

Biochimie

Arnaud Bruneel : enzymologie

Jean-François Benoist : métabolisme

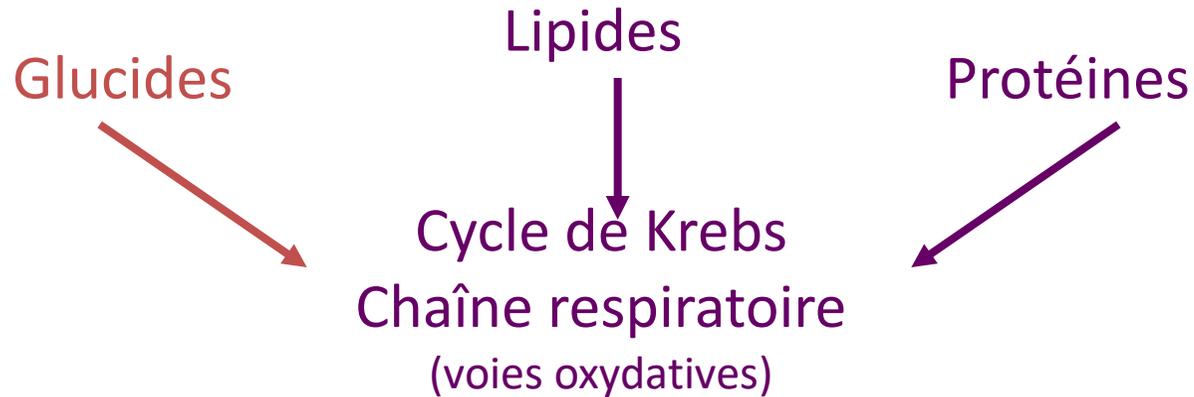
Philippe Billiald : métabolisme

2024 - 2025

UE4 DFGSP 2

BIOCHIMIE MÉTABOLIQUE

(CM 8 H et 4 cours-ED)



biosynthèses

*biosynthèses
(anabolisme)*



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

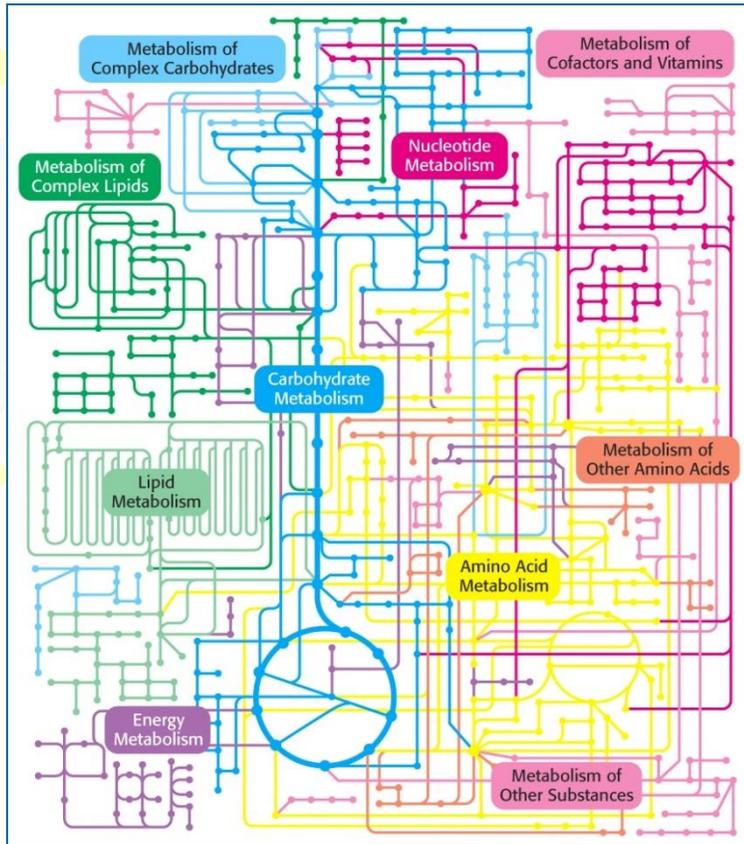
Cours-ED : 4 séances

Objectifs :

- Comprendre les besoins énergétiques des cellules et des tissus
- Connaitre les mécanismes de régulation des voies métaboliques
- Revoir les voies métaboliques impliqués dans le métabolisme des sucres, des lipides et des protéines et connaitre les points de régulation de ces métabolismes
- Connaitre les grands carrefours métaboliques de la cellule (pyruvate, acétyl-CoA)
- Maitriser les mécanismes d'adaptation métabolique dans les situations physiologiques en fonction de l'état nutritionnel et de l'effort
- Connaitre les sources des substrats énergétiques
- Connaitre les formes de réserves énergétiques, et leur formation/utilisation
- Connaitre les inter-relations métaboliques entre les principaux organes et leurs orchestrations en fonction des besoins énergétiques en situations physiologiques

Chp 1: Métabolisme

Concepts de base – Organisation Voies de Régulation



1- Organisation générale

ADP + Pi
NAD⁺
FAD



Catabolisme
Sucres, Lipides, Protéines
Production d'Energie
voies oxydatives

déchets

CO₂
H₂O
NH₃

ATP
NADH, H⁺
NADPH, H⁺

ATP
NADH, H⁺
FADH₂

Anabolisme / Travail
Synthèse de macromolécules
Contraction musculaire
Transport actif
Thermogénèse
voies réductrices

Les 3 étapes du **catabolisme** énergétique



1- Dégradation des aliments ou réserves cellulaires en composés à fort potentiel énergétique :

