtout en cas de retard des règles,
- ✓✓ Chez un malade ulcéreux, cirrhotique ou sous anticoagulants ou AINS,
- ✓✓ En postpartum et en postopératoire.

II-2 EXAMEN PHYSIQUE

II-2-1 : EG Signes généraux

- pâleur cutanée
- agitation, angoisse, obnubilation,
- hypothermie.

II-3 Signes d'examen physique

❖❖ *Signes cutanés*

- pâleur cutanée et muqueuse (conjonctives)
- augmentation du temps de recoloration capillaire, marbrures cutanées qui commencent au niveau des genoux et peuvent se généraliser,
- sueurs froides.



❖❖ ***Signes cardio-vasculaires***

- pouls rapide et filant : 120 à 140 battements /mn, quelquefois perçu uniquement au niveau fémoral ou carotidien,
- l'apparition d'une bradycardie en dehors de tout remplissage vasculaire ou drogues est un signe de mauvais pronostic,
- la TA peut être normale, basse ou simplement pincée au dépens de la systolique,
- les veines sont plates,
- la pression veineuse centrale (PVC) est effondrée.

❖❖ ***Signes respiratoires***

- polypnée superficielle,
- cyanose des lèvres et des extrémités.

❖❖ ***Signes urinaires***

- oligurie : diurèse est inférieure à 0,35ml/kg/h,
- anurie : diurèse nulle.

❖❖ ***Signes neurosensoriels***

- agitation, vertiges, angoisse.
- Troubles conscience : Obnubilation voir coma

III- SIGNES BIOLOGIQUES

- ✓✓ le taux d'hématocrite et d'hémoglobine peut être normal avant la compensation de l'hypovolémie,
- ✓✓ La baisse du taux sanguin d'hémoglobine (Hb) n'est d'emblée observée que dans les chocs hémorragiques sévères. Elle est de mauvais pronostic et proportionnelle à l'hypovolémie,
- ✓✓ Existence de désordres biologiques témoignant de la souffrance cellulaire : Acidose métabolique, troubles de la crase sanguine, hyperkaliémie, Hypercréatinémie.

IV- SIGNES DE GRAVITE

- ✓✓ Bradycardie paradoxale, Hypotension prolongée (> 30mn), Acidose lactique,
- ✓✓ Défaillance multiviscérale (état de coma, ischémie myocardique, détresse respiratoire aigue, insuffisance rénale aigue, insuffisance hépatique « hypoalbuminémie, hyperbilirubinémie »).

V- PARTICULARITES SEMIOLOGIQUES ET ETIOLOGIQUES DES PRINCIPAUX TYPES D'HEMORRAGIE INTERNE

V-1- HEMOPERITOINE

V-1-1 Sémiologie clinique

- ❖❖ Signes du choc hémorragique associé
- ❖❖ aux signes abdominaux
 - Douleur abdominale aigue,
 - Abdomen distendu (pas de contracture),
 - Matité déclive, mobile avec conservation de la matité hépatique, □□ Silence abdominal à l'auscultation,
 - Touchers pelviens : cul de sac douglas est plein et douloureux.

Le contraste entre l'intensité de la douleur au TR et l'absence de la contracture est caractéristique de l'hémopéritoine.

V-1-2 Sémiologie paraclinique

- ❖❖ ASP : grisaille diffuse, Pas de pneumopéritoine
- ❖❖ Echographie: zone transsonique **hyperéchogène** témoignant de l'épanchement péritonéal sanguin dans une loge (Morrison, Douglas),
- ❖❖ Ponction lavage péritonéale (PLP) est positive.

V-1-3 Principales causes

- ❖❖ Hémopéritoine post traumatique (voir traumatismes de l'abdomen), ❖❖ Hémopéritoine spontané.

□□ Causes gynécologiques

- Grossesse extra utérine : La rupture d'une GEU est la principale cause de ce type d'hémorragie, elle doit être évoquée et recherchée chez toute femme en activité génitale présentant une anémie aiguë. La notion de retard des règles est un élément de forte présomption qui doit imposer l'échographie abdominale. La cœlioscopie est un acte diagnostique et thérapeutique
- Hématome rétro-placentaire de grande taille
- Rupture utérine : la palpation utérine est irrégulière : sensation du fœtus sous la peau

□□ Causes non gynécologiques

- Rupture de l'anévrysme de l'aorte abdominale (AAA) entraîne brutalement une hémorragie abondante et arrêt circulatoire
- Rupture d'une tumeur : tumeur hépatique, tumeur stromalegastrointestinale

V-2- HEMOTHORAX

V-1-1 Sémiologie clinique

- ❖❖ Signes du choc hémorragique associé aux
- ❖❖ Signes respiratoires :
 - Détresse respiratoire,
 - Asymétrie ventilatoire,
 - Matité d'un hémithorax, diminution ou disparition du murmure vésiculaire abolition de la transmission des vibrations vocales,
 - Rechercher les signes de compression: déviation des bruits du cœur.

V-1-2 Sémiologie radiologique

- ❖❖ Radiographie du thorax : Syndrome d'épanchement liquidiens si malade debout Grisaille diffuse si malade couché, Elargissement du médiastin supérieur

V-1-3 Principales causes

- ❖❖ Rupture de l'isthme aortique : survient lors des décélérations brutales (AVP, Chute d'une grande hauteur). L'hémothorax est brutal et massif entraînant le décès sur le lieu de l'accident,
- ❖❖ Plaie des vaisseaux pariétaux,
- ❖❖ Lacération pulmonaire.

LES TRAUMATISMES DE L'ABDOMEN

Objectifs

- Définir les principaux termes employés en traumatologie abdominale,
- Relever les signes cliniques évoquant un traumatisme de l'abdomen,
- Relever les signes d'alarme traumatique imposant l'hospitalisation,
- Evaluer immédiatement par la clinique l'état d'un blessé pour reconnaître une urgence vitale,
- Evaluer secondairement par la clinique l'état d'un traumatisé de l'abdomen, -Décrire les principaux tableaux cliniques.

I- DEFINITIONS

- **Traumatisme abdominal** : tout traumatisme qui intéresse la région comprise entre le diaphragme en haut et le plancher pelvien en bas quelque soit le point d'impact
- **Contusion de l'abdomen** : traumatisme fermé : absence de solution de continuité cutanée
- **Plaie de l'abdomen** : comporte une solution de continuité cutanée
 - Plaie non pénétrante : sans effraction du péritoine
 - Plaie pénétrante : avec effraction péritonéale

II- MECANISMES

- **Choc direct** : Traumatisme appuyé ou non, écrasement : entraîne au niveau des organes pleins lacerations ou hématomes et au niveau des organes creux des éclatements
- **Choc indirect (décélération)** : arrachement des viscères et leur méso
- **Plaie**

III- CONSEQUENCES

- **Lésions pariétales** : hématomes, ecchymoses ...
- **Lésions viscérales** :
 - Organes pleins : hémorragie par fracture parenchymateuse, ou Hématome.
 - Organes creux : Perforation, éclatement : péritonite, abcès, hémorragie.

IV- ETUDE CLINIQUE

IV-1 : EVALUATION INITIALE

A l'admission du blessé à l'hôpital et tout en le mettant en condition, un interrogatoire et un examen physique rapide permettent de

IV-1-1 Vérifier les grandes fonctions vitales

- Liberté des voies aériennes: corps étranger, œdème
- Respiration

- Circulation
- Etat neurologique
- Exposition : déshabiller le patient pour l'examiner

IV-1-2 Relever les critères d'alarme traumatique : obligent à hospitaliser le

- blessé■■ Patient nécessitant une désincarcération
- Chute d'une hauteur de plus de 6 mètres
- Ejection d'un véhicule automobile
- Choc piéton véhicule à plus de 35 km/ heure
- Plaie pénétrant la tête, le cou, le thorax ou l'abdomen ■■ TA inférieure à 90 mm hg
- Fréquence respiratoire inférieure à 10 ou supérieure à 30 cycles/mn ■■ Score de Glasgow < 12
- Déficit neurologique ou paralysie
- Brûlures > à 15% de la surface corporelle

IV-1-3 Relever les éléments orientant vers une lésion abdominale

- La constatation d'ecchymoses, d'hématomes, d'érosions, ou de plaies.
- Instabilité hémodynamique
- Traumatisme bipolaire : lésions de deux parties de part et d'autre de l'abdomen

IV-1-4 Relever les éléments indiquant une intervention chirurgicale en urgence

- Etat de choc hémorragique intense témoignant d'une hémorragie massive persistante malgré un remplissage vasculaire important.
- Traumatisme ouvert avec issue de viscères, et /ou de liquide digestif, de bile, d'urines etc...
- L'agent vulnérant (exemple le couteau) est encore en place. Son ablation risque de déclencher une hémorragie foudroyante

IV-2 : EVALUATION SECONDAIRE

Elle n'est réalisée qu'en dehors d'une urgence extrême.

IV-2-1 EXAMEN CLINIQUE COMPLET

Il comporte non seulement l'examen de l'abdomen mais aussi de tous les autres appareils avec surveillance et monitorage des fonctions vitales

- ❖❖ **Intérêt :** un double intérêt : définir le degré d'urgence et servir de référence pour les examens et la surveillance ultérieurs

❖❖ Technique

Interrogatoire complète au besoin l'interrogatoire fait à l'accueil : antécédents, dernier repas, dernière miction

Examen physique doit être considéré avec le plus grand soin chez un malade dévêtu, dans un environnement réchauffé. Il ne doit jamais se limiter à la région qui semble la plus touchée

- A l'inspection on recherche
 - ✓✓ des points d'impact : Ecchymose, hématome, plaie, ou traces de la ceinture de sécurité (Ces traces évoquent la possibilité de lésions par décélération).
 - ✓✓ En cas de plaie, il faut préciser la porte d'entrée, la porte de sortie, le trajet de l'agent vulnérant et en déduire les organes potentiellement lésés, le degré de souillure de la plaie et enfin l'issue d'un viscère ou d'un liquide biologique
- La palpation faite mains réchauffées, en commençant par les zones les moins sensibles recherche
 - ✓✓ Une douleur provoquée
 - ✓✓ Une défense ou une contracture abdominale
 - ✓✓ Une atteinte des dernières côtes
- La percussion recherche
 - ✓✓ Une matité déclive
 - ✓✓ Une sonorité anormale pré hépatique en faveur d'un pneumopéritoine et la perforation d'un organe creux
- L'auscultation peut mettre en évidence une diminution des bruits hydroaériques en rapport avec l'iléus reflex
- Les touchers pelviens (rectal et vaginal) recherchent
 - ✓✓ Un bombement et /ou une douleur de cul de sac de douglas ✓✓ Une déchirure vaginale ou rectale
- L'examen des urines à la recherche d'une hématurie
- Un examen général : l'examen abdominal est complété par un examen général en particulier du thorax, de la tête et du cou, et des membres
- Le pouls, la TA, voire la Pression veineuse centrale, l'état de conscience et l'état respiratoire seront continuellement surveillés

IV-2-2 EXAMENS COMPLEMENTAIRES DE PREMIERE INTENTION

- ❖❖ L'échographie au lit du malade : De part son innocuité et sa disponibilité, elle s'impose comme l'examen de choix. Elle permet l'inventaire de l'ensemble de la cavité abdominale
 - Affirme l'existence d'un épanchement péritonéal ■■ Objective un hématome pariétal ou viscéral ■■ Evite une laparotomie purement exploratrice
- ❖❖ Un prélèvement sanguin pour : NFS et groupage sanguin, Taux de prothrombines, transaminases, lipasémie
- ❖❖ Radiographies de l'abdomen sans préparation à la recherche ■■ D'un pneumopéritoine
 - De niveaux hydro-aériques
- ❖❖ la RX du thorax à la recherche
 - De fractures de cotes,
 - D'un épanchement pleural
 - D'un pneumomédiastin
 - D'une clarté gazeuse en rapport avec une rupture diaphragmatique

