

## CHAPITRE VII : La respiration cellulaire

### 1-Mitochondrie

#### 1-1 Origine endo symbiotique des mitochondries

(Sur diapo)

#### 1-2 Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles

##### 1-2-1 taille, forme et distribution

Les mitochondries sont des organites assez grands pour être visibles au microscope optique. On connaît leur présence dans les cellules depuis plus cent ans. Ce sont des organites qui montrent une diversité d'aspects considérable. La mitochondrie typique est en forme de saucisse. fig.1 (sur diapos). Elle mesure environ 0,2 à 1,0  $\mu\text{m}$  de diamètre en coupe transversale et 1 à 4  $\mu\text{m}$  de long. Dans certaines cellules, comme celles de jeunes embryons, les mitochondries ont une forme presque sphérique alors que dans d'autres comme les fibroblastes, ce sont des structures allongées, en forme de filaments. fig.2 (sur diapos)

Elles se répartissent uniformément dans le cytoplasme. Il existe cependant des exceptions : dans les tubes contournés du rein, elles se disposent à la base des cellules sous la forme de bâtonnets basaux perpendiculaires à la membrane cellulaire basale, parfois elles se distribuent autour du noyau ou au contraire à la périphérie du cytoplasme. Elles se placent également autour du centre cellulaire entre les filaments de l'aster (autour du centrosome).

La disposition des mitochondries est particulièrement remarquable chez les spermatozoïdes, où elles sont localisées dans la pièce intermédiaire de la cellule juste à l'arrière du noyau. (Fig.3 sur diapo)

##### 1-2-2 Mouvements

La microcinématographie (observation des cellules vivantes), en accéléré en contraste de phase de fibroblastes en culture, a révélé que les mitochondries sont des organites dynamiques. Animées de mouvements incessants, ces dernières vont d'un endroit à un autre, se recourbent se redressent se tordent se fragmentent en bâtonnets plus courts ou bien fusionnent en bâtonnets plus longs.

Au cours de la mitose somatique les mitochondries modifient leur comportement : les mouvements se ralentissent. Elles se répartissent en dehors des figures chromosomiques et fusoriales. Elles se distribuent entre les deux cellules filles d'une manière approximativement égale au cours de la cytotélerèse.

Le cytosquelette a un rôle important dans les mouvements des mitochondries, par les protéines motrices (kinésine et dynéine) de microfilaments d'actine ou microtubules. Fig.4