Pyruvate et Acétyl CoA

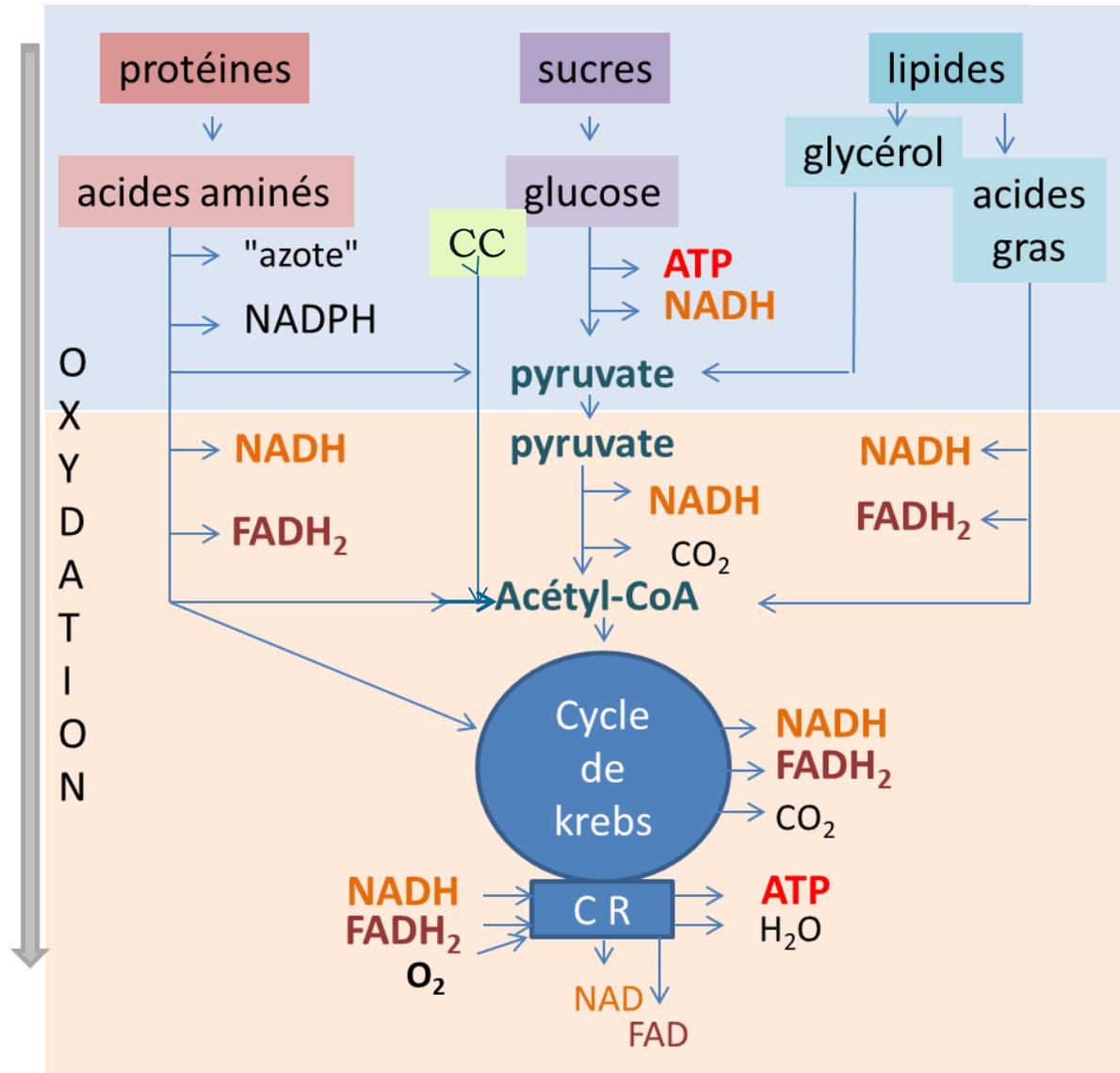
2- Oxydation de l'acétyl CoA / O₂
→ *co-enzymes d'oxydoréduction réduits* **NADH, H⁺ FADH₂**

3 - Phosphorylation oxydative (Chaîne Respiratoire)

