



## **RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021**

### **UE PL2.8 : BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE**

**Date : 23/09/2020**

**Plage horaire : 10h30-12h30**

**Enseignant : Aksam MERCHED**

**N°ISBN : 978-2-37366-080-7**

Ronéistes

BOULANGER Louis – louis.boulanger@etu.u-bordeaux.fr

Le TAILLANDIER de GABORY Albane – albane.degabory@orange.fr

## **INTRODUCTION A LA BIOLOGIE CELLULAIRE (PARTIE 3)**

### **Plan du cours :**

#### **I – Les lysosomes**

##### **A – Caractéristiques générales des lysosomes**

- 1 – Fonctions des lysosomes
- 2 – Les types de molécules éliminées par les lysosomes
- 3 – Le maintien du pH acide des lysosomes
- 4 – Objectifs de l'intervention des lysosomes

##### **B – Les maladies de surcharge**

- 1 – Historique
- 2 – Les troubles à l'origine des maladies de surcharge
- 3 – Quelques maladies de surcharge

##### **C – Traitement des maladies de surcharge**

#### **II – Les vacuoles**

#### **III – Les mitochondries**

- A – Caractéristiques générales des mitochondries
- B – Les maladies mitochondriales

#### **IV – Les chloroplastes**

## **V – Les peroxysomes**

A – Caractéristiques générales des peroxysomes

B – Les maladies peroxysomales

## **I. Les lysosomes.**

### **A. Caractéristiques générales des lysosomes.**

#### **1. La fonction des lysosomes.**

Les lysosomes sont des organites servant à dégrader. Ils correspondent à l'estomac de la cellule et effectuent le recyclage, la digestion des organites défectueux ou vieillissants.

#### **2. Les types de molécules éliminées par le lysosome.**

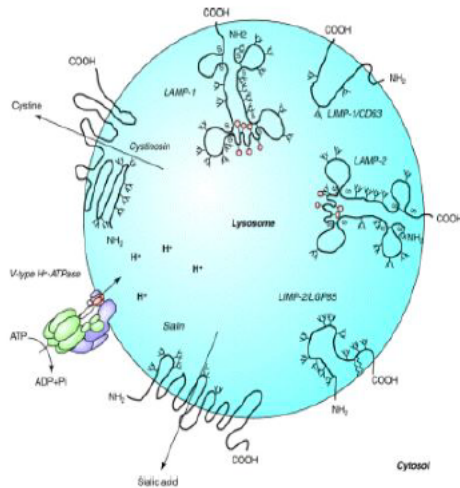
Les lysosomes dégradent les macromolécules : acides nucléiques, sucres, lipides, phospholipides, protéines. Toutes les macromolécules peuvent être dégradées car il existe une enzyme spécifique de ces macromolécules qui existe au niveau des lysosomes.

L'hydrolyse et la dégradation d'un très grand nombre de macromolécules se fait grâce à l'action des enzymes lysosomales qui sont des hydrolases acides qui ont un fonctionnement optimal à pH environ égal 4-6.

#### **3. Le maintien du pH acide des lysosomes.**

Le pH acide des lysosomes est maintenu grâce à l'action d'une pompe H<sup>+</sup> ATPase (transporteur de protons présent dans la membrane). Cette pompe va permettre le transport des protons à l'intérieur du lysosome afin de diminuer le pH et ainsi le rendre acide de façon à permettre un fonctionnement optimal des enzymes lysosomales qui sont des hydrolases acides.

Les hydrolases acides sont des enzymes capables de tout dégrader donc le système lysosomal nécessite une autoprotection : une couche de sucre est disposée sur le versant interne du lysosome. Cette couche de sucre correspond à des protéines transmembranaires possédant une partie glucidique dirigée vers l'intérieur. C'est l'encombrement de la partie glucidique de ces protéines transmembranaires qui va permettre la protection du contenu du lysosome. Le cytosol possède un pH neutre. De par ce pH relativement plus important, les enzymes lysosomales sont non fonctionnelles dans le cytosol. De nombreuses autres protéines sont impliquées dans différentes fonctions telles que le transport pour l'acide sialique ou bien le transport de la cystine.



