

Biochimie métabolique

F. Maupas-Schwalm

Biomolécules

PACES 2020-21

Biochimie métabolique

I. Généralités

II. Exemples de voies métaboliques

1. Beta oxydation des AG (T.Levade)
2. Glycolyse
3. Cycle de Krebs

III. Oxydation phosphorylante

IV. Vue d'ensemble du métabolisme

Biochimie métabolique

Ouvrages de référence

- Biochimie & Biologie moléculaire pour les sciences de la vie et de la santé, Omniscience.
- La biochimie, L. Stryer, Médecine-Sciences, Flammarion.
- Biochimie de Harper, Murray et al., de Boeck.
- Voyage en biochimie, Hecketsweiler & Hecketsweiler, Elsevier.
- Biochimie des activités physiques et sportives, Poortmans & Boisseau, de Boeck.

Biochimie métabolique

I. Généralités

Règles générales de bioénergétique

- Les systèmes biologiques ne peuvent utiliser l'énergie calorifique pour produire un travail, ils utilisent l'énergie chimique.
- Cette énergie provient majoritairement de l'oxydation des substrats carbonés dérivés des L, P et G ingérés (macronutriments).
- L'énergie est récupérée via la phosphorylation de l'ADP en **ATP** qui survient principalement lors de la respiration mitochondriale.

Importance biomédicale

- Un carburant est nécessaire : base de la nutrition
- Tout déséquilibre nutritionnel peut conduire à une pathologie :
Jeûne prolongé ou malnutrition (maximum : marasme, mort); Stockage excessif des surplus énergétiques : obésité

Biochimie métabolique I. Généralités

- Une réaction biochimique spontanée avec perte d'énergie libre est dite **exergonique** (variation d'énergie libre standard négative).
- Une réaction **endergonique** ne peut être spontanée. Elle est thermodynamiquement défavorable, consommatrice d'énergie.
- Les réactions endergoniques se produisent par **couplage** aux réactions exergoniques (la somme algébrique des variations d'énergie libre des 2 réactions reste négative).

Importance biomédicale

Dans les processus vitaux (synthèse, contraction musculaire, influx nerveux...), les réactions coûteuses en énergie se produisent grâce à un couplage aux réactions d'oxydation.

+ Définitions

□ Métabolisme

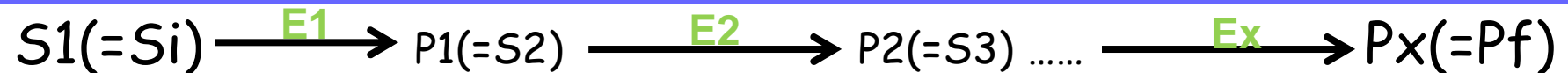
- ➡ Devenir des substances alimentaires après digestion et absorption (métabolisme intermédiaire) (*P. A. Mayes; Harper*)
 - + voies métaboliques empruntées par les molécules
 - + interrelations entre ces voies
 - + mécanismes contrôlant le flot des métabolites à travers ces voies
- ➡ Réseau hautement intégré de réactions chimiques permettant aux cellules d'extraire de l'énergie et de synthétiser leurs macromolécules (*L. Stryer*)
 - **Anabolisme** : ensemble des voies biochimiques impliquées dans la synthèse des composés constituant la structure et la machinerie de l'organisme.
 - **Catabolisme** : ensemble des voies biochimiques impliquées dans la production d'énergie (processus d'oxydation exergoniques).

□ Homéostasie

- ➡ Equilibre entre les apports et les dépenses énergétiques d'un organisme.
- ➡ Maintien à un niveau normal, des différentes constantes physiologiques d'un individu.
- ➡ Equilibre du milieu intérieur d'un individu.

□ Voies métaboliques

- Succession de réactions couplées chimiquement, catalysées par des enzymes (un substrat initial, des étapes et un produit final)

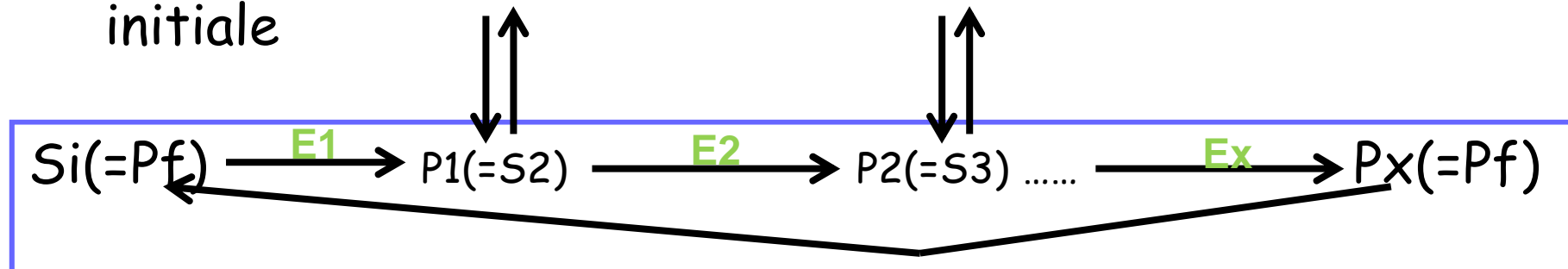


- Elles se déroulent en général de façon irréversible : la valeur de la variation de l'énergie libre qui résulte de l'ensemble de la voie métabolique implique son exécution dans un seul sens.

(La variation d'énergie libre totale d'une série de réactions couplées chimiquement est égale à la somme des variations d'énergie libre des réactions considérées individuellement).

Biochimie métabolique I. Généralités

- Les voies métaboliques peuvent être initiées par une réaction exergonique et limitante.
- Les produits des réactions intermédiaires peuvent être soit des substrats, soit des produits d'autres voies.
- Un **cycle métabolique** est une voie métabolique comportant :
 - une succession de réactions biochimiques interdépendantes
 - un produit final utilisé comme substrat de réaction initiale



Les voies métaboliques sont **très organisées et régulées** : adaptation aux situations physiologiques.

- ❑ Compartimentation cellulaire des voies : transport transmembranaire de certains métabolites.
- ❑ Régulation fine des enzymes qui catalysent les réactions biochimiques.

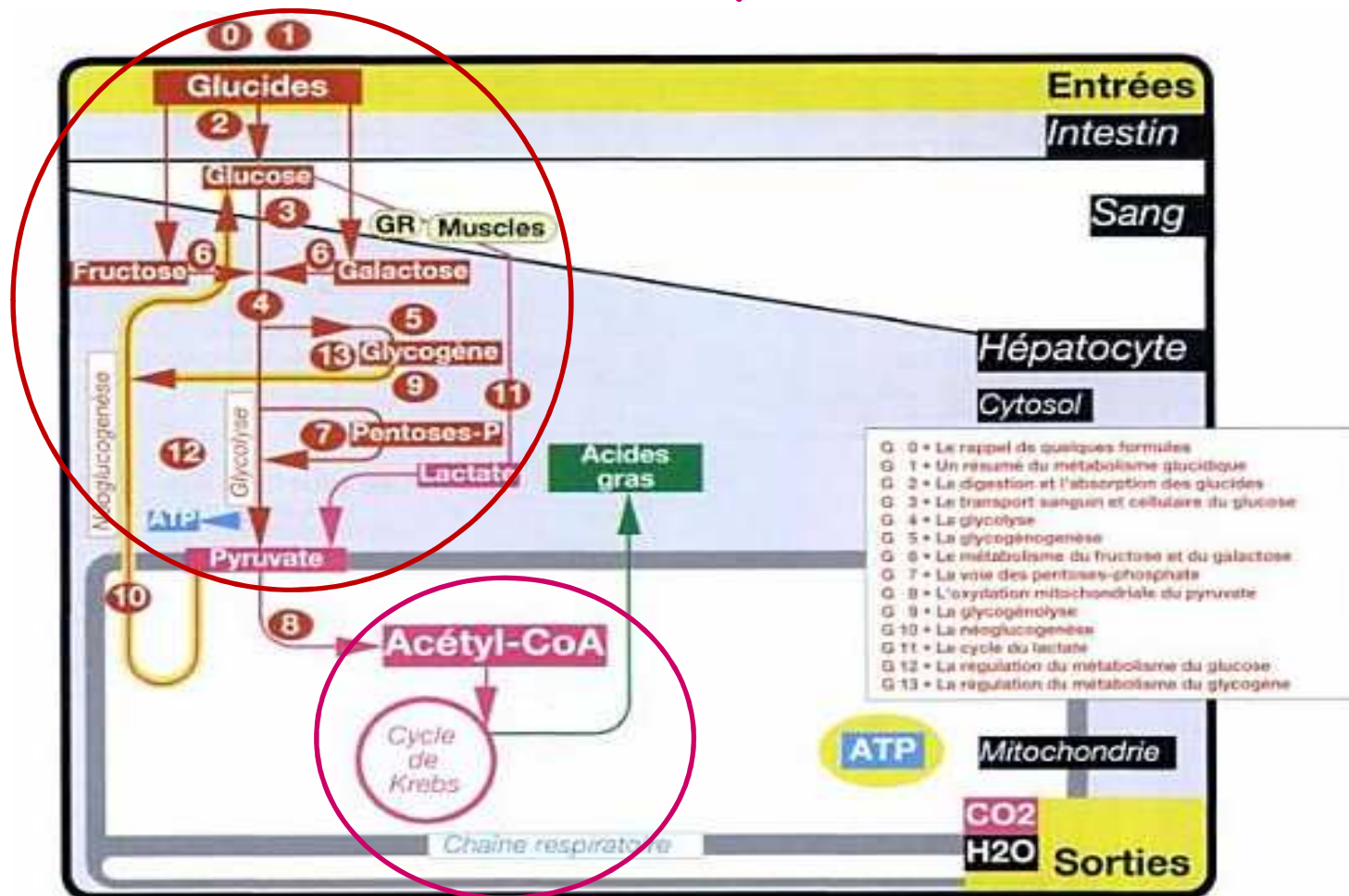
+ Métabolisme tissu-spécifique et coopération tissulaire

Biochimie métabolique I. Généralités

□ Les voies métaboliques sont localisées dans différents **compartiments cellulaires**.

Voies du métabolisme glucidique : cytosol

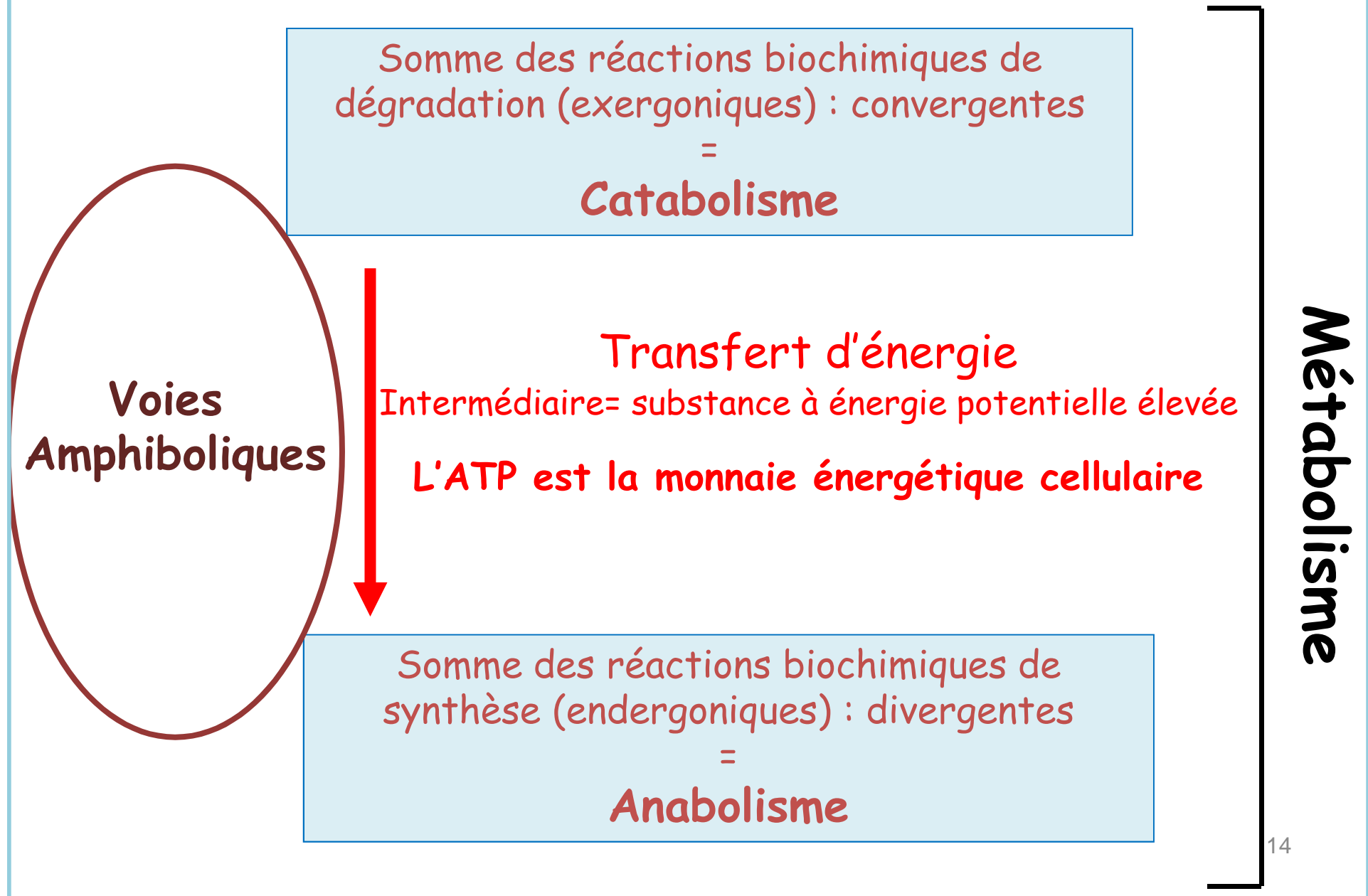
Cycle de Krebs : mitochondrie



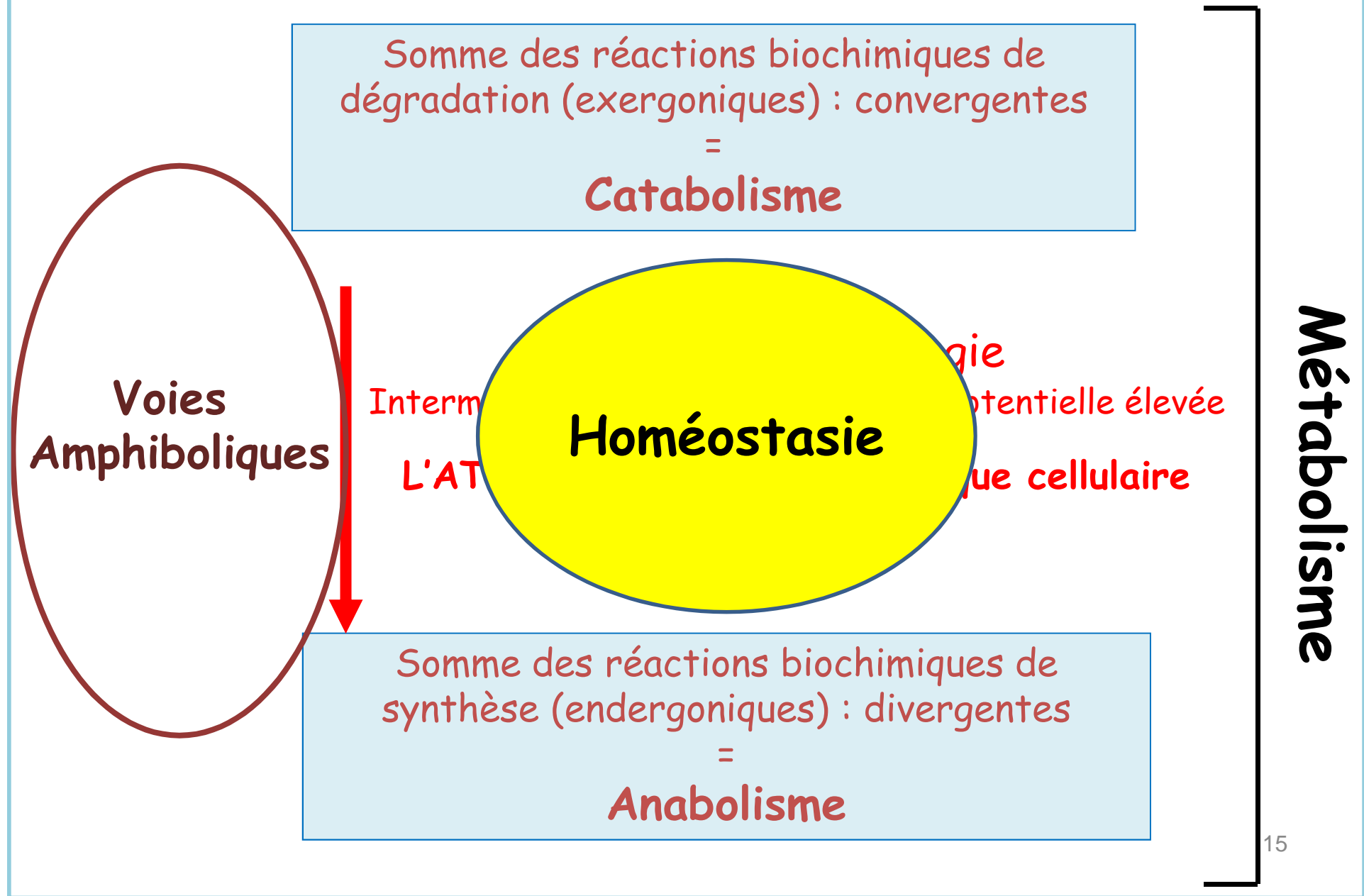
In : Voyage en biochimie, Hecketsweiler & Hecketsweiler, Elsevier.

□ Régulation des enzymes d'une voie métabolique

- Régulation de l'expression du gène qui code pour l'enzyme : facteurs transrégulateurs, mécanismes de modifications de la demi-vie des ARNm...
- Demi-vie des enzymes variable : pool adapté aux besoins métaboliques de la cellule.
- Régulation post-traductionnelle covalente (dite par interconversion) : jeu de phosphorylation/déphosphorylation de certains enzymes (régulation covalente elle-même sous la dépendance d'autres enzymes, phosphatases ou kinases, pouvant être régulés par des hormones, le statut énergétique cellulaire).
- Activité enzymatique dépendant de l'affinité de l'enzyme pour le substrat, du produit de la réaction (importance de la disponibilité en substrat ou produit de la réaction)
- Régulation allostérique

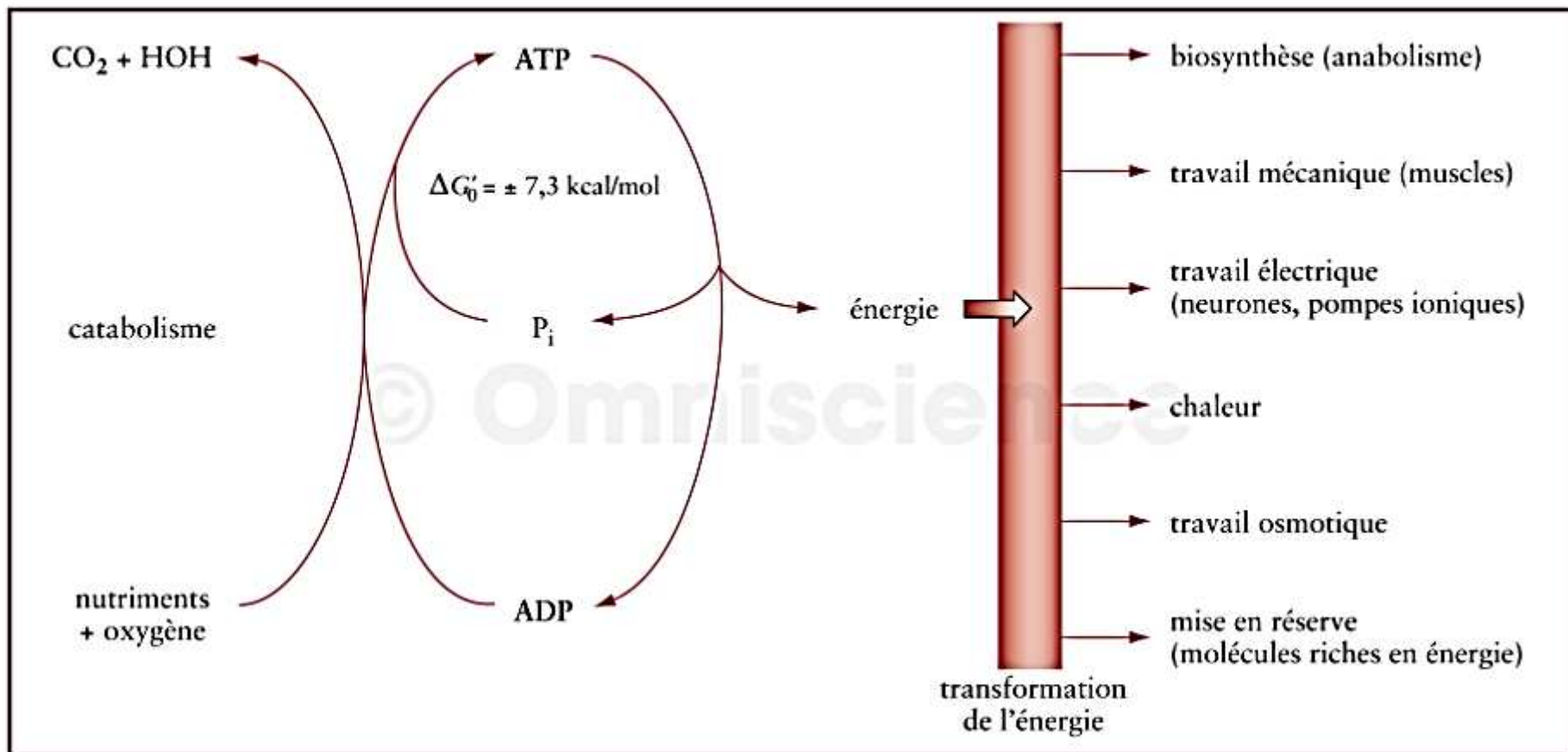


Biochimie métabolique I. Généralités



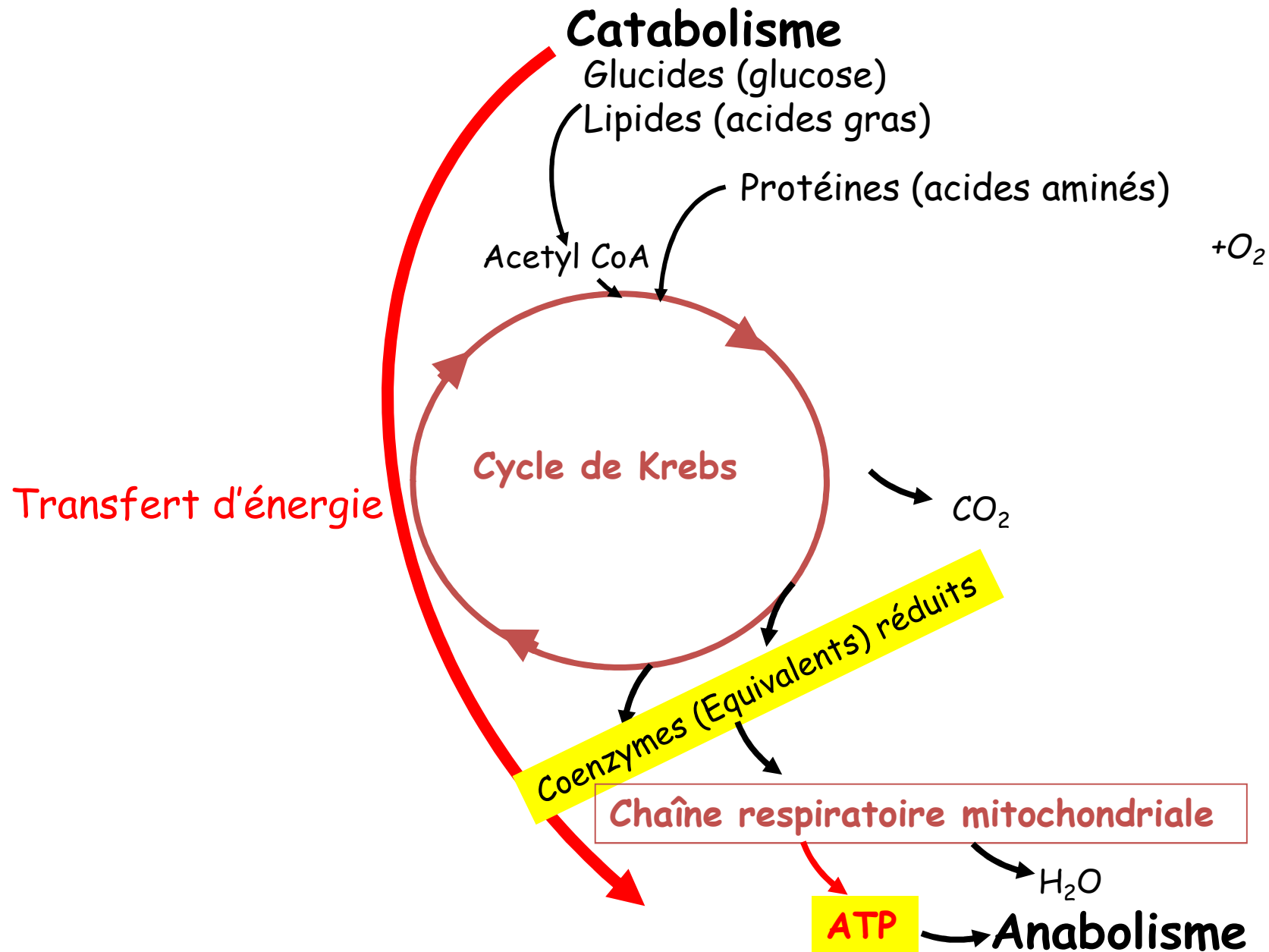
Biochimie métabolique I. Généralités

Figure 11.4 Cycle ATP-ADP. La dégradation oxydative des molécules (catabolisme) génère CO_2 et eau et de l'énergie libre qui permet de transformer l'ADP en ATP en ajoutant un groupe phosphate via une liaison dite « riche en énergie ». L'hydrolyse de l'ATP en ADP se fait avec une variation négative de l'énergie libre de 7,3 kcal/mol qui permet la réalisation de synthèses, transports et mouvements.