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

Production de déchets:
CO₂, NH₃, H₂O

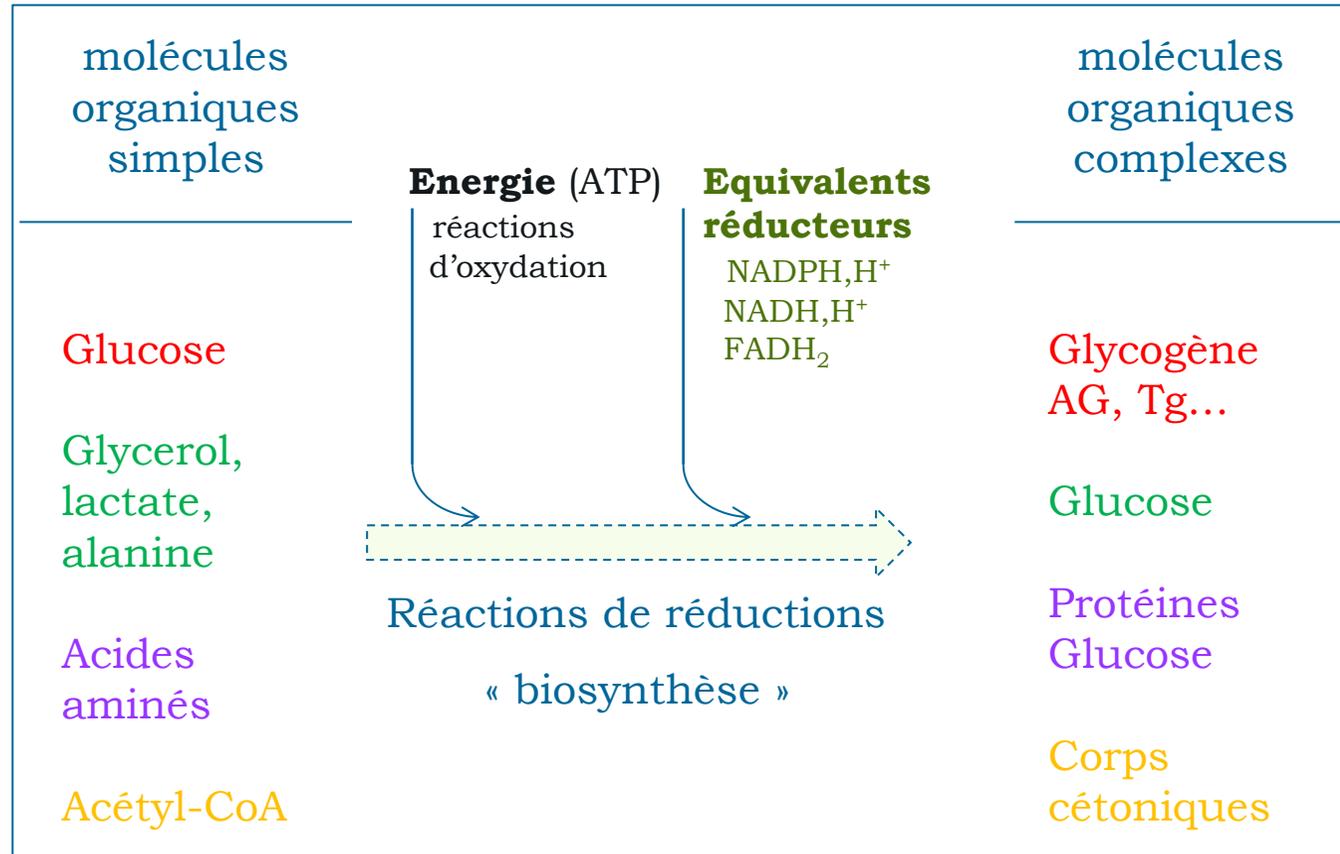
Régulation :
Où, quand, comment, pourquoi ?





L'anabolisme hétérotrophe

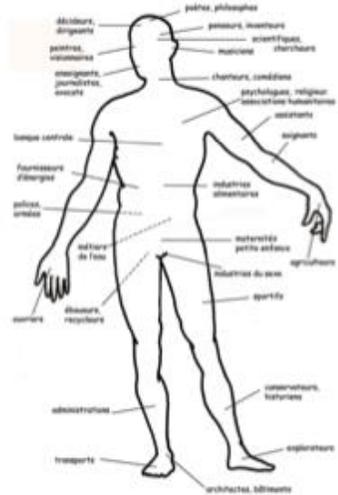
- Se fait à partir de molécules organiques simples
- Coûte de l'énergie (couplage avec des réactions d'oxydation)
- Nécessite des équivalents réducteurs (NADPH, H⁺)



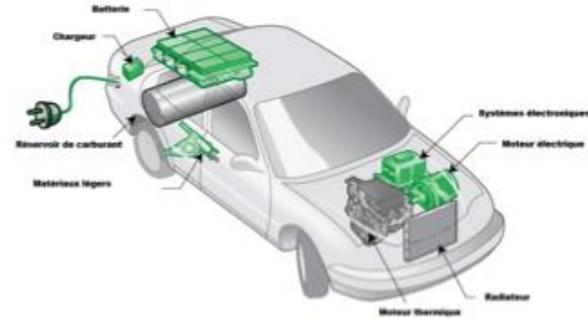
Régulation :
Où, quand, comment, pourquoi ?

2- Comprendre les besoins des différents organes

Organisme humain vivant



Véhicule hybride, moteur allumé



Les organes clés du métabolisme énergétique

- Le foie
- Le cerveau
- Le globule rouge
- Les muscles squelettiques
- Le tissu adipeux
- Le cœur
- Le pancréas
- L'intestin
- Le rein

2- Comprendre les besoins des différents organes



Les besoins énergétiques varient en fonction de situations physiologiques types :

Etat nutritionnel

Etat nourri ou post-prandial

1 à 2 h après le repas

Phase intermédiaire 2 à 4 h après le repas

Jeûne

précoce 4 à 6 h après le repas

physiologique 8 à 16 h après le repas

prolongé au delà de 16h

Activité physique

Etat repos

Effort physique bref et intense (30 sec)

Effort physique intermédiaire 2 à 15 min

Effort physique prolongé

-ex. jogging 30 min

-ex. marathon >2 h

Eric B, **étudiant à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry** est très en retard ce matin pour arriver à son premier cours ! Conséquences : pas de petit-déjeuner ce matin et donc un **jeûne** d'à peu près douze heures et 10 à 15 minutes de course à pied de la station de bus jusqu'à la Faculté !

Au niveau des muscles d'Eric :

le glucose est-il majoritairement utilisé ?

quelle(s) voie(s) métabolique(s) est (sont) modulée(s) en rapport avec ce substrat ?

En tenant compte de l'état nutritionnel d'Eric et de l'effort :

quelle(s) voie(s) métabolique(s) est (sont) activée(s) au niveau de son **foie** ?

Y a-t-il une répercussion sur l'activation ou l'inhibition d'un certain nombre de voies métaboliques dans les cellules de son **tissu adipeux** ? Si oui, pourquoi et comment ?

Eric, après cet effort, suit une heure de cours en amphithéâtre. Pendant cette heure : **son glycogène musculaire** est-il reconstitué ? Justifier la réponse.

quelles sont la nature et l'origine des substrats énergétiques consommés par son muscle pendant cette **heure de cours** ?