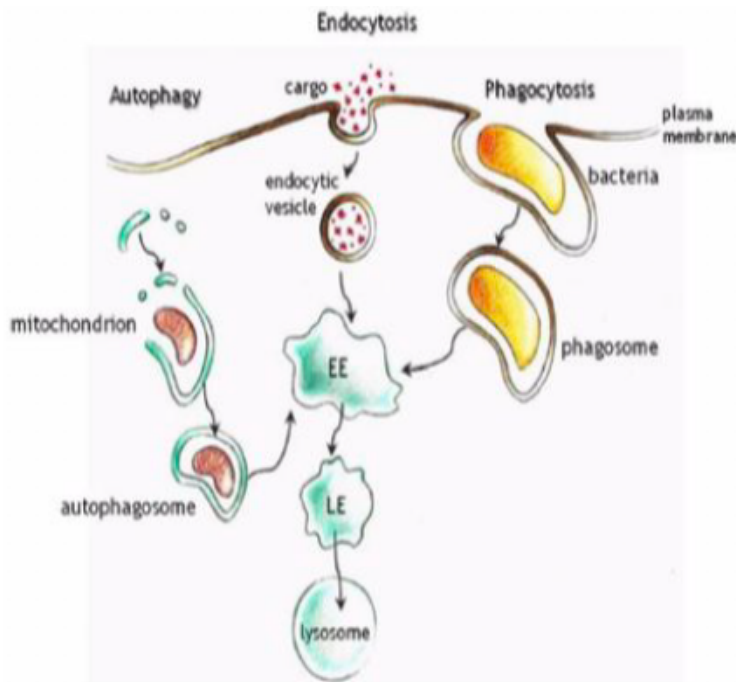
#### 4. Objectifs de l'intervention des lysosomes.

Les lysosomes participent essentiellement :

- A la dégradation des organites intracellulaires. Ce mécanisme se nomme l'autophagie. Ce mécanisme correspond au recyclage de la matière organique intracellulaire. L'organe défectueux s'entoure d'une double membrane et forme une vésicule appelée auto phagosome qui fusionne avec un lysosome où la matière organique intracellulaire est hydrolysée et recyclée.
- A l'endocytose immunitaire : la phagocytose.
- A l'endocytose nutritionnelle : il s'agit de l'entrée des particules nutritives par la membrane plasmique sous forme de vacuoles qui se détachent puis fusionnent avec un lysosome.

L'autophagie est un mécanisme intracellulaire alors que la phagocytose est un mécanisme extracellulaire. Il existe aussi une endocytose comprenant la pinocytose et l'endocytose par récepteur interposé.

Il existe donc 3 modes de dégradation : l'endocytose, la phagocytose et l'autophagie



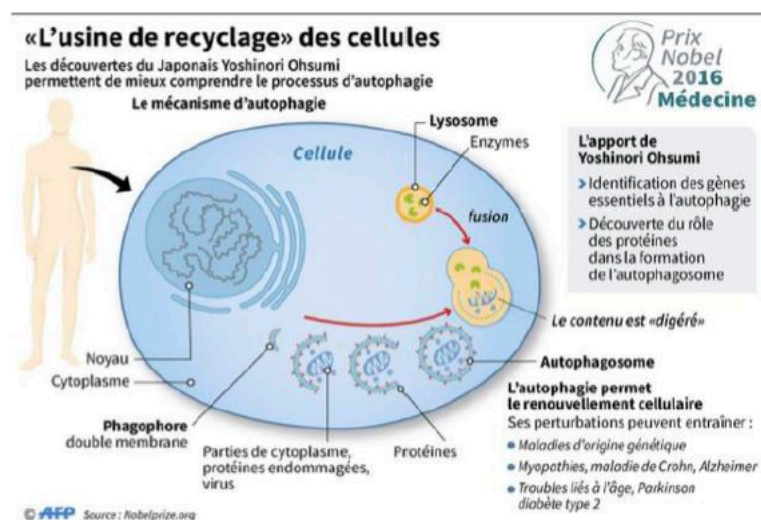
## B. Les maladies de surcharge.

### 1. Historique.

Le chercheur Japonais, Yoshinori Ohsumi s'est vu remettre le prix Nobel de médecine en 2016 pour ses travaux sur l'autophagie. Ce chercheur a mis en évidence les gènes impliqués dans le processus d'autophagie. Il s'agit du deuxième prix Nobel sur ce sujet. En effet, l'autophagie a été découverte dans les années 1960.

Les lysosomes ont été découverts par une technique de séparation : l'ultracentrifugation. Christian de Duve a ainsi découvert les lysosomes grâce à l'utilisation de cette technique de séparation et a reçu le prix Nobel de médecine en 1974.