Biochimie métabolique

I. Généralités



Biochimie métabolique

I. Généralités

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

A. Généralités sur le métabolisme glucidique

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

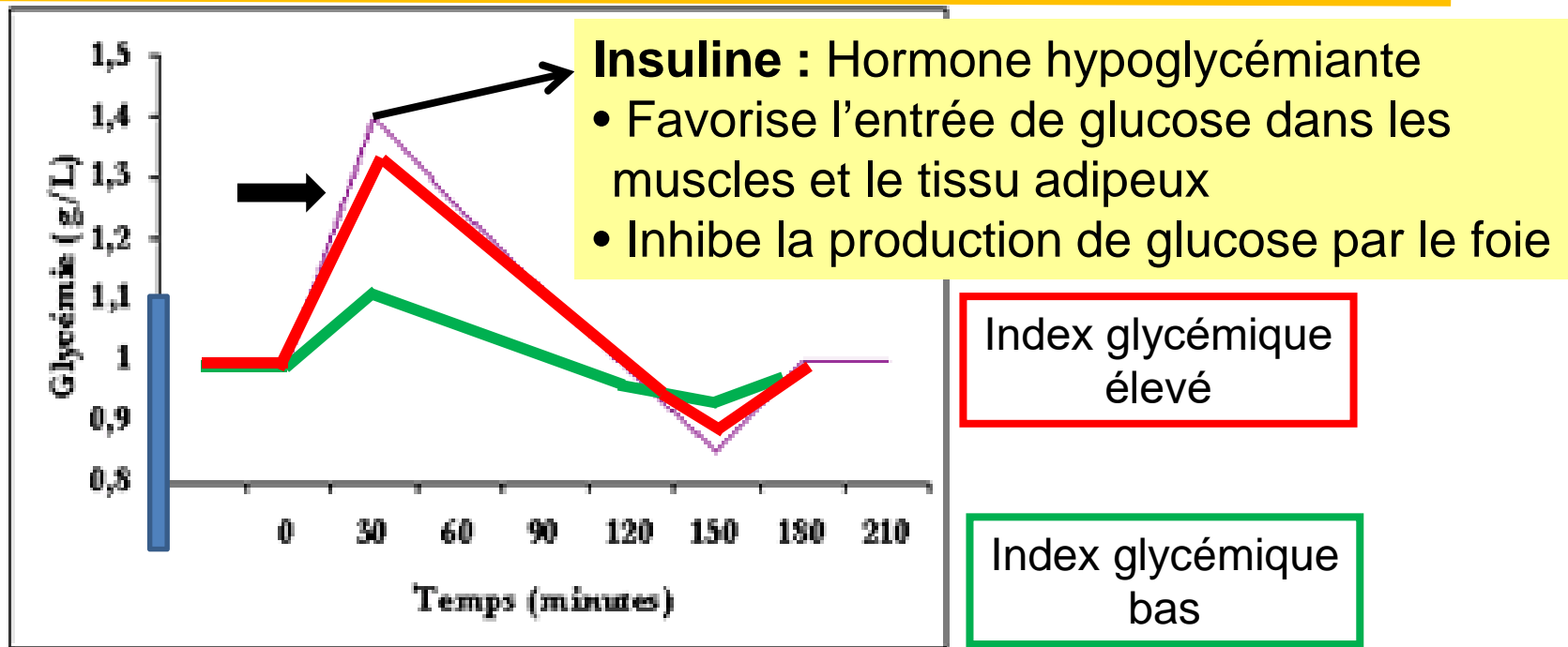
A. Généralités sur le métabolisme glucidique

- a. Alimentation et glucides
- b. Digestion, absorption et transport des glucides
- c. Glucose : nutriment énergétique fondamental

a. Alimentation et glucides

- Glucides, source d'énergie universelle. Pas de glucides essentiels (alimentation ou synthèse).
- L'alimentation fournit environ 250 g de glucides par jour (= moitié de la ration énergétique).
 - Dans les céréales, fruits, légumes, féculents
 - Une moitié est constituée d'amidon, un tiers de saccharose, le reste de fructose et lactose (variable selon l'alimentation)

→ augmentation de la glycémie post-prandiale

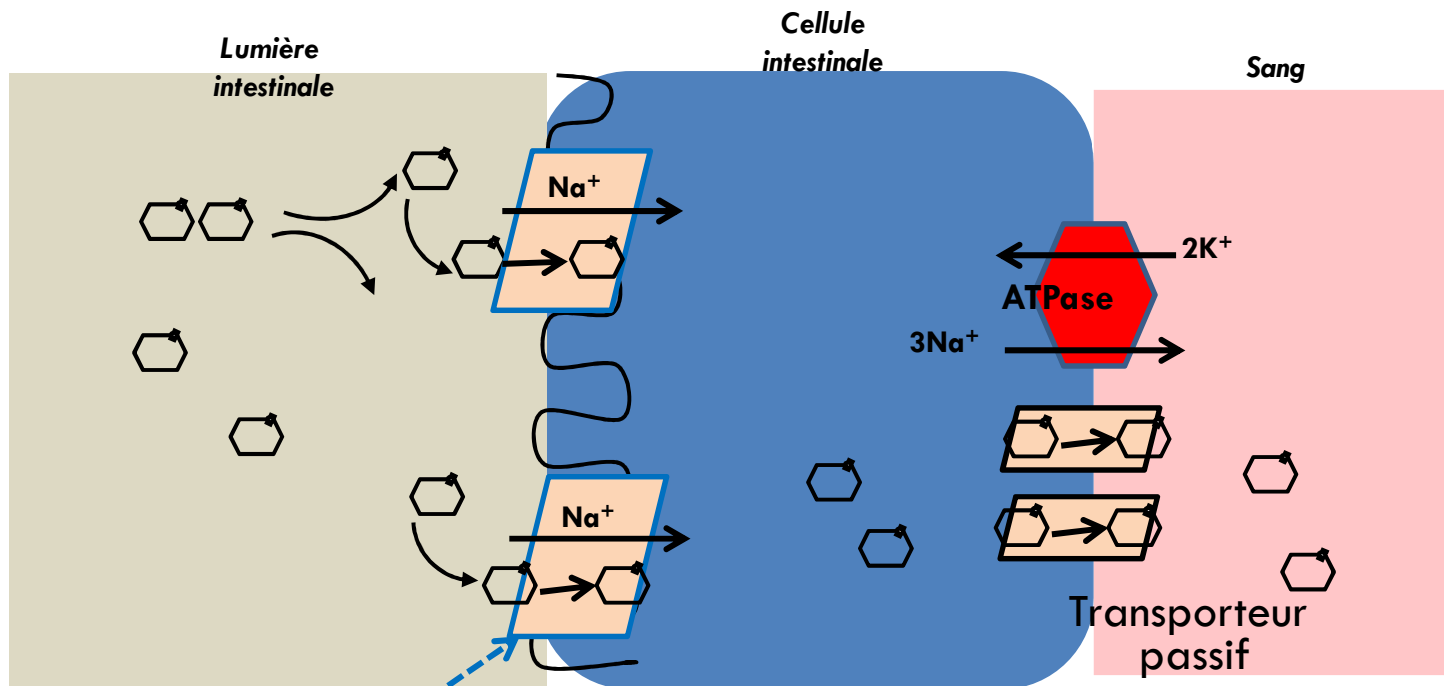


✚ **Index glycémique** : rapport de la glycémie (aire sous la courbe) après ingestion d'un aliment glucidique, sur la glycémie après absorption de glucose pur (référence, 100% de l'absorption intestinale du glucose ingéré).

L'index glycémique dépend de la composition de l'aliment en glucides, mais aussi de sa maturation, son mode de cuisson etc.

b. Digestion, absorption et transport des oses dans l'organisme

- Seuls les **monosaccharides** sont absorbés par la cellule intestinale. Hexoses parviennent dans le sang portal essentiellement sous forme de **glucose** (> 80%) (et peu, fructose et galactose).
- Absorption intestinale du glucose : transporteur dépendant du sodium fonctionnant de façon active secondairement (**SGT1** (SGLT1))



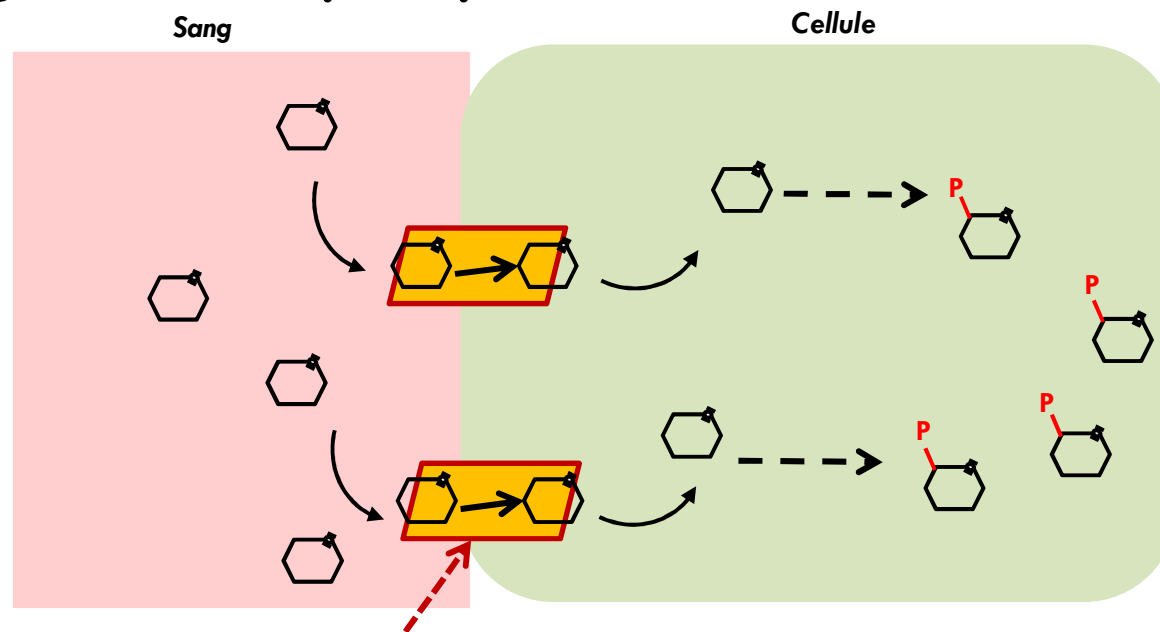
SGT1 : Sodium / Glucose Transporteur intestinal

Biochimie métabolique

II.2. Glycolyse A. Généralités

Au niveau des cellules : bicouche lipidique membranaire (obstacle à la pénétration cellulaire des oses)

- Transporteurs protéiques membranaires spéciaux pour le glucose (**GLUT**) diffusion facilitée (gradient de concentration)
- Phosphorylation du glucose dès la pénétration cellulaire, en **glucose-6-phosphate**.



GLUT : Transporteur protéique membranaire de glucose

Il existe deux types de transporteurs GLUT

➤ GLUT indépendants de l'insuline

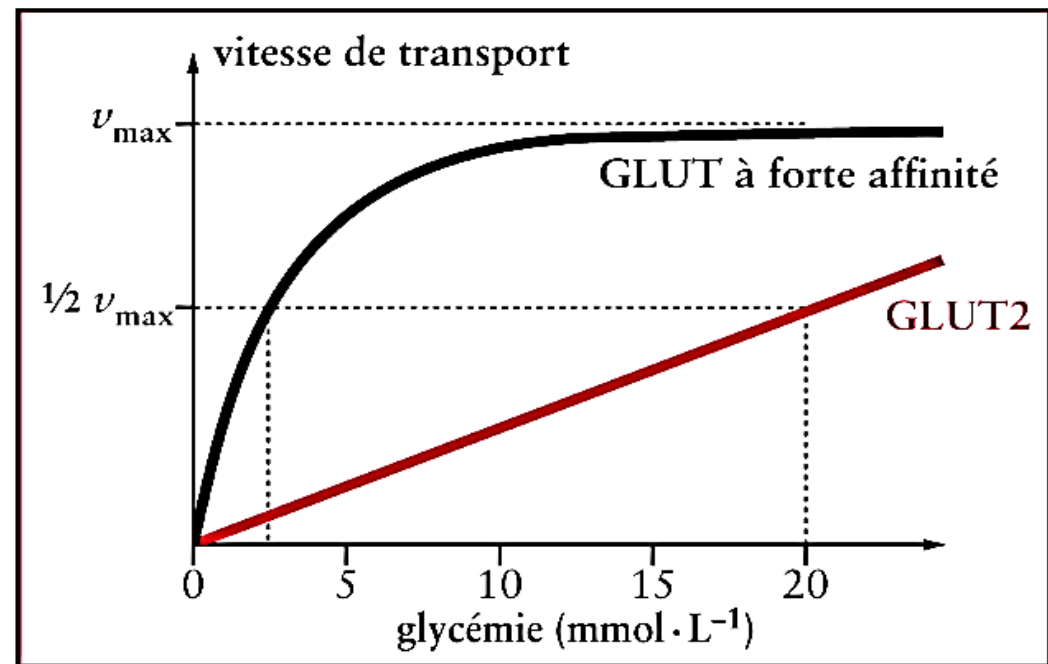
▪ GLUT-1 et GLUT-3

Responsables de la fourniture de base en glucose de nombreux tissus (tissu cérébral et GR).

Forte affinité pour le glucose.

▪ GLUT-2

Membrane cellules hépatiques et pancréatiques, membrane baso-latérale cellules intestinales, reins. Faible affinité pour le glucose.



- **GLUT insulino-dépendant : GLUT-4**
 - Ils se trouvent à la surface des adipocytes et des membranes des cellules musculaires.
 - Ils favorisent le stockage du glucose (glycogène, triglycérides)
 - Forte affinité pour le glucose.

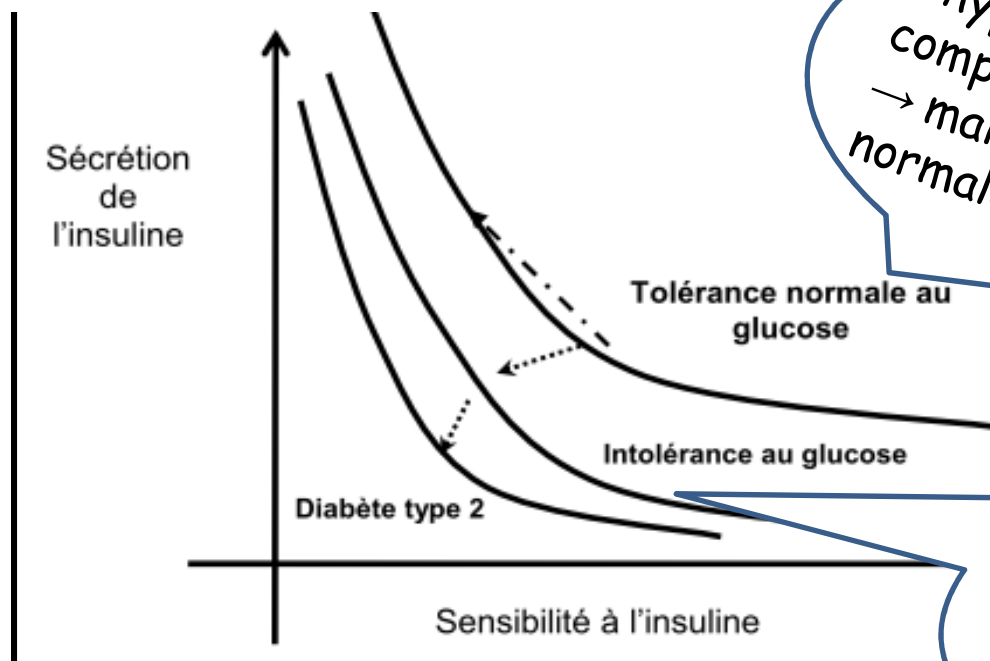
Importance biomédicale

L'insulino-résistance

Les transporteurs GLUT-4 « répondent » mal à la sécrétion d'insuline

→ Les cellules sont moins perméables au glucose, qui est donc moins métabolisé : augmentation de la glycémie.

→ Il existe une hypersécrétion compensatoire.



L'hyperinsulinémie peut compenser l'insulinorésistance → maintien d'une glycémie normale

Absence de compensation → intolérance au glucose ou diabète

Relation entre la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline (HAS 2006)

L'insulino-résistance peut s'associer à un **diabète de type-2**, ou diabète de la maturité (fréquent).

L'insulino-résistance s'associe fréquemment à d'autres anomalies métaboliques :

- dyslipidémies
- dysfonction endothéliale
- augmentation de facteurs procoagulants
- ...

L'insulino-résistance est impliquée dans plusieurs désordres physiopathologiques graves (certaines maladies cardio-vasculaires, cancers etc.)

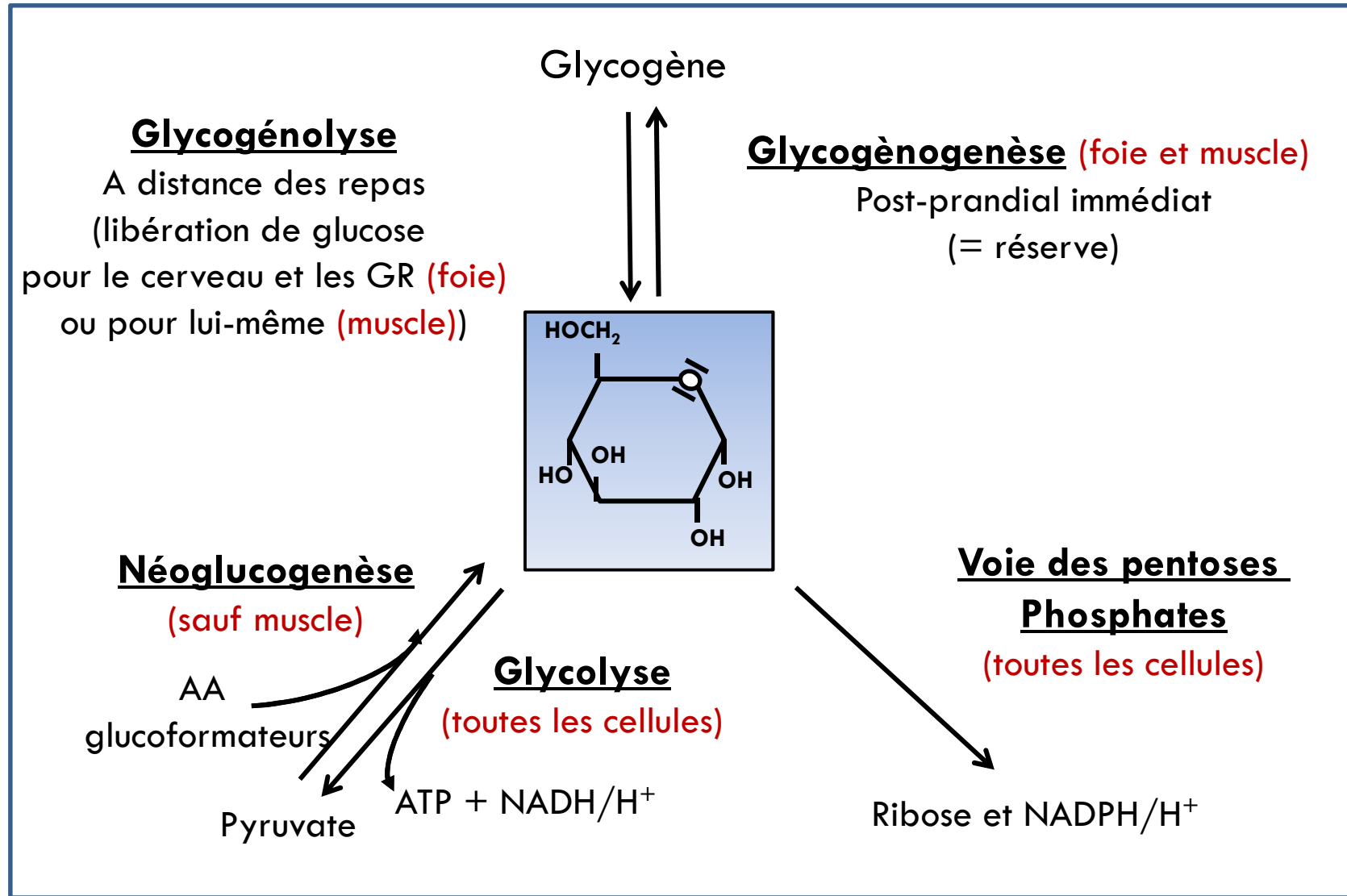
c. Glucose : nutriment énergétique fondamental

- Le glucose est hydrosoluble, forme libre circulante sanguine.

