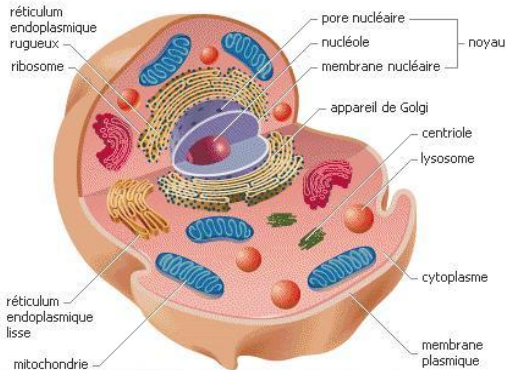


Mitochondrie et Signalisation Cellulaire



I/ Généralité sur les Mitochondries

a) Organisation d'une cellule eucaryote

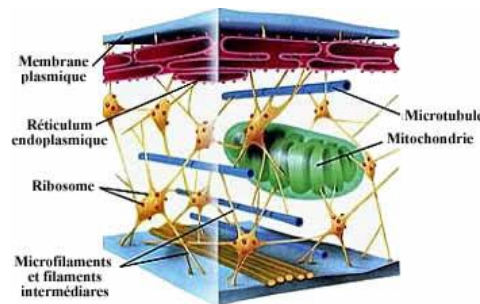


Les **Mitochondries** sont des **organites intracellulaires** présents chez les organismes eucaryotes.

Elles sont le siège de la **respiration cellulaire** et ont pour fonction de **produire l'ATP** c'est à dire la *source principale d'énergie pour la cellule eucaryote*.

Une cellule contient **entre 0 et 1000 mitochondries**.

Le nombre de mitochondries par cellule et leur localisation varient en fonction des besoins énergétiques
NB : Elles migrent au contact de la membrane plasmique en cas d'hypoxie pour capter plus rapidement l'O₂, en suivant les filaments du cytosquelette selon le gradient d'O₂



b) Structure des mitochondries

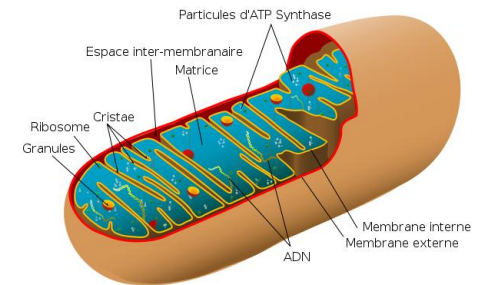
Leur taille est de **1 à 10 µm de long** et **0,1 à 0,5 µm de large**.

Les mitochondries possèdent une **double membrane** : une **membrane externe (MME)** et une **membrane interne (MMI)**.

→ La **MME** sépare le **cytosol** de l'**espace inter-membranaire (EIM)**.

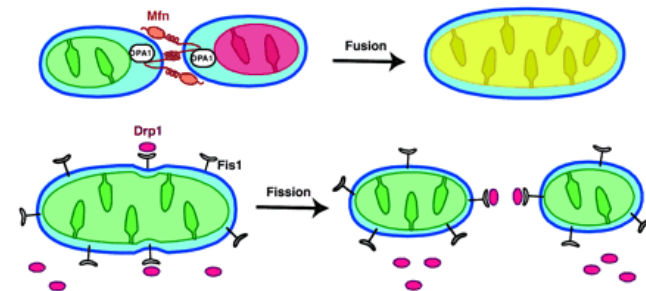
→ La **MMI** sépare l'**EIM** de la **matrice mitochondriale**.

La **MMI** présente des replis appelés **Cristae** : ↗ de la surface de la **MIM**



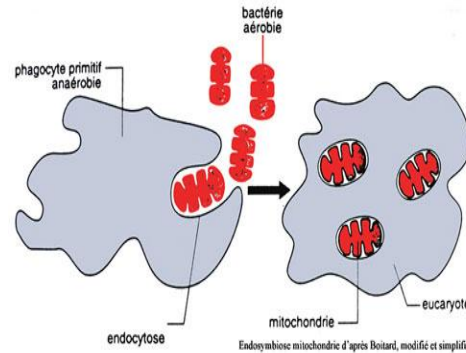
Les mitochondries sont en **réorganisation permanente** : il existe des phénomènes de **fusion mitochondriale** et à l'inverse des phénomènes de **fission mitochondriale**. On parle de **danse des mitochondries**.

Dans quel but ? → *Echange d'ADN ? Modification de la structure ?...*



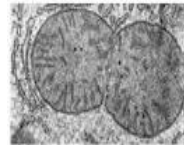
c) Origine des Mitochondries

Les mitochondries proviennent d'un **phénomène d'endosymbiose** (Théorie Endosymbiotique). Une **bactérie capable de pratiquer la Phosphorylation Oxydative** aurait été phagocytée par la cellule eucaryote → **Mitochondrie** (la MIM serait alors la membrane de la bactérie)

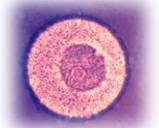
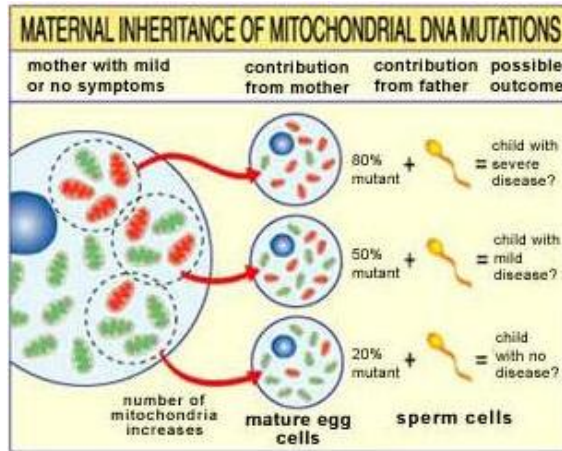


NB : De la même manière, la phagocytose de bactéries capables de Photosynthèse serait à l'origine de la formation des Chloroplastes des cellules végétales

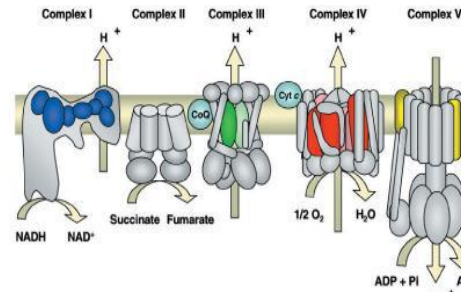
Par la suite, il se produit des phénomènes de **fusion** et de **fission mitochondriale**. Il existe aussi des phénomènes de **mitogénèse** ...



La **transmission des mitochondries est maternelle** : elles proviennent du cytoplasme de l'ovocyte. → Si la mère possède des anomalies mitochondriales, elles peuvent être transmises à la descendance.



d) Génome Mitochondrial



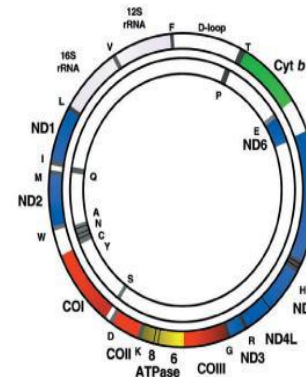
Les mitochondries possèdent leur propre ADN → **ADN Mitochondrial**

C'est un **ADN circulaire** et **double brin** de 16569 pb

Le **nombre de copies par mitochondrie** est variable : **de 2 à 10 copies**

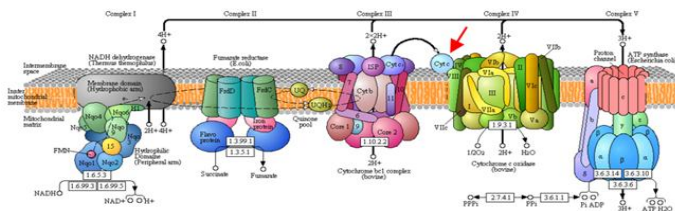
L'**ADN mitochondrial** code pour :

- des **ARNt**
- des **ARNr**
- des **ARNm** codant pour **13 protéines de la Chaîne Respiratoire**



	C I	C II	C III	C IV	C V
ADN mito	7	0	1	3	2
ADN nucl	39	4	10	10	14

L'**assemblage des complexes de la Chaîne Respiratoire** est compliqué car il faut associer toutes les sous-unités de manière convenable dans l'espace. De plus, les différentes sous-unités ont des origines différentes : **génome nucléaire ou mitochondrial** !

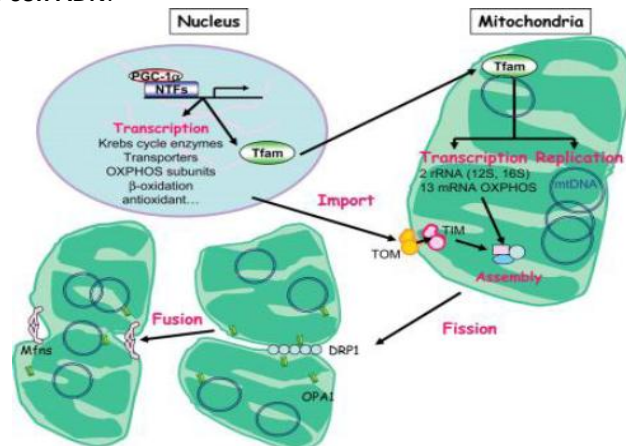


e) Biogénèse Mitochondriale

Contrairement à d'autres organites, la **biogénèse des mitochondries** ne peut se faire qu'à partir des mitochondries déjà existantes dans la cellule (par croissance, puis fission).

La mitochondrie est le siège de nombreuses voies métaboliques : **Cycle de Krebs**, **Chaîne Respiratoire Mitochondriale**, **β-Oxydation**,...

→ Avant de proliférer, la mitochondrie doit donc **augmenter son stock enzymatique** et **répliquer son ADN**.



Quand un signal indique qu'il faut **plus de mitochondrie** dans une cellule, le facteur **PGC-1α** associé à des **Facteurs de Transcription Nucléaires (NTFs)** augmente l'expression :

- des gènes codant pour les **enzymes** du Cycle de Krebs, de la β-Oxydation, pour les sous-unités des complexes de la Chaîne Respiratoire, pour des Transporteurs, des Anti-Oxydants,...
- Ces protéines migrent vers la mitochondrie
- du gène codant pour le facteur **Tfam**

Le facteur **Tfam** entre dans la mitochondrie et induit l'expression des gènes du **génom mitochondrial** → Synthèse des sous-unités des complexes de la **Chaîne Respiratoire + Réplication du génom mitochondrial**

→ Le facteur **Tfam** fait le lien entre les génomes nucléaire et mitochondrial

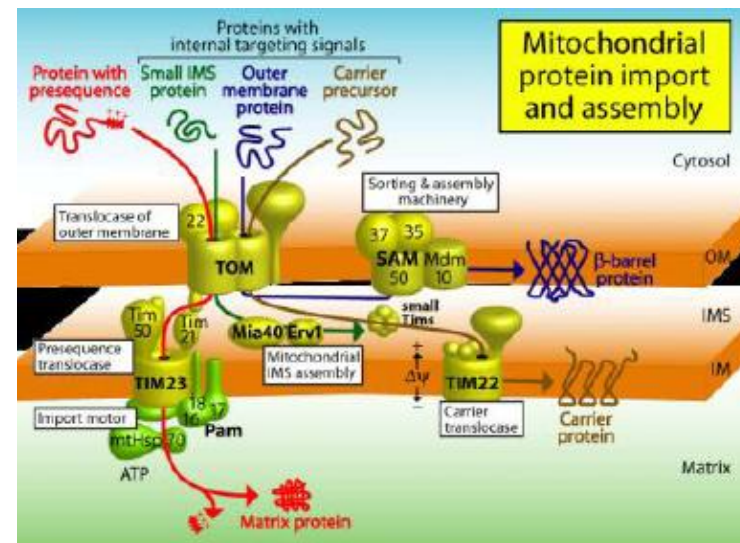
f) Systèmes de Transports Membranaire

- ▶ La **MEM** contient des **Porines** qui sont des poros aqueux laissant passer les **molécules < 1000Da** (AG, Pyruvate, Citrate,...) et les **ions**.
- ▶ La **MEM** contient aussi des complexes **TOM** qui permettent aux protéines synthétisées dans le cytosol de **traverser la MEM**.