Les mécanismes majeurs de régulation des voies métaboliques

1. Des **signaux** envoient un message initial en **réponse** à une **variation de l'état physiopathologique**

- des **signaux intracellulaires** comme le calcium ionisé ou certains métabolites (effecteurs allostériques) vont pouvoir moduler l'activité d'enzymes
- des **signaux extracellulaires**, principalement des **hormones**, vont assurer la **communication et la coordination** de la réponse entre les différentes cellules/organes en modulant l'activité ou la concentration d'enzymes

2. En réponse à ces signaux l'adaptation se fera sur des cibles (**effecteurs**) : une **enzyme de régulation**, voire un transporteur.

Les principaux mécanismes de régulation d'une voie métabolique portent sur

- la **biodisponibilité en substrat (immédiat)**
- les régulations de type **allostérique (msec ou secondes)**
- la modification covalente des enzymes par **phosphorylation/déphosphorylation (secondes ou minutes)**
- les mécanismes **d'inhibition** de type **rétrocontrôle** par les produits directs de la réaction (ou indirect = allostérie) (**msec ou secondes**)
- l'utilisation **d'isoenzymes**
- la concentration en enzyme = **régulation transcriptionnelle** (plus rarement post-transcriptionnelle (**heures à jours**))



Comment modifier la vitesse d'une réaction enzymatique sans modification covalente :

1 – La disponibilité en substrat

$$V_o = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

2- La concentration en enzyme (cf 3.2)

$$V_o = k_2 [ES]$$
$$V_{\max} = k_{\text{cat}} [E]_{\text{tot}}$$

3- La concentration en inhibiteur

a) compétitif

$$V_o = V_M \frac{S}{K_M (1 + I/K_i) + S}$$

$$K_{M \text{ app}} = K_M (1 + I/K_i)$$

% d'inhibition dépend de: I / S

b) non compétitif

$$V_o = \frac{V_M}{(1 + I/K_i)} \frac{S}{K_M + S}$$

$$V_{M \text{ app}} = \frac{V_M}{(1 + I/K_i)}$$

% d'inhibition dépend de: I / K_i

Les signaux intracellulaires



Effecteurs allostériques - Enzyme Non Michaelienne - Enzyme oligomérique

La première réaction de nombreuses voies de biosynthèse est inhibée de façon allostérique:

par le produit final de la voie (inhibition feed back)

par un dérivé intermédiaire, témoin de la charge énergétique

Mise en œuvre rapide, presque instantanée (msec, sec)

Ces interactions allostériques sont médiées par d'importants changements de structure quaternaire.

Ce mécanisme de régulation conduit à une accélération ou à une inhibition brutale de l'enzyme

Quelques exemples:

- Glycolyse: PFK1

- Synthèse des AG: Acétyl-CoA carboxylase

Exemple de messager intracellulaire : le Ca^{2+}



1° Second messager ubiquitaire

Peu spécifique, intervient dans la conduction nerveuse, tous les processus de sécrétion, la contraction musculaire (striée, cardiaque et lisse)

2° Lié par des Calcium Binding Protein : les **Calmodulines**

- protéine de 17 KDa - fixe 4 Ca^{2+} /molécule
site de liaison au Ca^{2+} dans des boucles (domaines de 12 aa)
- Ca^{2+} Calmoduline contrôle diverses protéines kinases Ca^{2+} dépendantes (adénylyl-cyclase, phosphodiesterases)

3° Concentrations

- dans le **cytosol** : 10^{-7} M
- dans le milieu **extracellulaire** : 10^{-3} M
- dans différents sites de **stockage** (mitochondrie, réticulum endoplasmique lisse, réticulum sarcoplasmique : 10^{-3} M)

4° Courant de Calcium

- Membrane plasmique : canal voltage dépendant
- Membrane du RE et du RS : récepteur canal (IP3 et ryanodine)
- La sortie du Ca^{2+} utilise des pompes à activité **ATPasique**

Exemple de messager intracellulaire : l'AMP



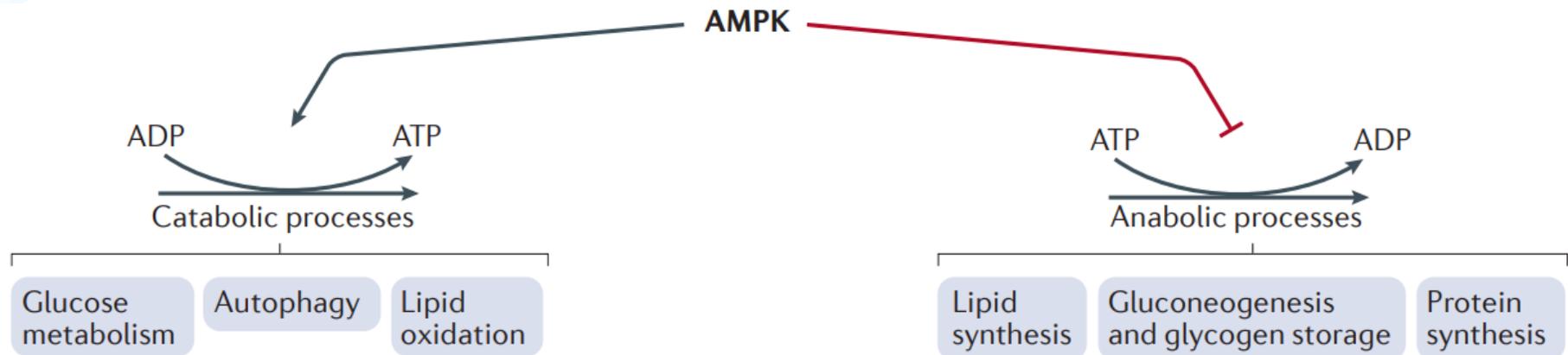
1° régulation par la réserve énergétique

La réserve énergétique est un signal puissant pour régulateur de l'homoéostasie énergétique.