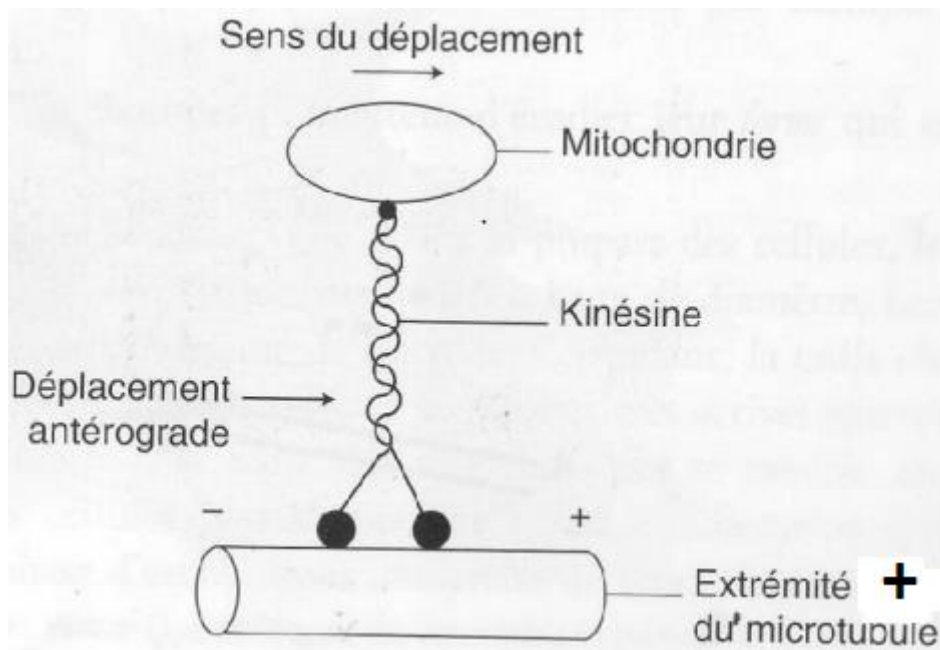


Fig.4 : rôle du cytosquelette dans le déplacement des mitochondries

### 1-2-3 Fonction

Les mitochondries sont souvent associées à des gouttelettes huileuses contenant des acides gras, source de matière première durant l'oxydation. Ces organites interviennent dans la phase finale de l'oxydation. Elles sont présentes dans toutes les cellules aérobies. Elles mettent en réserve sous forme d'adénosine triphosphate l'ATP, l'énergie libérée par l'oxydation enzymatique des molécules nutritives (substrat). Elles interviennent donc dans le stockage de l'énergie mais aussi dans son transport sur les lieux où la cellule en a besoin.

En raison de leur rôle central dans l'alimentation de la cellule en énergie chimique, la taille, le nombre et la localisation intracellulaire des mitochondries diffèrent d'un type de cellule à l'autre. En moyenne une cellule de foie de mammifère contient environ 1500 mitochondries ce qui correspond à 15 à 20 pour cent du volume cellulaire. Les mitochondries sont même plus nombreuses dans la cellule musculaire qui ont besoin d'une quantité importante d'ATP pour le mécanisme de la contraction.

### 1-3 Ultrastructure

Les mitochondries sont récupérées au deuxième culot d'une ultracentrifugation différentielle. Les quatre sous fractions (membrane interne, membrane externe, contenu inter membranaire et matrice) sont obtenues après une ultracentrifugation sur gradient de densité.

#### 1-3-1 les Membranes

On a montré que les mitochondries avaient une activité osmotique ; elles pouvaient gonfler en milieu hypotonique et se contracter dans un milieu hypertonique. Cette propriété faisait penser que les mitochondries étaient délimitées par une membrane semi perméable comparable à la membrane plasmique. Le rôle des mitochondries dans la transformation de

l'énergie est intimement lié aux membranes très apparentes dans les micrographies électroniques. Chaque membrane possède une membrane externe et un système interne

#### 1-3-1-1 La Membrane externe (ME)

Elle enveloppe entièrement la mitochondrie. Semblable à la membrane plasmique, c'est une bicouche lipidique de 5 à 7nm d'épaisseur, avec 40% -50 % de lipides et 60% de protéines en poids. Très riche en porines (pores volumineux d'un diamètre de 2 à 3 nm) et perméases. De structure tri lamellaire contenant des protéines intrinsèques globulaires 3500 à 4500 par  $\mu\text{m}^2$  se localisant dans la couche lipidique. Très riche en enzymes ; oxydation de l'épinéphrine (adrénaline), dégradation du tryptophane et allongement des acides gras. Elle est perméable aux ions et petites molécules (molécules atteignant 10.000 daltons = <10 KDa) . Elle permet l'import et la translocation des protéines par des translocases (Translocase of the Outer Membrane = TOM).

Tableau 1 : composition de la ME

(sur diapo)

#### 1-3-1-2 La Membrane interne (MI)

Occupe une surface 5 à 10 fois de celle de la membrane externe. De structure différente a la membrane externe elle contient 20% de lipides et 80% de protéines (1 molécule de protéines pour 15 phospholipides). on trouve 60 polypeptides différents. elle est dépourvu de cholestérol et riche en cardiolipine (diphosphatidylglycérol) , des enzymes de la chaîne respiratoire, des transporteurs d'électrons et d'hydrogène ainsi que des particules élémentaires extra membranaires appelées unité tripartites comportant - une tête partie élémentaire qui est une protéine l'adénosine triphosphosynthétase - une tige contenant des facteurs de couplage - la base enchâssée dans la membrane interne ces unités tripartites sont connues sous le nom de complexe f0-f1 ou ATPsynthase .

La perméabilité de la MI est limitée du fait de la présence des crêtes, son épaisseur et de 8nm. Elle est imperméable aux ions, y compris protons et petites molécules, nécessite des transporteurs spécifiques. la fluidité de sa bicouche facilite les interactions avec les composants nécessaires à la production de l'ATP. Elle permet l'import des protéines par des translocases (Translocase of the Inner Membrane = TIM), elle assure également le transport des protons  $\text{H}^+$  de l'espace inter membranaire vers la matrice par des protéines de découplage ou UCP (UnCoupling Protein).

