

Support de cours

Partie 2

Version du 23 septembre 2024

Biochimie Métabolique

Dans ce document vous trouverez le support des cours concernant

Le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire

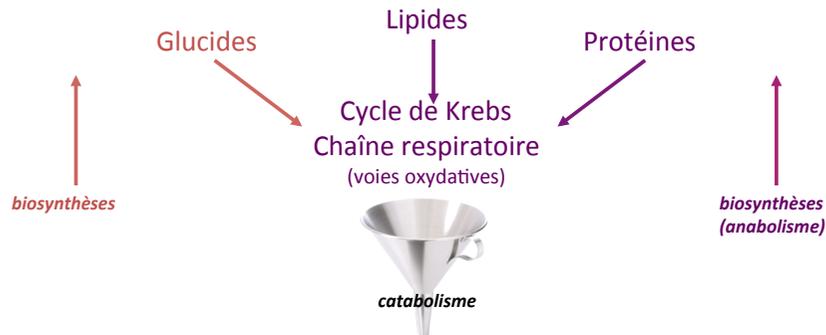
Le Métabolisme lipidique
(synthèse, stockage des Acides gras et des Triglycérides)
l'oxydation des Acides gras

La Biosynthèse et le devenir des Corps cétoniques

Le Métabolisme du Cholestérol

Le Métabolisme des Protides et des Acides aminés

Ce document sert de référence. Les points essentiels seront traités en cours les 25, 30 octobre et 5 et 6 novembre Il est indispensable de l'assimiler dans son ensemble préalablement aux cours /ED qui débiteront le 7 novembre 2024



Intégration du métabolisme

Pr Jean François BENOIST
jean-francois.benoist@universite-paris-saclay.fr

Pr Philippe BILLIALD
philippe.billiald@universite-paris-saclay.fr

enseignements dirigés: 3 séances
juliette.vergnaud@universite-paris-saclay.fr
jocelyne.hamelin@universite-paris-saclay.fr

1

Chapitre 1: Concepts de base / Objectifs

Dans les **organismes vivants supérieurs**, chaque cellule doit d'une part assurer sa propre survie et, d'autre part, accomplir des travaux en relation avec sa fonction propre. Ces phénomènes reposent sur l'existence de nombreuses voies métaboliques qui s'appuient elles-mêmes sur de nombreux systèmes enzymatiques.

Ces voies coopèrent pour assurer:

- 1- l'**obtention d'énergie chimique** en capturant l'énergie solaire ou en dégradant des nutriments riches en énergie, puisés dans l'environnement (alimentation).
- 2- la conversion des nutriments en « **intermédiaires métaboliques** » utilisables par la cellule
- 3- la synthèse et la dégradation de molécules complexes nécessaires à la vie de la cellule

Dans le cas du **métabolisme** de nos cellules, plusieurs remarques initiales peuvent être formulées:

-> Nos cellules puisent leur carbone dans les molécules organiques de notre environnement (**hétérotrophie**) et pas dans le CO₂ atmosphérique comme le font les végétaux (autotrophie)

-> les réactions chimiques qui se déroulent au sein de chaque cellule se font à pression et température pratiquement constantes (**isothermie**)

2

Métabolisme - Organisation générale

→ **les voies cataboliques** sont des voies oxydatives qui correspondent à celles où les molécules organiques de l'environnement sont dégradées en molécules plus petites (glycolyse, β-oxydation ...). Ces voies **libèrent de l'énergie** (réactions exergoniques) qui peut être stockée sous forme d'ATP. Elles servent également à la réduction de transporteurs d'électrons (**NAD⁺**; **FAD ...**) et le reste est perdu sous forme de chaleur. L'essentiel de l'énergie issue de ces voies cataboliques sera utilisé, pour assurer des travaux chimiques (voies de synthèse réductrices), mécaniques (mouvement), biologiques (transport, sécrétion, croissance...).

Ces voies produisent des **déchets: CO₂, H₂O et NH₃**

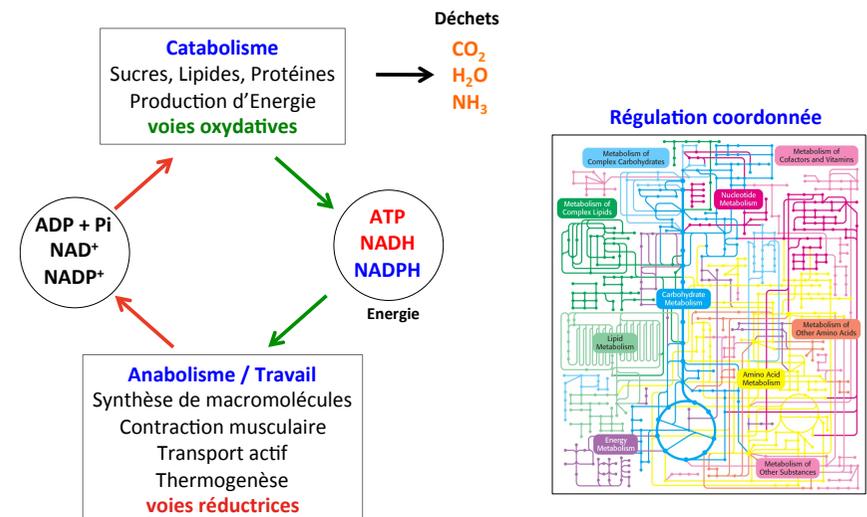
→ **les voies anaboliques** permettent la synthèse de molécules complexes ou de macromolécules. Elles sont **endergoniques** et nécessitent un **apport d'énergie (ATP, NADPH, H⁺)**

→ **la régulation coordonnée de toutes ces voies métaboliques** (régulation du métabolisme intermédiaire) s'effectue:

- au niveau de quelques enzymes seulement (enzymes régulatrices)
- grâce à des signaux intracellulaires (produits par le métabolisme intermédiaire)
- grâce à des signaux extracellulaires (perçus par des récepteurs et transmis au sein de la cellule par une cascade de transduction)

3

Métabolisme - Organisation générale

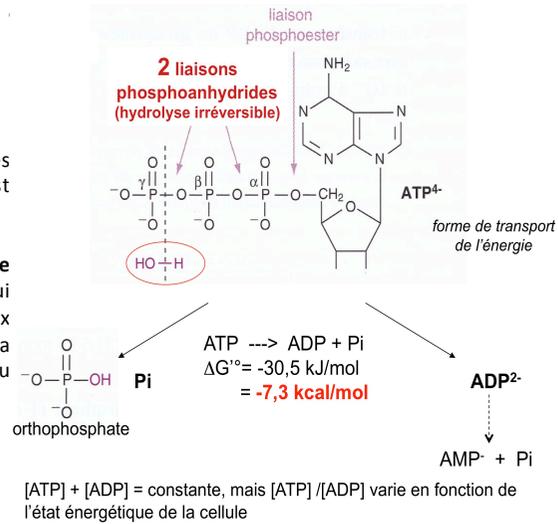


4

L'ATP: Une monnaie d'échange dans la cellule

L'énergie libérée par les voies cataboliques (oxydatives) est « stockée » sous forme d'ATP.

L'ATP est une **monnaie d'échange à l'intérieur de la cellule** qui apporte l'énergie nécessaire aux réactions de biosynthèse, à la contraction musculaire, au transport actif des ions.



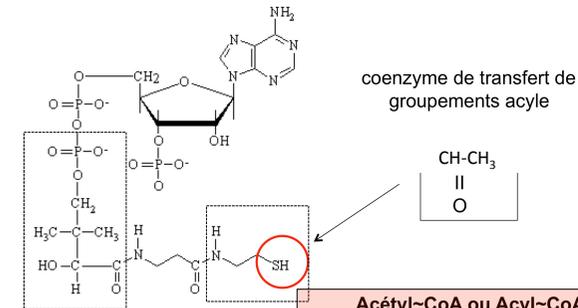
5

L'Acétyl-CoA

L'acétyl-CoA est le produit final du catabolisme des lipides et des protéines. Il sera oxydé par le cycle de Krebs dans la mitochondrie avec réduction des coenzymes d'oxydoréduction NAD⁺ et FAD

Le coenzyme A CoASH

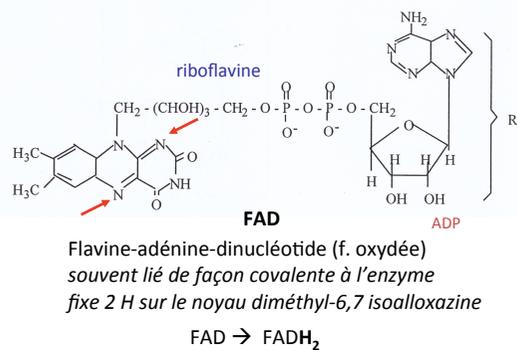
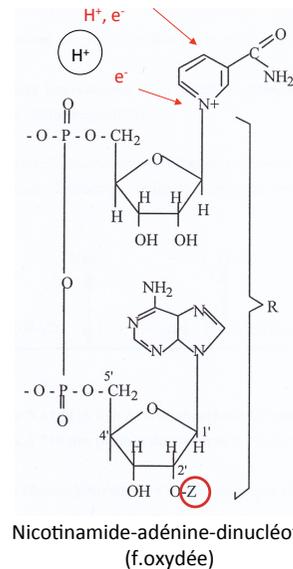
constitué d'un adénosine diphosphate, un ac. panthoténique (vit B5) et une cystéine légèrement modifiés et associés entre eux.



Acétyl-CoA ou Acyl-CoA
 molécule à haut potentiel d'hydrolyse et transfert de groupements acétyl ou acyl (liaison thioester)
 $\Delta G^{\circ} = -31,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$

6

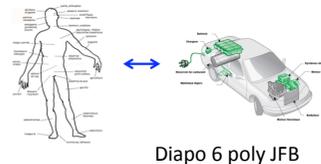
NAD⁺ et FAD co-enzymes d'oxydo-réduction



Le NADH, H⁺ transporte les H du catabolisme pour produire de l'énergie. Il se répartit dans la mitochondrie (60%) et le cytosol.

Il ne traverse pas la mb interne.
 Rôle ≠ NADPH, H⁺

7



Etat nutritionnel (réserves énergétiques)

Etat nourri « Filling » ou post-prandial	1 à 2h après le repas
Phase intermédiaire	2 à 4h après le repas
Jeûne précoce	4 à 6h après le repas
Jeûne physiologique	8 à 16h après le repas
Jeûne prolongé	au delà de 16h

Activité physique (solicitation)

Etat repos
Effort physique bref et intense (30 sec)
Effort physique prolongé -ex. jogging 30 min -ex. marathon >2h
Apport d'O ₂

**Voie métabolique:
Où ?**

Quand ?

Comment ?

Pourquoi ?

Coopération des organes (Foie, Muscle, TA, cerveau, GR) : chacun ayant un rôle spécifique

8

Les voies cataboliques en 3 étapes

1- Dégradation des aliments et macromolécules cellulaires en composés simples conduisant à :

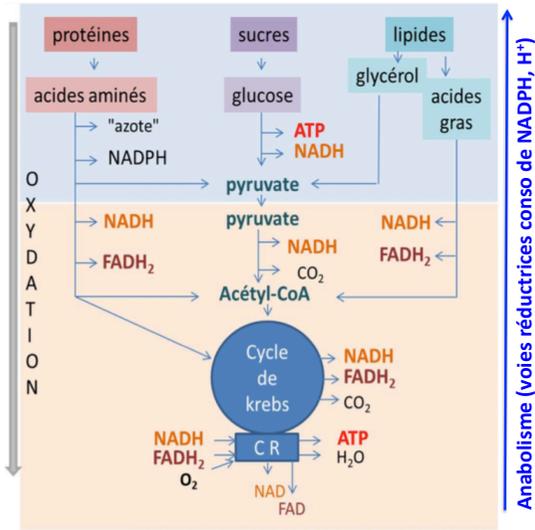
l' Acétyl-CoA

2- Oxydation de l'acétyl-CoA / O₂
→ *co-enzymes d'oxydo-réduction réduits* **NADH, H⁺ FADH₂**

3 - Phosphorylation oxydative

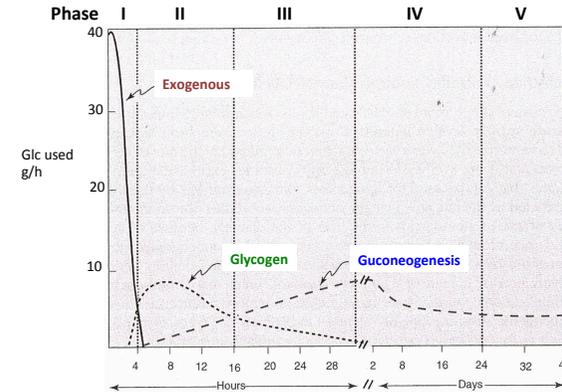
- Production d'ATP** utile au renouvellement moléculaire, croissance etc...
- Transports actifs
- Mouvement, contraction musculaire

Production de déchets:
CO₂, NH₃, H₂O



Régulation :
Où, quand, comment, pourquoi ?

9



Homéostasie du Glc

Les 5 phases

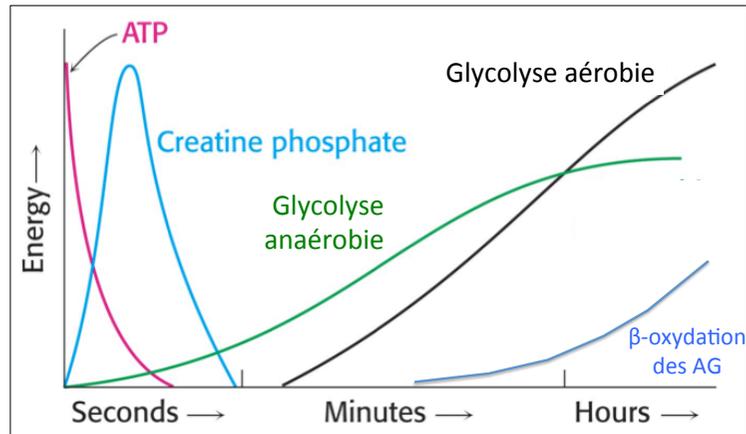
Phase	Origine du Glc sanguin	Tissus utilisateurs de Glc	Source majeure d'Énergie pour le cerveau
I	Exogène	Tous	Glc
II	-Glycogène -GNG hépatique	Tous sauf Foie. Muscle et TA à vitesse réduite.	Glc
III	-GNG hépatique -Glycogène	Tous sauf Foie. Muscle et TA à vitesse intermédiaire.	Glc
IV	-GNG hépatique & rénal	Cerveau, GR et rein. Très peu muscle	Glc, CC
V	-GNG hépatique & rénal	Cerveau ralenti, GR et rein.	CC, Glc

GNG: Gluconéogenèse CC: corps cétoniques TA: Tissue adipeux

10

Comprendre les besoins et la fonction de chaque organe

Exemple : Le Muscle et ses Sources d'Énergie (ATP) au Cours d'un Exercice Physique



ATP: environ 100g. Un homme au repos en consomme 40kg / 24h !!!!
réserves limitées, autres sources énergétiques, coopération entre muscle, foie et TA

11

12

Hans Krebs



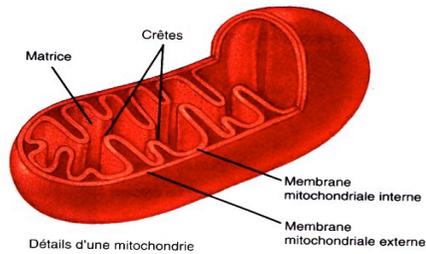
Krebs in honor
 Prix Nobel Médecine
 1953
 découverte du cycle de l'urée
 et du cycle de l'acide citrique

Chapitre 2: METABOLISME OXYDATIF

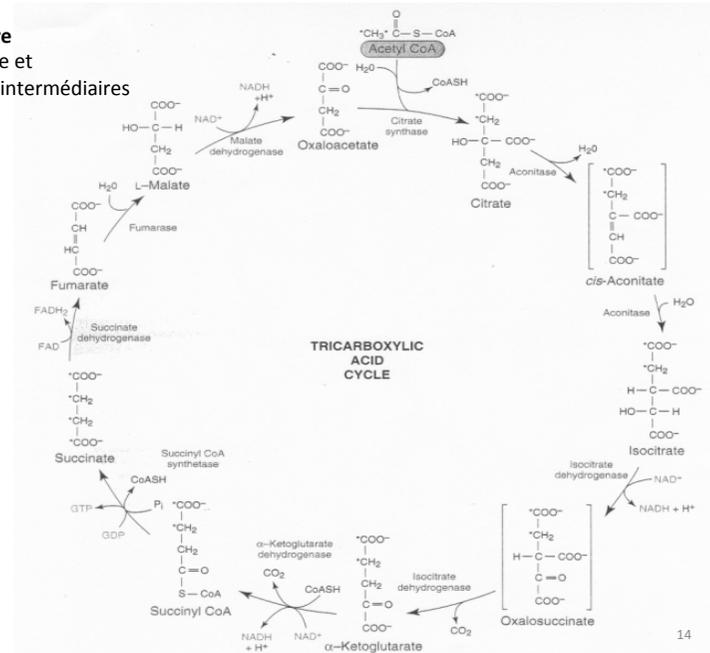
- 1- Cycle de l'acide citrique (Cycle de KREBS)
 (Cycle des Acides tricarboxyliques)
- 2- La Chaîne Respiratoire (Phosphorylation oxydative)
- 3- L'Oxygène N'est Pas Toujours un Ami

Quelques minutes de révision
<https://youtu.be/JPCs5pn7UNI>

Catabolisme oxydatif, aérobie
 du groupement acétyl sous
 forme active d'acétyl-CoA



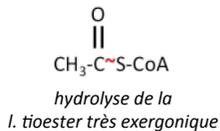
Pour Mémoire
 Détail du cycle et
 formules des intermédiaires



Le Cycle de KREBS Généralités

C'est quoi?

Catabolisme oxydatif aérobie
 du gpt acétyl (Acétyl CoA)



enlèvement de H⁺
 et transfert --> NADH, H⁺ et FADH₂

Besoin
 d'oxygène

Pourquoi?

- Il est source d'énergie (GTP). Il produit aussi du NADH, H⁺ et FADH₂ qui seront réoxydés par la chaîne respiratoire pour la synthèse d'ATP.

voie
 Amphibolique

-Des intermédiaires du cycle sont des points d'arrivée du catabolisme (cataplérose) (acides aminés glucoformateurs, AG à (2n+1) carbonés).

-D'autres intermédiaires sont le point de départ de voies de synthèses (anaplérose) (acides aminé, porphyrines, nucléotides).

Où et quand?

Dans la mitochondrie de toutes les cellules donc, jamais dans le Globule Rouge
 Fonctionne toujours, mais au ralentit si défaut d'apport d'O₂

couplé à la chaîne respiratoire,
 il apporte 90% de l'énergie cellulaire
 il est commun à tous les organismes aérobies

1- Le Cycle de KREBS

1-1 Généralités:

Ce cycle, également appelé **cycle des acides tricarboxyliques** ou **cycle de l'acide citrique** est le point central vers lequel convergent les groupements acétyle (sous la forme d'acétyl-CoA) issus du catabolisme des glucides, des lipides et des protéines pour y subir un **catabolisme oxydatif aérobie** (voir dia suivante).

oxydatif: par enlèvement d'atomes d'hydrogène et transfert sur le **NAD⁺** et le **FAD**

aérobic: exclusivement en présence d'**O₂**, même si celui-ci ne participe pas directement aux réactions du cycle. L'**O₂** permettra la réoxydation des co-enzymes réduits (**NADH**, **H⁺** et **FADH₂**) via la chaîne respiratoire.

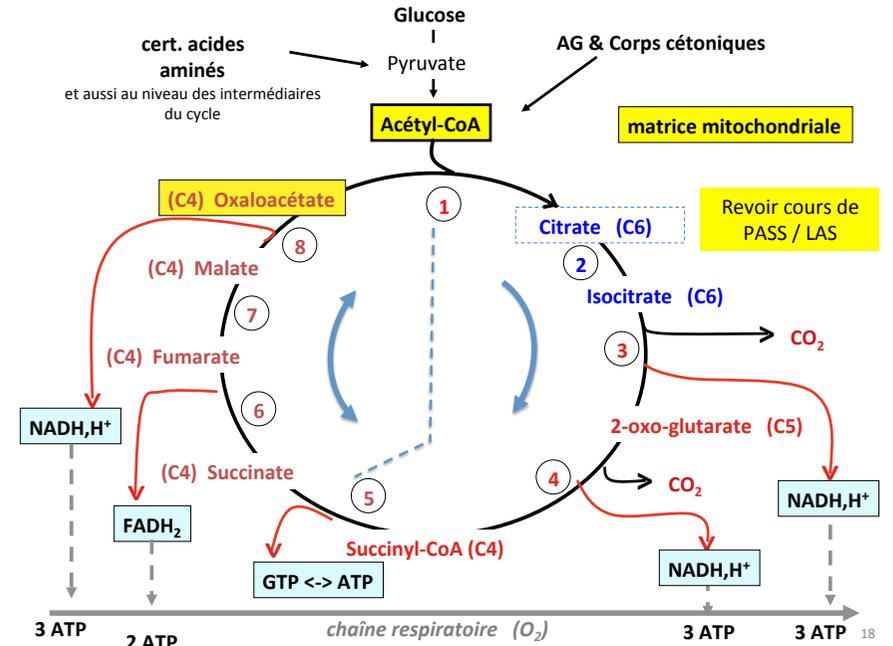
L'**acétyl-CoA** substrat de ce cycle est l'intermédiaire vers lequel converge le catabolisme oxydatif des glucides, des lipides (acides gras et corps cétoniques) et des protéines.

Toutes les enzymes du cycle de Krebs sont localisée dans la **mitochondrie cellulaire**.

C'est la raison pour laquelle le **globule rouge (GR)** est incapable d'assurer ce cycle, incapable d'utiliser la glycolyse aérobie, la β -oxydation des acides gras ou encore d'utiliser les corps cétoniques. **La seule source énergétique du GR est la glycolyse anaérobie.**

Couplé à la chaîne respiratoire mitochondriale, le cycle de Krebs fournit 90% de l'énergie cellulaire

17



Pour Mémoire:

- Le cycle comprend 8 réactions. Couplé à la chaîne respiratoire, le bilan est 12 ATP par Acétyl-CoA oxydé (voir figure)
- l'acétyl-CoA qui entre dans le cycle est totalement oxydé en CO₂ (déchet). L'oxaloacétate doit être régénéré en fin de cycle.
- 4 des 8 réactions sont des réactions d'oxydation dont l'énergie est conservée dans les coenzymes réduits (NADH, H⁺ et FADH₂) qui seront ensuite réoxydés par la chaîne respiratoire avec production d'ATP.
- Les premières réactions du cycle (rx 1, 3 et 4) sont irréversibles et conduisent à l'oxydation totale du groupement acétyle. Elles sont l'objet de régulations et entraînent le cycle
- la réaction 5 est la seule à produire directement un nucléoside triphosphate (GTP), équivalent de l'ATP
- les réactions 6, 7 et 8 sont réversibles, elles permettent de régénérer l'OA.
- Certains intermédiaires peuvent être interconnectés avec d'autres voies. Le cycle de Krebs est une voie amphibolique (diapo 24)
- dans des situations de forte demande énergétique où bien lorsque des intermédiaires du cycle sont soustraits à destination de voies de synthèses (Krebs = voie amphibolique), l'OA pourra ne pas être régénéré en totalité et venir à manquer. Il devra alors être resynthétisé à partir de réactions dites **anaplerotiques**.

19

Bilan énergétique du cycle de Krebs couplé à la chaîne respiratoire



Rx 1 3,4,8 6 5 5 1,7

A la fin du cycle:
-L'OA de départ est régénéré,
-L'acétyl-CoA est « brûlé » en CO₂



- Formation d'une liaison P riche en énergie (1 GTP)
- Elimination de 2 C (acétyl-CoA brûlé) avec régénération de l'OA
- Formation transitoire de 4 coenzymes réduits 3 NADH, H⁺ et 1 FADH₂

Les coenzymes réduits entreront dans la chaîne respiratoire pour être réoxydés et cela s'accompagnera de la formation de 11 ATP supplémentaires.

Bilan: En **aérobiose**, le cycle apporte l'équivalent de **12 ATP par molécule d'acétyl-CoA oxydée**

Bilan atomique: Les 2 C éliminés proviennent de l'Acétyl-CoA.

20

1- Le Cycle de KREBS

1-2 Origine des Substrats

1-2-1 Acétyl-CoA

Selon les conditions métaboliques, quatre origines sont possibles

- **Glucidique** : la glycolyse catabolise les hexoses en pyruvate susceptible d'être transformé en acétyl-CoA dans la mitochondrie par la **pyruvate déshydrogénase (PDH) point de régulation majeur**.
- **Lipidique** : - la β -oxydation des acides gras (AG) issus de l'hydrolyse des triglycérides (TG) conduit à la formation d'acétyl-CoA.
- **Protéique** : le catabolisme de la plupart des AA d'origine alimentaire ou musculaire rejoint le pyruvate ou l'acétyl-CoA lui-même. Certains AA sont directement catabolisés en intermédiaires du cycle.
- les **corps cétoniques** synthétisés dans le foie en période de jeûne à partir des AG et des acides aminés (AA) cétoformateurs donnent, dans les tissus extrahépatiques, de l'acétyl-CoA (**cétolyse**) qui entre dans le cycle de Krebs.

1-2-2 Oxaloacétate

A l'état basal, l'OA est régénéré en fin de cycle. S'il vient à manquer (forte demande énergétique ou détournement des intermédiaires du cycle à des fins de synthèse), d'autres voies permettent de le resynthétiser (diapos 37 à 39).

21

1- Le Cycle de KREBS

1-3 Rôles

Le cycle de Krebs joue un double rôle: principalement **source énergétique** mais aussi **source d'intermédiaires des voies de biosynthèse**.

1-3-1 Source énergétique

- **Pour fonctionner les coenzymes d'oxydo-réduction réduits (NADH, H⁺ et FADH₂) au cours du cycle devront ensuite être réoxydés via la chaîne respiratoire. L'O₂ ne participe donc pas directement au cycle de Krebs mais sa présence est obligatoire car il intervient dans la chaîne respiratoire laquelle est nécessaire pour régénérer le pool de NAD⁺ et du FAD non-réduits mitochondrial.**
- **La vitesse d'oxydation de l'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs dépend :**
 - 1) de la concentration en acétylCoA;
 - 2) de l'accumulation des produits énergétiques (NADH, H⁺, fonctionnement de la chaîne respiratoire) et ATP (niveau énergétique de la cellule)
 - 3) de l'accumulation des produits intermédiaires du cycle.