La consommation d'ATP forme de l'ADP

La cellule privilégie la synthèse d'ATP par le biais de l'adenylate kinase :
 $2 \text{ ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$

Toute élévation de la concentration en AMP (signal que les ressources se font rares) active une kinase particulière : l'AMP-kinase (AMPK) qui va déclencher des mesures de compensations pour restaurer le niveau énergétique (charge énergétique)



Les signaux extracellulaires : Les hormones

La modification covalente des enzymes par les principales hormones de régulation :

- **L'insuline = hormone de l'anabolisme – état nourri**

entraîne systématiquement une **déphosphorylation** des enzymes cibles régulées par modification covalente (active des **protéines phosphatases**)

- **Le glucagon et les catécholamines (adrénaline) – jeûne / effort**

Entraîne systématiquement une **phosphorylation** des enzymes cibles régulées par modification covalente (active des **protéines kinases**)



Cascade d'amplification / dispersion géographique → stimulation et inhibition simultanée et coordonnée de différentes voies métaboliques

La régulation par modification covalente de l'enzyme

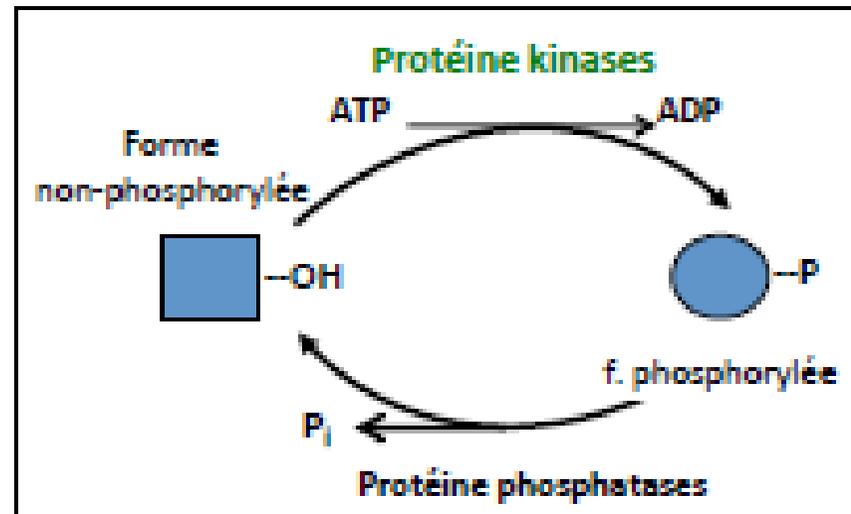
Phosphorylation / Déphosphorylation de résidus Tyr, Thr, Ser



1- Moins rapide que l'allostérie
(qq sec ou min)

2- Certaines enzymes sont actives sous forme phosphorylée, d'autres sous forme déphosphorylée.

(glycogène phosphorylase / glyc. synthétase)



3- Protéine Kinases

PKA (AMPc-dépendante)
(Glucagon / Adrénaline)

AMPK (AMP dépendante)
(stress, privation d'énergie)

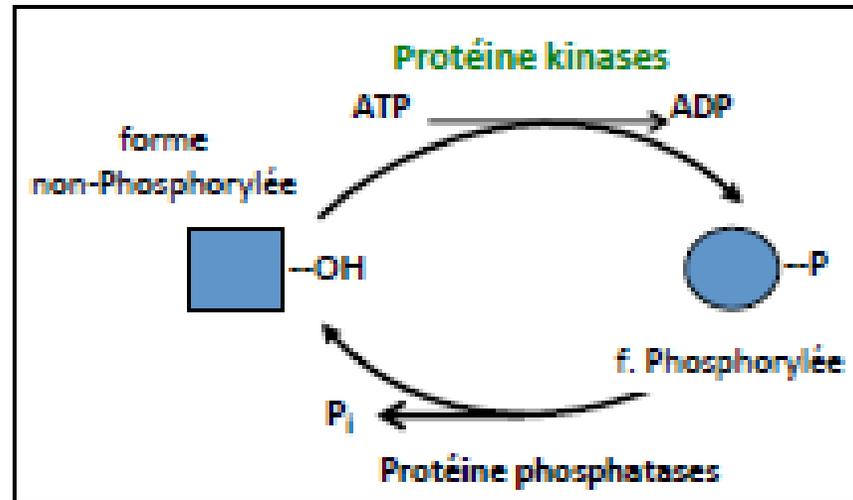
4- L'insuline s'oppose à l'action des PKA et AMPK en activant des Protéines Phosphatases (PP1 - PP2A - PP2B)