Tableau 2 : composition de la MI

(Sur diapo)

#### 1-3-2 L'espace inter membranaire

Espace large de 10 nm avec la même composition que le cytoplasme, il renferme des ions et des protons , le cytochrome c , ainsi que des enzymes comme l'adenykinase (myokinase) qui assure le recyclage de l'AMP selon la réaction  $\text{AMP} + \text{ATP} \rightarrow 2 \text{ADP}$  .

### 1-3-3 les crêtes

La membrane interne s'invagine en tube ou en saccules qui pénètrent profondément dans la matrice de la mitochondrie. De même que le nombre des mitochondries dépend de l'importance de l'activité cellulaire l'abondance des crêtes dépend de l'activité respiratoire.

La structure des crêtes varie, elles ont :

- 1- soit la forme de bouteilles aplaties
- 2- soit la forme de saccules
  
- 3- soit la forme de tubules

Dans les cellules de foie des mammifères, les crêtes sont de larges feuilles qui coupent tout le diamètre de la mitochondrie. Dans la plus part des cellules végétales, elles ont une forme tubulaire.

### 1-3-4 La matrice

Elle est constituée d'une substance fondamentale gélatineuse très riche en métabolites Eau ; sel minéraux ; protéines HSp70, ARNm ; ARNt... , ADN mitochondrial double brin circulaire, il code un petit nombre de polypeptides mitochondriaux qui s'intègrent à la membrane mitochondriale interne . la matrice contient des petits ribosomes, les Mitoribosomes (ribosomes proches des ribosomes bactériens), des enzymes de nombreux métabolismes : catabolisme des acides gras et du glucose (Pyruvate déshydrogénase) produisant des radicaux acétyles « brûlés » dans le cycle de Krebs pour donner de la chaleur et des électrons utilisés par la chaîne respiratoire.

La matrice renferme souvent des filaments, et des granules denses. Un type de granule contient une réserve de calcium sous forme de phosphate de calcium. Les mitochondries sont des accumulateurs actifs des ions de calcium.

## 2- La respiration cellulaire aérobie

### 2-1 Définition

La respiration aérobie, est une réaction chimique d'oxydoréduction qui fournit l'énergie vitale pour la cellule. Elle se fait par consommation d'oxygène par la cellule et rejet du CO<sub>2</sub> . L'oxygène est introduit dans l'organisme par l'air puis extrait de la ventilation pulmonaire, c'est alors qu'il gagne la circulation sanguine, fixé sur l'hémoglobine des hématies (globules rouges) et atteint enfin la cellule. Le carbone provient essentiellement de la dégradation du glucose.

## **2-2 Devenir du sucre dans l'organisme**

Le sucre le plus important au niveau cellulaire est le D-glucose, un sucre en six carbones que l'on peut obtenir par hydrolyse du sucre de cuisine ou saccharose, qui fournit un glucose et un fructose. En solution, la molécule se retrouve essentiellement sous une forme cyclique

Son hydrolyse progressive au sein des cellules permet de récupérer l'énergie contenue dans ses diverses liaisons, énergie chimique qui sera stockée sous forme d'ATP, ou adénosine triphosphate. L'hydrolyse du glucose étant intracellulaire, celui-ci doit nécessairement pénétrer à l'intérieur des cellules ; les différentes cellules de l'organisme se comportent différemment à ce propos :

Au niveau des reins et de l'intestin grêle le glucose pénètre dans les cellules sous forme d'un transport actif, Au niveau hépatique, il s'agit d'un transport facilité rapide. Au niveau des muscles et des adipocytes (ou cellules de graisse), on trouve un transport facilité, stimulé par l'insuline qui augmente l'affinité du transporteur pour le glucose.

Lorsque le glucose a pénétré dans la cellule, il est directement phosphorylé, ce qui l'empêche de ressortir de la cellule par simple diffusion. Les mitochondries ont comme principale fonction la génération d'énergie sous forme d'ATP. Les mitochondries produisent en permanence de l'ATP qui constitue la réserve énergétique cellulaire pour satisfaire les besoins de la cellule. L'oxygène capté par les cellules va servir à oxyder des métabolites pour produire de l'énergie.

