

PACES – UE2

Cytologie – Histologie – Embryologie – Cytogénétique

Données élémentaires de cytologie

Professeur Philippe Vago

Université d'Auvergne – Faculté de Médecine / CHU Estaing Clermont-Ferrand

I- Introduction

La cellule représente l'unité fondamentale de la vie comme l'atteste l'existence d'êtres unicellulaires, les amibes par exemple.

Elle représente la plus petite quantité de matière vivante capable de subsister à l'état autonome et de se reproduire.

Un corps humain de 60 Kg renferme environ 60 000 milliards de cellules, soit presque 10 000 fois plus que d'habitants sur terre.

Les cellules s'associent à la matrice extracellulaire (MEC), composée de substance fondamentale (SF) et de fibres, pour former les 5 tissus fondamentaux :

- 1) épithéliums de revêtement et glandulaires
- 2) tissus conjonctifs et squelettiques
- 3) cellules sanguines et tissus hématopoïétiques
- 4) tissus musculaires
- 5) tissus nerveux

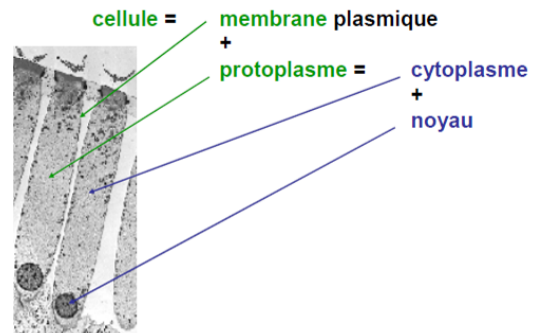
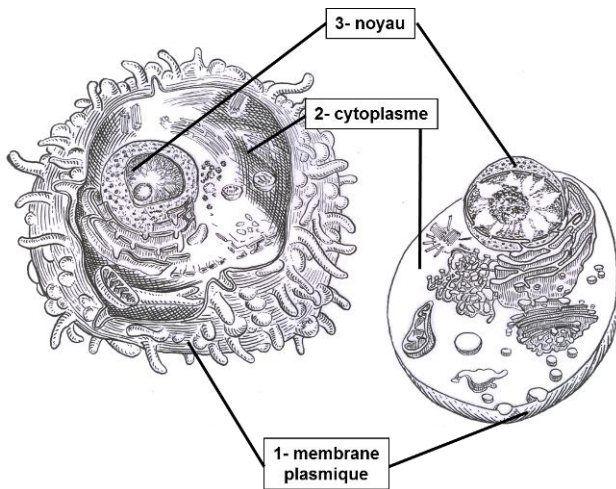
Les 5 tissus s'organisent en organes, appareils et systèmes, à savoir :

- 1) appareil cardio-vasculaire
- 2) système immunitaire
- 3) appareil respiratoire
- 4) appareil digestif
- 5) système endocrinien
- 6) appareil urinaire
- 7) appareil de reproduction
- 8) appareil tégumentaire
- 9) système nerveux
- 10) organes des sens

L'ensemble des organes, appareils et systèmes forme l'être vivant

II- Organisation morphologique de la cellule

La cellule est délimitée par une membrane plasmique et renferme le protoplasme comprenant le cytoplasme et le noyau.



III- La membrane plasmique (ou plasmalemme)

Elle sépare la cellule de son environnement.

En microscopie électronique à transmission, elle revêt un aspect trilamellaire avec, en périphérie, 2 lignes denses aux électrons, de 2,5 à 3,5 nm d'épaisseur, et, au centre, une zone moins dense aux électrons. Elle mesure 7 à 8 nm d'épaisseur.

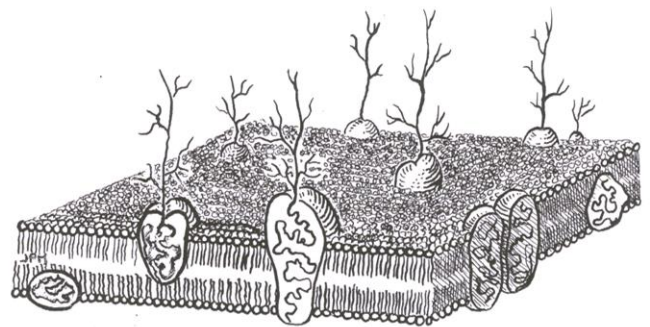


Son organisation moléculaire est comparable à celle de toutes les membranes biologiques. Elle est constituée de lipides, de protides et de Glucides.