IV-2-3 : AUTRES EXAMENS COMPLEMENTAIRES

- TDM : Une fois le malade est stabilisé il peut bénéficier d'une TDM abdominale, ou corpseptier en un temps rapide avec un bilan complet et précis des lésions.
- Ponction lavage péritonéale (PLP)
 - N'est réalisée qu'en absence d'échographie et du scanner.
 - Elle consiste à réaliser sous anesthésie locale une incision sous-ombilicale, injecter 500 à 1000 ml de sérum physiologique tiède à travers un cathéter introduit au préalable dans la cavité péritonéale et recueillir par siphonage ce sérum
 - Les critères de "positivité de la PLP sont :
 - Dès l'introduction du trocart dans le péritoine il y'a issu du sang ou de liquide digestif
 - compte des globules rouges > à 100.000/mm³(hémopéritoine)
 - compte des globules blancs > à 500/mm³ (péritonite)
 - Dosage d'amylase dans le liquide

V- PRINCIPAUX TABLEAUX CLINIQUES

Au cours d'un traumatisme de l'abdomen on peut schématiquement se trouver devant les éventualités suivantes

V-1- TABLEAU EVIDENT DE PERFORATION D'UN ORGANE CREUX

Tableau de péritonite aigue avec à la percussion disparition de la matité préhépatique (remplacée par une sonorité) traduisant le pneumopéritoine mis en évidence à l'ASP ou au scanner.

V-2- TABLEAU D'HEMOPERITOINE (voir hémorragie interne)

V-3- IL EXISTE UNE ANOMALIE CLINIQUE SANS DIAGNOSTIC

EVIDENT

- ✓✓ l'abdomen devient ou reste sensible,
- météorisé ✓✓ le pouls reste rapide malgré les perfusions reçues
- ✓✓ le malade reste pale malgré qu'il soit réchauffé, perfusé

L'état du patient laisse penser qu'il existe un épanchement péritonéal mais les signes cliniques et ceux des radiographies n'apportent pas de certitude. D'autres examens peuvent être alors demandés

V-4- EXAMEN INITIAL EST NORMAL

- ✓✓ Hospitaliser le blessé si critère d'alarme traumatique ✓✓ Le surveiller attentivement et régulièrement ✓✓ Etablir une courbe de pouls et la TA
- ✓✓ Evaluer l'état de conscience
- ✓✓ Compter la diurèse
- ✓✓ Répéter l'examen clinique de façon pluriquotidienne et préférence par le même examinateur

Cette surveillance peut dépister une anomalie secondaire réclamant un bilan complémentaire sinon le patient sera autorisé à quitter l'hôpital.

MASSES PALPABLES DE L'ABDOMEN

Prérequis :

- + Limites anatomiques de la cavité abdominale et abdomino pelvienne,
- + Anatomie topographique de l'abdomen : 9 quadrants.

Objectifs :

- Décrire les signes d'appel d'une masse abdominale,
- Décrire la technique de l'examen clinique et les éléments à préciser devant une masse abdominale,
- Identifier les caractéristiques cliniques des masses palpables de l'abdomen selon leur origine.

I-DEFINITION

➤➤ Une masse palpable de l'abdomen est tout processus palpable pathologique de siège abdominal , du à l'augmentation de la taille d 'un viscère ou de la paroi abdominale
➤➤ Une masse est dite abdominale quand elle est décelée par le palper abdominal seul.

Elle est dite abdominopelvienne quand elle est décelée conjointement par le palper abdominal et les toucher pelviens.

II-EXAMEN CLINIQUE

II-1 INTERROGATOIRE : on doit préciser

- I-1-1- Date et circonstances de découverte de la masse : Contexte symptomatique :
 - Syndrome abdominal aiguë/ péritonite
 - Syndrome hémorragique
 - Syndrome occlusif
 - Syndrome icterique
 - Douleur abdominale isolée
- Découverte fortuite :
 - Par le patient lui-même : voûture, induration, rondeur
 - Examen clinique par le médecin ou à la suite d'une imagerie médicale
- Il faudra prendre en considération les antécédents du patient
 - Maladie inflammatoire chronique de l'intestin (Crohn)
 - Maladie infectieuse : tuberculose...
 - Prise médicamenteuse : traumatisme même minime avec prise d'anticoagulant ou antiagrégant

I-1-2 les symptômes d'appel et signes associés

□□ Les symptômes d'appel non spécifiques

- La douleur abdominale dont il faut décrire tous les critères sémiologiques (voir diagnostic d'une douleur abdominale).
Une douleur abdominale récidivante de siège fixe doit évoquer une lésion organique ; parfois c'est l'irradiation de la douleur qui attire l'attention.
- La fièvre : de signification variable : une fièvre récente évoque une infection aigüe, une fièvre au long cours évoque une tumeur solide : Foie, colon, rein.
- Signes généraux : asthénie, anorexie, amaigrissement.

32/64



- les signes d'appel spécifiques et directement liés à la masse attirent l'attention l attention vers l'appareil concerné.

- ■ Signes digestifs :**

- Nausées et vomissements :
- Troubles du transit: Diarrhée, constipation ou alternance de diarrhée et constipation.
- Hémorragies digestives : Hématémèse, melaena, rectorragie, anémie.

- ■ Signes hépatobiliaires**

Ictère, prurit, coloration anormale des urines et des selles.

- ■ Signes urinaires :** Hématurie, Pyurie, Emission de calculs.

- ■ Signes gynécologiques :** Aménorrhée ; ménorragie métrorragie.

- ■ Signes endocriniens :** on recherche une tumeur sécrétante et fonctionnelle.
(Voir sémiologie des tumeurs)

- I-1-3- Données concernant le malade :**

- Identité du malade (âge ; sexe ; origine géographique ; profession) ;
- Antécédents et date des dernières règles pour les femmes non encore ménopausées;
- notion de voyage récent,
- notion de prise médicamenteuse, de pancréatite dans les antécédents ou récidivantes, antécédents chirurgicaux (récidive), infectieux (tuberculose, inflammatoire (Crohn)

II-2 EXAMEN PHYSIQUE : Après avoir réaliser d'abord un examen générale (Faciès, T°, Pouls, TA, Poids et taille, états respiratoire et neurologique) , l'examen physique se continue par l'examen de l'abdomen :

>> POSITION

- L'examen de l'abdomen est réalisé en décubitus dorsal (position standard), les jambes fléchies et les bras le long du corps, vessie et rectum vides. Le médecin à droite du malade, ses mains réchauffées sont à plat sur le ventre du malade. La palpation se fait quadrant par quadrant en commençant par les régions les moins ou les non douloureuses.
- L'examen peut s'effectuer aussi en décubitus latéral (rate), en Position de Trendelenburg (tumeurs pelviennes) voir en position proclive.

>> ERREURES PAR EXCES A EVITER :

- Ne pas prendre pour tumeur pelvienne un globe vésical d'où la nécessité d'un examen sur vessie vide,
- Ne pas méconnaître une grossesse,
- Ne pas prendre pour tumeur un fécalome : masse pâteuse qui change de position et disparaît après lavement.

>> INSPECTION :

HHH Observer la couleur des téguments à la recherche d'un ictere, de signes inflammatoires, de lésions de grattage,

III Rechercher une cicatrice opératoire, une Circulation veineuse collatérale abdominale, une augmentation du volume, une voussure ou une asymétrie de l'abdomen.

➤➤ **PALPATION** précise les caractéristiques sémiologiques de la masse

- Le siège par rapport à un quadrant abdominal : oriente vers l'origine de la masse
- le nombre : unique ou multiple,
- La forme : arrondie, oblongue, multilobée,
- La taille appréciée en cm, par rapport aux repères fixes ou par la mesure du périmètre abdominal,
- La consistance : molle, rénitente, dure ou pierreuse,
- La netteté des contours : limites bien nettes régulières ou masse irrégulière mal limitée,
- La sensibilité : douloureuse ou non,
- La mobilité : Transversale, Verticale, Par rapport au plan superficiel et profond lors des mouvements respiratoires,
- La fluctuation,
- la pulsatilité,
- L'expansibilité.

➤➤ **AUSCULTATION** à la recherche d'un Souffle, d'un silence et de bruits hydro-aériques.

➤➤ **PERCUSSION**

- Se fait en décubitus dorsal et en décubitus latéral droit et gauche, main gauche à plat sur le ventre, la pulpe du médius droit en crochet percute la face dorsale du médius gauche,
- Résultats : 1- Appréciation de la sonorité et matité

Normalement on a au niveau de :

- | | |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> L'HCD et de l'HCG | →→ une Matité (le foie et la rate) |
| <input type="checkbox"/> L'épigastre | →→ une Sonorité |
| <input type="checkbox"/> La FID, la FIG et les Flancs | →→ une Sonorité (les intestins) |
| <input type="checkbox"/> L'Hypogastre (pelvis) | →→ une Matité (globe vésical) |

Une matité déclive (FID, FIG, Flancs) signe un épanchement liquide

2- La mesure de la flèche hépatique

➤➤ **TOUCHERS PELVIENS**

- Toucher rectal (TR) : Recherchera
 - ✓✓ Un comblement du cul de sac de Douglas, des granulations péritonéales.
 - ✓✓ Une masse lumineuse ou extraluminale antérieure ou latérale.
- Toucher vaginal (TV) (combiné à la palpation abdominale)
 - ✓✓ Masse médiane, col mobile →→masse utérine.
 - ✓✓ Masse latéro-utérine col non mobile →→masse annexielle.

➤➤ **RESTE DE L'EXAMEN PHYSIQUE** doit être complet

NB : Un examen clinique bien conduit toutes les étapes oriente vers le choix des meilleurs examens complémentaires ou morphologiques (imagerie, endoscopie biologiques ou autres) à réaliser.

III-ORIENTATIONS ETIOLOGIQUES ET CARACTERISTIQUES SEMOLOGIQUES

III-1- MASSES PARIETALES:

La traction sur la masse tend les muscles pariétaux.

La contraction des muscles de la paroi abdominale immobilise la masse qui reste palpable.

Le caractère réductible et la réapparition à l'effort sont en faveur de la nature herniaire.

L'échographie ou la TDM sont parfois nécessaires pour situer le siège sous cutané ou retro musculaire de la masse.

III-2 MASSES PERITONEALES

Masse superficielle mais sous péritonéale comme en témoigne sa disparition après contraction abdominale.

III-3 MASSE HEPATIQUE

Masse de l'HCD, épigastrique et ou de l'HCG, mobile à la respiratoire.

Signes associés : Douleurs de type coliques hépatiques, l'ictère.

III-4 MASSES VESICULAIRES

Normalement la vésicule biliaire n'est pas palpable

Une grosse vésicule : est une masse rénitrante, piriforme, sous le rebord costal droit, mobile à la respiration et bien limitée

III-5 MASSE SPLENIQUE

Normalement la rate n'est pas palpable et toute masse splénique se traduit par une grosse rate (Splénomégalie).

La Splénomégalie est une masse de l'HCG, superficielle, bien limitée, mobile à la respiration et à bord antérieur crénelé.

III-6 MASSE D'ORIGINE PANCREATIQUE

Masse épigastrique ou de l'hypochondre gauche, fixe, profonde.