Au niveau cellulaire, l'énergie issue de la respiration n'est pas perdue sous forme de chaleur mais est convertie en énergie chimique sous forme d'ATP lors de la phosphorylation oxydative.

## **2-3 Les précurseurs énergétiques**

### **2-3-1 Le glycogène**

Le glycogène constitue des réserves glucidiques de la cellule. La glycolyse est une respiration anaérobie qui a lieu dans le cytoplasme. Cette glycolyse permet alors de conduire à la formation de pyruvate, ces derniers seront transformés en acétyl-coA (libération de 2 CO<sub>2</sub>) et le cycle de Krebs (libération de 4 CO<sub>2</sub>) et phosphorylations oxydatives.

### **2-3-2 Les acides gras**

Les acides gras sont apportés par l'alimentation ou proviennent des réserves du tissu adipeux sous-cutané. Ces acides gras sont transformés en acétyl-coA dans la matrice mitochondriale. Les composés réduits, NADH et FADH<sub>2</sub>, formés au cours de la glycolyse, de l'oxydation des acides gras et du cycle de Krebs sont très "riches en énergie". Ils vont être réoxydés par perte d'hydrogène qui va lui-même se dissocier en proton et électron. Ces électrons à haut potentiel d'énergie seront transférés à la chaîne respiratoire, et finalement à une molécule d'oxygène qui en réagissant avec les protons donne de l'eau.

## 2-4 la glycolyse

### 2-4-1 Définition

La glycolyse est la première étape de la combustion complète du glucose, qui consiste en la transformation de chaque molécule de glucose (6 atomes de carbone) en deux molécules d'acide pyruvique ou pyruvate (à 3 atomes de carbone), qui pourront être dégradés à leur tour dans la mitochondrie. Cette étape cytoplasmique du catabolisme du glucose ne nécessite pas d'apport en dioxygène, elle peut donc se dérouler dans toutes les cellules, quelle que soit leur activité, pourvu que l'apport en glucose soit suffisant.

### 2-4-2 Etapes de la glycolyse

La glycolyse est une succession de réactions enzymatiques.

#### 2-4-2-1 Réactions endergoniques

Le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate, ce qui consomme une molécule d'ATP, puis transformé en fructose-6-phosphate ; Le fructose-6-phosphate est phosphorylé à son tour, pour donner du fructose-1,6-diphosphate .

#### 2-4-2-1 Réactions exergoniques

Le fructose-1,6-diphosphate, à 6 atomes de carbone, va être scindé en deux molécules à 3 atomes de carbone, nommées 3-phosphoglyceraldéhyde (3-PGA) ; Le 3-PGA subit ensuite plusieurs transformations qui vont aboutir à une molécule-clé de la combustion du glucose, l'acide pyruvique ou pyruvate. Cette étape est marquée également par la réduction de coenzymes et la production d'ATP.

La glycolyse permet donc de former à partir d'une molécule de glucose deux molécules de pyruvate avec production de 2 ATP et 2 NADH+H. le pyruvate est transporté à l'intérieur de la mitochondrie, est transformé en Acétyl CoA. L'Acétyl CoA provient aussi de la dégradation des acides gras apportés par l'alimentation, ou proviennent des réserves du tissu adipeux. L'Acétyl CoA entre dans le cycle de l'acide citrique dans lequel il est déshydrogéné en fournissant du FADH<sub>2</sub>, NADH+H<sup>+</sup>, et CO<sub>2</sub>. A la fin du cycle, Le glucose est complètement dégradé en CO<sub>2</sub> et H, seulement 4 ATP ont été produits pour chaque glucose (2 dans la glycolyse et 2 dans le cycle de Krebs).

Les composés réduits, NADH et FADH<sub>2</sub> sont une réserve d'énergie, leurs oxydations se font par la chaîne respiratoire.