Les lipides sont représentés par des phospholipides et du cholestérol (pour les cellules animales).

Les phospholipides sont organisés en double couche, avec leurs têtes hydrophiles orientées vers l'extérieur et leurs chaînes hydrophobes orientées vers le milieu de la membrane.

Chaque couche constitue un feuillet de la membrane. On décrit donc deux feuillets, un externe et un interne.

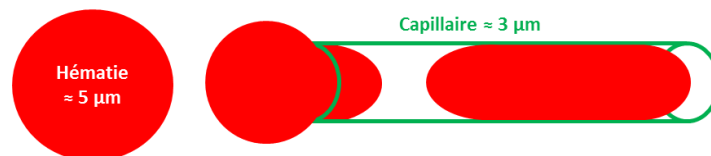
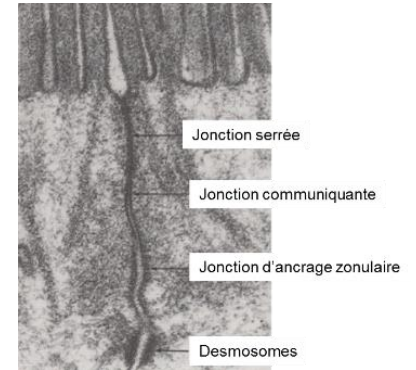


Les protéines, de forme globulaire, sont enchâssées dans la double couche de phospholipides, à différentes profondeurs : certaines sont traversantes alors que d'autres font uniquement saillie soit à la surface du feuillet externe soit à la surface du feuillet interne.

Les glucides sont des poly- et des oligo- saccharides associés à des protéines et à des lipides, pour former, respectivement, des glycoprotéines et des glycolipides.

La membrane plasmique intervient dans de nombreuses fonctions, comme par exemple :

- dans les échanges avec le milieu extérieur
 - par diffusion pour les gaz (dehors $\leftrightarrow$ dedans)
 - par l'intermédiaire de canaux ioniques
 - et de pompes transmembranaires
 - en jouant un rôle de barrière sélective pour les molécules de grande taille
- la cohésion des cellules entre-elles et avec la MEC par l'intermédiaire de :
 - jonctions serrées (Zonula Occludens)
 - jonctions communicantes (GAP Junction)
 - jonctions d'ancrage
 - zonulaires ou en ceinture (Zonula Adherens)
 - maculaires = desmosomes (Macula Adherens)
 - hémidesmosomes
- la mobilité des cellules
 - par exemple : les leucocytes migrent dans les tissus pour y assurer leurs fonctions de défense de l'organisme
- la plasticité cellulaire
 - par exemple : les hématies, de 5 μ m de diamètre, se déforment en « cylindre » pour pouvoir transiter dans les capillaires de 3 μ m de diamètre, ce qui favorise les échanges des gaz respiratoires par augmentation de la surface de contact entre les hématies et les cellules endothéliales)



- la réception d'informations
 - par l'intermédiaire de récepteurs aux hormones, neurotransmetteurs...
 - pour la reconnaissance intercellulaire (ex : reconnaissance du soi et du non-soi par les cellules de l'immunité)
 - pour la signalisation et le « dialogue » intercellulaire (ex : phénomènes de migration cellulaire lors du développement embryonnaire)

IV- Le cytoplasme

Le cytoplasme est constitué d'une substance fondamentale dans laquelle baignent les organites cytoplasmiques, le cytosquelette et diverses inclusions.

➤ IV-1 Les organites cytoplasmiques

Par définition, est considérée comme un organite cytoplasmique toute structure intracellulaire délimitée par une membrane biologique (cf. la membrane plasmique).