Signes associés : Douleur de type pancréatique, ictère, AEG.

Si la tumeur change de volume d'un examen à l'autre ou disparaît totalement (tumeur fantôme) il peut s'agir d'un faux kyste du pancréas.

III-7 MASSE D'ORIGINE COLIQUE

Masse arrondie ou oblongue, à grand axe parallèle au segment intestinal en cause. Ses limites sont plus ou moins nettes en dehors et en bas mais floues en dedans.

Signes associés : Saignement digestif : méléna, rectorragie, anémie, troubles du transit.

III-8 MASSE D'ORIGINE RENALE

Un gros rein est une masse donnant le contact lombaire et /ou le ballottement rénal.

Signes associés : colique néphrétique, hématurie, pyurie.

NB : un rein peut être ptosique et donc palpable.

III-9 MASSE MESENTERIQUE

C'est une masse très mobile verticalement et transversalement.

III-10 Anévrysme de l'aorte

C'est une masse battante, expansive et soufflante.

Terrain vasculaire.

SEMILOGIE GENERALE DES TUMEURS

Objectifs :

- Définir les termes : tumeur, tumeur bénigne, tumeur maligne, pseudotumeur,
- Emmettre l'hypothèse d'une tumeur devant un syndrome d'altération de l'état général,
- Illustrer par des exemples le diagnostic d'une tumeur par un syndrome endocrinien,
- Expliquer par des exemples ce que c'est un syndrome tumoral,
- Définir le syndrome para néoplasique.

1. DEFINITIONS :

I-1- TUMEUR

- ✓✓ **Histologique** : prolifération cellulaire localisée avec perturbation plus ou moins profonde de la division cellulaire échappant aux mécanismes de régulation de l'organisme aboutissant à un néo tissu anormal
- ✓✓ **Clinique** : apparition et développement en un ou plusieurs points de l'organisme d'une masse tissulaire ou d'une tuméfaction apparemment néoformée anormale par son volume et sa localisation
- ✓✓ **Dynamique** : Processus expansif à croissance plus ou moins rapide et théoriquement non contrôlée

I-2 PSEUDO TUMEUR

L'aspect macroscopique et le profil clinique ressemblent aux tumeurs vraies mais sans division cellulaire non contrôlée. L'origine peut être inflammatoire hyperplasique ou dystrophie.

I-3 CANCER :Tumeur maligne caractérisée par :

- Envahissement et extension au niveau de l'organe : Extension locale,
- Envahissement des structures et organes de voisinage: Extension régionale,
- Diffusion par voie lymphatique,
- Métastases à distance du site primitif : foie, poumon, os.

II- CRITERES DISTINCTIFS ENTRE TUMEUR MALIGNE ET TUMEUR BENIGNE (Tableau comparatif)

CRITERES	T BENIGNES	T MALIGNES
MACROSCOPIE		
Limites	Bien limitée	Mal limitée
Organes	Parfois encapsulée	Envahis
Voisins	Refoulés et comprimés	Détruits et infiltrés
MICROSCOPIE		
Cellule	Bien différenciée	Bien, peu ou non différenciée
Noyau	Régulier	Gros et irrégulier
Mitoses anormales	Non	Oui
Architecture	Organoïde	Anarchique
Stroma	Adapté	Inadapté
EVOLUTION		
Locale	Lente	Rapide
Métastases	Non	Oui
Décès	Rarissime	Fréquent

III- SEMIOLOGIE CLINIQUE DES TUMEURS

Quelque soit le siège d'une tumeur elle peut se révéler par un ou plusieurs signes s'intégrant dans un syndrome plus ou moins complet : syndrome tumoral, syndrome endocrinien, syndrome paranéoplasique, ou un syndrome général.

III-1- LE SYNDROME TUMORAL

Ensemble de manifestations cliniques liées au développement de la tumeur dans un espace ou région anatomique donnée. En plus des signes en rapport avec le volume tumoral, la tumeur peut engendrer des complications qui peuvent être au premier plan des manifestations.

✓✓ MASSE TUMORALE

- Elle peut varier de quelques mm (polype) à plusieurs cm, peut être visible et palpable (voir masses palpables de l'abdomen) ou au contraire explorable que par les investigations morphologiques.
- Les métastases : A distance du site primitif, elles peuvent être viscérales et /ou ganglionnaires, uniques ou multiples.

✓✓ COMPLICATIONS

- **Signes de compression ou d'obstruction**
 - OEsophage : dysphagie- aphagie.
 - Estomac : vomissements.
 - Intestin : subocclusion- occlusion.

- VBP : ictère.
- Uretère : uretéro hydronéphrose.
- Trachée : larynx : dyspnée – asphyxie.
- Moelle épinière: paraplégie.

- **Les hémorragies**

- Hémorragie intra tumorale se manifeste par une anémie ou par un syndrome hémorragique.
- Hémorragie interne : Hémorragie extériorisée : Hématémèse - méléna - rectorragie ; Métrorragie- ménorragies Hémoptysie ; Hématurie ; Epistaxis.
- **Perforation tumorale** dans une cavitéséreuse, organe creux ou à la peau.
- **Infection tumorale avec abcès péritumoral.**

III-2 LE SYNDROME GENERAL

Ensemble de signes non spécifiques : asthénie, anorexie, amaigrissement, fièvre. Quand ces signes sont présents, ils entraînent un fléchissement ou une altération plus ou moins profonde de l'état général. L'altération de l'état général se voit plus fréquemment dans les tumeurs malignes.

III-3 LES SYNDROMES ENDOCRINIENS

- ✓✓ Manifestations liées à un excès ou au contraire à un défaut de sécrétion hormonale induite par le développement d'une tumeur dans un organe donné. L'hormone en question est normalement sécrétée par l'organe ou siège la tumeur.
- ✓✓ Exemples :
 - Adénome toxique de la thyroïde : T3, T4, TSH ⇒ hyperthyroïdie
 - Adénome de la parathyroïde : parathormone ⇒ hyperparathyroïdie
 - Tumeurs de la surrénale
 - Tumeurs du pancréas
 - Tumeur carcinoïde digestive ⇒ sérotonine ⇒ Syndrome carcinoïde Syndrome clinique associant (bouffées vasomotrices brutales + diarrhées
 - douleurs abdominales + crises de dyspnée asthmatoforme)
- ✓✓ Syndrome endocrinien paranéoplasique (chapitre suivant)

III-4- LE SYNDROME PARANEOPLASIQUE

- ✓✓ Ensemble de manifestations cliniques et /ou biologiques survenant à distance de l'endroit où se développe une tumeur ou ses métastases et lié à un médiateur chimique sécrété par la tumeur. Ces manifestations peuvent précéder apparaître et

évoluer avec la tumeur (disparaissent avec sa disparition et réapparaissent avec sarécidive).

✓✓ Exemples :

- 1- Syndrome para néoplasique **endocrinien** secondaire à une sécrétion ectopique d'hormones ou peptide.
 - Syndrome de Cushing para néoplasique (Cancer du poumon, Cancer du pancréas).
 - Syndrome de Schwartz- Barter : sécrétion inappropriée d'ADH (Cancer bronchique).
- 2- Syndrome para néoplasique **hématologique** : polyglobulie (cancer du rein).
- 3- Syndrome para néoplasique **rhumatologique** : Ostéo arthropathie hypertrophiante pneumonique (cancer bronchique).

LES ICTERES RETENTIONNELS

Prérequis :

- Anatomie du foie et des voies biliaires.
- Métabolisme et excrétion de la bile.

Objectifs :

- Expliquer de manière schématique les conséquences physiopathologiques d'un obstacle sur les voies biliaires,
- Identifier chez un malade présentant un ictere les signes orientant vers sa nature obstructive (choléstatique),
- Situer le niveau de l'obstacle à la lumière des données clinique et/ radiologique,
- Identifier les signes en faveur de la nature lithiasique, ou tumorale de l'obstacle.

I – DEFINITIONS :

L'ictère choléstatique est une coloration jaune des téguments (peau et muqueuses) causée par une augmentation du taux de bilirubine conjuguée dans le sang due à une diminution ou un arrêt de l'excrétion biliaire à la suite d'un obstacle sur les voies biliaires.

Lorsque la bilirubinémie dépasse légèrement 15mg/l, elle entraîne un subictère et un ictere franc quand elle dépasse 30mg/l.

II – PHYSIOPATHOLOGIE : (Voir figure n° 1)

L'obstacle à l'écoulement de la bile entraîne un ensemble de perturbations anatomiques et physiopathologiques qui peuvent expliquer tous les signes clinique et biologiques.

Une cholestase quelle soit extra- hépatique ou intra-hépatique a pour conséquence le reflux des différents composés de la bile dans la circulation systémique :

La bilirubine conjuguée formée dans l'hépatocyte (mais non encore excrétée) reflue dans les plasmas, s'accumule dans la circulation systémique (ictère), s'élimine dans les urines (urines foncées), mais n'est pas éliminée dans la bile par les hépatocytes (selles claires).

Les sels biliaires : s'accumulent dans la circulation systémique (prurit), s'éliminent dans les urines (urines mousseuses) mais pas dans la bile (mal digestion avec selles graisseuses et carence en vitamines liposolubles).

Le cholestérol : s'accumule dans le secteur systémique en cas d'obstacle persistant (hypercholestérolémie) : xanthomes sous cutanées.

- – SEMIOLOGIE CLINIQUE

III-1 L'ICTERE

La recherche de l'ictère se fait à la vue et doit être faite sous la lumière naturelle dite du jour. L'ictère est flagrant quand il est cutané ; la recherche d'un ictere débutant ou subictère se fait au niveau des conjonctives en abaissant, par appui doux, la paupière inférieure.

III-2 LE SYNDROME CLINIQUE DE CHOLESTASE

Associe à côté de l'ictère :

- 1- Urines foncées : C'est un signe important que rapporte le patient et qui sera vérifié et recherché par le médecin en demandant au patient d'uriner dans un bocal transparent en verre clair.
- 2- Selles décolorées : Les selles perdent leur couleur jaune habituelle et prennent une couleur de pâte de farine dite blanc mastic.
- 3- Stéatorrhée : Ce sont des selles riches en graisses non digérées et ceci est du à l'absence de bile nécessaire à leur émulsion. Les selles deviennent alors luisantes et collent aux toilettes et sont difficiles à chasser.
- 4- Prurit : Signe inconstant, peut parfois précéder l'ictère, du à l'accumulation dans le corps des sels biliaires qui stimulent les terminaisons nerveuses au niveau cutané. Il est souvent généralisé à tout le corps depuis la plante des pieds jusqu'au cuir chevelu. Les lésions de grattage qu'il provoque peuvent s'infecter.

III-3 EXAMEN PHYSIQUE:

EG : Fièvre

L'examen doit être complet et doit rechercher :

- 1- Un gros foie de cholestase : Le foie est augmenté de volume dans son ensemble de façon homogène. Son bord inférieur est mousse.
- 2- Une grosse vésicule : masse d'allure kystique rénitente, piriforme qui se projette sur l'aire de la vésicule biliaire et mobile à la respiration. Elle peut être absente (cholécystectomie, vésicule scléroatrophique).
Il est classique d'évoquer un cancer de la tête du pancréas en premier devant tout ictère choléstastique avec une vésicule palpable, c'est la loi de Courvoisier et Terrier.
- 3- Des xanthomes ou xanthélasmas : Ce sont des lésions cutanées blanchâtres, légèrement surélevées dues à l'excès de cholestérol dans l'organisme. Ces lésions siègent surtout au niveau des paupières.

