DIFFERENCIATION

I) INTRODUCTION

Définitions

Différenciation :

Processus biologique du développement, aussi au niveau de certaines cellules souches qui permettent de renouveler les cellules différenciées chez l'adulte.
Caractérisée par une diminution de la prolifération + activité spécialisée propre (tissu endocrine, musculaire…)

La **morphologie** peut changer radicalement, mais le **matériel génétique reste le même**.

La différenciation cellulaire se caractérise par une succession de divisions qui engendre un type spécialisé et régénère le pool de cellules de bases.
On décrit une division asymétrique au niveau de l'épigénétisme, par rapport au maintien du matériel génétique.

Migration :

Élément essentiel qui suit la différenciation. Essentielle dans les mécanismes biologiques.
La cellule ne pouvant compter que sur les mouvements brauniens (?) elle a recourt à des moyens mécaniques pour effectuer ses déplacements.

On classe les cellules en deux catégories :

- celles qui peuvent emprunter un flux (elles nagent dans le sang, la lymphe)
  - bactéries, virus, protozoaires, métazoaires parasites

- celles qui rampent sur les tissus, à travers les tissus,
  - Cellules qui vont former les tissus et les organes lors du développement embryonnaire
  - Neurones ou une partie des neurones comme les axones pour permettre les connexions neurone / neurone.

Domiciliation (homing) :

Ensemble des processus qui **contrôlent la migration** d'une cellule jusqu'à sa destination et qui **optimisent le fonctionnement** de cette cellule.

Les moteurs de la domiciliation sont :
- Biochimiques (chimiokines, élemnts de la MEC)
- Physiques (oxygène)
- Mécaniques (tensions, compressions)
- Cellulaires (intégrines, cadhérines, éléments du cytosquelette)

DIFFERENCIATION CELLULAIRE

I) GENERALITES

A) La différenciation est reliée à la potentialité cellulaire.

Une cellule qui peut se différencier en tous les types = cellule **totipotente**.
On peut les obtenir au stade 1 à 8 du blastomère dans le conceptus.
Seules les totipotentes peuvent former un individu en entier.
➔ Création de jumeaux n'est permise que lors des stades 1 à 8 blastomères du conceptus.

℄ Totipotentes —différenciation→ **oligopotentes → populations cellulaires ≠ → ℄ unipotente.**

B) La différenciation débute dès le stade 1 blastomère et donc dès la fusion du spermatozoïde avec l'ovocyte secondaire.

Elle déclenche l'orientation et la mise en architecture de l'embryon.
Pendant toute l'embryogénèse ➔ Mise en place des organes à l'intérieur de l'embryon.

Au niveau de la phytogénèse (deuxième stade qui permet de multiplier les cellules ➔ atteindre un niveau de soma importante ????)

Également présente à l'âge adulte, notamment par le processus de régénération des cellules des tissus des organes des systèmes grâce aux cellules souches nichées en leur sein.

La différenciation

- **élabore le schéma fonctionnel de l'individu**,
- **le pérennise dans le temps**,
- **permet l'ontogénèse**, qui elle-même s'inscrit dans l'embryogénèse (formation de l'embryon puis du fœtus)

II) MECANISMES DE LA DIFFERENCIATION.

Les principaux mécanismes sont :

- épigénétiques
- environnement
- programmes génétiques homéotiques (Code Hox – code Pax)

A) Mécanismes épigénétiques :

Ensemble des modifications :

- Transmissibles d'une génération à l'autre qui peuvent être réversibles.
- Permettant l'expression génique sans altération des séquences nucléotidiques et qui forment – au fur et à mesure de la différenciation – des territoires chromosomiques essentiels pour la communication et le partage de l'information transcriptionnelle au niveau de régions particulières des chromosomes.

1. Compaction, décompaction et territoires chromosomiques

L'épigénétique permet une compaction / décompaction précise du matériel génétique dans le noyau.
Compaction : hétérochromatine
Décompaction : euchromatine.