Les différents organites sont :

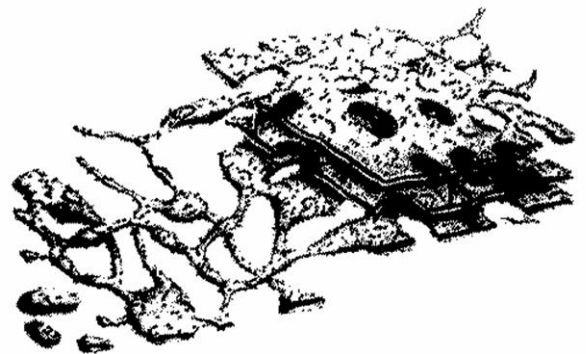
- le réticulum endoplasmique
- l'appareil de Golgi
- les mitochondries
- les lysosomes
- les peroxysomes

✓ IV-1-1 Le réticulum endoplasmique (RE)

Le réticulum endoplasmique est un système étendu de tubules et de saccules (cavités aplaties) bordés par une membrane biologique.

La lumière de tous les tubules et saccules est en continuité ; le RE constitue donc un réseau de cavités très ramifié.

La lumière du RE est de plus en continuité avec l'espace périnucléaire de l'enveloppe nucléaire.



Deux niveaux de différenciation sont décrits :

- l'un correspond au Réticulum Endoplasmique Granuleux (REG) : la face externe de la membrane est tapissée de granulations
- l'autre au Réticulum Endoplasmique Lisse (REL) : la face externe de la membrane est lisse

REL & REG en continuité



1/ Réticulum endoplasmique granuleux

Le REG est caractérisé par la présence de granulations, de 25 à 30 nm de diamètre, qui tapissent la face externe de sa membrane.

Ces granulations correspondent à des ribosomes agencés par groupes de 8 à 10 régulièrement espacés sur une molécule d'ARNm.

Au niveau REG, les tubules sont dilatés en citerne et les saccules sont aplatis.

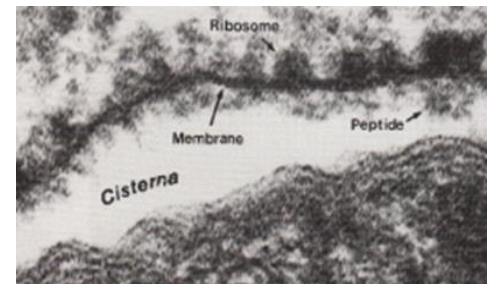


Le REG joue un rôle majeur dans la synthèse des protéines puisque c'est au niveau du REG que l'ARNm est traduit en protéine.

On définit ainsi une unité de traduction, composée d'une molécule d'ARNm, de ribosomes qui y sont associés et du polypeptide en cours de synthèse.

ARNm et ribosomes sont présents sur la face externe de la membrane et le polypeptide s'accumule dans la lumière du REG.

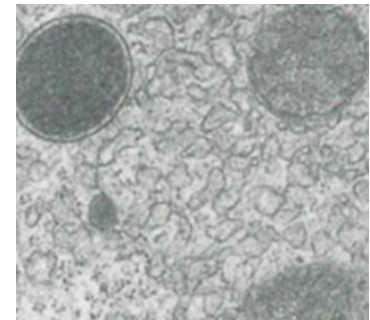
Le polypeptide est ensuite enfermé dans une vésicule qui se forme par bourgeonnement de la membrane du REG et libéré dans le cytoplasme dans une vésicule de transport qui gagne l'appareil de Golgi.



2/ Réticulum endoplasmique lisse

Le REL est un réseau de tubules à mailles serrées, sans saccule. Les extrémités des tubules peuvent être dilatées en citerne, comme dans le tissu musculaire strié squelettique.

L'absence de ribosome sur la face externe de sa membrane lui confère le qualificatif de « lisse ».



Son rôle est variable selon le type cellulaire :

- dans les surrénales, les ovaires et les testicules = synthèse des hormones stéroïdes
- dans le foie = « détoxification » par catabolisme de l'alcool, de médicaments...
- dans le muscle (réticulum sarcoplasmique) = stockage du calcium et sa libération pour la contraction musculaire.