5- En situation nourrie, les enzymes métaboliques sont déphosphorylées

[Insuline] / [Glucagon] élevé,
Taux [cAMP] et [AMP] faibles

PFK2, PK (foie), AcétylCoA carboxylase
Glycogène phosphorylase, G. synthase



6- A l'état de jeûne,

les enzymes métaboliques sont phosphorylées

[Insuline] / [Glucagon] faible,
Taux [AMPc] augmenté

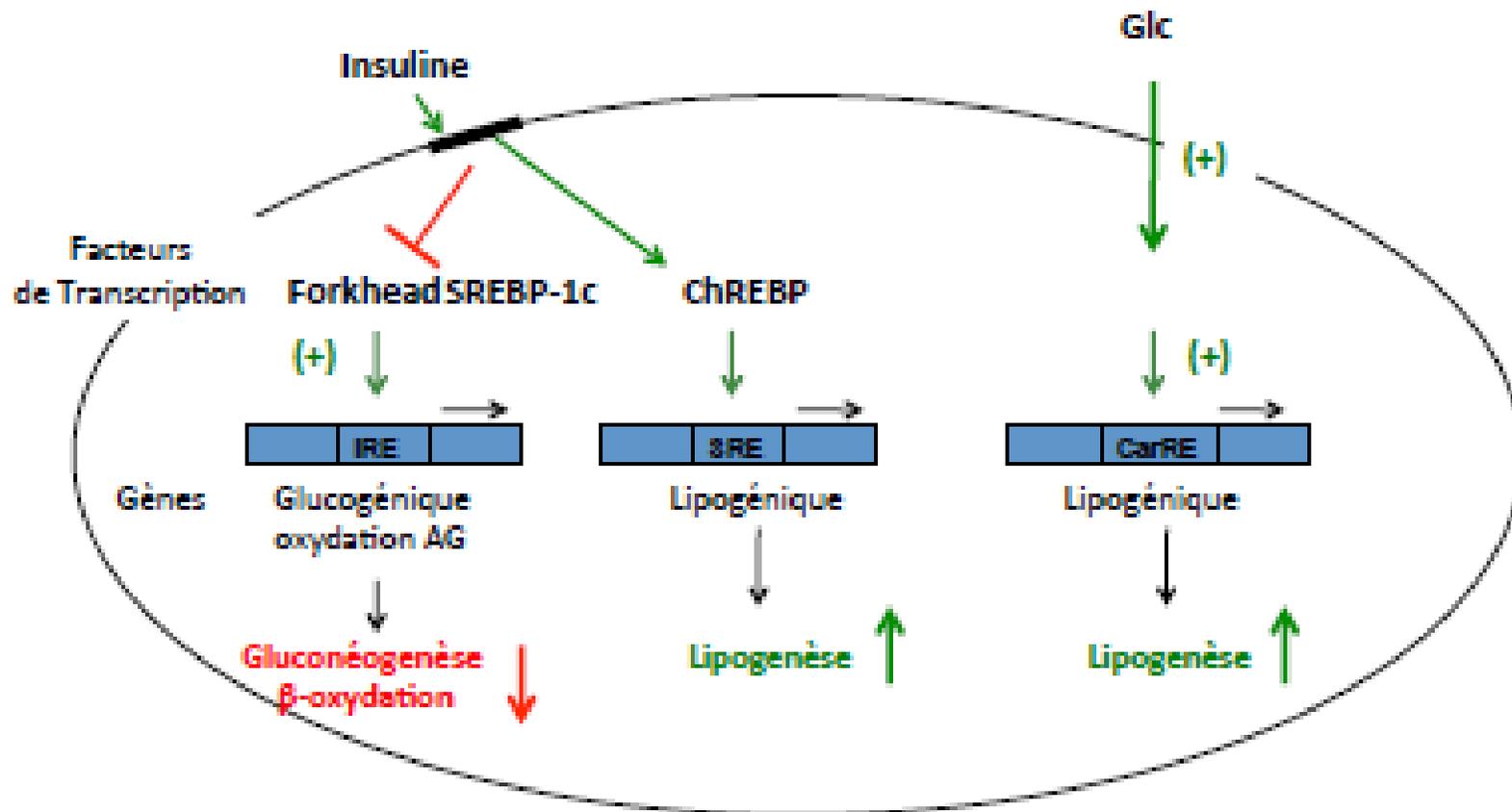
7- Etat énergétique pauvre, les enzymes métaboliques sont phosphorylées

Taux [AMP] augmenté Passe par l'action de l'AMP kinase

La régulation transcriptionnelle des gènes

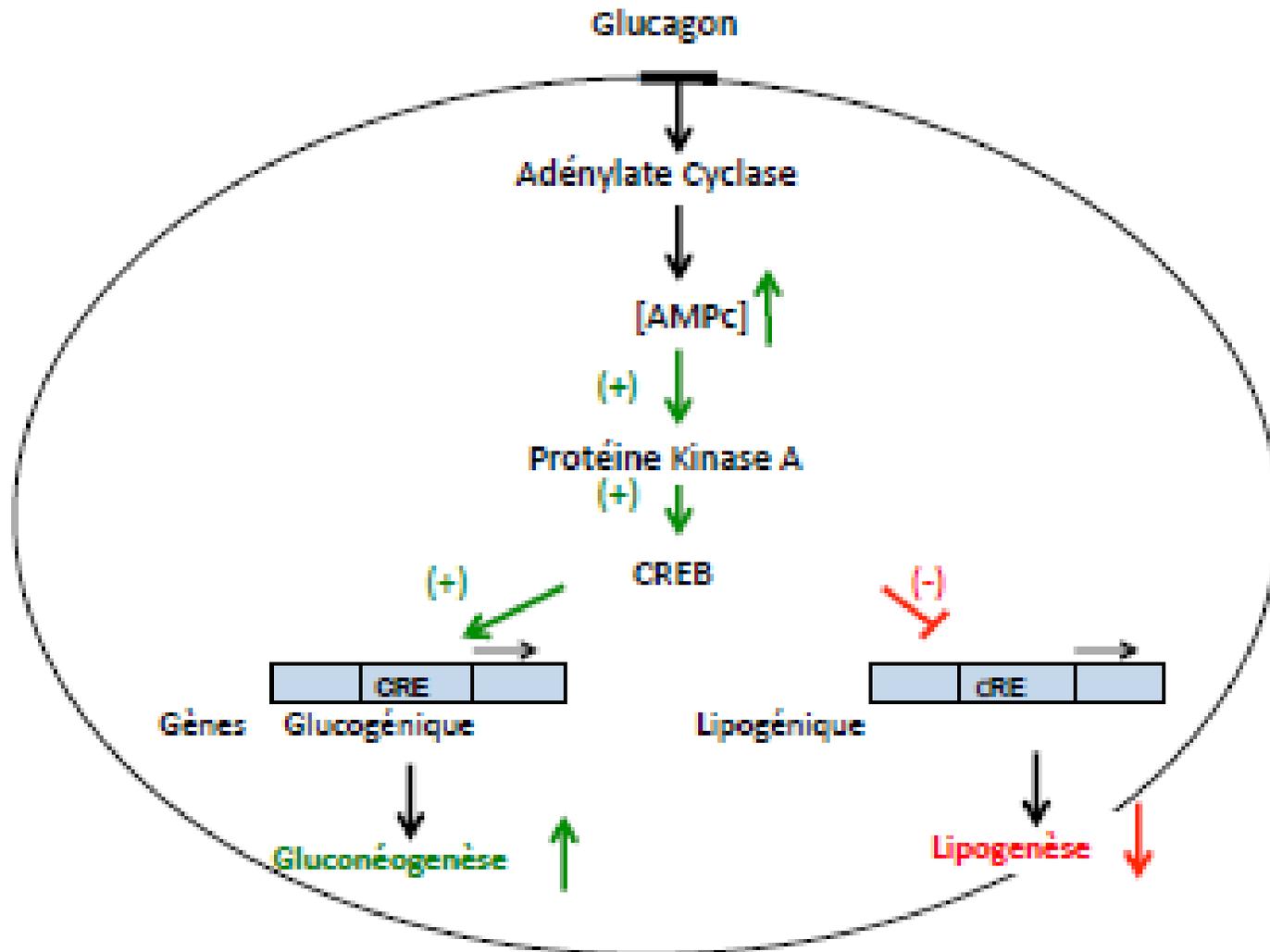
- Ici on agit sur la concentration d'enzyme.
- En quelques heures ou quelques jours

