

RESPIRATION MITOCHONDRIALE

1. Principes de biochimie générale.

A. Bioénergétique et dynamique.

a) Intro:

Les mitochondries passent leur temps à fabriquer de l'énergie.

b) Rappels:

La bioénergétique est l'étude quantitative des transferts d'énergie chez les êtres vivants.

1^e principe: Conservation de l'énergie → Enthalpie:

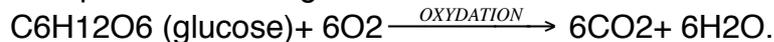
$\Delta H = \Delta E + P \Delta V$ donc dans un système à pression constante.

$\Delta H < 0$: la réaction est exothermique.

$\Delta H > 0$: la réaction est endothermique.

2^e principe: L'idée d'entropie, l'univers tend de plus en plus vers le désordre →

Dissipation de l'énergie dans l'environnement:



Rq: L'augmentation du nombre de molécules, suite à une réaction inclut une augmentation du désordre et donc de l'entropie. C'est pourquoi dans les réactions de synthèse, l'entropie diminue.

Les cellules ou organismes vivants en général, s'organisent en prélevant de l'énergie de l'extérieur = Energie libre. Au cours de leur vie, elles prélèvent une quantité de chaleur sous forme d'entropie et d'enthalpie.

Quand l'entropie est maximum, c'est que le système est mort, il est alors enfin en équilibre avec son environnement.

c) Energie libre ou de Gibbs:

Quantité d'énergie capable de fournir du travail dans un système à pression et volume constants.

Relie les deux principes:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S.$$

Quand l'entropie augmente ($\Delta S > 0$), on dit que l'énergie sera dissipée = énergie perdue.

$\Delta H < 0$ signifie que la réaction est exothermique.

$\Delta G < 0$ c'est à dire $\Delta H < 0$ et $\Delta S > 0$ est une réaction exergonique.

$\Delta G > 0$ est une réaction endergonique.

La réaction est spontanée quand $\Delta G < 0$.

L'énergie libre qui ne considère que l'état initial et final de la réaction, ne doit pas être confondu avec l'énergie d'activation, énergie qu'il faut fournir pour franchir le seuil d'activation.

Schéma 1

d) Variation d'énergie libre standard et constante d'équilibre.



A l'équilibre, les concentrations de produits sur substrats donnent une constante:

$$\frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} = K_{\text{éq.}}$$

ΔG est la force motrice qui permet d'amener la réaction à l'équilibre. ΔG devient ΔG° dans les conditions de standards c'est à dire à 298°K (= 25°C), une M pour chaque constituant et une atm.

ΔG° quand le pH vaut 7.

$\Delta G^\circ = -RT \ln K'_{\text{éq}}$.

Avec R la constante des gaz parfaits et T la température en degrés Kelvin.

$\Delta G = 0$ si $K'_{\text{éq}} = 1$.

$\Delta G < 0$ si il y a plus de produits que de substrats.

$\Delta G > 0$ si $K'_{\text{éq}} < 1$.

ΔG° est la différence d'énergie libre entre produits et réactifs.

Exemple:



Avec 20 mM G1P ou 20 mM G6P, nous avons 1 mM G1P et 19 mM G6P.

$$K'_{\text{éq}} = \frac{[G6P]}{[G1P]} = 19.$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K'_{\text{éq}} = -8,3 \text{ (J/ mol)} * 298 \text{ (K)} * \log 19 = -7,3 \text{ KJ/ mol}.$$

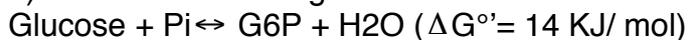
La variation d'énergie libre standard est < 0 donc la réaction va de gauche à droite c'est à dire de G1P à G6P.

La variation d'énergie libre standard est une valeur théorique (si le rendement vaut 100%). Beaucoup de réactions ont $\Delta G^\circ < 0$ mais elle ne s'effectue pas pour autant spontanément du fait de l'énergie d'activation spontanée.