Les Protéines de la MEM sont prises en charge par la **machinerie SAM**, qui les assemble.

D'autres protéines sont destinés à rester dans l'EIM, alors d'autres encore traverse la MIM pour se retrouver dans la matrice mitochondriale.

- Les protéines traversent la **MIM** grâce aux complexes **TIM** :
- ▶ Les **complexes TIM 23** permettent de passage des protéines de l'EIM vers la matrice
- ▶ Les **complexes TIM 22** permettent l'insertion des protéines dans la MIM
NB : La **MIM** contient aussi des **complexes OXA** qui permettent la sortie de certaines protéines mitochondriales dans le cytosol



Ainsi, la **MEM** est composée de **60%** de protéines et **40%** de lipides
La **MIM** est composé de **75%** de protéines et **25%** de lipides (**Cardiolipines +++**)

II/ Oxydation Phosphorylante : entre Couplage et Découplage

a) Notion de couplage

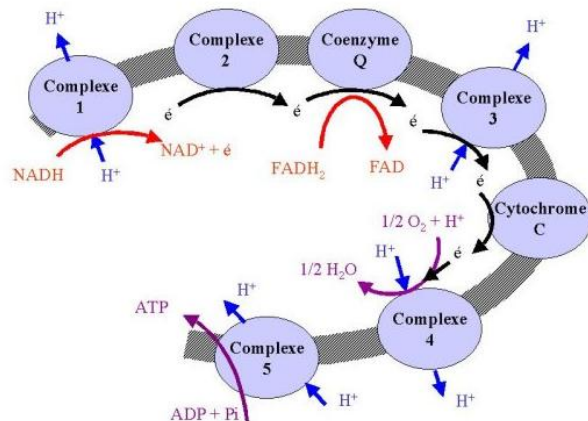
1) Généralités

But de la Chaîne Respiratoire Mitochondriale (CRM) : Synthétiser de l'ATP

Problème : La Synthèse d'ATP nécessite de l'énergie

Mécanisme

- ▶ L'oxydation des substrats énergétiques produit du **NADH** et du **FADH₂**.
- ▶ Ces deux composés vont être **oxydés** par les complexes de la CRM et donc leur **transférer des électrons**.
- ▶ Les électrons vont alors **se déplacer de complexe en complexe** jusqu'à l'**accepteur final** : l'**O₂** qui est réduit en **eau** ($1/2 O_2 + 2e + 2H^+ \rightleftharpoons H_2O$)
- ▶ Au fur et à mesure de leur **déplacement le long de la CRM**, les électrons **perdent leur énergie**. Cette énergie est utilisée pour **synthétiser de l'ATP**.
- On a donc un **couplage** entre **oxydation des substrats** et **production d'ATP** : l'énergie libérée par l'oxydation des substrats est utilisée pour produire de l'ATP



2) Les Complexes de la CRM

La CRM est constitué de 4 complexes + 1 ATP Synthase

Le Complexe I = NADH-Ubiquinone Reductase : Oxydation du NADH

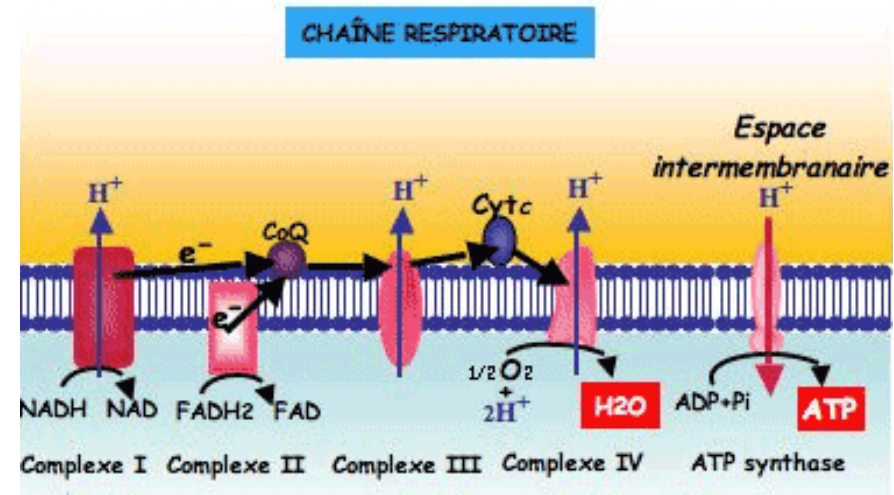
→ Transfert de 2 électrons au C I → Transfert des électrons à une Ubiquinone (ou Coenzyme Q) → Transfert des électrons au CIII

Le Complexe II = Succinate Déshydrogénase : Oxydation du FADH₂

→ Transfert de 2 électrons au CII → Transfert des électrons à une Ubiquinone → Transfert des électrons au CIII

Le Complexe III = Ubiquinone-Cytochrome C Réductase : Transfert des électrons au Cytochrome C

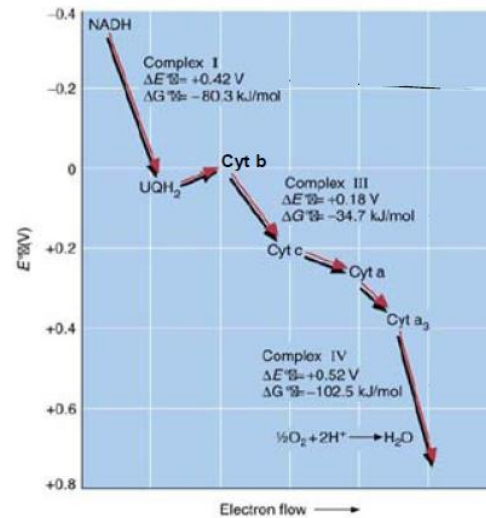
Le Complexe IV = Cytochrome C Oxydase : Oxydation du Cytochrome C et récupération des 2 électrons → Transfert à l'O₂ → Formation d'eau ($1/2 O_2 + 2e + 2H^+ \rightleftharpoons H_2O$)



3) Aspect Energétique

Les **électrons** se déplacent de complexe en complexe grâce à des **réactions d'oxydoréduction**.
 → Ce **déplacement** se fait depuis les couples possédant le **plus faible potentiel Rédox (E°)** vers les couples possédants le **plus fort potentiel Rédox**.

Le couple ayant le plus faible potentiel Rédox est donc le **couple NAD⁺/NADH** (premier transfert d'électrons).
 Le couple ayant le plus fort potentiel Rédox est le **couple O²/H²O** (dernier transfert d'électrons).



NB :

Potentiel Redox (E°) = capacité d'un composé à gagner/perdre des électrons.

Ex : Le couple **NAD⁺/NADH** a un potentiel Rédox E° = -0,32V

Le couple **O²/H²O** = +0,82V

Une **réaction d'Oxydoréduction** est possible spontanément si $\Delta E = E^\circ(\text{couple accepteur}) - E^\circ(\text{couple donneur}) > 0$.

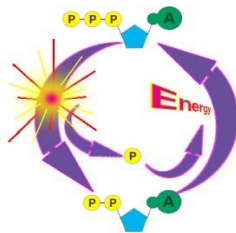
→ Dans la chaîne Respiratoire, le ΔE global > 0.

Le **transport d'électrons** se fait spontanément du NADH jusqu'à l'O₂

Par ailleurs, on sait que $\Delta G = -nF \Delta E$ (ΔG = **variation d'énergie libre**) et qu'une réaction est possible spontanément si $\Delta G < 0$

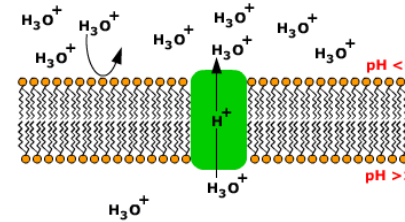
→ Le ΔG global de la CRM est < 0 : il y a une **libération d'énergie** des électrons lors du transfert.

Cette **énergie** n'est pas perdue, elle est utilisée pour la **synthèse d'ATP**



4) Théorie Chimio-Osmotique de Mitchell

La **Théorie Chimio-Osmotique de Mitchell** stipule que la MIM est imperméable aux protons... (Nous verrons que cela s'avère être partiellement faux)



L'énergie perdue par les électrons lors de leur transfert le long de la CRM est utilisée par des **pompes à protons**. Ces pompes récupèrent des **protons** de la matrice pour les envoyer dans l'EIM.

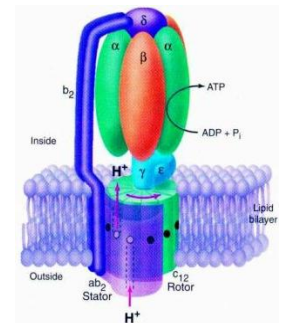
Le **CI** fait passer **4 protons** dans l'EIM
 Le **CII** n'en fait pas passer dans l'EIM
 Le **CIII** fait passer **4 protons** dans l'EIM
 Le **CIV** fait passer **2 protons** dans l'EIM

→ La **concentration de protons** est plus importante dans l'EIM que dans la matrice : il y a un **gradient chimique** (différence de pH) et un **gradient électrique** de part et d'autre de la MIM.

Selon Mitchell, les **protons** de l'EIM peuvent retourner dans la matrice uniquement via l'**ATP Synthase**.

L'**ATP Synthase** contient un **canal à protons** qui permet leur retour dans l'EIM. Ce retour génère de l'**énergie**, ce qui permet à l'**ATP Synthase** de **synthétiser l'ATP** (selon la réaction $ADP + Pi \leftrightarrow ATP + H_2O$)

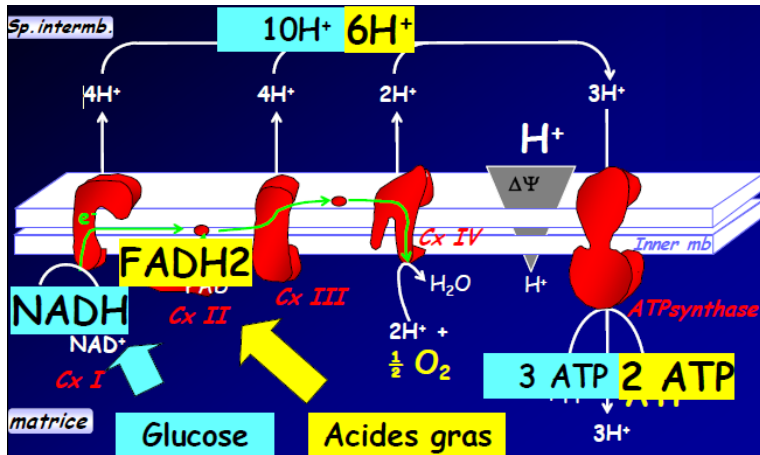
Le retour de **3 protons** dans la matrice produit **1 ATP**



On a donc bien un **couplage** entre **Oxydation des substrats** et **Phosphorylation de l'ADP en ATP (=Oxydation Phosphorylante)**

→ Ce couplage est dû au gradient de protons de part et d'autre de la MIM : on parle de **Force Proton-Motrice (Δp)**

5) Comparaison Glucose/Acides Gras



L'oxydation d'une molécule de **Glucose** produit surtout du **NADH** (et peu de **FADH₂**). Le **NADH** est oxydé par le **C_I**, puis les électrons se déplacent jusqu'au **C_{IV}**.