A- Insuline (Etat nourri)

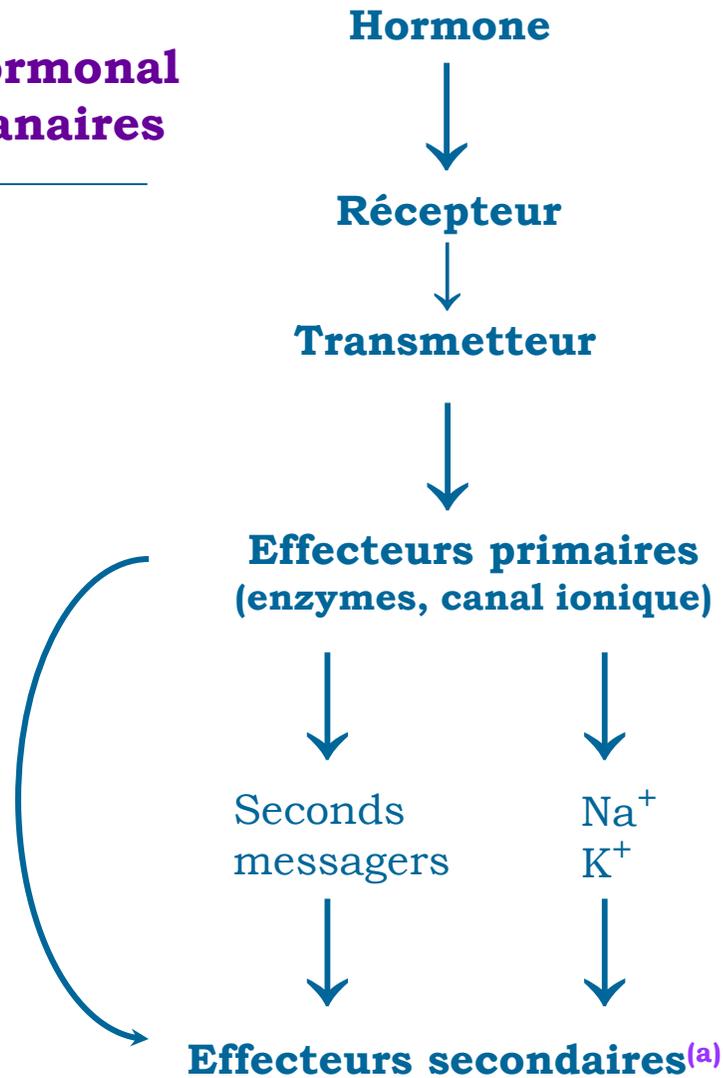


B- Glucagon

Action inverse de celle de l'Insuline via la voie de l'AMPc et Protéine kinase A (PKA)