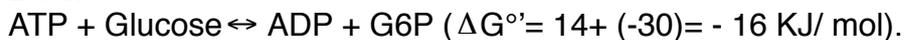
ΔG° tient compte de l'état initial et final, pas des intermédiaires.

ΔG° donne des infos sur l'équilibre mais pas sur la vitesse. En revanche, les enzymes donnent des infos sur la vitesse mais pas l'équilibre.

e) Additivité des énergies libres standards.



D'où:



Comme $\Delta G^\circ < 0$, la réaction est exergonique. En effet, l'ATP fournit de l'énergie.

Les deux réactions se combinent, l'une apportant l'énergie à l'autre c'est à dire l'exergonique \rightarrow endergonique.

f) ATP et liaisons riches en énergie.

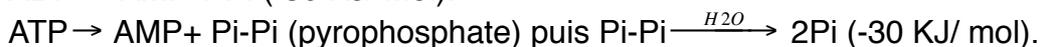
Schéma 2

Rq: Le Pi est en stabilisation par résonance puisque la double liaison peut être attribuée à n'importe laquelle des autres liaisons.

L'ADP s'ionise et ne peut, par conséquent, que difficilement revenir en arrière. De plus, Pi est stable. \rightarrow Forte libération d'énergie.

Définition d'une liaison riche en énergie: Liaison chimique dont l'hydrolyse au cours d'une réaction chimique s'accompagne d'une libération intense d'énergie interne donc ΔG doit être $< -25 \text{ KJ/ mol}$.

Ici, les liaisons représentées par un tildé entre les Pi équivalent à -30 KJ/ mol .



Une énergie riche en énergie diffère d'une énergie de liaison car l'énergie de liaison est l'énergie rattachée à la rupture d'une liaison alors qu'une énergie riche en énergie correspond à l'hydrolyse de la réaction.

g) Autres molécules de liaisons riches en énergie.

Il y a quatre groupes:

1/ Le phospho-énoyl-pyruvate (-62 KJ/ mol):

Schéma 3

2/ 1,3 bis phospho glycérate (-50 KJ/ mol):

Schéma 4

3/ Créatine phosphate fixée sur guanidine donne une forme de résonance entre N et C (-43 KJ/ mol).

4/ Thio-esters (-31 KJ/ mol):

Schéma 5

h) La place de l'ATP dans les processus de transferts d'énergie.

-25 KJ/ mol < Liaisons riches en énergie < 0.

L'ATP est l'intermédiaire entre les liaisons très riches en énergie et pauvres en énergie. L'ATP est en quelque sorte la "monnaie d'échange".

L'ATP a un rôle très important dans l'organisme puisqu'elle est constamment nécessaire, les stocks ne dépassant pas 2s pour le cerveau et allant jusqu'à 2min pour d'autres cellules. L'ATP doit être hydrolysée et régénérée à chaque instant et ce, au rythme de 3 mol/ h soit 1,5 Kg chaque heure.

L'ATP est nécessaire pour l'énergie mécanique, osmotique, chimique, calorifique, électrique et lumineuse. De plus, l'ATP est un donneur de P et certaines enzymes en ont besoin dans leur phosphorylation ou déphosphorylation. L'ATP sert aussi dans l'activation des acides gras et des acides aminés pour la synthèse protéique. C'est aussi un donneur d'adénosine (Cf le système adénosyl méthionine).

B. Réactions biologiques d'oxydoréductions.

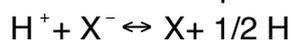
a) Rôle des transferts d'électrons dans le métabolisme.

Le circuit biologique fonctionne en quelque sorte comme une batterie puisque cette dernière se compose de deux sortes d'espèces chimiques et lorsque l'on branche les deux pôles, l'on constate le passage d'électrons d'un pôle à l'autre. En effet, le circuit biologique, par analogie, est constitué de transporteurs d'électrons d'une espèce chimique nommée donneur d'électrons à une autre appelée accepteur d'électrons. Ce flux est responsable de tout le travail fourni par les êtres vivants. Partant d'un substrat donné, il se produit une force proton motrice, force induite par le mouvement des protons.