→ On expulse **10 protons** dans l'EIM = **Synthèse de 3 ATP**

L'oxydation d'une molécule d'**Acide Gras** produit bcp plus de **FADH₂** que l'oxydation du **Glucose**. Le **FADH₂** est oxydé par le **C_{II}** et les électrons se déplacent jusqu'au **C_{IV}**.

→ On expulse **6 protons** dans l'EIM = **Synthèse de 2 ATP**

6) Régulation de l'Oxydation Phosphorylante

	Chaîne Respiratoire	ATP Synthase
Activateurs	Potentiel Rédox : NADH/NAD⁺	Force Proton-Motrice (Δp)
Inhibiteurs	Force Proton-Motrice (Δp)	Potentiel Phosphate : ATP/ADP*Pi

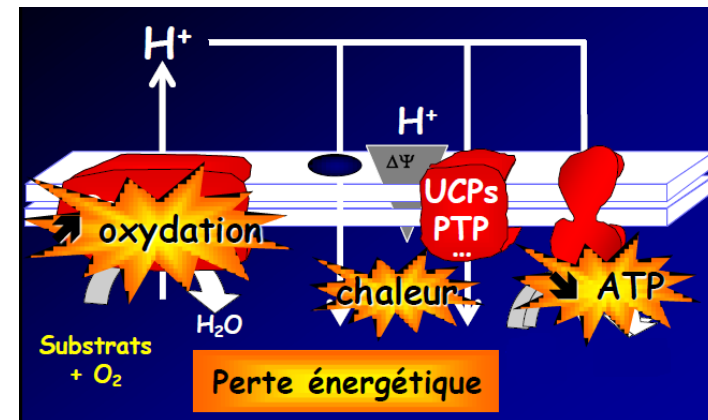
b) Notion de Découplage

...Mais il s'avère que Mitchell s'est trompé : la mitochondrie n'est pas aussi bien couplée... Toute l'énergie libérée par l'oxydation des substrats ne se retrouve pas sous forme d'ATP.

→ La MIM est, en fait, perméable aux protons ! Et cette perméabilité est même modulable.

1) Causes et Conséquences du phénomène de Découplage

- Les **protons** peuvent traverser directement la MIM.
 - Le passage des protons à travers la **MIM** est favorisé par la **présence d'AG Poly-Insaturés** (ω6, ω3) dans la bicouche lipidique. La proportion d'**AGPI** dans la **MIM** dépend du statut nutritionnel.
- Les **protons** peuvent traverser la MIM grâce à des protéines comme les protéines **UCP** (**UnCoupling Protein**) dont l'activité/quantité est modulable ou des systèmes comme le **Pore de Transition de Perméabilité** (**PTP**, voir plus loin)



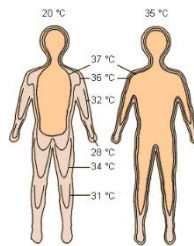
→ Le passage de protons de l'EIM vers la matrice a pour conséquence de
 ↘ le gradient électro-chimique de protons : ↘ de la Force Proton-Motrice

2 conséquences de la ↘ de la Force Proton-Motrice:

1. ↘ de la synthèse d'ATP par inhibition de l'ATP Synthase
2. ↗ de la vitesse de la CRM → ↗ de la consommation en O₂

Il y a donc une **perte d'énergie**, mais cette perte a un **intérêt physiologique** : l'énergie perdue est convertie en **chaleur**

→ Cette **production de chaleur** est responsable du **maintien de la température corporelle à 37°C**



Nous, les reptiles, possédons des mitochondries beaucoup mieux couplées que celles des Hommes !
 Le découplage est beaucoup plus faible dans nos mitochondries...
 Résultat, nous dépendons bcp plus de la température extérieure pour maintenir notre température corporelle... :(
 → C'est pour ça que nous passons l'essentiel de nos journées au soleil !
 héhéhé

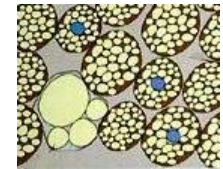


2) Protéines Découplantes UCP et Tissu Adipeux Brun

La première protéine découplante à avoir été découverte est la protéine **UC1 = Thermogénine** du **Tissu Adipeux Brun (TAB)** des **animaux hibernants**.

	UCP1	UCP2	UCP3	UCP4	BMCP-1 UCP5
Localisation	TAB	Ubiquitaire	TAB/Muscle	Tissu Neuronal	

Le **TAB** est un tissu composé notamment d'Adipocytes Bruns contenant de nombreuses enclaves lipidiques.
 Le **TAB** est très riche en mitochondries et ces mitochondries sont, elles même, très riches en **protéines UCP1**.
 → Le **TAB** assure donc la **thermogénèse**.



On trouve du **TAB** chez les animaux hibernants mais aussi chez les nouveaux-nés (au niveau du médiastin). Les nouveaux-nés peuvent alors résister au choc thermique de la naissance dû au passage brutal d'un milieu à température corporelle (le ventre de la mère, 37°C) à un milieu à température ambiante (20°C)

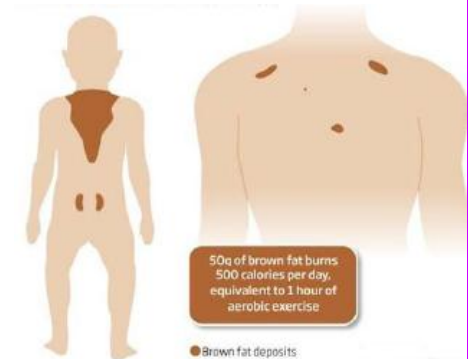


Rôle du TAB dans la Thermogénèse :

Mais depuis peu, on sait que l'Homme adulte en possède un peu sous la clavicule et près de l'Aorte.

► La **quantité de TAB** varie en fonction de la **température extérieure** : un Homme vivant dans des conditions de hautes températures possède moins de TAB qu'un Homme vivant dans un milieu froid.

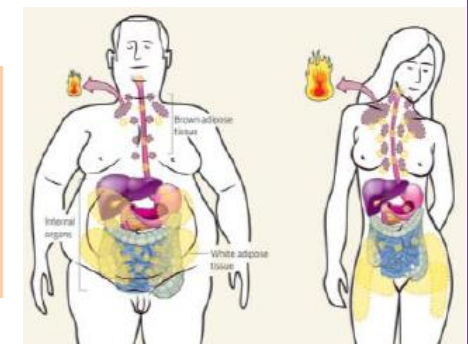
→ Pendant longtemps, on pensait que notre **thermogénèse** était seulement due aux **UCP3** du **muscle squelettique**, mais il semble que les **UCP1** du **TAB** ont aussi un rôle



Rôle du TAB dans l'obésité et le DT2 :

Le **TAB** aurait aussi un rôle dans la **régulation de la masse corporelle et le Diabète de type 2 (DT2)** : les individus obèses possèdent moins de **TAB** que les individus de poids normal

→ Le **découplage** augmente la **vitesse de la CRM** et donc l'**oxydation des substrats** : on brûle les substrats au lieu de les stocker !



Etude sur l'incidence de l'Obésité et du DT2 chez les Indiens de Pima :

Les Indiens de Pima (population vivant originellement au Mexique) possèdent un polymorphisme sur les gènes UCP2 et UCP3
 → Leurs mitochondries couplent mieux qu'une mitochondrie classique.
 Résultat, les indiens de Pima ayant émigrés en Arizona (USA) sont obèses et atteints de DT2 à 50% à cause du surplus alimentaire

3) Conclusion

Le découplage permet :

- L'↑ de la production de chaleur → thermorégulation et adaptation au froid : conversion de l'énergie générée par le gradient de proton en chaleur
- L'↑ de l'oxydation des nutriments → prévention de l'obésité, de l'insulino-résistance et du DT2 : diminution de la quantité de lipides dans les cellules musculaires
- La ↓ de la production de ROS (ERO) → prévention du stress oxydant et de l'insulino-résistance : voir V/
- L'↑ de la transition de perméabilité → Apoptose des cellules cancéreuse : voir VI/



La mitochondrie est impliquée dans la signalisation et la production d'énergie pour la cellule dans son ensemble...

Dysfonction mitochondriale → Cytopathie Mitochondriale

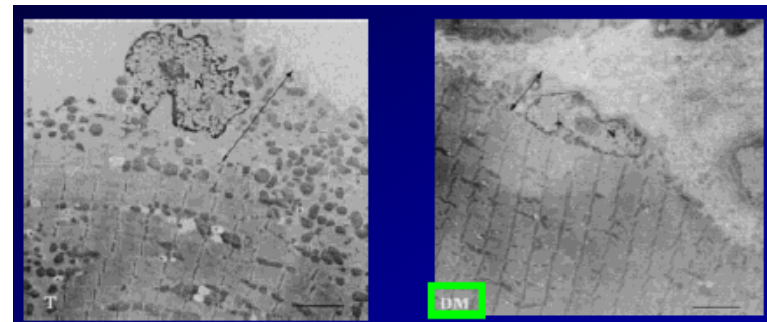
Ex : Les dysfonctions mitochondriales seraient impliquées dans des pathologies musculaires, cardiaques, oculaires, hépatiques, rénales, coliques, pancréatiques, neuro-dégénératives, de l'oreille interne,...

Dysfonction mitochondriale et DT2

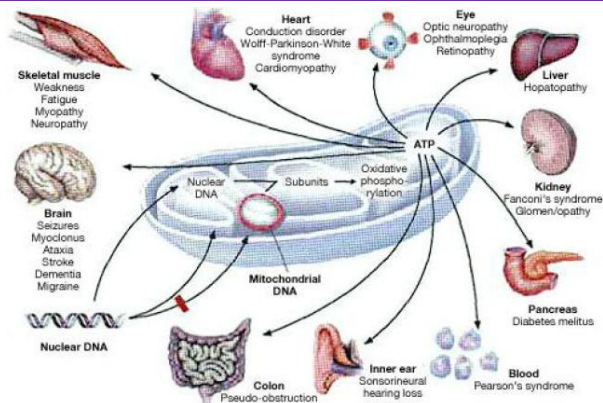
Des études ont montré que les individus diabétiques (DT2) ou obèses présentaient une ↓ de la quantité de mitochondries dans leur cellule musculaire.