22

1- Le Cycle de KREBS

1-3 Rôles

1-3-2 Source d'Intermédiaires des Voies de Biosynthèses (anaplérose)

Le cycle de Krebs est une **plaque tournante** du métabolisme intermédiaire (dia 20). On parle de **voie amphibolique** (participe au catabolisme et à l'anabolisme de différents substrats). Il peut donc, en fonction de l'état métabolique et des besoins de la cellule, y avoir des « fuites », avec, comme conséquence, une régénération incomplète de l'OA de départ:

le **citrate**, s'il est synthétisé en excès, peut être exporté dans le cytosol et utilisé pour synthétiser des AG ou des stérols, en apportant des unités Acétyl-CoA et du NADPH, H⁺

L' **α -CétoGlutarate**: peut être transaminé en Glu et converti en dehors de la mitochondrie en AA (biosynthèse). En particulier au niveau des tissus nerveux, il donne des neurotransmetteurs Glu et GABBA

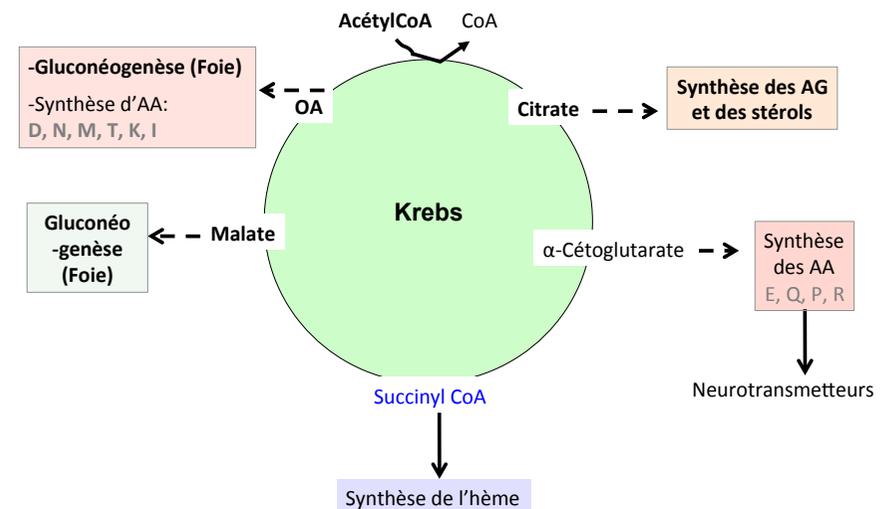
L'**OA** peut être transaminé en Asp précurseur de l'Asn, et des pyrimidines.
OA ne peut pas sortir de la mitochondrie mais il peut être transformé en malate pour entrer dans la gluconéogenèse hépatique en situation de jeune

Le **Malate**: exporté vers le cytosol, (réoxydé en OA et convertit en PEP) point de départ de la **gluconéogenèse** hépatique, en situation de jeune

Le **Succinyl CoA** : point de départ à la synthèse de l'hème dans les réticulocytes

23

Le cycle de Krebs est un cycle amphibolique (à la fois cataplérotique et anaplérotique)



24

1- Le Cycle de KREBS

1-4 Régulation du cycle de Krebs:

Pour être actif, le cycle de Krebs nécessite un **apport d'O₂**. Son activité dépendra également de la **disponibilité de ses substrats** et de la **régulation allostérique des réactions irréversibles** de début de cycle comme nous le détaillons ci-après.

1-4-1 Disponibilité en Substrats

1-4-1-1 Apport en Acétyl CoA

1-4-1-2 Recharge en Oxaloacétate

1-4-1-3 Régénération de NAD⁺ et FAD

1-4-2 Effecteurs Allostériques

1-4-2-1 Citrate synthase (rx 1)

1-4-2-2 Isocitrate Déshydrogénase (IDH) (rx 3)

1-4-2-3 α-Cétoglutarate Déshydrogénase (rx4)

25

1-4 Régulation du cycle de Krebs:

1-4-1 Disponibilité en Substrats

1-4-1-1 Apport en Acétyl-CoA

L'acétyl-CoA entrant dans le cycle de Krebs a **4 origines possibles** en fonction de l'état énergétique et nutritionnel (voir figure).

a) Glucidique: *En situation normale* où les réserves de glycogène musculaire et hépatique sont satisfaites, le Pyruvate, issue de la glycolyse pénètre dans la mitochondrie à l'aide d'un transporteur spécifique. Il est transformé en acétyl-CoA par la **Pyruvate déshydrogénase (PDH)**, enzyme clé de la régulation. Cette réaction est **IRREVERSIBLE (les animaux sont donc incapables de convertir l'acétyl-CoA en Glc)**. Cette étape est la voie métabolique prépondérante du pyruvate et elle est soumise à une **régulation essentielle**.

Si le régime est hyperglucidique: l'excès d'acétyl-CoA provenant du pyruvate entrera dans la synthèse des AG (*les glucides peuvent être transformés en AG, mais l'inverse n'est pas vrai*).

b) La β-oxydation des AG issus de l'hydrolyse des TG produit de l'acétyl-CoA. Le contrôle se fait au niveau de l'entrée des AG dans la mitochondrie avant la β-oxydation. Dans presque tous les tissus (essentiellement Foie, muscle et cœur), **mais jamais** dans les tissus glucodépendants (Globule rouge, qui ne possède pas de mitochondrie ou le cerveau dans lequel les AG ne pénètrent pas). Les AG sont la source énergétique préférentielle de certains organes (cœur) (muscle au repos).

c) Les AA (jamais stockés). Ils proviennent du catabolisme des protéines alimentaires (régulier, mais faible) ou musculaires (période de jeûne prolongé). Certains conduisent au pyruvate ou à l'acétyl-CoA. D'autres donnent des intermédiaires du cycle.

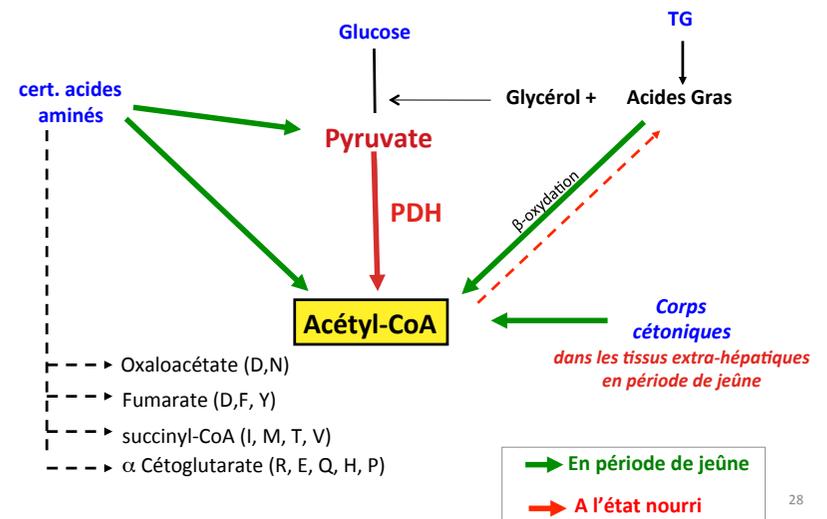
d) Les Corps cétoniques dans des situations de Jeûne prolongé: Le glucose devenu rare est alors réservé aux organes glucodépendants. Les CC synthétisés par le foie à partir des AG et des AA cétoformateurs sont transportés et catabolisés dans les tissus EXTRA hépatiques.

27

i- Acétyl CoA est un Carrefour Métabolique



4 origines en fonction de l'état nutritionnel



i-i Formation de l'acétyl CoA à partir du Pyruvate
Une réaction irréversible hautement régulée



L'entrée d'Acétyl-CoA d'origine glucidique (Pyruvate) est étroitement contrôlée.

La réaction catalysée par la pyruvate déshydrogénase (PDH) joue un rôle capital (diapo voisine)

Un système de transport spécifique permet le passage du pyruvate dans la mitochondrie, puis un complexe pluri-enzymatique majeur : le **complexe pyruvate déshydrogénase** (PDH) situé dans la matrice mitochondriale permet la décarboxylation oxydative irréversible du pyruvate en Acétyl-CoA

Cette réaction est irréversible. Elle catalyse le passage irréversible des glucides vers la production d'énergie et/ou les lipides. **C'est un point de régulation majeur.**

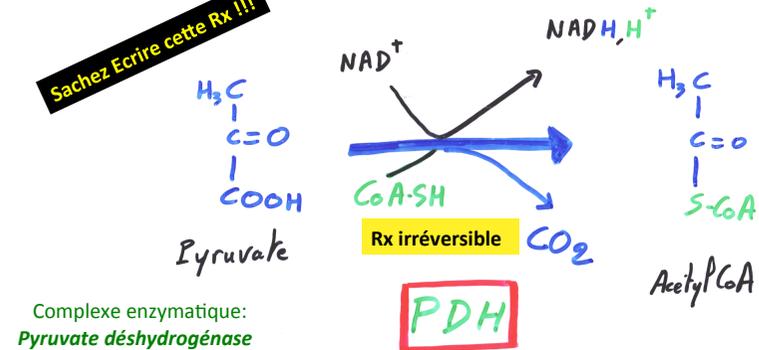
La structure de la PDH est particulière. On parle de **complexe enzymatique: 60 sous-unités (SU) de trois types (E1, E2, E3) et 5 coenzymes** dont 3 sont fixes, c'est à dire, liés à l'enzyme et deux mobiles.

La PDH est présente dans toutes les cellules ayant des mitochondries (pas le GR), particulièrement au niveau du **foie et des muscles squelettiques et cardiaque.**

29

i-i Formation de l'acétyl CoA à partir du Pyruvate
Une réaction irréversible hautement régulée

Sachez Ecrire cette Rx !!!



Enzymes mitochondriale	Coenzyme(s)	nb de SU / complexe
Pyruvate DH (E1)	TPP	24
Dihydrolipoïl transacétylase (E2)	Acide lipoïque, CoA	24
Dihydrolipoïl DH (E3)	FAD, NAD	12

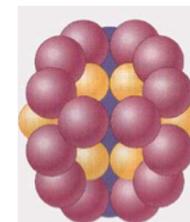
30

Pour Mémoire: La réaction est une décarboxylation oxydative réalisée sur le complexe multienzymatique en **5 étapes sans libération des produits intermédiaires:**

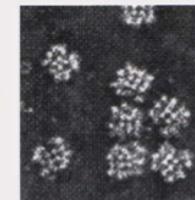
- 1) Pyruvate + TPP --E1--> hydroxyéthyl-TPP + CO₂
 Ici, E1 (sous-unité *pyruvate déshydrogénase*) catalyse la décarboxylation du pyruvate. L'acétaldéhyde formé se combine au coenzyme thiamine pyrophosphate (TPP).
- 2) hydroxyéthyl-TPP + lipoamide --E1--> TPP + acétyl-lipoamide
 Ici, transfère de l'hydroxyéthyl sur l'acide lipoïque, coenzyme fixé sur l'enzyme par une fonction amide avec l'εNH₂ d'un résidu de lysine de l'enzyme E2 (*dihydrolipoïl transacétylase*)
- 3) acétyllipoamide + CoA-SH --E2--> Dihydrolipoamide + acétylCoA
 le gpt acétyl est transféré de l'acétyl-lipoamide au CoA pour former l'acétyl-CoA La liaison thioester riche en énergie est conservée.
- 4) dihydro-lipoamide + FAD --E3--> lipoamide + FADH₂
 Ici la forme oxydée du lipoamide est régénérée (S-S). Le FAD est le cofacteur de E3 (*Dihydrolipoïl Déshydrogénase*) et va capter les équivalents réducteurs (FADH₂)
- 5) Le FADH₂ est réoxydé en FAD par le NAD⁺ qui lui même est réduit en NADH, H⁺

1 NADH, H⁺ est ainsi libéré (équivalent à 3ATP après traitement par la chaîne respiratoire), **L'acétyl-CoA est dirigé soit vers le cycle de Krebs, soit vers la biosynthèse des AG**

31



diamètre: 30nm
 Mr 5 10⁶ Da



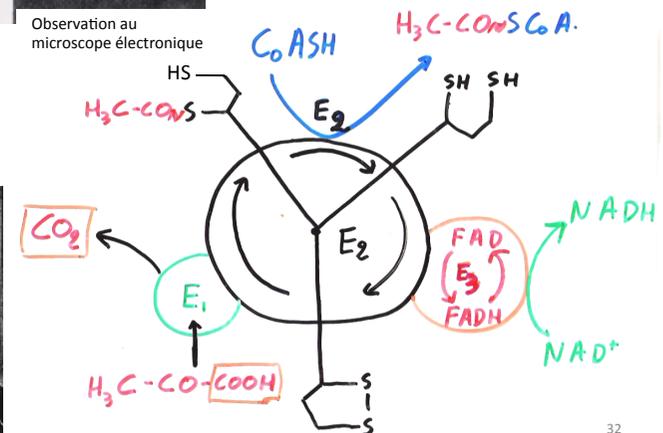
Observation au microscope électronique

Schémas explicatifs

Complexe Pyruvate Déshydrogénase

- E1: SU pyruvate DH 24
- E2: SU dihydrolipoïl transacétylase 24
- E3: SU dihydrolipoïl déshydrogénase 12

déficit d'apport en thiamine



32

L'activité du complexe PDH est soumise à une double régulation

1) Rétrocontrôle rapide par les produits (diapos voisines)

NADH, H⁺ inhibe E3

Acétyl-CoA inhibe E2



Ce rétrocontrôle est rapide (**quelques msec/sec**). Il signifie que les produits sont en excès par rapport à la capacité de la chaîne respiratoire à produire de l'ATP.

Remarque: l'Acétyl-CoA provenant de la β-oxydation des AG aura le même effet pour permettre d'épargner le Glc et de l'orienter vers d'autres voies.

2) Inhibition par phosphorylation réversible de résidus Ser de la SU E1 (diapo 32)

E1 coexiste sous deux formes interconvertibles:

l'une non-phosphorylée active, présente à l'état nourri

l'autre phosphorylée, inactive, présente en situation de jeûne

La **phosphorylation (inactivation)** est catalysée par une *pyruvate déshydrogénase kinase* spécifique (PDH kinase) soumise à un contrôle allostérique.

→ L'ATP, le NADH, H⁺ et l'acétyl-CoA sont, en tant que témoin de l'activité de la β-oxydation des AG en période de jeûne, **activateurs de la PDH kinase** (donc phosphorylation de la PDH et son inactivation)

→ A l'opposé, le **pyruvate**, en tant que témoin de l'activité de la glycolyse, est **inhibiteur de la PDH kinase**

La **déphosphorylation de E1 (activation de la PDH)** est catalysée par la *PDH phosphatase*, activée dans les **muscle par le Ca²⁺** (contraction musculaire) et dans les **tissu adipeux par l'insuline** (signal hormonal)

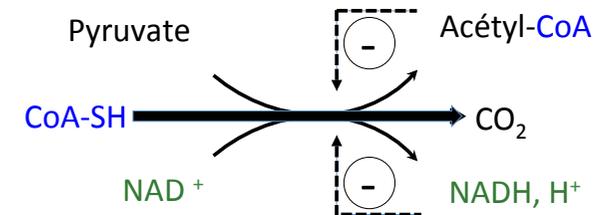
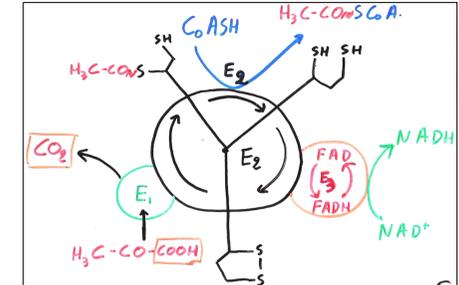
Double Régulation de l'activité du complexe PDH

1- Inhibition allostérique

par les deux produits
(« Feed back » ou Rétrocontrôle)

Acétyl-CoA inhibe E2

NADH, H⁺ inhibe E3



34

Intérêt de la double régulation de la PDH: Récapitulatif (bien retenir et comprendre!)

Le **complexe PDH est un verrou** qui est levé par l'alimentation sous contrôle d'une *kinase* et d'une *phosphatase* elles même régulées. «Point of No Return»

- Au jeûne, l'enzyme est phosphorylée et donc INACTIVE

- La déphosphorylation de E1 (activation) est catalysée par une *phosphatase* également associée à E1 et dépendante de Mg²⁺ et Ca²⁺

Au niveau du muscle squelettique: La libé de Ca²⁺ lors de la contraction active la phosphatase. En même temps le Pyruvate et l'ADP maintiennent la *PDH kinase* inactive.

Au niveau du muscle cardiaque: L'utilisation des AG (60%) est préférée au Glc (30%). Mais, lors d'un exercice modéré, Les catécholamines (Adrénaline) activent, via récepteur **α-adrénergique** (voie phosphatidyl inositol), la libération de Ca²⁺ et activent la *phosphatase*.

Au niv des tissus capable de synthétiser des AG (foie & TA): L'enzyme est sous contrôle hormonale: **L'insuline** qui signale l'état nourri stimule la déphosphorylation de E1 et active la PDH (synthèse d'AG à partir du Glc et lipogénèse).

Les produits de la réaction sont des activateurs allostériques de la *PDH kinase* qui inactivent le complexe PDH.

Les substrats comme le Pyruvate, témoin de l'activité de la glycolyse, sont des inhibiteurs de la *PDH kinase* (donc activateur de la PDH).

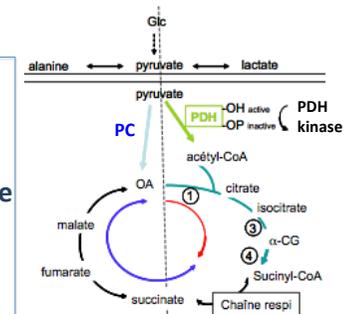
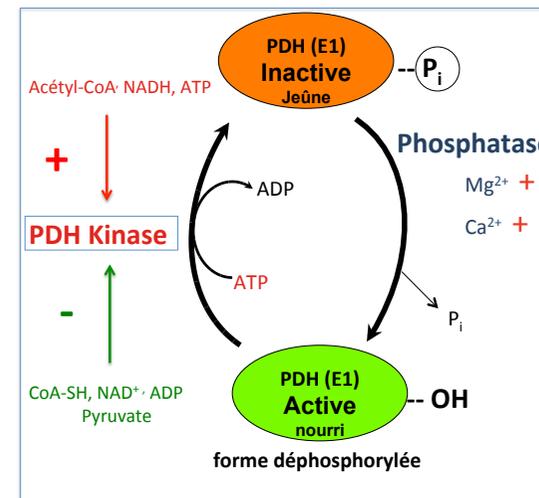
Notes: La PDH n'est pas soumise à un contrôle hormonal via l'AMPc car l'AMPc ne peut entrer dans la mitochondrie.

La pyruvate carboxylase et la pyruvate déshydrogénase sont toujours régulée en opposition

35

Double Régulation de l'activité du complexe PDH

2- Contrôle par modification covalente de la sous-unité E1 :



PC et PDH toujours régulées en opposition

Où, quand, comment, pourquoi ?

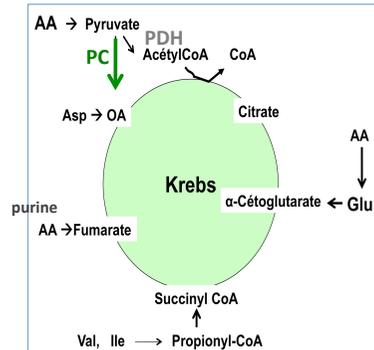
- Muscle squelettique (Ca²⁺)
- Cœur (Adrénaline, R.α adr.)
- Foie et TA (insuline)

Et le cerveau ? Et le GR ?

1-4-1-2 Recharge en Oxaloacétate (OA)

A l'état basal, l'OA régénéré en fin de cycle suffit à entretenir le cycle, *mais parfois ...*

Outre son rôle énergétique, le cycle de Krebs (**voie amphibolique**) participe également aux voies de synthèse ou de dégradation de différents substrats. Certains intermédiaires du cycle (citrate, malate, OA) vont alors être détournés du cycle, en sortir et passer dans le cytosol: On parle de **cataplérose**.



Il faudra alors recharger le Cycle de Krebs en OA (rx anaplérotiques) **Anaplérose**

Il existe des voies anaplérotiques pour recharger le cycle en OA

37

La Recharge en Oxaloacétate (OA)

passer par

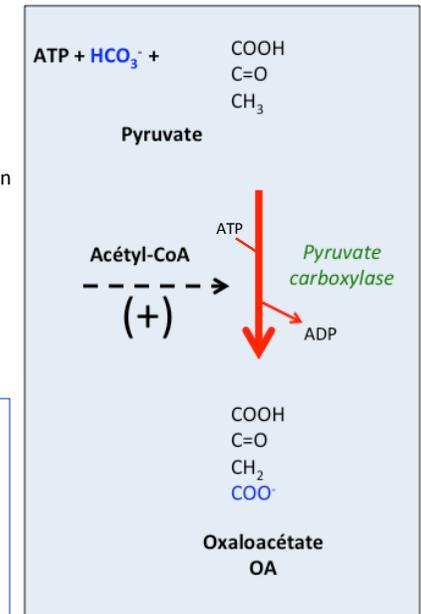
La Pyruvate Carboxylase (PC)
(enzyme à Biotine)

Cette réaction de carboxylation du pyruvate en OA est catalysée par la **pyruvate carboxylase** mitochondriale (rx de la gluconéogenèse).

Elle a lieu au niveau du **foie** et des **reins**.

Au niveau du foie, elle compense l'efflux important des intermédiaires du cycle (OA, malate) quand la gluconéogenèse est active.

La **PC** est activée par l'**acétyl-CoA** qui provient de la **β-oxydation**, le même acétyl-CoA agissant comme inhibiteur allostérique de de PDH et activateur de sa kinase (**PDH kinase**)



38

La recharge en OA (Pyruvate carboxylase) intervient dans plusieurs voies métaboliques dont les principales sont:

- (1) La néoglucogenèse à partir de l'Alanine (Ala) et de lactate
- (2) La dégradation de certains acides aminés, en particulier au niveau des muscles lors d'une activité d'intensité moyenne et de longue durée
- (3) Réaction de carboxylation du pyruvate en malate par l'enzyme malique cytosolique. C'est une voie mineure dans le foie.

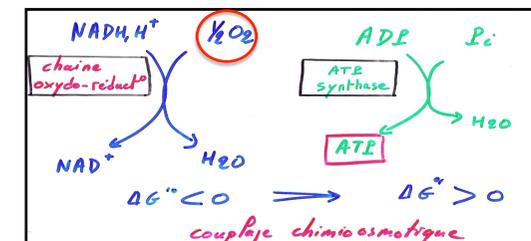
Leur rôle est moins important que celui de la Pyruvate carboxylase

39

1-4-1-3 Régénération du NAD⁺ et du FAD

C'est le **Contrôle Respiratoire**

- Krebs est **obligatoirement** couplé à la chaîne respiratoire



La régénération du NAD⁺ et du FAD est indispensable pour que le cycle se perpétue, Cette régénération se fera grâce à la chaîne respiratoire qui fonctionne si l'apport en O₂ est suffisant.

Le cycle de Krebs est donc dépendant de la vitesse de synthèse de l'ATP, elle même dépendante de la **disponibilité** de ADP, Pi, de l'apport d'O₂

40

1-4 Régulation du cycle de Krebs:

1-4-2 Effecteurs allostériques

1-4-2-1 Citrate Synthase (CS) (première réaction du cycle)

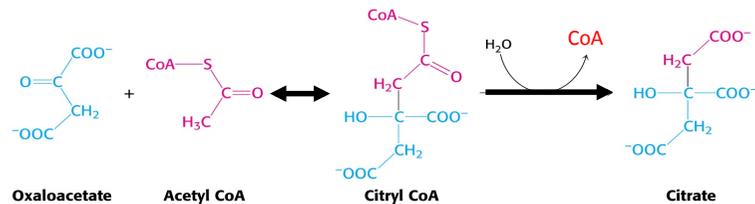
$$\Delta G'^{\circ} = -31,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

$$\Delta G' < 0$$

Cette Enzyme est régulée

activée par la disponibilité des 2 substrats la concentration en OA mitochondrial est limitante ($[OA] < K_M$)

ralentie par $NADH, H^+$ (témoin du niveau énergétique élevé)

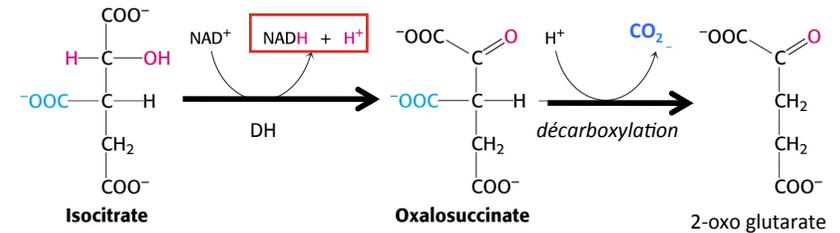


41

1-4 Régulation du cycle de Krebs:

1-4-2 Effecteurs allostériques

1-4-2-2 Isocitrate Déshydrogénase (IDH) (troisième réaction du cycle)



Décarboxylation oxydative
très exergonique
étape limitante

Enzyme régulée par les témoins du niveau énergétique de la cellule:

ralentie par ATP, NADH, H⁺

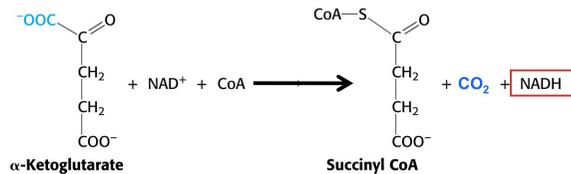
activation allostérique par AMP, ADP (et Ca²⁺)

42

1-4 Régulation du cycle de Krebs:

1-4-2 Effecteurs allostériques

1-4-2-3 α Cétoglutarate Déshydrogénase (α CGDH) (quatrième réaction du cycle)



Seconde Décarboxylation
très exergonique
autre étape limitante

inhibée par ATP, GTP, NADH, H⁺, succinyl CoA (produit de la rx)

activation allostérique par ADP, NAD⁺ et Ca²⁺

Ca²⁺: stimulation à des conc. qui initient la contraction musculaire et qui activent la glycogène phosphorylase b

43

Points essentiels à retenir ici:

Le Cycle de Krebs, c'est à dire l'oxydation de l'acétyl-CoA fonctionne essentiellement pour produire de l'ATP en relation directe avec la consommation en O₂ et la réoxydation du NADH, H⁺ et du FADH₂

Le cycle de Krebs est régulé pour coordonner la production du NADH, H⁺ aux besoins en énergie des tissus.

→Au niveau du cycle proprement dit: Seules sont régulées les 3 réactions exergoniques:

Citrate synthase, l'Isocitrate déshydrogénase (IDH) et l' α -cétoglutarate DH.

→Trois mécanismes de régulations sont importants

La disponibilité en substrats: La vitesse de formation du citrate dépend des concentrations en acétyl-CoA et en OA qui, dans les mitochondries, ne sont pas saturantes. A ce niveau, le rôle de la PDH est capital.

L'inhibition par les produits accumulés:

L'accumulation de succinyl-CoA inhibe l' α -cétoglutarate DH et la citrate synthase

Le citrate inhibe la citrate synthase

La modulation allostérique:

-L'ATP et le NADH, H⁺ se comportent comme des inhibiteurs allostériques la citrate synthase et l'IDH.

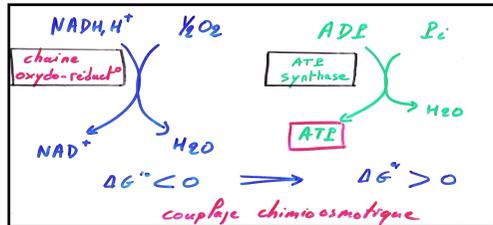
-L'ADP et le Ca²⁺ sont des activateurs allostériques de certaines enzymes et notamment de l'IDH et de l' α -cétoglutarate DH.

44

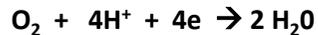
2- La Chaîne Respiratoire (Phosphorylation Oxydative)

2-1 Généralités

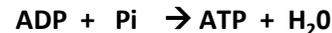
Conversion de l'énergie dans la mitochondrie oxydation phosphorylante



2-2 La Chaîne d'Oxydo-Réduction



2-3 La Phosphorylation



45

La chaîne respiratoire mitochondriale a pour objectif de régénérer le NAD^+ et le FAD nécessaires au bon fonctionnement du cycle de Krebs et de tirer l'énergie contenue dans les formes réduites (NADH, H^+ et FADH_2) pour produire de l'ATP. Le couplage des deux processus (oxydo-réduction et phosphorylation de l'ADP) est un **couplage chimiosmotique** et non pas un couplage chimique conventionnel.

Ce couplage chimiosmotique correspond schématiquement à une rx chimique exergonique qui, via une chaîne d'oxydo-réduction, conduit à la formation d'une **force protomotrice**. Cette force protomotrice est ensuite mise à profit pour apporter l'énergie à une réaction thermodynamiquement défavorable (phosphorylation de l'ADP en ATP)

La chaîne respiratoire est un ensemble de complexes protéiques localisés dans la membrane interne des mitochondries (imperméable). La synthèse de ces complexes a une double origine génétique: ADN nucléaire et ADN mitochondrial.