## 2-5 La chaîne respiratoire

### 2-5-1 Définition

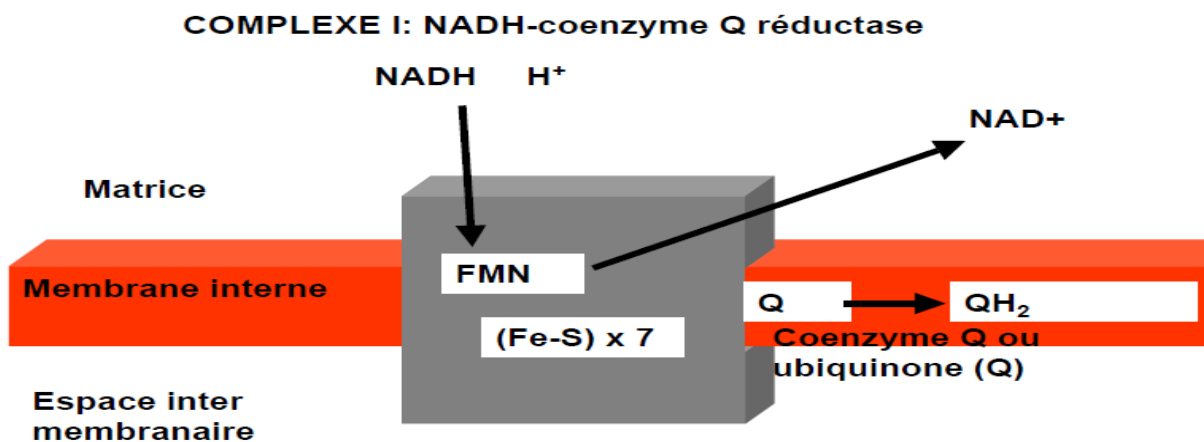
Il s'agit du système de transport d'électrons, au cours duquel les couples d'électrons sont liés et transférés par des transporteurs spécialisés (protéines membranaires) jusqu'à ce qu'ils se combinent avec l'oxygène pour former l'eau. C'est une série ordonnée de protéines insérées dans la membrane interne de la mitochondrie, imperméable aux protons. Elles sont alignées selon un ordre énergétique, la première molécule à plus d'énergie que la dernière. A fur et à mesure qu'ils sont transportés les électrons perdent leur énergie, au bout de la chaîne ils sont acceptés par l'oxygène ( $O_2$ ) qui se combine avec les protons du milieu pour former l'eau. ( $2H^+ + 2e + O_2 = H_2O$ ). (Figure 5. diapo)

L'énergie perdue par les électrons et la présence des protons  $H^+$  permettent d'activer l'ATP synthase localisée dans la membrane interne de la mitochondrie, cette enzyme catalyse la production de l'ATP en grande quantité.

### 2-5-2 Transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire

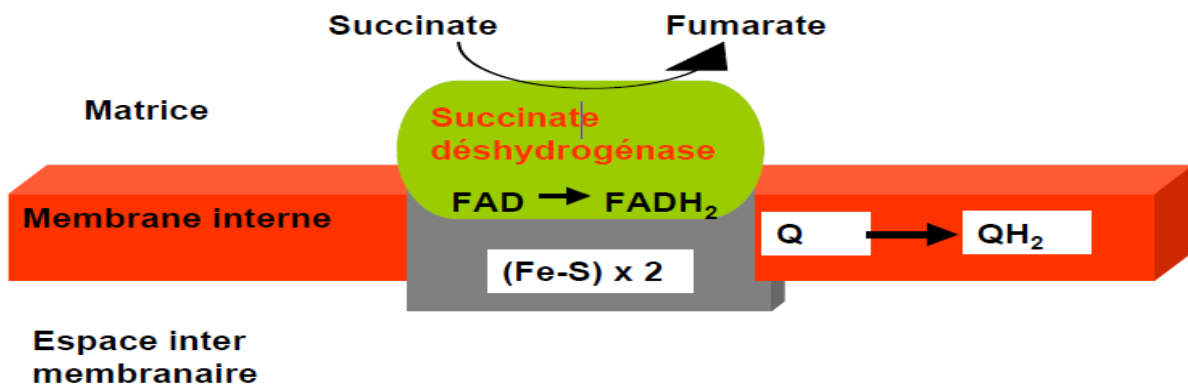
#### 2-5-2-1 Complexe I : NADH COQ REDUCTASE (NAD-DESHYDROGENASE) (NADH-UBIQUINONE OXYDOREDUCTASE)

C'est le plus gros complexe transmembranaire de la chaîne respiratoire (30 polypeptides, avec une masse de 1 million de daltons). Il est composé d'une flavoprotéine et 9 centres fer-soufre, il catalyse le transfert des électrons entre le NAD qui est le donneur, et le COQ qui est l'accepteur. 2 électrons sont transférés au FMN (flavine mono nucléotide), puis deuxième transfert sur la protéine Fe-S qui récupère un électron et passe de l'état ferrique à l'état ferreux. FMN fixe deux hydrogènes et transformée en FMNH<sub>2</sub>. Au final les électrons sont transférés sur le COQ (de nature lipidique, hydrophobe, soluble dans la membrane mitochondriale). L'énergie est suffisante pour que  $4H^+$  passent de la matrice vers l'espace inter membranaire.