- ↓ des capacités oxydatives : ↓ de l'oxydation des lipides surtout
- ↑ des capacités glycolytiques : ↑ de la glycolyse anaérobie

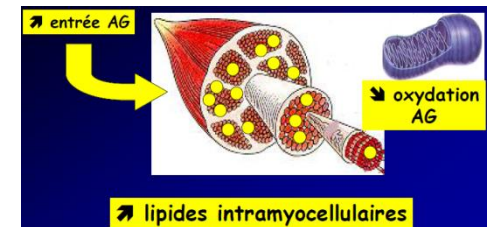
NB : La ↓ du nombre de mitochondrie pourrait être due à une ↑ de la production de ROS (par hyperactivité de la CRM), à l'Hyperglycémie, à l'↑ des LDL oxydés sanguins, ... Tous ces facteurs sont courants chez l'obèse ou le DT2



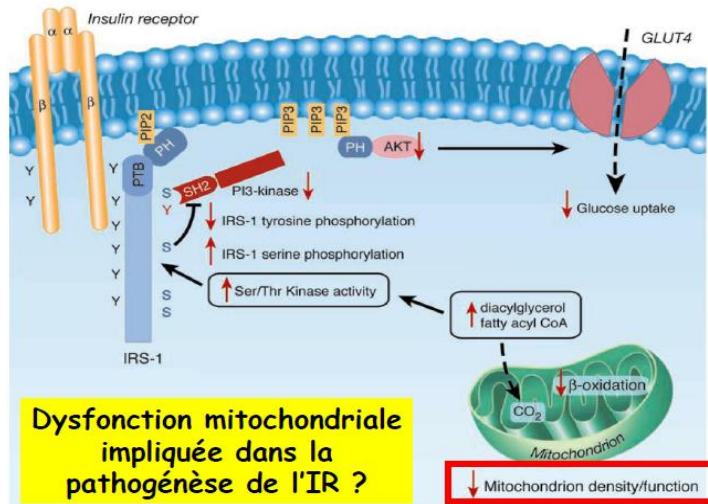
III/ Dysfonctions Mitochondriales



Les AG entrent dans les cellules musculaires mais y sont moins oxydés (↓ β-Oxydation), donc ils s'accumulent → ↑ lipides intra-myocellulaires



La \searrow de la β -Oxydation conduit notamment à l'accumulation d'AcylCoA et de DAG \rightarrow Activation de Sérine Kinases \rightarrow Phosphorylation du Récepteur à l'Insuline et de son substrat IRS sur des résidus Sérines \rightarrow Blocage de la voie de signalisation de l'Insuline \rightarrow Blocage de la translocation des transporteurs GLUT4 à la membrane, ... \rightarrow Résistance à l'Insuline \rightarrow DT2



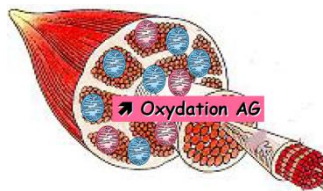
Dysfonction mitochondriale impliquée dans la pathogénèse de l'IR ?

Cela explique le lien entre dysfonction mitochondriale (à cause d'une \nearrow des ROS ou d'autres dérèglements métaboliques de l'obèse et du DT2), accumulation de lipides intra-myocellulaires et insulino-résistance

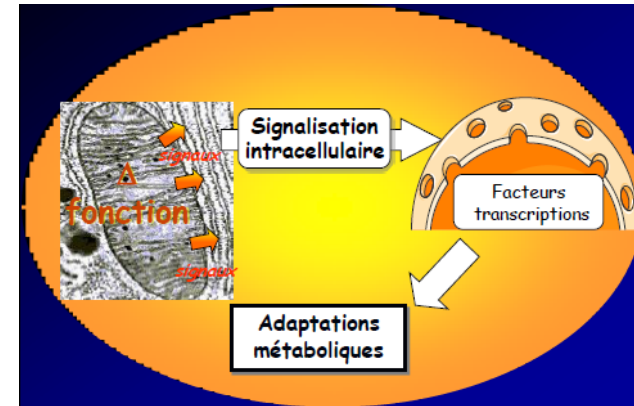
L'activation du récepteur PPAR β conduit à une \nearrow de nombre de mitochondries et de l'oxydation : on mime l'effort physique (l'effort physique \nearrow le nombre de mitochondries dans le muscle squelettique)

Des tests chez des souris obèses ont montré que l'activation pharmacologique de PPAR β pouvait reverser l'obésité et empêcher le développement du DT2

\rightarrow Agonistes du PPAR β = Pistes Thérapeutiques pour lutter contre le DT2



La variation de fonction de la mitochondrie va émettre des signaux dans le cytoplasme comme l'ATP (IV/), les ROS (V/) ou le Calcium (VII/).



Ces signaux vont modifier l'activité de certains facteurs de transcriptions qui vont modifier l'expression de certains gènes \rightarrow Adaptation Métabolique. De la même manière, toute dysfonction mitochondriale va aboutir à une dysfonction cellulaire.

\rightarrow On appelle cela la Signalisation Rétrograde

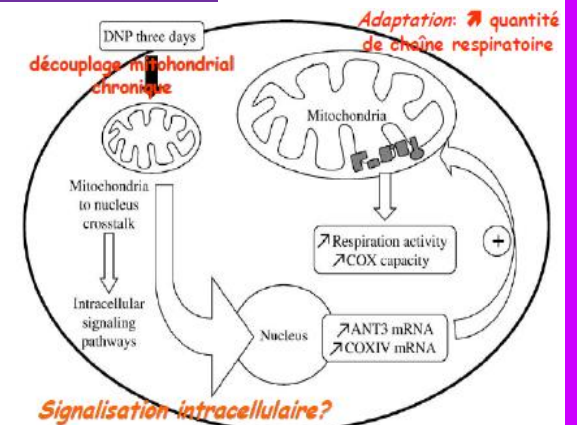
IV/ Mitochondrie et AMPK

Expérience :

Quand on traite la mitochondrie avec un agent découplant (2,4-DNP par exemple), le découplage conduit à une \searrow de la synthèse d'ATP.

On observe alors une \nearrow du nombre de mitochondries et de CRM par mitochondrie \rightarrow On rétablit la concentration d'ATP

\rightarrow Comment la mitochondrie peut-elle communiquer avec le noyau ?



a) Activation de l'AMPK et Biogénèse Mitochondriale

Le lien entre l'augmentation des besoins en ATP et la réponse cellulaire adaptée est assuré par l'AMP Kinase (AMPK) = senseur des besoins énergétiques

Activation de l'AMPK dans le muscle squelettique :

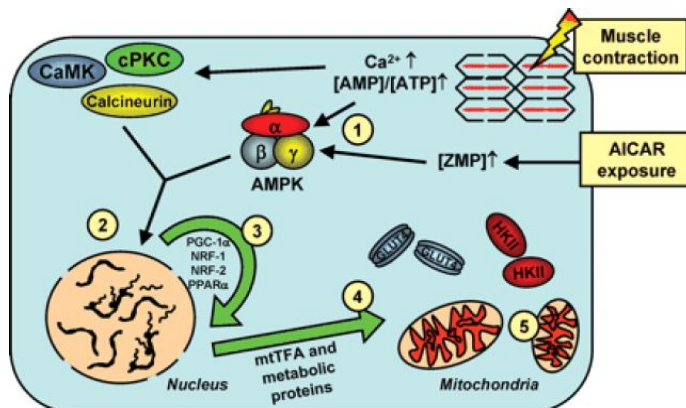
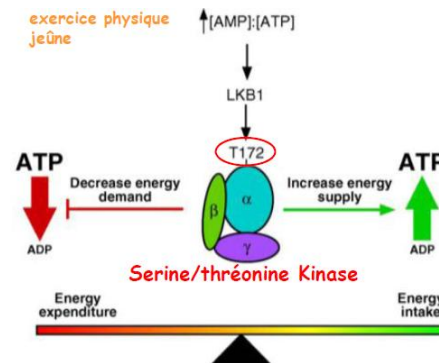
1. Dès que le **niveau énergétique** de la cellule ↓ c'est lorsque le rapport **[AMP]/[ATP]** ↑, l'enzyme **LKB1** est activée.
2. **LKB1** phosphoryle l'**AMPK** sur la **Tyrosine 172** → Activation de l'**AMPK**
3. L'**AMPK** est une **Sérine/Thréonine Kinase** qui phosphoryle des **enzymes** et des **facteurs de transcription**

- ↑ de toute les **voies cataboliques** et de la **synthèse d'ATP**
- ↓ de toutes les **voies anaboliques** et la **consommation d'ATP**

L'activation de l'AMPK conduit notamment à l'activation de **facteurs de transcription** comme **PGC-1α** ou les **Nuclear Respiratory Factor (NRF-1 et 2)**

→ Activation de la **transcription** d'**enzymes mitochondriales** (complexes de la CRM, du Cycle de Krebs, de la β-Oxydation) et du **facteur de transcription** du **génome mitochondrial Tfam** (transcription des protéines de la CRM)

→ **Biogénèse Mitochondriale** : **Synthèse d'ATP** ↑



L'effort musculaire ↑ aussi **[Ca²⁺]** intracellulaire → Activation de **CaM Kinases**, de la **Calcineurine**, de **PKC** → effets sur la **transcription de gènes** (complémentaires à l'action de l'AMPK)

NB : L'AMPK est aussi activé par l'↑ de **[ZMP]** intracellulaire.

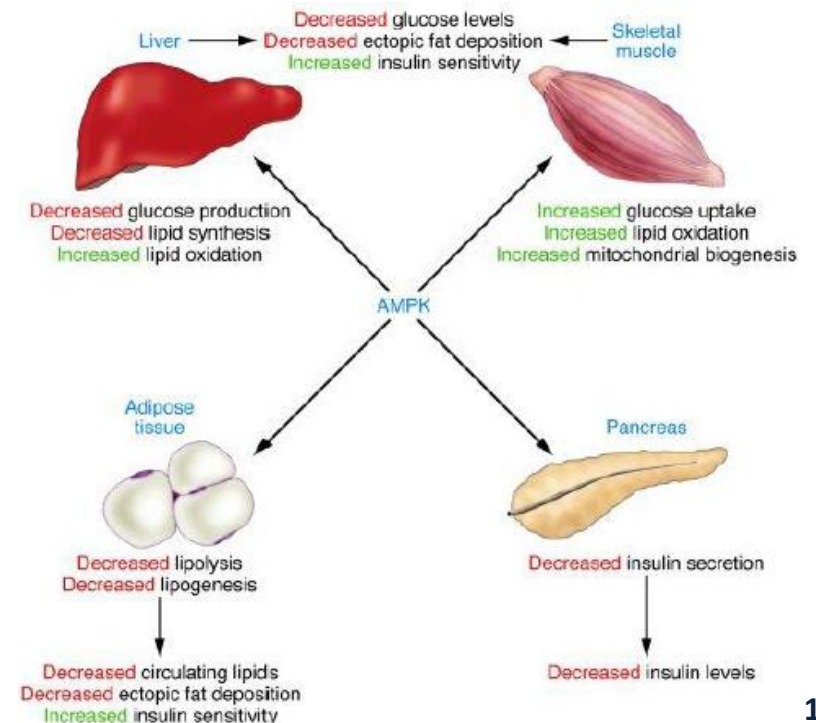
ZMP est un analogue de l'AMP qui provient de la phosphorylation d'une molécule appelée **AICAR** (5-Aminolimidazole-4-Carboxamide Ribotide) qui est un intermédiaire dans la voie de synthèse de l'AMP et du GMP.

b) AMPK : Cible Thérapeutique

La **Metformine** (vendue sous le nom de **Glucophage**®) possède un effet **insulino-sensibilisateur**.