IV – SIGNES BIOLOGIQUES (SYNDROME DE CHOLESTASE)

La bilirubinémie est élevée surtout au dépend de sa fraction conjuguée. Les phosphatasées alcalines sont augmentées, leur dosage est très intéressant surtout dans les cholestases dites anictériques. Le dosage des autres enzymes : (Gama GT, 5 nucléotidase) est peu demandées. Le taux de prothrombine est diminué mais se corrige après injection de la vitamine K.

V – SIGNES RADIOLOGIQUES:

V-1 SEMIOLOGIE ECHOGRAPHIQUE

Le signe majeur est la dilatation des voies biliaires ;

- Quand les voies biliaires intrahépatiques (VBIH) sont dilatées elles deviennent visibles sous forme d'images hypoéchogènes multiples et diffuses à tout le foie.
- Quand la VBP est dilatée, elle réalise avec le tronc porte une image dite en canon de fusil.
- Le siège de la dilatation dépend du niveau de l'obstacle : Ainsi un obstacle hilare (tumeur) donnera une dilatation isolée des VBIH alors qu'un obstacle bas situé (cancer de la tête du pancréas, ampulomevatérien, lithiasse du cholédoque) donnera une dilatation de la VBP, de la vésicule biliaire et des voies biliaires intrahépatiques.
- Les obstacles tissulaires se traduisent par des images échogènes sans cône d'ombre et les lithiases par des images hyperéchogènes donnant des cônes d'ombre).

V-2 SEMIOLOGIE SCANOGRAPHIQUE (TDM): (sans et avec injection de Produit de Contraste)

En plus de la dilatation des VBIH et/ou des VBEH, la tomodensitométrie est plus sensible que l'échographie pour montrer la cause de l'obstacle notamment de nature tumorale : tumeur vésiculaire, hépatique, biliaires (tumeur du hile) ou céphalopancréatique. La TDM permet aussi d'apprécier l'extension aux organes adjacents (viscères, vaisseaux, ganglions)

La sensibilité du scanner pour la détection lithiasse cholédocienne est supérieure à celle de l'échographie.

V-3 SEMIOLOGIE A L'IMAGERIE PAR RESONNANCE MAGNETIQUE : (cholangio - IRM ou bili IRM)

Elle permet une visualisation de la VBP normale ou dilatée. En cas d'obstacle de la VBP, notamment tumorale, la dilatation biliaire et le niveau de l'obstruction peuvent être identifiés dans la majorité des cas. L'identification de la cause de l'obstruction est plus difficile en raison de la faible résolution spatiale.

VI- PRINCIPALES ETIOLOGIES:

VI-1 L'ICTERE LITHIASIQUE

Il s'agit d'un ictère d'installation brutale, intermittent variable évoluant dans un contexte de conservation de l'état général.

La succession de douleurs, fièvre et ictère en 24 à 28 heures caractérise la triade de VILLARD. Le plus souvent l'ictère régresse voir disparaît rapidement comme il était apparu.

VI-2 L'ICTERE NEOPLASIQUE:

L'ictère s'installe progressivement et évolue en un seul tenant, sans rémission. L'ictère devient de plus en plus intense et vire vers le vert. Le prurit presque constant s'intensifie de jour en jour. Les signes infectieux sont rares. L'état général s'altère avec l'évolution.

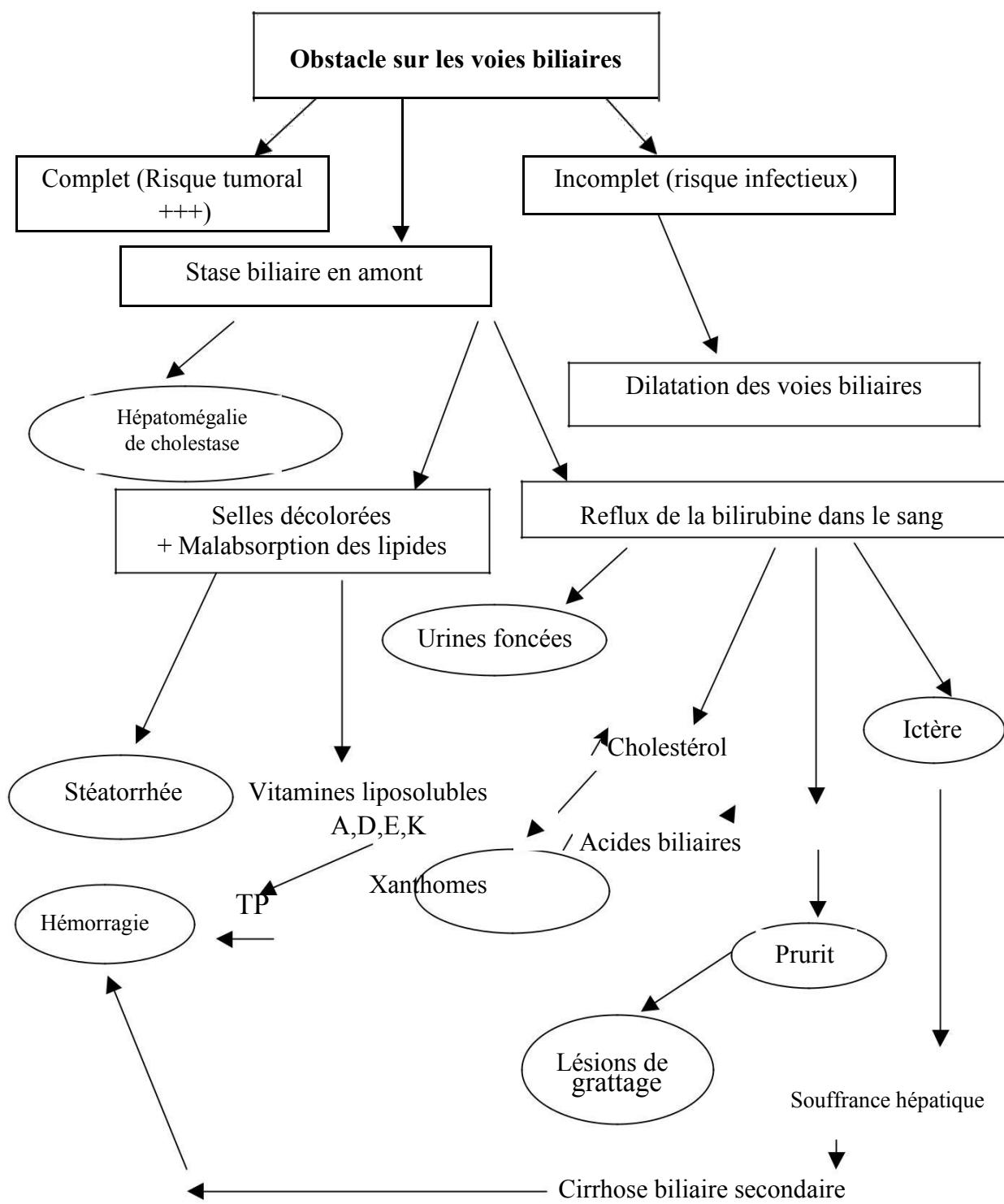


Figure 1 : genèse des principaux signes de la cholestase

SEMOILOGIE DES GOITRES ET DES NODULES THYROÏDIENS

Prérequis

- Anatomie de la loge thyroïdienne,
 - Physiologie hormones thyroïdiennes.

Objectifs

- Définir les termes d'usage courant en pathologie thyroïdienne,
 - Mener correctement l'interrogatoire et l'examen physique de la glande thyroïde,
 - Identifier chez un patient présentant un goitre les signes cliniques et biologiques d'une hyperthyroïdie,
 - Identifier chez un patient présentant un goitre les signes en faveur de la malignité,
 - Connaitre les principaux examens complémentaires à demander devant un goitre ou nodule thyroïdien.

I- DEFINITIONS

- Le goitre désigne toute augmentation du volume de la thyroïde qu'elle soit localisée ou diffuse. On doit évoquer le goitre cliniquement quand la taille palpée des lobes est supérieure à la 1ère phalange du pouce du patient. A l'échographie le goitre correspond à un volume thyroïdien de plus de 18 ml chez la femme et de plus de 20 ml chez l'homme.
 - Le nodule thyroïdien est une formation plus ou moins arrondie localisée de la thyroïde, Le reste de la glande est de volume normal. Le nodule peut être unique ou multiple, secrétant ou non.

II- EXAMEN CLINIQUE

II-1 A L'INTERROGATOIRE : on doit préciser

« Age, Sexe, origine géographique,

«Antécédents : notion de radiothérapie, notion de goitre dans la famille,

«Signes fonctionnels : Sensation de boule dans la gorge (symptôme d'anxiété).

Signes de dysthyroïdie : hyperthyroïdie ou hypothyroïdie.

Signes de compression : Présence de douleurs.

«Mode d'apparition et évolution (aigue ou chronique).

II-2 EXAMEN DE LA THYROÏDE

Malade assis, de préférence sur une chaise, le cou largement dévêtu, la tête en extension. L'examen se fait de façon douce, symétrique et comparative ; toute anomalie doit être notée sur un schéma.

II-2-1 INSPECTION

- Le médecin se met en face du patient et lui demande de déglutir. La glande thyroïde normale n'est ni visible ni palpable, sauf chez certains patients maigres. Le goitre apparaît comme une tuméfaction cervicale antérieure mobile à la déglutition. Cette ascension à la déglutition confirme l'origine thyroïdienne de la tuméfaction. Le médecin notera

- Toute anomalie cutanée: signes d'inflammation, cicatrice, circulation collatérale
- Caractère du goitre: diffus, nodulaire, symétrique ou non
- L'inspection générale: exophthalmie, œdème des membres, bouffissure du visage

II-2-2 – PALPATION

Le médecin se met derrière le malade. La tête du patient est légèrement fléchie. Les différentes structures de la région cervicale sont examinées par les deux mains. L'examen doit être doux et comparatif. Le parenchyme thyroïdien normal est souple et élastique. Toute anomalie doit être bien décrite.

- On précisera: dimension, homogénéité, mobilité, siège et nombre des nodules, consistance (élastique, ferme ou dure).
- On recherchera :
 - un frémissement ou un trille.
 - des adénopathies (ganglions jugulocarotidiens, sus claviculaires et spinaux)

II-2-3 -AUSCULTATION : La région cervicale est auscultée à la recherche

- D'un souffle thyroïdien (goitre vasculaire) qu'on doit distinguer de l'irradiation d'un souffle carotidien.
- D'un souffle de compression trachéale (wheezing).

II-2-4 - EXAMEN SOMATIQUE COMPLET: Cardiovasculaire, neurologique ...