Quelques années après, les peroxysomes ont été également mis en évidence par l'utilisation de cette technique mettant en évidence ce compartiment de recyclage capable d'autophagie. En 2016, la machinerie ainsi que les protéines impliquées dans le mécanisme d'autophagie ont été mis en évidence. Les pathologies concernant les lysosomes ont un impact important en santé : maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, quelques cancers.



### 2. Les troubles à l'origine des maladies de surcharge.

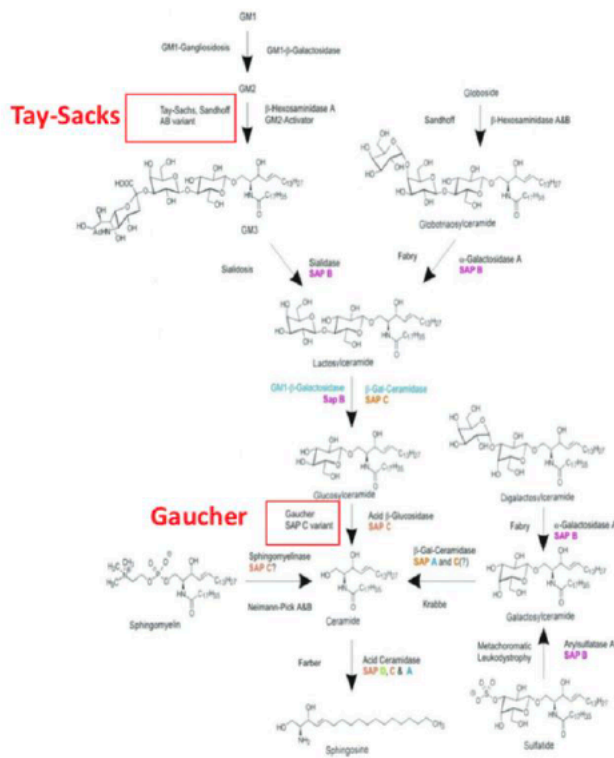
Les troubles qui affectent les maladies lysosomales sont les maladies de surcharge.

Un défaut est présent au sein de l'auto phagosome ce qui entraîne une accumulation de protéines et d'organites toxiques qui deviennent inutiles pour la cellule.

Dans ces pathologies les cellules vont alors mourir par nécrose au lieu de mourir de manière classique par apoptose.

Les cellules apoptotiques sont normalement éliminées par phagocytose. Les protéines anormales, non dégradées seront alors exposées à des parties de la cellule qui n'ont pas

l'habitude de côtoyer ces déchets cellulaires. On aura finalement une réponse de la part des cellules auto-immunes.



On retrouve notamment, parmi ces anomalies :

La maladie de Tay Sacks avec une mutation au niveau du gène qui code pour les enzymes hexosaminidase A = lipase

La maladie de Gaucher avec une mutation au niveau du gène qui code pour la  $\beta$  Glucosidase acide.

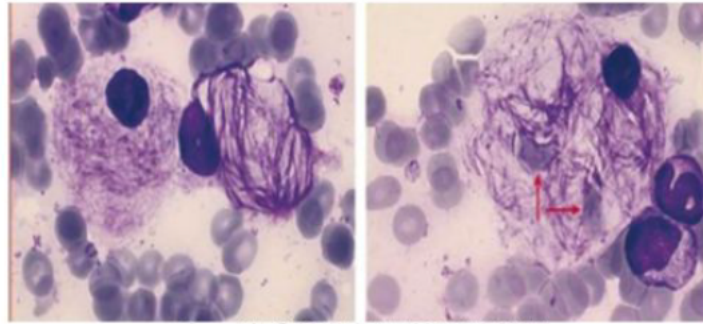
Tous les défauts au niveau des enzymes lysosomales vont donc entraîner des maladies de surcharge spécifiques.

### 3. Quelques maladies de surcharge.

La maladie de Tay-Sacks : c'est la mutation du gène qui code pour l'enzyme hexosaminidase A qui provoque cette maladie avec une accumulation des gangliosides GM2. On remarque des manifestations au niveau du système nerveux et de l'encéphale. La forme la plus grave de cette maladie est la forme infantile avec des perturbations motrices et mentales. Si l'on isole des cellules de malades par microscopie électronique nous pouvons observer des lysosomes avec des déchets toxiques qui ne peuvent pas être éliminés.