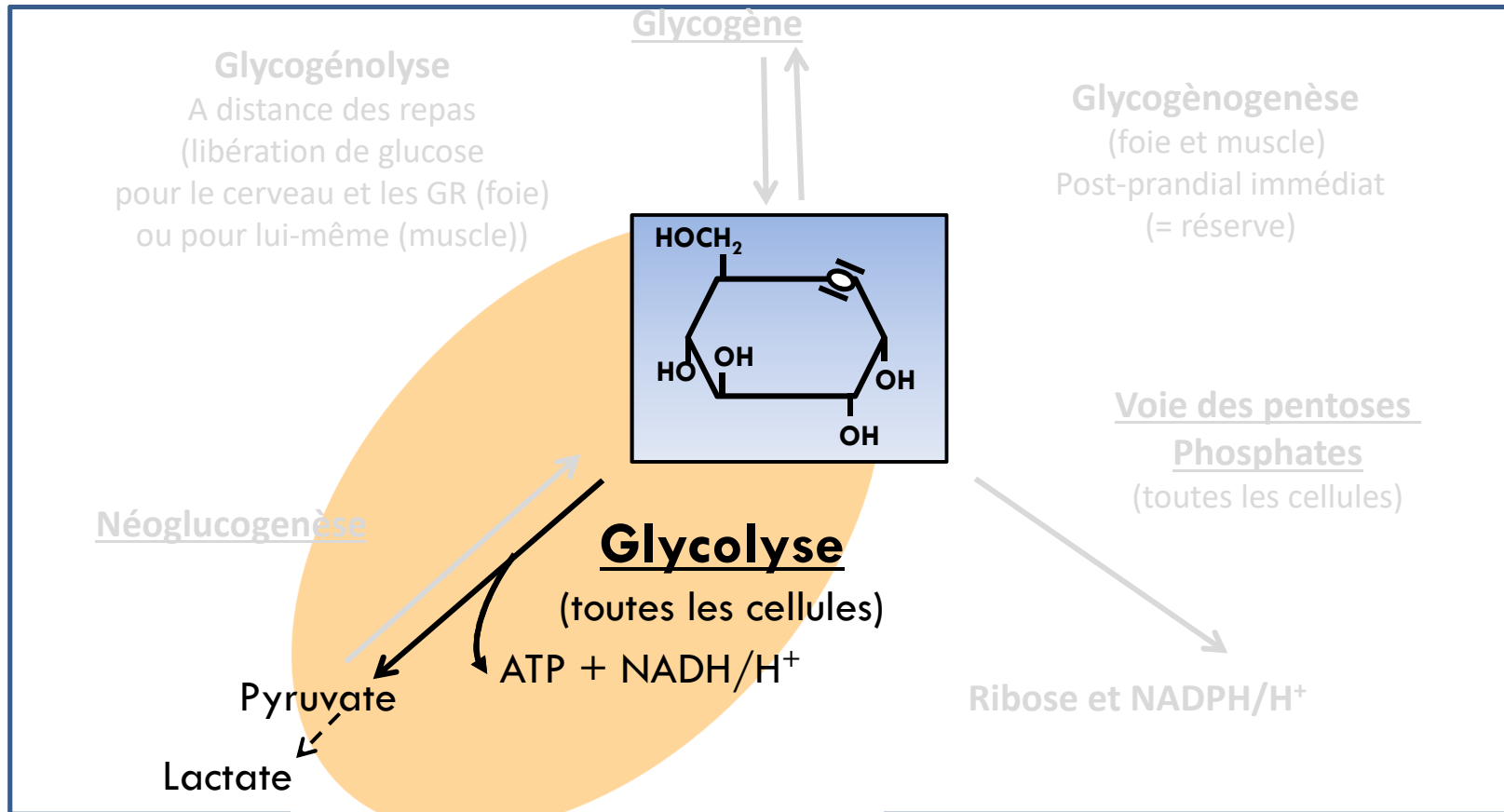
La glycémie à jeun entre 4 à 6 mmol/L (0,7 à 1,1 g/L).

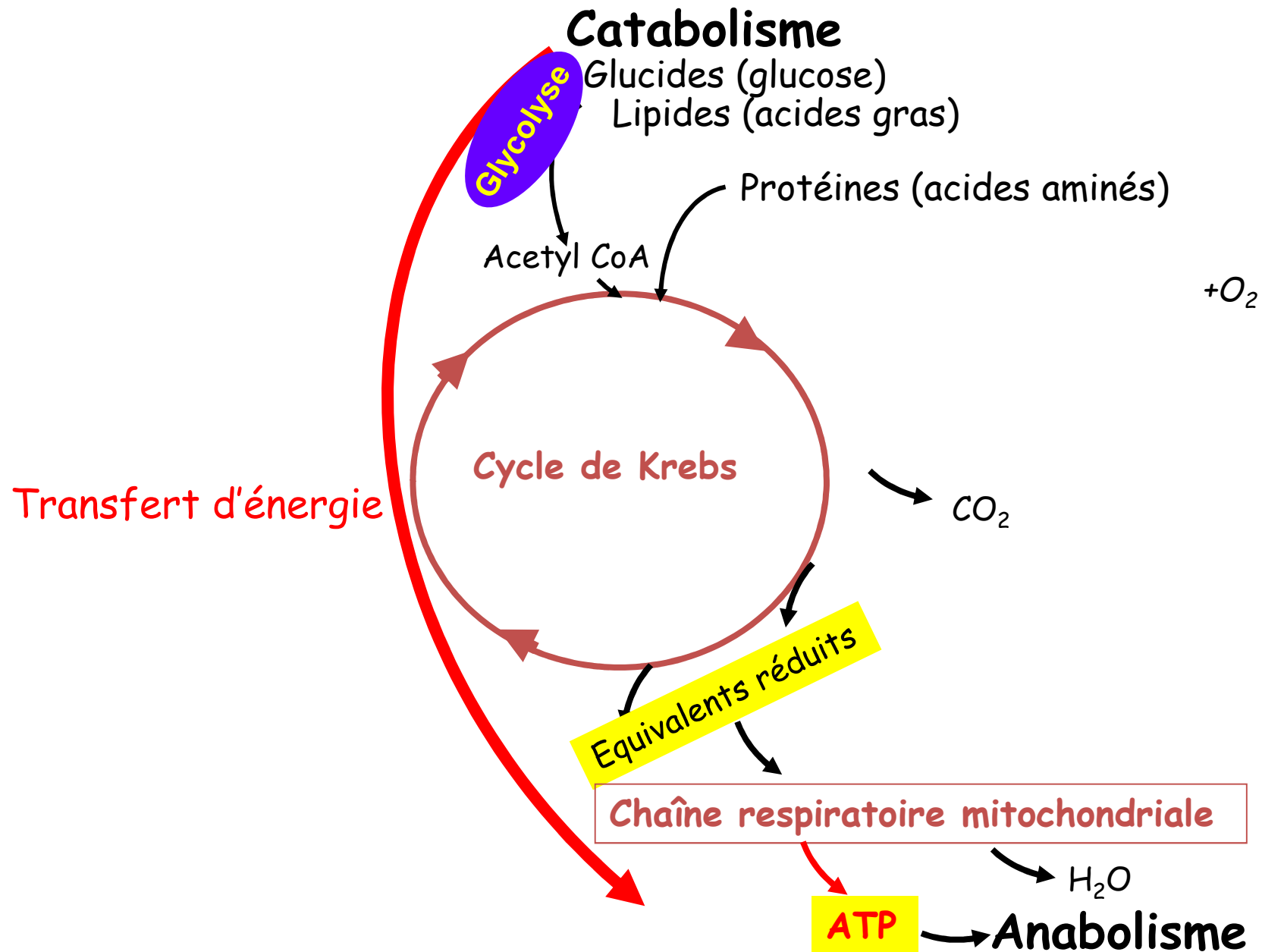
La définition du diabète est basée sur l'hyperglycémie (dont glycémie à jeun > 1,26g/L (7 mmol/L) à 2 reprises)

- Le glucose provient de notre alimentation après absorption intestinale :
 - augmentation de la glycémie : le métabolisme du glucose dans les cellules beta du pancréas déclenche une sécrétion d'insuline
 - captation par le foie de 30 à 40% du glucose et répartition du glucose restant dans les autres tissus.
 - fournit de l'énergie via la **glycolyse** ou est stocké dans le foie et les muscles (**glycogénogenèse**)
- A distance des repas, le glucose sanguin provient du foie via la **glycogénolyse** et la **néoglucogenèse** (jeûne prolongé) sous l'influence d'une augmentation de glucagon (cellules A du pancréas).



- Ensemble des réactions de **dégradation du glucose** en pyruvate (ou en lactate).
- Voie cytoplasmique.
- Dans toutes les cellules.





Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

A. Généralités sur le métabolisme glucidique

B. Etapes

A) Phase préparatoire

- Consomme de l'énergie : 2 ATP par molécule de glucose.
- Transforme 1 glucose en 2 molécules de glycéraldéhyde-3-P.

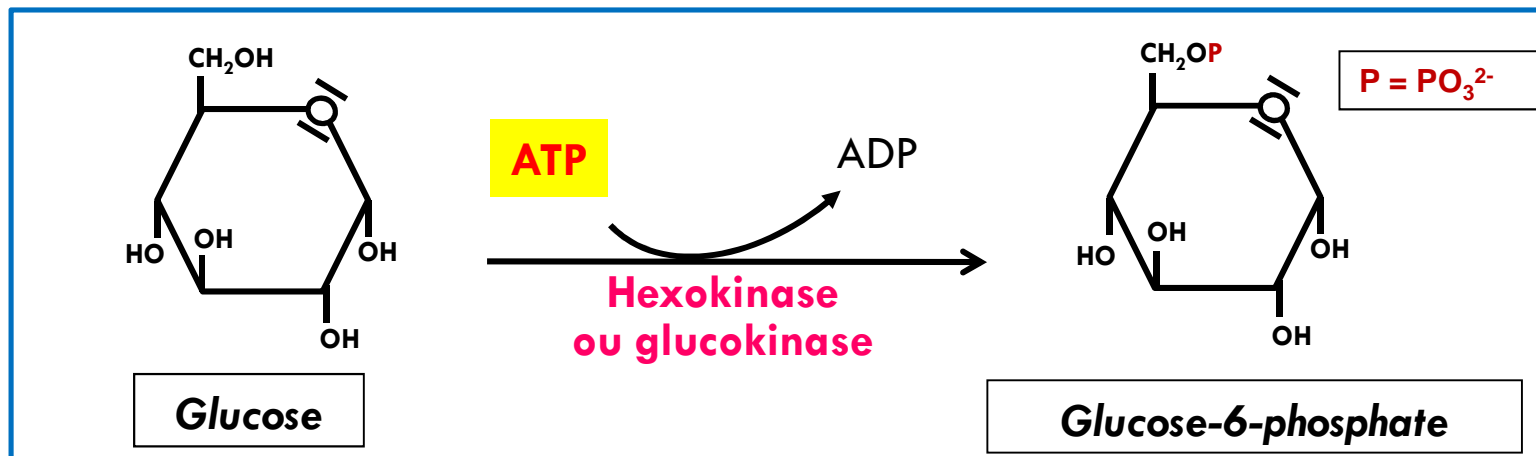
B) Phase de production d'énergie

- Chaque glycéraldéhyde-3-P est transformé en pyruvate (réduit en lactate en anaérobiose).

A) Phase préparatoire

A)1. Phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate (G-6-P) par une hexokinase

- Maintien du gradient de concentration du glucose en post-prandial
- Maintien des monosaccharides dans les cellules : le G-6-P chargé négativement ne peut quitter la cellule
- Perte d'énergie libre : **réaction irréversible.**



■ Hexokinases

- Différentes isoenzymes selon les tissus
- Phosphorylent tous les hexoses, haute affinité pour le glucose (à faible C^o de glucose fonctionne à débit maximum), inhibées par le G-6-P.

■ Glucokinase dans le foie (pas d'hexokinase) et le pancréas

- Spécifique du glucose
- Faible affinité pour le glucose : « senseur » de la glycémie

- Foie

- après un repas, glucose emmagasiné (glycogène)
- jeûne, glucose disponible pour les autres organes (le glucose est la principale source d'énergie du cerveau).

- Pancréas : synthèse d'insuline adaptée à la glycémie ³⁵

Importance biomédicale

Il existe des mutations sur le gène de la glucokinase responsables d'un diabète monogénique à début précoce : **le diabète MODY-2** (Maturity Onset Diabetes of the Young 2)

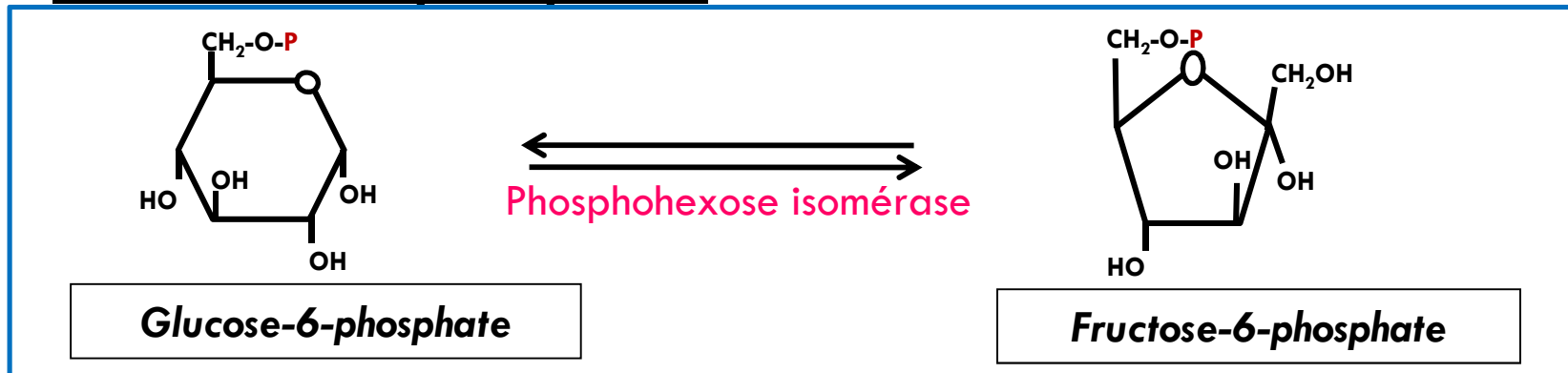
Diminution de l'activité enzymatique de la glucokinase

- Diminution dans le pancréas du flux glycolytique pour un niveau glycémique donné.
 - Elévation du seuil glycémique induisant la sécrétion d'insuline (= diminution de la sécrétion d'insuline pour un seuil donné)
 - La diminution de l'insulinémie entraîne
 - une diminution de la glycogénogenèse hépatique
 - une augmentation de la néoglucogenèse hépatique
- hyperglycémie modérée débutant chez un sujet jeune et mince, transmission autosomique dominante

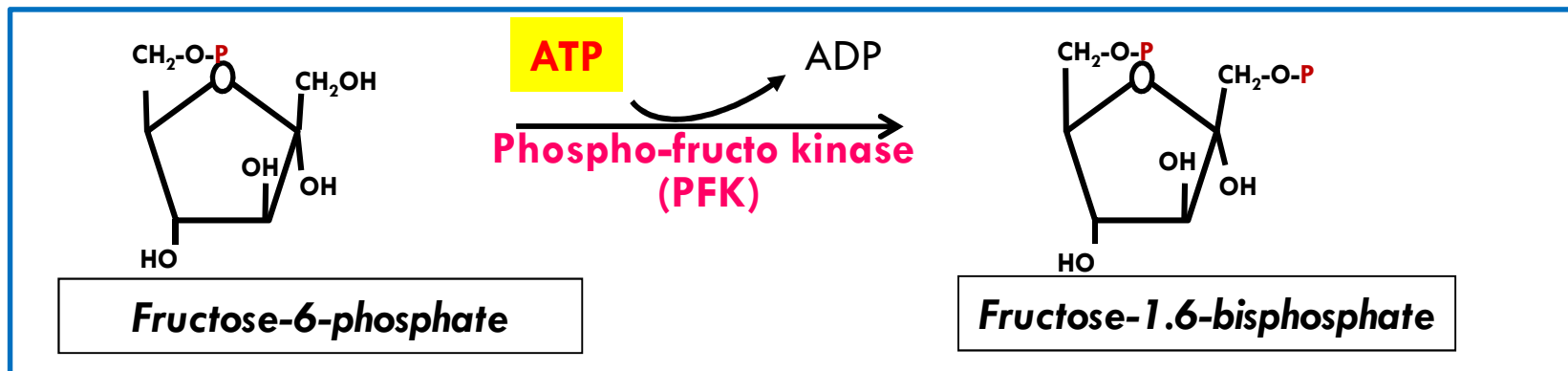
- Quantité de glucose métabolisé dans les cellules
 - Dépendante de l'hexokinase/glucokinase présente dans le tissu
 - La quantité d'hexokinase présente est régulée par les besoins du tissu en glucose

- Glucose-6-Phosphate
 - Le glucose sous la forme G-6-P est la molécule centrale du métabolisme des glucides.
 - En fonction des besoins, il emprunte une des voies du métabolisme glucidique (glycolyse ou glycogénogenèse).

A) 2. Isomérisation du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate Réaction réversible

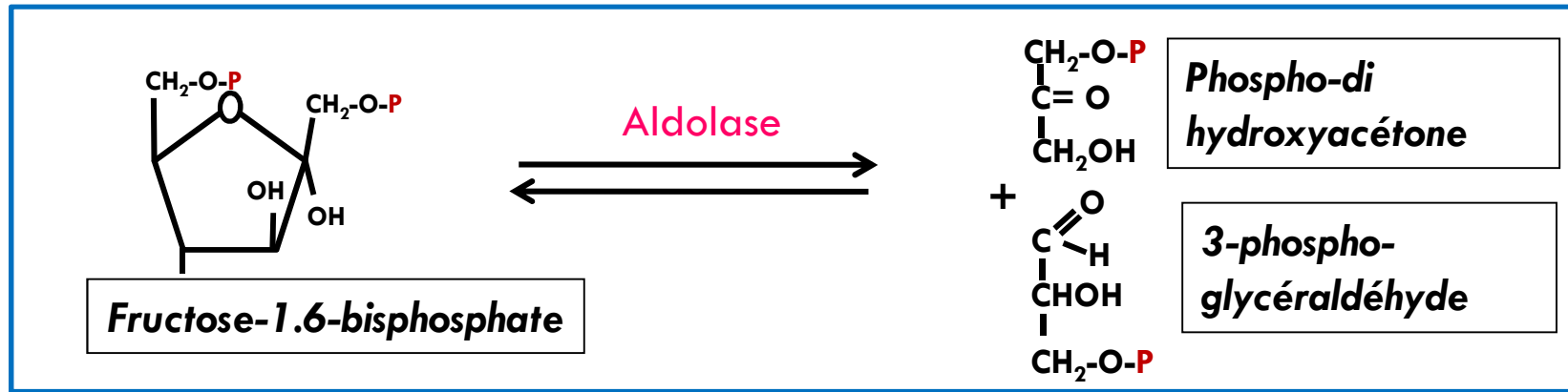


A) 3. Phosphorylation du fructose-6-phosphate en fructose-1.6-bisphosphate

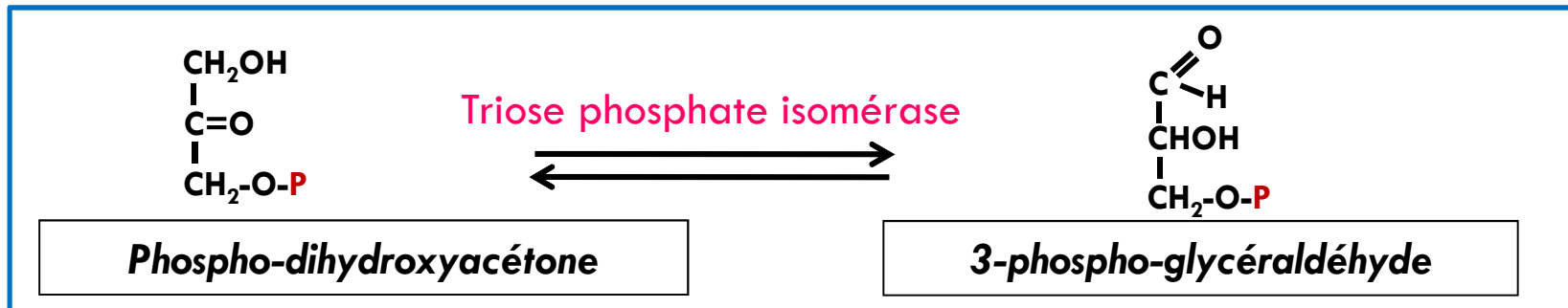


- Réaction irréversible consommant 1 ATP
- La PFK est une enzyme allostérique régulée par : l'ATP, le citrate (-) et l'AMP, l'ADP (+).

A)4. Synthèse de phospho dihydroxyacétone et de 3-phospho-glycéraldéhyde



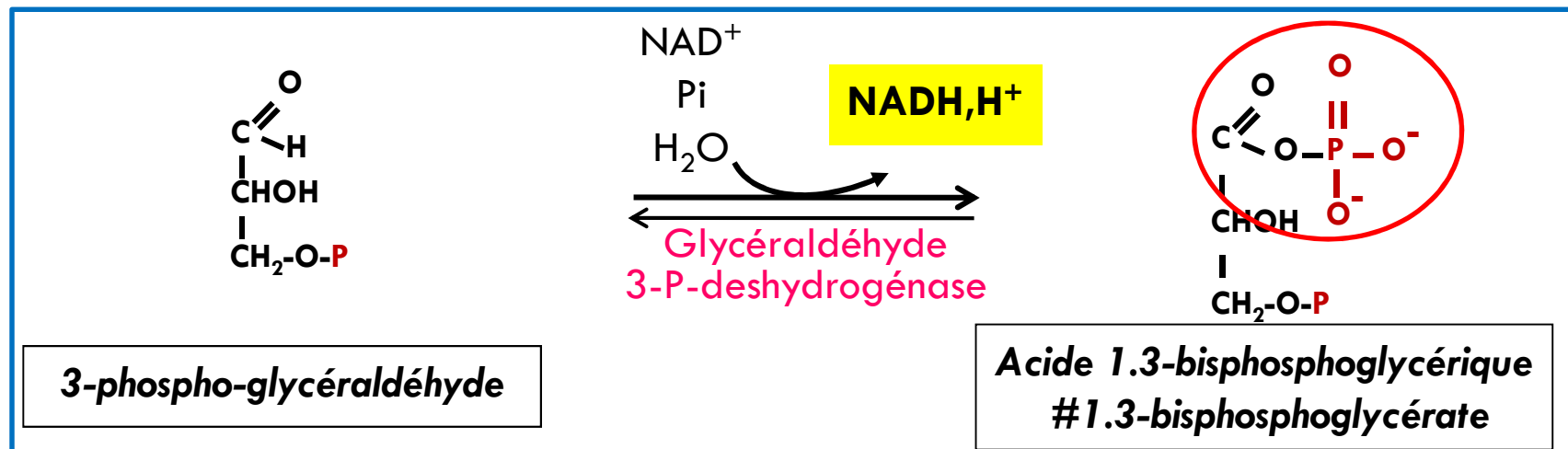
5. Interconversion des trioses



- L'utilisation permanente du 3-phospho-glycéraldéhyde déplace l'équilibre en faveur de sa synthèse.

B) Phase de production d'énergie

B) 1. Oxydation du 3-phospho-glycéraldéhyde



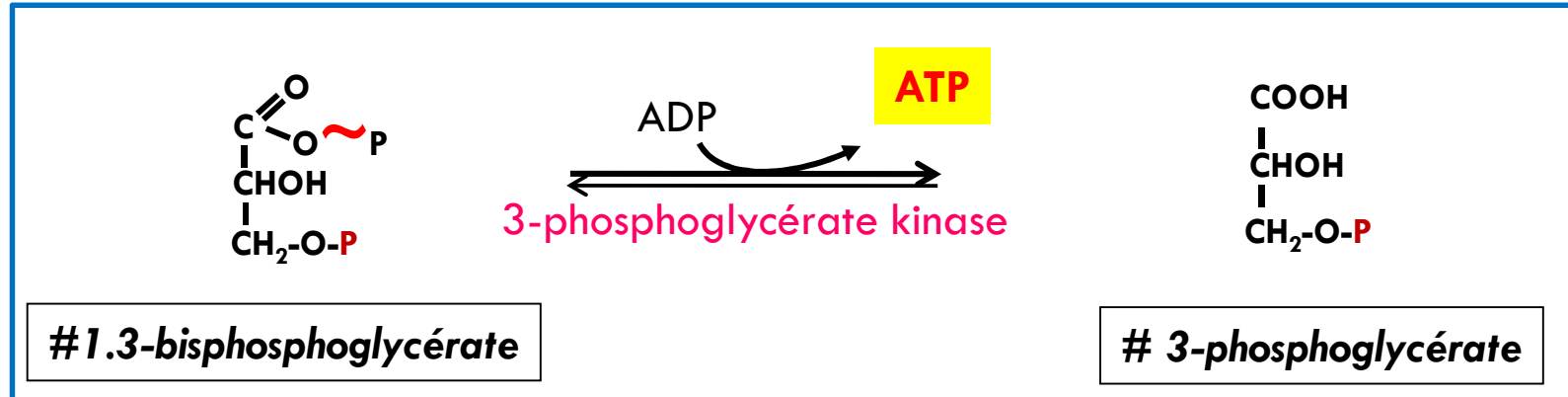
Réaction d'oxydation (du groupe aldéhyde) et de phosphorylation générant :

- Une **liaison anhydride mixte** (1.3-bisphosphoglycérate) : riche en énergie (~) ($\Delta G'^0 \# - 49 \text{ kJ/mol}$).