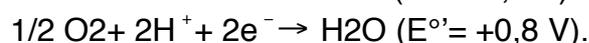
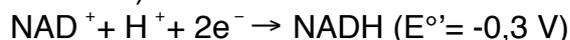
b) Les potentiels de réduction.

Par référence à une électrode standard ($H^+ + e^- \rightarrow 1/2 H_2$). On place toujours à gauche l'accepteur d'électrons, c'est donc une réduction.

On définit chaque réaction par un potentiel de réduction:



$X + e^- \rightarrow X^-$ (E est le potentiel de réduction et E° , le potentiel de réduction standard).



D'où:



Rq: +0,3 V car la réaction se déroule en sens contraire.

$E^{\circ} < 0 \rightarrow$ donne facilement ses électrons donc la réaction se déroule de droite à gauche.

$E^{\circ} > 0 \rightarrow$ accepte les électrons donc la réaction se déroule de gauche à droite.

c) Relation entre E et ΔG° .

Relation effectuée par:

$$\Delta G^{\circ} = -nF \Delta E^{\circ} = -220 \text{ KJ/ mol}$$

Avec n le nombre d'électrons transférés et F la constante de Faraday.

$\Delta E > 0$ induit que $\Delta G < 0$ et par conséquent que la réaction est exergonique.

Lorsqu'un couple est plus réducteur (E bas), il va donner ses électrons à un couple plus oxydant (E haut).

C. Cofacteurs et transport d'électrons.

a) NADH et NADPH.

a/ Structure:

Nicotinamide d'adénine dinucléotide:

Schéma 6

La nicotinamide ou vitamine BB est indispensable à l'homme.

Rq: Une vitamine est un coenzyme indispensable.

Le NADP est identique mais avec un phosphate supplémentaire.

$$[NAD] \text{ 10 fois } > [NADP].$$

Il y a beaucoup plus de NADPH que de NAD^+ et c'est l'inverse pour NAD.

$NAD^+ / NADH =$ élevé, et $NAD^+ / NADPH =$ faible.

NAD \rightarrow catabolisme.

NAD^+ prédomine sous forme réduite \rightarrow synthèse des macromolécules.

Les réactions se font dans des compartiments cellulaires différents.

NAD et NADP ne traversent pas la membrane des organites \rightarrow pas d'échanges dans les différents compartiments \rightarrow système de transport des électrons via la membrane.

Les coenzymes NAD et NADP (oxydoréductases) sont répertoriés dans des réactions avec pas moins de 200 enzymes.

NADP diffère du NAD par sa P_i supplémentaire au niveau du ribose.

NAD est un coenzyme libre c'est à dire qu'il vient au contact du site actif juste quand nécessaire et selon une cinétique *bi* ordonnée. Ainsi, l'enzyme n'aura d'affinité avec le substrat que lorsqu'elle sera déjà liée.

Schéma 7

Cette différence d'absorbance est la base de nombreux dosages car elle permet de suivre facilement la réaction.

b) Coenzymes flaviniques.

FMN: Flavine mono nucléotide

FAD: Flavine adénine dinucléotide

Ils sont de structures proches:

Schéma 8

Rq: Le ribitol est un ribose à structure ouverte et, sans entrer dans les détails, pourvu d'une légère modification.

La partie active est le noyau flavine:

Schéma 9

Ces coenzymes flaviniques qui sont fortement liés aux enzymes constituent les groupements prosthétiques.

d/ Un autre coenzyme: Ubiquinone (50) (Coenzyme Q10), dont le noyau quinone est le radical actif:

Schéma 10

Rq: On l'appelle coenzyme Q10 car n= 10 ce qui fait un total de 50 carbones d'où le nom d'ubiquinone 50.

Non soluble dans l'eau mais se diffuse dans les membranes.

Cf RMit 2.

e/ Cytochrome c (coloré en rouge brun).