III- EXAMEN COMPLEMENTAIRES

III-1- EXAMENS RADIOLOGIQUES

- **ECHOGRAPHIE CERVICALE:** examen de choix
 - Goitre homogène diffus,
 - Goitre hétérogène : Présence de nodules dont il faut préciser le nombre, la taille, le siège et la structure (kystique ou tissulaire)
 - Présence d'adénopathies cervicale.
- **SCINTIGRAPHIE à l'Iode (I*) ou au Technétium (Tc*) :** examen morphologique et fonctionnel à demander en cas d'hyperthyroïdie. Permet la visualisation de l'iode radioactif capté par la thyroïde
 - Image hypofixante ➔ ➔ froide
 - Image hyperfixante ➔ ➔ chaude
- **RADIOGRAPHIE DU COU :** compression ou déviation trachéale, goitre plongeant,
- **SCANNER :** à demander en cas de goitre plongeant

III-2 EXAMENS BIOLOGIQUES : DOSAGES HORMONIAUX

- TSH en premier, si la TSH est perturbé on demande T4 et T3

Dans L'hyperthyroïdie le taux TSH est effondré et taux de T3 et T4 est augmenté

- Dosage de la calcitonine en cas de nodule unique (cancer médullaire),

IV- RESULTAT DE L'EXAMEN : REGROUPEMENT SYNDROMIQUE IV-1-

SIGNES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DE L'HYPERTHYROIDIE

➤➤ Signes cliniques de l'hyperthyroïdie: la thyrotoxicose

Organe cible	Signes Fonctionnels	Signes Physiques
Cœur	Palpitations	Tachycardie régulière / Eréthisme / troubles du rythme (ACFA)
Neuromusculaire et neuropsychique	Nervosité / Hyperémotivité / Agressivité / Trouble sommeil / Asthénie / Eclat du regard	Tient pas en place / Tremblement extrémité / reflexes ostéotendineux vifs / Signe du tabouret / Rétraction palpébrale
Thermogenèse	Sueurs / Chaleur, thermophobie / Soif Amaigrissement paradoxal	Moiteur (mains) / Ouvre les fenêtres / Poids diminué
Tube digestif	Transit accéléré	Parfois diarrhée

➤➤ Signes biologiques de l'hyperthyroïdie : TSH basse et T3, T4 élevées

VI-2- SIGNES DE COMPRESSION:

Compression trachéale	Dyspnée
Compression récurrentielle	Dysphonie
Compression de l'œsophage	Dysphagie
Compression de la veine cave supérieure	Syndrome cave supérieur : - Circulation veineuse du cou, partie supérieure du thorax racine des membres supérieurs - Œdème en pèlerine (partie supérieure du corps), - Rougeur conjonctivale et céphalées.
Compression du sympathique Cervical	Syndrome de Claude Bernard Horner : Ptôsis, Myosis, enophtalmie

VI-3- SIGNES EVOCATEURS DE MALIGNITE

- Evolution rapide d'un goitre préexistant.
- Consistance dure ou pierreuse d'un goitre ou d'un nodule.
- Présence d'adénopathies cervicales, de signes de compression ou de métastases à distance.
- les signes de malignité échographiques : nodules hypo-échogène, contour flou irrégulier, rond, micro-calcification, adénopathies satellites du même aspect que le nodule, élément cytologique suspect ou franchement malin, calcitonine élevé

NB : Un nodule isolé, simple peut être néoplasique et seul l'examen histologique permettra de trancher

▪ VI -4- PRINCIPAUX TYPES DE GOITRES



Nodule isolé :

- Rechercher les signes de malignité, de dysthyroïdie ; demander une TSHus, échographie et calcitonine.
- Si la TSH us est basse demander une scintigraphie pour localiser l'hyperactivité
-

>> GOITRE SIMPLE

Augmentation diffuse et homogène du volume de la thyroïde, sans signe de dysthyroïdie, ni de compression, ni de malignité ou d'inflammation

➤➤ GOITRE ENDEMIQUE

Goitre survenu dans un contexte où 10% au moins de la population présente un goitre. Il est en général secondaire à un déficit en iodé.

➤➤ GOITRE NODULAIRE

- **Nodule isolé** : Nodule apparemment unique. Il peut s'agir
 - d'un■■ nodule froid: ne fixe pas l'iode radioactif
 - nodule chaud: Hyperfixant sans dysthyroïdie
 - nodule toxique autonome: Hyperfixant, extinctif, avec signes d'hyperthyroïdie
- **Goitre multihétérnodulaire**: Thyroïde augmentée de volume dans son ensemble, non homogène, siège de plusieurs formations nodulaires de tailles et de fixations différentes.

➤➤ GOITRE DE LA MALADIE DE BASEDOW

Goitre homogène diffus hyperfixant avec exophthalmie et signes d'hyperthyroïdie.

➤➤ GOITRE TOXIQUE

Goitre multinodulaire avec signes clinique et biologique d'hyperthyroïdie.

➤➤ GOITRE PLONGEANT

Le goitre plonge dans le thorax. Cliniquement sa limite inférieure n'est pas palpable en position d'extension cervicale. En radiologie cette limite est à plus de deux travers de doigt du manubrium sternal.

➤➤ GOITRE NEOPLASIQUE :

- signes cliniques, échographique, biologique et cytologique de malignité.

SEMOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE

Prérequis : Anatomie du sein.

Objectifs :

- Mener correctement un interrogatoire précis et un examen clinique minutieux des seins,
- Décrire les signes cliniques à préciser devant un nodule du sein,
- Décrire les signes cliniques et radiologiques en faveur de la malignité d'un nodule du sein,
- Décrire les particularités d'un nodule bénin du sein,
- Reconnaître les signes cliniques d'un abcès du sein,
- Connaitre les principaux examens complémentaires à demander devant une atteinte de la glande mammaire.

EXAMEN CLINIQUE

I-1- INTERROGATOIRE est capital-

Il va relever les signes fonctionnels qui motivent la patiente à consulter, dont il faut préciser leurs critères sémiologiques, leurs circonstances d'apparition et leur mode d'évolution et rechercher les facteurs de risque du cancer du sein.

I-1-1 : SIGNES FONCTIONNELS

- Douleur mammaire : La mastodynies se manifeste par une douleur se projetant au niveau de l'aire mammaire qui est angoissante voire invalidante. C'est une douleur aigue, chronique continue ou cyclique qui survient après l'ovulation et à tendance à s'estomper lors des règles, peut être uni ou bilatérale.

Le cancer peut ne pas être associé à la mastodynies sauf dans les formes localement avancées.

- Nodule ou tumeur mammaire (découverte à l'autopalpation ou lors d'un examen systématique)
 - :
- Ecoulement mamelonnaire : Spontané ou provoqué ? uni ou bilatéral ? unipore ou multi pore (plusieurs orifices) ? son aspect (lactescents, crémeux, marron ou vert foncé ?) Clair (translucide), sérieux (jaune) ou sanguin (rouge).



Different types of mammary discharge

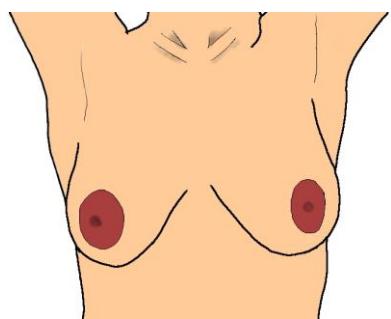
- Deformation and increase in breast volume
- Cutaneous changes
- Axillary lymphadenopathy

I-1-2 : FACTEURS DE RISQUE DU CANCER

- Age >40 years (but can occur at 51/60)
- Hormonal risk: nulliparity, oral contraception, hormonal substitution therapy, early puberty, late menopause, absence of breastfeeding.
- Personal and family history of gynecological cancer (ovary) and breast cancer.

I-2 EXAMEN MAMMAIRE:

' POSITION : Patient torse nu, position couchée et assise mains posées sur les genoux joints, les bras levés au dessus de la tête. L'examen doit être impérativement bilatérale et comparatif au niveau des deux seins.



' INSPECTION : doit rechercher et préciser • Le volume et la taille des seins. • Une asymétrie du sein et les modifications cutanées. • Modification du contour du sein : déformation, rétraction, fossette, rides, ulcération. • Modification de la plaque aréolo-mamelonnaire: Eczéma du mamelon (maladie de Paget); Ombilication et /ou Rétraction du mamelon, Asymétrie de hauteur de la plaque aréolo-mamelonnaire. • Signes inflammatoires : Rougeur; aspect en peau d'orange se traduisant par des pores due à une obstruction des canaux lymphatiques (la peau apparaît épaissie), le processus inflammatoire peut être localisé (très évocateur des affections aigues : abcès) ou intéressant tout le sein.



Ulcération du quadrant supéro-externe sein gauche



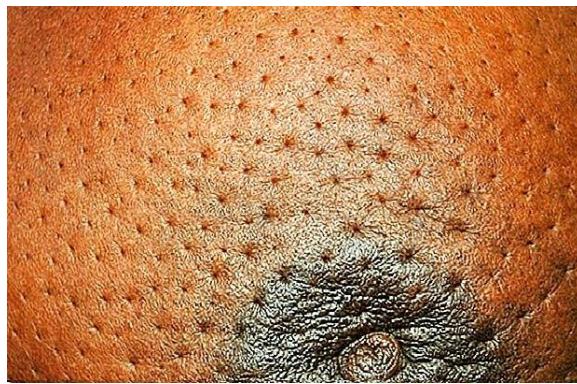
Lésion exématiforme de la plaque aréolomamelonaire (maladie de Paget)



rétraction du mamelon

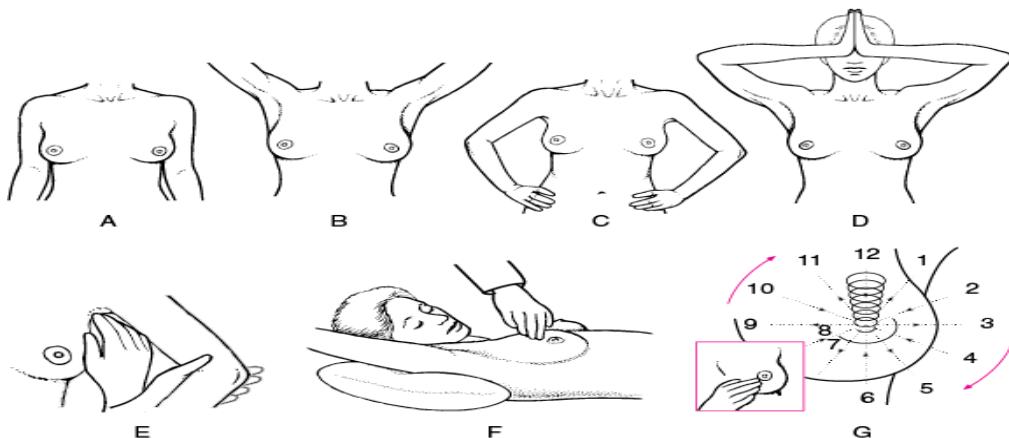


Aspect inflammatoire du sein gauche



Aspect de peau d'oranges

' **PALPATION** : Elle est réalisée dans différentes positions : assise les bras en bas, puis les bras levés au dessus de la tête et en position couchée en mettant un petit coussin sous l'épaule du côté du sein examiné, ainsi le sein s'étale sur la paroi thoracique facilitant l'examen. La palpation doit être douce utilisant la pulpe des doigts dans un mouvement rotatoire de va et vient et doit systématiquement explorer quadrant par quadrant. • Toute anomalie (nodule) doit être notée et préciser son siège, sa taille, ses limites, sa mobilité et sa consistance.



Différentes positions pour examen clinique du sein

- La palpation des creux axillaires et sus claviculaire doit être systématiquement réalisée de manière bilatérale à la recherche d'adénopathies satellites homolatérales et controlatérales.

' EXAMEN GENERAL

- Le sein controlatéral (Possibilité de tumeur bilatérale)
- Les aires ganglionnaires : axillaires, sus et sous claviculaires.
- Examen gynécologique avec touchers pelviens et frottis cervico-vaginal.
- Recherche de métastases hépatiques (hépatomégalie), pulmonaire (épanchement pleural), osseuses (douleurs).