→ Activation de l'AMPK dans le **muscle** et le **Foie**

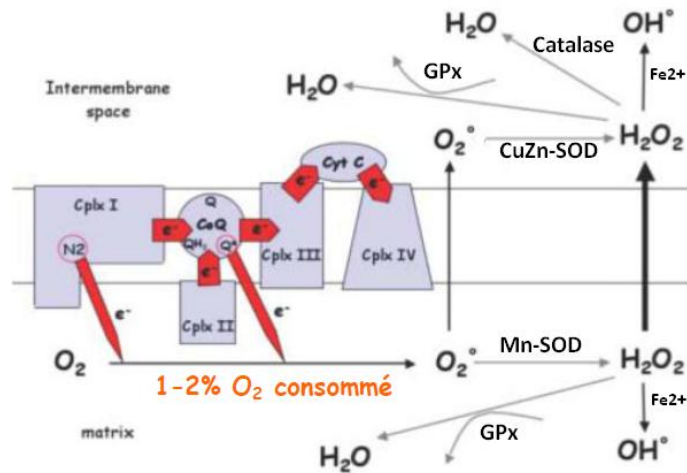
- ▶ **Muscle** : ↑ de l'oxydation des lipides, ↑ de la biogénèse mitochondriale, ↑ de l'entrée de Glucose dans les cellules (↑ GLUT4 à la membrane)
- ▶ **Foie** : ↑ de l'oxydation des lipides, ↓ de la Néoglucogénèse et de la lipogénèse



V/ Mitochondrie et ROS

Comme l'ATP/AMP, les ROS ou ERO (Espèces Réactive de l'Oxygène) constituent aussi un signal.

a) Production de ROS et Régulation



Les ROS sont surtout synthétisés au niveau de la CRM :

1. Des électrons s'échappent de la CRM (au niveau du centre Fe-S N2 et surtout au niveau de l'Ubiquinone entre C1/CII et CIII) → Dans la matrice, fixation d'un électron sur l'O₂ de façon singulet → Formation d'ion Superoxyde O₂^{•-}
2. L'ion Superoxyde subit, dans la matrice, l'action d'une SuperOxyde Dismutase mitochondriale (Mn-SOD) ou sort dans le cytosol et y subit l'action d'une SuperOxyde Dismutase Cytosolique (CuZn-SOD) → Formation de Péroxyde d'Hydrogène H₂O₂
3. Le Péroxyde d'Hydrogène subit l'action de la Glutathion Peroxydase (dans le cytosol ou les mitochondries) ou de la Catalase (dans les Peroxysomes) → Formation d'H₂O

NB : En présence de Fer, le Peroxyde d'Hydrogène peut aussi produire le radical hydroxyle HO[•] via la réaction de Fenton

Quels sont les facteurs favorisant la production de ROS au niveau de la CRM ?

→ 3 Facteurs

1) Force Proton Motrice (Δp) = Gradient de Protons

→ Quand Δp ↑ : Production de ROS ↑

« Effet Mille-Feuille » :

- La Force Proton Motrice est comme une main
- Les électrons sont comme la crème du Mille-Feuille
- La pâte feuilletée est la membrane

► Plus la force exercée par la main (Δp) sur le Mille-Feuille ↑, plus la crème (électrons) s'échappe

→ Formation de ROS



2) Flux d'électron = Vitesse de la CRM

→ Vitesse de la CRM ↑ (hypermétabolisme : excès de FADH₂ et NADH) : Production de ROS ↑

« Effet Tuyau Percé » :

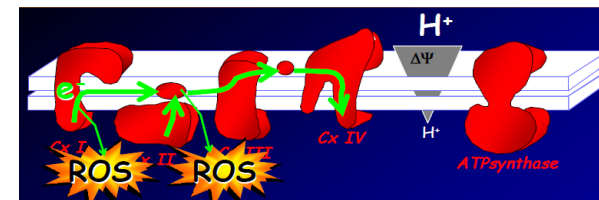
Plus le débit d'eau augmente, plus la fuite d'eau est importante



3) Etat de Réduction des Complexes

Quel est l'effet du découplage sur la production de ROS ?

Globalement, le découplage ↓ la formation de ROS par ↓ de la Force Proton Motrice



1 à 2% de l'O₂ consommé forme des ROS

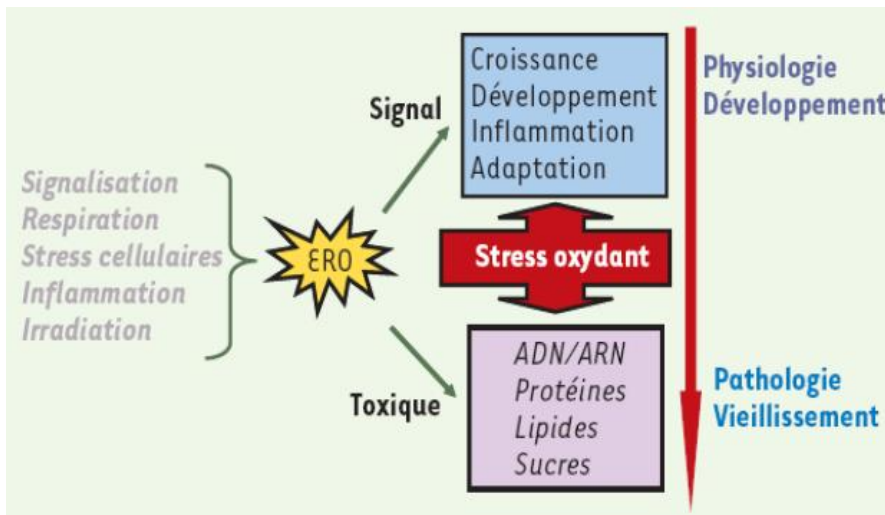
b) Rôle Biologiques des ROS

1) Homéostasie Rédox

Les ROS possèdent des effets :

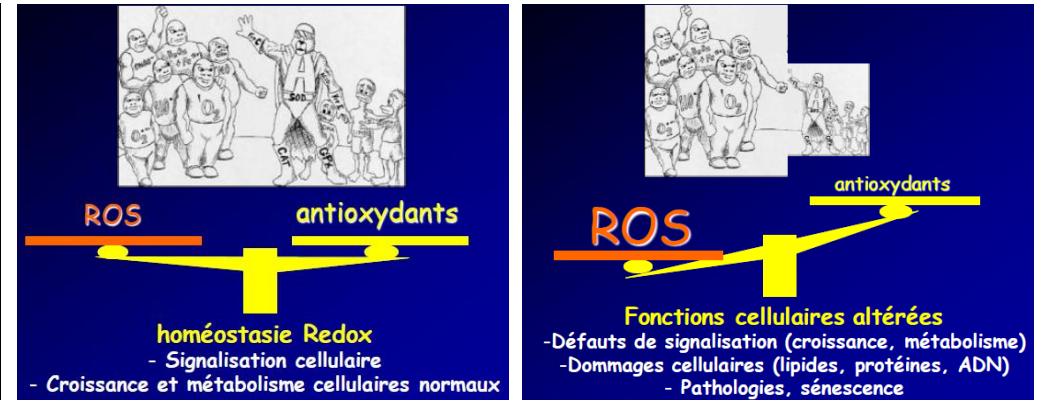
- **Bénéfiques : Nécessaire en physiologie**
 → Les ROS constituent un **signal** impliqué dans la régulation du métabolisme énergétique, pour le développement et la croissance, l'adaptation,...
- **Délétères = Stress Oxydant : responsables de pathologies**
 → Les ROS sont alors **toxiques** : modification de glucides, lipides, protéines et de l'ADN/ARN

Les ROS seraient responsables du vieillissement et des effets délétères de l'hyperglycémie, de l'altération des fonctions cellulaires,...



Tout est une question de dose

ROS ≈ « Dr. Jekyll & Mr. Hyde »



Il existe un **équilibre** entre **ROS** et **Anti-Oxydant** :

- Tant que l'équilibre est préservé → **Homéostasie Rédox**
- Si l'équilibre est rompu → **Altération des fonctions cellulaires**

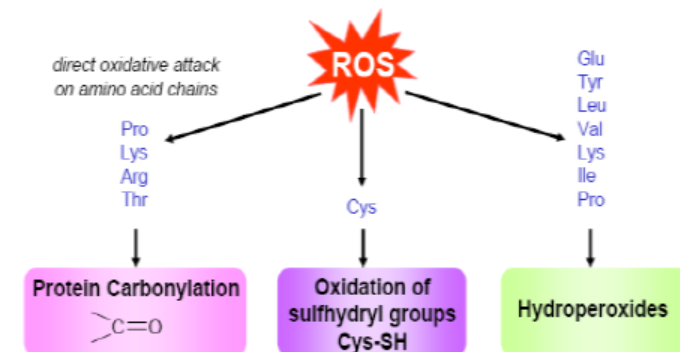
2) Effets des ROS sur les Molécules

Effet sur les Lipides : Peroxydation → Altération des Membranes

Effets sur les Acides Nucléiques : Oxydation de l'ADN → Mutation

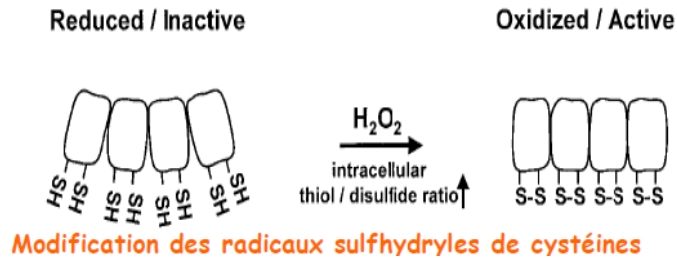
Effets sur les Protéines : Oxydations → Pertes de Fonctions

- ▶ Carbonylation de protéines
- ▶ Oxydation de groupement thiols → Formation de ponts disulfure
- ▶ Formation de groupement hydroperoxydes



Modification de structure et de fonction des protéines :

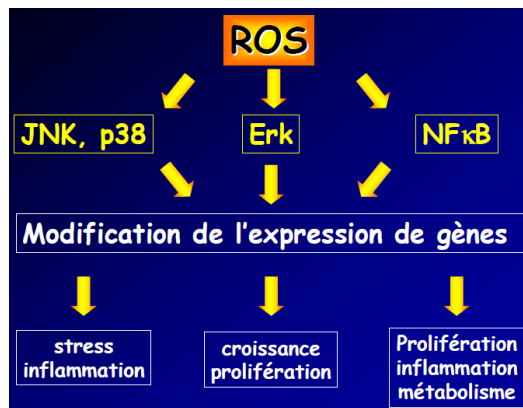
- ➔ Protéolyse de certaines protéines
- Modification de l'activité de facteurs de transcription (*carbonylation,...*)
- Phosphorylation des résidus tyrosine de récepteurs (facteurs de croissance, cytokines..) ou de MAPK



3) Rôles des ROS dans la Signalisation Cellulaire

Les ROS (*Ion Superoxyde et Peroxyde d'Hydrogène surtout*) sont capables de modifier l'activité de certains facteurs de transcription comme la kinase JNK, la protéine p38, Erk (voie des MAP Kinase) et NF-κB = Protéines du Stress

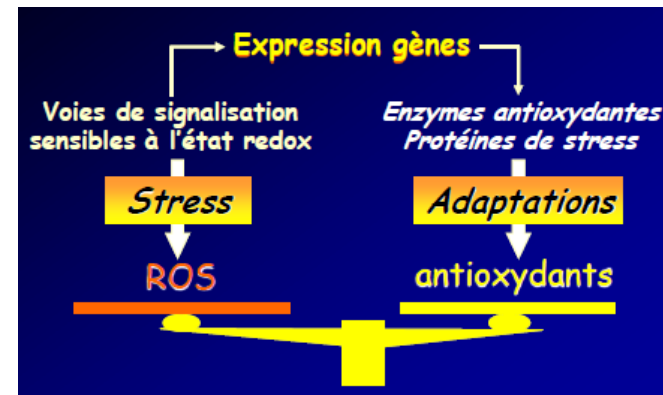
➔ Modification de l'expression de gènes ➔ Stress Oxydatif, Inflammation, Croissance, Prolifération, Modification du métabolisme,...