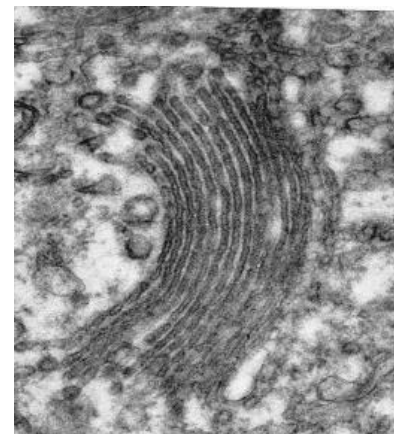
✓ IV-1-2 L'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est situé à proximité du noyau.

Il est constitué d'une ou plusieurs piles de citernes délimitées par une membrane biologique lisse (pas de ribosome sur la face externe de la membrane).

Les citernes de l'appareil de Golgi sont indépendantes les unes des autres et leur lumière **n'est pas** en continuité avec la lumière du réticulum endoplasmique ni avec l'espace périnucléaire de l'enveloppe nucléaire.

De nombreuses vésicules sont présentes aux extrémités des citernes golgiennes.



Comme le REG, l'appareil de Golgi joue un rôle majeur dans la synthèse des protéines, c'est-à-dire dans la « sécrétion » des protéines, en assurant la « maturation » du polypeptide assemblé dans le REG.

La vésicule de transport issue du REG et transitant par le cytoplasme se dirige vers l'extrémité d'une citerne et fusionne avec la membrane de la citerne.

Le produit de sécrétion (la protéine en cours d'élaboration) est libéré dans la lumière de la citerne puis mobilisé de cette citerne à la citerne voisine, enfermé dans une vésicule.

Cette vésicule se forme par bourgeonnement de la membrane de la citerne. Elle va aller fusionner avec la membrane de la citerne voisine, et ainsi de suite d'une citerne à la suivante.

Lors de ce transit dans l'appareil de Golgi, le produit de sécrétion est « transformé » : il subit des phénomènes de glycosylation, de sulfatation, de phosphorylation...

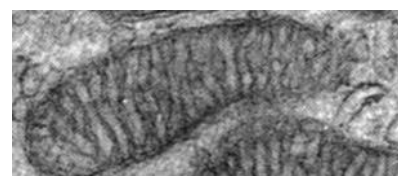
La protéine est ensuite concentrée puis libérée dans le cytoplasme enfermée dans une vésicule de sécrétion (qui se forme par bourgeonnement de la membrane de la citerne).

Devenir des vésicules de sécrétion (et donc des protéines qu'elles renferment) :

- pour les protéines excrétées, la vésicule gagne le pôle apical de la cellule et la protéine est libérée dans le milieu extracellulaire par exocytose « continue » ou « régulée »
- pour les protéines constitutives, la vésicule gagne la structure intracellulaire dans laquelle la protéine sera incorporée.

✓ IV-1-3 Les mitochondries

Les mitochondries sont des organites volumineux en forme de bâtonnet mesurant entre 5 et 10 μm de longueur et 0,5 et 1 μm de largeur.



Elles sont délimitées par deux membranes :

- une externe lisse
- une interne qui envoie de nombreux replis dans la lumière de la mitochondrie ; ces replis sont appelés « crêtes mitochondriales ».

Ces deux membranes sont complètement indépendantes l'une de l'autre.

On décrit donc deux compartiments dans la mitochondrie :

- l'espace intermembranaire, entre les deux membranes
- et la matrice mitochondriale, délimité par la membrane interne.

Les mitochondries contiennent de l'ADN codant les enzymes régulant la consommation d'oxygène. C'est la seule structure extranucléaire qui contient de l'ADN. Cet ADN est exclusivement d'origine maternelle, les mitochondries du zygote provenant exclusivement de l'ovocyte, celles du spermatozoïde n'étant pas incorporées dans l'ovule lors de la fécondation.

Le rôle des mitochondries est de produire et de stocker l'énergie nécessaire à la vie et aux activités de la cellule.

Les mitochondries sont le siège de la respiration cellulaire ; elles représentent le centre du métabolisme oxydatif de la cellule.

En présence d'oxygène, les produits du catabolisme des glucides (cf. cycle de Krebs), des lipides (cf. hélice de Lénine) et des protéines sont convertis en énergie emmagasinée dans l'ATP par phosphorylation oxydative de l'ADP.

L'ATP est la source d'énergie de la cellule.