La maladie de Gaucher : cette maladie est caractérisée par une mutation au niveau de la  $\beta$ -glucosidase acide. La glucocérébrosidase est une enzyme qui catalyse la transformation du glucocérébroside en glucose et en céramides. Si on a une mutation au niveau de la  $\beta$ -glucosidase acide, les glucocérébrosides vont alors s'accumuler.

Le recyclage de la matière cellulaire va donc être freiné et va donc provoquer une accumulation de glucocérébrosides au niveau de la rate, du foie, des poumons, moelle... Les manifestations seront plus ou moins importantes selon les organes.



La photo de droite est caractéristique de la maladie de Gaucher les hématies restent toujours présentes et sont difficilement dégradées. Nous pouvons voir ici une accumulation des glucocérébrosides avec une formation de cristaux. L'érythrolyse doit se faire de manière permanente. Les macrophages ont des problèmes de dégradation et ne vont pas dégrader les hématies car l'enzyme  $\beta$ -glucosidase acide est défectueuse.

Il existe également d'autres pathologies, on peut citer notamment :

- La maladie de Salla : le transporteur muté est celui de l'acide sialique.
- Le syndrome rénal de Fanconi : le transporteur muté est celui de la cystine (cystéine avec des ponts).

### **C. Traitement des maladies de surcharge.**

De nombreuses approches existent pour mettre en évidence ces pathologies. En effet, la connaissance des mécanismes enzymatiques nous permet aujourd'hui de mieux comprendre les enzymes défectueuses de ces pathologies.

#### **1<sup>ère</sup> approche : L'enzymothérapie substitutive**

Cette technique permet d'injecter l'enzyme qui est en défaut. Le premier traitement pour la maladie de Gaucher est apparu en 1991 et consiste en l'administration d'une enzyme obtenue à partir d'un cordon ombilical. A cette époque aucune autre technique n'était connue et cette technique bien qu'unique a malheureusement connu quelques problèmes. En effet le cordon ombilical était un tissu humain difficile à isoler et le risque infectieux était important.

Par la suite, suite au développement des techniques de génie génétique l'enzyme a pu être synthétisée à partir de bactéries. Cependant ces bactéries étant des procaryotes, il existe une absence de glycosylations ce qui aboutit à la formation de protéines non glycosylées qui ont alors des fonctions erronées. Aujourd'hui l'enzyme défectueuse est synthétisée à partir de cellules eucaryotes telles que des cellules d'ovaires de hamster.

Les différents traitements d'enzymothérapie employés pour traiter la maladie de Gaucher sont :

- L'imiglucérase en 1995
- Le vélaglucérase alpha en 2010

- Le taliglucérase en 2012

## 2<sup>ème</sup> approche : Les médicaments réducteurs de substrat.

Une nouvelle classe de médicaments est apparue. En agissant en amont de la voie de biosynthèse, il sera alors possible de ralentir l'accumulation du produit qui n'est pas dégradé. Ces nouveaux traitements sont :

- le miglustat et l'éliglustat apparus en 2014.

Ces médicaments auront pour fonction d'inhiber la glucocérébroside synthase.

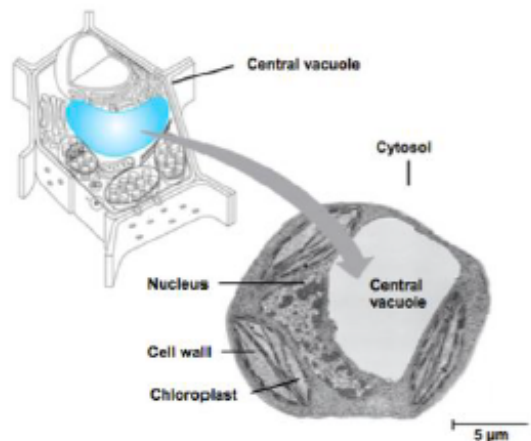
## 3<sup>ème</sup> approche : l'approche chaperonne.

Cette approche n'a pas eu un grand succès mais il est possible d'améliorer l'activité enzymatique.

Cette approche consiste en l'ajout de protéines chaperonnes qui vont avoir pour objectif d'améliorer l'enzyme. Cette approche est facile à réaliser en laboratoire mais est complexe à réaliser en clinique.

## **II. Les vacuoles.**

Les vacuoles sont des éléments faisant partie intégrante du réseau intracellulaire des membranes. Dans les végétaux, il y a la présence d'une vacuole dite centrale également nommée down-town. On retrouve majoritairement cette vacuole chez les végétaux



matures.