Le groupe aldéhyde en C1 est converti en **acyl phosphate** (anhydride mixte d'acide phosphorique et d'acide carboxylique)

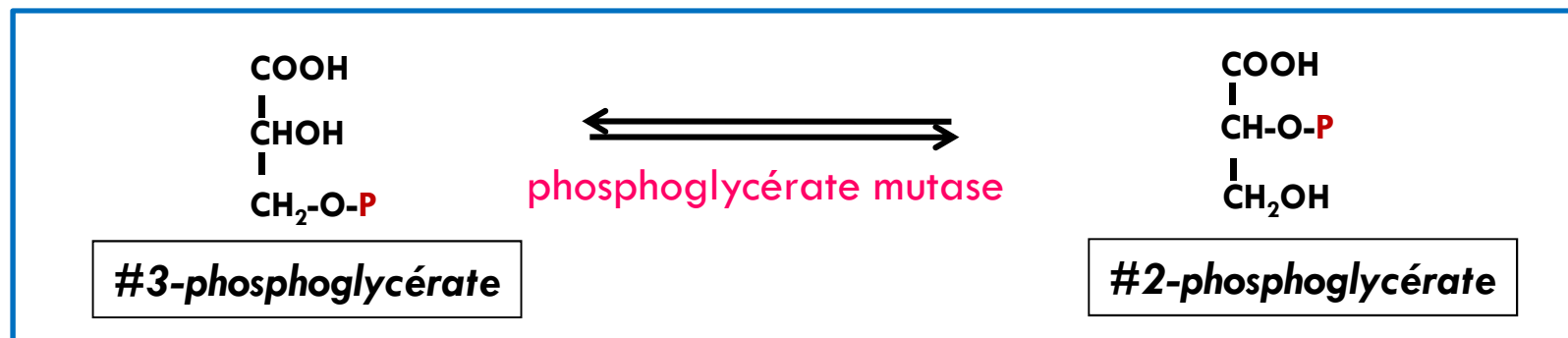
- Un **coenzyme réduit** par molécule de 3-P-glycéraldéhyde oxydé (donc 2 NADH, H⁺ pour un glucose)

B) 2. Transfert d'un phosphate

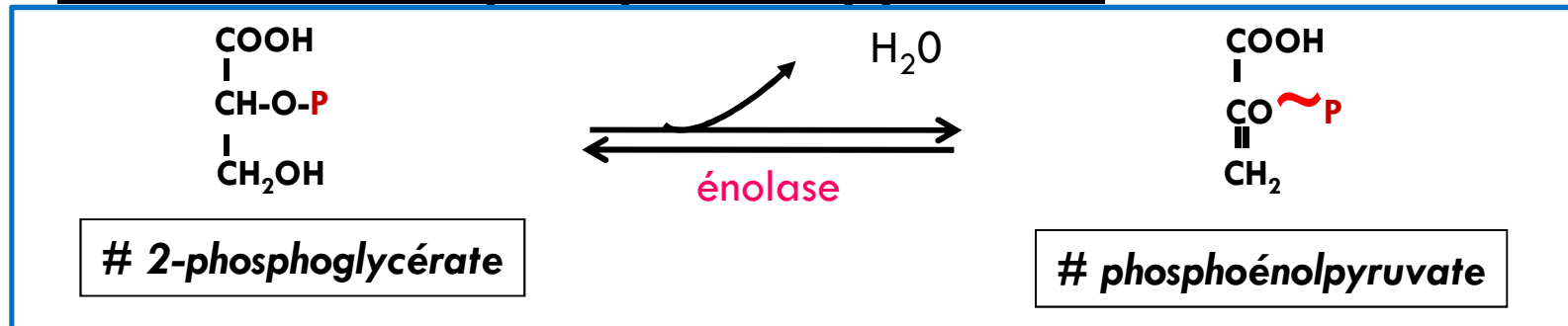


Production d'**1 ATP** directement (donc 2 ATP par molécule de glucose), porteur de 2 **liaisons anhydride phosphoriques**, riches en énergie.

B) 3. Isomérisation du 3-phosphoglycérate

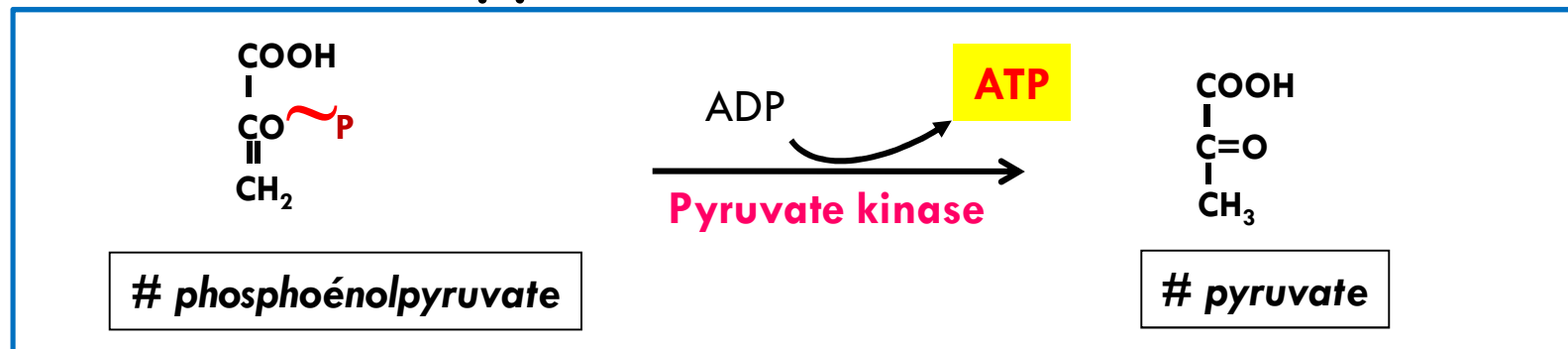


B) 4. Formation du phosphoénolpyruvate



Création d'une liaison phosphate d'énol, riche en énergie ($\Delta G'^{\circ} \# - 61,9 \text{ kJ/mol}$).

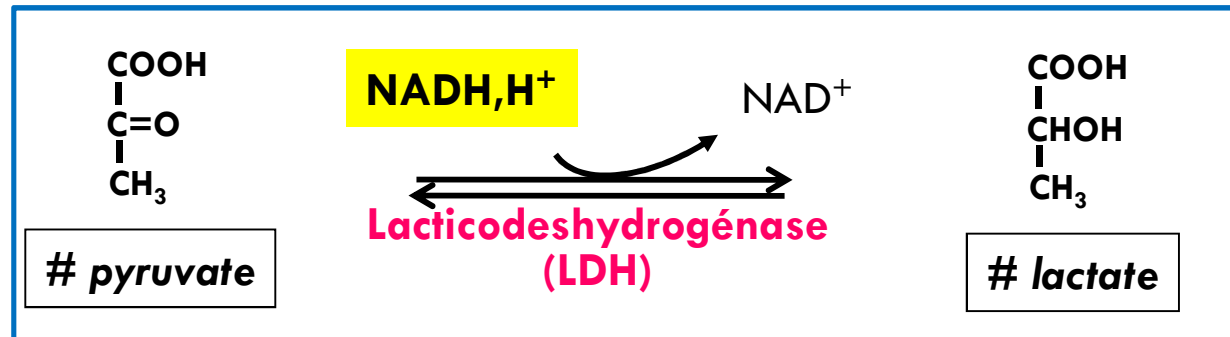
B) 5. Formation du pyruvate



- Réaction irréversible
- Production d'1 ATP directement (donc 2 ATP par molécule de glucose) avec perte d'énergie libre (chaleur)
- Le pyruvate en aérobiose pourra être décarboxylé (acétyl-CoA; Krebs) (métabolisme oxydatif).

B) 6. Réduction du pyruvate en lactate

Cette réduction ne se produit qu'en « anaérobiose ».



- Le pyruvate est réduit en lactate, il ne fournira pas l'acétyl-CoA (cycle de Krebs).
- Le NADH, H^+ est oxydé en NAD^+ .
 - Il y a « consommation » des équivalents réduits générés au cours de l'oxydation du 3-phospho-glycéraldéhyde (le NAD^+ produit sera utilisé pour la glycolyse).
 - ces équivalents ne sont plus oxydés par la chaîne respiratoire mitochondriale.

Différence de rendement énergétique entre la glycolyse se poursuivant par un métabolisme oxydatif et la situation d'« anaérobiose ».

- La réduction du pyruvate en lactate se produit dans
 - les tissus fonctionnant en condition « hypoxique »
 - Muscle squelettique ++
 - et cerveau, tractus gastro-intestinal, rétine, peau..
 - les érythrocytes même en condition aérobie.
La glycolyse fournit 90% de leur énergie.
- Certains tissus utilisent le lactate produit (réoxydation du lactate en pyruvate)
 - Le foie (néoglucogenèse, glycogénogenèse)
 - Les reins, le cœur, les muscles

▪ Rôles de la glycolyse

- ✓ Production d'énergie.
- ✓ Production de métabolites utiles à la synthèse des triglycérides (ex : P-dihydroxyacétone et glycérol).

▪ Le produit terminal et le bilan énergétique de la glycolyse dépendent du **fonctionnement, en aval, de la chaîne respiratoire mitochondriale.**

• *Fonctionnement de la chaîne respiratoire (métabolisme oxydatif, « aérobiose »)*

- ✓ Le produit final est le pyruvate secondairement oxydé en acétyl-coA.
- ✓ La glycolyse génère des équivalents réduits secondairement oxydés par la chaîne respiratoire mitochondriale.

• *Métabolisme non oxydatif (en « anaérobiose »)*

- ✓ Le pyruvate est réduit en lactate.
- ✓ Les équivalents réduits produits par la glycolyse sont oxydés (« consommés ») au cours de cette réaction.

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

A. Généralités sur le métabolisme glucidique

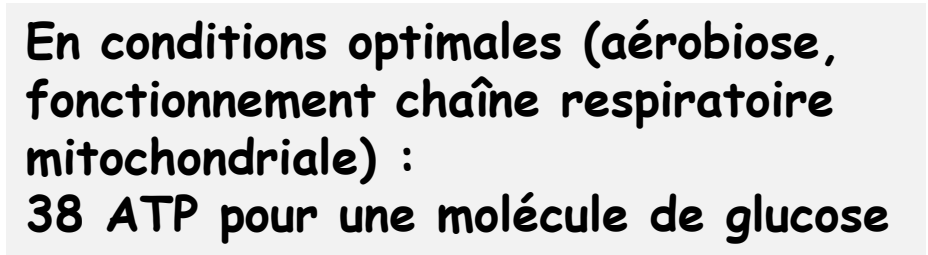
B. Etapes

C. Bilan énergétique

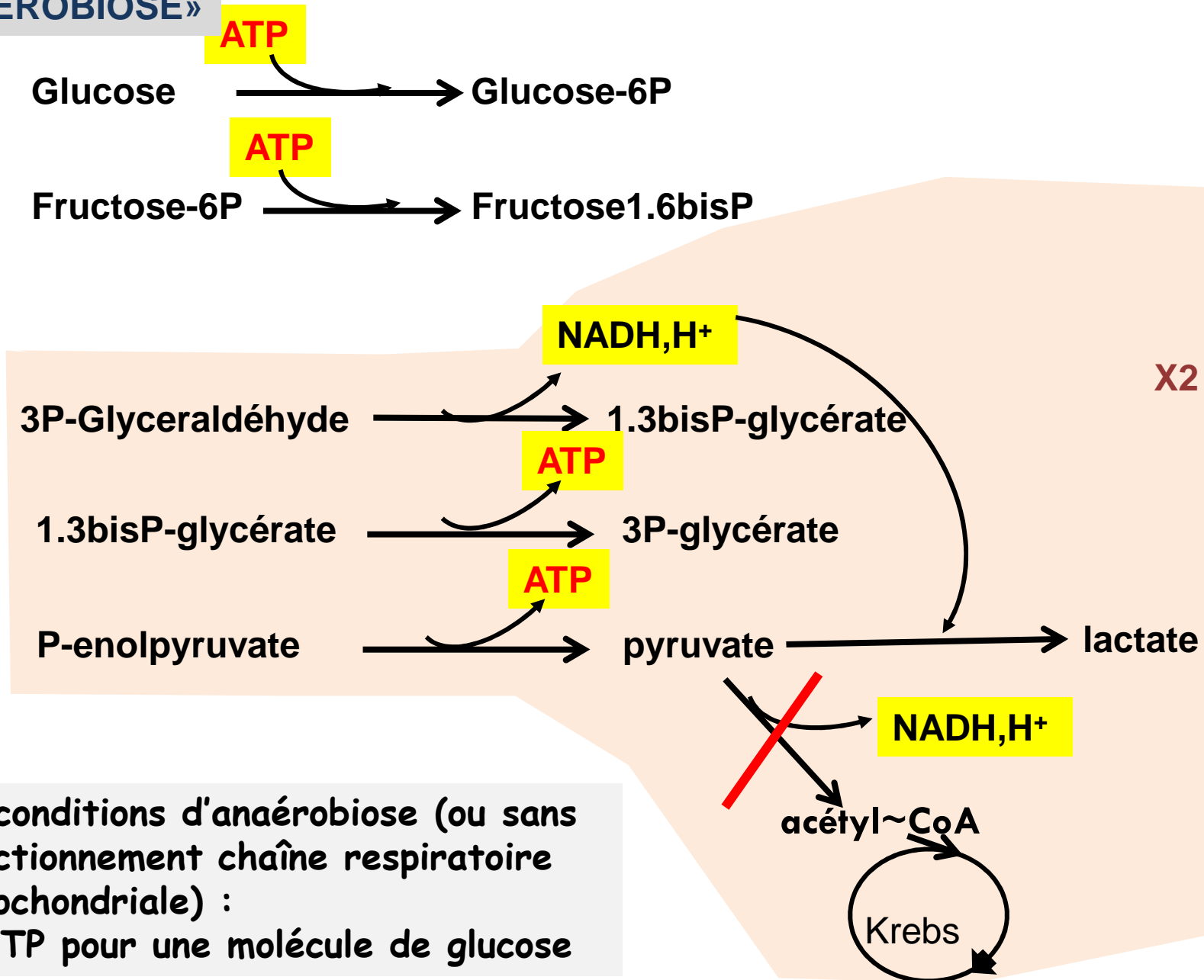
- ATP : monnaie énergétique cellulaire.
 - NADH, H^+ : La réoxydation des équivalents réduits dans la chaîne respiratoire mitochondriale en aérobiose permet la production d'ATP (la valeur approximative de 1 NADH, H^+ est de 3 ATP).
- ➡ Le bilan énergétique donné est une approximation.

Biochimie métabolique II.2. Glycolyse C. Bilan énergétique

Biochimie métabolique II.2. Glycolyse C. Bilan énergétique



«ANAEROBIOSE»



Importance biomédicale

- La glycolyse anaérobie est la seule manière possible de produire directement de l'énergie dans les cellules ne disposant pas de mitochondrie (érythrocytes).
- La glycolyse anaérobie pourrait être une solution de préservation énergétique du tissu en situation pathologique d'ischémie (ischémie myocardique par ex).
- Lors de l'anoxie/hypoxie (détresse cardio-respiratoire par ex.), le cycle de Krebs est freiné : le pyruvate s'accumule → hyperlactacidémie

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

3. Cycle de Krebs

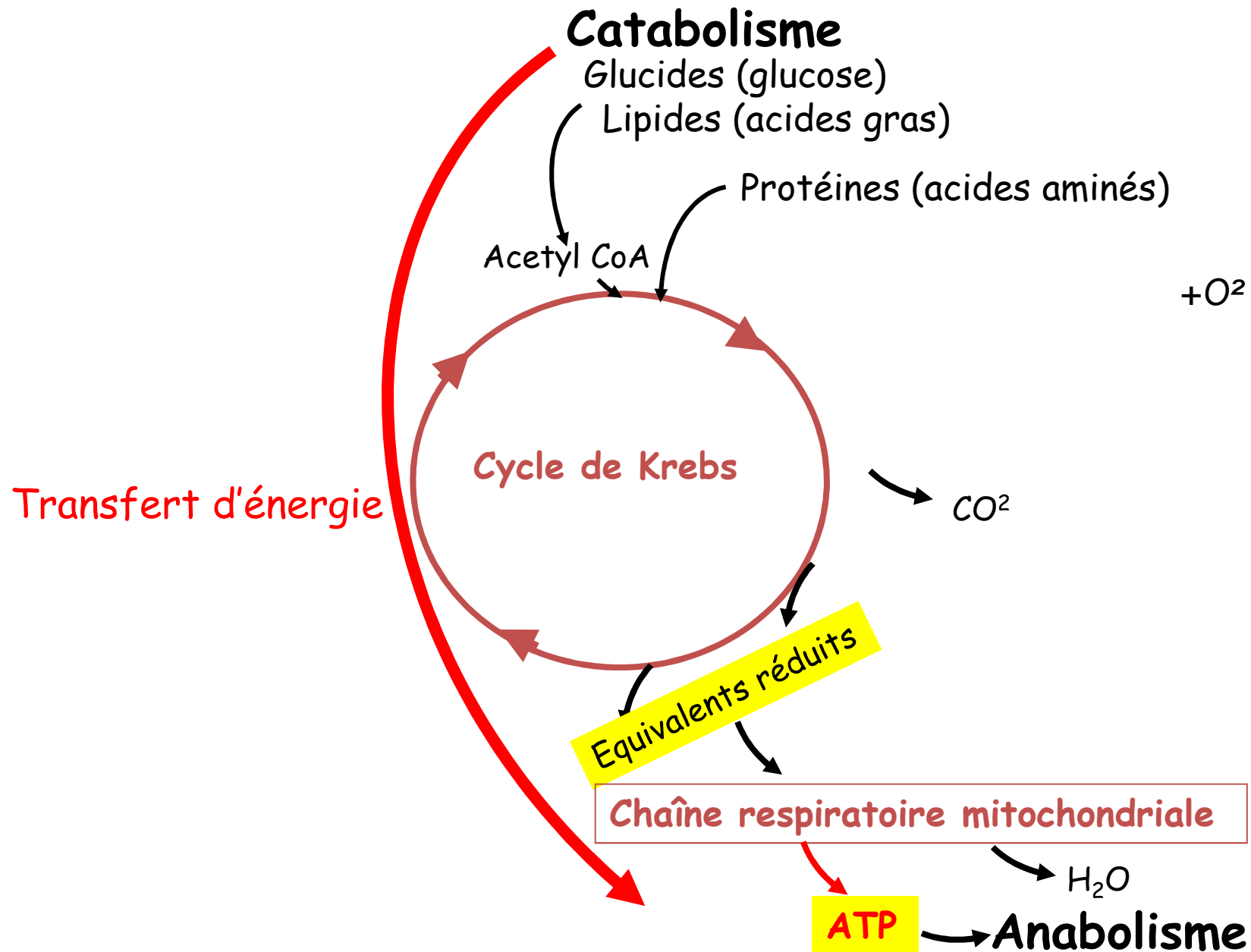
Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

3. Cycle de Krebs

A. Généralités

- Cycle de l'acide citrique ou des acides tricarboxyliques.
- Le cycle de Krebs est **une voie amphibolique majeure** véritable «plaque tournante» du métabolisme
 - Issue finale commune de l'oxydation des G, L, P : voie catabolique principale de l'**acétyl~CoA**
 - Rôle dans l'anabolisme : source d'intermédiaires utilisés dans la néoglucogenèse, la transamination, la désamination, la lipogenèse.



- Le cycle de Krebs se déroule dans la **mitochondrie** (enzymes matriciels).
- Il produit de **l'énergie** (lui-même peu : 1 ATP), mais surtout génère des **coenzymes réduits** qui produiront secondairement une grande quantité d'énergie lors de leur réoxydation dans la chaîne respiratoire mitochondriale.
- Processus **aérobie** qui compte 8 réactions biochimiques, et est précédé d'une importante étape : la **décarboxylation oxydative** du pyruvate en acétyl~CoA.

Importance biomédicale

- Le cycle de Krebs est d'une importance vitale : très peu d'anomalies génétiques des enzymes du cycle de Krebs connues chez l'homme (non viables).
- L'absence totale (anoxie) ou partielle (hypoxie) d'oxygène provoquent une inhibition du cycle de Krebs.

Biochimie métabolique

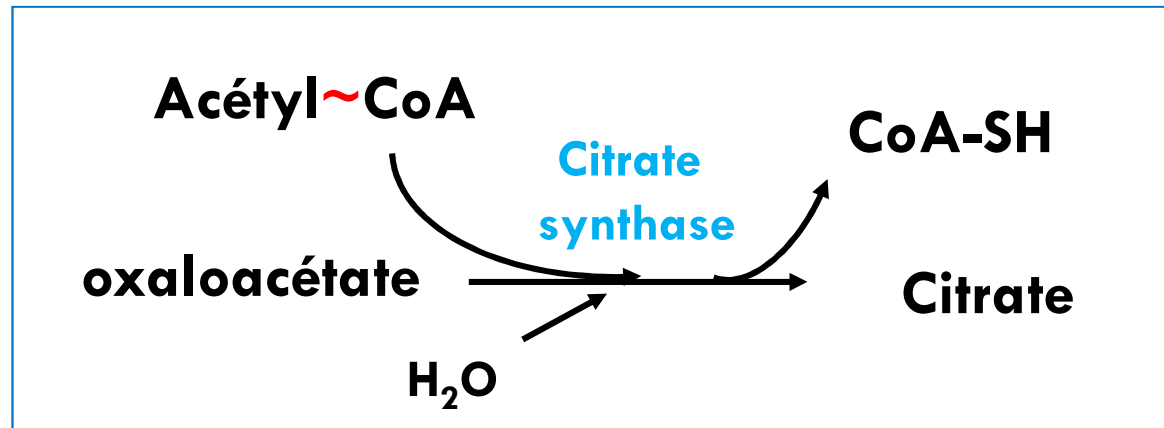
II. Exemples de voies métaboliques

3. Cycle de Krebs

A. Généralités

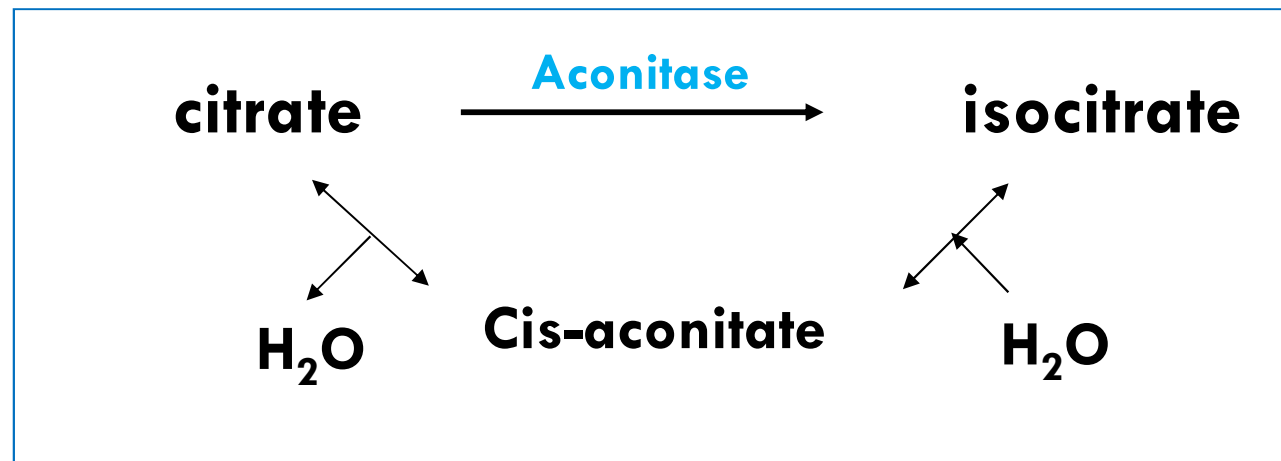
B. Etapes

1-Condensation de l'acétyl~CoA avec l'oxaloacétate



- **Réaction exergonique irréversible** par hydrolyse d'une liaison thioester riche en énergie ($\Delta G'^{\circ} \# - 31,5 \text{ kJ/mol}$)
- Le succinyl~CoA (produit de la 4^{ème} réaction) inhibe l'action de la citrate synthase (compétition avec l'acétyl~CoA).