La chaîne respiratoire permet la formation d'eau et d'ATP à partir de l'H des molécules énergétiques, d'ADP et de l' O_2

46

L'essentiel à retenir sur la chaîne respiratoire

C'est quoi? Couplage chimio-osmotique de la régénération du NAD^+ et du FAD avec la synthèse d'ATP (Peter Mitchell Prix Nobel 1978)

Pourquoi? Les réactions d'oxydation du catabolisme ont enlevé aux substrats des hydrogènes (protons et électrons) qui ont été collectés par les coenzymes d'oxydoréduction NAD^+ et FAD .

- NADH, H^+ et FADH_2 doivent maintenant être **réoxydés** pour que les voies cataboliques se poursuivent (cycle de Krebs).
- Chaque NADH, H^+ réoxydé conduit à la formation de **3 ATP**.
- Chaque FADH_2 réoxydé conduit à la formation de **2 ATP**

Où et quand? Au niveau de la **membrane interne des mitochondries** et **toujours, si apport d'oxygène. Jamais dans le GR !!**

Attention à l'origine des coenzymes réduits:
- Le FADH_2 est produit localement dans la mitochondrie (1 pool).
- Pour le NADH, H^+ , il y a 2 sources. L'une **cytoplasmique** qui utilisera un système de navettes pour entrer dans la mitochondrie (cours glucides). L'autre source est **mitochondriale** (β oxydation, PDH, cycle de Krebs).

47

Les informations qui suivent sur la chaîne respiratoire sont des rappels du cours de PASS / LAS sur:

-le fonctionnement de la chaîne respiratoire et le couplage chimio-osmotique de la chaîne d'oxydo-réduction à la phosphorylation

-Des anomalies de cette chaîne respiratoire à l'origine de maladies génétiques existent. Des inhibiteurs de la chaîne respiratoire ont également été décrits.

-Une réduction partielle de l' O_2 peut conduire à la production d'espèces réactives de l'oxygène aux effets délétères.

Les questions évoquées dans les **diapos 45 à 56** ne sont pas directement impliquées dans la régulation du métabolisme, objet de ce cours.

Ces points seront approfondis dans d'autres enseignements au cours de vos études

48

2-2 la Chaîne d'Oxydo-Réduction (Complexes I à IV)

La chaîne respiratoire assure le transport des électrons des co-enzymes réduits (NADH, H⁺ et FADH₂) à l'oxygène.

Schématisée sur la diapo suivante, elle est essentiellement constituée:

-de 4 gros complexes plurienzymatiques fixes (I, II, III, IV)

*formés de plusieurs protéines enchâssées dans la membrane interne de la mitochondrie (le complexe II étant sur la face matricielle)

* liés à des groupements prosthétiques d'oxydoréduction (FAD, FMN, protéines à centre Fer-Soufre et cytochromes)

- de deux transporteurs mobiles d'électrons

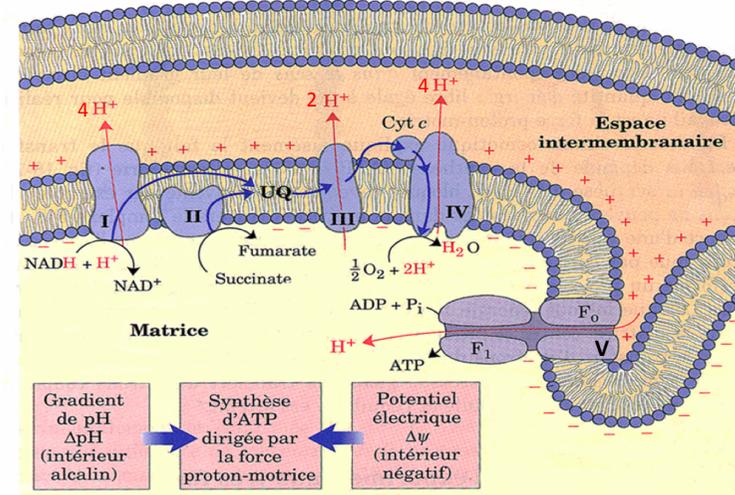
* coenzyme Q (également désigné CoQ ou ubiquinone **UQ**), longue chaîne isoprénique hydrophobe mobile au sein de la phase lipidique membranaire entre les complexes I ou II et le complexe III

*cytochrome c plus hydrophile et mobile, tourné vers l'espace intermembranaire, entre les complexes III et IV

On ne connaît pas avec certitude le nombre exacte de protons pompés par chaque complexe. Les valeurs habituellement retenues sont les suivantes: **4 H⁺ pour le complexe I, 2 H⁺ pour le complexe III et 4 H⁺ pour le complexe IV, soit au total 10 H⁺ par couple d'électrons parcourant la chaîne (6 H⁺ pour le FADH₂ qui n'entre pas au niveau du complexe I mais au niveau du complexe II)**

49

2-2 la Chaîne d'Oxydo-Réduction (Complexes I à IV)



Réoxydation d'un NADH, H⁺ → gradient de 10 H⁺ → 3 ATP
 Réoxydation d'un FADH₂ → gradient de 6 H⁺ → 2 ATP

50

- Un premier couplage de nature **chimio-osmotique** couple l'oxydation du NADH (ΔG<0, travail chimique fourni) à un transport actif de protons de la matrice mitochondriale vers l'espace inter-membranaire (ΔG>0, nécessité d'un travail osmotique).

L'élément de couplage est une chaîne de transport des électrons organisée en complexes enzymatiques respiratoires transmembranaires qui vont réagir entre eux suivant un ordre qui correspond à une augmentation de potentiel rédox. Les e⁻ à haute énergie issus des hydrogènes du NADH, H⁺ et du FADH₂ dévalent alors cette chaîne dans la mb interne.

Au cours de leur passage d'un transporteur au suivant, ils perdent de leur énergie qui est utilisée pour transporter de façon active des protons (H⁺) à travers la mb interne, depuis la matrice vers l'espace inter-membranaire (ΔG>0, nécessité d'un travail osmotique). Ceci crée une différence de potentiel électrochimique de protons également appelé « gradient de protons » (élevé dans l'espace inter-membranaire, faible dans la matrice).

- Puis, un **couplage osmochimique** associe la diffusion spontanée (reflux) des protons de l'espace intermembranaire vers la matrice à la phosphorylation de l'ADP en ATP. L'élément de couplage est le complexe (**ATP synthase ou complexe V**) localisé dans la mb interne ([diapo 45 et 46](#)).

51

52

2-3 La Phosphorylation l'ATP synthase (Complexe V)

L'énergie osmotique (gradient de protons) est ensuite convertie en énergie chimique (phosphorylation de l'ADP).

Le site de cette phosphorylation est l'ATP synthase (complexe V) qui, pour fonctionner dans le sens de la phosphorylation, a besoin d'un apport d'énergie.

Cet apport d'énergie est fourni par le retour de 3 protons. Deux de ces protons pénètrent dans la matrice via le canal à protons FO de l'ATP synthase alors que l'entrée du troisième est couplée à l'entrée d'un Pi (H₂PO₄) via une Pi translocase.

Le complexe F1 de l'ATP synthase catalyse la phosphorylation de l'ADP en ATP mitochondrial qui sera exporté vers le cytosol grâce à une ADP-ATP translocase en échange d'un ADP cytosolique.

Ainsi, le $[ATP] / [ADP][Pi]$ est maintenu dix fois plus élevé côté espace inter-membranaire.

La structure de l'ATP synthase, comme celles des complexes I à IV, a été décrite en PACES.

L'ATP synthase est constituée de deux éléments:

F1: qui porte l'activité catalytique, comprends 5 chaînes polypeptidiques $\alpha\beta\gamma\delta\epsilon$.
Seules les 3 sous unités β participent à la catalyse

F0 (tige): sensible à l'oligomycine. Elle constitue le canal à protons

53

2-3 La Phosphorylation l'ATP synthase (Complexe V)

L'ATP synthase a besoin d'un apport d'énergie.

-ATP et ADP ne diffusent pas librement.

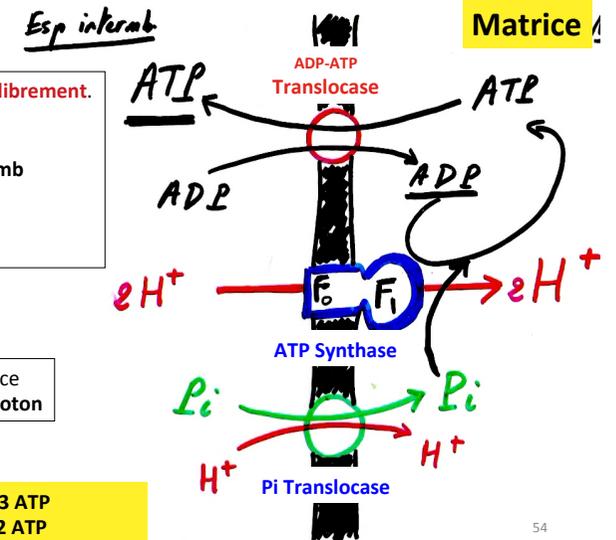
$-[ATP] / [ADP][Pi]$ dix fois plus élevé côté espace inter-mb

-les flux d'ATP et d'ADP sont couplés.

L'entrée d'un Pi dans la matrice est couplée au retour d'un proton

BILAN:

NADH (10 H⁺ transférés) --> 3 ATP
FADH₂ (6 H⁺ transférés) --> 2 ATP



54

2-4 Inhibitions de la Chaîne Respiratoire et ses conséquences

Il existe un certain nombre de composés susceptibles de perturber la chaîne respiratoire en agissant soit comme **inhibiteur de la chaîne de transport d'e⁻** (inhibiteur de la chaîne d'oxydo-réduction) soit comme **inhibiteurs de la phosphorylation** (Complexe V)

Les inhibiteurs de la phosphorylation (diapo suivante) sont:

- soit des **agents découplants** qui dissipent artificiellement le gradient de protons en formant un canal dans la membrane interne et favorise le retour des protons indépendamment de l'ATP synthase et de la Pi translocase

-Soit des **inhibiteurs spécifiques de l'activité de l'ATP synthase ou de l'ATP translocase.**

Remarque: Chez la plupart des mammifères, il existe un type de Tissu adipeux, appelé la Graisse Brune (riche en cytochromes) ou le catabolisme oxydatif n'a pas pour but de produire de l'énergie mais de la chaleur nécessaire au maintien de la température corporelle. La membrane interne de la mitochondrie de ces cellules contient une protéine (Thermogénine), canal à protons sans complexe V, qui favorise le retour des protons avec dissipation de l'énergie (chaleur).

Rôle: Thermogénèse des nouveaux nés. La Thermogénine est activée par des AG libérés de TG en réponse à des signaux hormonaux (β -adrénergiques)

Autres inhibiteurs naturels: Les hormones thyroïdiennes (énergie libérée également sous forme de chaleur)

La chaîne respiratoire fait intervenir de nombreuses protéines ou complexes protéiques dont les gènes correspondant, qu'ils soient d'origine mitochondriale ou nucléaire, peuvent porter des mutations à l'origine de dysfonctionnements dans la phosphorylation oxydative, diminution de création d'énergie et augmentation de la production de formes réactives de l'oxygène

55

2-4 Inhibitions de la Chaîne Respiratoire et ses conséquences

Inh. du Transport d'e⁻ (Complexe I à IV)

Complexe I (NADH-Q oxydoréductase):
Roténone (plante tropicale),
Barbituriques, Halothane

Complexe II (Succinate-Q réductase):
Ac. Malonique

Complexe III (Q-cyt C oxydoréductase):
Antimycine (produit à partir de bactéries)

Complexe IV (cyt C oxydase):
CO, cyanure, azide de sodium
H₂S

Inh. de la phosphorylation (Complexe V)

Agents découplants:

Empêchent le retour des H⁺ par le canal du complexe V

naturels: Thermogénine (TA brun)
chimiques: 2,4 dinitrophénol
ionophoreux: valinomycine, gramicidine

Inhibiteurs Non- Découplants:

agissant sur ATP-synthase: Oligomycine

agissant sur ATP-translocase: Atractyloside

Maladies mitochondriales

Mutation dans les gènes mitochondriaux ou nucléaires --> Dysfonctionnement dans la phosphorylation oxydative avec **diminution de création d'énergie** et **augmentation de la production des formes réactives de l'oxygène.**

Organes les plus vulnérables: **Muscle, SN et cœur.**

56

3- L'O₂ n'est pas toujours un Ami

3-1 L'oxygène est indispensable à la vie. C'est aussi un poison !

1- Dans la chaîne respiratoire, l'O₂ subit une **réduction totale**: Accepte directement 4 e⁻ → H₂O Mitochondrie Source de vie cellulaire

2- mais il peut aussi y avoir des **Accepteurs intermédiaires d'e**

(ex: O₂ + 1 e⁻ → O₂^{•-}) donnant naissance à des **espèces réactives de l'oxygène (ERO)** radicalaires qui portent un e célibataire (non-apparié et très réactif) sur leur couche externe (O₂^{•-}, OH[•]) ou non-radicalaire (H₂O₂).

Très réactifs, les ERO vont exercer des effets délétères sur des molécules (lipides, protéines, acides nucléiques) qu'ils endommagent (les sucres sont plus résistants). Il y a un transfert d'e⁻ vers ces molécules, des réactions en chaîne et une oxydation définitive)

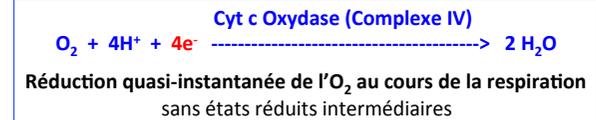
- Le **métabolisme cellulaire normal produit des ERO en continu**, mais le plus souvent en faibles quantités (2% à 5% de la chaîne respiratoire qui constituent 98% des ERO). Le rôle physiologique de cette **production basale** reste mal connu mais elle pourrait aussi avoir quelques effets bénéfiques. Certains participeraient aux processus de signalisation cellulaire. Par ailleurs, dans les **phagocytes**, les ERO détruisent les particules ingérées (bactéries ...)

Pour lutter contre les ERO excédentaires, nous disposons:

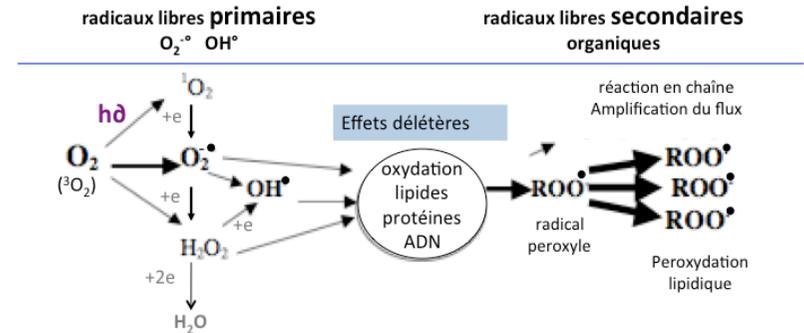
- de systèmes de **défense antioxydant qui neutralisent les ERO excédentaires**.
- de systèmes de réparation ou d'élimination des molécules endommagées.

Un excès de production ou un déséquilibre sont à l'origine d'un Stress oxydant

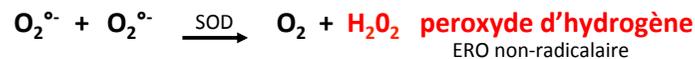
→ dégâts irréversibles. Bcp de pathologies aiguës ou chroniques seraient associées aux ERO: Athérosclérose, diabète sucré, cancer, M inflammatoires, Alzheimer, synd. ischémie-reperfusion. 57



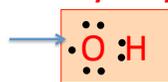
Mais, il y a des imperfections:
2 à 5 % de l'O₂ peut subir une succession de réductions monoélectroniques



Quelques réactions de réduction monoélectronique et leurs conséquences

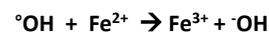


Radical hydroxyle °OH

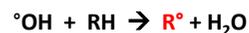


(le plus réactif, 1 e célibataire)
délétère vis à vis des matériaux biologiques

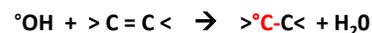
- arrache un e:



- arrache un atome d'H d'un substrat organique RH:



- se greffe sur une double liaison:



59

3-2 Effets délétères des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

Attaque des Matériaux Biologiques

Les lipides, principalement les AG polyinsaturés (AGPI) membranaires sont la cible privilégiée de OH[•] qui arrache un H sur les C situés entre 2 =, pour former un radical diène conjugué (1).

2- réarrangement des = puis rencontre de O₂ et formation d'un radical peroxyde
3- Le radical peroxyde peut activer à son tour un AGPI ou retour d'un H et donner un hydroperoxyde (R-O-OH) ≠ O=C-OH

C'est la PEROXYDATION LIPIDIQUE: début d'une cascade de réactions: le radical peroxyde se transforme en peroxyde au contact d'un autre AG qui forme un nouveau radical diène conjugué.

4- Les hydroperoxydes pourront ensuite continuer à se fragmenter en aldéhydes, acides et alcanes, éliminés par voie pulmonaires (volatils).

La peroxydation lipidique est considérée comme normale quand elle reste contrôlée par des enzymes: Elle devient pathologique quand elle se propage aux molécules voisines, donne naissance à des pontages entre molécules ou à de nouvelles molécules.

Les protéines

- (1) Les protéines les plus sensibles sont celles qui comportent un gpt sulfhydryle (SH) (beaucoup d'enzyme).
- (2) Modifications d'acides aminés (agression modérée) et conjugaison.
- (3) (1&2) **Protéines oxydées** deviennent hydrophobes: → amas associés aux lipides (tissus âgés).
- (3) **Glycation non-enzymatique** des protéines (habituellement dans hyperglycémie, diabète mal équilibré, rx de Maillard) et glycoxydation (glycation + oxydation) (AGE pour **Advanced glycation end products**). Ne peuvent être ni détruite ni libérées et s'accumulent dans la cellule. Vieillesse accélérée des tissus

Les acides nucléiques

Coupages de l'ADN ou mutations

60

Chapitre 3: METABOLISME LIPIDIQUES (A)

Lipides Energétiques:

Synthèse, Stockage et Utilisation des Acides Gras
et Triglycérides

Les lipides sont définis sur la base d'un **critère physique commun**:
Peu ou pas solubles dans l'eau, Solubles dans les solvants organiques

Pour la classification, se référer au cours de PASS (Paris-Saclay)

61

1-1 Rappel structure des AG



Acide linoléique (C18:2 Δ ^{9,12})

n. commun et symbole

n. systématique

Acide octadécadiénoïque
Acide n-octadécadiénoïque

Le n signale le caractère linéaire du squelette carboné

Quelques AG importants

C12:0 Ac. laurique
C14:0 Ac. myristique

C16:0 Ac. palmitique

C18:0 Ac. stéarique

AG saturés les plus répandus

C20:0 Ac. dosocanoïque

C16:1 Δ ⁹ Ac. palmitoléique ω 7

C18:1 Δ ⁹ Ac. oléique ω 9

AG essentiels

C18:2 Δ ^{9,12} Ac. linoléique 2 ω 6

C18:3 Δ ^{9,12,15} Ac. linoléique 3 ω 3

C20:4 Δ ^{5,8,11,14} Ac. arachidonique 4 ω 6

62

1- Rappels

Selon leur nature, les lipides de l'organisme assurent différentes fonctions.

Isolant électrique: les lipides membranaires réalisent l'isolation électrique des cellules et permettent la constitution d'un potentiel électrique membranaire.

Isolant mécanique et thermique: les graisses corporelles (TG), par exemple au niveau sous cutané.

Précurseur: Certains lipides sont les précurseurs de molécules biologiquement actives (cholestérol, hormones stéroïdes, Vitamines ADEK, messagers (IP3 et DAG, céramide) et modulateurs cellulaires (eicosanoïdes)

Les lipides sont aussi des composés énergétiques. C'est cet aspect qui nous intéresse dans ce cours
Les triglycérides essentiellement stockés au niveau du **tissus adipeux (TA)** sont la source d'acides gras (AG) dont l'oxydation complète en CO₂ et H₂O est très exergonique

Ces TG constituent habituellement 10% du poids d'un adulte mais les AG qu'ils contiennent représentent **90%** des réserves énergétiques de l'organisme.

Les AG sont des molécules très réduites. Si l'équivalent de l'énergie qu'ils représentent était stocké sous forme de sucre le poids d'un individu serait augmenté de plus de **20 Kg**

Les réserves énergétique de l'organisme sont indiquées dans la **dia suivante**:

Les réserves sous forme de **Sucre & de Glycogène sont assez limitées mais elles sont facilement mobilisables**: 150g/foie 300g/muscle:

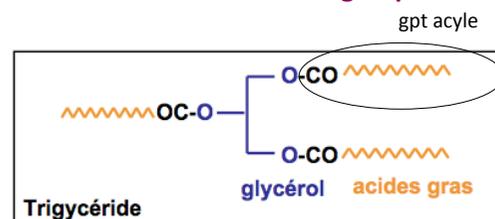
Remarque: Seuls le Foie, le TA et les cellules intestinales sont capables de synthétiser et redistribuer les TG. Les autres cellules le font pour leurs besoins propres
L'utilisation des **Acides aminés (AA)** à des fins énergétiques n'est pas habituel **sauf en situation de jeune prolongé**

63

1- Rappels

1-2 Structure et rôle énergétique des TG

très énergétiques
et très insolubles



ADIPOCYTES

Hépatocytes
Entérocytes

Valeurs des réserves énergétiques moyenne d'un homme de 70kg (à titre indicatif)

Glucose	glycogène	protéines	Triglycérides
40 kCal	1600 kCal	25 000 kCal	> 100 000 kCal
	Foie: 150 g Muscle: 300 g		TA: Glycérol 1kg AG 7 kg 1g = 9 kCal
	1g = 4kCal		

64

2- Transport, Mise en Réserve et Devenir des AG

Stratégie

Chez tous les mammifères, c'est le **Statut Alimentaire** qui régule le **Transport**, la mise en **Réserve** et l'**Utilisation** des Acides Gras

3 situations physiologiques

En période nourrie les AG sont mis en réserve sous forme de triglycérides (**TG**) essentiellement au niveau du TA.

Foie et TA peuvent les synthétiser à partir du Glc en excès.

En période de jeûne physiologique, les TG du TA sont hydrolysés, et les produits (**AG** et **glycérol**) redistribués pour être source énergétique.

En période de jeûne prolongé, le Foie convertira les AG en **corps cétoniques** qui seront redistribués à de nombreux tissus comme source énergétique.

Transport

Insolubles dans l'eau, TG et AG doivent être transportés sous forme de **lipoprotéines** (chylomicrons, LDL, HDL ...) ou liés à des protéines (**albumine**) selon leur origine

3 situations

Gestion coordonnée

- **Spécialisation des Organes**
TA, Foie, Muscle, Cœur, Cerveau
qui fait quoi ?
- **Compartmentation cellulaire**
- **Voies de régulation**
- Synthèse et dégradation coordonnées

65

2-1 Devenir des Lipides en Période nourrie « Filling »

1- **TG d'origine alimentaire** (intestin) sont digérés dans l'estomac et l'intestin par des **lipases** gastriques et pancréatiques → **2-MonoAcyl-Glycérol + AG**, absorbés par les **cellules épithéliales intestinales**.

Ils sont ensuite empaquetés dans des **Chylomicrons** (lipoprotéines riches en TG) qui les transportent vers les organes utilisateurs.

2- Si, en parallèle, il y a un **excès d'apport de sucres ou d'AA**, le **Foie** transforme cet excès en AG puis TG. Ces TG seront empaquetés dans des **VLDL** et libéré dans la circulation.

3- Les **TG des Chylomicrons** et des **VLDL** seront acheminés vers les cellules endothéliales des tissus cibles (**TA, muscle**) (reconnaissance par ApoC-II) pour subir une hydrolyse par une Lipoprotéine Lipase (**LPL**).

Différentes isoenzymes de **LPL** sont exprimées au niveau du **TA**, du muscle **cardiaque** et du **muscle squelettique**.

Au niveau du TA, les produits issus de l'hydrolyse par la LPL sont essentiellement réassemblés en TG et mis en **réserve**.

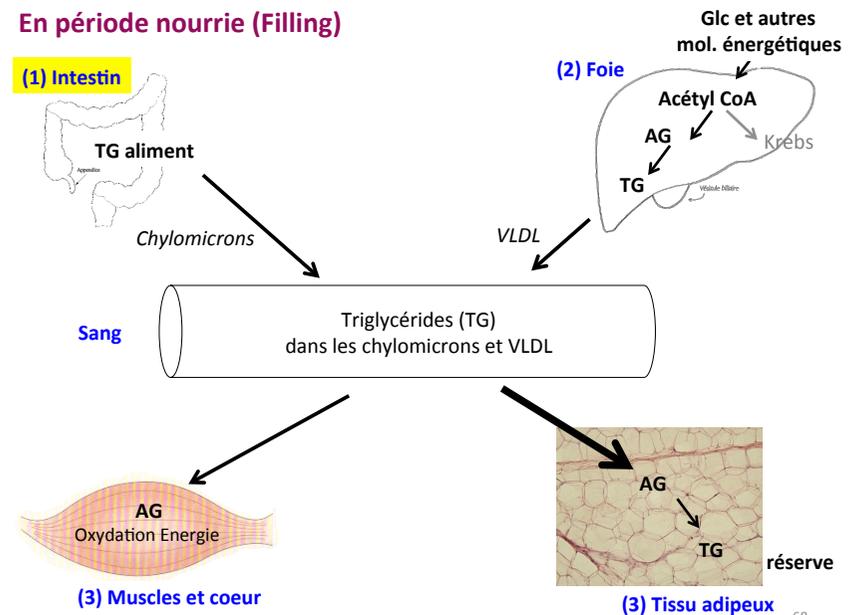
Au niveau du muscle, ils sont utilisés à des fins **énergétiques** et faiblement stockés en TG.

Le Foie capte les résidus de chylomicrons débarrassés d'une grande partie des TG.

En cas de régime hyperglucidique et de réserves en glycogène satisfaites, il synthétise, comme indiqué en (2), des AG à partir des glucides.

67

En période nourrie (Filling)



66

68

2-2 Devenir des Lipides En période de jeûne (Mobilisation = Lipolyse):

En situation de jeûne, l'organisme puise dans ses réserves énergétiques (réserves de TG dans le TA). Le signal est d'origine hormonal: Adrénaline et secondairement Glucagon.

1- C'est la **mobilisation des TG de réserve (TA)** comme source énergétique, communément appelée Lipolyse est déclenchée par une **Triglycéride Lipase intracellulaire Hormono-sensible (TLHS)** (détaillé dans les diapos 93-95)

-D'autres Lipases peuvent compléter le travail.