Chez les végétaux, il existe plusieurs types de vacuoles différentes :

- La vacuole hydrolytique qui est l'équivalent du lysosome chez les cellules animales.



- La vacuole digestive qui intervient lors du processus de phagocytose
- Des vacuoles pulsatiles présentes chez certains micro-organismes

Chez les protistes d'eau douce, l'eau va rentrer dans l'organisme de ces derniers selon un mouvement allant de l'extérieur vers l'intérieur. L'eau va passer de façon permanente dans l'unique cellule de l'organisme du protiste. Pour lutter contre ce phénomène d'entrée massive d'eau une vacuole pulsatile va se contracter et va ainsi éliminer l'eau. Le mouvement d'eau étant incessant, la vacuole est toujours plus ou moins remplie malgré le fait qu'elle élimine au fur et à mesure de l'eau.

Le mécanisme de cette vacuole permet de garder l'équilibre osmotique à l'intérieur du protiste (la concentration en sels et en molécules reste convenable).

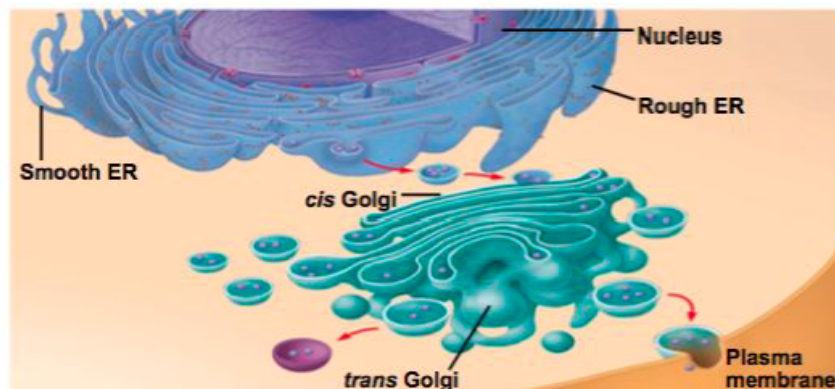
Dans la vacuole centrale, on trouve de nombreux constituants importants comme :

- Des ions
- Des protéines
- Des polysaccharides
- De l'eau.

Les vacuoles des plantes vont permettre de stocker certaines substances nocives comme des toxines qu'elles vont par la suite utiliser en auto-défense contre certains animaux qui désireraient les consommer.

En résumé dans une cellule on peut observer :

Le système endomembranaire avec en premier l'enveloppe nucléaire et le REG. Les composants sont véhiculés par des vésicules d'un compartiment à l'autre puis ces dernières fusionnent avec la membrane et sécrètent des : protéines et des hydrolases acides (à destination du lysosome). Ces protéines sont reconnues car elles sont marquées par du mannose 6 phosphate.



### III. Les mitochondries.

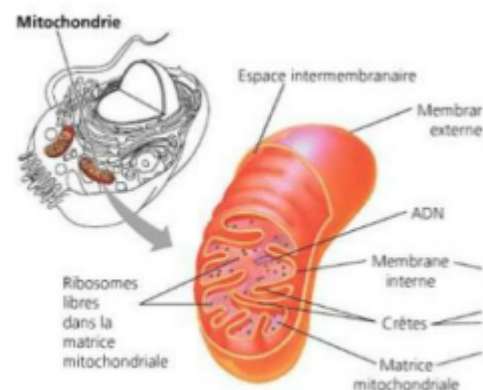
#### A. Caractéristiques générales des mitochondries.

Les mitochondries ne font pas partie du système endomembranaire. Il n'y a pas d'échanges vésiculaires avec les organites classiques (REG, Golgi, membrane nucléaire, membrane).

Les mitochondries, les peroxysomes et les chloroplastes vont avoir leurs propres protéines qui vont être livrées grâce à des capteurs que l'on retrouve au niveau membranaire. Il ne s'agit donc pas d'une livraison vésiculaire.

- La mitochondrie va être responsable de la respiration cellulaire aérobie. La mitochondrie est capable d'extraire un maximum d'énergie à partir d'une molécule (sucre, lipide) ce qui permet ainsi de générer de l'ATP.
- Le peroxysome possède de nombreuses réactions oxydatives qui ont un rôle métabolique important. Les peroxysomes peuvent jouer un rôle intermédiaire entre les mitochondries et les chloroplastes. Les relations de ces derniers avec les autres organites font encore l'objet de nombreux débats.
- Les chloroplastes sont le site de transformation de l'énergie solaire en énergie chimique par le processus de photosynthèse. Cette énergie chimique est sous forme de composés organiques comme les glucides par exemple.