✓ IV-1-4 Les lysosomes

Les lysosomes sont de petits organites cytoplasmiques délimités par une membrane biologique (par définition).

Ils sont très hétérogènes et très variables en forme, en taille (entre 0,2 et 0,8 μm de diamètre), en contenu (homogène, granulaire, cristalloïde, lamellaire...) et en nombre (quelques dizaines à plusieurs centaines).

Pour les identifier et les visualiser, il est fait appel à des techniques d'histoenzymologie et d'immunohistologie ou bien à la microscopie électronique à transmission.

Les lysosomes ont pour fonction la digestion cellulaire. Ils contiennent des enzymes digestives, des hydrolases acides en particulier, qui leurs permettent d'éliminer les déchets, aussi bien constituants naturels de la cellule (on parle d'autophagie) que constituants importés du milieu extracellulaire (on parle alors d'hétérophagie).

Morpho-fonctionnellement, on décrit trois types de lysosomes :

- les lysosomes primaires, de petite taille et à contenu homogène ; il s'agit en fait de vésicules de sécrétion renfermant les enzymes digestive (ce sont donc des « sacs d'enzymes en attente de digestion »)
- les lysosomes secondaires, résultant de la fusion d'un lysosome primaire avec une vésicule d'autophagie ou d'hétérophagie :
 - soit autophagosome formant alors un autophagolysosome
 - soit endosome formant alors un endolysosome
 - soit phagosome formant alors un phagolysosome

Il s'agit donc de lysosomes « en cours de digestion »

- les lysosomes tertiaires, ou « corps résiduels », qui ont fini leur activité de digestion et renferment des éléments non digérés qu'ils neutralisent et stockent dans la cellule. Ce sont ces corps résiduels qui produisent la lipofuschine, un pigment qui s'accumule avec l'âge dans la cellule.



Synthèse : les vésicules cytoplasmiques

1/ liées à la synthèse des protéines :

vésicules de transport ← REG

vésicules golgiennes

vésicules de sécrétion ← Golgi +/- excrétées

2/ liées à l'endocytose :

endosomes ← endocytose

pinosomes ← pinocytose

phagosomes ← phagocytose (pour les phagocytes mononucléés)

3/ liées à l'autophagie :

autophagosomes

4/ liées à la digestion :

lysosomes

endolysosomes

phagolysosomes

autophagolysosomes

corps résiduels

✓ IV-1-5 Les peroxysomes

Les peroxysomes sont de petits (0,2 à 0,5 μm de diamètre) organites ronds ou ovales délimités par une membrane biologique.

Leur région centrale est dense, formant le « nucleus cristallin protéique ».

Comme pour les lysosomes, leur identification fait appel à des techniques d'histoenzymologie et d'immunohistologie ou à la microscopie électronique à transmission.

Les peroxysomes contiennent trois enzymes qui interviennent dans la détoxification cellulaire :

- la D-amino-acide-oxydase
- l'urate-oxydase
- et la catalase.

Ils dégradent le peroxyde d'oxygène (H_2O_2) produits par les mitochondries et les acides gras saturés produits par les lysosomes.

➤ IV-2 Le Cytosquelette

Le cytosquelette est constitué de :

- microfilaments
- filaments intermédiaires
- microtubules
- le centrosome

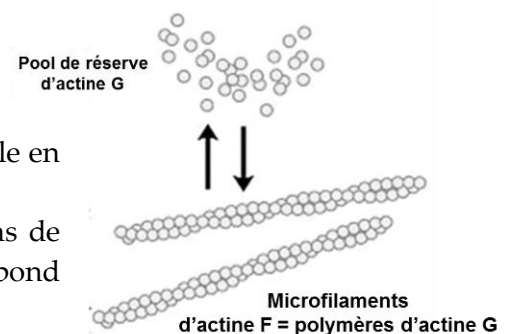
✓ IV-2-1 Les microfilaments

Les microfilaments sont des filaments fins, de 7 nm de diamètre.

Ils sont composés d'actine.

Dans le cytoplasme, l'actine est présente sous deux formes :

- l'actine G, ou actine globulaire, pool de réserve de la cellule en molécules d'actine
- l'actine F, ou actine filamentaire, constituée de deux brins de polymère d'actine G enroulés en hélice. L'actine F correspond à la forme active de l'actine.