II-EXAMENS COMPLEMENTAIRES

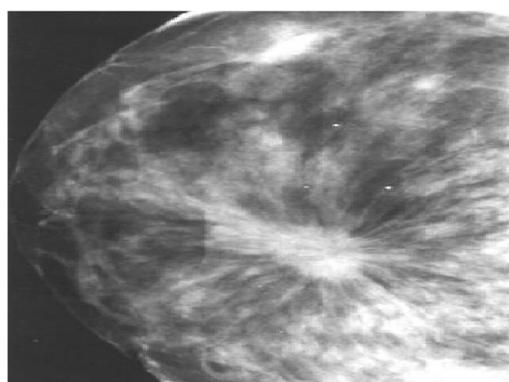
II-1- Mammographie: réalisée Au Cours des dix premiers jours du cycle menstruel

II-2 Echographie mammaire:

II-3 Cytoponction à l'aiguille fine d'un nodule palpable à la recherche de cellules malignes.

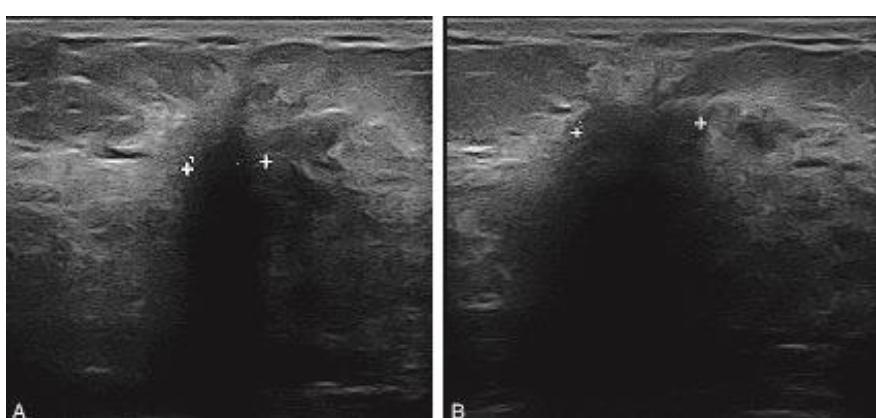
CRITERES DE PRESOMPTION DE MALIGNITE D'UN NODULE MALIN DU SEIN Sont en faveur de la malignité d'un nodule du sein les critères suivants :

- Survenue chez une patiente présentant des facteurs de risque.
- A l'inspection : Il existe une Asymétrie ou des Modification du contour du sein et/ ou de la plaque aréolo-mamelonnaire(cités ci dessus).
- A la Palpation : C'est un nodule mal limité, à contours irréguliers, se dissocie mal du tissu glandulaire, de consistance dure, pierreuse, de forme anguleuse, peu mobile ou fixé au plan superficiel (le pincement de la peau n'est pas possible) et au plan profond (Tillaux= la mise en tension du muscle grand pectoral par l'adduction contrariée rend la mobilisation du sein très diminuée voir impossible).
- Il s'agit d'un nodule associé à : un écoulement mamelonnaire péjoratif quand i est spontané, unilatéral et sanguant, à un Œdème cutané et /ou adénopathie axillaire.
- A la mammographie : il existe une Opacité nodulaire stellaire, des micros calcifications et /ou une désorganisation architecturale.



Mammographie image dense mal limitée avec des spicules

- A l'échographie : c'est une masse hypoéchogène, hétérogène, solide avec cône d'ombre postérieur, non compressible et irrégulière. Le diamètre antéropostérieur est supérieur au diamètre transversal (à grand axe vertical).



Echographie mammaire : image hétérogène mal limitée à grand axe perpendiculaire à la peau

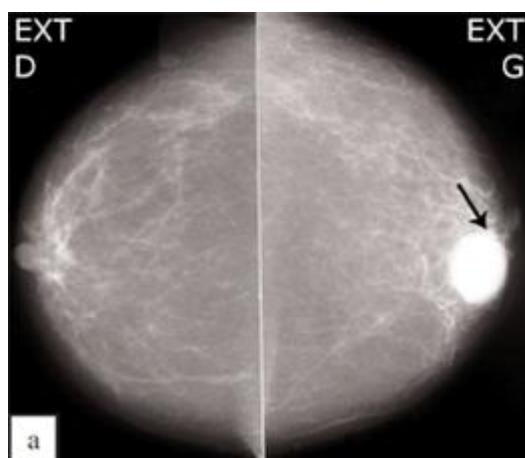
La cytoponction (présence de cellules malignes) mais n'a de valeur que s'elle est positive

La microbiopsie avec étude histologique permet de confirmer la malignité d'un nodule

Un nodule bénin= Tuméfaction superficielle, élastique, bien limitée, indolore, non adhérente, de contours nets en surface avec déformation harmonieuse du sein,
Echographie: tumeur solide bien limitée, hypoéchogène, de contours nets et sans renforcement postérieur et dont le grand axe est parallèle à la peau.



Echographie mammaire : image hypoéchogène homogène bien limitée à grand axe parallèle à la peau en faveur d'une tumeur bénigne.



Mammographie bilatérale : opacité bien limitée en faveur d'une tumeur bénigne

SEMOILOGIE CLINIQUE D'UN ABCES DU SEIN

IV-1- ABCES PROFOND

- Complication fréquente de l'allaitement. Il peut être en rapport avec de germes spécifiques (tuberculose)
- Début est brutal avec augmentation rapide du volume du sein qui devient lourd, œdématisé chaud et douloureux.
- La palpation découvre une tuméfaction dure très empâté, fluctuante (collection) et douloureuse avec ADP axillaires douloureuses et écoulement mamelonnaire purulent.
- Il faut sevrer immédiatement en cas d'allaitement, Inciser et drainer l'abcès et faire des biopsies multiples à la recherche de tuberculose ou de cancer et prescrire un traitement antibiotique (selon antibiogramme).

HERNIES ET EVENTRATIONS DE LA PAROI ABDOMINALE

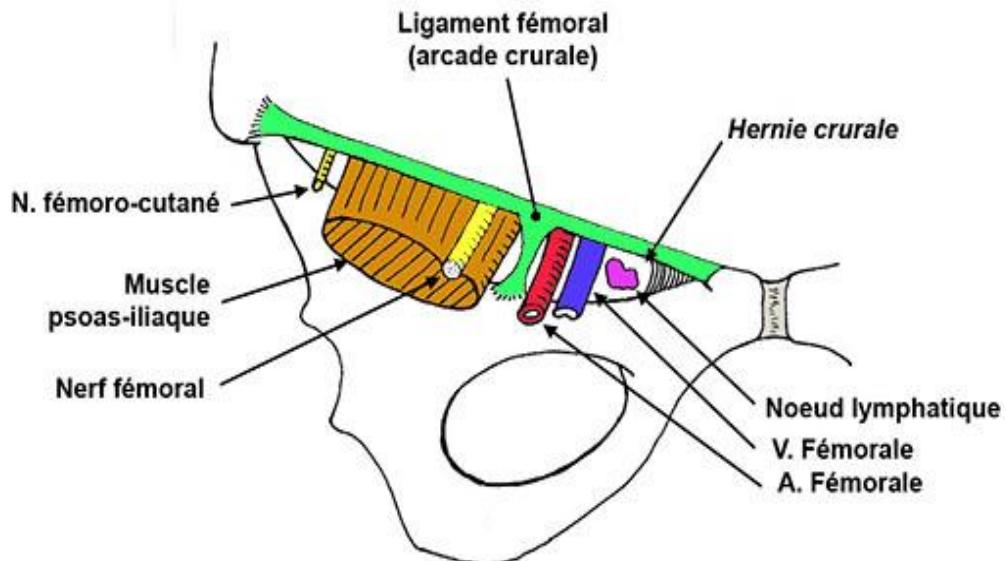
OBJECTIFS DU COURS :

- I. Définir une hernie, une éventration et une éviscération
- II. Mener correctement l'examen clinique d'un patient présentant une hernie de l'aine.
- III. Diagnostiquer cliniquement une hernie de l'aine non compliquée
- IV. Préciser les éléments cliniques aidant à différencier le type anatomique de la hernie de l'aine.
- V. Connaitre les signes cliniques d'une hernie étranglée.

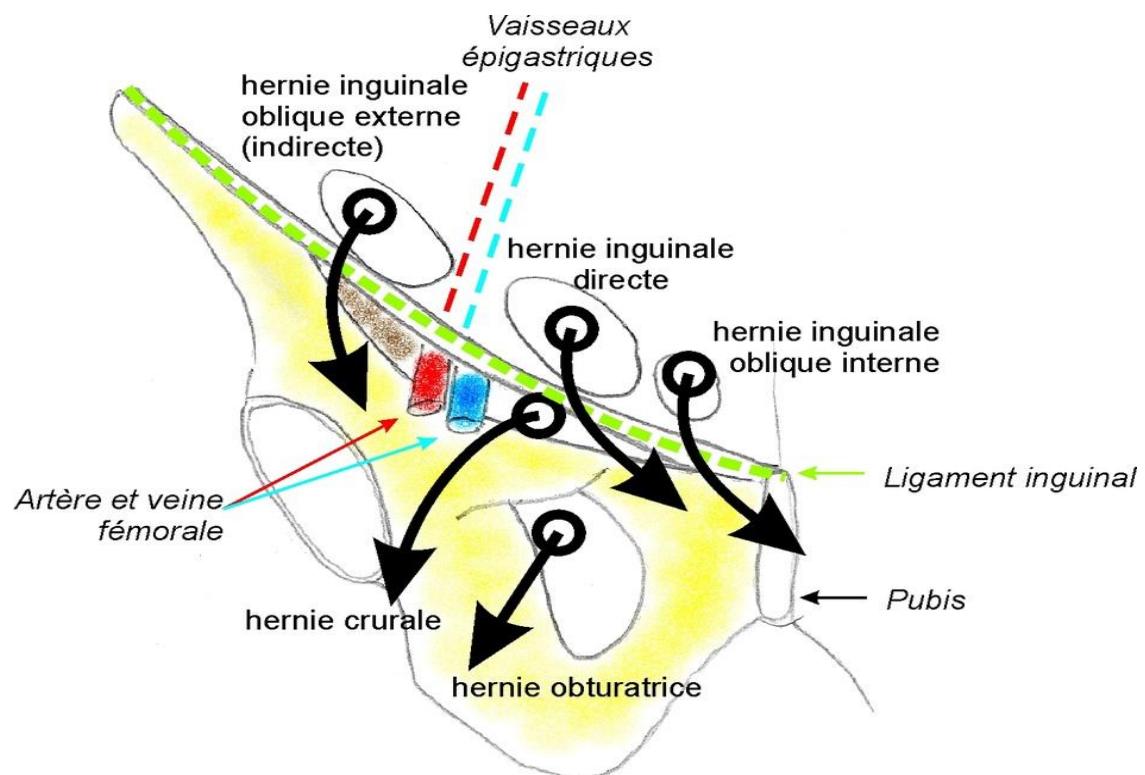
A. Définitions :

- A. Hernie : issue de viscères abdominaux contenus dans un sac péritonéal qui s'extériorise au travers d'un orifice = le collet. Au niveau d'une zone de faiblesse anatomique de la paroi abdominale.
- B. Eventration : issue de viscères abdominaux contenus dans un sac péritonéal qui s'extériorise au travers d'un orifice non naturel de la paroi abdominale (post intervention chirurgicale comme la laparotomie ou une plaie abdominale)
- C. Eviscération : issue de viscères abdominaux en dehors de la cavité abdominale provoquée par la désunion d'une plaie opératoire.
- D. Diastasis : un écartement de 2 muscles sans orifices véritable avec issue possibles de viscères abdominaux protégés par un sac péritonéal.