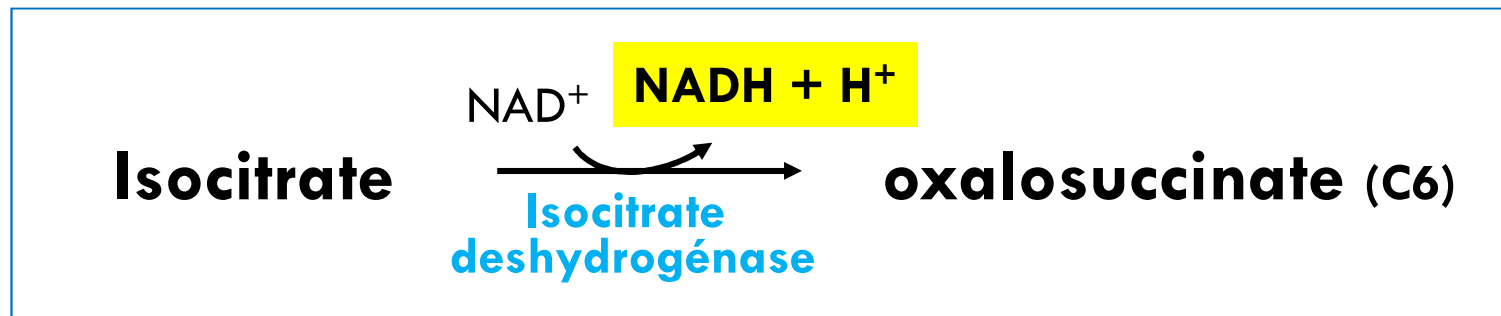
2-Transformation du citrate en isocitrate



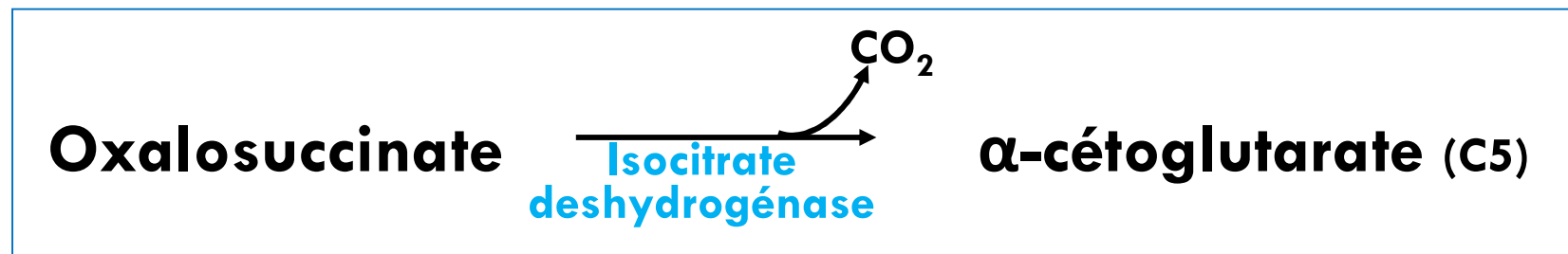
- L'aconitase (aconitate hydratase) est une métallo-enzyme (Fe^{2+})
- Réaction réversible. L'utilisation de l'isocitrate déplace la réaction en sa faveur.

3-Passage de l'isocitrate à l' α -cétoglutarate

- Oxydation (deshydrogénation) de l'isocitrate couplée à la réduction du co-enzyme NAD^+ . L'oxalosuccinate reste lié à l'enzyme.

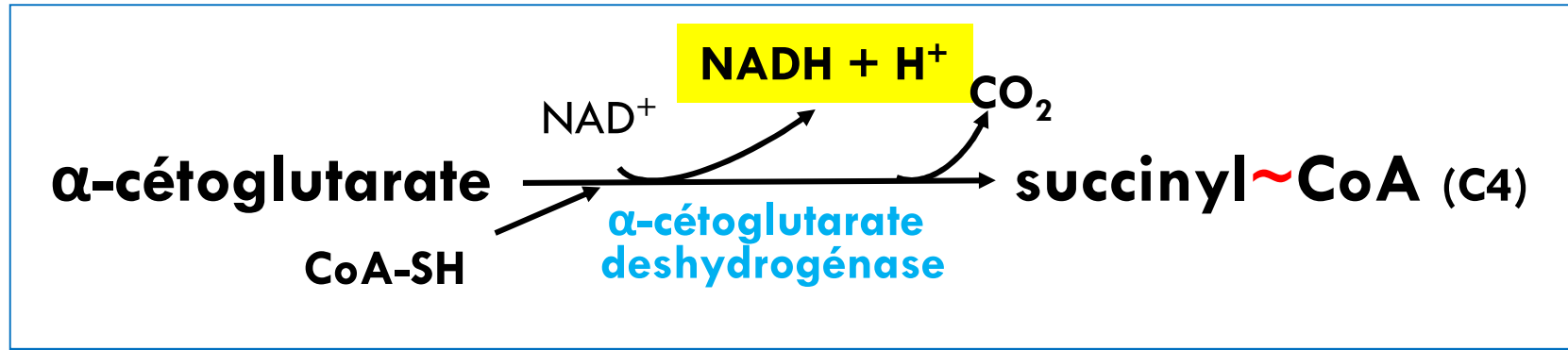


- Décarboxylation de l'oxalosuccinate en α -cétoglutarate



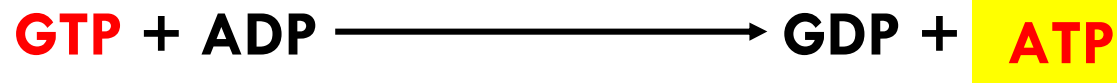
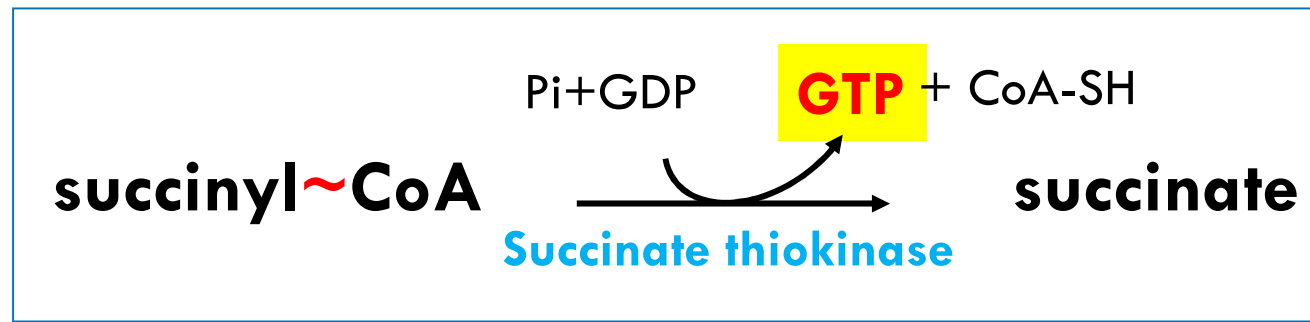
- Réaction irréversible ($\Delta G'^\circ \# -21 \text{ kJ/mol}$).
- Activateurs de l'isocitrate deshydrogénase : ADP , NAD^+
- Inhibiteurs de l'isocitrate deshydrogénase : ATP , $\text{NADH} + \text{H}^+$

4-Décarboxylation oxydative de l' α -cétoglutarate en succinyl~CoA



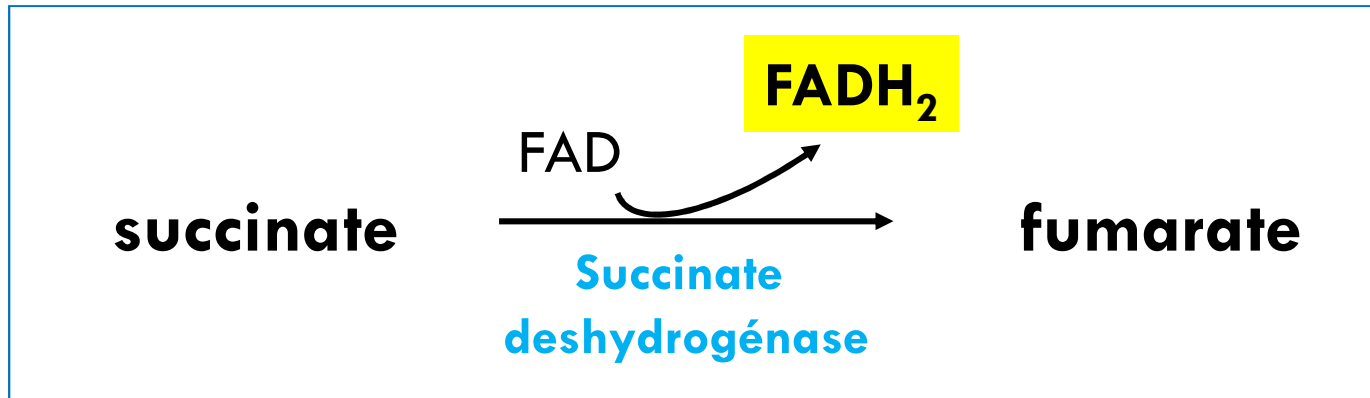
- α -cétoglutarate deshydrogénase : complexe multi-enzymatique
 - Enzymes : lipoate transsuccinylase, α -cétoglutarate décarboxylase, dihydrolipoyl décarboxylase
 - Co-enzymes : TPP, acide lipoïque, CoA-SH, NAD^+ , FAD^+
- Réaction irréversible en faveur du succinyl~CoA
- Liaison thioester du succinyl~CoA : **énergétique** ($\Delta G'^\circ \# -31,5 \text{ kJ/mol}$)
- Succinyl~CoA : jonction de plusieurs voies du métabolisme

5-Formation du succinate



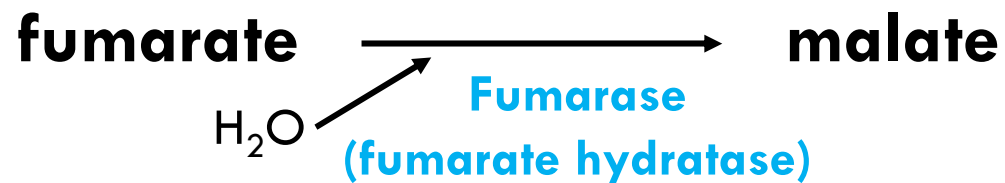
L'énergie de la liaison riche portée par le succinyl~CoA est suffisante pour créer 1 **ATP**.

6-Transformation du succinate en fumarate

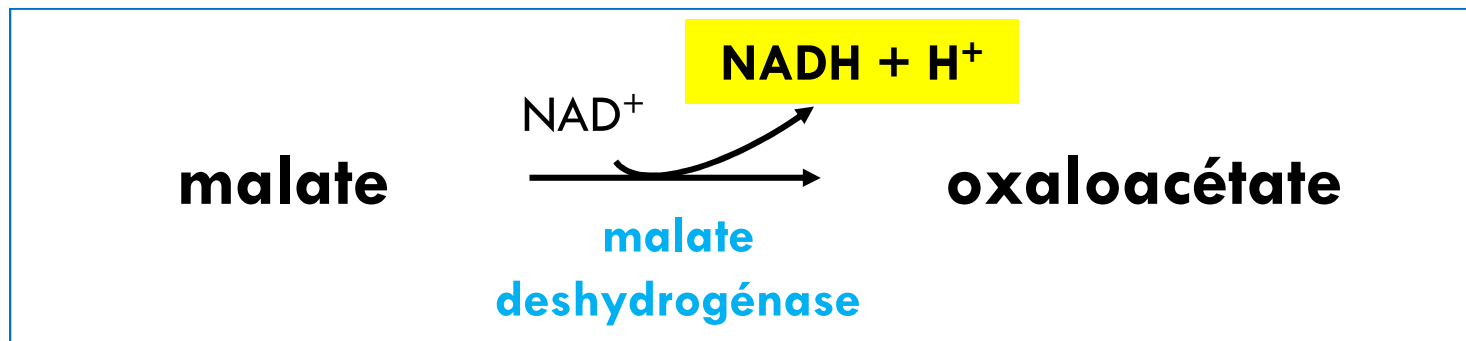


- **Oxydation** (deshydrogénation) en présence de **FAD**.
- L'enzyme est
 - Liée à la surface interne de la membrane mitochondriale interne (complexe II chaîne respiratoire mitochondriale)
 - activée par le succinate
 - inhibée par le fumarate et l'oxaloacétate.

7-Hydratation du fumarate en malate



8-Oxydation deshydrogénation du malate et régénération de l'oxaloacétate



- **Réaction irréversible** ($\Delta G'^{\circ} \# -30 \text{ kJ/mol}$)
- La réaction de condensation de l'acétyl~CoA avec l'oxaloacétate (réaction 1) est la plus exergonique, le cycle se répète.

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

3. Cycle de Krebs

A. Généralités

B. Etapes

C. Régulation

■ Biodisponibilité des substrats

- **Acétyl~CoA.** La décarboxylation oxydative du pyruvate (glycolyse) en acétyl~CoA constitue une voie de synthèse irréversible de ce produit, l'oxydation des acides gras aboutit à l'acétyl~CoA, de même que le catabolisme de certains acides aminés.
- Oxaloacétate (accepteur initial)

■ Présence de cofacteurs

- **Cofacteurs deshydrogénasiques oxydés** (NAD^+ , FAD)
- Fort couplage entre l'oxydation et la phosphorylation dans la chaîne respiratoire : dépend de la biodisponibilité de l'ADP (donc **du taux d'utilisation de l'ATP** : quantité importante d'ATP disponible :
I/transfert des électrons ralenti II/co-enzymes réduits non réoxydés III/ donc non disponibles pour le cycle de Krebs)
- **Taux suffisant d'oxygène** (permet la réoxydation des équivalents réduits formés)

- Sites de régulation au niveau des enzymes
 - Réactions catalysées par des déshydrogénases : enzymes activées par le Ca^{++}
 - Aconitase : métallo-enzyme, Fe^{2+}
 - Isocitrate deshydrogénase : Mn^{2+} ou Mg^{2+}

- Régulation par les lois générales de l'équilibre chimique

Si l'un des produits diminue, la réaction augmente (citrate, succinyl~CoA...).

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

3. Cycle de Krebs

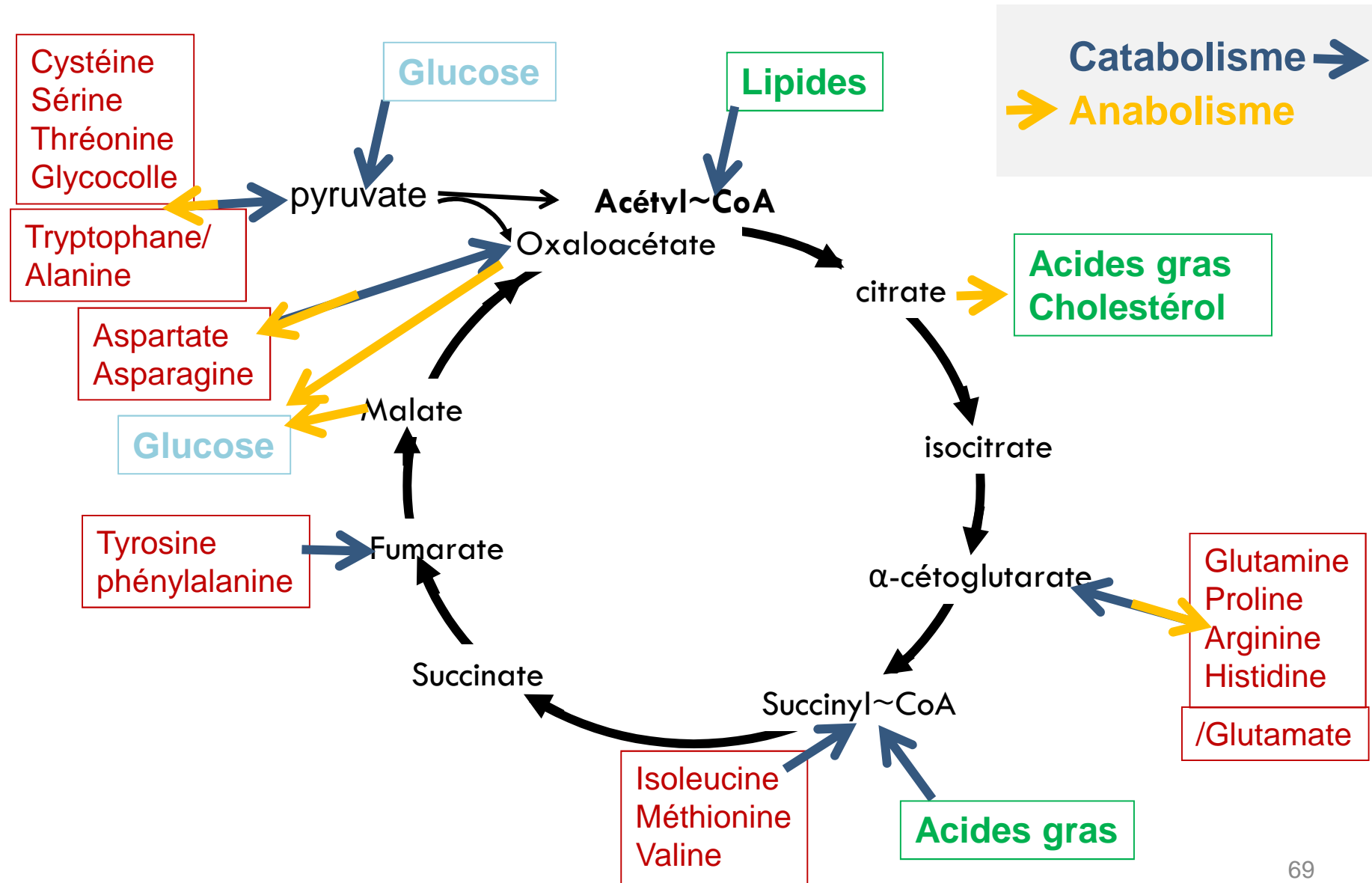
A. Généralités

B. Etapes

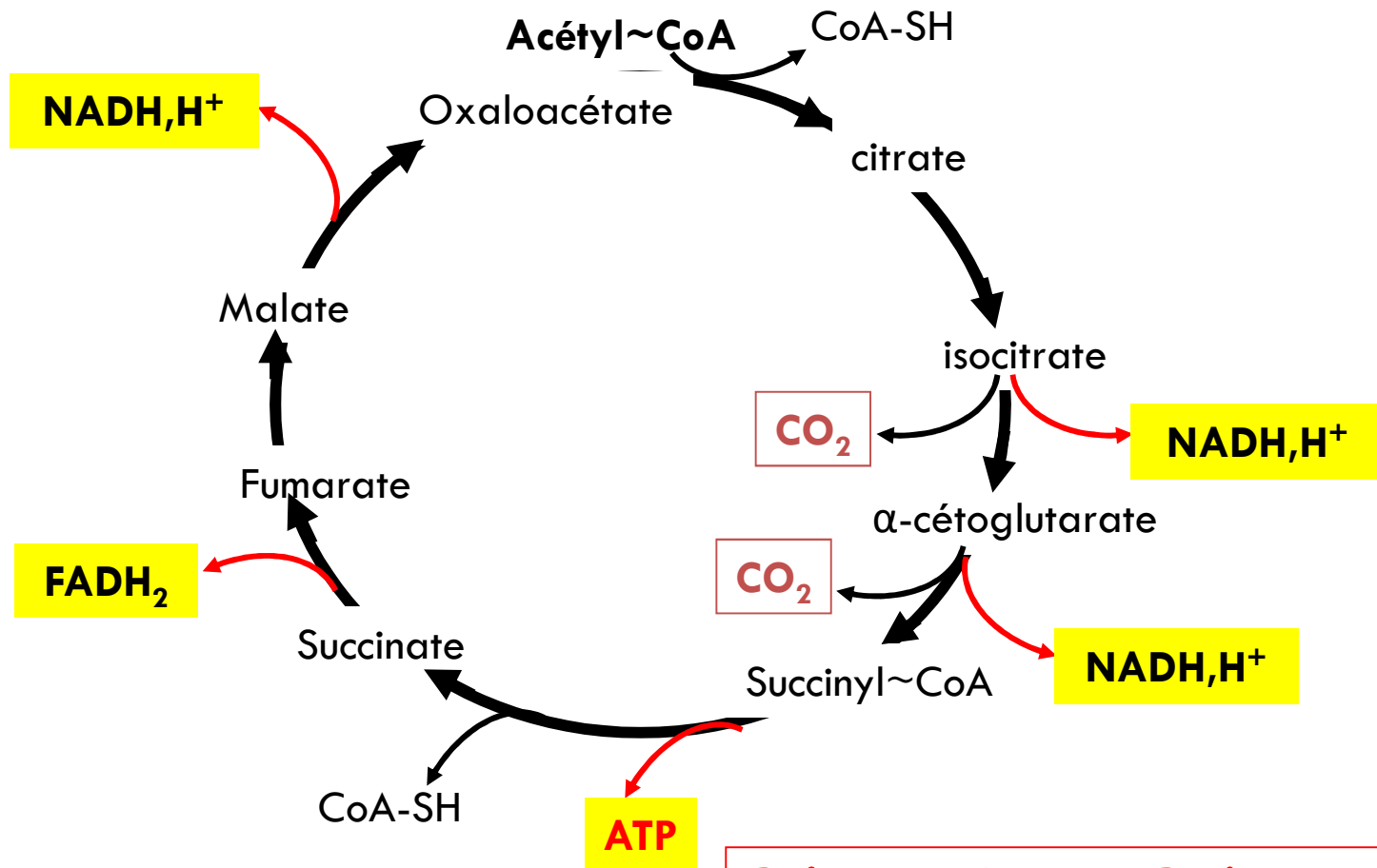
C. Régulation

D. Bilan

Voie amphibolique, plaque tournante du métabolisme



Bilan énergétique



Bilan : 12 ATP (environ)

Le NADH, H⁺ est équivalent à 3 ATP. 3 NADH, H⁺ formés : 9 ATP

Le FADH₂ est équivalent à 2 ATP. 1 FADH₂ formé : 2 ATP

Au niveau de l'étape de la succinate thiokinase : 1 ATP

Biochimie métabolique

II. Exemples de voies métaboliques

3. Cycle de Krebs

A. Généralités

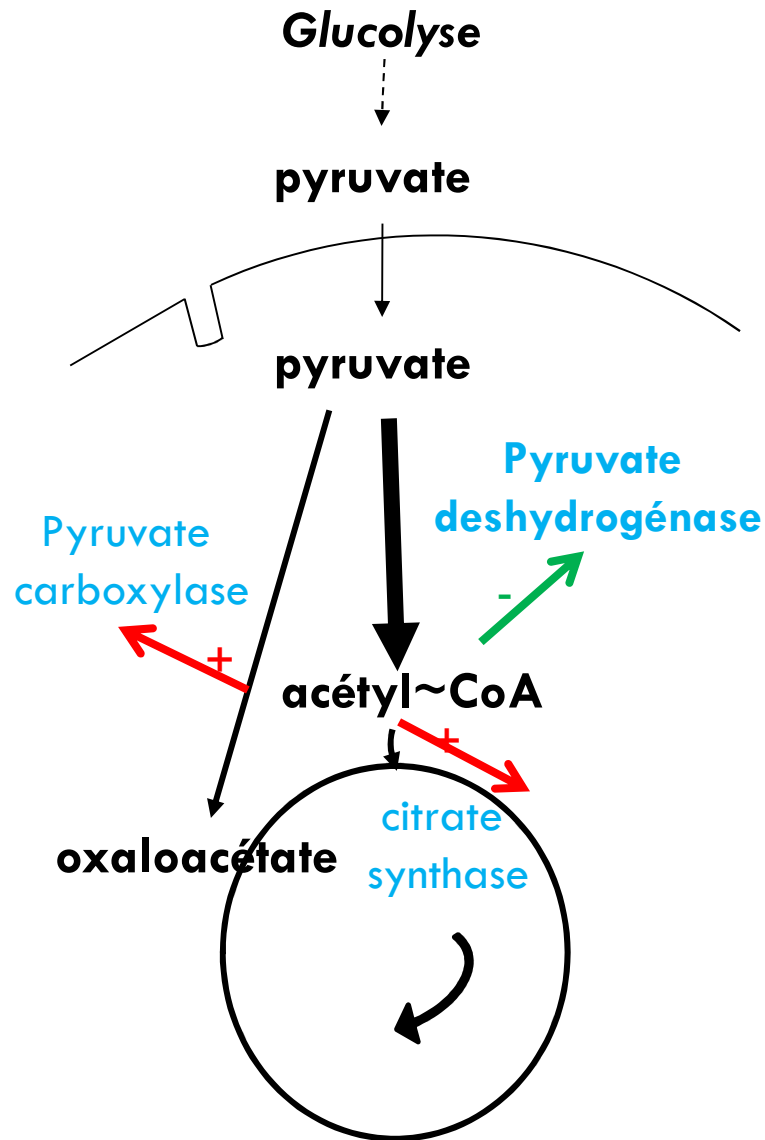
B. Etapes

C. Régulation

D. Bilan

E. Décarboxylation oxydative du pyruvate

Biochimie métabolique II.3. Krebs E. Décarboxylation pyruvate



Le pyruvate est le produit final de la glycolyse en aérobiose.