Les microfilaments ont de nombreux rôles. Ils interviennent dans :

- la contraction musculaire
- la migration cellulaire
- le transport des vésicules
- la phagocytose
- la cohésion cellulaire
- la cytodierèse (en fin de mitose)
- ... tout mouvement...

✓ IV-2-2 Les filaments intermédiaires

Ce sont des filaments d'environ 10 nm de diamètre.

Ils correspondent à des protéines très variées, souvent spécifiques d'un type cellulaire donné.

Il s'agit par exemple de :

- la kératine dans les cellules épithéliales
- la vimentine dans les cellules mésenchymateuses
- la desmine dans les cellules musculaires
- neurofilaments dans les neurones
- la GFAP (« glial fibrillary acid protein ») dans les astrocytes
- ...

Cette spécificité à un type cellulaire est utilisée en immunohistologie pour identifier un type cellulaire donné dans un échantillon hétérogène ou bien déterminer l'origine épithéliale (kératine + / vimentine -) ou mésenchymateuse (kératine - / vimentine +) d'une tumeur, un carcinome ou un sarcome respectivement.

Les filaments intermédiaires jouent un rôle, par exemples, dans :

- la constitution du « squelette » de la cellule
- la cohésion intercellulaire
- le maintien de l'architecture tissulaire
- l'ancrage des protéines contractiles au cytosquelette
- ...

✓ IV-2-3 Les microtubules

Les microtubules sont des tubules de 24 nm de diamètre dotés d'une lumière centrale de 10 nm de diamètre.

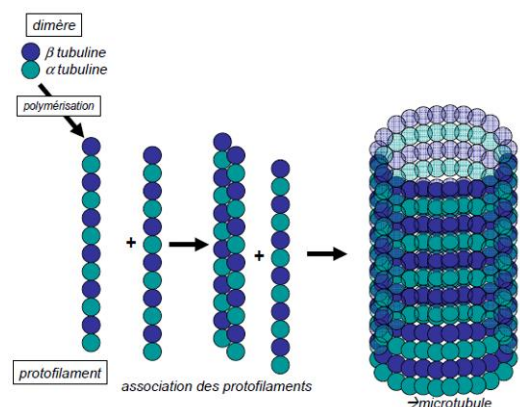
Ils sont constitués de tubuline α et β .

Une molécule de β tubuline s'associe à une molécule de α tubuline pour former un hétérodimère « β tubuline + α tubuline ».

Les hétérodimères se polymérisent entre eux pour former un protofilament.

Les microtubules résultent d'une association latérale de protofilaments (n=13).

L'élongation des microtubules se fait par polymérisation de nouveaux dimères à une de leurs extrémités et leur raccourcissement par suppression de dimères à l'autre extrémité.



Les microtubules jouent un rôle, par exemples, dans :

- le transport des vésicules membranaires
 - o de sécrétion (transport axonal)
 - o d'endocytose, de phagocytose ou d'autophagie
 - o vésicules lysosomiales
 - o de transport (entre le REG et l'appareil de Golgi)
 - o Golgiennes
 - o ...

- les mouvements / déplacements des organites (ex : lors de la cytodierèse)
- la structure des cils et des flagelles
- la mise en place fuseau mitotique et la migration des chromosomes lors de la mitose
- ...

✓ IV-2-4 Cas particuliers : les cils et les flagelles

Les cils et les flagelles sont composés d'un axonème et d'un corpuscule basal.

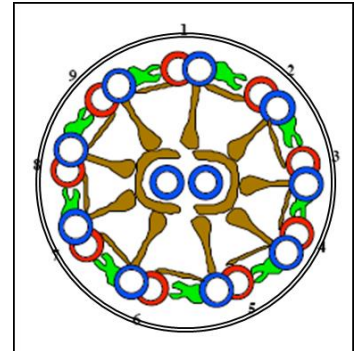
1/ L'axonème est une expansion cellulaire du pôle apical de la cellule.