### 2-5-2-2 Complexe II : SUCCINATE COQ REDUCTASE (SUCCINATE – UBIQUINONE OXYDOREDUCTASE)

Il s'agit du plus petit complexe protéique de la chaîne respiratoire, il est situé sur la face matricielle et contient peu de protéines, dont deux forment la succinate déshydrogénase, enzyme unie à la membrane qui contient le FAD et catalyse la réaction de transformation de succinate en fumarate dans le cycle de Krebs. 2 électrons sont transférés par FAD à la protéine Fe-S ( $\text{Fe}^{3+}$  est réduite en  $\text{Fe}^{2+}$ ). Le transfert continue au cytochrome b en suite au COQ. L'énergie n'est pas suffisante pour transférer des  $\text{H}^+$  : c'est un complexe non productif en termes d'ATP".

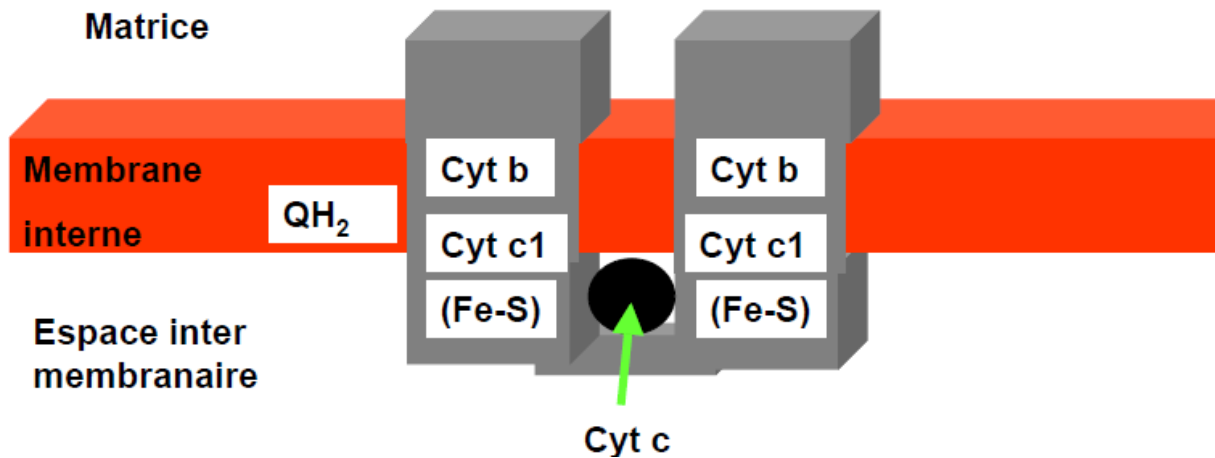


### 2-5-2-3 Complexe III : COQ CYTOCHROME C REDUCTASE

Le complexe est composé de 10 polypeptides, il possède un centre fer-soufre et plusieurs groupements hème (ou cytochrome). On y trouve deux cytochromes b : b562 et b 566 (référence à la longueur d'onde à laquelle ils absorbent). Les électrons passent de cytochrome b 566 à b562. Puis le transfert continue sur FE-S puis sur le cytochrome C1 et enfin sur cytochrome C (hème protéine soluble dans l'espace inter membranaire).

Le complexe III catalyse donc le transfert d'électrons entre l'ubiquinone réduite  $\text{COQ}(\text{UQH}_2)$  et le cytochrome C, qui sont deux transporteurs mobiles. L'énergie de transfert est suffisante pour produire la translocation de 4  $\text{H}^+$  vers l'espace inter membranaire.