C'est une protéine qui contient un groupement prosthétique, un groupement héminique donc dérivé de l'hème (groupement prosthétique de l'hémoglobine).

Cf RMit 12.

4 Noyaux pyrroles.

Les organes comme le coeur ou le foie, ceux qui contiennent beaucoup de mitochondries donc beaucoup de cytochrome c présentent une teinte rouge brun.

f/ Protéine fer- soufre.

Schéma 11 ou RMit 13.

Il y a plusieurs moyens pour transférer les électrons: transfert hydrure (1 proton, 2 électrons), transfert direct (prise en charge de l'électron par le fer comme dans cytochrome):



2. La chaîne respiratoire mitochondriale.

A. Description.

a) Localisation: La chaîne respiratoire mitochondriale se déroule dans la mitochondrie.

Cf RMit 1.

Une mitochondrie est un système de deux membranes séparées d'un espace membranaire et englobant la matrice. C'est un organite présent chez tous les eucaryotes. On suppose d'ailleurs l'origine des mitochondries par la colonisation de la part d'une bactérie d'une cellule eucaryote conférant à celle ci un caractère aérobie.

La voie métabolique de la mitochondrie (= oxydation phosphorylante) → oxydation de ces coenzymes par l'oxygène. Couplé à une phosphorylation → ATP à partir d'ADP.

Réaction de catabolisme (comme le catabolisme des nutriments= oxydation) ou d'anabolisme (= réduction).

Schéma 12

Complexes enzymatique réalisent cette phosphorylation.

c) NADH, CoE Q réductase.

Dans la membrane interne mais dépasse largement sur les deux faces (matricielle et intermembranaire). Elle contient FMN et 6P Fe- S.

Cf RMit 3.

d) Complexe 2: Succinate déshydrogénase (= CoE Q réductase).

C'est une enzyme du cycle de Krebs et c'est pourquoi elle nommée déshydrogénase. Son deuxième nom vient du fait qu'il transfère les protons et électrons à l'Ubiquinone.

Cf RMit 6.

Le succinate est déshydrogéné en fumarate:

Schéma 13

A l'inverse du premier complexe, celui-ci ne traverse pas la membrane, il ne débordé que sur la face matricielle.

Il existe d'autres flavo protéines telles que la glycéro- phospho- déshydrogénase et l'acétyl CoA.

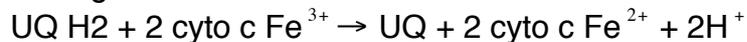
e) Complexe 3: CoE Q cytochrome c réductase.

Enzyme de même forme que le premier complexe. Elle transfère les CoE Q réduits.

Cf RMit 4.

Il contient des cytochromes b, c1,...

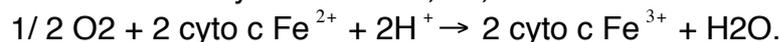
Bilan global:



f) Cytochrome c oxydase:

Enzyme qui traverse la membrane comme les complexes 1 et 3.

Il contient des cytochromes a, a3,...



$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\circ-}$ (anion superoxyde, c'est un radical libre oxygéné) $\xrightarrow{+e^-} O_2^{2-}$ (peroxyde).

Ceci est très ennuyeux pour la cellule du fait de la réactivité $O_2^{\circ-}$ ou d' O_2^{2-} avec n'importe quelle protéine environnante dans le but de la dégrader.

Cf RMit 5.

Cf RMit 11.

Rq: UQ sert d'intermédiaire. Il en est de même pour la cytochrome c.

⇒ Réduire de l'oxygène.

Chacun des complexes transmembranaires 1, 2, 3 ou 4 servent de transporteurs de protons entre matrice et espace intermembranaire. A chaque réduction, 3 protons passent.

L'espace intermembranaire se trouve alors chargé en protons. Et puisque la membrane interne est imperméable à toutes les molécules polaires exceptées celles avec complexes spécifiques, les protons vont s'accumuler dans l'espace intermembranaire.