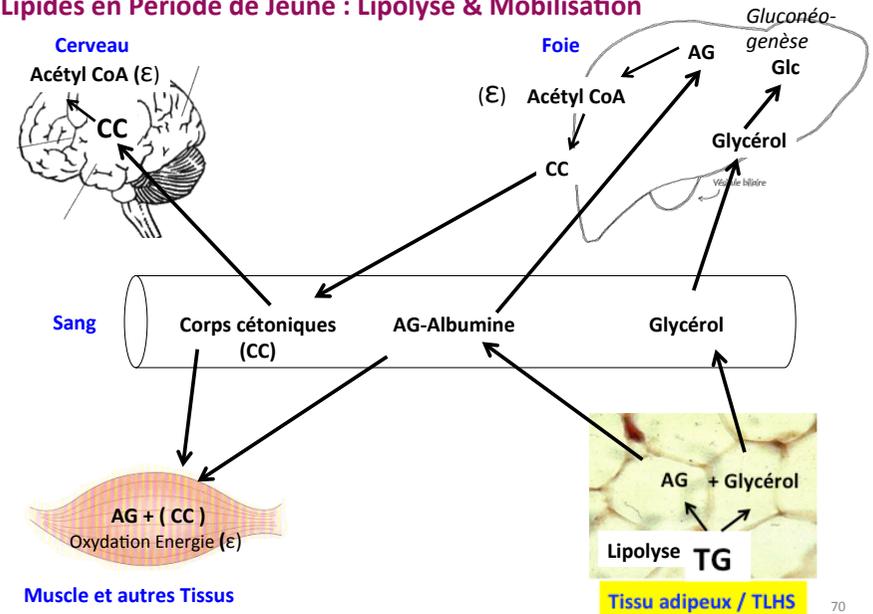
-Les AG libérés sont ici transportés dans le sang, liés à l'**albumine** (10 /1).
On parle alors d'**AG libres**

2- Le **Glycérol** produit par la lipolyse du TA est utilisé majoritairement par le Foie qui le transforme en G3-P (riche en Glycérol Kinase). Puis, le G3P est converti en DAP (G3P-DH) qui entre dans la gluconéogenèse (jeûne). Lors d'un jeûne prolongé, quand les réserves lipidiques deviennent la source énergétique majeure, le glycérol provenant de l'hydrolyse des TG du TA devient un substrat important de la gluconéogenèse hépatique (cours J.F. Benoist).

3- Si le jeune se prolonge, le Foie va faire des corps cétoniques (CC) à partir des AG (puis des AA). Les CC seront utilisés par les organes périphériques en particulier le **cerveau et le coeur** pour limiter les dépenses en Glc qui sera alors réservé aux organes strictement dépendants (GR).

69

Lipides en Période de Jeûne : Lipolyse & Mobilisation



70

71

72

3- Biosynthèse des Acides Gras

Normalement, le niveau de synthèse est faible mais ...

Lors d'un régime hyperglucidique, les glucides en excès par rapport aux besoins énergétiques de l'organisme et à sa capacité de stockage sous forme glucidique (glycogène) **sont stockés sous forme lipidique (TG) dans le tissu adipeux**

D'autres substrats en excès, comme les AA, peuvent aussi contribuer à la lipogenèse

C'est une Voie de Synthèse (Voie Anabolique),
Voie Réductrice qui consomme de l'ATP et du **NADPH, H⁺**

Principalement, le Foie, le TA (et la glande mammaire en période de lactation) sont capables de synthétiser des AG à partir de l'acétyl-CoA d'origine glycolytique ou d'AA

73

3-1 Caractéristiques

La synthèse des AG se fait à partir d'acétyl-CoA issu des **glucides** ou acides aminés en excès principalement au sein des **cellules hépatiques** ou **adipeuses**

4 Etapes: (Rappel de PACES)

1- Transfert du **citrate** dans le **cytosol** par la navette de l'acide citrique puis régénération de l'**acétyl-CoA** dans le cytosol par l'ATP citrate lyase. L'acétyl-CoA deviendra le précurseur du Malonyl-CoA. La navette produira une partie du NADPH, H⁺ nécessaire, à l'élongation (3/4). Le NADPH, H⁺ complémentaire proviendra de la **voie des pentoses phosphate**

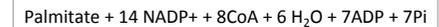
2- Carboxylation des unités Acétyl-CoA en **Malonyl-CoA** (7x)

Acétyl-CoA Carboxylase, enzyme soumise à une régulation très importante

3-Intervention du Complexe enzymatique Acide Gras synthase

Elongation par ajouts séquentiels sur un **acétyl-CoA** d'unités à 2 carbones dérivées des **Malonyl CoA**, via la succession de 4 réactions enzymatiques par tour de cycle (PACES)

- Condensation
- Réduction
- Déshydratation
- Réduction



4- Au delà de 16 C (Palmitate) l'élongation et les désaturations sont des processus microsomaux

74

3-2 La Navette de l'Acide Citrique

Transfert de l'Acétyl-CoA et origine des NADPH, H⁺

Récapitulatif

C'est la navette de l'acide citrique qui assure le transfert de l'acétyl-CoA mitochondrial issu du pyruvate d'origine glycolytique (PDH) excédentaire par rapport aux besoins énergétiques (Krebs). Une fois dans le cytosol, cet acétyl-CoA va servir à la synthèse des AG.

Cette navette permet, en deux réactions, à l'acétyl-CoA de sortir de la mitochondrie après condensation avec l'OA. Une fois régénéré dans le cytosol, l'OA ne peut revenir dans la mito (mb interne imperméable, pas de système de transport). Trois réactions sont alors nécessaires pour son retour dans la mitochondrie. Lors de ces réactions cytosoliques: Un NADH, H⁺ est réoxydé; un NADPH, H⁺ est synthétisé et sera utilisé dans le cycle d'élongation catalysé par l'AG synthase

Rx 1: c'est la première réaction du cycle de Krebs

Rx 2: Citrate Lyase: Régénère l'acétyl-CoA dans le cytoplasme en consommant 1 ATP

Rx 3: Réduction de l'OA en Malate par la Malate DH cytoplasmique (Consommation d'un NADH, H⁺ cytoplasmique issu de la glycolyse). Le malate repasse directement dans la mitochondrie où il redonne l'OA (MDH de Krebs (8)). OU BIEN:

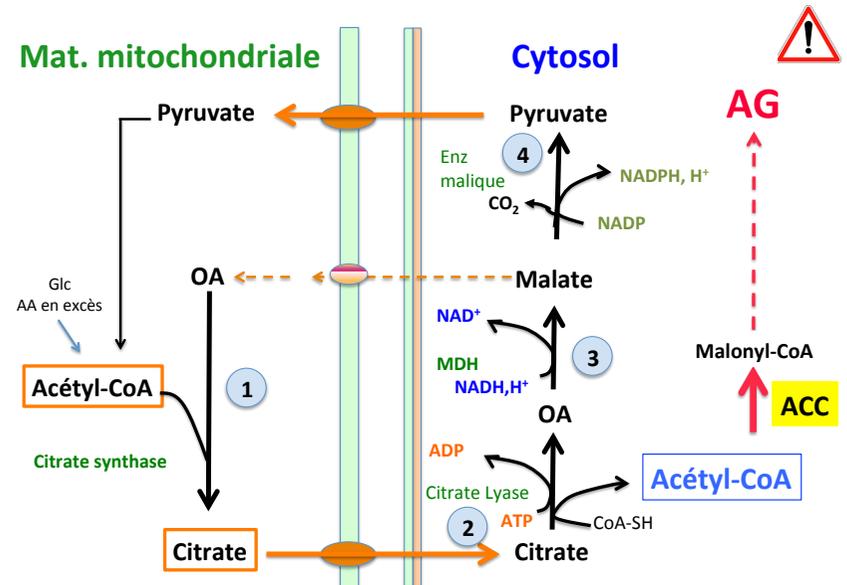
Rx 4: Décarboxylation oxydative de ce Malate en Pyruvate par l'enzyme malique. Cette réaction produit 1 NADPH, H⁺ et 1 CO₂

Rx 5: Carboxylation par la pyruvate carboxylase (PC) du Pyruvate en OA: consommation d'1 nouvel ATP et d'1 CO₂

Pour un cycle: La sortie d'un acétyl-CoA coûtera donc 2 ATP et permettra la transformation d'un NADH d'origine glycolytique en 1 NADPH, H⁺. Il en faut plus. Les autres seront apportés par la voie des pentoses phosphate (PP) (60%)

75

La Navette de l'Acide Citrique: Transfert de l'Acétyl-CoA et origine des NADPH, H⁺



3-3 L'activation de l'Acétyl-CoA en Malonyl-CoA une étape essentielle et régulée



La réaction **irréversible** catalysée par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) engage la voie de synthèse des AG. **C'est l'étape majeure de la régulation de la synthèse des AG**, catalysée par une **enzyme allostérique** dont le co-enzyme est la biotine.

C'est le **deuxième verrou** après celui de la PDH qui conduit à la formation d'acétyl CoA. Le mécanisme d'action de l'ACC est un mécanisme « ping-pong » dans lequel certains produits sont libérés avant même que tous les substrats en soient fixés sur l'enzyme

a) Mécanisme (Pour Mémoire)

L'ACC est une enzyme allostérique dont chaque protomère (SU) comporte 3 domaines: un domaine porteur de la Biotine (CP) un domaine à activité Biotine Carboxylase et un domaine à activité Transcarboxylase.

Chez les animaux, Les protomères isolés sont inactifs. L'ACC peut exister sous la forme d'un long polymère filamenteux constitué de nombreux protomères de 230 kD. Il y a des sites de régulation allostérique et chaque protomère peut également être phosphorylé (régulation par modification covalente) sur 8 à 10 sites. Certains sites sont régulateurs, d'autres sont silencieux.

Cette réaction de carboxylation engage la voie de synthèse des AG.

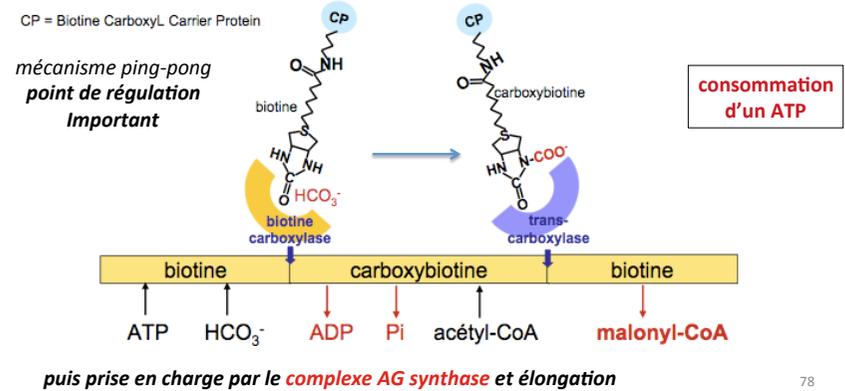
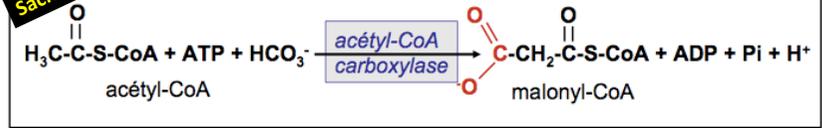
7 acétyl CoA seront ainsi activés en MalonylCoA pour conduire à la formation d'un acide palmitique

Ce Malonyl-CoA jouera un rôle capital pour **coordonner les deux voies opposées de la synthèse des AG et de la β -oxydation**, en inhibant la Carnitine Palmityl Transferase I (CPTI)

77

L'activation de l'Acétyl-CoA en Malonyl-CoA Une étape essentielle et régulée

Sachez Ecrire cette Rx !!!



78

3-4 Le cycle d'élongation de la synthèse des AG

L'AG synthase n'a pas d'intérêt particulier du point de vue de la régulation de la synthèse des AG mais elle est intéressante de par son mécanisme de fonctionnement. C'est une enzyme constituée de deux sous-unités (SU), elles-mêmes organisées en trois domaines, qui travaillent en binômes et portent plusieurs activités enzymatiques (domaines 2 et 3).

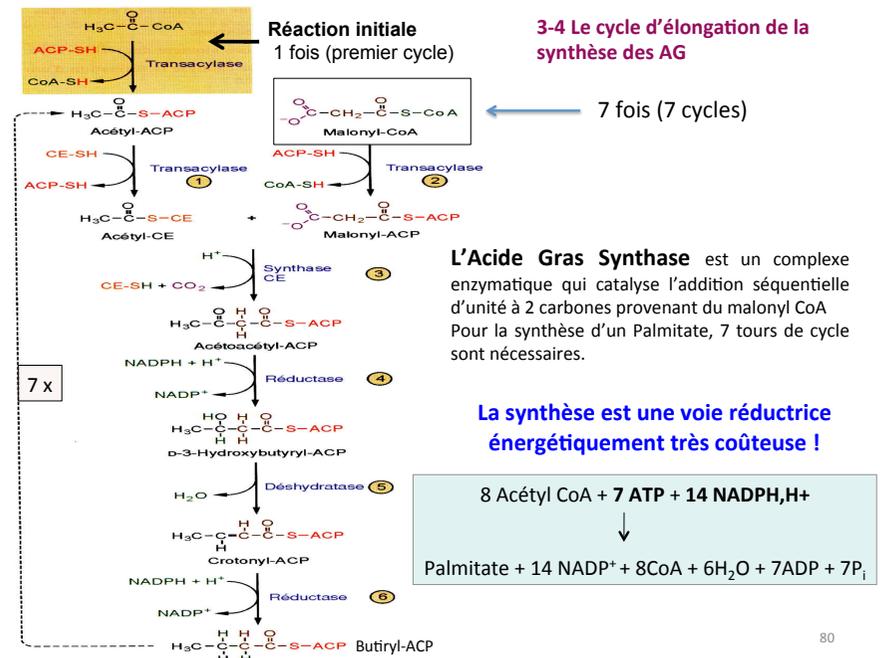
Les deux SU travaillent comme un robot dans une chaîne de production qui emboîte des pièces, les modifie et les fait passer d'un point à l'autre avant d'achever la construction.

L'avantage est une très grande stabilité, une coordination des activités catalytiques qui sont ordonnées et pas diluées. Les substrats intermédiaires sont séquestrés et ne peuvent être détournés au profit d'autres réactions

C'est sur le domaine « enzyme condensante » (CE) que se fait l'entrée du groupement Acétyl ou Acyl et sur l'ACP (acyl carrier protein) le malonyl-CoA puis les étapes de synthèse et d'élongation (réduction, déshydratation, réduction) et enfin translocation sur la CE par l'acyl transférase (AT)

Remarque: L'AG synthase est surexprimée dans certains cancers du sein. Chez la souris, des inhibiteurs de l'enzyme condensante (EC) ont des effets sur la croissance tumorale mais aussi sur l'appétit et donc le poids. Cette enzyme pourrait donc être la cible de candidats médicament anti-tumoraux mais aussi anti-obésité.

79



80

3-5 Régulation de la synthèse des AG dans le Tissu Adipeux

La synthèse des AG va dépendre de la disponibilité en substrats et sera régulée EXCLUSIVEMENT au niveau de l'Acétyl-CoA carboxylase (ACC)

3-5-1 Disponibilité en Substrats d'Origine Glucidique

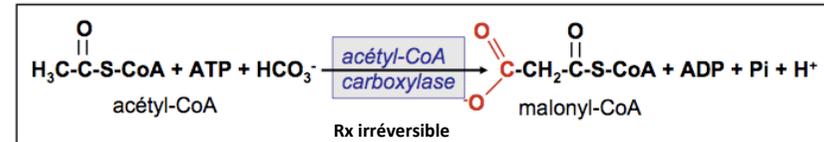
- **Acétyl-CoA** issu du **Pyruvate** d'origine glycolytique
- **ATP** produit par l'oxydation de l'Acétyl-CoA d'origine glucidique dans le cycle de Krebs
- **NADPH, H⁺** provenant pour moitié de la voie des Pentoses Phosphate et le reste de la réaction catalysée par l'enzyme malique (navette de l'acide citrique)

La disponibilité de l'ensemble de ces substrats est **sous le contrôle de l'insuline**, hormone de l'état post-prandiale, qui facilite la pénétration du glucose dans l'adipocyte. Le transporteur **GLUT 4** de faible affinité est insulino-dépendant, il va favoriser la captation du Glc excédentaire par le TA, puis la glycolyse.

Le niveau énergétique de la cellule est élevé et l'excès de citrate formé par Krebs peut sortir de la mitochondrie.

81

3-5-2 L'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC): C'est le Point de Régulation Majeur qui engage la voie de Biosynthèse des AG



Double Contrôle: allostérique et covalent

Allostérique : (+) Citrate et Isocitrate
(-) Acyl-CoA libre à longue chaîne (C16 et C18)



Modification covalente par Phosphorylation réversible :

Inactivation par phosphorylation via une **protéine kinase AMP dépendante (AMPK)**, sorte de « sonde » métabolique, activée par l'AMP en réponse à un stress énergétique, déficit en Glc, exercice physique, ischémie

Inactivation par phosphorylation via une protéine **kinase AMPc-dépendante (PKA)** sous contrôle hormonal: **Glucagon** en période de jeûne ou **Adrénaline** en période d'activité musculaire

Activation par déphosphorylation (Insuline)

82

3-5-2 L'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC):

L'ACC est le centre de Régulation de la synthèse des AG. Au repos, l'ACC est un protomère inactif parce que phosphorylé par des kinases sensibles à des signaux hormonaux ou au niveau énergétique de la cellule.

L'ACC est soumise à un double contrôle (allostérique et covalent)

-A court terme et dans tous les tissus: La **disponibilité en substrats d'origine glucidique** est le facteur de régulation prédominant. L'ACC va être activée par le citrate cytosolique qui signale un niveau énergétique élevé de la cellule. **L'ACC s'agrège** alors en une forme **filamenteuse active**. Inversement, la rx est inhibée par des concentrations élevées de palmitoyl-CoA, les AG terminaux (rétroinhibition) ainsi que par les AG exogènes libres d'origine nutritionnelle.

-Par ailleurs, des signaux globaux extracellulaires qui reflètent l'état énergétique de **tout l'organisme**: vont exercer une régulation par **modification covalente** (Phosphorylation réversible).

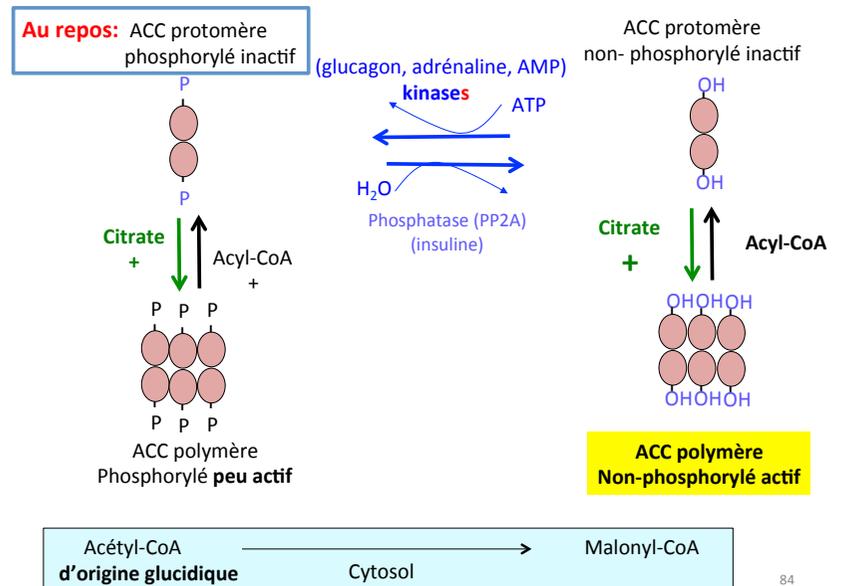
A- En période Post Prandiale, une protéine phosphatase **PP2A**, sous contrôle de l'insuline, **déphosphoryle l'ACC**. La forme déphosphorylée est très sensible au citrate. Elle polymérise facilement et devient très active.

B- Inversement, l'ACC pourra être phosphorylée par des kinases agissant sur différents sites de phosphorylation. Ces kinases sont:

- Une protéine kinase AMPc dépendante (PKA) sous contrôle hormonal (glucagon en période de jeûne) (Adrénaline en période d'activité musculaire)
- Une Kinase AMP dépendante (AMPK) qui joue le rôle d'une **jauge d'énergie**, activée par l'AMP, et inhibée par l'ATP.

83

Double contrôle: Modification Allosterique et Modification Covalente



84

Ainsi, dans le TA en Période Post-Prandiale

La Synthèse des AG est déclenchée par:

- La Charge Glucidique : Krebs, [ATP] ↑, Inhibition de l'IDH (rx 3),
→ Accu de Citrate dans la mitochondrie puis dans le cytosol.

- [Citrate] et [ATP] inhibent la PFK1 (glycolyse)
Une partie du G6P est dévié vers la voie des PP
productrice de NADPH, H⁺.

- [Citrate] active partiellement la forme phosphorylée
de l'ACC en la polymérisant et initie la synthèse
d'AG.

-L'Insuline active la PP2A qui déphosphoryle l'ACC.
Plus sensible au Citrate, l'ACC déphosphorylée passe instantanément sous forme
multimérique pleinement active.

L'action conjuguée du citrate et de l'insuline favorise la forme polymérique, non-phosphorylée et pleinement active de l'ACC

-Concernant la β-oxydation, l'augmentation de [Malonyl CoA], inhibe la CPT1 et l'entrée des AG dans la mitochondrie. La β-oxydation est donc inhibée (dia 109).

85

Ainsi, dans le TA en Période de Jeûne ou d'Activité Physique

La Synthèse des AG est inhibée car:

-La baisse relative de la glycémie freine la production d'insuline avec comme conséquence une baisse d'expression de GLUT4. Le Glc n'est plus disponible, baisse de la [Citrate].

-L' Adrénaline et le glucagon activent la PKA et favorisent la phosphorylation de l'ACC, elle même, très sensible à l'inhibition allostérique par les acyl CoA à longue chaîne libérés par l'hydrolyse des TG (lipolyse).

L'action conjuguée des AcylCoA et du Glucagon ou de l'Adrénaline favorise la forme protomérique, phosphorylée et inactive de l'ACC

- En outre [AMP] ↑ renforce l'inactivation de l'ACC via l'AMPK.

-Concernant la β-oxydation, la diminution de [Malonyl CoA] lève l'inhibition de la CPT1 et accélère l'entrée des Acyl CoA dans la mitochondrie ou ils subiront la β-oxydation

86

Ainsi, dans les Tissus consommateurs d'acides gras (muscle et cœur) en Période de Jeûne ou d'Activité Physique

Les AG libérés du tissu adipeux par l'action du glucagon ou de l'adrénaline inhibent (sous forme d'Acyl-CoA) l'Acétyl-CoA carboxylase (ACC) ce qui abaisse la concentration de Malonyl-CoA et lève ainsi l'inhibition de la CPT1. La conséquence est une accélération de l'entrée des Acyl CoA dans la mitochondrie où ils subiront la β-oxydation.

Au niveau des muscles, le malonyl-CoA issu de la réaction catalysée par l'ACC n'a qu'un rôle: inhiber la CPT1. Il n'est pas utilisé dans la voie de synthèse des AG qui est extrêmement faible, voire nulle au niveau des cellules musculaires.

87

88

3-6 Élongation et insaturation des AG

Le produit de l'AG synthase est le **palmitate (C16)**.

→ Au delà de 16C:

Chez les eucaryotes d'autres enzymes catalysent les réactions d'élongation à partir du palmitate: dans les **mitochondries** ou dans le **RE**.

→ Et pour les AG insaturés:

Des enzymes du RE permettent d'ajouter une double liaison entre le C9 et le C10 des acides palmitique (**C16:0**) et stéarique (**C18:0**) pour donner l'Ac. **palmitoléique C16:1Δ9** et l'Ac **oléique C18:1Δ9**.

Seuls les **végétaux** et certains **microorganismes** sont capables de synthétiser les ω3 et les ω6

l'Ac linoléique C18:2Δ9,12	2ω6
et l'Ac linoléique C18:2Δ9,12,15	3ω3

Ces deux AG sont dits **AG indispensables**, ils doivent être apportés par l'alimentation. Ils serviront de point de départ à la synthèse d'autres AG polyinsaturés tels que - l'Ac **arachidonique C20:4Δ5,8,11,14** (4ω6)
- l'Ac **Eicosapentaénoïque C20:5Δ5,8,11,14,17** (5ω3)

→ Pour les AG à (2n+1) C: La synthèse se fait à partir du propionyl-ACP (**rare**).

89

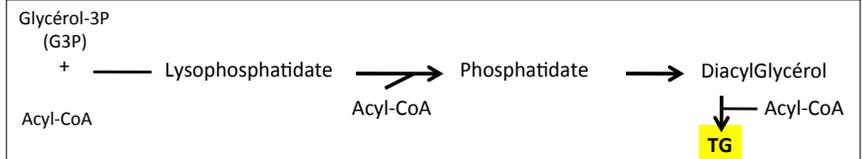
91

3-7 Synthèse des TG et Mise en Réserve

- Après leur synthèse, principalement au niveau du **TA et du Foie** les AG sont assemblés en triglycérides (TG) dans deux perspectives différentes:
- **Les adipocytes, cellules du TA, sont spécialisés dans** la synthèse des TG et **leur stockage à long terme**. Dans les adipocytes, les TG sont sous forme de vésicules cytosoliques entourées d'une membrane lipidique et de **péripiline**. Les adipocytes sont également capables d'hydrolyser le TG en glycérol et AG (ce processus est la lipolyse)
- Le **Foie** produit des TG pour constituer les **lipoprotéines plasmatiques (VLDL)** et les exporter plutôt que pour les stocker.

Remarque: Le **cœur** et les **muscles squelettiques** stockent également quelques (peu) TG mais **pour leurs besoins propres**.

La synthèse des TG se fait dans le réticulum endoplasmique en trois étapes



90

92

4-Oxydation des Acides Gras

Source énergétique (NADH, FADH₂) **en aérobiose** dans la plupart des tissus
à l'**exception des tissus gluco-dépendants (cerveau, GR)**

Lieu: Dans la mitochondrie des cellules hépatiques et du muscle cardiaque en aérobiose.
A un moindre degré : muscle squelettique, reins et testicules

Activité: Elle dépend du statut métabolique: Nourri, Jeûne / Effort, Repos

Source énergétique:

- Majeure pour **Cœur et Muscle squelettique** au repos

- **En période de jeûne** physiologique/prolongé, le Foie convertit les Acétyl-CoA issus de l'oxydation des AG en Corps Cétoniques qui deviendront progressivement (48h) une source énergétique majeure pour d'autres tissus.

La β -oxydation n'est pas l'inverse de la synthèse des AG

Elle n'est pas directement régulée, mais c'est l'entrée des Acyl-CoA dans la mitochondrie qui est contrôlée

93

4-1 Origine et Devenir des TG

Les AG qui subissent la β -oxydation ont plusieurs origines possibles selon la situation métabolique:

-En **période nourrie**, les TG provenant de l'intestin (alimentation), transportés dans le sang sous la forme de lipoprotéines Chylomicrons seront sources d'AG

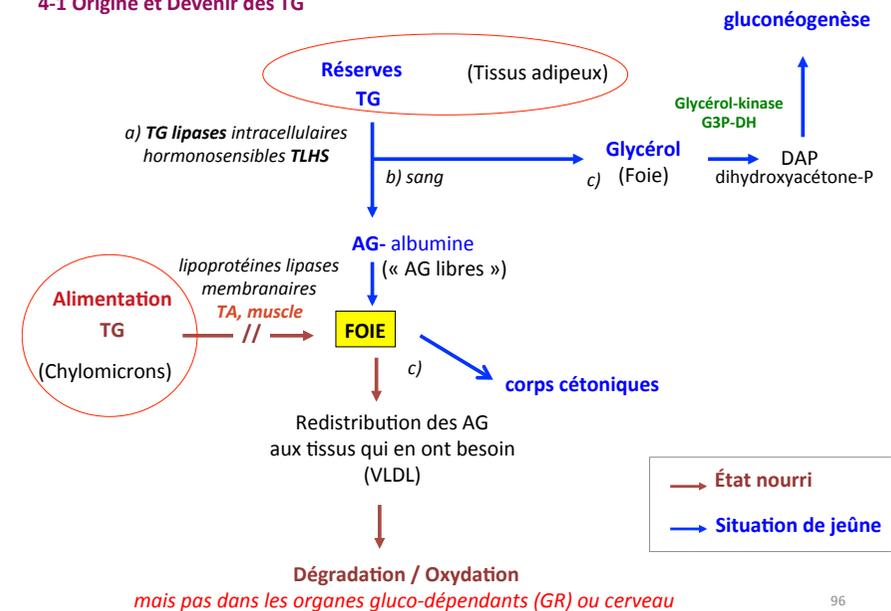
-En **période de jeûne**, les AG proviendront de la lipolyse des TG de réserve qui a lieu dans le TA. Ces TG endogènes sont hydrolysés en Glycérol et AG. Le glycérol gagne le Foie pour être transformé en DAP et entrer dans la gluconéogenèse.