L'↑ du rapport NAD⁺/NADH ou du rapport GSSG/GSH* sont aussi des Signaux : **Signaux Rédox.**

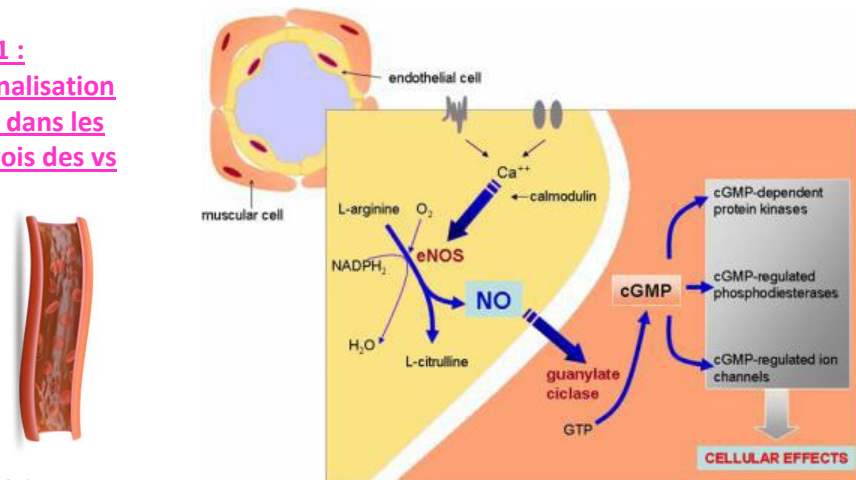
*GSH = Glutathion réduit / GSSG = Glutathion oxydé

Il existe notamment une signalisation « Rédox Sensible » :
 ➔ ROS ➔ Activation de voies sensibles à l'état Rédox ➔ ➔ expression des gènes des enzymes anti-oxydantes et de protéines du stress
 ➔ Adaptation 😊



4) Exemples de Voies de Signalisation sensibles aux ROS

Ex 1 :
 Signalisation NO dans les parois des vs



Dans les cellules endothéliales :

L'Arginine subit l'action d'un **NO Synthase endothéliale (eNOS)** et donne de la **Citrulline** + du **NO** (un radical libre). Le **NO** diffuse jusqu'au **muscles lisses** de la paroi.

NB : La eNOS est activée par le complexe Calcium/Calmoduline, secondairement à l'activation d'un Protéine G qui, elle-même, active une Phospholipase C libérant de l'IP3 et du DAG. L'IP3 se fixe sur des récepteurs du RE et déclenche une libération de Calcium dans le cytosol.

La eNOS réduit une molécule d'O₂ en H₂O en oxydant un NADPH en NADP⁺.

Dans les cellules musculaires lisses de la paroi : **NO** active une **Guanyl Cyclase** qui synthétise du **GMPC** à partir de **GTP**. Le **GMPC** régule l'activité de *kinases, de phosphodiesterase,...*

→ **Effets cellulaires :** Relaxation du muscle lisse,...

Ex 2 : O₂ « Sensoring » par HIF

HIF-1 (composée d'une sous unité **HIF-1α** et **HIF-1β**) est un **facteur de transcription** qui stimule l'expression du gène de **VEGF** et du **métabolisme glycolytique**

→ Il permet aux cellules de **résister à l'hypoxie** : ↗ **angiogénèse** et **glycolyse anaérobie**

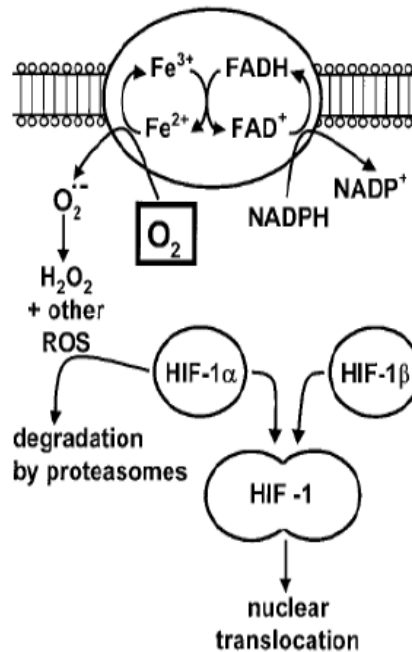
Quand la cellule a suffisamment d'O₂, la **production de ROS** est **normale** et les ROS modifient **HIF-1α** ce qui induit sa **dégradation dans les peroxysomes**

→ **HIF-1 est inactif**

Quand O₂ ↓ (hypoxie), la **production de ROS ↓** et **HIF-1α n'est pas dégradée**

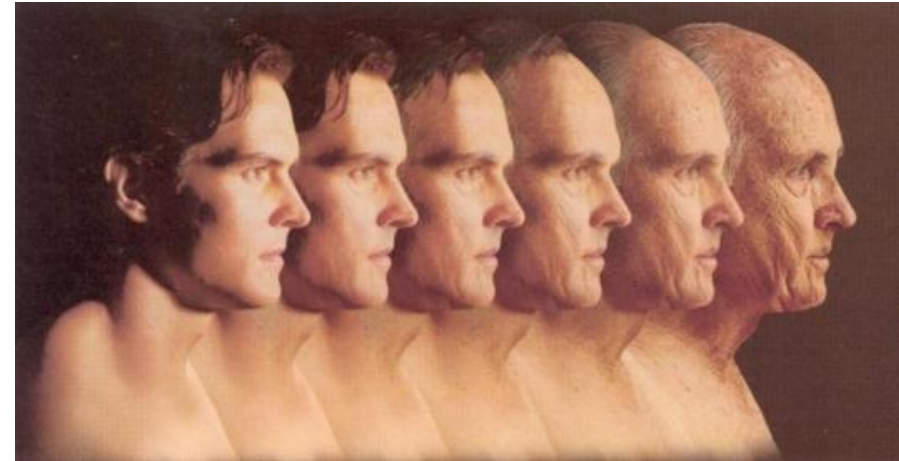
→ elle s'associe à **HIF-1β** → **HIF-1 est actif**

→ **Adaptation à l'hypoxie**

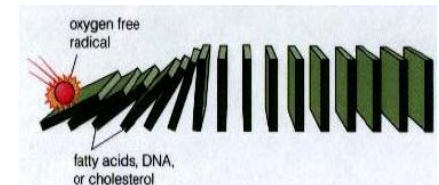


c) ROS et « Aging »

En 1956, **Harmann** publie "**Free Radical Theory of Aging**" et propose que les **ROS** en causant une accumulation de **dommages oxydatifs** limitent l'espérance de vie.



Les **ROS** attaquent des **protéines**, des **lipides** ou l'**ADN** → Formation de **radicaux libres** → **Réaction en chaîne** formant de plus en plus de **radicaux libres**
 → **Altération des cellules, des tissus, des organes,...**



1) Longévité et Découplage Mitochondrial

Le **découplage** ↘ la formation des **ROS** → ↘ des **dommages oxydatifs**
 → ↗ **longévité***

**Prouvé chez la Drosophile et C. Elegans*



2) Longévité et Restriction Alimentaire

Restriction calorique → ↓ formation des ROS → ↑ longévité*

*Prouvé chez les rongeurs



Mécanisme :

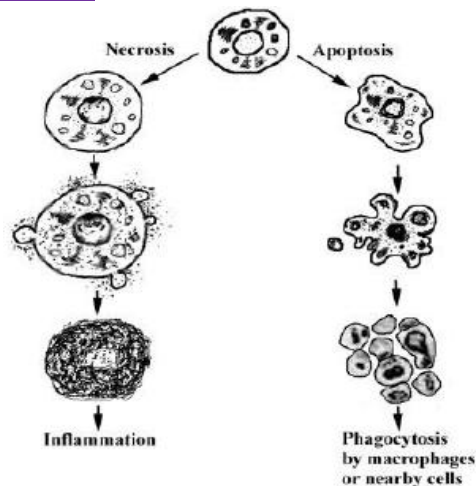
La restriction alimentaire active des enzymes appelées Sirtuines (surtout Sirt1). Ce sont des Désacétylases NAD-dépendantes. Une des conséquences de leur activation est la ↓ de la production de ROS et l'↑ de l'espérance de vie.



NB : Le Resvératrol (présent dans le vin rouge) active les Sirtuines et donc ↓ la production de ROS

VI/ Mitochondrie et Apoptose

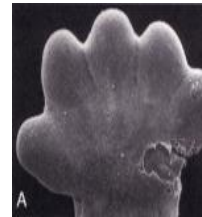
a) Généralités



Apoptose = Mort physiologique, contrôlée des cellules par fragmentation de l'ADN → Pas de Réponse Inflammatoire

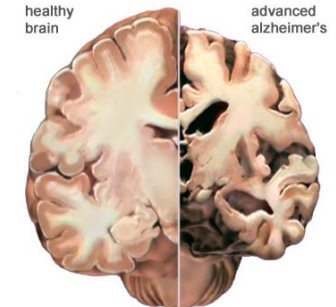
L'Apoptose est donc un phénomène physiologique → Responsable de la sculpture des formes embryonnaires et fœtales

Ex : Les mains du fœtus sont d'abord palmées, puis les cellules entre les phalanges entrent en apoptose → Formation des doigts



En cas de dérèglements de l'Apoptose → Pathologies

- Suractivée : c'est le cas dans beaucoup de maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson,...), d'ischémie et dans certaines situations de troubles immunitaires
- Inhibée : il y a alors accumulation de cellules anormales → Cancers



Il existe 2 voies aboutissant à l'apoptose : une voie intrinsèque et une voie extrinsèque

b) Voie Intrinsèque (≈pathologique)

Origine du Signal = **Mitochondries (intrinsèque)**

● **En cas de dysfonction mitochondriale** ($ROS \uparrow$, $[Ca^{2+}]$ mitochondriale \uparrow ,...):

- Ouverture du **Pore de Transition de Perméabilité = PTP** (voire plus loin)
- Perméabilisation des **membranes mitochondriales**
- Sortie de **Cytochrome C** (qui est normalement lié à des lipides membranaires de type **Cardiolipines**), de **AIF** et de **Pro-Caspases**,... dans le **cytosol**

● **1^{ère} Explication concernant la sortie du Cyt C, AIF, ...**

- **Gonflement** de la **mitochondrie** (à cause de la **pression osmotique** exercée par les protéines non diffusibles de la matrice → entrée d'eau)
- **Rupture mécanique** de la **MEM** → **Sortie des molécules vers le Cytosol**

● **2^{ème} Explication concernant la sortie du Cyt C, AIF, ...** Il existe :

- des **facteurs pro-apoptotiques** comme **Bax** (Cytosol surtout) et **Bak** (MEM)
- des **facteurs anti-apoptotiques** comme **Bcl-2** (MEM) et **Bcl-XL** (MEM)

En condition normale, les **facteurs anti-apoptotiques** s'hétérodimérisent avec les **facteurs pro-apoptotiques** → **Complexes inactifs** ($Bax-Bcl-2 \rightarrow Bcl-2$ bloque Bax)

En condition d'apoptose, l'**ouverture du PTP** entraîne une **redistribution** des **facteurs pro-apoptotiques**. $Bcl-2$ et $Bcl-XL$ sont **inhibés** → Bax et Bak peuvent alors former des **homodimères** Bax/Bax (qui se fixe à la MEM) ou Bak/Bak
 → Les **homodimères** Bax/Bax et Bak/Bak forment des **canaux associés au PTP**
 → **Sortie des molécules vers le Cytosol**

NB : Il est probable que les 2 phénomènes coexistent suite à l'ouverture du PTP.

● **Suite de la voie :**

- **Liaison** du **Cytochrome C** avec la protéine **Apaf-1**
- **Liaison** de **Pro-Caspases 9 inactive** à **Apaf-1/Cyt C** en présence de **dATP** = **Formation de l'Apoptosome**
- **Libération** de **Caspases 9 actives**
- **Clivage** par la **Caspase 9** de la **Pro-Caspase 3 inactive**
- **Caspase 3 active**
- **Cascade des Caspases** → **Activation de DNases** → **Apoptose**

NB : La **protéine AIF** (*Apoptosis Inducing Factor*) est impliquée dans la mort du noyau, par une voie indépendante des Caspases.

c) Voie Extrinsèque (≈physiologique)

Origine du Signal = **Récepteur de Mort (extrinsèque)**

Les cellules possèdent sur leur membrane plasmique des **récepteurs de mort** comme **Fas**.