Ceci crée une différence de potentiel entre l'espace intermembranaire et la matrice. Donc il se crée un gradient électrique, de protons et de pH, et c'est ce gradient qui va faire fonctionner le 4e enzyme.

Le 4e enzyme sert de voie de retour aux protons via un petit canal. Le passage de ces protons va engendré une création d'énergie qui servira à la phosphorylation d'ADP en ATP.

g) ATPase mitochondriale.

Constituée de deux parties: une partie transmembranaire F0 et une tête, sphérique F1.

Schéma 14

Il récupère l'énergie afin de coupler le passage de protons à une phosphorylation.

h) ATP/ ADPtranslocase.

La membrane externe permet le passage des molécules de poids < à 5000.

Cet enzyme permet l'échange entre une molécule d'ATP et une d'ADP:

Schéma 15

Les flux d'ATP et d'ADP sont couplés. Il n'y a entrée d'ADP que si de l'ATP sort.

B. Bilans et schémas généraux de la chaîne respiratoire mitochondriale (=CRM).

a)

Cf Schéma 11.

Oxydation du NAD réduit pour permettre le transfert des protons.

Cf Schéma 9.

Quelque soit le complexe, ça va toujours se transférer à une protéine fer, soufre.

Donc ce qui est transféré n'est autre que des électrons. Les protons quant à eux sont soit utilisés pour la pompe à protons soit remis dans la matrice. UQ intermédiaire entre les complexes 1, 2 et 3.

Le gradient de protons engendre une différence de potentiel électrique. Et ce plus le gradient de pH entraîne l'activité du complexe F0/ F1 et de l'ATP synthase; Selon le modèle Mitchell en 1961, qui d'ailleurs lui valut un prix nobel en 1978.

b) Régulation par l'ADP.

$[ATP] \gg [ADP]$ dans la cellule ou le cytoplasme.

Quand la cellule doit fournir un grand effort, il s'en suit une baisse de près de 50% mais pas plus de $[ATP]$. Mais, étant donné les proportions énormes d'ATP dans la

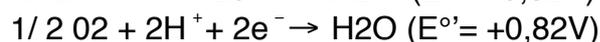
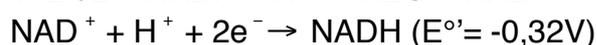
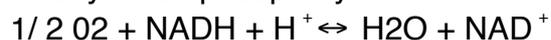
cellule, la diminution passe inaperçue. En revanche, l'augmentation $[ADP]$ qui se trouve être multipliée par 10 ou 100, se détecte très facilement. L'augmentation

d'ADP au sein de la mitochondrie filtre dans le cytoplasme où $[ADP]$ y est plus faible. Dès l'entrée d'ADP, l'ATPase se met au travail pour phosphoryler l'ADP en ATP. La baisse du gradient de protons qui s'en suit dans l'espace intermembranaire stimule le pompage de protons qui va lui même stimuler l'oxydation du NAD réduit et

par conséquent, $[NAD_{réduit}]$ diminue. Il y a alors stimulation de la glycolyse et du cycle de Krebs. C'est le mécanisme de contrôle respiratoire, appelée ainsi car lorsque la CRM fonctionne, il y a consommation d'O₂ pour former du H₂O, voilà aussi pourquoi l'on dit parfois que la mitochondrie respire.

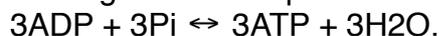
c) Bilan des différentes voies.

a/ Oxydation phosphorylante du NAD réduit.



$$\Delta E^{\circ'} = E_{oxydation} - E_{réduction} = 0,82 - (-0,32) = 1,14V \text{ soit } -218 \text{ KJ/ mol.}$$

L'oxydation du NAD réduit c'est à dire NADH, produit une quantité importante d'énergie dont une partie est utilisée pour phosphoryler l'ADP en ATP.