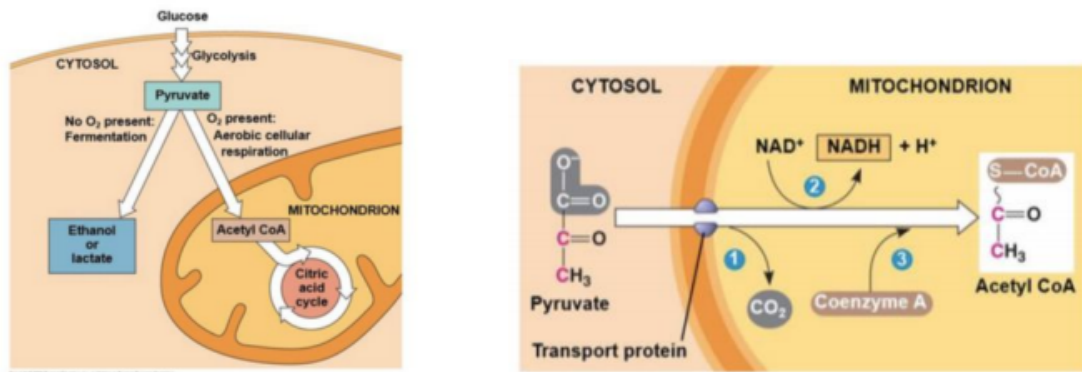
La particularité des mitochondries et des chloroplastes est la présence d'une double membrane. Les protéines attachées à cette double membrane sont formées sur les ribosomes libres. Ces deux organites présentent leur propre ADN mais aussi des ribosomes internes qui assurent certaines fonctions de traduction de ce génome. On trouve les mitochondries dans toutes les cellules eucaryotes.



La double membrane est formée de deux membranes, interne et externe et entre les deux, un espace intermembranaire. La membrane externe est lisse et la membrane interne est configurée de façon à assurer le maximum de surface pour assurer les fonctions cellulaires (présence de crêtes). Elle contient les protéines de la respiration cellulaire.

Les mitochondries sont impliquées dans le métabolisme oxydatif.

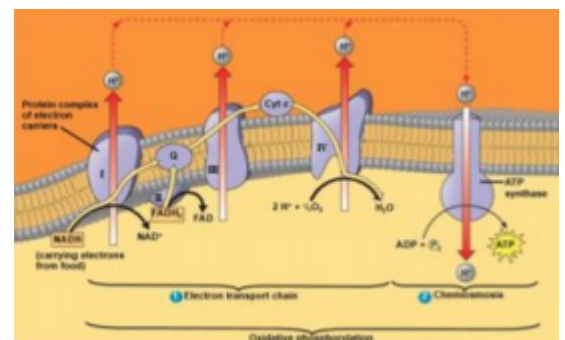
RAPPEL (UE 1B PACES) : A partir d'une molécule de glucose et suite à la glycolyse, il se forme du pyruvate qui va soit être réduit en lactate (fermentation, anaérobie), ce qui est combiné à un recyclage de  $\text{NAD}^+$  par la glycolyse, soit il rentre dans la matrice mitochondriale via un transporteur protéique spécifique (décarboxylation et liaison au coenzyme A  $\rightarrow$  Acétyl-CoA) et va alimenter le cycle de Krebs.



Le cycle de Krebs et les réactions qui y conduisent sont responsables de l'extraction directe d'énergie sous forme d'ATP et de transporteurs d'électrons  $\text{NADH}$  et  $\text{FADH}_2$ . Ceux-ci vont être utilisés lors de la phosphorylation oxydative, où les électrons vont être transférés à plusieurs niveaux pour assurer un gradient de protons qui sert à produire de l'ATP via l'ATP synthase.