La décarboxylation oxydative du pyruvate constitue une entrée irréversible dans le cycle de Krebs.

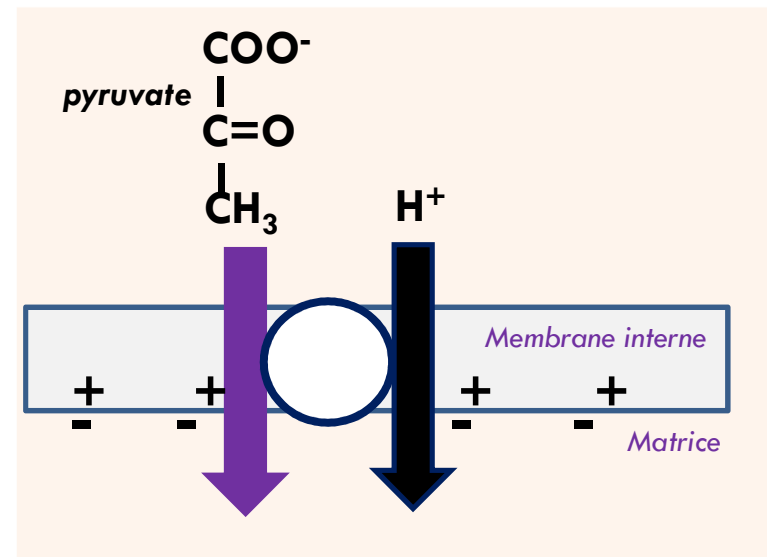
L'acétyl~CoA régule son entrée dans le cycle en étant l'effecteur allostérique de

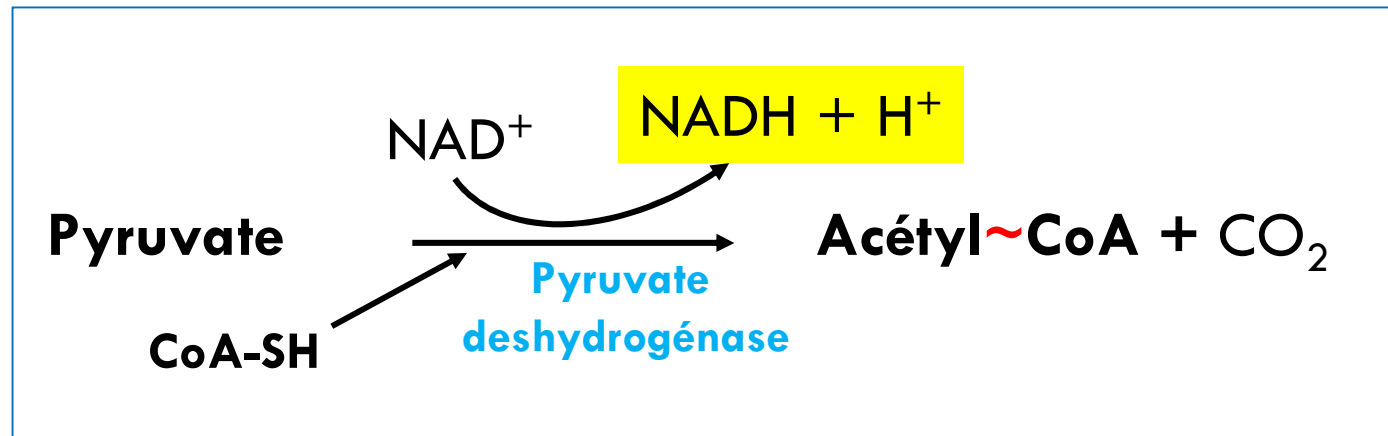
- La pyruvate deshydrogénase qu'il inhibe (limite sa propre formation)
- La pyruvate carboxylase qu'il active (favorise la synthèse de son co-substrat)
- La citrate synthase qu'il active (favorise son entrée dans le cycle).

Biochimie métabolique II.3. Krebs E. Décarboxylation pyruvate

Le pyruvate est transporté dans la mitochondrie par un transporteur spécifique qui favorise son passage à travers la membrane interne.

- En présence d'oxygène, la chaîne respiratoire mitochondriale établit un gradient de protons à travers la membrane interne.
- Une protéine transmembranaire transporte le pyruvate à travers la membrane interne avec un ion H^+ chargé positivement (symport) en utilisant l'énergie de retour de cette charge positive vers la matrice mitochondriale.





- Réaction d'oxydation irréversible : génère un **NADH+H⁺**
- Création d'une liaison thioester riche en énergie
- **Pyruvate deshydrogénase** : complexe multienzymatique au niveau de la membrane interne constitué de :

3 enzymes

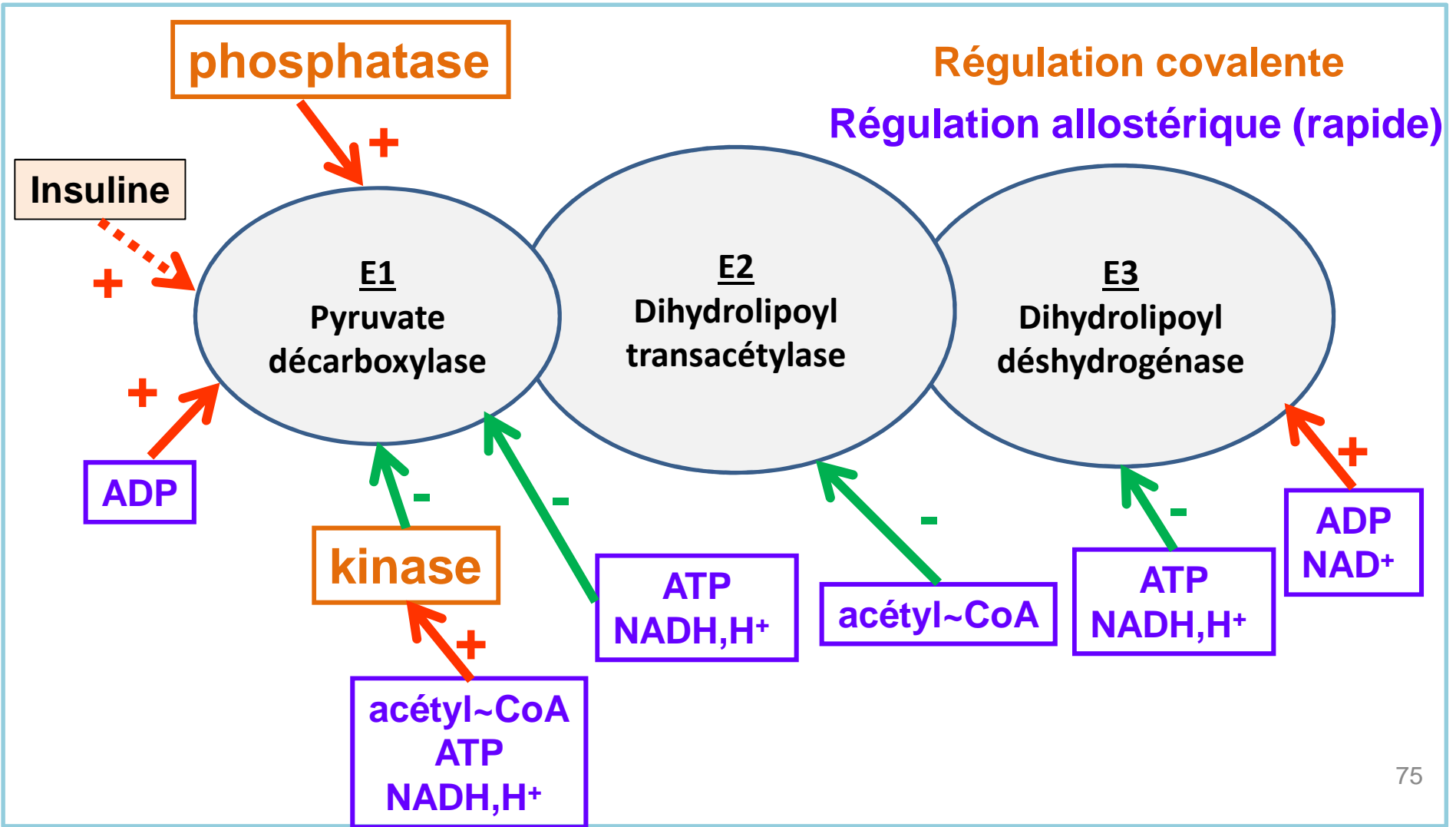
E1 : pyruvate décarboxylase
E2 : dihydrolipoyl transacétylase
E3 : dihydrolipoyl deshydrogénase

4 coenzymes

la thiamine pyrophosphate (TPP)
le coenzyme A
la lipoamide
le NAD

Régulation de la pyruvate deshydrogénase

➡ régule le cycle de Krebs



Biochimie métabolique

I. Vue d'ensemble du métabolisme

II. Exemples de voies métaboliques

2. Glycolyse

3. Cycle de Krebs

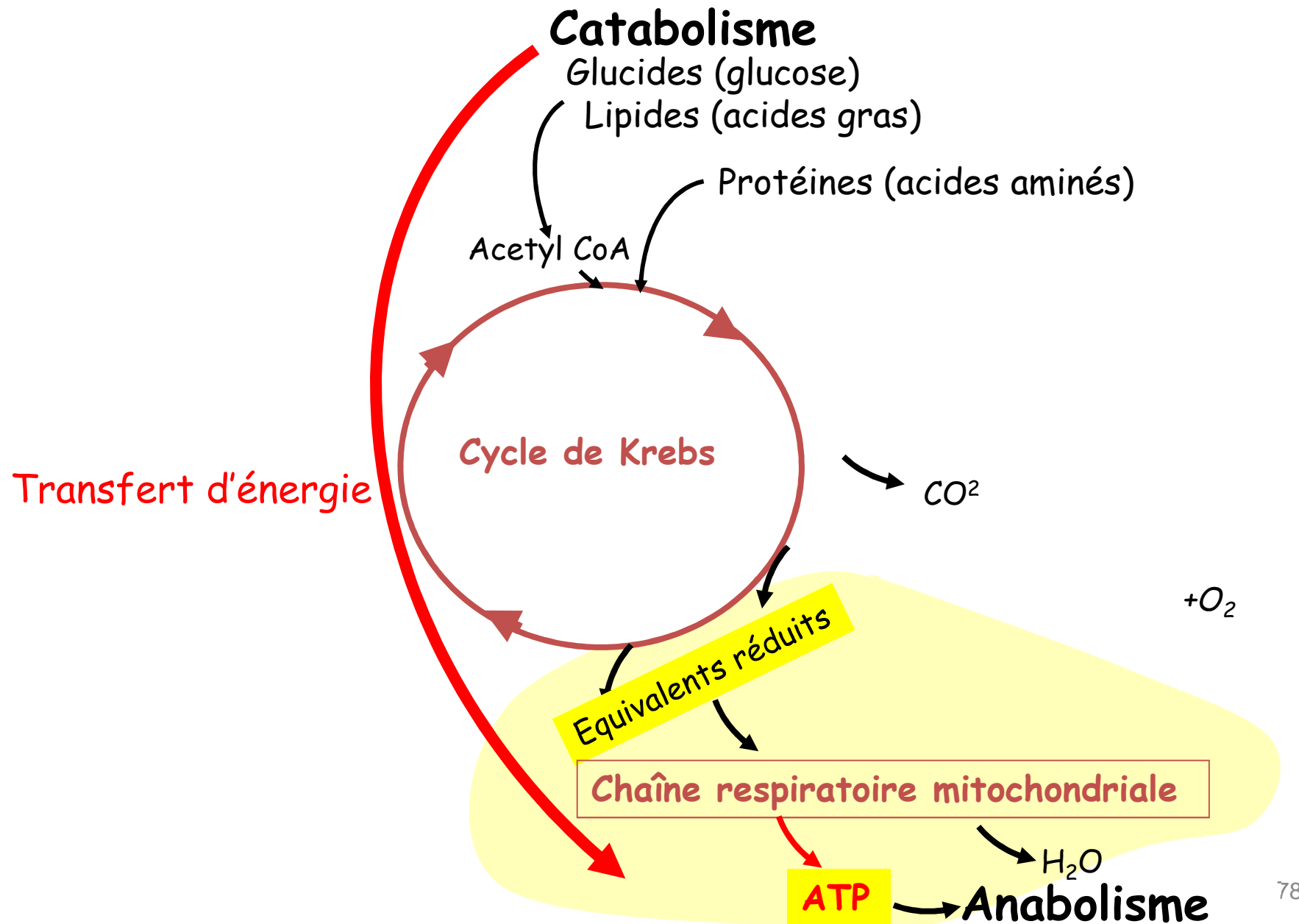
III. Oxydation phosphorylante

Biochimie métabolique

III. Oxydation phosphorylante

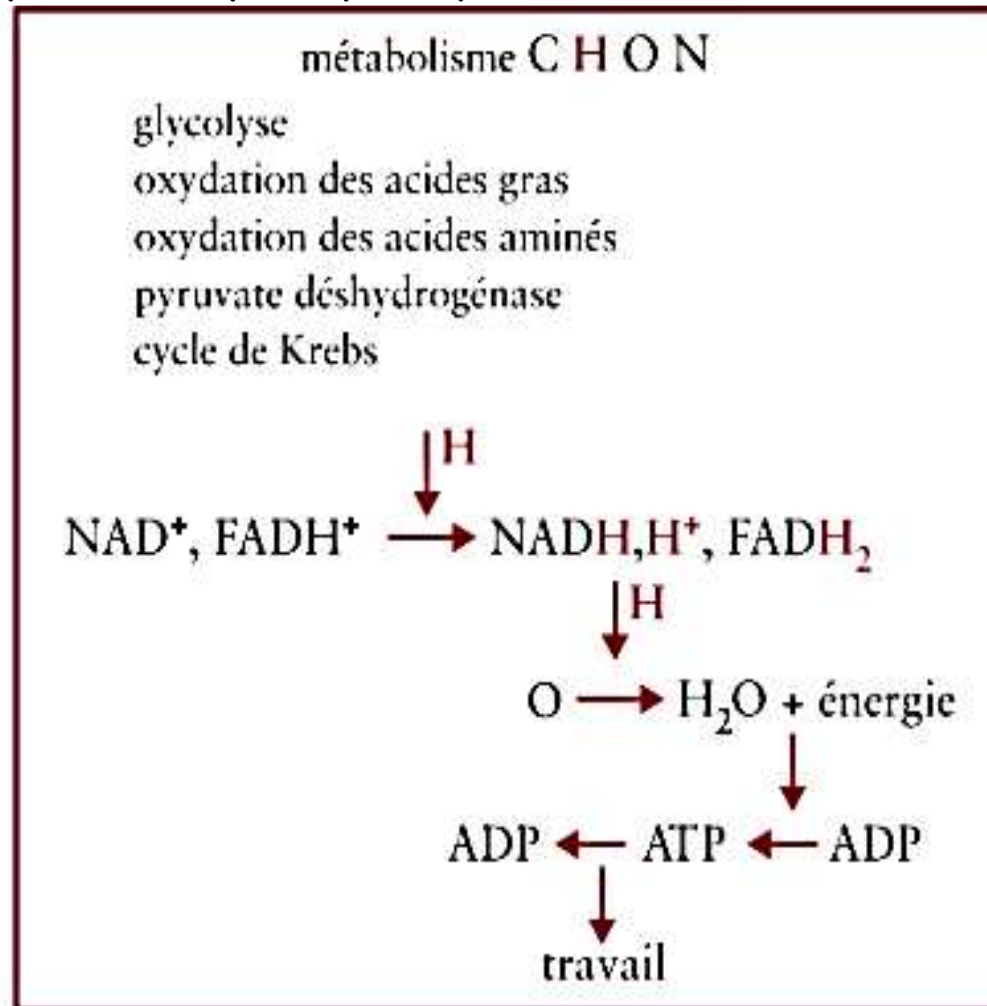
1. Généralités

Biochimie métabolique III. 1. Généralités



Biochimie métabolique III. 1. Généralités

Représentation schématique des relations entre le métabolisme et les oxydations phosphorylantes mitochondriales



Biochimie métabolique III. 1. Généralités

- « Catalyseurs » disposés en série au niveau de la **membrane interne mitochondriale**. Ils collectent et **oxydent les équivalents réduits** libérés précédemment (Krebs, décarboxylation pyruvate etc).
- Les électrons collectés parcourent dans la chaîne une suite d'étapes redox, puis sont transférés sur un accepteur final : **l'oxygène**.
- L'énergie libre provenant du transfert d'électrons et du gradient de protons généré à travers la membrane interne mitochondriale permet de produire de **l'ATP**.

Importance biomédicale

Certains médicaments (amobarbital) en surdosage et certains toxiques (cyanure, monoxyde de carbone) conduisent à la mort par atteinte du fonctionnement de la mitochondrie.

Biochimie métabolique

III. Oxydation phosphorylante

1. Généralités

2. Chaîne respiratoire mitochondriale

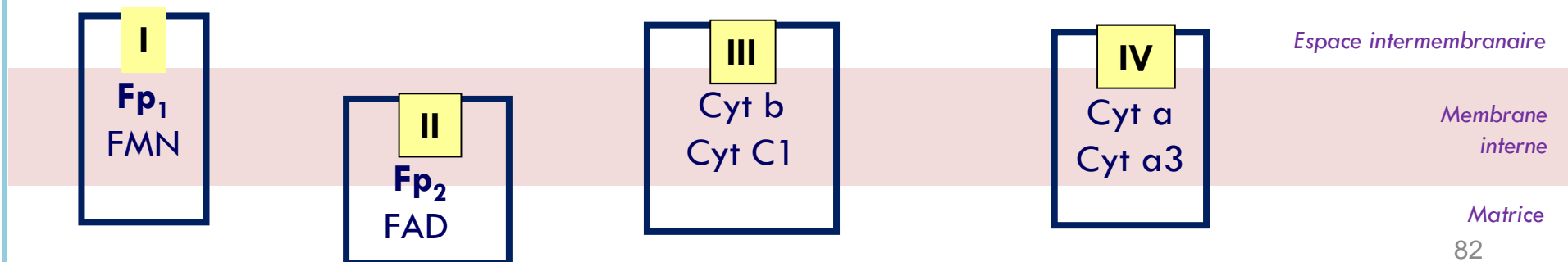
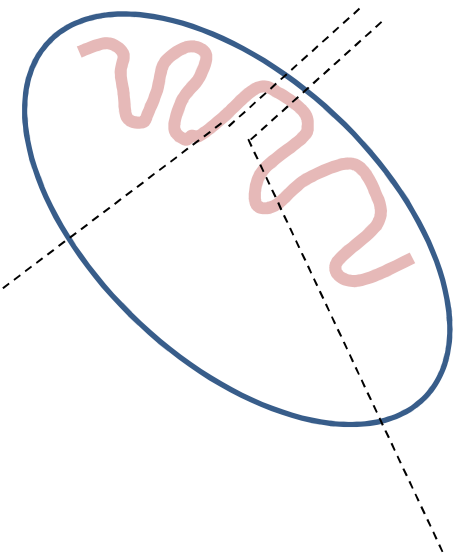
Biochimie métabolique III.2. Chaîne respiratoire mitochondriale

Les transporteurs redox sont des systèmes déshydrogénasiques organisés en **4 complexes enchâssés dans la membrane interne**.

- Complexes I et II : **flavoprotéines**
 - I : à FMN
 - II : à FAD

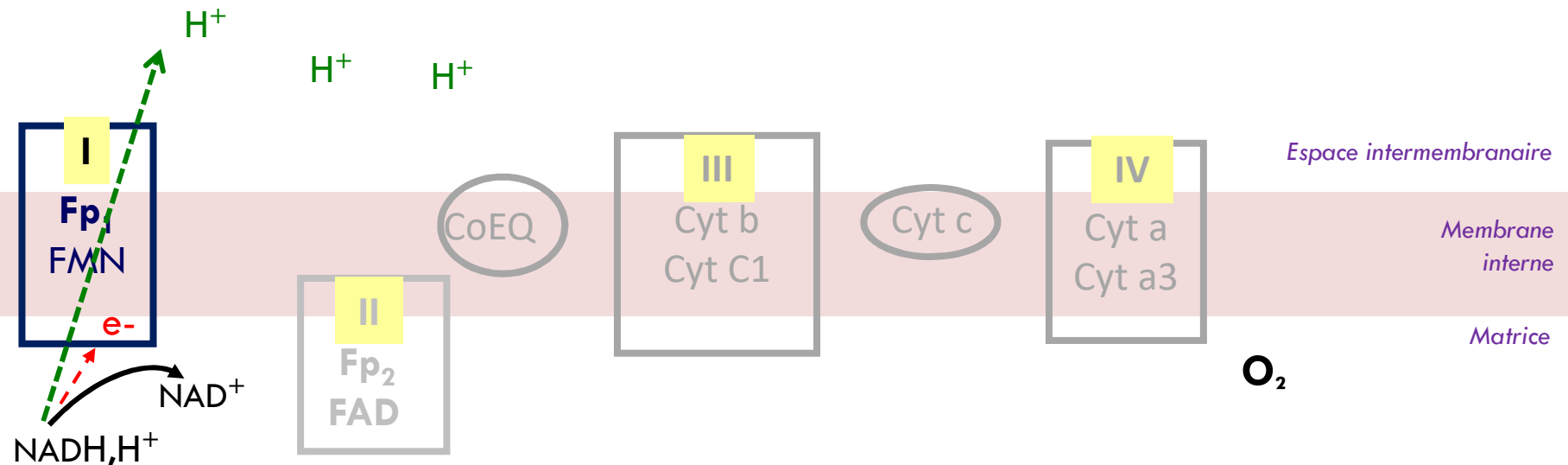
Des protéines fer-soufre (FeS) sont associées aux flavoprotéines (sous-unités constitutives) = protéines à fer non héminique.