Pour fabriquer l'ATP, il faut 31 KJ/ mol donc puisque 3ATP sont formées nous avons:

$$\Delta G^{\circ'} = -218 - (-3 \cdot 31) = -125 \text{ KJ/ mol.}$$

Ce qui reste de l'énergie de l'oxydation phosphorylante est dissipée en chaleur.

b/ Oxydation phosphorylante du succinate.

Cette fois ci, $\Delta E^{\circ} = -151$ KJ/ mol et seulement deux molécules d'ATP sont formées:

$\Delta G^{\circ} = -151 - (-2 \cdot 31) = -89$ KJ/ mol.

L'oxydation du succinate ne passe par le complexe 1, elle ne passe donc que par deux complexes. Par conséquent, il fait rentrer moins de protons dans l'espace matriciel donc son oxydation produit moins d'énergie.

C. Inhibiteurs et découplants de la CRM.

a) Inhibiteurs.

Généralement pharmacologiques, ces inhibiteurs sont souvent nombreux, en voici quelques uns pour chaque étape:

Inhibiteur du complexe 1: Roténone (poison biologique).

Inhibiteur du complexe 2: Malonate (il entre en compétition avec le succinate).

Inhibiteur du complexe 3: Antimycine.

Inhibiteur du complexe 4: CO et CN^{-} (cyanure).

b) Les découplants de la CRM.

Définition: Ce sont des corps chimiques qui empêchent le transfert de l'énergie entre la chaîne de production des électrons et des ATP.

Les plus fréquents fonctionnent en rendant perméable aux protons la membrane ce qui affecte le gradient de protons puisque les deux cotés de la membrane se retrouve avec le même gradient et de ce fait, il n'y a plus de moteur.

L'arsenic est un analogue structural qui va se substituer au phosphore dans le phosphate. L'arsenic fonctionne en formant l'arsenyl-ADP après phosphorylation, composé très instable qui s'hydrolyse faisant de ce fait fonctionner de l'ATP synthase pour rien.

Les hormones thyroïdiennes favorisent l'oxydation de l'ATP pour fournir de la chaleur. Elles régulent une grande partie de la thermogénèse en stimulant des protéines appelées thermogénines. Elles vont prendre leur place dans la membrane interne et la rendent perméable permettant ainsi aux protons de circuler de nouveau de la membrane interne à la matrice. C'est un mécanisme qu'on retrouve dans la graisse brune.

c) Navettes: transport de NADH.

A/ La navette malate aspartate.

1/ Malate déshydrogénase.

Schéma 16

Diacides: 2 \rightarrow Oscalate, 3 \rightarrow Maléate, 4 \rightarrow Succinate, 5 \rightarrow Glutamate.

Lorsqu'il y a du NAD réduit dans le cytoplasme:

Schéma 17

NAD réduit dans cytoplasme \rightarrow NAD réduit dans mitochondrie sans perte d'énergie mais de ce fait réversible. Ne fonctionne que quand $[NAD_{réduit}]_j [NAD_{oxydé}]$ c'est à dire $[NADH]_j [NAD^+]_{cytoplasme} > [NADH]_j [NAD^+]_{mitochondrie}$.

B/ Navette de glycéro phosphate.

Schéma 18

Le transport du NADH dans la mitochondrie:

Schéma 19

La réaction est exergonique: Glycérol phosphate → DiOH phosphate.

Ce système de transport va être à sens unique.

$[NADH]_i [NAD^+]_o > 0$ et la navette fonctionne.

Le point commun entre ces groupements prosthétiques est que ce sont des groupements non protéiques. Rappelons que l'on parle de groupement prosthétique si le cofacteur ou le coenzyme se lie de façon covalente. Le groupement prosthétique n'est pas forcément sur un enzyme, pour faire son rôle de transport. Ils sont liés de façon covalente à leur protéine.

En ce qui concerne cofacteurs et coenzymes:

Les cofacteurs contiennent les enzymes. Si le cofacteur est une molécule complexe, on le nommera coenzyme et s'il s'agit d'un métal, on ne le nommera pas coenzyme.

Si coenzyme et cofacteur sont liés entre eux, l'on parle de holoenzyme.