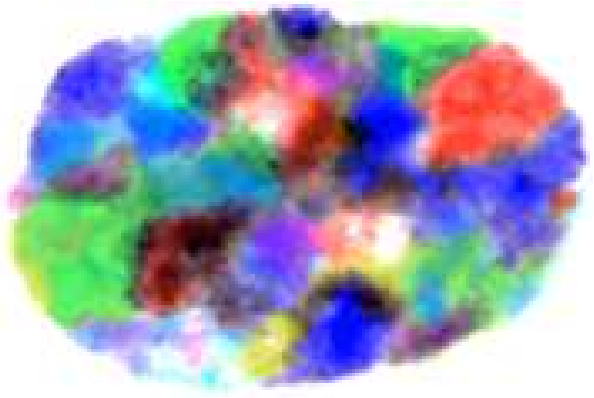
Hétéro et euchromatine ne flottent pas dans le noyau de façon aléatoire.
➔ Elles sont accrochées, par l'hétérochromatine structurale (2 régions : télomères et centromères)

Ces régions
- Permettent aux régions euchromatiniennes de s'associer pour former les territoires chromosomiques ➔ expression et une différenciation génétique précise.
- Permettent d'associer les différents chromosomes entre eux.
- Permettent d'attacher les hétérochomatines à des protéines de la matrice nucléaire, grâce à des séquences d'attachement MAR (matrix attachement regions) Les MAR sont des séquences hétérochromatiniennes.

A côté de ces MAR ➔ hétérochromatine spéciale isolatrice qui dissocient et cloisonnent les territoires chromosomiques en créant des poches dans le noyau, suffisamment indépendantes pour générer une différenciation particulière.

Les protéines peuvent s'associer à l'enveloppe nucléaire ou à d'autres protéines à l'intérieur du noyau.

On peut mettre en évidence les territoires chromosomiques grâce à des Ac marqués au FITC dirigés contre les PML.



Les territoires chromosomiques sont tous différents en fonction de l'état de différenciation des cellules considérées.

Mutations des protéines de liaisons (P des corps de karal ?? ou PML) ➔ désorganisation de l'expression nucléaire ➔ engagement dans les voies de dédifférenciation cellulaire et donc dans la promotion de **l'oncogenèse**.

Les translocations, les grands réarrangements chromosomiques vont eux aussi aboutir à des disfonctionnements qui peuvent soit s'ils sont constitutifs aboutir à la tératogénécité (bébé rigolos) mais aussi dans une certaine mesure aboutir aux voies de **l'oncogénèse**.

L'épigénétique caractérisée par

- la modification chimique de l'ADN (cytosines sur les ilots CPG de l'ADN, +/- DMR). Ces modifications chimiques sont la première étape de l'épigénétique transmise.

- Association de l'ADN avec les protéines chromatiniennes (histones)

- Modifications chimiques des histones qui détermineront le type de compaction de l'ADN, (embobinage et désembobinage) et donc la possibilité de lire cet ADN

- Ces modifications des histones créent le code épigénétique qui est une combinatoire extrêmement importante et complexe qui va permettre l'incrémentation de la molécule d'ADN.

- A côté de ces mécanismes, il faut considérer un autre mécanisme : faisant intervenir l'ARN interférentiel

Les histones peuvent être

- **Phosphorylés**
  - Phosphorylation des sérines 10 et 28de l'histone H3 ➔ mise en place du chromosome mitotique.

- **Acétylés**

- **Méthylés**, dans les régions hétérochromatiques des cellules somatiques.
  - Méthylation de la lysine 9 de l'histone H3

- **Ubiquilés**
  - ➔ permet la dégradation des protéines.
  - ➔ réparation de l'ADN
  - ➔ contrôle du cycle cellulaire
  - ➔ réponse de la cellule au stress.

Modifications des histones particulièrement concentrées sur **l'extrémité N-TER**. Elles permettent ouverture/fermeture +/- fine de la double hélice d'ADN vis-à-vis des facteurs de **transcription**, de **réparation**, et de **réplication**.

2. Le mécanisme d'ARN interférentiel permet d'éteindre complètement l'expression d'un chromosome (l'empreinte chromosomique)

EXEMPLE 1 : Inactivation du chromosome X

Inactivation du chromosome X *chez la femelle encore appelée femme chez l'homo sapiens* (*sic !!!*), et qui permet la compensation du dosage génique chez la femme vis-à-vis de l'homme.

Cette masse hétérochromatique TRES importante est observable sous la forme du **corpuscule de BARR** dans le noyau interphasique.

Le mécanisme qui permet l'empreinte chromosomique est appelé **LYONISATION** et fait intervenir le **centre d'inactivation de l'X**, qui est **nécessaire et suffisant** pour causer l'inactivation. (Si on effectue une translocation de ce centre d'inactivation sur un autre chromosome, ça l'inactive aussi en totalité.)