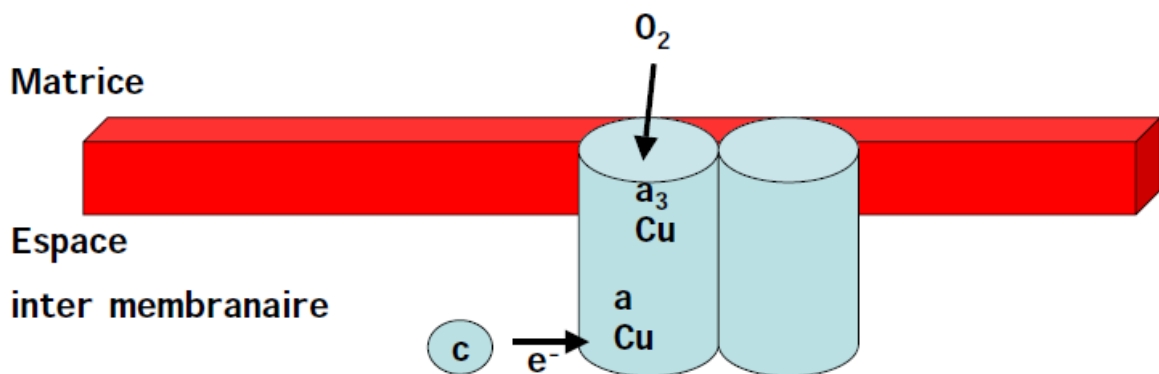


#### 2-5-2-4 Complexe IV : CYTOCHROME C OXYDASE

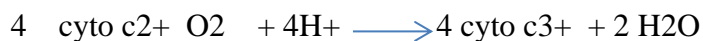
Il représente l'étape finale de transfert d'électrons. C'est un complexe qui présente un énorme assemblage de polypeptides constitué de deux types d'hèmes (cytochromes) :

L'hème a qui transfère les électrons au centre cuivré CuA.

L'hème a<sub>3</sub>, reçoit les électrons venant de CuA et les transmet au centre cuivré CuB.



Le transfert de 2 électrons, libère une énergie suffisante pour transférer 4H<sup>+</sup> de la matrice vers l'espace inter membranaire dont 2 H<sup>+</sup> sont utilisés pour la production d'une molécule d'eau. le transfert se fait suivant la réaction :



#### 2-5-3 Production de l'ATP par le complexe ATP SYNTHASE : ATPosome

##### 2-5-3-1 La force proton motrice

La translocation des protons de la matrice vers l'espace inter membranaire crée un potentiel de membrane entre les deux faces de la membrane interne (face matricielle = face N

=negative et face cytosolique = face P= positive). Il faut considérer deux composantes du gradient protonique = gradient protonique électrochimique : (voir diapo n : 34)

-Gradient du Ph (delta pH) = gradient chimique

- Voltage = gradient électrique

La combinaison de l'énergie présente dans les deux composantes représente la force proton motrice , mesurée en millivolts . Les mitochondries dont la respiration est active engendrent une force proton motrice de 220mv.

#### 2-5-3-2 L'ATP synthase

Dans la membrane interne se trouve un complexe ATPsynthase qui permet le retour des protons dans la matrice qui permettra en finalité la synthèse d'ATP . **(fig.6 diapo)**

On estime qu'une mitochondrie de foie de mammifère possède 15000 copies d'ATP synthase . Le complexe est composé de deux segments ; apical F1 (poids moléculaire 360000 daltons) et basal F0 encastré dans la membrane interne, forme un canal a proton, ou les protons sont amenés dans le segment F1 à partir de l'espace inter membranaire. Les deux portions sont réunies par un mince pédicelle. (voir Diapos 35 -36-37-38)

Grace à la phosphorylation oxydative, la mitochondrie fournit une grande quantité d'énergie libre utilisée par la cellule. le calcul de la répartition de l'énergie provenant des aliments (100%) donne environ 60 % qui servent à produire de l'ATP et 35 % qui sont dissipés sous forme de chaleur.

#### 2-5-4 Les Inhibiteurs de la chaine respiratoire

Les inhibiteurs spécifiques de la chaine respiratoire sont représentés dans le tableau en dessous. (Voir diapos 40 à 45)

### **3-La respiration anaérobie = fermentation.**

(voir cour diapos )