Les AG sont véhiculés vers le Foie liés à l'albumine du sang (on parle d'AG libres).

-Les AG peuvent également provenir de TG locaux (foie et muscle) mais toujours en quantité faible.

95

4-1 Origine et Devenir des TG



94

96

4-1-1 Les TG d'origine alimentaire « Filing »

-Dans la lumière intestinale les TG d'origine alimentaire sont solubilisés sous forme de micelles (sels biliaires) puis exposés à des lipases pancréatiques et digérés en 2 AG et un monoacylglycérol.

Ces produits sont absorbés par la membrane plasmique.

-Dans les cellules de la muqueuse intestinale, les TG sont resynthétisés (acyl transférase) et inclus dans des particules de transport (chylomicrons).

-Les chylomicrons sont ensuite libérés dans la lymphe et le sang. Ils se fixent aux lipoprotéines lipases membranaires essentiellement au niveau du **tissu adipeux** et du **muscle**.

-Là, les TG sont à nouveau dégradés en AG et monoacylglycérol pour être transportés dans le tissu. Les TG sont resynthétisés à l'intérieur de la cellule et mis en réserve (tissu adipeux).

-Les restants de chylomicrons seront ensuite captés par le **Foie** et dégradés

97

4-1-2 Mobilisation (utilisation) des TG de réserve (Jeûne / effort longue durée)

Les tissus périphériques ont accès aux réserves d'énergie lipidiques du tissu adipeux par un processus en **3 étapes**:

- Lipolyse** ou hydrolyse des TG par des lipases intracellulaires en 3 AG + Glycérol (adipocyte, triglycéride lipase intracellulaire hormonosensible **TLHS**)
- Glycérol et AG passent ensuite dans le sang
- Glycérol** gagne le Foie où il sera converti en dihydroxyacétone-P et entrera dans la **gluconéogenèse**.

Les AG seront solubilisés en se liant à l'**albumine** et transportés vers le FOIE (organe répartiteur) qui les redistribue aux tissus utilisateurs (muscle, myocarde) dans lesquels ils seront oxydés

Attention: Ils ne seront utilisés ni par le **cerveau** (il n'y entrent pas), ni par les **globules rouges** (n'ont pas de mitochondries), ni la **médullaire rénale** (peu d'oxygène)

98

La lipolyse est stimulée par des hormones telles que l'adrénaline, la noradrénaline, l'hormone de croissance et le cortisol.

Ces hormones activent des récepteurs couplés aux protéines G, lesquels stimulent la production d'AMPc par l'adénylate cyclase. L'AMPc, messenger secondaire, active à son tour la protéine kinase A qui phosphoryle la périlipine et la TLHS.

La périlipine phosphorylée se détache alors des gouttelettes lipidiques et rend possible la translocation de la TLHS phosphorylée active à la surface des gouttelettes lipidiques pour hydrolyser les TG.

Ainsi, **AG et Glycérol peuvent être libérés et exportés**

Le **Glycérol** gagnera le Foie pour y subir la GNG,

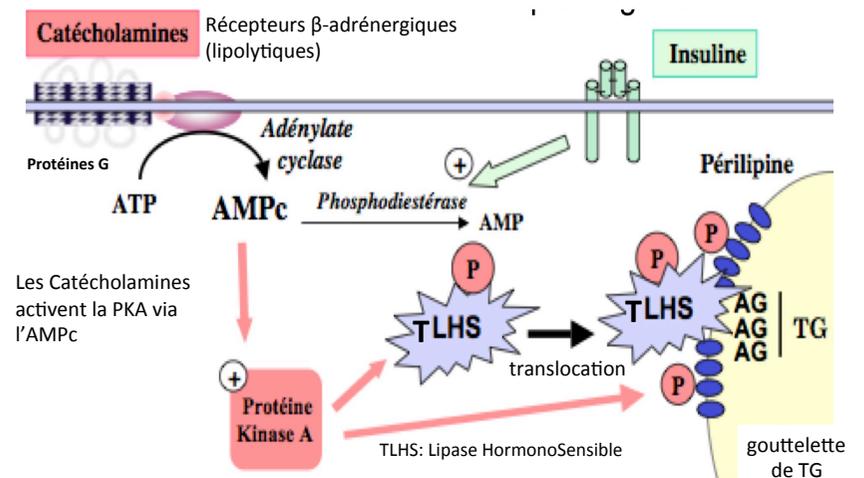
Les **AG seront** exportés après liaison à l'albumine sérique (10:1) (**on parle d'AG libres**) qui rejoindront les tissus où ils subiront la β -oxydation.

Attention, ces AG ne gagneront ni le cerveau (barrière); ni le GR (pas de Mitochondrie); ni la médullaire rénale (peu d'O₂).

99

Mobilisation des Triglycérides dans l'Adipocyte

Activation de la **Triglycéride Lipase Hormono Sensible (TLHS)** par les Catécholamines

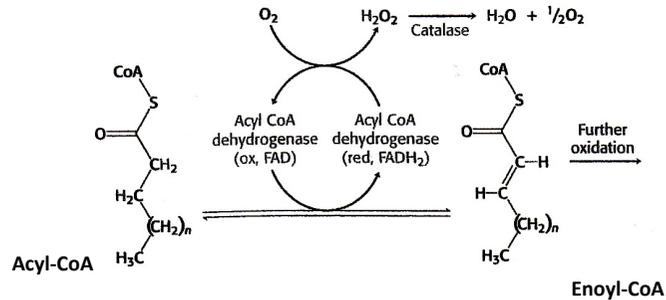


100

4-2-1-3 β oxydation dans les peroxysomes

La β oxydation des AG saturés à longue chaîne peut également s'opérer dans les peroxysomes.

Ce processus concerne environ 10% des AG mais ici la réoxydation des coenzymes n'est pas couplée à la chaîne respiratoire. Le processus ne génère donc pas d'ATP.



Ce processus n'est pas couplé avec la chaîne respiratoire

Il ne génère donc **pas d'ATP**

109

4-2-1-4 β oxydation des AG à nombre impair de C (2n+1) C

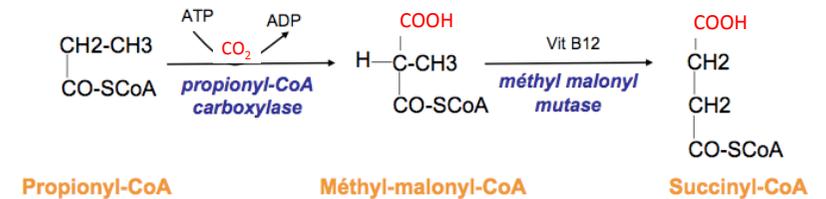
Pour info

Les AG à nombre impair de C sont minoritaires. Ils sont le plus souvent d'origine végétal. Au dernier cycle, ils donneront un propionyl-CoA qui sera carboxylé avant d'entrer dans le cycle de Krebs

L'acyl CoA pré-terminal en C5 conduira à:



Destinée du propionyl CoA: incorporation dans le cycle de Krebs



110

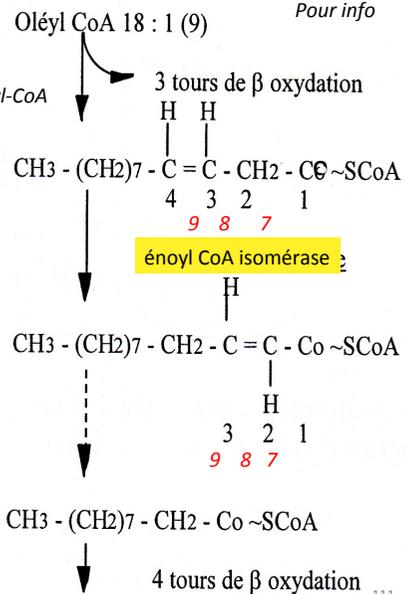
4-2-1-5 β oxydation des AG insaturés

Pour info

Prenons l'exemple de l'acide oléique C18:1 (9)
 Après 3 tours d'hélice et élimination de 3 acétyl-CoA
 la double liaison n'est pas en phase dans la dégradation ($\Delta 3$ entre le C3 et le C4).

Le déplacement de cette = est effectué par une **énoyl-CoA isomérase** --> $\Delta 2$ qui en change également la configuration
 → **Trans $\Delta 2$ énoyl-CoA**

La β oxydation se poursuit ainsi



1 tour d'oxydation sans formation de FADH_2
 l'étape 1 (Déhydrogénase à FAD) est court-circuitée

111

4-2-1-6 ω oxydation

Pour info

Habituellement mineure, sauf en période de jeûne poussé quand la β-oxydation est dépassée.

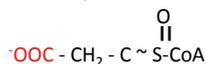
- Localisation hépatique (RE)
- Oxydation sur le $-\text{CH}_3$ en ω
- Libération d'acides dicarboxyliques qui seront β-oxydés jusqu'aux acides subérique (C8), adipique (C6) excrétés dans les urines.

112

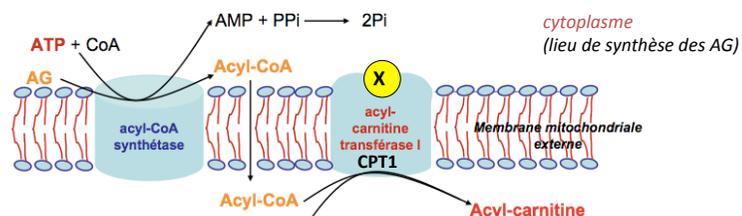
4-2-2 « Régulation » de la β oxydation

La β oxydation est donc la voie majeure d'oxydation des AG et ses réactions **ne sont pas régulées**.

C'est l'entrée des Acyl-CoA dans la matrice mitochondriale qui est contrôlée au niveau de la Carnitine Acyl Transférase I (CPT1). Celle-ci est inhibée par le **malonyl-CoA**, intermédiaire de la synthèse des AG issus de l'acétyl-CoA d'origine glycolytique (dia 77-78).



β oxydation et synthèse des AG ne peuvent avoir lieu simultanément



113

114

4-2-3 Devenir des Acétyl-CoA issus de la β -oxydation

L'Acétyl-CoA ne diffusent jamais à l'extérieur d'une cellule. Il n'y en a pas dans le sang.

S'il est issu de l'oxydation des AG, plusieurs devenir sont possibles:

- 1) **Entrée dans le cycle de Krebs** si la cellule a besoin d'énergie et si l'apport en O_2 est adapté. Cela dépend également de la disponibilité de l'OA. Par exemple, en fin de jeûne physiologique, l'OA sera utilisé par la gluconéogenèse et donc indisponible pour Krebs.
- 2) **En période de jeûne prolongé**. L'OA manque et la dégradation des graisses prédomine. Dans le foie (organe répartiteur), l'OA est dévié vers la gluconéogenèse et l'acétyl-CoA d'origine lipidique va être orienté vers la formation des CC: molécules énergétiques produites exclusivement par le Foie mais essentielles à certains tissus (cœur, rein, cerveau).
- 3) **Synthèse de lipides isopréniques** quand l'apport énergétique est adapté (processus anabolique coûteux sur le plan énergétique et consommation de NADPH, H^+)

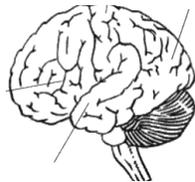
Il est important de noter que les animaux vertébrés sont incapables de convertir les AG en Glc. L'acétyl-CoA issus de la β -oxydation ne peut être converti ni en Pyruvate ni en OA chez les animaux

115

5- Biosynthèse et Devenir des Corps Cétoniques

Acétoacétate	$\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
β -Hydroxybutyrate	$\text{CH}_3 - \text{CHOH} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
Acétone (volatil)	$\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_3$

Source énergétique de substitution



117

5-1- Généralités:

Les corps cétoniques (CC) sont au nombre de trois: Acétoacétate, β -hydroxybutyrate et acétone.
Ils dérivent de l'acétyl-CoA issu de la β -oxydation ou de la dégradation des acides aminés cétoogènes **mais jamais des glucides**.

Ce sont des produits normaux du métabolisme, synthétisés exclusivement au niveau du Foie, présents dans le sang à l'état de traces mais leur concentration augmente dans le jeûne prolongé ou dans des situations pathologiques de carence en glucose comme le diabète insulino-dépendant.

Les CC constituent une **source énergétique de substitution** capital en période de jeûne prolongé. Par exemple, le CERVEAU qui représente 2% poids corporel consomme en situation normale 120g de Glc/24h quelque soit son activité pour le maintien des potentiels de membrane indispensables à l'influx nerveux, mais le cerveau ne dispose que de 10 min de réserves énergétiques (et le foie 100g de réserve de glycogène environ). Les AG ne traversant pas la barrière hémato-méningée, le cerveau, en période où le Glc et ses formes de réserve (glycogène) viennent à manquer, doit donc trouver une source énergétique de substitution: Ce sont les CC, synthétisés au niveau du foie, forme de transport hydrosoluble des unités acétyles, qui seront captés par les tissus. Cette stratégie permet de préserver le peu de Glc disponible au profit des organes glucodépendants stricts comme le Globule rouge.

118

5-1- Généralités:

L'acétyl-CoA issu des AG n'entre dans le cycle de Krebs (c. amphibolique) que si la dégradation des sucres et celle des lipides sont équilibrés. Souvenez vous que **la disponibilité de l'autre substrat (OA) dépend d'un apport approprié en Glucides**.

Au moment où le Glc vient à manquer... Le pyruvate ne recharge plus le cycle de Krebs en acétyl-CoA (PDH inhibée). L'OA est détourné vers la gluconéogenèse (Foie) au profit des tissus glucodépendants car tous les tissus n'ont pas accès aux AG.

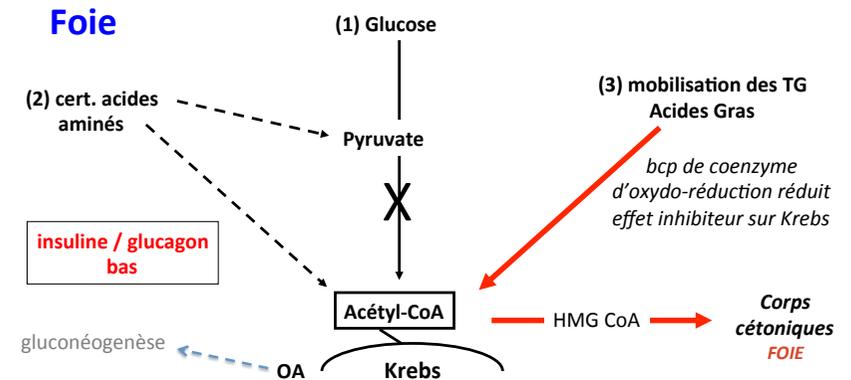
Ainsi, quand l'[OA] est trop basse (gluconéogenèse) et que les coenzymes d'oxydoréduction réduit (NADH, H⁺ et FADH₂) se sont accumulés (β -oxydation) le cycle de Krebs ralentit. C'est le cas en situation de jeûne prolongé où le rapport insuline/glucagon est bas. L'acétyl-CoA issu de la β -oxydation est alors majoritairement orienté vers la synthèse hépatique des CC (on ne synthétise pas de sucre à partir des AG).

Parallèlement, les TG du TA (réserves) sont mobilisés. La lipolyse est activée et les AG libres sont captés par le Foie, entrent dans le cytoplasme de l'hépatocyte, traversent la mb mitochondriale et subissent la β -oxydation.

L'acétyl-CoA issu de l'oxydation de ces AG est donc orienté vers la synthèse des CC qui ont un double avantage: Une origine lipidique (95% des réserves énergétiques de l'organisme sont des lipides) ET une facilité d'emploi énergétique puisque les CC sont hydrosolubles, facilement exportés et transportés par le sang et traversent la barrière hémato-méningée.

119

5-1- Généralités:



1) Situation de Jeûne, apport glucidique insuffisant: Krebs ralentit, OA issu du pyruvate d'origine glucidique baisse, OA issu de la dégradation des AA est dirigé vers la **gluconéogenèse** (tissus gluco-dépendants).

2) AA cétoformateurs et glucoformateurs ou cétoformateurs stricts: faible rôle ici.

120

L'essentiel à propos des CC

Les **corps cétoniques (CC)** dérivent de l'acétyl-CoA
C'est quoi? Forme de transport des unités acétyl, soluble dans l'eau.
Ils sont 3: **Acétoacétate**, β -Hydroxybutyrate, **Acétone**

Pourquoi? Normalement le Glc et les AG couvrent les besoins énergétiques de l'organisme. *Mais, quand le Glc vient à manquer...*
-il y a la **gluconéogenèse** au profit des tissus glucodépendants (GR)
-il y a les **AG**, mais tous les tissus n'y ont pas accès (ex. **cerveau**)

*Alors, l'apport énergétique est complété par les CC qui ont un double avantage: Une **origine lipidique** et la **facilité d'emploi** énergétique du Glc (hydrosoluble et très diffusible).*

Où et quand?

- Synthèse** (cétogenèse) exclusivement dans le **Foie**.
- Utilisation** (cétolyse) dans les **tissus extra-hépatiques** (cœur, cerveau, muscle, rein). **Jamais dans le Foie**
- l'une et l'autre dans la **mitochondrie** (donc jamais dans le GR)

Cétogenèse habituellement faible sauf dans certaines circonstances nutritionnelles (**jeûne prolongé**), pathologiques (**diabète sucré insulino-dépendant**) ou **périnatale** (aux dépens des AG et des AA cétoformateurs)

121

5-2- Cétogenèse hépatique:

La synthèse des CC est exclusivement **hépatique**. Elle est habituellement très faible mais augmente considérablement dans des situations pathologiques ou **en période de jeûne prolongé** (10/15 heures).

Les Réactions

- 1- condensation de 2 acétyl-CoA issus de la **β -oxydation ou des AA** (rx réversible, inverse de l'étape 4 de la β -oxydation, même enzyme)
- 2- condensation avec une troisième molécule d'acétyl-CoA conduisant à l'HMG-CoA catalysée par l'**HMG-CoA synthase, Enzyme EXCLUSIVEMENT hépatique**.
- 3-clivage en acétyl-CoA et acétoacétate dont une partie passe dans le sang et diffuse vers les tissus extrahépatiques. **Réaction catalysée par l'HMG-CoA Lyase EXCLUSIVEMENT hépatique et rénale** qui conduit au premier CC: l'**acétoacétate**.

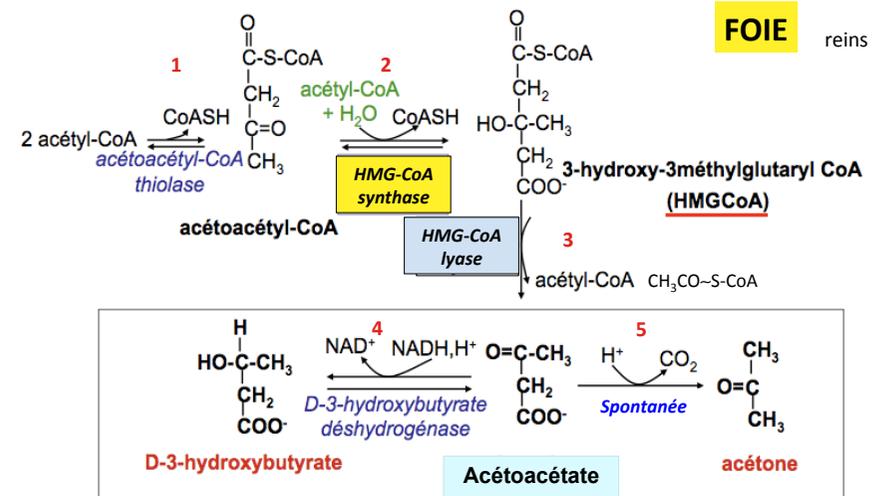
Puis l'**acétoacétate** peut être transformé :

- 4- soit par la D-3-hydroxybutyrate déshydrogénase, enzyme très active dans le Foie. Le rapport **OH-butyrate**/Acétoacétate dans le sang reflète le niveau de NADH/NAD mitochondriale hépatique. En période de Jeûne il est élevé car la β -oxydation produit du NADH (après une nuit rapport 3/1) et Krebs/ch. respiratoire tournent peu (pas d'OA donc pas de régénération via la chaîne respiratoire)
- 5- soit par décarboxylation en **acétone** et élimination par voie pulmonaire. Cette réaction est spontanée (haleine caractéristique du jeûne). Elle est négligeable sauf si diabète céto-acide sévère. L'acétone est le seul des 3 CC à n'avoir aucune valeur énergétique.

Ainsi, la synthèse des CC va permettre de préserver le peu de Glc disponible au profit des organes glucodépendants stricts comme le GR (qui ne dispose pas de mitochondries)

123

Cétogenèse: Réactions dans les mitochondries



HMG-CoA synthase: exclusivement hépatique

HMG-CoA lyase exclusivement hépatique et rénale

122

5-3 Utilisation des corps cétoniques:

Les CC synthétisés par le Foie sont **hydrosolubles** facilement transportés par le sang à l'état libre. Ils peuvent ainsi rejoindre les tissus périphériques. Ils y seront alors dégradés en Acétyl-CoA dans la mitochondrie selon le processus suivant:

→ Le **β-hydroxybutyrate est oxydé** en acétoacétate avec formation de NADH, H⁺ qui rejoint la chaîne respiratoire (β-hydroxybutyrate déshydrogénase).

→ L'acétoacétate est activé en **acétoacétyl-CoA** par la succinyl-CoA transférase (**SCOT**), **enzyme absente des cellules hépatiques**. L'absence de cette enzyme dans le Foie fait qu'il ne peut consommer les CC pour ses propres besoins (le Foie est un organe altruiste!)

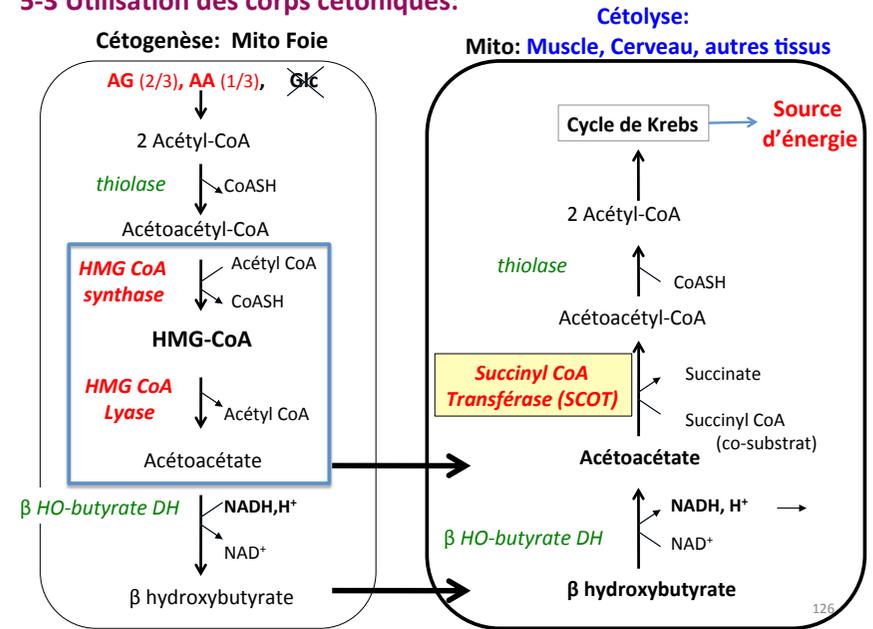
→ Enfin, une **thiolase** clive l'**acétoacétyl-CoA** en 2 acétyl-CoA.

Ainsi, lorsque l'apport glucidique aux cellules est insuffisant (jeûne prolongé), les CC prennent le relais, le Glc étant réservé aux **tissus gluco-dépendants stricts (GR)**. Le muscle cardiaque, les muscles squelettique et le cerveau s'adapteront en 2 à 3 jours.

Les hépatocytes qui ne disposent pas de l'enzyme SCOT sont incapables d'utiliser les CC. Le GR qui ne dispose pas de mitochondries. Il est donc **gluco-dépendant strict**.

125

5-3 Utilisation des corps cétoniques:



126

5-4- Régulation de la Cétogenèse « le verrou de l'insuline ! »:

Il n'y a pas de régulation directe de la cétogenèse mais son intensité dépend du rapport insuline/glucagon. La diminution de ce rapport provoque la lipolyse dans le tissu adipeux (TLHS activée) et l'apport en AG au Foie, précurseurs majoritaires des corps cétoniques

127

Au niveau des mitochondries des cellules hépatiques

Acétyl CoA

→ **Verrouillage de la PDH**
par l'acétyl-CoA provenant de la β-oxydation

→ **Activation de la Pyruvate carboxylase**
par l'acétyl-CoA provenant de la β-oxydation

→ **Gluconéogenèse**

- **L'ACC est inhibée** par les Acyl-CoA (AG) issus de la lipolyse et la baisse du Insuline / Glucagon
- **Diminution [Malonyl CoA]** lève l'inhibition de la CPT1. Les Acyl CoA entrent dans la mitochondrie et sont oxydés en Acétyl-CoA

La catabolisme des AA accroît la disponibilité en Acétyl-CoA et pyruvate

Oxaloacétate (OA)

- Le taux d'OA issu du Pyruvate d'origine glucidique baisse. Krebs ralentit.

- La **Pyruvate Carboxylase** activée par l'acétyl-CoA d'origine lipidique et l'OA néoformé est orienté vers la gluconéogenèse.

- La réaction OA → Malate est favorisée par le NADH, H⁺ (β-oxydation)

En Vert: voir cours J.F. Benoist

128

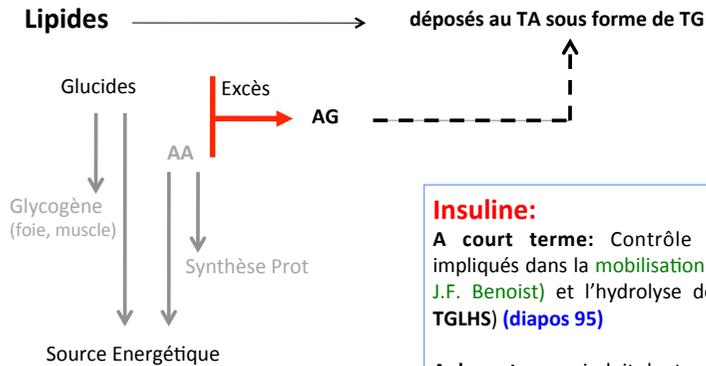
6- Régulation du Métabolisme Lipidique

Récapitulatif

6-1 A l'état nourri

Le métabolisme lipidique est contrôlé par l'état nutritionnel via des signaux hormonaux.

Après un repas:



Insuline:

A court terme: Contrôle les enzymes impliqués dans la mobilisation du Glc (Cours J.F. Benoist) et l'hydrolyse des TG (inhibe TGLHS) (diapos 95)

A long terme: induit la transcription des gènes d'Enzymes lipogéniques

129

Effets médiés par l'Insuline en situation nourri

Au Niveau du Foie:

Récapitulatif

A court terme: - Active l'acétyl CoA carboxylase (ACC) en la déphosphorylant (Phosphatase PP2A)

diapo 79

A long terme: - Induit la synthèse hépatique d'AG Synthase, Enz malique et Acétyl CoA carboxylase

- Stimule la synthèse de G6PDH et 6-Phospho-gluconate DH (Voie des PP, NADPH,H+)

J-F Benoist

Au Niveau du TA:

A court terme: - Déphosphoryle la TGLHS et inhibe ainsi la mobilisation des TG

diapo 95

A long terme: - favorise l'absorption du Glc par GLUT 4 pour synthétiser le G3P nécessaire à la synthèse des TG

J-F Benoist

130

6-2 A l'état de Jeûne

Pas d'apport énergétique extérieur.