Le centre d'inactivation de X contient des gènes qui vont transcrire ➔ ARN Xist et TSix non traduits (= non messagers) et produits en masse ➔ s'associent aux séquences LIN et SIN du chromosome X ➔ modification des histones ➔ HYPOACETYLATION des histones H3 et H4 ➔ mise en place du **macro histone H2A.**
Ce nouvel histone ➔ compaction intense et un bouclage total de tous les gènes portés par X.
Ainsi 1 seul X pourra être exprimé chez la Femme.

EXEMPLE 2 : empreinte génomique parentale. (EGP)

Inactivation de certains gènes ➔ compensation du dosage génique et qui vont être apposés dans le germen

L'apposition de cette EGP est sexe dépendante : les parties des régions chromosomiques qui sont éteintes sont toujours les mêmes chez les mâles, et toujours les même chez les femelles.

Lors de l'association et lors de la fusion des haplotypes des cellules germinales ➔ une seule copie s'exprime du fait de l'EGP au niveau du gène.

L'extinction génique peut être beaucoup plus fine et affecter seulement un gène.
Elle empêche sa transcription et on parle alors d'extinction transcriptionnelle.

3 mécanismes à retenir :

- **Soit extinction directement au niveau de la transcription** : mécanisme de TGS.
- **Soit elle empêche sa traduction** : mécanisme de PTGS
- **soit rétrotranspositions** qui font intervenir des ARN interférentiels qui vont se lier sur des sequences LIN et SIN.

Ces mécanismes

- utilisés pour faire de la reprogrammation cellulaire.
- Initient des effets de position que l'on peut rencontrer dans les syndrômes polygéniques
- Interviennent dans des mécanismes beaucoup plus complexes qui sont la **transvection**, la **paramutation**, et l'**effet maternel**.

Plusieurs chromosomes sont concernés par l'extinction génique, notamment chromosomie 1 6 7 11 13 14 15 18 19 20 sont des chromosomes qui subissent l'empreinte génomique parentale.

Toute mutation, translocation, ou délétion, ou amplification de ces régions vont aboutir à uizomies monoparentales et autres syndrômes génétiques.

Ces empreintes sont effacées dans les organes sexuels de l'embryon, et en fonction du sexe de l'embryon, il y aura une apposition génétique au niveau des chromosomes susmentionnés.

B) Environnement : la composante spatio – temporelle.

Fondamentale pour initier la différenciation. Cette initiation peut être illustrée au niveau d'un espace particulier : localité unique intra ou extra cell caractérisée par une compo chimique unique.

EXEMPLE 1: entrée du SPZ dans l'ovocyte.

Le SPZ détruit la zone pellucide à un endroit précis.
Cette entrée est reconnue par l'ovocyte grâce à l'ubiquitination du matériel paternel et particulièrement du chondriome localisé à la base de la tête du spz.
L'ubiquitination ➔ accumulation d'ubiquitine au niveau d'un des pôles ➔ création d'un **gradient** permettant à la mitochondrie d'induire certains gènes du génome maternel notamment les **gènes chef d'orchestre**.

Cette mise en mouvement environnementale est observée dès le premier stade et s'inscrit de manière durable au niveau de la morula ➔ polarisation du globule polaire en 3 et par une polarisation des cellules qui se sont divisées de manière asymétrique.

Cette polarisation se complexifie au cours des divisions successives et va engendrer un changement de composition extracellulaire qui va définir une matrice extracellulaire au niveau de la morula et du blastocyte.

La composante spatio-temporelle génère des centres d'organisation cellulaire qui localisent une multiplication de cellules qui à la fois va renouveler les cellules souches inscrites au centre du centre organisateur mais aussi la formation de cellules différentiées de part et d'autres du centre Organisateur qui vont suivre des programmes cellulaires primordiaux (hox, pax) qui détermineront la régionalisation des cellules au sein de la structure 3D de l'embryon.

EXEMPLE 2 : chorde issue du mésoblaste axial : structure mésenchymateuse ordonnée.