- Complexes III et IV : **cytochromes**



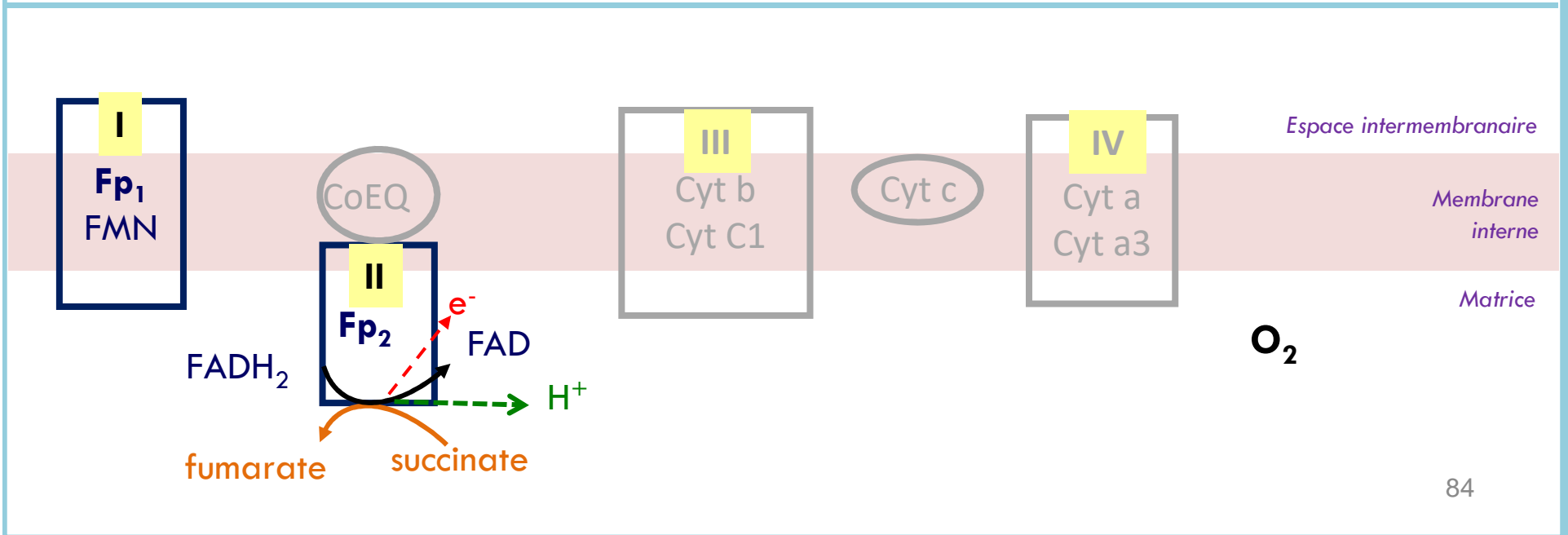
1- Les flavoprotéines

- La **NADH déshydrogénase** (ou NADH-ubiquinone réductase) est une flavoprotéine à FMN (flavine mononucléotide ou riboflavine-5'-P) (Fp_1) : catalyse la **réoxydation** du **$NADH+H^+$** en **NAD^+** . La Fp_1 capte les électrons produit par cette oxydation, et transfère les H^+ dans l'espace intermembranaire (pompe à protons).



- La succinate déshydrogénase (ou succinate-ubiquinone réductase) réoxyde le FADH_2 . C'est une flavoprotéine à FAD (Fp_2).

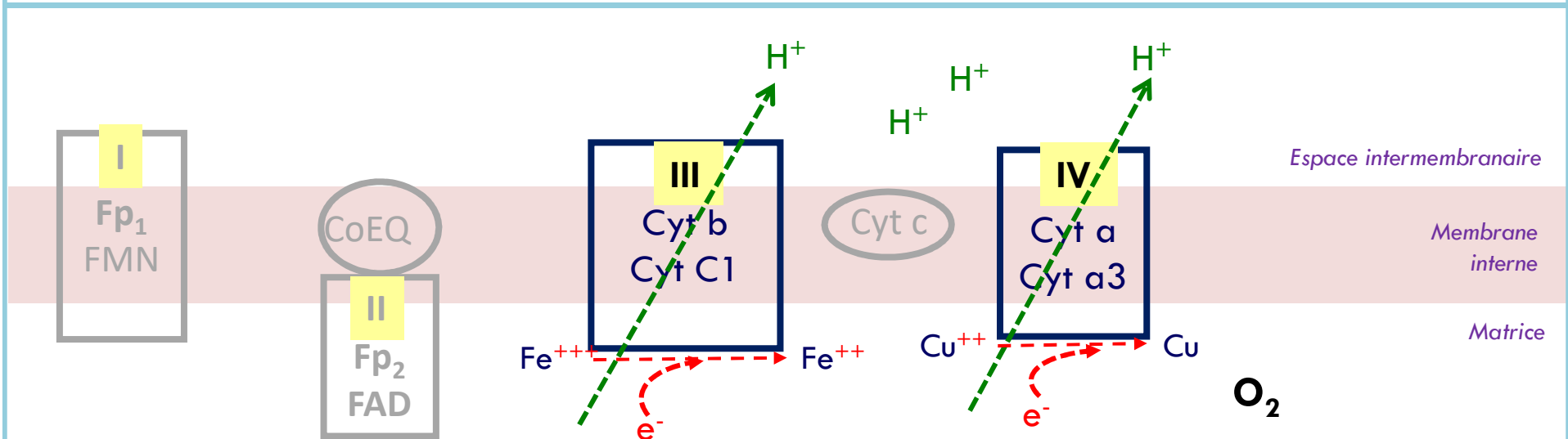
Rappel : la succinate deshydrogénase catalyse l'oxydation du succinate en fumarate (réaction 6 du cycle de Krebs).



2-Les cytochromes

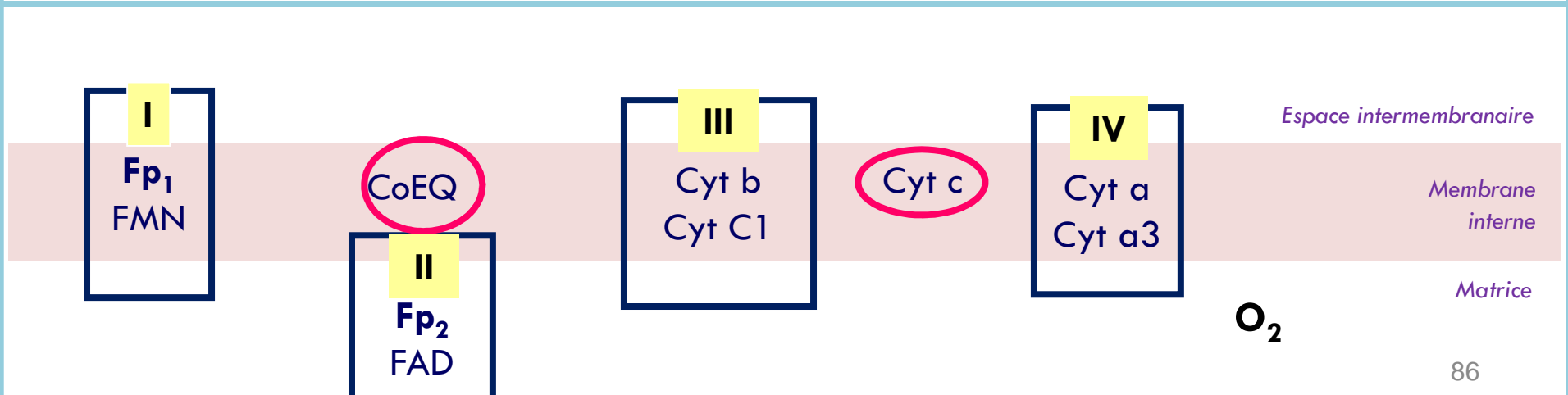
Ce sont des hémoprotéines membranaires possédant un atome de fer (ou de cuivre) assurant un transfert d'électrons en passant de l'état ferrique à ferreux.

- III : Cytochrome C réductase
- IV : Cytochrome oxydase

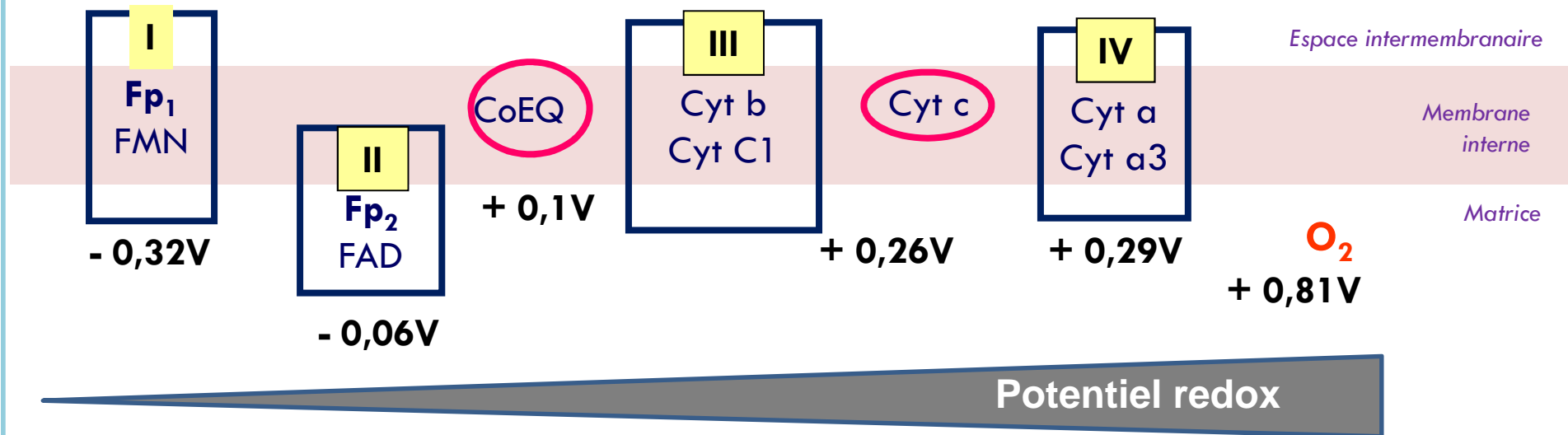


3- Deux structures mobiles jouent le rôle de collecteurs mobiles d'électrons

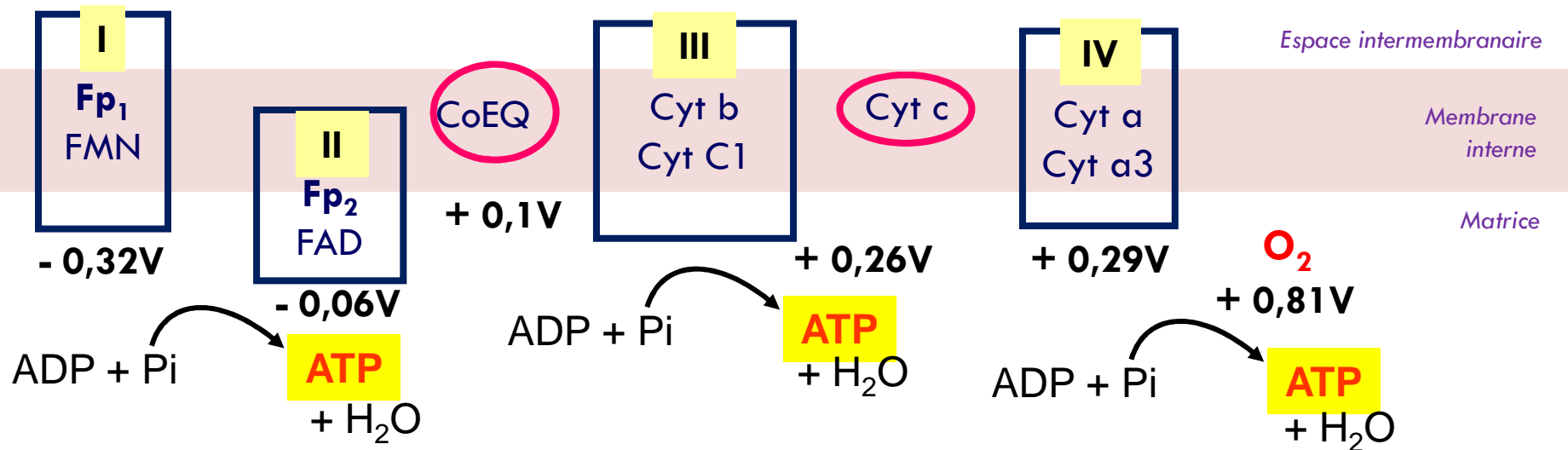
- **Le coenzyme Q (ubiquinone).**
 - Il fait le lien entre les flavoprotéines et les cytochromes.
 - Point de la chaîne respiratoire où se rencontrent les équivalents réduits provenant de différents substrats
- **Le cytochrome C** : seul cytochrome mobile de la chaîne



Les constituants de la chaîne respiratoire sont distribués dans l'ordre croissant de leur potentiel redox : des constituants les plus électronégatifs vers les plus électropositifs, et en fin l'oxygène.



- Lorsque la différence de potentiel entre deux transporteurs est importante, une phosphorylation permet la synthèse d'un ATP.
- Le mécanisme de la synthèse d'ATP dans les mitochondries actuellement admis est fondé sur une hypothèse émise en 1961 par Peter Mitchell, la théorie chimio-osmotique.



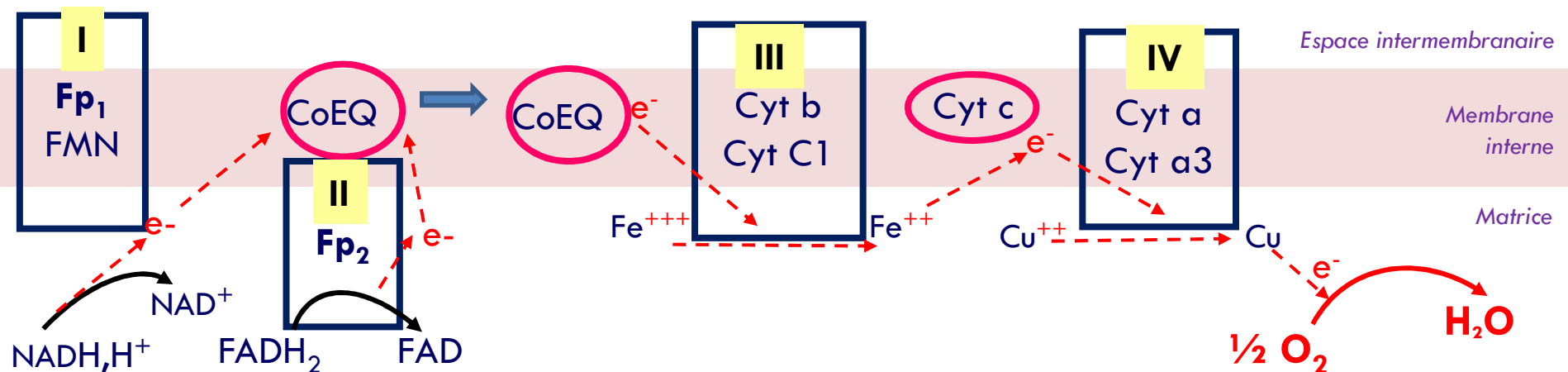
Biochimie métabolique

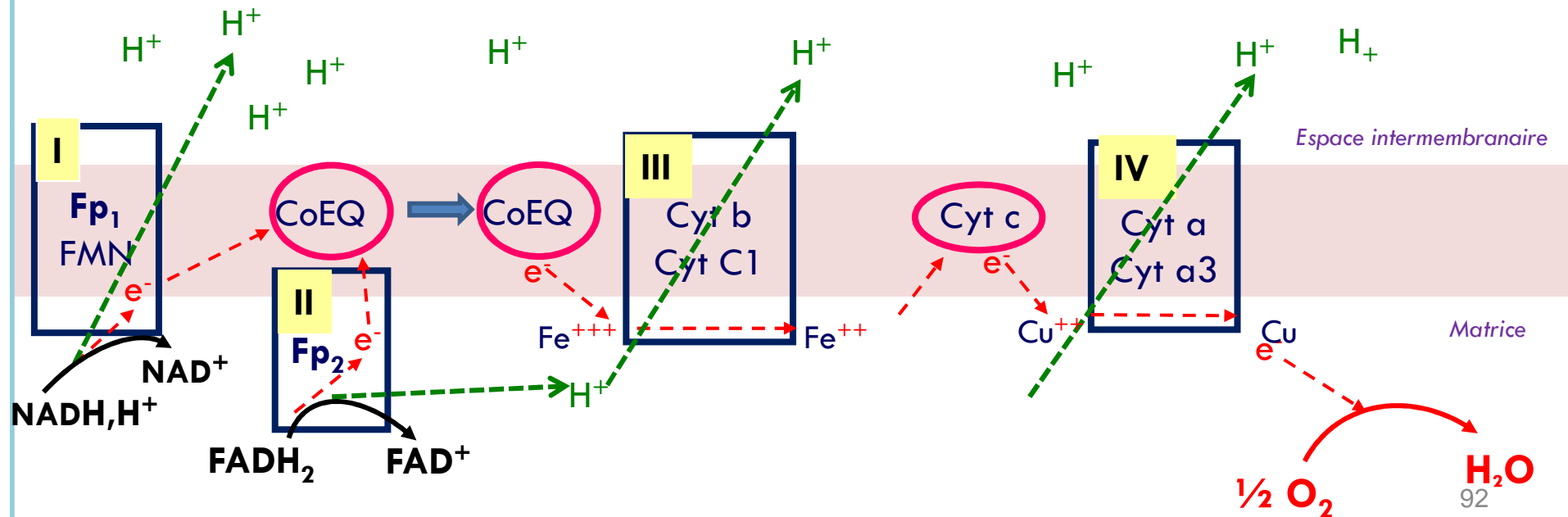
III. Oxydation phosphorylante

1. Généralités
2. Chaîne respiratoire mitochondriale
3. Théorie chimio-osmotique

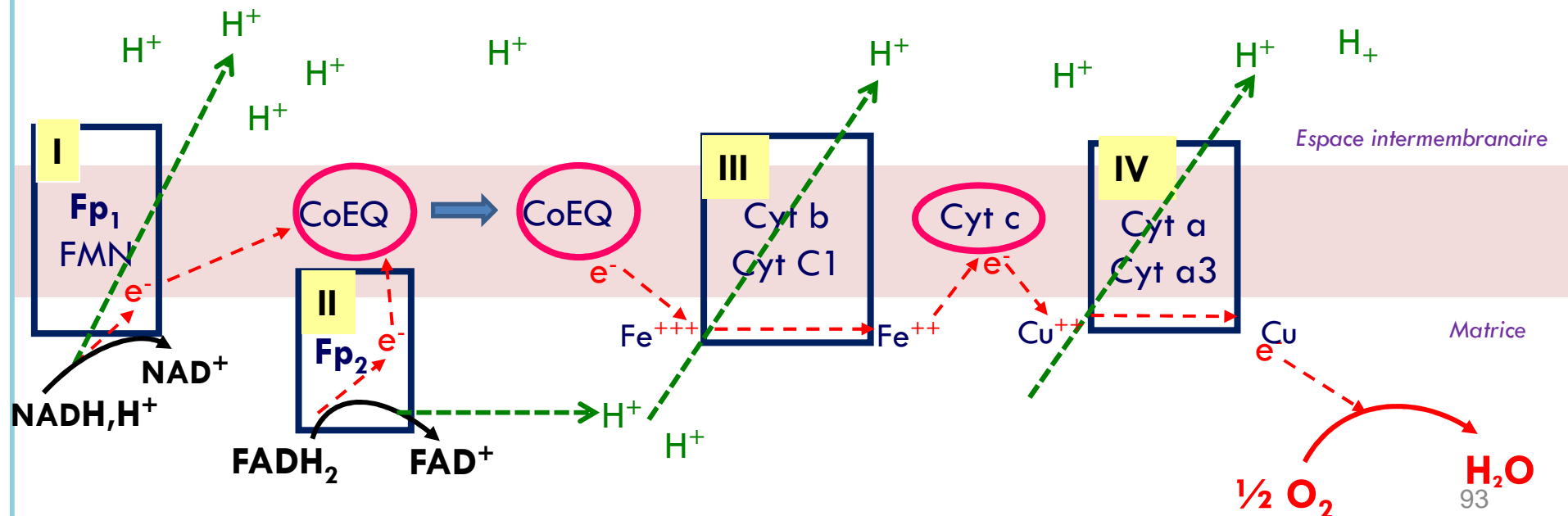
- Les équivalents réduits sont oxydés au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale : ils cèdent des électrons à la chaîne.
- La différence de potentiel d'oxydoréduction entre les constituants permet le transfert des électrons de l'extrémité électronégative vers l'oxygène.
- Les électrons restent localisés à la face interne de la membrane interne mitochondriale.

- Les équivalents réduits ($\text{NADH} + \text{H}^+$, FADH_2) transfèrent leurs électrons à l'extrémité électronégative de la chaîne et sont oxydés par les métallobiflavoprotéines (complexes I et II) qui se réduisent sur la protéine FeS.
- Les flavoprotéines transfèrent les électrons sur l'ubiquinone (réduit en ubiquinol).
- L'ubiquinol, mobile, transfère les électrons vers les cytochromes dont le dernier est le cytochrome aa3 (cytochrome oxydase).
- Le cytochrome aa3 transfère les électrons à l'oxygène. Cette réaction irréversible assure la direction du mouvement des électrons dans la chaîne.

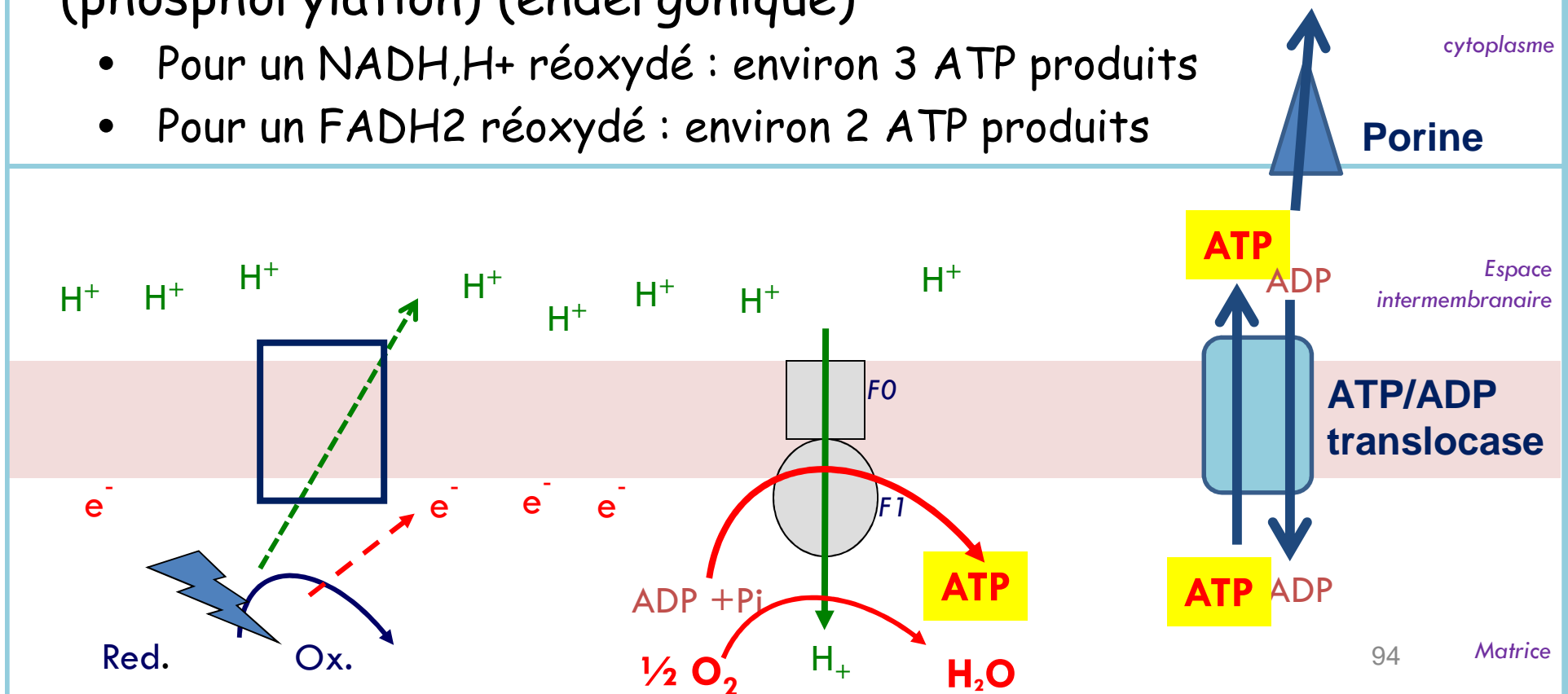




- L'oxydation génère des H^+ qui sont expulsés dans l'espace inter membranaire de la mitochondrie grâce à l'énergie d'oxydation, par l'intermédiaire de pompes à protons (complexes I, III, IV).
- Ceci crée une **distribution asymétrique des H^+** (gradient de protons) générant un potentiel électrochimique.