Taux de Glucagon et Adrénaline ↑
Vivre sur les réserves

[Glc] ↓ Taux d'Insuline ↓

Récapitulatif

Au Niveau du TA:

A court terme: - Phosphoryle la TGLHS (via la PKA) et stimule ainsi la lipolyse
TG → AG + Glycérol

Au Niveau du Foie:

A court terme: - Inhibe l'acétyl CoA carboxylase en la phosphorylant (via AMPc)
- Réduction de la glycolyse au profit de la gluconéogenèse

A long terme: - Diminue la synthèse d'AG Synthase et Acétyl CoA carboxylase

Le Foie utilise alors l'acétyl-CoA issu des AG (et des protéines) pour synthétiser des CC

131

6-3 Régulation de l'oxydation / synthèse des AG

Récapitulatif

Pas de Régulation à proprement parler des réactions de β oxydation.

Le point de contrôle essentiel: La CPT1 (entrée des AG dans la mitochondrie)

Au Niveau du Foie:

En situation nourrie: AcétylCoA Carboxylase (ACC):
Phosphorylation AMPc dépendante est Faible.
Activation par le Citrate

MalonylCoA produit stimule la synthèse des AG et bloque la CPT1

En situation de Jeûne: C'est l'inverse

Remarque concernant le muscle: Le muscle ne synthétise pas les AG mais il les utilise. Il possède une isoforme de l'ACC qui produit du Malonyl CoA uniquement pour réguler la CPT1 et pas pour la synthèse d'AG. En situation d'exercice musculaire, l'ACC est inactivée par phosphorylation (kinase AMP dépendante) → faible niveau de malonyl-CoA qui lève l'inhibition de la CPT1. La β-oxydation peut alors avoir lieu.

132

7- AG précurseurs des Eicosanoïdes:

Au delà de leur rôle énergétique, les AG jouent un rôle structural (dans la composition des lipides membranaires) et un rôle fonctionnel, comme source de messagers ou de modulateurs cellulaires.

Ainsi, les phospholipides (PL) membranaires peuvent libérer des AG polyinsaturés (AGPI) par hydrolyse enzymatique (action des PLA2). Ces AGPI sont les précurseurs de molécules biologiquement actives (messager intracellulaire):

Les **Eicosanoïdes** sont des **AGPI** à 20C synthétisés à partir des AG essentiels: Ac linoléique et linolénique et qui vont être remanié sous l'action d'enzyme monooxygénase: les LOX (lipoxygénase) et les COX (cyclooxygénase)

L'Acide arachidonique C20:4 est le premier d'entre eux. Il va être le précurseurs de plusieurs classes de molécules signale: Prostanoides (**prostaglandine, prostacycline, thromboxane**) et **Leucotriènes**

Modifications par des réductases, des isomérase. Cyclisation par des cyclases (Cox) → PG et TX ou hydroxylation par des LOX → LT

Tous ces AG modifiés sont des Hormones locales en raison de leur courte durée de vie.

Elles ne passent pas dans la circulation.

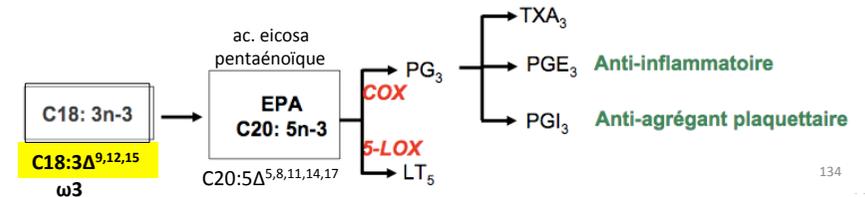
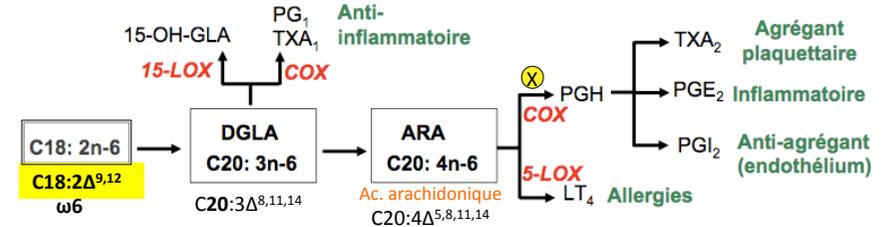
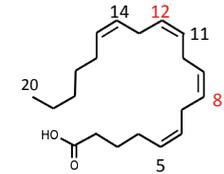
La nature de leurs effets peut variée d'un type de cellule à l'autre. Des prostaglandines stimulent l'inflammation, ont une activité antiagrégant plaquettaire. Le Tx lui est un médiateur de l'agrégation.

133

7- AG précurseurs des Eicosanoïdes:

7-1 voies de synthèse (voir aussi Dia 99)

L'**Ac arachidonique** est le précurseur de **plusieurs classes de molécules signales** (prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes, leucotriènes).



134

7- AG précurseurs de eicosanoïdes:

7-2 Inhibiteurs de synthèse

L'**Acide arachidonique** est synthétisé à partir de l'Acide linoléique C18:2 (w6), incorporé dans les phospholipides membranaires et hydrolysé par des PLA2.

Les **Lipoxygénases** (LOX) catalyse des réactions d'**hydroxylation** conduisant à l'Ac 5-hydroxyperoxyeicosatétraoïque (5-HPETE) précurseur des **Leucotriènes**

les **Cyclooxygénases** COX catalysent des réactions de **cyclisation** conduisant aux Prostaglandine et Thromboxane

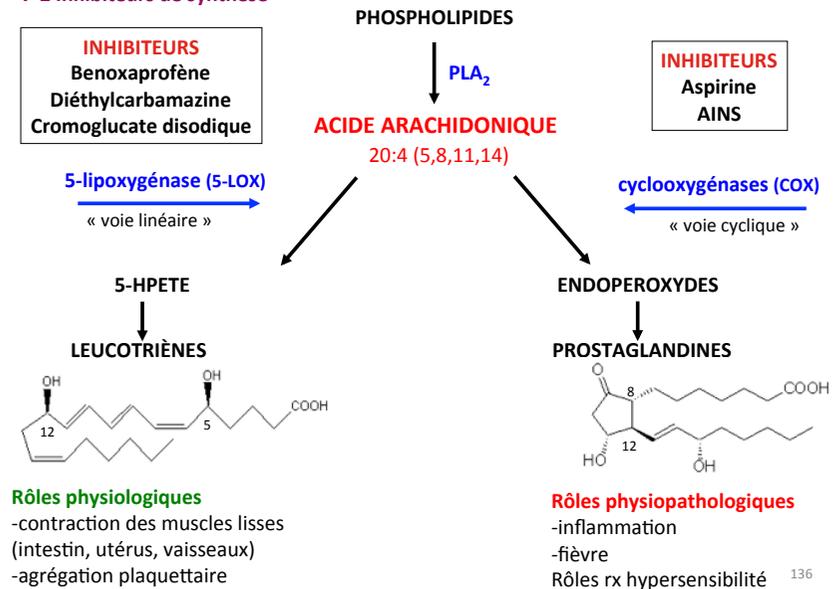
Ces eicosanoïdes sont de véritables hormones à action locale et **jouent des rôles variés dans l'inflammation (douleur, fièvre ...), la contraction des muscles lisses (vaisseaux sanguins, bronches, utérus, intestin ...), la régulation des métabolismes, et dans l'agrégation plaquettaire.** Ils sont l'objet de recherches pharmacologiques intenses et la cible de médicament connus ou en développement

Ainsi, l'aspirine inhibe les COX. Le blocage de cette rx affecte de nombreuses voies de signalisation. Il explique la grande variété des effets de l'aspirine contenu des activités variées des cibles (produits des Cox) : Inflammation, fièvre, douleur et coagulation sanguine. (L'aspirine est utilisé comme antalgique, antipyrétique et antiagrégant plaquettaire.)

135

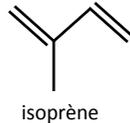
7- AG précurseurs de eicosanoïdes:

7-2 Inhibiteurs de synthèse



136

Chapitre 4: METABOLISME LIPIDIQUES (B)

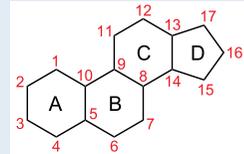


CHOLESTEROL et LIPIDES ISOPRENIQUES

Le cholestérol est un stéroïde apporté par l'alimentation ou produit à partir de l'acétyl-CoA.

C'est un composant majeur des membranes cellulaires animales et le précurseurs de nombreuses molécules biologiquement actives.

La synthèse du cholestérol est complexe et coûteuse sur le plan énergétique. Elle nécessite également l'oxydation du NADPH, H⁺. Une hypercholestérolémie est un facteur de risque de maladies cardiovasculaires, d'où la nécessité d'une synthèse très contrôlée et le développement de médicaments hypocholestérolémifiants.



Stéroïdes

ex.: Cholestérol
et molécules dérivés:

sels biliaires, Horm. stéroïdiennes,
vitamine D

137

1- Rôle du Cholestérol

Élément structural des membranes cellulaires chez les eucaryotes

- Il régule la répartition des protéines mb
(ex: canaux ioniques)

- Il intervient dans la fluidité des mb qui diminue quand la quantité de cholestérol membranaire augmente

Précurseur de composés biologiques

- **Acides biliaires**
Rôle d'émulsifiant des lipides Almt

- **Hormones stéroïdes** (H. sexuelles
et Corticostéroïdes)

- **Vitamine D3** (calcitriol) (rôle dans
l'homéostasie calcique)

Le **cholestérol** est présent dans tous les tissus: sous forme libre dans les membranes lipidiques ou estérifié dans la cellule (forme de stockage)

Il est transporté dans la circulation sanguine au sein de **lipoprotéines**.

Le cholestérol, quand il est en excès, et en particulier dans les LDL, est athérogène (formation de plaques d'athérome) d'où la nécessité d'un contrôle extrêmement fin de sa synthèse

138

2- Source et Devenir du Cholestérol

Les besoins quotidiens en cholestérol sont de 1,2 à 1,5 g apportés pour 1/3 par les graisses animales d'origine alimentaire (1). Il est absorbé par les entérocytes, intégré dans les chylomicrons et transporté jusqu'au foie où il sera estérifié par l'Acyl-CoA Cholestérol Acyl Transférase (ACAT).

2/3 des besoins en cholestérol sont satisfaits par la synthèse endogène (2). Toute cellule ayant un noyau est capable de le synthétiser. De par sa masse le foie est l'organe qui en synthétise le plus, secondairement dans l'intestin et enfin en plus petite quantité au niveau des surrénales, ovaires et testicules (précurseur d'hormones). Jamais dans le GR.

Le foie redistribue le cholestérol aux organes extrahépatiques en l'exportant dans les VLDL qui subiront plusieurs transformations dans la circulation sanguine (IDL puis LDL) par des récepteurs spécifiques. L'excès de LDL pourra également être capté par les cellules hépatiques.

Le cholestérol peut aussi retourner au Foie à partir des tissus périphériques (réabsorption intestinale ou transport dans les HDL à partir de tissus périphériques et excès de LDL).

Enfin, le Foie est le seul organe capable d'éliminer le le cholestérol directement dans la bile ou de le convertir en acides biliaires.

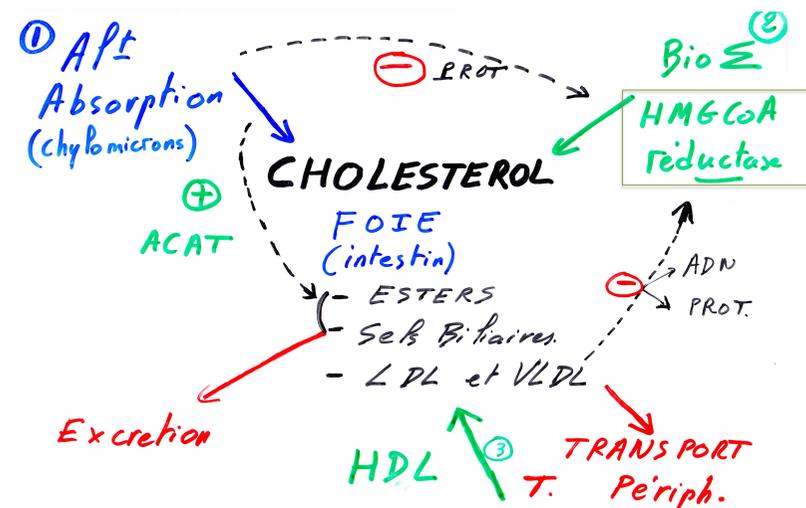
Le point de contrôle majeur de la synthèse du cholestérol est l'HMG-CoA réductase et cette enzyme est aujourd'hui encore la cible thérapeutique privilégiée des médicaments hypocholestérolémifiants.

L'aspect physiopathologique du métabolisme du cholestérol sera approfondi en 4^{ème} année

139

2- Source et Devenir du Cholestérol

Le FOIE est l'organe central du métabolisme du cholestérol
Besoin 1,2 à 1,5 g / jour



3- Structure du Cholestérol

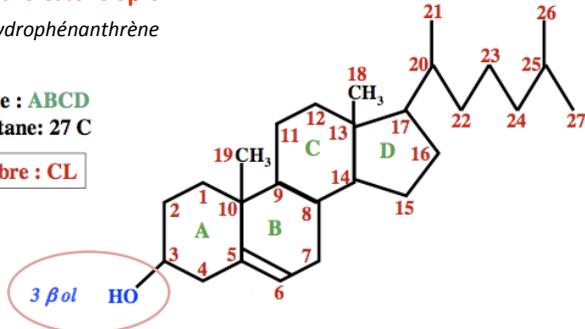
Cholestérol ou 5-cholestène 3β-ol

Cyclopentanoperhydrophénanthrène

Noyau gonane : ABCD

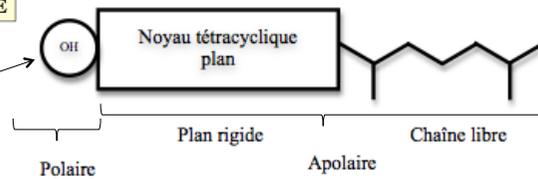
Noyau cholestane: 27 C

Cholestérol libre : CL



Dans le sang : CT = CL + CE

CE: forme estérifiée par l'Acyl-CoA cholestérol acyl transférase (ACAT) ou par la Lécithine Cholestérol Acyl transférase (LCAT)



141

4- Synthèse du Cholestérol

La synthèse du cholestérol est longue (>30 étapes) et coûteuse (voie réductrice consommant du NADPH, H⁺ issu de la voie des PP et de l'ATP issu de la β-oxydation). Les premières étapes sont cytosoliques et débutent avec de l'acétyl-CoA.

On distingue 4 grandes étapes présentées dans les diapos suivantes.

Etape 1: Les 2 premières réactions sont semblable à celles de la synthèse hépatiques des CC mais se déroulent ici dans le cytosol. La troisième réaction est essentielle. Catalysée par l'HMG-CoA réductase, elle conduit au Mévalonate (6C).

C'est l'étape limitante, régulée et la cible des statines, médicaments hypocholestérolémiants.

Les étapes suivantes se déroulent dans le RE.

Etape 2: double phosphorylation: (5-pyrophosphomévalonate) puis décarboxylation (rx5) Premier isoprène activé: isopentényl PP puis isomérisation (rx6). Cet élément est la brique élémentaire de la synthèse du cholestérol.

Suivent les étapes 3 et 4 qui sont des condensation et réarrangements avec comme principaux composés intermédiaires le géranyl pyrophosphate (C10), le farnésyl pyrophosphate (C15), le squalène (C30) qui donne en se cyclisant le lanostérol (C30).

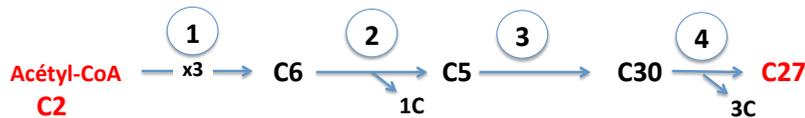
Il est important de noter que cette voie de synthèse est une voie pléiotrope, c'est à dire une vois commune à la synthèse de différentes molécules biologiques avec des activités différentes, d'où, peut-être, les effets secondaires attribués aux Statines qui agissent au niveau d'une étape précoce de la voie.

142

4- Synthèse du Cholestérol

4-1 Les 4 grandes étapes réactionnelles

Où ? Principalement FOIE – INTESTIN – CS, ovaires, testicules



1- Synthèse d'Acide mévalonique (Mévalonate) (C6)

2- Synthèse d'Isopentényl-Pyrophosphate (IPP) (C5)

3- Synthèse du squalène (C30)

4- Synthèse du Cholestérol (C27)

La synthèse est coûteuse

cytoplasme et RE

Acétyl CoA issu de la β-oxydation peroxysomale

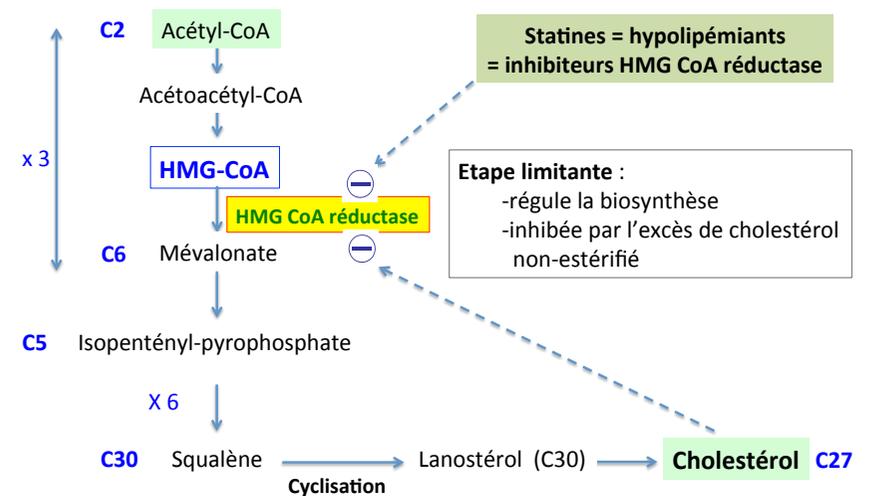
NADPH, H⁺ (voie des PP)

ATP (β-oxydation)

Coût jusqu'au Lanostérol (C30): 18 acétyl-CoA + 14 NADPH, H⁺ + 18 ATP

143

4-2 Détail des étapes réactionnelles (l'essentiel)



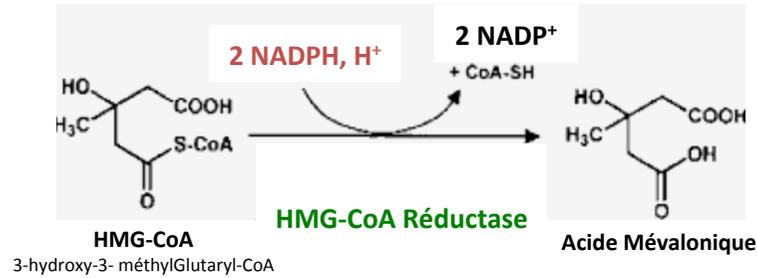
> 30 réactions dans le cytosol (jusqu'au squalène) puis dans le RE

144

Biosynthèse Grande Etape 1

Cytosol de la cellule hépatique

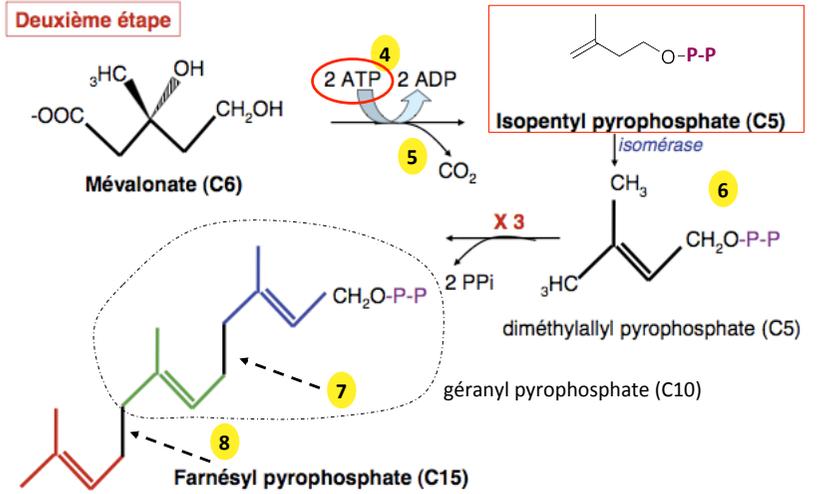
Rx 3
Site de régulation majeur



145

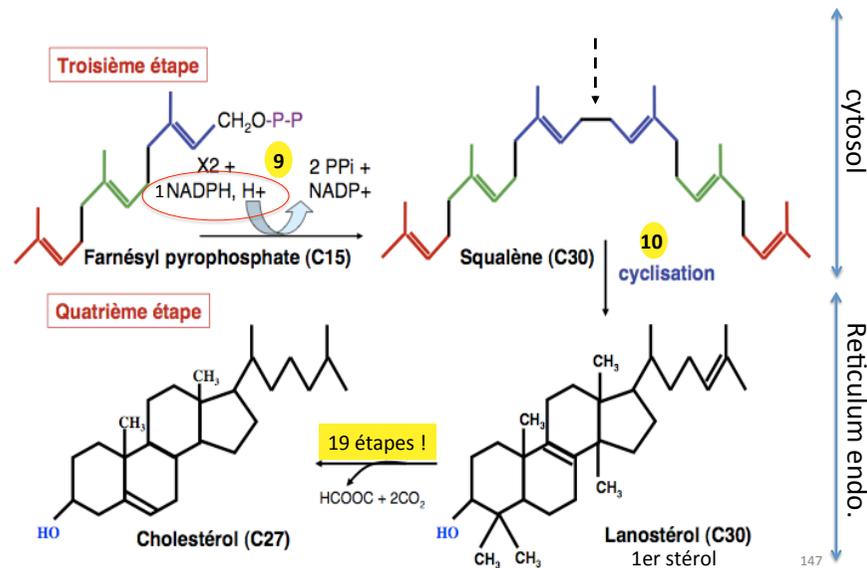
Biosynthèse Grande Etape 2

Deuxième étape



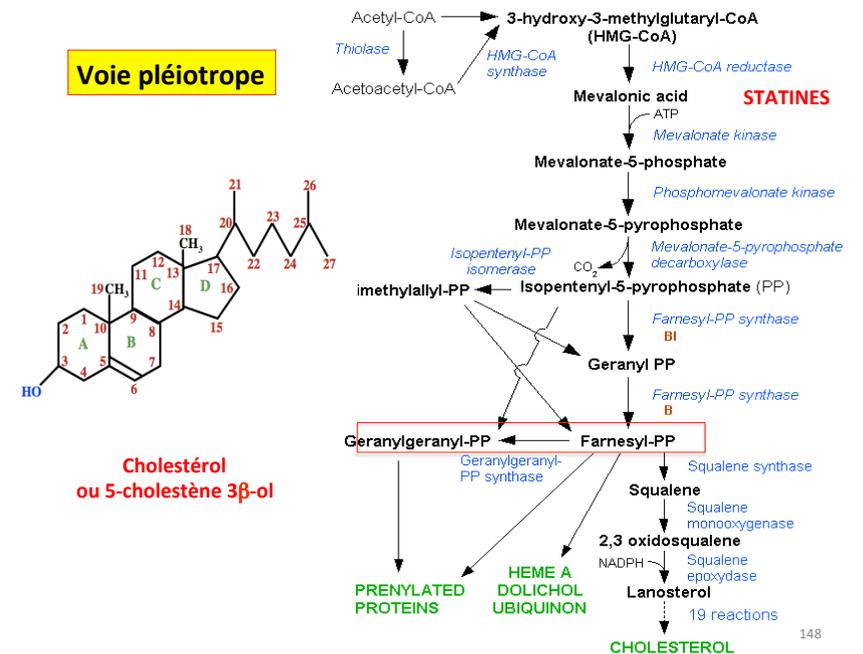
146

Biosynthèse Grandes étapes 3 & 4



147

Voie pléiotrope



148

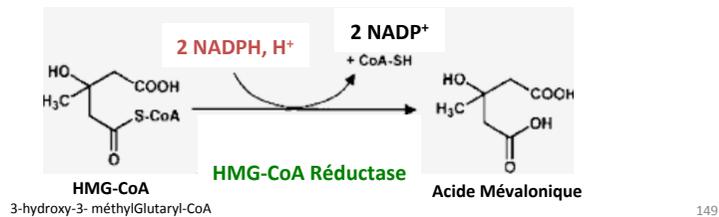
5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

La synthèse est énergétiquement coûteuse. Elle doit donc être régulée afin de ne produire que le complément nécessaire au cholestérol d'origine alimentaire.

Le point de régulation est la rx 3 (**HMG-CoA réductase**). La régulation de cette enzyme se fera:

- (a) par rétrocontrôle exercé par le cholestérol lui-même
- (b) modification covalente sous contrôle hormonale (forme phosphorylée inactive, stimulée par le Glucagon);
- (c) au niveau de la régulation de sa demi-vie biologique (vitesse de dégradation)
- (d) au niveau de la synthèse de l'enzyme elle-même.



5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

5-1-1 Phosphorylation / Déphosphorylation de l'HMG-CoA Réductase

L'enzyme est phosphorylée et directement inactivée par une kinase AMP-dépendante lorsque le niveau énergétique est faible et, indirectement par le biais du glucagon qui active un inhibiteur de l'HMG-CoA réductase phosphatase.

L'apport de substrats alimentaires et la sécrétion d'insuline déclenchent la déphosphorylation de la HMG-CoA réductase qui devient alors active

Ce mécanisme de régulation est très rapide et sensible à la période post-prandiale ou au jeûne

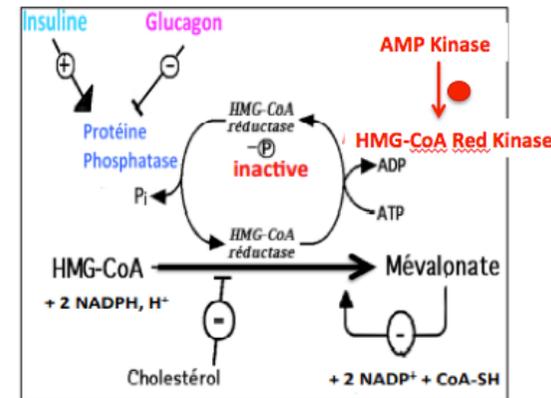
Les statines sont des analogues structuraux de l'HMG-CoA qui vont être des inhibiteurs compétitifs de l'HMGCoA réductase et bloquer la synthèse endogène.

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

La synthèse est énergétiquement coûteuse. Elle doit donc être régulée afin de ne produire que le complément nécessaire au cholestérol d'origine alimentaire.

Le point de régulation est la rx 3 (**HMG-CoA réductase**). La régulation de cette enzyme se fera (a) rétrocontrôle, (b) par modification covalente sous contrôle hormonale (forme phosphorylée inactive, stimulée par le Glucagon); (c) au niveau de sa vitesse de dégradation et enfin, (d) au niveau de la synthèse de l'enzyme elle-même.