Lorsqu'un **ligand** comme **FasL (= CD95L)** ou **TRAIL** se lie aux **récepteurs de mort** comme **Fas**, une protéine adaptatrice **FADD** se fixe au récepteurs.

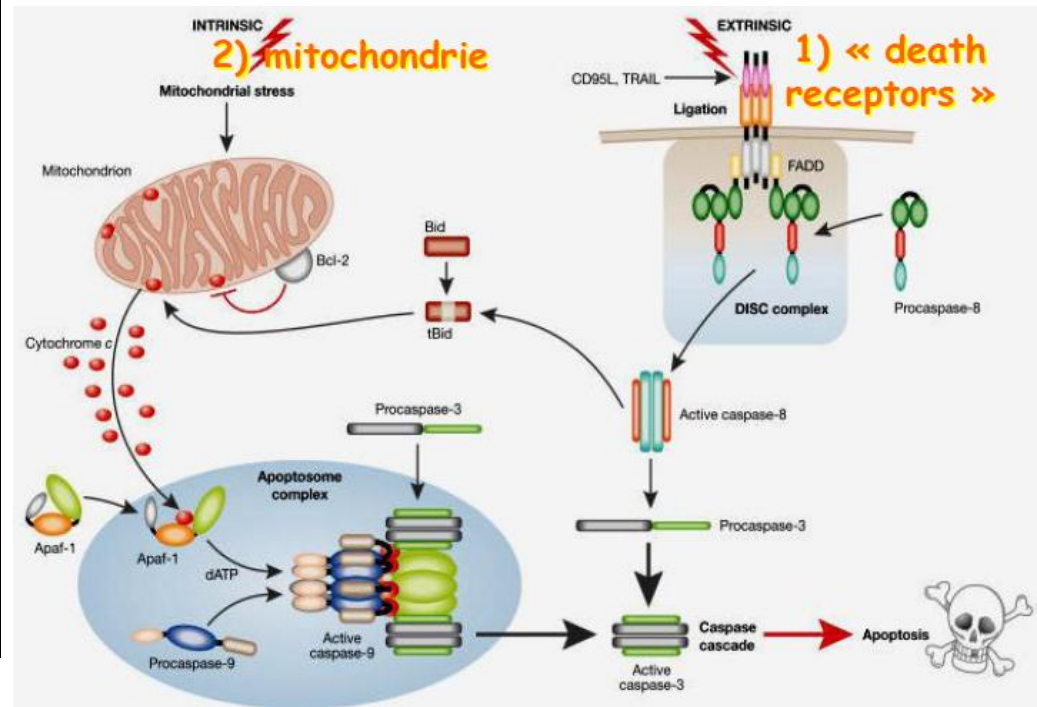
→ La **Pro-Caspase 8 inactive** se fixe alors sur **FADD** et est clivée en **Caspase 8 active**.

→ Le **Récepteur**, **FADD** et la **Caspase 8** forme un complexe appelé **DISC**.

→ La **Caspase 8** clive la **Pro-Caspase 3 inactive** → **Caspase 3 active**

→ **Cascade des Caspases** → **Activation de DNases** → **Apoptose**

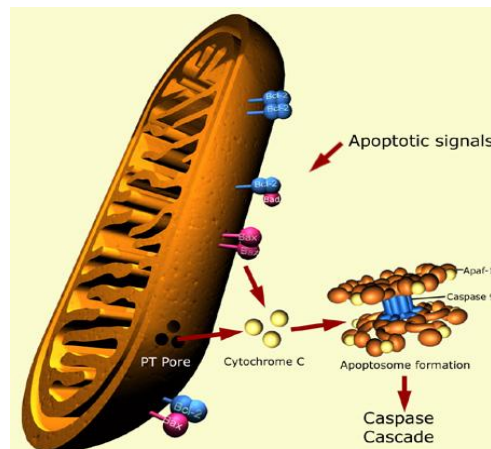
Lien entre ces deux voies : dans certaines cellules, la **Caspase 8** (de la voie **extrinsèque**) est capable de **cliver** la protéine **Bid**, libérant ainsi **tBid (truncated Bid)** → **tBid** est capable d'induire le **relargage** du **Cytochrome C** dans le **cytosol** par **oligomérisation** de **Bax** → **Formation de l'Apoptosome** (voie **intrinsèque**).



d) La Transition de Perméabilité

1) Définition

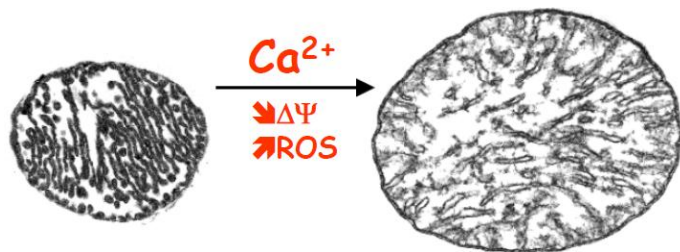
L'initiation de l'Apoptose par **voie endogène**, est due à une **perméabilisation des membranes mitochondriales** qui permet la sortie **dans le cytosol** des **molécules < 1500 Da** (Cytochrome C, AIF, Calcium, Caspases).
 → Les compositions de la **matrice mitochondriale** et du **Cytosol** s'équilibrent.
 Ce phénomène s'appelle **Transition de Perméabilité**.



La **Transition de Perméabilité** est possible car il y a **ouverture du Pore de Transition de Perméabilité (PTP)** situé **dans la MIM**.

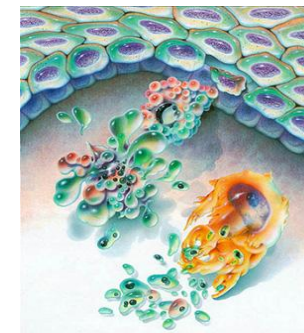
Causes de l'ouverture du PTP :

- ↗ des **concentrations de Calcium** dans la mitochondrie
- ↘ du **potentiel de membrane Δψ** (de part et d'autre de la MIM) → La CRM s'accélère trop → ↗ **Production de ROS**
- *Autres : ↘ pH, ...*



Conséquences de l'ouverture du PTP :

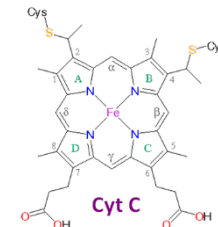
1. Phénomène de « **Swelling** » : la mitochondrie gonfle
2. **Découplage de la Phosphorylation Oxydative** ↗ (perméabilisation de la MIM)
3. ↘ du **potentiel de membrane (Δψ)** et donc ↘ de la **synthèse d'ATP + hydrolyse de l'ATP par l'ATP-Synthase** (qui possède une activité ATP-ase en cas de disparition du potentiel de membrane Δψ)
4. **Sortie des molécules < 1500 Da dans le cytosol** (Cyt C, AIF, Calcium, Caspases, ...)
5. **Formation de l'Apoptosome**
6. **Apoptose**



*NB : Il peut y avoir des **ouvertures transitoires** du PTP afin d'éviter notamment l'**accumulation de Calcium** dans la mitochondrie et donc l'**Apoptose**.*

2) Structure du PTP

C'est un **complexe multi-protéique** formant un **pore géant dans MIM** (s'étendant jusqu'à la MEM).
 En 2012, sa composition est encore débattue...



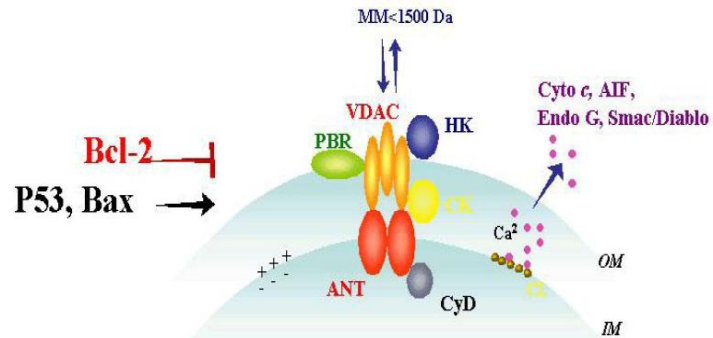
Le **PTP** est constitué **d'au moins 3 constituants** :

- le **VDAC** (**Canal Anionique Dépendant du Voltage**) **au niveau de la MEM** (c'est un canal)
- l'**ANT** (**Adenine Nucleotide Translocase**) **au niveau de la MIM** (c'est un canal)
- la **Cyclophiline D** au niveau de la matrice (inhibe de l'ouverture du PTP)

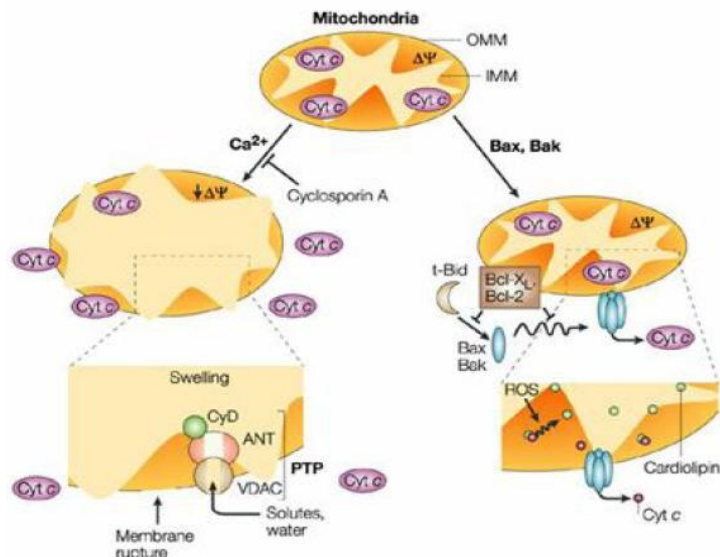
Autres ? :
Complexe I de la CRM (l'état de la CRM module le PTP), **Hexokinase** (effet anti-apoptotique), **Créatine Kinase** (modulation de l'ouverture du PTP), **PBR = Récepteur Périphérique des benzodiazépines** (rôle des benzodiazépines dans la régulation du PTP), **Bax, Bak, Bcl-2, Bcl-XL** (indispensable à l'exportation du Cyt C, etc...), ... ???

Activateur de l'Ouverture du PTP : p53, Bax, Bak,...

Inhibiteur de l'Ouverture du PTP : Bcl-2, Bcl-XL



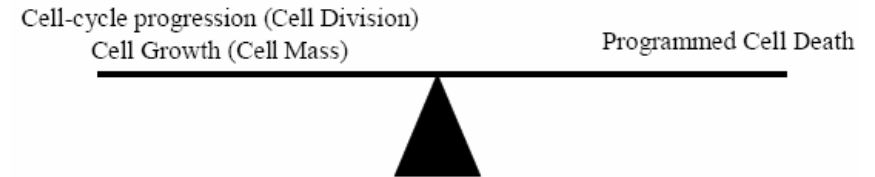
- Le **PTP** permet notamment la sortie dans le Cytosol :
- du **Cytochrome C** (activation des Caspases via l'Apoptosome)
 - de l'**AIF** (inducteur de l'Apoptose indépendant des Caspases)
 - des **Pro-Caspases 2, 3 et 9**
 - de l'**Endonucléase G** (une DNase)
 - de **Smac/Diablo** (un répresseur d'inhibiteur de Caspases → Apoptose ↗)



e) Apoptose et Cancer

Equilibre entre **croissance/prolifération cellulaire** et **apoptose**

→ Quand une cellule est défaillante, elle subit l'apoptose

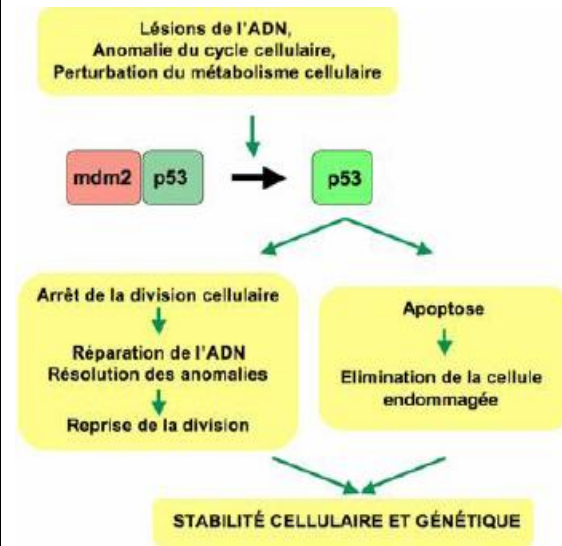


En cas de défaut d'Apoptose → **Cancer** :

- ↘ **Facteurs Pro-Apoptotique** comme Bax ou p53
- ↗ **Facteurs Anti-Apoptotique** comme Bcl-2
- **Altérations Métaboliques** : Les cellules cancéreuses passent sur métabolisme exclusivement glycolytique (anaérobie +++), c'est l'Effet Warburg

La **protéine p53** (« La Gardienne du Génome ») est un **facteur de transcription suppresseur de tumeur**. Elle provoque l'arrêt de la division et l'Apoptose.