- Ce potentiel électrochimique permet la formation d'ATP en actionnant l'**ATP synthase** (« complexe V » de la chaîne respiratoire).
- Il y a un **couplage** entre l'oxydation des coenzymes (respiration) (exergonique) et la synthèse d'ATP (phosphorylation) (endergonique)
 - Pour un NADH, H⁺ réoxydé : environ 3 ATP produits
 - Pour un FADH₂ réoxydé : environ 2 ATP produits



La chaîne respiratoire fournit la plus grande partie de l'énergie cellulaire.

- L'énergie libérée est récupérée sous forme de « liaisons riche en énergie » (couplage d'environ 70%)
- le reste est dissipé sous forme de chaleur (permet le maintien de la température corporelle).

Biochimie métabolique

III. Oxydation phosphorylante

1. Généralités
2. Chaîne respiratoire mitochondriale
3. Théorie chimio-osmotique
4. Protéines découplantes

Il existe dans la membrane interne de la mitochondrie des protéines découplantes : les **UCP** (uncoupling protein) qui catalysent la dissipation du gradient de protons (transporteurs de H^+)

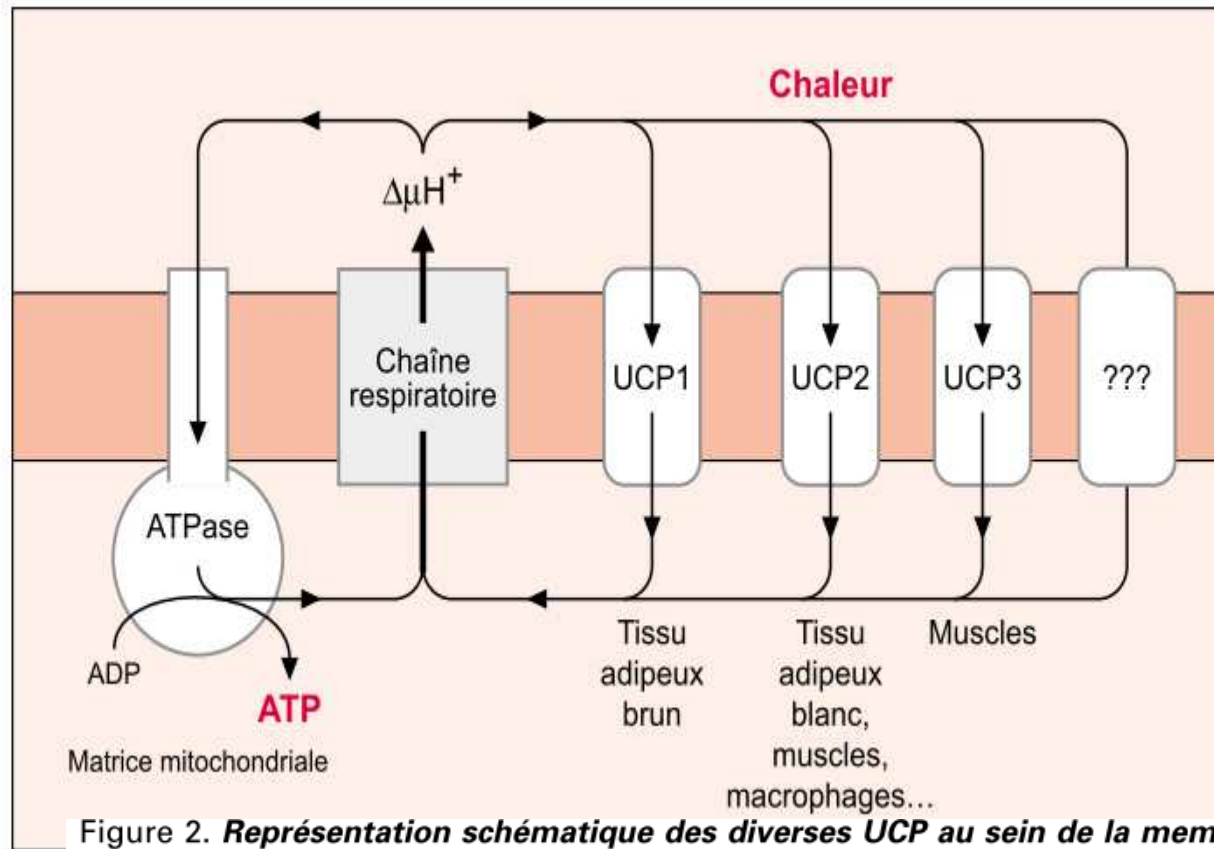


Figure 2. **Représentation schématique des diverses UCP au sein de la membrane interne des mitochondries.** Dans toutes les mitochondries le retour des protons vers la matrice se fait via l'ATP synthase en catalysant la phosphorylation de l'ADP. Les diverses UCP constituent d'autres voies de retour des protons non couplées à un système catalysant la synthèse d'ATP. UCP1 est spécifique des adipocytes bruns, UCP2 est détectée dans de nombreux tissus, UCP3 est principalement présente dans les muscles squelettiques. Il est possible qu'existent d'autres protéines ayant une activité de découplage de la respiration (points d'interrogation).

- ≈ court-circuitent l'ATP synthase
- ✓ Chute du gradient de protons et du potentiel de membrane
- ✓ Accélération de la respiration sans couplage à la phosphorylation de l'ADP
- ➡ **Thermogenèse**

In « Les protéines découplantes Mitochondriales » Ricquier & Bouillaud, Médecine/Sciences 1998;14:889-97.

Les UCPs sont activées par

- les acides gras libres
- Le froid

Certaines UCPs (musculaires) sont inhibées par l'exercice physique.

Tableau II

MODIFICATIONS DES NIVEAUX D'EXPRESSION DES ARN MESSAGERS
DES DIVERSES UCP DANS DIVERSES SITUATIONS PHYSIOLOGIQUES
OU PATHOLOGIQUES

	UCP1 TA Brun	UCP2 Muscles	UCP2 TA Blanc	UCP3 TA Brun	UCP3 Muscles
Froid	+	0/+	0	+	0
Jeûne	–	+	nd	–	+
Lipides	+	0	+	0	0
Exercice	0	–	nd	0	–
Fièvre	nd	0/+	nd	nd	+
Obésité	–	+	+	–	–

In « Les protéines découplantes Mitochondriales » Ricquier & Bouillaud, Médecine/Sciences 1998;14:889-97.

+: augmentation du niveau d'ARN messenger; 0: pas de variation; –: diminution.

Ces résultats proviennent d'études effectuées dans les laboratoires des auteurs, de S. Collins et R. Surwit (Duke University), de J.P. Giacobino (Genève), de L. Tartaglia (Cambridge, MA), de B. Lowell (Boston), de D. Langin (Toulouse) et H. Vidal et M. Laville (Lyon).

TA: tissu adipeux; nd: non déterminé.

Tableau I

DISTRIBUTION TISSULAIRE DES ARN MESSAGERS DES DIVERSES UCP

	UCP1	UCP2	UCP3
Rongeurs	Tissu adipeux brun	Tous les organes	Muscles squelettiques Tissu adipeux brun Cœur Tissu adipeux blanc
Homme	Tissu adipeux brun	Tous les organes	Muscles squelettiques Cœur (traces)

In « Les protéines découplantes Mitochondriales » Ricquier & Bouillaud, Médecine/Sciences 1998;14:889-97.

Dans le cas de l'ARN messenger UCP3, les niveaux sont donnés de la plus forte à la plus faible expression, du haut vers le bas. Dans le cas d'UCP2, les tissus les plus riches en ARN messenger sont les tissus riches en macrophages et lymphocytes, puis les muscles, le cœur et les tissus adipeux.

- Tissu adipeux brun particulièrement riche en UCP1
- UCP2 : ubiquitaire
- UCP3 : muscles squelettiques

Importance biomédicale

UCPs interviendraient dans la limitation du stress oxydant, la synthèse d'insuline etc. A l'étude actuellement.

Biochimie métabolique

IV. Vue d'ensemble du métabolisme

Biochimie métabolique

IV. Vue d'ensemble du métabolisme

1. Spécificités tissulaires

Biochimie métabolique IV. 1. Spécificités tissulaires

Le fonctionnement des tissus humains nécessite des dépenses énergétiques qui leur sont propres.

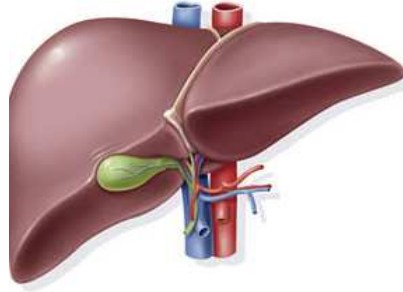
Taux métaboliques obtenus au repos chez un homme adulte (70 kg, soit 12000 kJ ou 2871 kcal.24h⁻¹).

Tissus	Poids (kg)	Taux métabolique kcal.kg ⁻¹ .h ⁻¹ (kJ.kg ⁻¹ .h ⁻¹)	Taux métabolique (% du total de l'organisme)
Foie	1,80	8,32 (34,8)	21
Cerveau	1,40	10,00 (41,8)	20
Rein	0,31	18,30 (76,6)	8
Cœur	0,33	18,30 (76,6)	9
Muscles striés squelettiques	28,00	0,55 (2,3)	22
Tissu adipeux	15,00	0,19 (0,8)	4
Autres (peau, os, intestin, ...)	23,16	0,50 (2,1)	16

S'élève à 250 kJ/kg/h (quadriceps) lors d'un exercice d'intensité élevée

S'élève à 420 kJ/kg/h lors d'un exercice d'intensité élevée

Le foie



- Il dégrade
 - le glucose (fructose, galactose)
 - les acides aminés et élimine l'azote sous forme d'ammoniac puis d'urée
 - Il synthétise
 - du glucose (notamment à partir des acides aminés), des pentoses-P
 - des protéines (dont lipoprotéines, protéines de transport des vitamines etc.)
 - des corps cétoniques à partir des acides gras (jeûne prolongé), du cholestérol (membranes, stéroïdogénèse), des 3glycérides (VLDL), des acides biliaires
- ➡ Principal centre de régulation métabolique de l'organisme

+ Le muscle strié

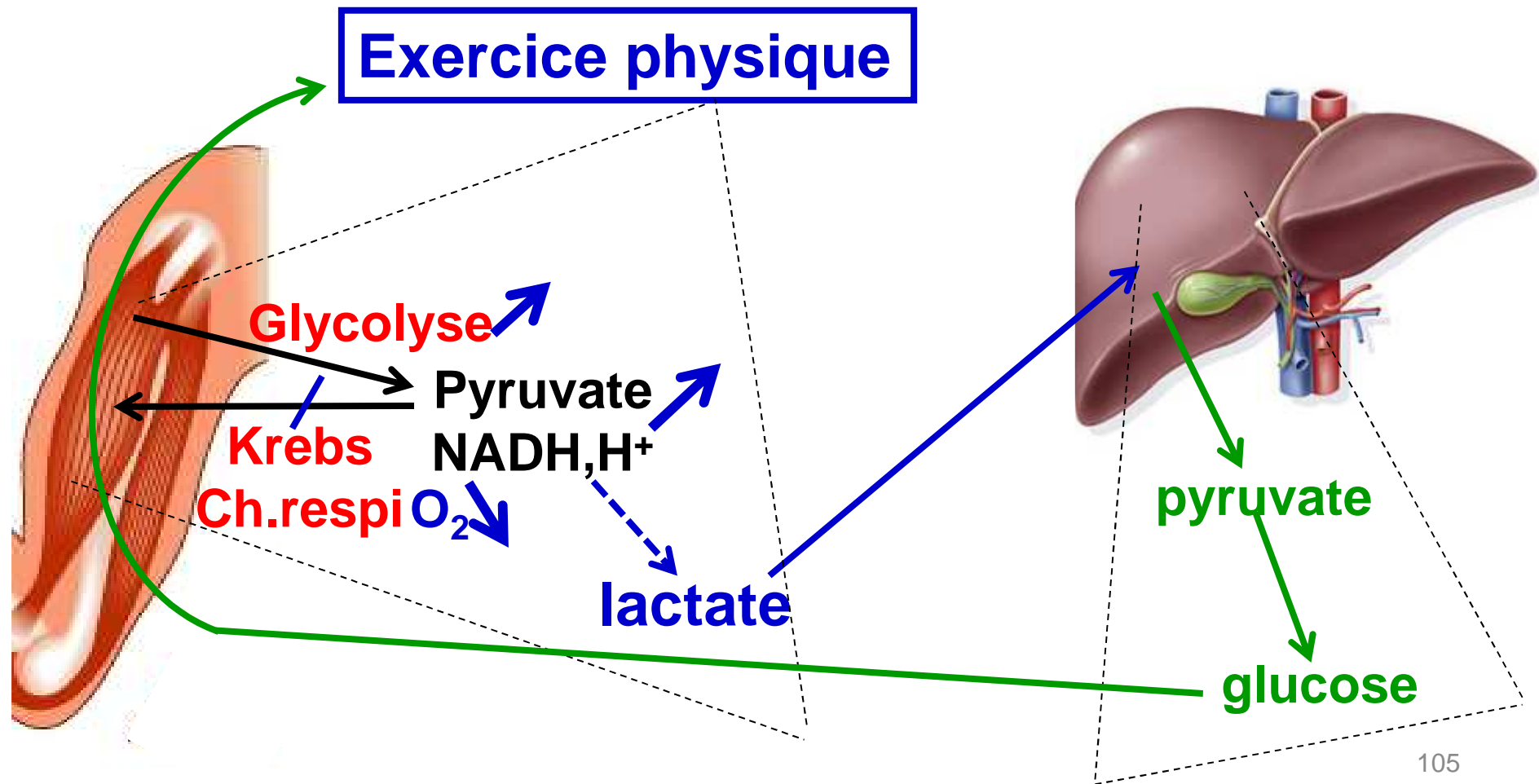


- Consommateur important de substrats à haute valeur énergétique
- Capable de stocker
 - du glycogène (puis utilisable lors de la glycogénolyse)
 - des protéines (mobilisables lors du jeûne prolongé)
- Au repos, le muscle utilise surtout des acides gras. En fonction de l'activité musculaire, il utilise aussi du glucose et des corps cétoniques

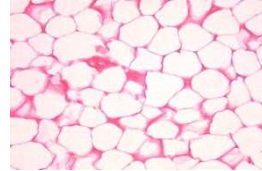
Rq/ le muscle ne peut pas réaliser la néoglucogenèse

- Dans le muscle est produit de l'ATP, directement utilisable lors de la contraction musculaire. Lors d'un effort intense, les muscles produisent de l'acide lactique réutilisé notamment par le foie.

Exemple de coordination métabolique entre le foie et le muscle lors d'un exercice physique : le cycle des Cori
Glycolyse anaérobie musculaire + néoglucogénèse hépatique



+ Le tissu adipeux



- stocke les acides gras sous forme de triglycérides
- Libère les acides gras à jeun

+ Le cerveau



- consomme essentiellement du glucose
- lors du jeûne prolongé : il peut utiliser des corps cétoniques (dégradation hépatique lente des triglycérides)

+ **Les reins** produisent du glucose à partir des acides aminés glucoformateurs uniquement après plusieurs jours de jeûne

Les érythrocytes (pas de mitochondrie) consomment du glucose, dégradé jusqu'au lactate.

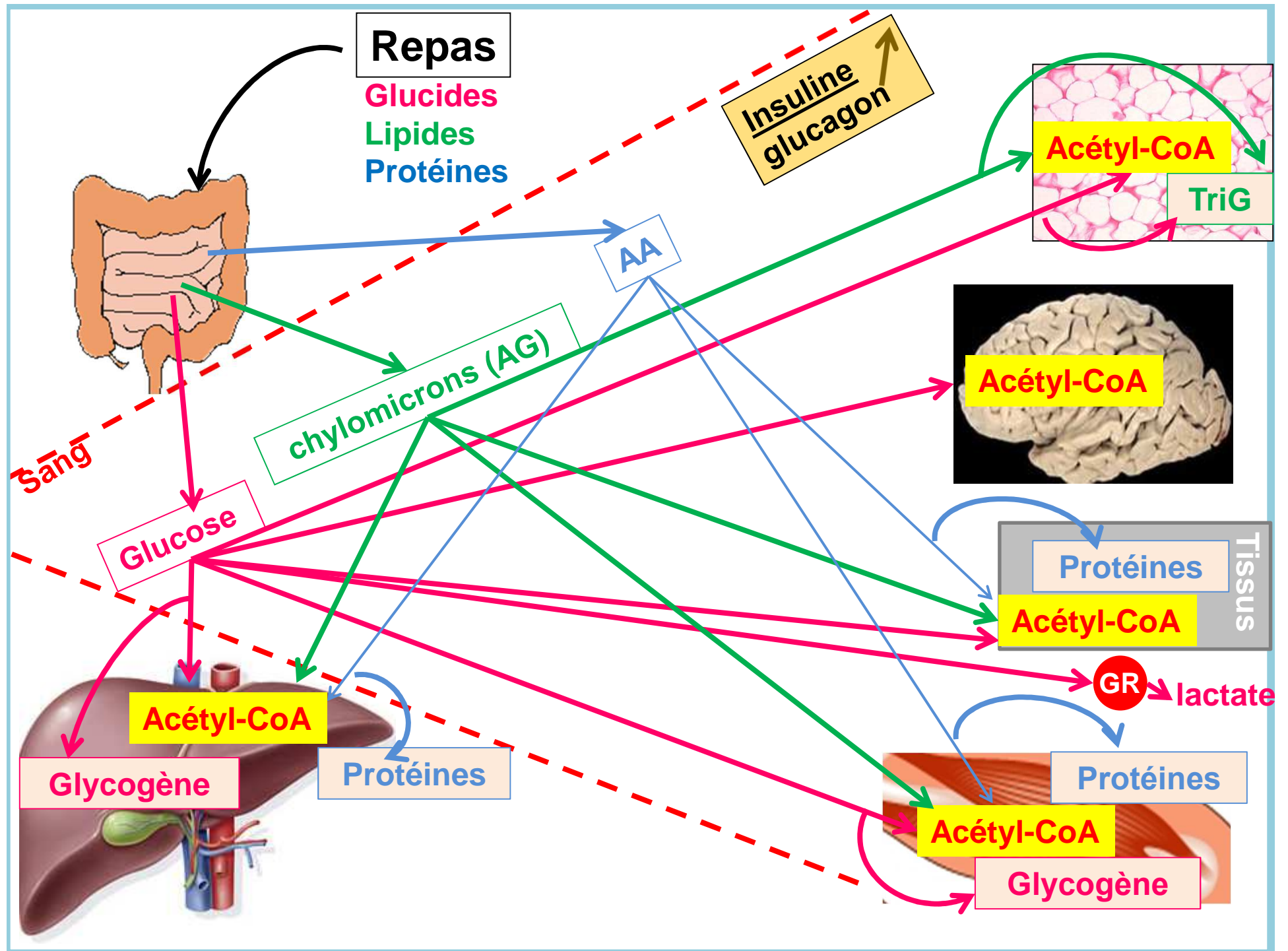
Biochimie métabolique

IV. Vue d'ensemble du métabolisme

1. Spécificités tissulaires

2. Alternance repas/jeûne

- + L'apport alimentaire est discontinu et variable, la consommation énergétique est continue (métabolisme de base) et subit des variations (exercice physique par ex.).
- + Une régulation fine du métabolisme (insuline/glucagon) associée à une adaptation des apports alimentaires, notamment en fonction des variations physiologiques permet d'adapter notre métabolisme à cette alternance repas/jeûne.



Jeûne

Insuline
glucagon

TriG

Acétyl-CoA

AG

Corps
cétoniques

AA

Acétyl-CoA

Protéines

Acétyl-CoA

Néoglucogenèse

Glucose

Néoglucogenèse

Acétyl-CoA

Glycogène

Protéines

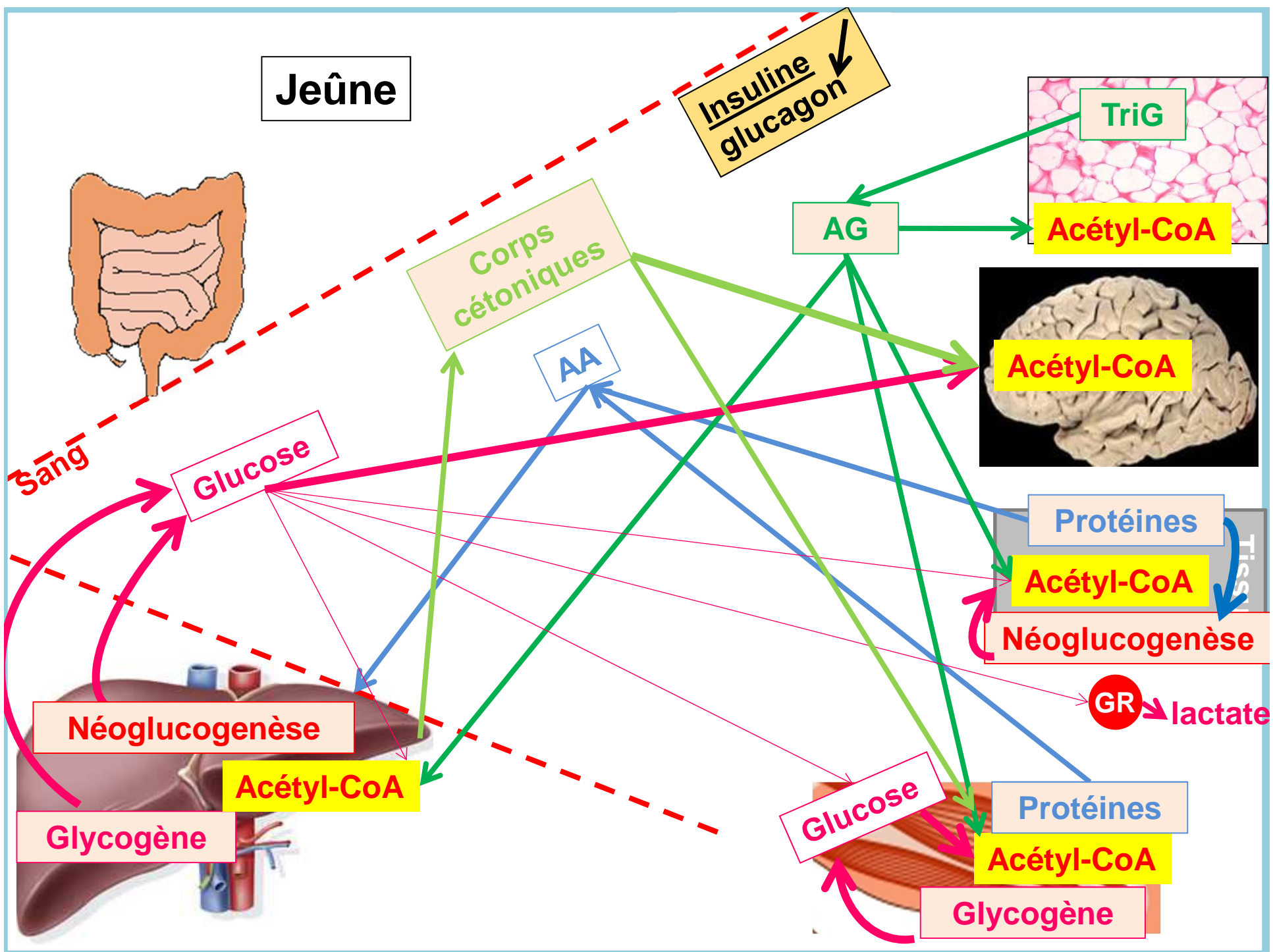
Acétyl-CoA

Glycogène

Glucose

GR → lactate

Sang



FIN