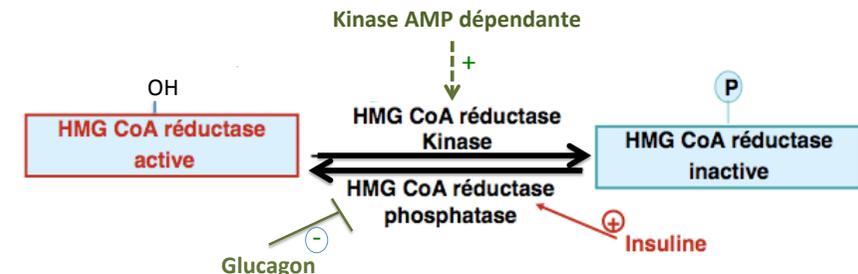
Une quadruple régulation de l'HMG-CoA Réductase

- **Rétrocontrôle négatif**
- **Phosphorylation / Déphos.**
Au repos l'enz est phosphorylée et inactive
- **Dégradation de l'enzyme**
demi-vie courte (3 à 4 heures)
- **Régulation de l'expression**
Concentration cellulaire très variable un à 200x

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

5-1-1 Phosphorylation / Déphosphorylation de l'HMG-CoA Réductase



(via AMPc et la PKA) active un inhibiteur de phosphatase et maintient ainsi l'HMG CoA réductase phosphorylée, inactive

Contrôle Hormonal: Balance Insuline / Glucagon
L'Insuline augmente la proportion de forme active, Le Glucagon la diminue

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

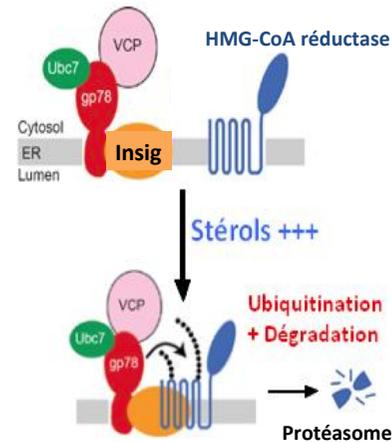
5-1-2 Rétrocontrôle négatif sur l'HMG-CoA Réductase

La durée de vie de l'**HMG-CoA réductase** est très courte (3 à 4 heures)

→ Régulation Dégradation & Synthèse

1- Sa dégradation est accélérée par une **concentration élevée de stérols** dont le cholestérol libre.

En présence de stérols, l'HMG-CoA réductase se lie à une protéine du RE (Insig) et sa dégradation dans le protéasome est accélérée



153

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-1 A court terme dans le Foie

5-1-3 Régulation génique de l'HMG-CoA Réductase

* Transcription

SREBP (Sterol regulatory element-binding protein) est un **facteur de transcription** qui **stimule la synthèse de l'HMG CoA réductase**

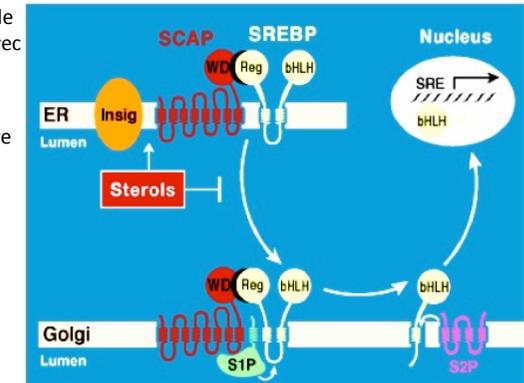
Si **[cholesterol] élevé**: le facteur de transcription SREBP est complexé avec 2 protéines de la mb du RE.

Quand [cholesterol] baisse.

Le complexe se dissocie, SREBP migre vers le Golgi, est clivé par SCAP.

SREBP migre alors vers le noyau et active la **transcription** du gène HMG-CoA réductase.

* **Traduction** inhibée par des métabolites non-stéroliques dérivés du **mévalonate**, ainsi que par le **cholestérol alimentaire**.



154

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-2 A long terme : au niveau des tissus périphériques, par le cholestérol

A long terme, au niveau des tissus périphériques, il y a un triple verrou

l'augmentation de cholestérol cellulaire (apporté par les LDL) entraîne:

1-une augmentation du taux de synthèse de l'ACAT (Acyl-CoA Cholesterol Acyl Transférase) qui accélère l'estérification du cholestérol en vue de son stockage (oléate moninsaturé), forme moins toxique que le cholestérol libre

2-une diminution de la synthèse de l'HMG-CoA réductase (qui ralentit la synthèse de cholestérol)

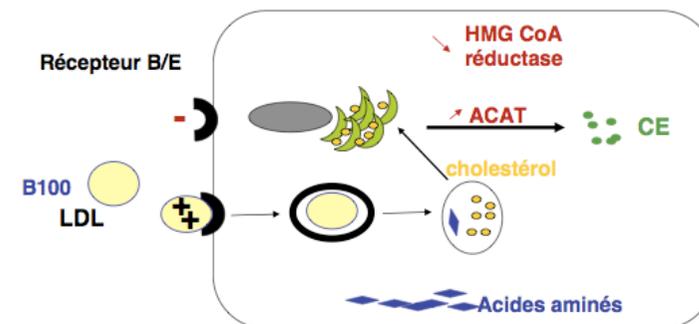
3-une diminution de la synthèse des récepteurs des LDL qui ralentit la capture du cholestérol apporté par le sang à partir du Foie (LDL)

Conséquences: Ces mécanismes permettent de garder constante la concentration cellulaire en cholestérol non-estérifié

155

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-2 A long terme : au niveau des tissus périphériques, par le cholestérol



Actions régulatrices:

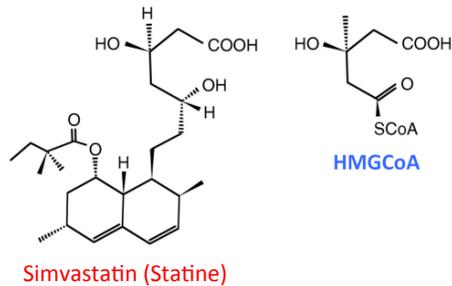
- **inhibition** de la synthèse de l'HMG CoA réductase
- **inhibition** de la synthèse des récepteurs B/E
- **activation** de l'ACAT (Acyl-CoA:Cholesterol Acyl Transferase)

156

5- Régulation de la biosynthèse du cholestérol

5-3 Pharmacologie

5-3-1 Les **Statines** sont des analogues structuraux du HMG-CoA et se comportent comme des **inhibiteurs compétitifs** de la **HMG CoA réductase**



Les **statines** forment une classe d'hypolipémiants, utilisés comme médicaments pour abaisser la cholestérolémie (baisse du cholestérol LDL athérogène).

Des **effets indésirables** sont parfois observés (atteinte hépatique, rhabdomyolyse) Lien possible avec le fait que la voie de biosynthèse du cholestérol est une voie pléiotrope **dia 144**

157

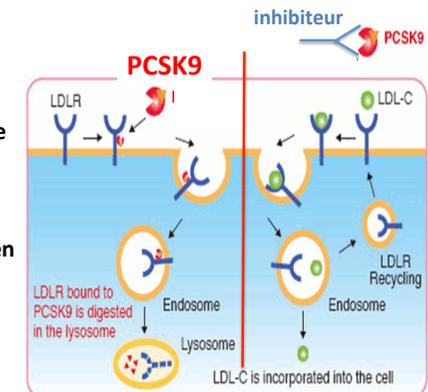
159

5-3-2 Les Anti-PCSK9

Une nouvelle classe de médicaments

PCSK9 est une protéine naturelle qui se fixe aux récepteurs de LDL et induit leur dégradation, **augmentant ainsi le taux de LDL circulant**

En **neutralisant PCSK9**, on favorise l'expression des récepteurs des LDL et, en conséquence, on **réduit les taux de LDL circulant**



Les **inhibiteurs de PCSK9** sont des anticorps dirigés contre PCSK9 et qui bloquent son interaction avec le récepteur des LDL. Ils ont reçus une AMM **en août 2015**

Praluent®, alirocumab, Sanofi

Repatha®, evolucumab, Amgen

158

160

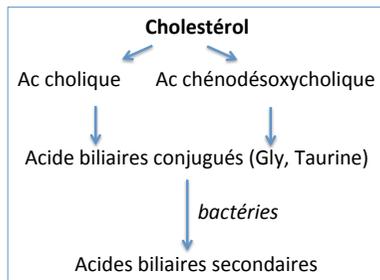
6- Devenir du cholestérol

6-1 Conversion en Acides biliaires

Le cholestérol **n'est pas dégradé en CO₂ et H₂O** par le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire.

Il est majoritairement converti en **Acides biliaires** dans le **Foie**, sécrétés dans la bile puis excrétés dans le tube digestif et métabolisés par les bactéries intestinales.

Les acides biliaires sont éliminés dans les fèces ou récupérés dans le cycle entéro-hépatique et recyclés.



Le rôle des Acides biliaires dans le tube digestif est **l'émulsification des lipides alimentaires** (AG TG, PL, vitamines) pour faciliter leur absorption

161

6- Devenir du cholestérol

6-2 Précurseur des Hormones stéroïdiennes

Rôles

Stéroïdes sexuels

(androgènes, estrogènes, progestogènes)

caractères sexuels

reproduction

gametogénèse

maintien grossesse

developpement osseux

Glucocorticoïdes

(cortisol)

métabolismes

protides, glucides, lipides

systeme immunitaire

inflammation

Mineralocorticoïdes

(aldosterone)

homéostasie hydrique

162

6- Devenir du cholestérol

6-2 Précurseur des Hormones stéroïdiennes synthèse

5 classes d'hormones sont synthétisées à partir du cholestérol après des réactions de modifications parfois complexes.

En bref, la séquence est :

1- coupure de la chaîne latérale pour donner un composé à 21C. Trois enzymes sont nécessaires: 20- et 22- hydroxylases, 20-22 Desmolase.

2) HydroxylationS: Les Corticoïdes: **Glucocorticoïdes** (cortisol, qui régule la glycémie, et déclenche la gluconéogenèse, également action anti-inflammatoire et immunosuppressive comme la cortisone); **Minéralo-corticoïdes** (participent à la régulation de l'équilibre NA/K en contrôlant leur élimination rénale ex.: L'aldostérone participe à l'équilibre hydrominérale.)

3) Élimination de 2 C → noyau Androstane : 2 étapes Hydroxylation en C17 et coupure C17-20 (Lyase) Au niveau du RE

4) œstrogène: dérivent des androgène par hydrogénation en C3 et perte du C19

Beaucoup de ces réactions font intervenir des Monooxygénases et Cytochrome P450

Pathologies variées :

Si mutation P450: hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales

Si défaut d'hydroxylase: Hyperandrogénie, Maturation sexuel précoce, virilisation

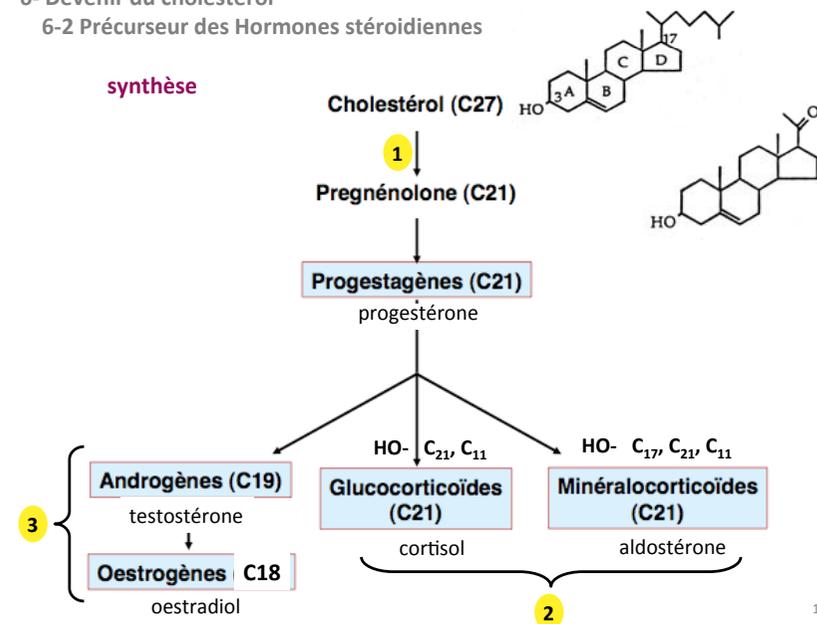
Ambiguïté génitale

163

6- Devenir du cholestérol

6-2 Précurseur des Hormones stéroïdiennes

synthèse



164

6- Devenir du cholestérol

6-3 Précurseur de la vitamine D3 (Cholécalciférol)

Le cholestérol est le précurseur de la vitamine D3 (cholecalciférol) qui régule l'équilibre phosphocalcique.

La **vitamine D3** est en partie apportée par l'alimentation d'origine animale.

La **vitamine D2** est un précurseur Elle provient de l'alimentation végétale

La **D3** est également synthétisée dans la peau à partir du **7-déhydroCholestérol** sous l'action des UV (soleil). Le mécanisme consiste en un réarrangement intramoléculaire.

Le Foie et le rein transforment les vitamines D en **Calcitriol qui est la forme active** de cette famille de vitamines

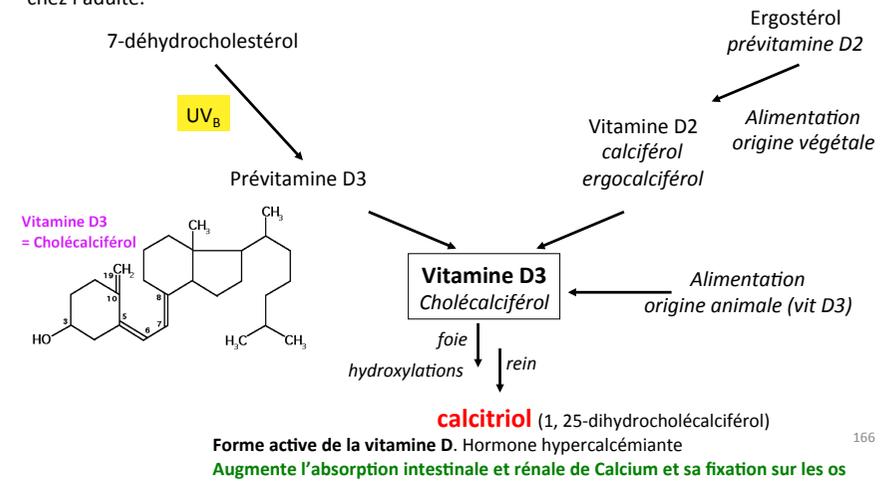
165

6- Devenir du cholestérol

6-3 Précurseur de la vitamine D3 (Cholécalciférol)

Rôle essentiel dans la régulation du **métabolisme phosphocalcique**.

Traitement préventif et curatif du **rachitisme** chez l'enfant et de l'**ostéomalacie** chez l'adulte.



167

168

Chp 5: Métabolisme des Protides et des Acides aminés

Réserves énergétiques moyenne d'un homme de 70 kg

Glucose	glycogène	protéines	Triglycérides
40 kCal	1600 kCal	25 000 kCal	> 100 000 kCal

169

1- Rappels et Généralités

Le **Cycle de Vie des protéines** : Codées génétiquement. Chez l'Homme, on compte environ **10 000 protéines** différentes dans leur structure et leur fonction.

En situation physiologique normale, elles ne constituent pas une source énergétique mais elles assurent diverses fonctions indispensables à la vie: catalyse enzymatique, transport, stockage, défense, communication ...

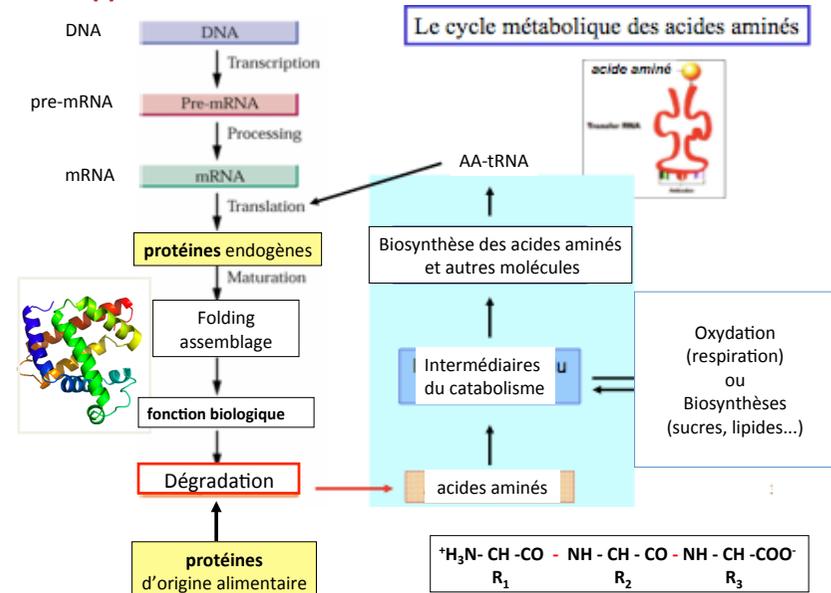
Le cycle métabolique des protéines comprend deux sources:

1 source de protéines endogènes (enzyme, hormone...) dont le **Turn over par 24h est de 4%** environ : Ce turn over permet d'éliminer les protéines anormales (erreur de synthèse ou altération post-traductionnelle, permettre la régulation du métabolisme en éliminant les enzymes et protéines régulatrices, une fois leur action accomplie) + Protéines musculaires (réserve énergétique)

1 source protéines exogènes d'origine alimentaire (100g /24 sont nécessaires)
Elle n'assurent que le renouvellement des protéines et la synthèse des molécules azotés indispensables. **L'excès n'est pas stocké** contrairement à ce qui se passe pour les glucides (stockés sous forme de glycogène) ou les AG (stockés sous forme de TG). **L'excès rejoint le métabolisme intermédiaire**

171

1- Rappels et Généralités



172

2 - Renouveaulement et Catabolisme des Protéines

2-1 Turnover protéique

Les protéines représentent environ 10kg (1/7 du poids) avec un turnover de 400g par 24h environ. Le Foie est le site le plus important pour la synthèse et la dégradation des protéines plasmatiques

Les ¼ des acides aminés (AA) libérés sont réutilisés pour la synthèse protéique. Le quart restant (100g) est catabolisé. L'alimentation doit donc apporter l'équivalent de 100 g d'AA chaque jour. L'excès n'est pas stocké à la différence des glucides (Glycogène) ou des AG (TG). Il est transformé: La copule azotée est essentiellement éliminée sous forme d'ammoniac (1/10 rein) ou d'urée (9/10 foie). Les squelettes carbonés sont transformés en intermédiaires du métabolisme, utilisés dans des réactions de biosynthèse (hème, nucléotide) ou rejoignent le catabolisme énergétique pour produire de l'ATP.

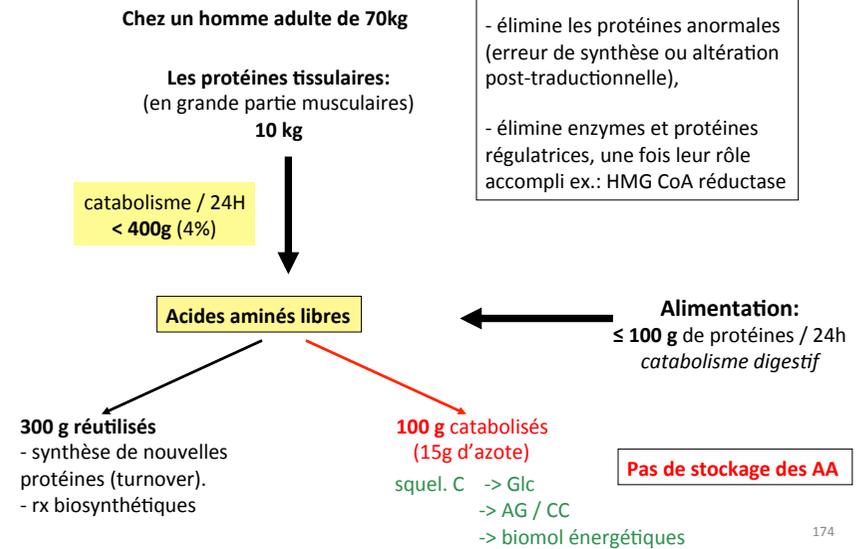
Dans des conditions physiologiques normales, les protéines ne constituent pas une source énergétique majeure.

En revanche, en situation de jeûne prolongé, non physiologique, les protéines musculaires deviendront une source énergétique importante et seront dégradées en coopération avec le foie. Les AA seront alors utilisés pour la synthèse des CC (AA cétoogènes) ou du Glc (AA glucoformateur)

173

2 - Renouveaulement et Catabolisme des Protéines

2-1 Turnover protéique



174

2 - Renouveaulement et Catabolisme des Protéines

2-2 Catabolisme des Protéines d'origine alimentaire (entrée)

La digestion des protéines alimentaires se fait en trois étapes:

- **Etape Intraluminale** qui conduit à des AA et des Peptides

Elle utilise des enzymes digestives synthétisées sous la forme de proenzymes (zymogènes) inactifs.

qui seront sécrétées et activées par protéolyse:

- estomac: la Pepsine
- pancréas: la Trypsine, la Chymotrypsine, l'Elastase et des Carboxypeptidases
- intestin grêle: des Aminopeptidases

- **Etape Membranaire:** Peptides ---> AA, di- et tripeptides
Aminopeptidases (bordure en brosse des entérocytes)

- **Etape Cytosolique:** Di- et tripeptides → AA
Di- et Tripeptidases

Tous les AA passent dans la veine porte, les 3/4 sont captés par le FOIE.

175

2 - Renouveaulement et Catabolisme des Protéines

2-3 Devenir des Acides aminés

Les AA ne sont pas stockés excédentaires par rapport aux besoins de renouvellement des protéines ne sont pas stockés mais réutilisés comme précurseurs dans des réactions de biosynthèse ou bien dégradés pour entrer dans le courant métabolique principale

*Le site majeur du catabolisme est le foie: enlèvement de la copule azoté et élimination, principalement sous la forme d'urée (9/10) non toxique, synthétisé par le Foie ou bien élimination sous forme d'ammoniac (1/10) par le rein

*Les muscles dégradent volontiers les AA ramifiés. Source énergétique mais faible en situation physiologique normale.

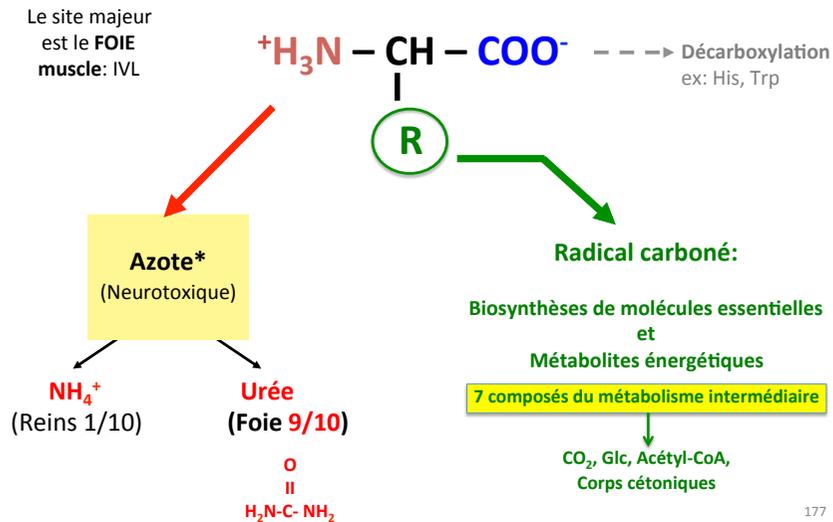
- Copule azotée -> L'ammoniac Toxique est Très diffusible (En milieu aqueux NH₄OH, base forte). Le foie va collecter la majorité de cet ammoniac, le détoxifier en le transformant en urée (Uréogenèse) qui sera ensuite éliminé dans les urines

- Le radical carboné des AA sera quant à lui transformé en composé du métabolisme intermédiaire. Les 20 AA protéinogènes conduiront à 7 composés cétoformateurs ou glucoformateurs

176

2 - Renouveau et Catabolisme des Protéines

2-3 Devenir des Acides aminés



177

Généralités:

- Les AA **ne sont pas stockés** (à la différence des glucides et des AG).
- S'ils ne sont pas réutilisés, leur dégradation contribue à la formation d'énergie dans la cellule (environ 10%)
- Si les AA ne sont pas utilisés comme **précurseurs d'autres molécules** ou réutilisés pour la synthèse des protéines, ils subissent une **dégradation oxydative**. Un apport excessif et une partie est détournée vers la lipogenèse.
- La **dégradation** du radical carboné conduit soit à l'**acétyl CoA**, soit à des **intermédiaires du cycle de Krebs (au nombre de 7)**. Les AA peuvent donner des **corps cétoniques** et/ou être **glucoformateurs**. Ils peuvent aussi être orientés vers la **production d'énergie, mais valeur énergétique < sucre et AG**

- La **copule azotée** est séparée du radical carboné:
transamination, désamination, excrétion de l'azote

- Le catabolisme fait intervenir des **cofacteurs importants**:
phosphate de pyridoxal (copule azotée)
THF, adénosyl méthionine,
cobalamine, tétrahydrobioptérine

→ 7 composés du métabolisme intermédiaire

178

3 - Catabolisme des acides aminés

Où ? Ubiquitaire. Le catabolisme des AA commence dans le tissu où a lieu la protéolyse: Majoritairement, l'intestin pour les protéines alimentaires; muscle en période de jeûne très prolongé, et essentiellement au niveau du Foie qui reçoit des AA en provenance de ces tissus et des aliments via la veine porte. Il s'achève dans le Foie (uréogénèse) ou dans le rein (ammoniogénèse)

Quand ? Ce catabolisme a lieu en continue (turn-over des protéines), en post-prandial (protéines alimentaires), en période de jeûne très prolongé (fonte musculaire)

Comment ? Il faut distinguer le devenir de la copule azotée et du radical carboné:

- Le catabolisme de la copule azotée a lieu en 2 temps:

* enlèvement de l'azote aminé soit par **double transamination**, soit par **trans-désamination**. L'azote aminé est ensuite véhiculé dans le sang principalement sous forme de Glu / Gln et à un moindre degré d'Ala. L'organisme limite ainsi la production d'ammoniaque libre toxique. Les échanges de copule azotée se font sous la forme d'acides aminés (Glu / Gln, Ala) grâce aux réactions de transamination.