➔ Cette chorde diffuse protéine **SHH** (Sonic Hedgehog. Et aussi DHH et IHH mais osef) une des 3 protéines impliquées dans la voie de signalisation hedgehog

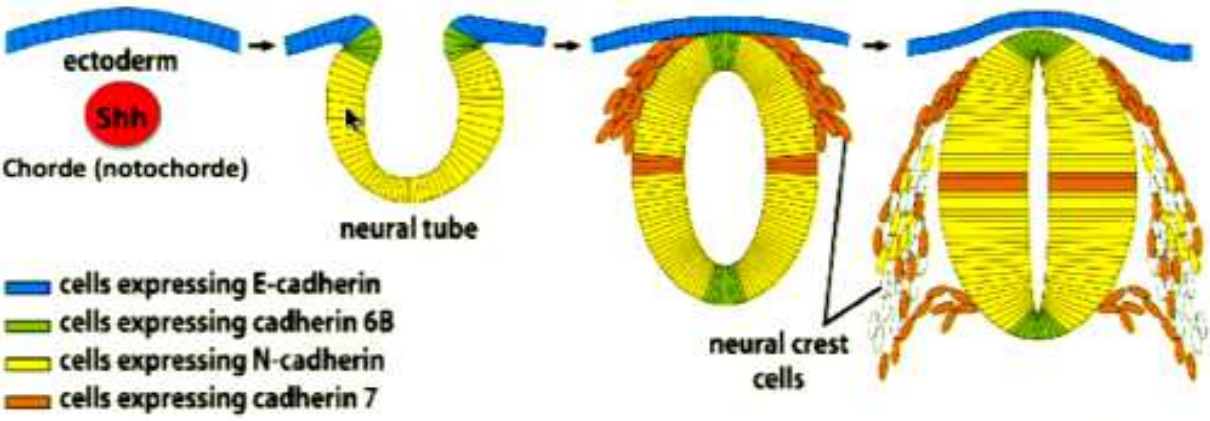
La protéine SHH = ligand de la voie hedgehog

➔ rôle clé dans la régulation de l'organogénèse des vertébrés.

Elle diffuse dans la MEC autour de la corde et crée un gradient de concentration (très concentré proche de la corde, moins concentré quand on s'éloigne). Ce gradient de concentration va avoir des effets différents sur les cellules de l'embryon en fonction de la concentration rencontré par les cellules environnantes.

La chorde constitue une sorte de baguette rigide flexible constituée de grandes cellules entre le tube neural et le tube digestif. Elle va être l'inducteur de l'invagination ectodermique qui reçoit les plus fortes concentrations de protéine SHH.

L'ectoderme qui reçoit l'induction de la corde dorsale va s'invaginer, formant une gouttière, qui va se désolidariser entièrement de l'amnios sus-jacent, et former le tube neural qui va lui même être constitué de cellules qui va exprimée différentiellement des cadhérines en fonction



du gradient SHH, formé par la corde qui est sous le tube (mais on le voit pas sur le schéma)

Cette présence de la chorde va orienter et permettre une expression différentielle des cadhérines, qui va s'exprimer de façon symétrique sous le tube neural et qui par le gradient SHH vont se différencier pour former d'autres types cellulaires qui vont migrer : **les cellules de la crête neurale.**

La seule différence qui existe entre les cellules du tube neural c'est leur environnement epiblastique dorsalement et chordal ventralement.

L'induction de la formation des cellules de la crête neurale est faite a partir de l'induction ectoblasmique sous le tube neural à distance du signal SHH où la concentration SHH est faible.

Ces cellules de la crête neurale vont avoir plusieurs types d'expressions :

- **cadhérine 7**
- **N cadhérine**

Et elles vont s'invaginer, migrer, pour aller constituer une fraction non négligeable de cellules qui vont entrer dans la constitution des tissus des organes.

Les cellules à crête neurales, permettent notamment d'établir :

- Le système endocrine diffus,
- Le système satellitaire ganglionnaire,
- Une partie des neurones ganglionnaires
- Une fraction des cellules astrocytaires
- Les futurs mélanocytes qui vont incorporer la couche basale de l'épithélium épidermique et notamment permettre la production de mélanine (pigment protection UV)

Les mélanocytes peuvent être localisés dans la couche basale de l'épiderme grâce à leur production en cadhérines particulières + certains facteurs caractéristiques dans leur partie la plus différenciée, notamment les pigments de mélanine.

C) Programmes génétiques de l'axe antéro-caudal : Code hox

Le code hox permet aux cellules d'établir une localisation bien précise d'avant en arrière sur l'axe antéro caudal. **Les gènes qui participent sont homéotiques** la plupart du temps : déterminent les plans d'organisation d'un être vivant et donc la place des organes les uns par rapport aux autres.

Déterminent 3 axes :

- **antéro caudal**
- **dorso-ventral**
- **latéralisation**

La mutation de ces gènes homéotiques va engendrer une mauvaise disposition des structures au niveau d'un individu, et la mutation de ces gènes sont nommées homéoses. On parle aussi de mutation homéotique.