B. Anatomie de la région de l'aine :



COUPE FRONTALE



C. Diagnostic de l'hernie de l'aine non compliquée :

Interrogatoire	<p>Patient ressent une boule, une <u>tuméfaction</u> au niveau de la région de l'aine → préciser les circonstances</p> <ul style="list-style-type: none"> I. Date et modalités d'apparition <ul style="list-style-type: none"> a. Récente ou ancienne b. Brutale ou progressive c. Récidive ? d. AMG récent (perte protéines => fragilisation de la paroi abdominale) II. Signes fonctionnels <ul style="list-style-type: none"> I- Douleur (à l'effort ou permanente) gène, pesanteur, tiraillement II- Troubles digestifs (constipation, ralentissement du transit) III- Signes urinaires IV- Retentissement physique et professionnel III. Conditions de vie : actif, sportif ou sédentaire IV. Facteurs de risque V. ATCD médicaux et chirurgicaux
Signes généraux	<p>A l'examen clinique : pas de signes généraux, pas d'asthénie ni de fièvre Pas d'altération de l'état général dans la forme non compliquée.</p>
Signes physiques Faire systématiquement un examen en position <u>debout</u> (avec la pesanteur les viscères descendant) puis en position <u>couchée</u> avec effort de toux	<ul style="list-style-type: none"> ■ Inspection : parfois normale si petite hernie sinon on trouve une <u>tuméfaction impulsive à la toux</u> Il faut apprécier l'état de la peau en regard inspecter les bourses ■ Palpation : élément essentiel au diagnostic V- Avec l'extrémité de l'index, on coiffe la peau du scrotum et on remonte jusqu'à la région inguinale en haut et en dehors. VI- A la toux, on perçoit une <u>tuméfaction impulsive, peu ou pas douloureuse, réductible</u> (on peut la réintégrer facilement à l'intérieur de la cavité abdominale), <u>reproductible</u> (à chaque fois que le patient tousse on la voit réapparaître) VII- Ligne de Malgaine (projection cutanée de l'arcade crurale) : <ul style="list-style-type: none"> + au dessus = hernie inguinale + en dessous = hernie crurale ■ Percussion : souvent normale donc on la fait rarement ■ Auscultation : souvent normale, parfois bruit hydro-aréique si contenu digestif (grêle ou colon) ■ <u>Examen systématique des autres orifices herniaires</u> (ligne blanche, omblig et côté controlatéral) ■ <u>Toucher rectal++</u> : justifié surtout si on a des ATCD de dysurie ou de constipation

- **Le diagnostic de l'hernie de l'aine est purement clinique +++**

D. Formes compliquées :

➤ Hernie engouée:

- VIII- Difficile à réduire, parfois irréductible mais non ou peu douloureuse, pas de signes occlusifs
- IX- Menace d'étranglement +++
- X- Indication opératoire formelle rapide (mais pas urgente)

➤ Hernie étranglée :

- Complication grave =>**urgence chirurgicale**

- Le risque d'étranglement est accru en cas d'hernie crurale ou si le sac herniaire est grand alors que le collet est étroit.

- Signes fonctionnels :

Douleur vive, brutale, continue et pénible

Signes digestifs associés inconstants : nausées, vomissements, arrêt du transit

Examen clinique :

Tuméfaction de l'aine

Douloureuse, irréductible, non impulsive à la toux +++

Lors de l'examen abdominal : météorisme abdominal, douleur diffuse

Risque : occlusion mécanique avec nécrose qui provoque une péritonite par perforation du contenu étranglé

E. Formes anatomiques :

- Hernie inguinale indirecte(oblique externe) : 50%

la plus fréquente

Homme : suit le trajet du cordon spermatique vers les bourses = hernie inguino-scrotale.

Femme : exteriorisée au niveau des grandes lèvres=hernie inguino-labiale

- Hernie inguinale directe :

Hernie de faiblesse

Toujours acquise

parfois volumineuse mais arrive rarement jusqu'au scrotum

- Hernie crurale : 15%

Survient chez la femme +++

Son collet est situé en dessous de la ligne de malgaine en dedans des vaisseaux fémoraux

Souvent petite avec un collet étroit +++ => risque accru d'étranglement.

. Hernie inguinale oblique interne : exceptionnelle, extériorisée à l'angle interne du canal inguinale

F. Diagnostics différentiels :

Pour les hernies inguinales	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <u>Hydrocèle</u> = épanchement séreux dans la vaginal testiculaire ➤ <u>Varicocèle</u> = dilatation veineuse au niveau du scrotum ➤ <u>Orchiépidymite</u> ➤ <u>Torsion du testicule</u> (urgence+++)
Pour les hernies crurales	Adénopathie crurale Phlébite de la crosse saphène interne Anévrisme fémoral

G. Hernie ombilicale : Rare, 6% de l'ensemble des hernies

Elle peut être congénitale :

Chez le nouveau né : aplasie de la paroi abdominale

Chez le nourrisson et l'enfant : se présente comme un déplissement de l'ombilic, la guérison se fait spontanément en quelques mois, au delà de 05 ans il faut opérer.

Elle peut être acquise :

Chez l'adulte : c'est une hernie de faiblesse

C'est une masse ombilicale ayant les caractères d'une hernie

la peau en regard peut être altérée

augmente progressivement de volume

peut donner des épisodes d'engouement
elle peut s'étrangler ++

H. hernie de la ligne blanche :

Elle est due à la déhiscence de l'aponévrose entre les 2 muscles grands droits au dessus de l'ombilic.

I. L'éventration :

Issue des viscères abdominaux contenus dans un sac péritonéal et s'extériorise par un orifice non naturel de la paroi abdominale (secondaire à une laparotomie ou une plaie de la paroi abdominale)

Diagnostic clinique :

- Tuméfaction impulsive à la toux
- Réductible
- Peu ou pas douloureuse
- Reproductible
- En regard d'une cicatrice abdominale +++
- Mode évolutif (complications) et prise en charge similaire à une hernie inguinale classique.

J. Principes du traitement :

Le principe est de traiter 2 choses :

Traitement du sac péritonéal : dissection + résection et fermeture.

Traitement de la déhiscence de la paroi abdominale : renforcement par des sutures (herniorraphie) ou par une plaque prothétique (hernioplastie)

En cas d'étranglement herniaire =>urgence chirurgicale +++

Selon la viabilité de l'intestin :

Si satisfaisante : on réintègre le contenu intestinal

Si nécrose : résection de l'anse intestinale concernée

Puis réparation pariétale par raphie : pas de prothèse car risque d'infection de la plaque +

SEMOLOGIE PROCTOLOGIQUE

Prérequis : Anatomie de l'anus et du plancher pelvien

Objectifs :

1. Mener correctement l'examen clinique en proctologie,
2. Décrire les différents signes fonctionnels en proctologie,
3. Définir les principales affections proctologiques.

I- EXAMEN PROCTOLOGIQUE

I-1- INTERROGATOIRE

Il doit préciser les symptômes fonctionnels rencontrés lors de la pathologie proctologique.

Attention : Le patient a tendance à qualifier d'hémorroïdes toute symptomatologie proctologique, le but de l'interrogatoire et de mettre le terme médical exact sur le signe rapporté par le malade.

- ✓✓ **RECTORRAGIE:** Emission du sang rouge par l'anus. A différencier des melænas (émission de sang noir digéré) et des selles colorées par les betteraves, le vin ou certains médicaments.

Les caractères de la rectorragie doivent être précisés : son ancienneté, sa fréquence, Son abondance (petite, moyenne ou grande), son rapport avec la selles (précédant, enrobant ou mêlé aux selles), son mode évolutif (continue, intermittent ou par poussées récidivantes) et les signes accompagnateurs.

NB: Aucun caractère de la rectorragie ne permet d'éliminer, sur le simple interrogatoire, un cancer colorectal.

✓✓ DOULEUR ANALE OU PROCTALGIE

- La douleur peut être déclenchée par la selle: c'est la sphincterralgie qui traduit la contracture de l'appareil sphinctérien; il s'agit souvent d'une fissure.
- La douleur peut-être permanente et indépendante de la selle: thrombose hémorroïdaire, abcès, cancer canalaire.
- La douleur peut être modifiée par la position: une douleur, exacerbée par la position assise et calmée par la position debout ou la marche évoque une névralgie anale.

✓✓ ECOULEMENT ANAL

- Il peut s'agir simplement d'une impression d'humidité anale en rapport avec un prolapsus hémorroïdaire ou une dermite péri anale suintante
- Il peut être purulent :
 - d'origine anale, fistule ou fissure infectée

- d'origine sus-anale (rectum): maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Crohn et Rectocolite Hémorragique « RCH »).
- ou à distance de l'ano-rectum: sinus pilonidal, maladie de Verneuil.

✓✓ **PRURIT:** Sensation de grattage ou démangeaisons, de cause générale (dermatologique, proctologique ou essentielle c'est-à-dire sans cause connue).

✓✓ **SYNDROME RECTAL « syndrome de Bensaude ».** Il associe

- Emissions afécales, purulentes ou glaireuses.
- Epreinte : C'est une douleur abdominale de type colique s'accompagnant d'une contraction douloureuse et répétitive de la partie terminale du côlon et du rectum.
- Ténesme : Tension douloureuse au niveau de l'anus avec sensation de corps étranger « dans le rectum » donnant l'envie constante d'aller à la selle.
- Faux besoins. Ce sont les envies d'aller à la selle qui ne peuvent se concrétiser.

✓✓ FORMATIONS TUMORALES.

C'est la perception par le patient d'une « excroissance » anormale au niveau de l'anus: Elle peut traduire une thrombose hémorroïdaire, un papillome encore appelé condylome acuminé , un abcès, une tumeur de la peau voire un cancer du canal anal ou rectal.

✓✓ MANIFESTATIONS LIEES A LA DEFECATION

- ➔ Apparition d'une boule lors de l'exonération: IL peut s'agir de la procidence d'un paquet hémorroïdaire, d'une partie du rectum (prolapsus rectal) ou d'une papille hypertrophiée.
- Sensation de vidange incomplète nécessitant des manœuvres « facilitatrices »: Ceci en cas de rectocèle (Saillie du rectum dans le vagin), ou d'un trouble de la statique pelvienne (Altération progressive des éléments de soutien du plancher pelvien).
- Trouble de la continence: c'est à dire un trouble lié à la capacité de rétention ou d'émission des selles. En cas de trouble on parlera d'incontinence. On fera préciser : La nature de l'incontinence (incontinence au gaz, au selle liquide ou au solide), son caractère permanent ou intermittent, la nécessité du port d'une garniture et le retentissement sur la qualité de vie.

I-2- EXAMEN PHYSIQUE:

Il doit être méthodique, minutieux et effectué avec douceur et bon éclairage sur l'anus.

Le malade est en position génou-pectorale avec la joue posée sur la table. Lorsque le malade est âgé ou invalide l'examen peut se faire en décubitus latéral. La présence d'un(e) infirmier(e) est obligatoire (voire médico-légale).

✓✓ L'INSPECTION :

Se fait les mains gantées en déplissant l'anus. Il faut déplier les plis radiés à la recherche d'une lésion moins apparente comme une fissure anale par exemple.

Il faut demander au malade de pousser pour rechercher un prolapsus hémorroïdaire ou rectal.