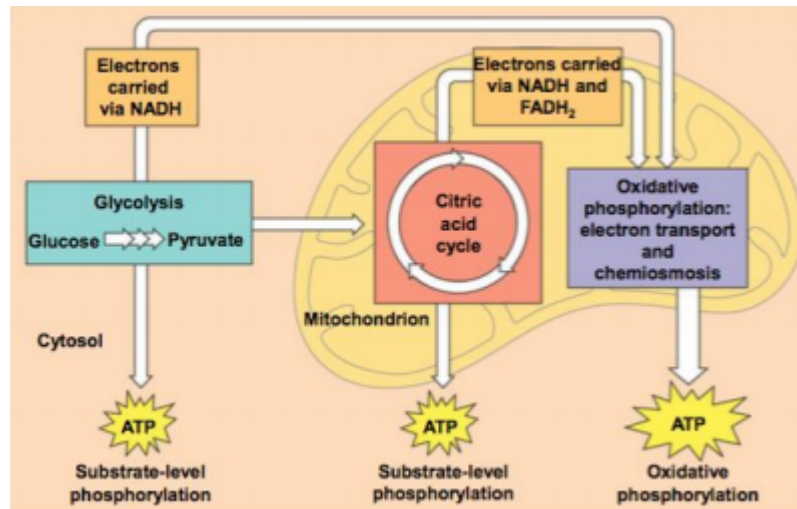
Au cours du transport de ces électrons l'énergie est libérée au niveau des chaînes de transfert (composées des complexes protéiques I, II, III, IV) qui vont transférer les protons dans l'espace intermembranaire, ce qui crée un gradient électrochimique.

- Complexe I : injecte 4 protons par l'utilisation de  $\text{NADH}, \text{H}^+$
- Complexe II : utilise  $\text{FADH}_2$  qui va transférer ses protons au complexe III sans pour autant participer au gradient de protons.
- Complexe III : injecte 4 protons.
- Complexe IV : injecte 2 protons. L'accepteur final de la chaîne est l' $\text{O}_2$  qui sera réduit en eau par la suite.



En fin de compte le complexe va déplacer 10 ou 6 protons en fonction du complexe de départ. Les protons transférés vont actionner l'ATP synthase (formée des complexes  $\text{F}_0$  et  $\text{F}_1$ ). 4 protons sont nécessaires pour produire un ATP.

RAPPEL : 2,5 molécules d'ATP formées par passage par le complexe I (NADH,H<sup>+</sup>)  
1,5 molécules d'ATP formées par passage par le complexe II (FADH<sub>2</sub>)



Grâce à ce mécanisme, un maximum d'énergie peut être extrait des molécules de glucose qui peuvent fournir jusqu'à 36 molécules d'ATP par molécule de glucose (production directe ou indirecte).

## **B – Les maladies mitochondriales**

Les protéines ou les fonctions mitochondriales sont gérées par des protéines aussi bien codées par le génome de la mitochondrie que par le génome nucléaire. Étant donné que de l'ADN est présent dans cette mitochondrie, ce qui diffère par rapport au génome nucléaire le taux de mutation est dix fois plus élevé à cause du manque de systèmes de réparation mais aussi par l'agression par les radicaux libres.

S'il y a des maladies, celles-ci sont transmissibles par voie maternelle. Elles peuvent venir soit du génome mitochondrial, soit du génome nucléaire. Dans ce cas la maladie peut être transmise soit par le père, soit par la mère. 95% des protéines mitochondriales étant codées par le génome nucléaire, les pathologies proviennent la plupart du temps de mutations sur celui-ci.

Les conséquences peuvent être ± sévères, voire même mortelles au cours de l'enfance, responsables de crise d'épilepsie, de cécité, de surdité, de paralysie. Les conséquences dépendent du nombre de copies d'ADN mutées dans la mitochondrie mais aussi des cellules concernées et de leur nombre.

Souvent ce sont des maladies impliquées dans le vieillissement, dans la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer. Ceci est dû à la grande durée de vie des cellules neuronales qui vivent longtemps et qui sont plus sujettes à l'accumulation de mutations au cours du temps.

## La neuropathie optique de Leber :

La manifestation de cette pathologie est une dégénérescence du nerf optique. Elle est causée par une anomalie au niveau de l'ADN mitochondrial (donc transmission maternelle). Les gènes mutés codent pour les sous-unités ND4, ND6 et ND1 du complexe I de la chaîne des phosphorylations oxydatives.

Le diagnostic prénatal par amniosynthèse est possible.

Plusieurs approches thérapeutiques ont été testées comme celle des thérapies géniques qui consistent en l'apport de la copie normale du gène déficient par un système viral (Adeno Associating Virus) qui vectorise le gène.

Il a également été pensé d'apporter des mitochondries normales avec des donneurs de mitochondries. En Angleterre, une grande avancée a été faite dans le don de mitochondries avec la création d'une autorité qui s'occupe cette régulation. Les essais effectués étant récents, les scientifiques n'ont pas encore le recul nécessaire pour conclure sur leur efficacité ou non.