Exemples :
➔ Mouche antennapédia elle possède des pattes à la place des antennes
➔ Souris hox C8 : qui régule le type de vertèbres lombaires et thoraciques ➔ la pauvresse a des côtes surnuméraires.

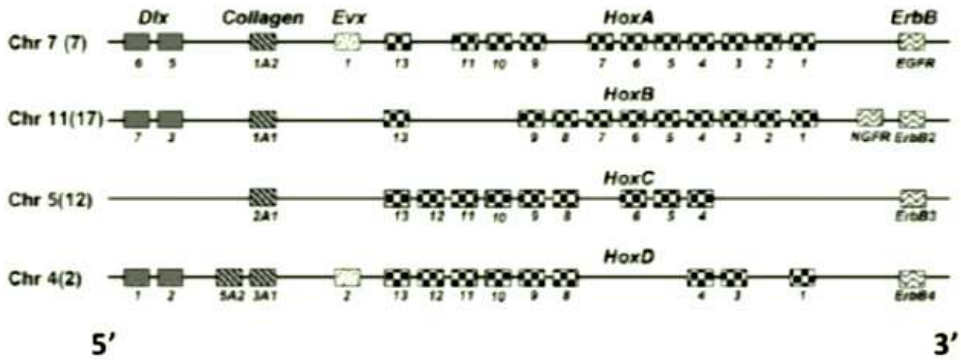
Le code HOX :

4 complexes (10 gènes chacun environ) caractérisés par leur colinéarité.

Les gènes sont placés dans l'ordre dans lequel ils sont exprimés :

- Le gène en 3' du complexe est exprimé en premier et participe favorablement au développement des structures antérieures.
- Un gène plus médian participera au développement des structures médianes.
- Les gènes exprimés en dernier ➔ structures postérieures.

La colinéarité permet l'étude du génome d'organismes et l'établissement d'arbres phylogénétiques : ça correspond au maintien de l'ordre des gènes entre deux génomes.
Les gènes sont extrêmement conservés chez les êtres vivants pluricellulaires organisés.



Chiffres entre parenthèses : chromosome humain

7 17 12 2 sont les gènes sélecteurs, qui participent à la sélection d'autres voies secondaires (de mise en place des structures) mais qui sont les gènes princeps (chef d'orchestre) permettant l'induction des différentes voies.

Ces gènes possèdent une « boite homéotique » (ou homéoboite), séquence d'ADN. **Une boite 180 PB codant 60 AA ➔ forme un homéodomaine.**

Un gène avec une boite code une protéine qui est un facteur de transcription princeps destinée à activer en cascade d'autres gènes, c'est pourquoi il s'appelle chef d'orchestre.
code pour la branchomérisation des parties crâniennes, médianes et caudale de l'embryon.

Certains gènes du complexe hox : post natal ➔ formation glandes mammaires
(Plus du tiers des mutations des gènes hox sont complètement létales.)

Les vertébrés possèdent 4 complexes. Chaque groupe de gènes est sur un chromosome différent. Et l'ordre des gènes sur chaque chromosome est identique.

On considère que les complexes sont issus d'une double duplication d'un chromosome ancestral. I → II → IV
'est pour cette raison qu'on considère les gènes HOX comme paralogues.

Voies de transduction associées à l'expression des gènes sélecteurs :

Ces gènes HOX permettent les transcriptions, les voies essentielles associées à l'expression des gènes sélecteurs et qui participent à la différenciation et la mise en place des organes dans l'embryon.

- Sonic Hedgehog
- Le TGF- β / BMP / sérine / thréonine kinase réceptors
- Voies WNTS
- Voie Notch
- Nuclear hormone receptor
- Receptor tyrosine kinases des ligands FGF EGF IGF Insulin
- G Protein coupled receptor

Mutation des protagonistes de ces voies ➔ déstructurations au niveau de l'embryon

D) Rôles de l'épigénétique, de l'environnement, et de la programmation.

Organisation des tissus, organes, systèmes sur les axes AC et DV

Le développement de l'embryon ➔ **23 stades** reprenant les différentes inductions, les différents centres organisateurs pour engendrer une structure morphologique coordonnée, fonctionnelle, l'embryon.