✓✓ LA PALPATION: Comporte trois temps :

- La palpation externe à la recherche d'une anomalie péri-anale (induration ou écoulement provoqué signant la présence d'une fistule anale).
- Le toucher anal. Il apprécie la tonicité sphinctérienne. En cas de manque de tonicité on parlera d'hypotonie voire d'atonie sphinctérienne. En cas de contracture du sphincter, on parlera d'hypertonie sphinctérienne. Ce toucher apprécie aussi au niveau de la ligne pectinée, les valvules anales qui recouvrent les cryptes de Morgani et les papilles anales sous forme de petites saillies triangulaires
- Le toucher rectal (TR):

&Technique : Sa technique doit être irréprochable.

Condition d'un bon TR:

- Rassurer le patient et lui expliquer le déroulement et le but de l'examen.
- La vessie et le rectum doivent être vides.
- L'examen doit être fait avec douceur chez un patient décontracté.

Position :

Le TR est fait en position gynécologique : malade allongé sur le dos, sur un plan dur, les cuisses fléchies et bien écartées, le médecin à droite du malade.

Pour faire un toucher rectal, le médecin doit introduire son index, recouvert d'un doigtier lubrifié, dans l'anus du patient.

Pour une exploration complète de l'ampoule rectale, l'index doit être entièrement introduit à l'intérieur de l'anus, l'autre main déprimant la région hypogastrique à la rencontre du doigt rectal.

La paroi rectale doit être palpée sur toute sa circonférence et sur toute sa hauteur accessible au doigt. On profitera du TR pour examiner la prostate.

&- Résultats :

On appréciera le contenu de l'ampoule rectale, la souplesse de la paroi, la tonicité du sphincter anal.

Toute anomalie doit être signalée : induration, ulcération, bourgeon tumorale, polyte.

Si une lésion est détectée on doit préciser : sa taille, son étendue en hauteur et en circonférence, sa distance par rapport à la marge anale, sa sensibilité, sa mobilité et sa base d'implantation.

Au retrait de l'index, on examinera si le doigtier est souillé par du sang ou du pus.

I-3 EXPLORATIONS ANO-RECTALES

Font parties intégrantes de l'examen proctologique.

- ✓✓ **L'anuscopie** permet de voir la muqueuse du canal anal et d'apercevoir le bas rectum. Cet examen est indolore et ne nécessite aucune préparation.
- ✓✓ **La rectoscopie au tube rigide** : Explore la muqueuse de tout le rectum jusqu'à la charnière recto-sigmoïdienne.

II / PRINCIPALES AFFECTIONS PROCTOLOGIQUES

II-1 LES HEMORROIDES

Résultent de l'hypertrophie du plexus veineux hémorroïdaire, Ce ne sont pas des varices mais des ectasies vasculaires formées par la juxtaposition de logettes veineuses. Leur aspect anatomique est celui de saccules remplies de sang, indépendantes les uns des autres mais regroupés en grappes. On distingue, les hémorroïdes internes situées au dessus de la ligne pectinée et les hémorroïdes externes situées au dessous de la ligne pectinée sur le pourtour de l'anus

Elles se manifestent par des signes qu'on classe en 4 catégories :

- Les crises fluxionnaires : Correspondent à des accès de congestion hémorroïdaire. Se manifestent par une tension douloureuse accrue par l'activité physique.
- Les thromboses hémorroïdaires : Formation au niveau des hémorroïdes de caillots ou thrombus sanguins. Apparaissent comme une tuméfaction anale arrondie, bleutée ou noirâtre, dure et sensible.
- Les rectorragies hémorroïdaires : habituellement déclenchées par la défécation, arrosant la cuvette le papier et sont rarement spontanées.
- Les prolapsus hémorroïdaires sont dus à la laxité du tissu conjonctif sous muqueux qui permet l'extériorisation des hémorroïdes internes. Elles apparaissent comme des bourrelets rougeâtres. Il en existe plusieurs degrés.

II-2- LA FISSURE ANALE

C'est une ulcération superficielle de la muqueuse anale en forme de raquette de la partie basse

➤ « sous valvulaire » du canal anal. Elle s'accompagne assez souvent d'un repli cutané externe (dit également « marisque sentinelle ») et d'une papille hypertrophiée. L'ensemble est appelé

➤ « complexe fissuraire ».

- Des douleurs anales caractéristiques, évocatrices. Elles sont ressenties comme soit une brûlure ou une déchirure légère, soit comme une douleur intolérable.

Cette douleur est provoquée par la défécation réalisant un rythme à trois temps +++ : Elle apparaît au passage des selles, s'efface ensuite pendant quelques minutes, pour reprendre pendant plusieurs heures avec intensité accrue, avant de disparaître complètement jusqu'à la selle suivante.

- Des rectorragies minimes, généralement à l'essuyage,

- Une contracture du sphincter anal : Élément essentiel du syndrome fissuraire qui rend l'examen difficile voire impossible. Il faut souvent pour voir la fissure, réaliser une anesthésie locale du sphincter.

A l'examen clinique, la fissure anale siège le plus souvent au niveau de la commissure anale postérieure, rarement antérieure ; Elle peut être « jeune » ou au contraire « évoluée » ou les formations para-fissuraires sont très développées.

II- 3- LA FISTULE ANALE:

C'est l'apparition d'un conduit entre le canal anal et la peau de la marge anale. Son origine est toujours une infection d'une crypte de Morgani ou s'ouvrent les glandes d'Hermann et Desfossés.

La suppuration comporte schématiquement trois étapes :

- Un stade initial de cryptite, correspond à l'infection d'une glande d'Hermann et Desfossés.
- Un stade secondaire de diffusion, où la suppuration se propage par les canaux d'Hermann et Desfossés à travers le système sphinctérien.
- Un stade terminal d'ouverture à la peau par un orifice externe ou secondaire. Si l'infection se fait par un mode aigu, il y a abcès. Si l'infection se fait à bas bruit, il y a fistule.

Selon la hauteur et la complexité des trajets, on distingue des fistules simples et des fistules complexes (Classification d'Arnous et Parnaud).

Sur le plan clinique, le patient consulte pour un abcès anal; pour un écoulement purulent et dont l'examen révèle la présence d'un orifice autour de l'anus, d'où sourd du pus.

II-4- MALADIE PILONIDALE OU SINUS PILONIDAL

Se voit souvent chez le sujet jeune, de sexe masculin.

Son étiopathogénie est discutée : soit affection congénitale, soit affection acquise (rôle possible de microtraumatismes de la région sacro coccygienne ou défaut de pousse pileuse).

Le diagnostic repose sur différents éléments :

- Le siège de la lésion dans la région sacro coccygienne avec parfois de nombreux orifices externes
- L'existence, sur la ligne médiane, dans le pli inter fessier, de petits orifices sous forme de pores dilatés
- La perception de cordons inflammatoires conduisant des orifices fistuleux latéraux, non pas vers le canal anal, mais vers les pores dilatés médians (Il n'existe aucune communication avec le canal anal).

II-5- CANCER COLORECTAL OU ANAL

Rappelons, enfin, que n'importe quel signe d'appel doit attirer l'attention vers une lésion beaucoup plus grave, en particulier un cancer colorectal ou anal et ne pas s'arrêter au simple diagnostic d'hémorroïdes.

INFECTION CHIRURGICALE AIGUE DES PARTIES MOLLES

Objectifs :

- Reconnaître cliniquement une inflammation suppurée des parties molles : abcès chaud, panaris et phlegmon de la main.
- Décrire les signes cliniques de la gangrène gazeuse.

I- INFECTIONS SUPPUREES DES PARTIES MOLLES

I-1-ABCESCHAUD: Type de description : abcès chaud du tissu cellulos graisseux sous-cutané de la fesse

- ✓✓ Définition : lésion inflammatoire suppurée localisée, collectée dans une cavité néoformée
- ✓✓ Signes cliniques
 - A L'interrogatoire
 - Histoire et terrain :
 - Porte d'entrée, antécédents d'abcès, médicaux et tares associés (diabète)
 - Signes fonctionnels
 - douleur lancinante, augmentant le soir, insomniaante
 - spontanée et exacerbée par le contact
 - limitant le mouvement
 - Examen physique
 - Signes généraux
 - fièvre : peut être rémittente, oscillante, intermittente
 - céphalées, anorexie, asthénie
 - Signes physiques (Les signes cardinaux de l'inflammation aigue)
 - Masse indurée au début puis fluctuante au stade d'abcès collecté.
 - Douloureuse (douleur locale exacerbée par la pression)
 - Rouge (rougeur s'effaçant à la pression).
 - Chaude (La palpation douce par le dos de la main trouve une chaleur localisée à la masse).

Le reste de l'examen trouve des adénopathies régionales et satellites.

- ✓✓ Evolution : quatre phases
 - Début : du 1^{er} au 3^{ème} jour: signes locaux seuls, peu de signes généraux.
 - Collection : à partir du 3^{ème} jour exacerbation des signes locaux, apparition des signes généraux.
 - Fistulisation : entre le 5^{ème} et le 8^{ème}: ulcération au sommet, évacuation du pus, diminution des signes généraux.
 - Cicatrisation : fermeture progressive, cicatrice indélébile.

I-2-LE PANARIS

- ✓✓ Définition : infection du doigt souvent d'origine staphylococcique ou parfois streptococcique secondaire à une plaie qui peut passer inaperçue. Elle est souvent superficielle, mais peut être sous cutanée voir profonde.
- ✓✓ Signes cliniques

- I- Au début les signes inflammatoires locaux sont présents, mais la douleur cède le soir et le patient est apyrétique (stade réversible).
- II- Au stade de collection (stade irréversible++). Les signes locaux sont exacerbés avec apparition d'une collection fluctuante blanchâtre, péri-unguiale ou sous unguéale, dorsale ou pulpaire avec surtout une douleur intense, pulsatile et insomniante. Il existe parfois à ce stade des adénopathies satellites.
- Signes généraux : fièvre et signes biologiques de l'inflammation.

I-3- LE PHLEGMON DE LA MAIN

- ✓✓ Définition : C'est une infection des espaces cellulaires ou des gaines. Elle peut être secondaire à une piqûre septique directe, ou à un panaris mal traité.
- ✓✓ Signes cliniques
 - 1) Au début :
 1. Signes inflammatoires locaux, Flexum antalgique du doigt,
 2. Douleur à la pression du cul de sac proximal de la gaine ou à l'extension du doigt +++,
 3. Absence de fièvre et de signes généraux.
 - 2) Au stade de collection
 1. Œdème,
 2. Douleur vive, pulsatile, insomniante. Il s'agit d'une douleur traçante, long de la gaine correspondante jusqu'au pli palmaire inférieur de la paume,
 3. Attitude des doigts en crochet, irréductible signe déjà des lésions avancées,
 4. Signes généraux présents.

II-INFECTIONS NECROSANTES DES PARTIES MOLLES : GANGRENE GAZEUSE

- ✓✓ Définition : Infection nécrosante des tissus avec production de gaz par des germes anaérobies (certains auteurs réservent ce terme uniquement pour l'étiologie clostridienne)
- ✓✓ Signes cliniques
 - 1) Circonstances de diagnostic
 1. 48 H après un écrasement des membres
 2. Chez un malade fragile : diabète, cachexie, artérite
 3. Terrain local fragile : Dévascularisation, mauvais parage
 - 2) Signes généraux :
 1. Malade agité anxieux avec faciès altéré, plombé, gris, pouls filant rapide Pas de fièvre
 - 3) Signes locaux
 - Douleur en striction, Œdème pale, luisant, blanchâtre
 - Gonflement diffus, signe du godet, Créditation neigeuse sous cutanées
 - 1. Pas d'adénopathies
 - 4) Signes radiologiques
 1. Bulles d'air dans les parties molles
 2. Emphysème sous cutané le long des aponévroses