* élimination de l'azote aminé sous forme de NH₄⁺ (rein) ou sous forme d'urée (foie)

- Catabolisme du radical carboné avec, selon la nature de l'AA, formation de 7 composés du métabolisme intermédiaire (dia 197)

179

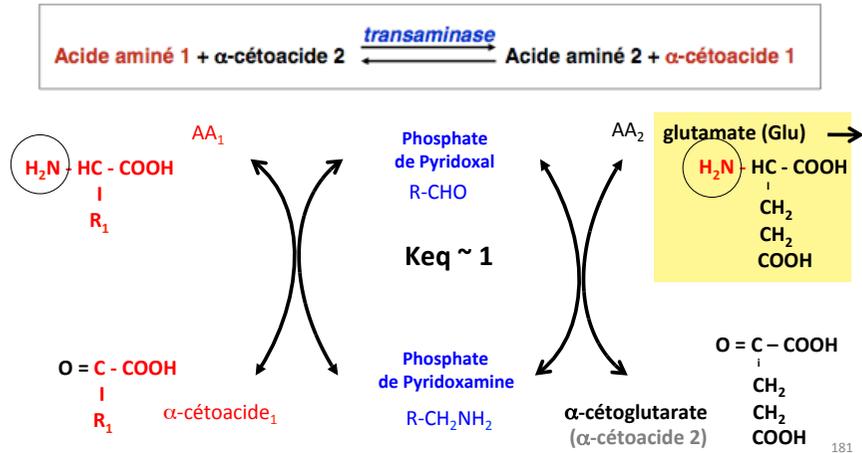
180

3-1 Enlèvement de l'azote des acides aminés et transformation

3-1-1 La double transamination *intestin, muscles (V,I,L) et foie*

- Première transamination (cytosolique)

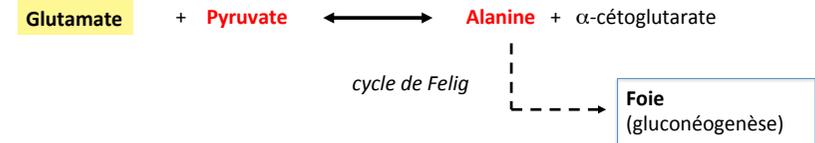
catalysées par des **aminotransférases (AT)** ou **transaminases cytosoliques spécifiques**



- Seconde transamination mitochondriale catalysée par seulement 2 type de transaminases selon le tissu (ALAT ou ASAT)

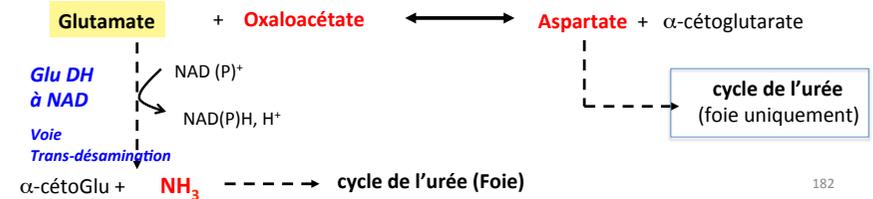
A- dans l'intestin et les muscles:

ALAT (TGP) : Alanine aminotransférase (transaminase glutamique pyruvique)
coenzyme Phosphate de pyridoxal



B- dans le foie:

ASAT (TGO) : Aspartate aminotransférase (transaminase glutamique oxaloacétique)



3-1-2 La trans-désamination *muscles et foie*

- La première étape est identique à celle de la double transamination et fait intervenir des aminotransférases (AT) cytosoliques spécifiques → Glu
- La deuxième étape n'est plus une transamination mais une désamination oxydative mitochondriale faisant intervenir une *Glu déshydrogénase* (Glu DH) à NAD (P) et l'enzyme fait l'objet d'une régulation allostérique

(+) ADP et GDP sont des activateurs allostériques
(témoins d'un besoin énergétique de la cellule)

(-) ATP et GTP sont des inhibiteurs



- Devenir du NH₄⁺ issu de la trans-désamination

Considérons le catabolisme des AA du Muscle squelettique:

Le NH₄⁺ issu de la transdésamination redonne de la Gln (Gln synthétase), forme de transport.
Sa concentration y est beaucoup plus élevée que dans le plasma ce qui favorise sa libération vers le plasma. La Gln plasmatique (forme de Transport atoxique) est ensuite captée surtout par les hépatocytes mais aussi par les cellules intestinales et reinales

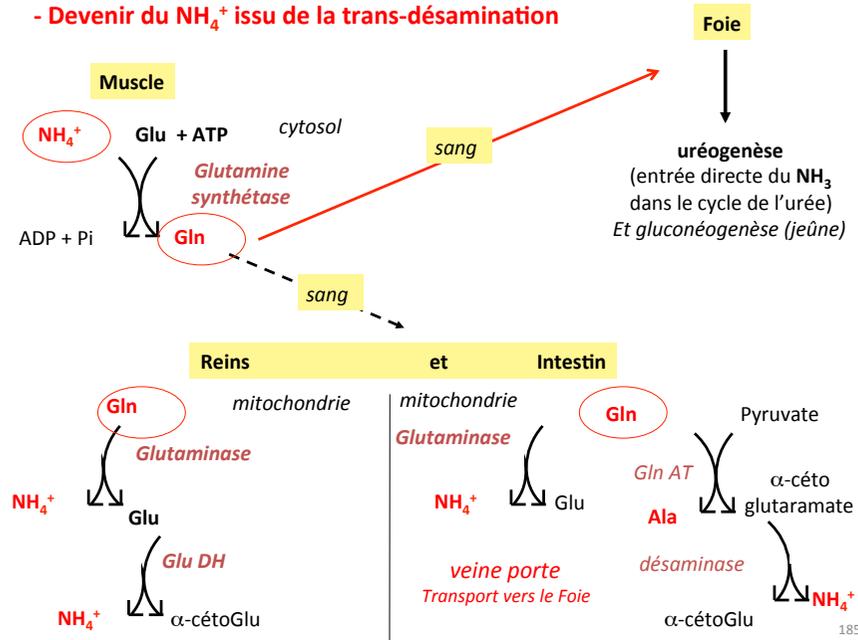
Dans le Foie, la Gln fournira des NH₄⁺ au cycle de l'urée et aussi des C à la gluconéogenèse (période de jeûne).

Dans le Rein la Gln libère successivement 2 NH₄⁺ qui seront éliminés dans les urines.
α-cétoGlu est oxydé (Krebs) ou entre dans la gluconéogenèse, car ici la gluconéogenèse est possible, mais uniquement en situation de jeûne prolongé.

Dans l'intestin: En période de jeûne. Il capte Gln puis: a) Glnase et b) GlnAT puis Désaminase. Ensuite Ala et NH₄⁺ quittent l'intestin à destination du Foie.
NH₄⁺ circule libre **uniquement** dans le sang portal entre l'intestin et le foie.

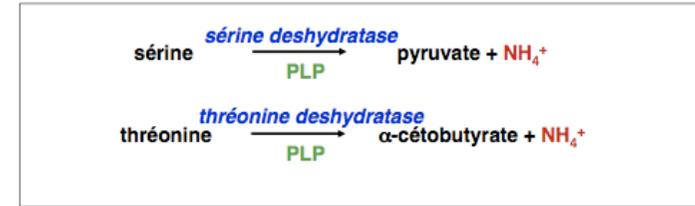
184

- Devenir du NH_4^+ issu de la trans-désamination



3-1-3 Désamination directe (non-oxydative)

Ser et Thr possède des enzymes spécifiques qui libèrent directement NH_4^+



PLP = phosphate de pyridoxal.

186

3-1-4 Bilan et échanges inter-organes

Ainsi parce que l'ammoniac est toxique, il circule essentiellement sous des formes atoxiques (Ala et Gln) (sauf NH_3 du sang portal entre intestin et foie) pour converger :

1) vers le rein où il participera à l'équilibre acido-basique et où il sera éliminé. Le rôle de l'ammoniogénèse est avant tout de participer à l'équilibre acido-basique réabsorption nette de bicarbonate.

et

2) surtout vers le Foie qui disposera des deux substrats de l'uréogénèse (NH_3 et Asp) Les réactions de transamination qui sont de très loin les réactions majoritaires pour faire transiter cette copule azoté sous forme non-toxique de Glu, Gln et Ala

-Echanges inter-organes, situation de jeûne prolongé:

Intérêt de Ala dans le muscle: Dans le muscle (dégradation des Protéines = période de jeûne prolongé). La double transamination conduit à l'Ala. Le Pyruvate nécessaire provient a) de la glycolyse et b) du catabolisme du radical des AA via la gluconéogénèse. Les α -cétoacides correspondant sont en partie envoyés au foie.

Dans le foie: le Pyruvate issu de la transamination de l'Ala d'origine musculaire est le substrat de la gluconéogénèse (pas d'autre source de Pyruvate que les AA en jeûnes) Ainsi, le cycle alimentaire à la fois la gluconéogénèse (via Ala) et l'uréogénèse (via l'azote) urée qui sera éliminé par le rein

187

-BILAN: L'élimination de la copule azotée des acides aminés conduit par:

- double transamination à:

Ala (intestin, muscles) ----> Foie (**cycle de Felig**)

Asp (foie) ----> substrat du cycle de l'urée (Foie)

- trans-désamination (niveau énergétique **FAIBLE**) à:

NH_4^+ Toxique (Foie et Muscles)

Foie ----> cycle de l'urée

Muscles ----> transformé (**Gln**) forme de transport vers le foie, l'intestin ou les reins (voir supra) puis de l'intestin (Ala & NH_4^+) vers le foie (sang portal)

188

-Echanges inter-organes Muscle / Foie en situation de jeûne prolongé:

Le cycle Alanine / Glucose ou cycle de Felig



Dans le muscle, en situation physiologique et nutritionnelle normales, le catabolisme des AA est peu important.

En revanche, lors d'un régime hyperprotéique ou, au contraire, d'un jeûne prolongé, la dégradation des AA (principalement AA ramifiés) issus de la protéolyse conduit par double transamination à la formation d'Ala.

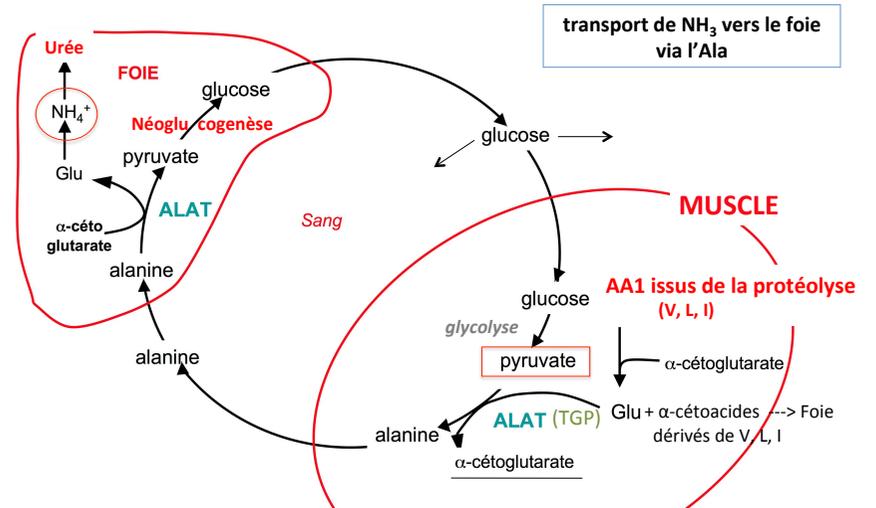
L'Ala passe dans la circulation sanguine, gagne le Foie où, après son entrée dans les hépatocytes via un transporteur spécifique elle est transaminée en pyruvate (ALAT). Cette réaction est importante car elle alimente:

- La gluconéogenèse via le Pyruvate. Le Glc produit sera alors destiné aux tissus gluco-dépendants (cerveau et surtout GR)
- L'uréogénèse après que l'azote aminé ait été pris en charge par le Glu (ALAT)

189

-Echanges inter-organes, situation de jeûne prolongé:

Le cycle Alanine / Glucose ou cycle de Felig



190

3-1-5 Excrétion de l'azote et uréogénèse

Après que l'azote aminé ait été enlevé soit par double transamination soit par transdésamination et ensuite transporté dans le sang principalement par l'Ala et la Gln, il va devoir être éliminé:

- soit sous la forme de NH_4^+ (ammoniogenèse rénale)
- soit sous la forme d'urée. L'uréogénèse se déroule exclusivement au niveau du Foie via le cycle de l'urée. Les sources d'azote sont l'Asp et le NH_4^+

L'uréogénèse est la voie d'élimination principale (9/10).

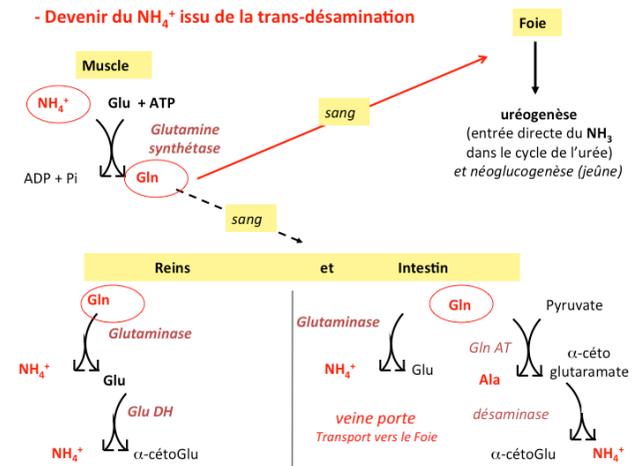
L'urée est une forme d'élimination atoxique de l'ammoniac. En effet, l'ammoniac en grande quantité s'accumule et diffuse facilement à travers les membranes cellulaires. Il est très toxique, essentiellement sur le SNC. On pense que cette toxicité est liée à une diminution de la teneur en ATP intracellulaire (Dia 170)

191

3-1-5 Excrétion de l'azote et uréogénèse

3-1-5-1 ammoniogenèse rénale

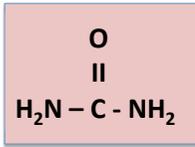
1/10 est éliminé par le rein dans les urines sous la forme d'ammoniaque



192

3-1-5 Excrétion de l'azote et uréogénèse

3-1-5-2 Uréogénèse hépatique



L'urée:

Molécule **hydrosoluble**,

Très diffusible dans les tissus, liquides biologiques et le sang

élimination urinaire 90 % sueur et salive 10%

Les sources d'azotes sont:

Asp issu de la double transamination hépatique (dia 159) et l'**Ala** provenant de l'intestin et des muscles.

NH_4^+ (dia 163)

intestinale issu de la Gln d'origine musculaire, *apporté par la veine porte*

hépatique libéré par trans-désamination des AA et de l'Ala libéré par désamination non-oxydative de certains AA

193

Une partie du NH_4^+ est utilisé dans des réactions de biosynthèse des composés azotés (purine et pyrimidines, sucres aminés). L'excès sera converti en urée (Foie, secondairement le rein en cas de jeûne très prolongé) puis excrété

Le cycle de l'urée commence dans la mitochondrie où se trouve l'ammoniac. L'ATP y est disponible.

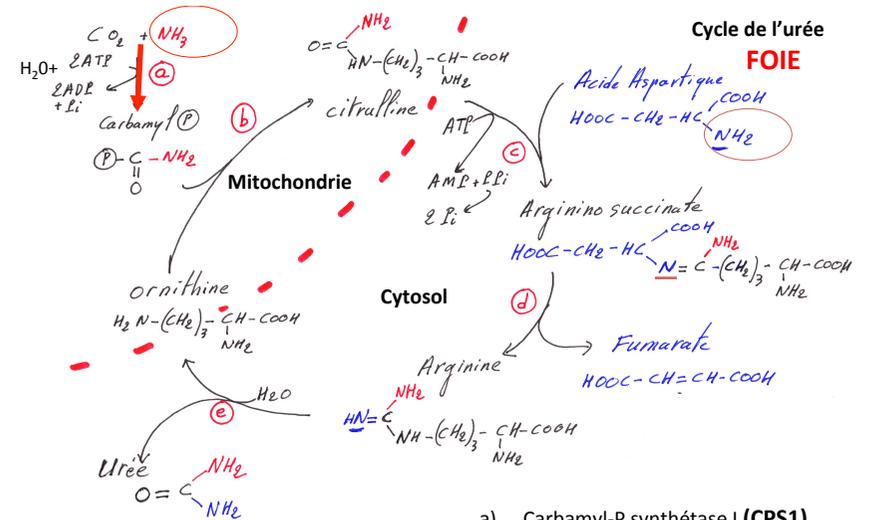
Réactions:

- irréversible consommation de 2 \sim . Catalysée par la **Carbamyl-P synthétase** qui sera l'objet d'une régulation
- transfert sur l'ornithine pour donner la citrulline qui diffuse hors de la mito.
- Entrée du deuxième N (Asp). Une synthétase permet de former l'arginino succinate avec consommation de 2 \sim .
- clivage non hydrolytique par une lyase qui conduit à l'Arg et au fumarate qui retournera dans le cycle de Krebs
- clivage par arginase avec consommation d'eau et libération de l'urée.

L'urée diffuse dans le plasma, gagne le rein et les urines (20g/24H).

Ce cycle est hautement régulé via l'un de ses produits: l'Arg
Il est coûteux sur le plan énergétique

195



- Carbamyl-P synthétase I (**CPS1**)
- Ornithine carbamyl transférase
- Argininosuccinate synthétase
- Argininosuccinate lyase
- Arginase

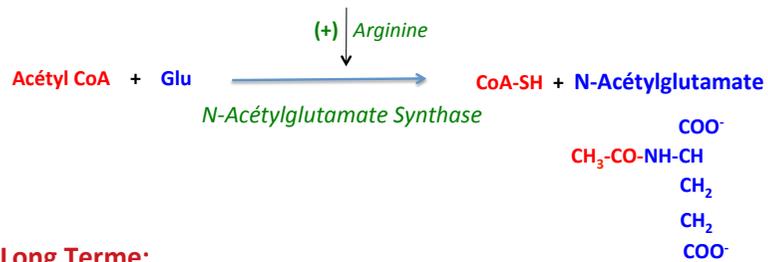
196

3-1-5-3 Régulation hépatique du cycle de l'Urée

A Court Terme:

Le N-acétylglutamate modulateur **allostérique positif** de la CPSI.

La synthèse du N-acétyl Glu est elle-même activée par l'Arg.



A Long Terme:

Les enzymes du cycle sont inductibles (10 à 20 x)

si - Régime hyperprotéique

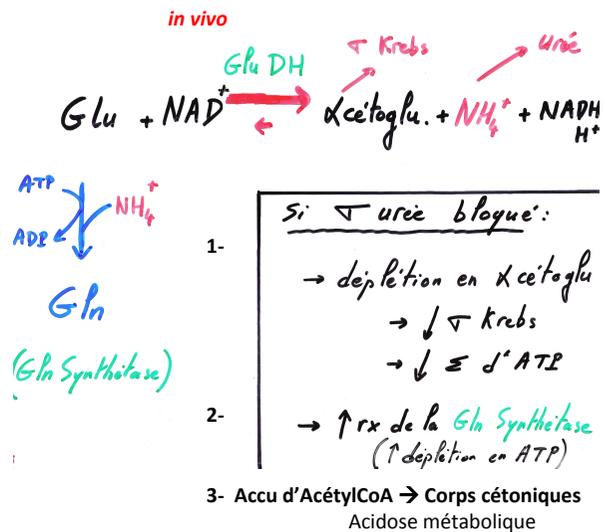
- Jeûne
- Défaut d'apport d'AA essentiels

**activateur allostérique
de la CPSI
(rx1 du cycle de l'urée)**

197

3-1-5-4 Toxicité de l'ammoniac et déficit héréditaire du cycle de l'Urée

Conséquences possibles d'un déficit de l'une des enzymes du cycle de l'urée:



199

Déficits héréditaires du cycle de l'Urée:

Il existe des affections génétiques dues à des enzymopathies du cycle.

Chaque enzyme peut être touchée. Toutes conduisent à une hyper-ammoniémie et éventuellement à un coma hépatique.

La gravité dépend de l'importance du déficit.

Certains de ces déficits se manifestent 1 à 2 jours après la naissance lorsque l'enfant tombe en léthargie et vomit périodiquement.

Un coma et une altération cérébrale irréversible peuvent suivre.

Un régime pauvre suffit à abaisser l'ammoniémie et à améliorer les signes cliniques.

Un déficit sub-Total est gravissime.

Il conduit à la mort après la naissance.

Hyperammoniémie → Coma hépatique → Altération cérébrale irréversible

Un déficit sub-total est gravissime

200

3-2 Devenir du radical carboné des acides aminés

3-2-1 Principales voies métaboliques

Essentiellement **hépatique**, secondairement **muscles** et **reins**.
Habituellement **faible** (catabolisme des AA issus du turn-over des protéines)

Important si

- Régime **hyperprotéique** (pas de stockage, ni excrétion directe)
- **Jeûne prolongé** et diabète sucré (gluconéogenèse, céto-genèse)

A l'état basal:

Selon la situation métabolique:

- source énergétique: intermédiaires du cycle de Krebs
(faible, moins de 15% de la production totale)
- Inter-conversions ou précurseurs d'autres composés importants
(Phospholipides, catécholamines, neurotransmetteurs, purines, pyrimidines)

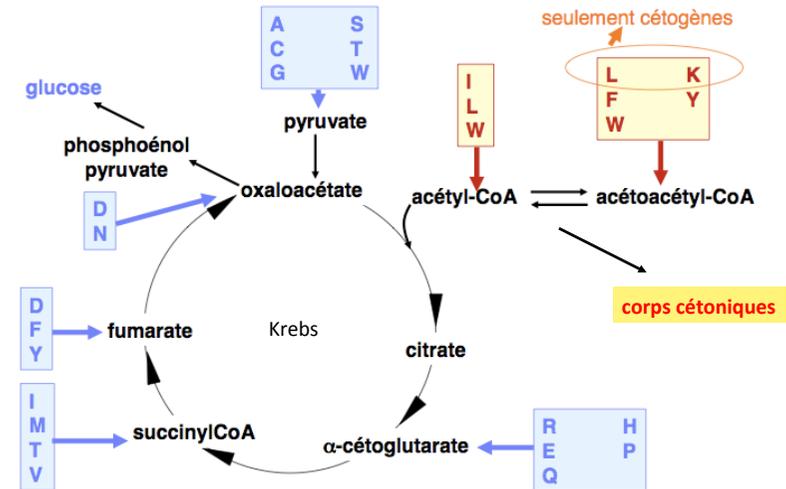
A l'état de jeûne prolongé

- gluconéogenèse hépatique (18 AA **glucoformateurs**)
soit au niveau du **pyruvate**
soit d'un intermédiaire du σ de Krebs (α -cétoGlu, succinylCoA, Fumarate, OA)

- formation de **corps cétoniques** dans le foie (6 AA **cétoformateurs**)
soit au niveau d'un précurseur des CC **acétyl-CoA**, **acéto-acétyl-CoA**
soit au niveau d'un CC lui même

201

AA glucoformateurs (glucogènes) (18) ou cétoformateurs (céto-gènes) (6)



4 AA mixtes: Iseut (Ile) fait (Phe) « triquer » (Trp) un satyre (Tyr)
2 AA purement céto-gènes (Leu, Lys)

202

3 - Catabolisme des acides aminés

203

3-2 Devenir du radical carboné des acides aminés

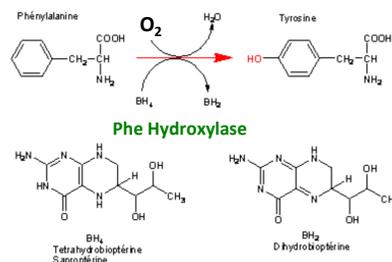
3-2-2 Anomalies du catabolisme des acides aminés

Les maladies touchant le catabolisme des AA sont :

soit dues à des **insuffisances d'apport en cofacteurs** ce qui peut être corrigé par supplémentation,

soit dues à des **mutations sur les gènes** codant les enzymes impliquées. Ces maladies génétiques peuvent être **graves et difficiles à traiter**.

La plus fréquente des aminoacidopathies est la **phénylcétonurie**



4 - Biosynthèse des acides aminés

L'organisme peut synthétiser certains AA. Cette production **complète** l'apport alimentaire et facilite la synthèse des protéines et des mol. azotées

8 acides aminés sont dits **ESSENTIELS** ou **INDISPENSABLES** car ils ne peuvent être synthétisés par l'organisme. Ils seront apportés par l'alimentation.

2 sont semi-essentiels car ils sont synthétisés en quantité trop limitée au cours de la croissance (**His** et **Arg**)

Hystérique (His), le (Leu) très (Thr) lyrique (Lys) Tristan (Trp) fait (Phe) vachement (Val) méditer (Met) Iseult (Ile) en Argentine (Arg)

10 sont Non-essentiels. Ils sont synthétisés par l'organisme à partir d'intermédiaires de la **Glycolyse**, et du cycle de **Krebs** ou par **conversion** directe ou indirecte de divers AA. Les réactions utilisées sont:

transaminations d'acides cétoniques: **Ala, Asp, Glu, Ser**
amidations du Glu et de Asp pour former **Gln** et **Asn**
conversions diverses: Ser <-> **Gly**; Phe --> **Tyr**; Met --> **Cys**
Pro <-> Glu <-> Ornithine --> Cit --> **Arg**

204

5- Métabolisme des AA et intégration des différents organes

5-1 Activité métabolique des différents organes

Récapitulatif

Muscle: Source principal des AA quand l'organisme est en situation de besoin énergétique **sans apport exogène d'énergie (jeûne prolongé, pathologie)**

Fournira de l'**Ala** (ALAT) qui retournera au foie pour la **gluconéogenèse**. Libère également Gln (NH_3) dans le sang. **Dia 161 & 164**

Intestin: **Principale source azotée en période nourrie**. Hydrolyse des **protéines alimentaires**. AA captés par les entérocytes transformés *in situ* ou transportés par le sang.

En période de jeûne, l'intestin peut capter des AA, principalement la **Gln** d'origine périphérique. A partir de la **Gln**, l'intestin forme de la **citruilline** précurseur de l'Arg et de la Pro. **Dia 161**

205

206

5- Métabolisme des AA et intégration des différents organes

5-1 Activité métabolique des différents organes

Récapitulatif

Foie: **Grande activité** dans le métabolisme des AA. **Transamination**.

Squelettes carbonés: Production de **glucose** (**gluconéogenèse**), de **corps cétoniques** (**cétogenèse**), ou **production d'AG** (**et lipogenèse**) en fonction des conditions physiologiques (**jeûne** ou **nourri**).

Détoxifie l'ammoniaque en urée, éliminée par voie rénale.

Rein: Grande activité vis à vis de certains AA (synthèse de l'Arg et de la Ser. Gln dont il transforme les C en glucose), **l'azote en ammonium**.

Cerveau: A l'exception des **AA ramifiés**, il utilise peu les AA comme source d'énergie. **Très dépendant de Glu, Phe et Trp**, précurseurs de neurotransmetteurs

207

208

5-2 Activité en fonction de l'état de nutrition

Période nourrie:

Récapitulatif

L'intestin est le principale fournisseur d'AA qui sont issus des protéines alimentaires.

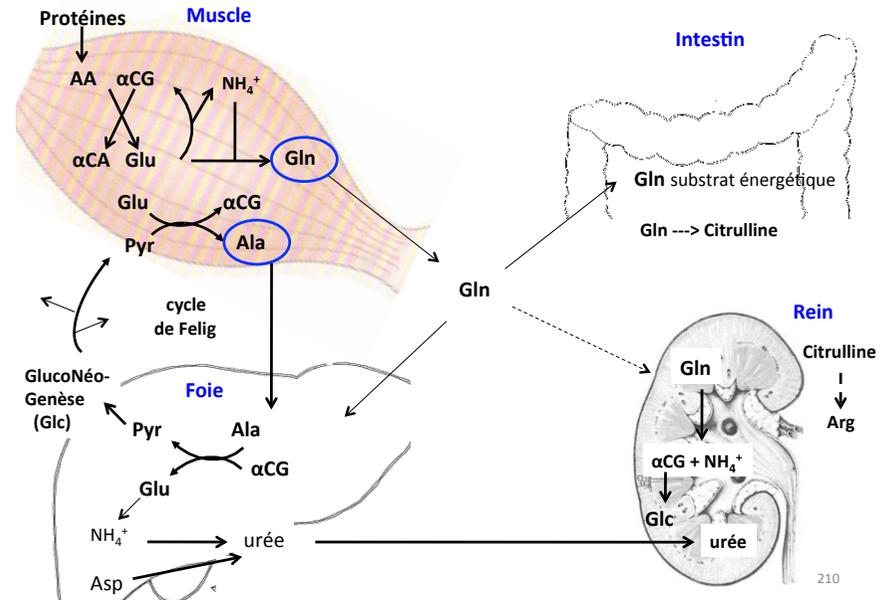
La plupart des AA qui transitent par les entérocytes sont utilisés pour la **synthèse protéique** ou **métabolisés *in situ***. Le reste est capté par le **foie**.

Foie: Une partie sera utilisée pour la **synthèse protéique**,
L'autre métabolisée via les transaminations et les connections avec le **cycle de Krebs**.

L'azote produit par les transaminations sera transformé *in situ* en **urée**.
Les AA non-utilisés par le foie seront **distribués aux tissus périphériques** (muscle en particulier).

209

Métabolisme des AA en période de Jeûne prolongé



210

5-2 Activité en fonction de l'état de nutrition

Période de jeûne:

Récapitulatif

Pas d'apport alimentaire d'AA.

Certains **tissus** étant exclusivement **glucodépendant** (GR), **l'organisme épargne le Glc**

Au niveau des **tissus périphériques** (catabolisme protéique, oxydation des AG)

Au niveau **du Foie:** Maintien le niveau de Glc par la gluconéogenèse qui se fait au **dépens des protéines, principalement musculaires. (dia 163)**

Ala et Gln quittent le muscle.

Ala est capté par le foie (gluconéogenèse).

Gln est captée par l'intestin qui l'utilise comme substrat énergétique

211

Fin

212