## **IV. Les chloroplastes**

Ils font partie de la famille d'organites appelée les plastides. Leur particularité est la présence de chlorophylle et vont être capables de fixer de l'énergie solaire pour la transformer en énergie organique et de produire des glucides lors de la photosynthèse.

Ils ont aussi 2 membranes séparées par un espace intermembranaire très mince et des ribosomes.

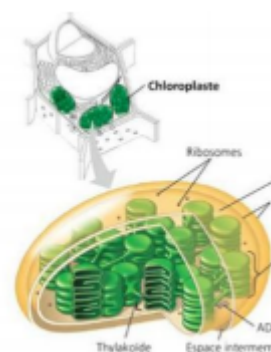
Leur organisation interne est réalisée dans un système membranaire organisé en sacs aplatis appelés les thylakoïdes qui s'empilent au fur et à mesure pour former des structures appelées grana. Le liquide où baignent les thylakoïdes est appelé stroma et contient de l'ADN circulaire, des enzymes ainsi que des ribosomes. Les chloroplastes sont les sites de la photosynthèse. L'ADN est aussi présent dans ces organites.

Ce sont de très gros organites qui mesurent environ 2  $\mu\text{m}$  sur 5 à 10  $\mu\text{m}$ .

Leur localisation se trouve dans les feuilles et dans les autres organes verts des végétaux et des algues.

L'intérieur du chloroplaste est divisé en trois parties : l'espace intermembranaire, l'espace intra-thylakoidien ainsi que le stroma.

Les chloroplastes possèdent plusieurs pigments comme la chlorophylle. Ils contiennent également les enzymes et les molécules nécessaires à la production de glucides lors du processus de photosynthèse.



Les chloroplastes et les mitochondries possèdent un ADN qui leur est propre. Ils possèdent également une fonction énergétique. Enfin ils possèdent chacun une double membrane.

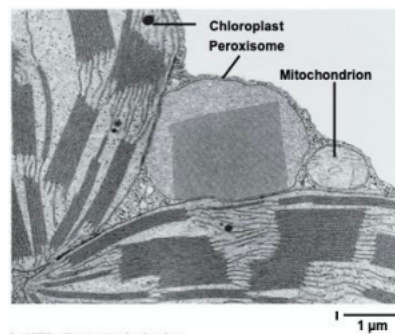
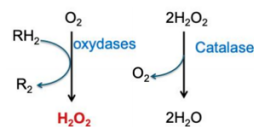
## V. Les peroxysomes

### A – Caractéristiques générales des peroxysomes

Ce sont des organites impliqués dans le métabolisme oxydatif mais leur organisation est différente.

Ils possèdent une membrane simple et contiennent une cinquantaine d'enzymes qui transfèrent l'hydrogène de divers substrats à du dioxygène, ce qui forme le peroxyde d'hydrogène. Ces enzymes sont les oxydases (réalisant l'oxydation) et les catalases (qui vont permettre la détoxification du peroxyde d'hydrogène en eau, ce peroxyde étant toxique pour les cellules).

Les peroxysomes contiennent aussi les urates oxydases, les glycolates oxydases, ainsi que des aminoacides oxydases.



Cette photo de microscopie électronique nous indique que les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes sont des organites relativement proches. Cette proximité est idéale pour ces organites pour interagir et échanger des métabolites.

Ils jouent également un rôle dans le métabolisme des lipides. Les acides gras sont utilisés dans la  $\beta$ -oxydation pour former de l'Acétyl-CoA qui va alimenter le cycle de Krebs.  
Les peroxysomes des cellules hépatiques participent à la détoxification de l'alcool et d'autres composés toxiques.





### L'adrénoleucodystrophie :

C'est une maladie causée par des mutations au niveau des transporteurs membranaires ABCD 1. Ce type de transporteurs intervient dans la capture d'acides gras à très longue chaîne. C'est donc le substrat qui ne peut pas rentrer dans le peroxysome pour être dégradé. Ces acides gras vont s'accumuler, dans les neurones par exemple, ce qui va entraîner dans ce cas une destruction de la gaine de myéline.

Les solutions thérapeutiques proposées sont la transplantation de moelle osseuse et la thérapie génique utilisant des adénovirus.

Aujourd'hui on va essayer de corriger le gène de façon ex-vivo. Il est donc possible de travailler sur des cellules souches et corriger par la méthode de CRISPR-CAS9.