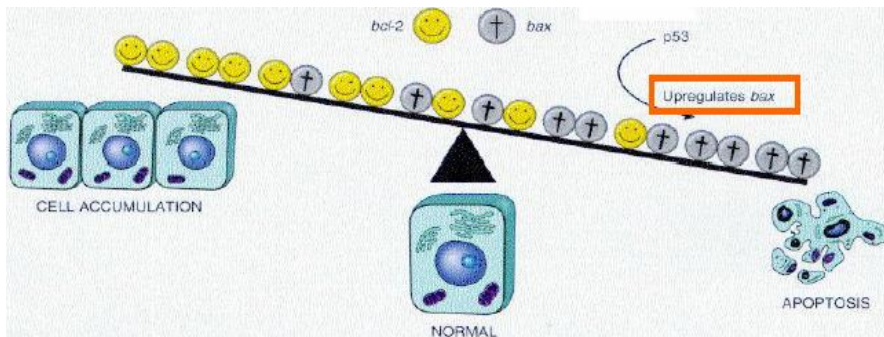
→ Elle est mutée dans **50% des cancers** !



En l'absence de problème, **p53** est séquestré par une protéine **Mdm2**. Le **complexe Mdm2-p53** est inactif.

En cas d'anomalie du cycle cellulaire, de l'ADN etc..., **p53** est libérée puis phosphorylée → Elle est **active** → **Inhibition de la prolifération cellulaire + activation de l'apoptose**

→ p53 va stimuler l'expression de Bax.

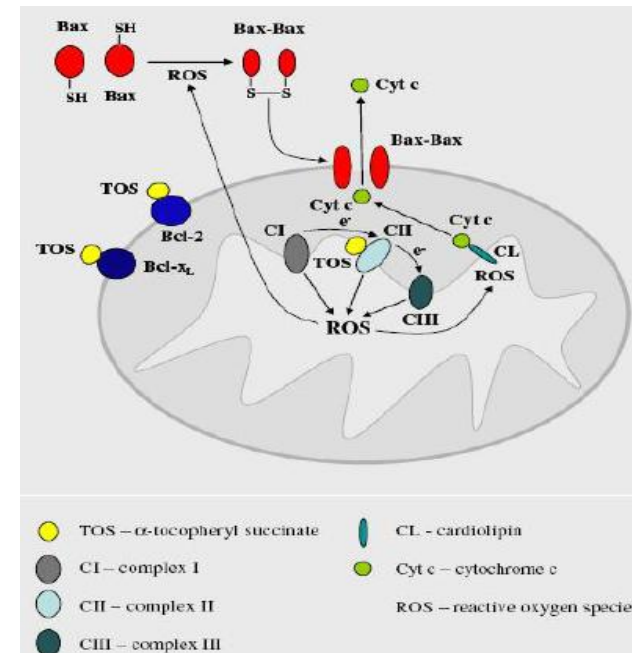


La **Mitochondrie** est devenue une cible thérapeutique pour de nombreux **traitements anti-cancéreux = Mitocans**

Molécules en développement :

- **Chimiothérapies qui induisent l'ouverture du PTP → Apoptose** (ex : Taxol)
- **Molécules stimulant le découplage mitochondrial** : Peptides qui se fixent à des récepteurs à la surface des cellules cancéreuses → transport vers la mitochondrie → **Découplage ↗** → **Ouverture du PTP** → **Apoptose**
- **Oligo antisens ciblant Bcl-2** : ↘ **expression Bcl-2** (non toxique pour les cellules saines).
- **Production de ROS dans les cellules cancéreuses spécifiquement** : Les cellules cancéreuses sont particulièrement déficientes en MnSOD (SuperOxyde Dismutase) → **Elles résistent moins au stress oxydant**

Ex : Le **Tocophérylsuccinate (TOS)** diminue l'activité du CII de la CRM → Le **CI** de la CRM est davantage sollicité, son état de réduction ↗
 → **Production de ROS ↗** car les ROS sont surtout produits par le CI (centre Fe-S N2) → Translocation de **Bax** vers la Mitochondrie et Dimérisation
 → **Ouverture du PTP** → **Apoptose**
 TOS est aussi capable de séquestrer Bcl-2 (anti-apoptotique)

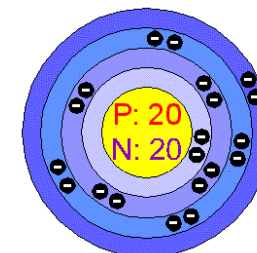


VII/ Mitochondrie et Homéostasie Calcique

a) Généralités

Le **Réticulum Endoplasmique** et les **Mitochondries** sont des réserves importantes en **Calcium**.

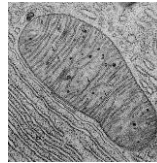
[Calcium] cytosolique = 100nmol
[Calcium] mitochondriale = 0,5 - 2µmol (la mitochondrie pompe le calcium !)



Le **Calcium** est impliqué dans la régulation de nombreuses fonctions vitales :

1) Régulation de l'activité mitochondriale

- Activation des **Déshydrogénases du Cycle de Krebs** (*Iso-Citrate DH, α -Céto-Glutarate DH, PDH,...*)
- L' \uparrow du **Calcium** dans la mitochondrie peut activer l'**ouverture du PTP**
→ **Apoptose**



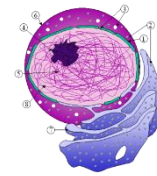
2) Le Calcium cytosolique est impliqué dans la signalisation cellulaire

→ La mitochondrie peut relarguer du Calcium dans le cytosol

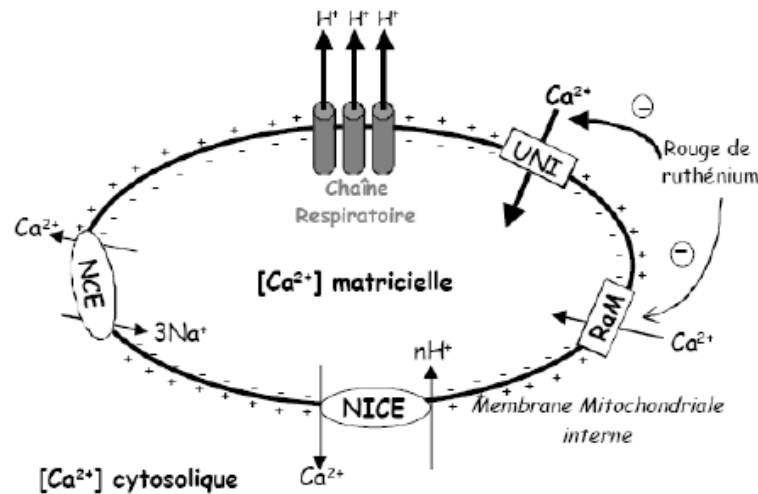
3) Communication avec d'autres organites → surtout le RE (Echanges de Calcium) = Connexion physique entre Mitochondrie et RE par des canaux calciques (Mito : RaM, NCE, ... / RE : IP3R, RyaR, ...)

+ Echanges de Calcium à distance RE \leftrightarrow Cytosol \leftrightarrow Mitochondrie

→ Signalisation, Communication, modification métaboliques,...



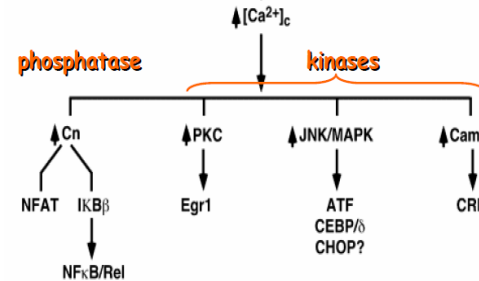
b) De nombreux transporteurs calciques sur la MIM



Les systèmes de transport mitochondriaux pour le calcium
Les voies d'entrées du calcium sont représentées par des rectangles. UNI : uniport à calcium, RaM : transport rapide (rapid uptake mode). Ces voies sont inhibées par le rouge de ruthénium. Les voies de sorties du calcium sont représentées par des ellipses. NICE : Na⁺ Indépendant Calcium Efflux, NCE : Na⁺ dépendant Calcium Efflux.

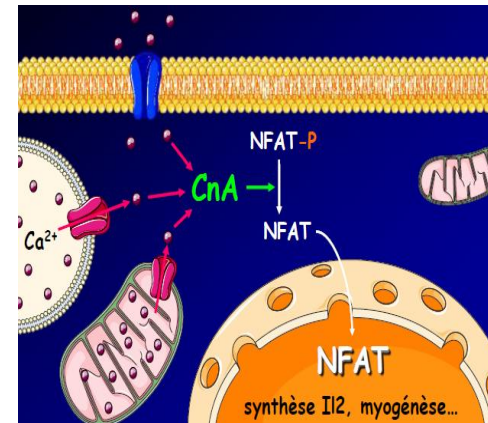
c) Signalisation Calcique

Beaucoup d'enzymes cytosoliques sont sensibles au **Calcium**.
Si la mitochondrie relargue du **Calcium** dans le cytosol → **Modification de la signalisation intra-cellulaire**.



Parmi les enzymes sensibles au Calcium, les mieux connus sont :

- **Une phosphatase** : **La Calcineurine** → Activation de **Facteurs de Transcription** comme **nFAT** ou la **voie NF- κ B** (via I κ B)
- **Des Kinases** : **PKC, JNK/MAP Kinase, CaM Kinase IV,...**
→ **Modification de l'expression de certains gènes**



Exemple de la Calcineurine : **Toute** \uparrow de **[Calcium]cytosolique** quelle que soit son origine (Mitochondrie, RE, milieu extracellulaire) ou sa cause (\uparrow ROS mitochondriales, hypoxie, besoin énergétique,...)
→ **Activation de la Calcineurine**
→ **Déphosphorylation de nFAT**
→ **Activation de nFAT** → **nFAT** provoque la transcription du gène de l'**Interleukine 2** (et de gènes de la myogénèse...)

La **Cyclosporine A** (anti-rejet) inhibe la **Calcineurine** et inhibe la **synthèse d'IL2**
→ \downarrow **Réponse Inflammatoire** → 😊

Exemple de la déplétion en ATP : \downarrow **efflux de Calcium de la mitochondrie vers le cytosol** (car il est nécessaire pour les enzymes du Cycle de Krebs)
→ \uparrow **Calcium cytosolique** → Activation de la **Calcineurine** et de **CaMK**
→ **Modification de l'expression de gènes** → **Réponse/Adaptation**