Il est donc délimité par la membrane plasmique et renferme un assemblage de microtubules organisés en :

- 2 microtubules centraux, formant la paire centrale (les microtubules sont complets avec 13 protofilaments)
- et 9 doublets périphériques (un des microtubules est « incomplet ; il ne renferme que 10 protofilaments)

Les doublets périphériques sont reliés entre eux par des molécules de nexine et de dynéine.

Ils sont reliés à la paire centrale par des bras rayonnants.



2/ le corpuscule basal a une structure comparable à celle du centriole. Il constitue le point d'insertion intracytoplasmique du cil. Il est constitué de 9 triplets de microtubules. Deux de ces microtubules se prolongent dans les doublets périphériques du cil ou du flagelle.

Les cils et flagelles sont animés de mouvements coordonnés et assurent des déplacements :

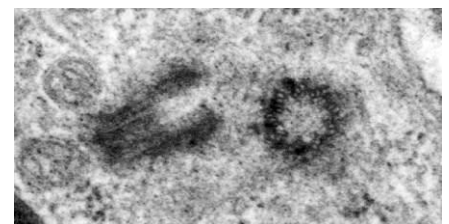
- déplacement du milieu extérieur sur les cellules pour les cils (cf. épithélium respiratoire)
- déplacement de la cellule dans le milieu extérieur (cf. le spermatozoïde)

✓ IV-2-5 Le centrosome et les centrioles

Le centrosome est situé à proximité du noyau.

Il est constitué de :

- 2 centrioles
- et de matériel péricentriolaire.

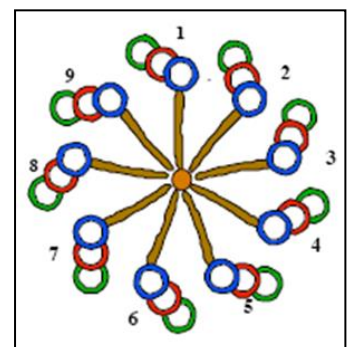


Les centrioles sont de courts bâtonnets disposés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre.

Chaque centriole est composé de microtubules présentant un agencement particulier en :

- 9 triplets périphériques (2 des microtubules sont incomplets, à 10 protofilaments).

Le matériel péricentriolaire (ou matrice péricentriolaire) est constitué de protéines associées aux microtubules (MAP pour microtubule associated protein), essentiellement de la tubuline α , β et γ .



Le centrosome est le centre organisateur des microtubules :

- durant l'interphase, il assure la polymérisation de la tubuline en microtubules
- durant la phase S (synthèse d'ADN) du cycle cellulaire, les centrioles se dupliquent pour former 2 paires de centrioles. Lors de la phase M (mitose) chacune des paires de centrioles migre vers un pôle de la cellule pour mettre en place le faisceau mitotique.

➤ IV-3 Les inclusions cytoplasmiques

Les inclusions cytoplasmiques correspondant à des corpuscules **NON**-entourés par une membrane. Elles correspondent à différentes molécules soit :

1. sources d'énergie de réserve (matière première pour la production d'énergie), comme par exemple :
 - le glycogène (polymère de glucose)
 - les grains de lipide ; les lipides sont dissous par l'alcool, utilisé notamment lors de la préparation standard des échantillons ; ils apparaîtront donc en microscopie optique sous forme de vacuoles claires.
2. sous-produits inertes du métabolisme (déchets), comme par exemple :
 - les pigments, en particulier la lipofuscine, pigment cellulaire composé de débris de molécules ; la lipofuscine est liée au vieillissement cellulaire et apparaît dans les cellules des personnes âgées ; elle est produite par les lysosomes tertiaires (corps résiduels).

V- Le noyau (cf. le référentiel de cytogénétique)

➤ V-1 Eléments constitutifs

Le noyau est constitué :

- d'une enveloppe nucléaire percée de pores
- de chromatine
- d'un nucléole

➤ V-2 Fonctions

Le noyau héberge la molécule d'ADN au niveau de la chromatine.

Il est donc impliqué dans deux fonctions :

- la transcription de l'ADN en ARNm ; cette transcription est suivie par la traduction au niveau du cytoplasme qui correspond à la synthèse des protéines
- la réplication de l'ADN, avant la mitose, au cours de la phase S du cycle cellulaire.

Le noyau