Stade 1 : J1 de la fécondation ➔ zygote conceptus ou œuf

Stade 2 : J2 à 3 après fusion ➔ formation des blastomères

Stade 3 : J4 J5 : segmentation, ébauche disque di embryonnaire didermique

Stade 4 : J6 début de la nidation : adhésion sur l'endomètre : schéma différenciation au contact du tissu matérnel

Stade 5 : J7 < J13 / formation des vésicules annexes de l'embryon = vésiculines vitelline, cavité amniotique mise en place de la plaque précornale.

Toute malformation lors d'un de ces 5 stades ➔ destruction embryon

Les anomalies qui peuvent être visualisées ne peuvent correspondre qu'à des malformations post-stade 5.

III) ANOMALIES ELEMENTAIRES

Anomalies : syndromes et lésions. Primaires ou secondaires.

A) Malformation :

Anomalie morphologique d'un organe ou d'une partie plus grande : développement anormal.

- Ex : gène PAX 6 ➔ agénésie de l'iris (pas d'iris)
- Ex : malformation hoxd13 fusion des phalanges ou désorganisation ➔ syndactylie.

B) Dysplasie :

Organisation anormale des cellules dans un tisus et ses conséquences morphologiques : dyshistogénèse
Absence de fermeture du tube neural postérieur ou antérieur (spinabifida)
Ça aboutit à des trucs dégueux : perte de motricité et de mobilité en dessus de l'absence de fermeture

Omphalocèle : absence de fermeture de la paroi abdominale antérieure du fœtus.

Malformation et dysplasies sont directement consécutives d'une anomalie des mécanismes de la différenciation.

D'autres secondaires dues à un disfonctionnement organique ou altération du développement par une étiologie extrinsèque.

C) La disruption :

Anomalie morpho résultant d'une altération extrinsèque ou d'une interférence avec un ?????
Ex : prolifération de l'amnios formation de brides de peau qui entrent en relation avec les tissus en cours de génération ➔ ca aboutit au sectionnement des membres

D) La déformation :

Anomalie de forme taille ou position d'une partie du corps provoquée par des phénomènes mécaniques
Exemple : hypoplasie pulmonaire ou rénale ➔ diminution de la prod° du liquide amniotique qui va contraindre l'embryon puis le fœtus dans la poche amniotique et générer une fixation des membres ➔ pieds bots

IV) DIFFERENCIATION ET DEDIFFERENCIATION CHEZ L'ADULTE

Différenciation au niveau de cellules souches adultes localisées dans les niches.
Ces niches produisent de manière continuelle des cellules qui vont être pluripotentes puis oligopotentes, et enfin unipotentes pour permettre de régénérer certains cellules comme les granulocytes, plaquettes, globules rouges…

Cette régénération a un lieu de production qui est la moelle osseuse où est localisée les cellules souches pluripotentes. Ces CS pluripotentes reçoivent des signaux spécifiques qui vont permettre notamment de dériver les CS myéloïdes des CS lymphoïdes.
Ces CS lymphoïdes et myéloïdes vont avoir un circuit bien particulier qui leur permettront de rencontrer des centres cellulaires d'induction et d'organisation qui produisent des facteurs paracrines particuliers (CFU GM CFU MEG BFU-E) qui permettra une orientation particulière des CS oligopotentes en cellules unipotentes différenciées au niveau des tissus cibles.

La matrice extracellulaire de destination et sa composition est extrêmement importante pour permettre la transformation de CS oligopotentes en cellule unipotente différenciée.

Dans certains cas pathologiques : arrêt de la différenciation causé par des virus, des mutations ponctuelles (environnement toxique) ou accumulation de mutations qui s'additionnent à des mutations héritées, bref, une instabilité génomique qui engendre l'arrêt de la différenciation voire une dédifférenciation qui pourront être reprogrammées pour uniquement se multiplier. Ca peut être le cas dans la moelle osseuse et concerner uniquement les CS pluripotente, qui vont complètement envahir le sang, (induction de la leucémie ou leucose)
Ces leucémies vont être préjudiciables pour la circulation sanguine, mais en plus, elles vont être compétitives vis-à-vis des cellules unipotentes différenciées, et leur surproduction va engendrer une chute de l'immunité.
Lorsque la dédifférenciation concerne des cellules déjà engagées dans le circuit de différenciation on parle de lymphome = cancer plutôt localisé et qui se développera au dépend des cellules lymphocytaires.
La prolifération cellulaire maligne est localisée dans les organes lymphoïdes secondaires (DIFFERENT LEUCEMIE)