Transmission du signal hormonal par les récepteurs membranaires

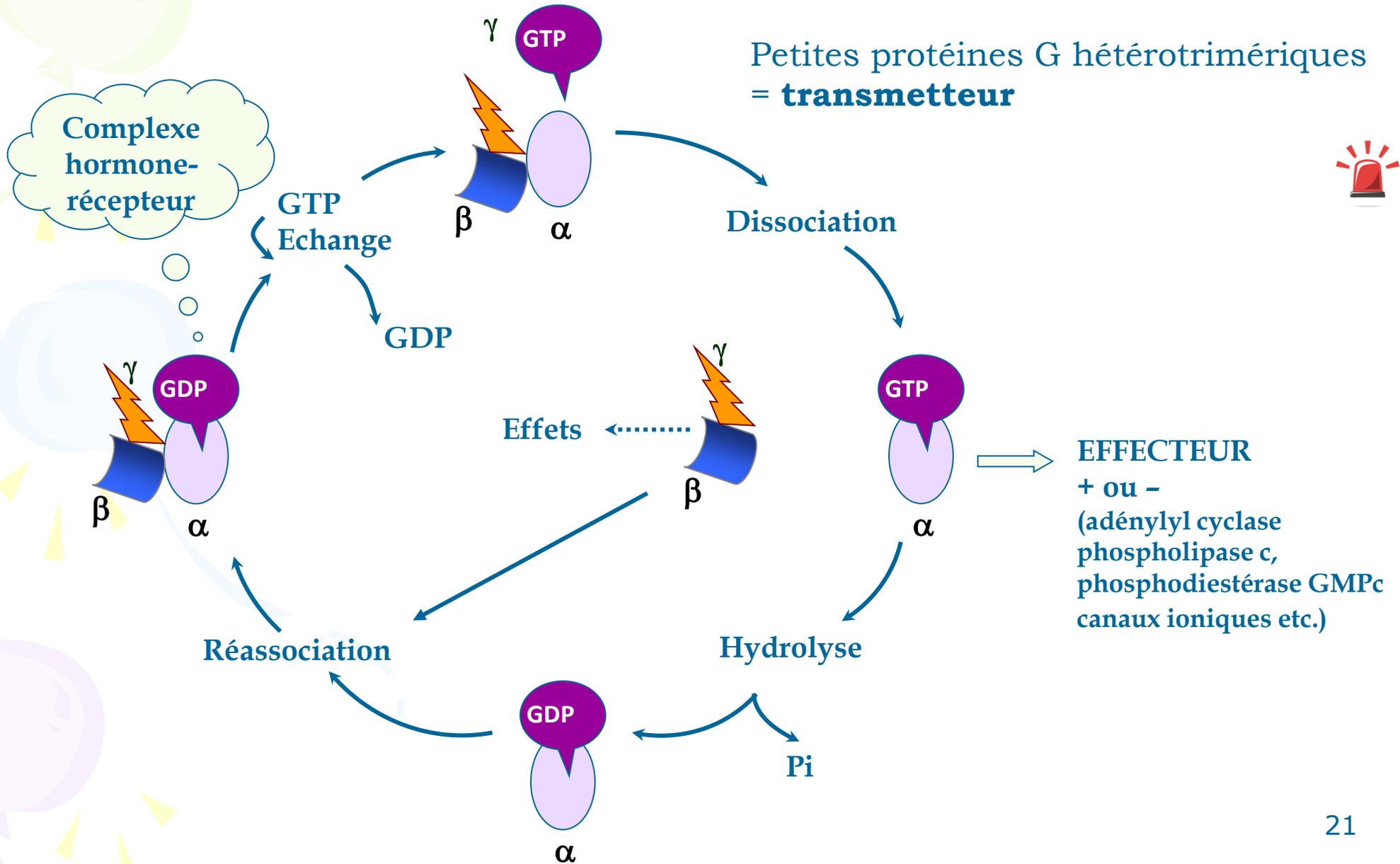


Protéines kinases cytoplasmiques ou membranaires, canaux ioniques, pompe Na⁺/H⁺, diverses enzymes membranaires, protéines cytoplasmiques, etc ...

(a) : certains effecteurs secondaires contrôlent en cascade l'activité d'autres protéines



Les Récepteurs couplés aux protéines G ex : glucagon ou adrénaline

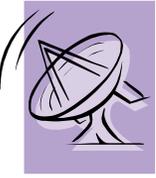
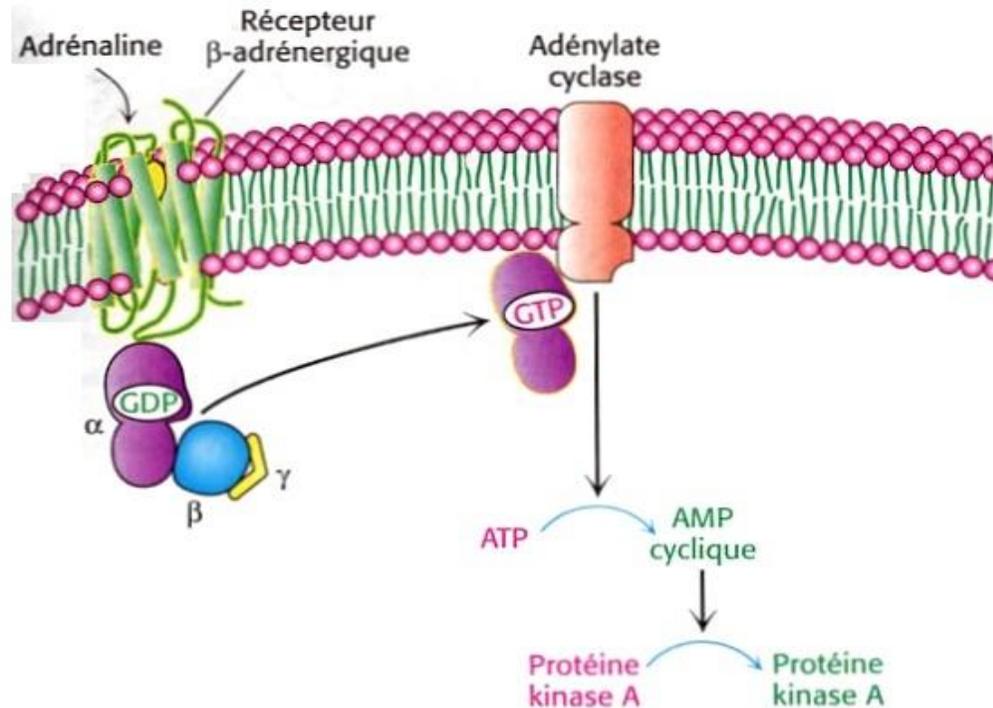


Les Récepteurs couplés aux protéines G

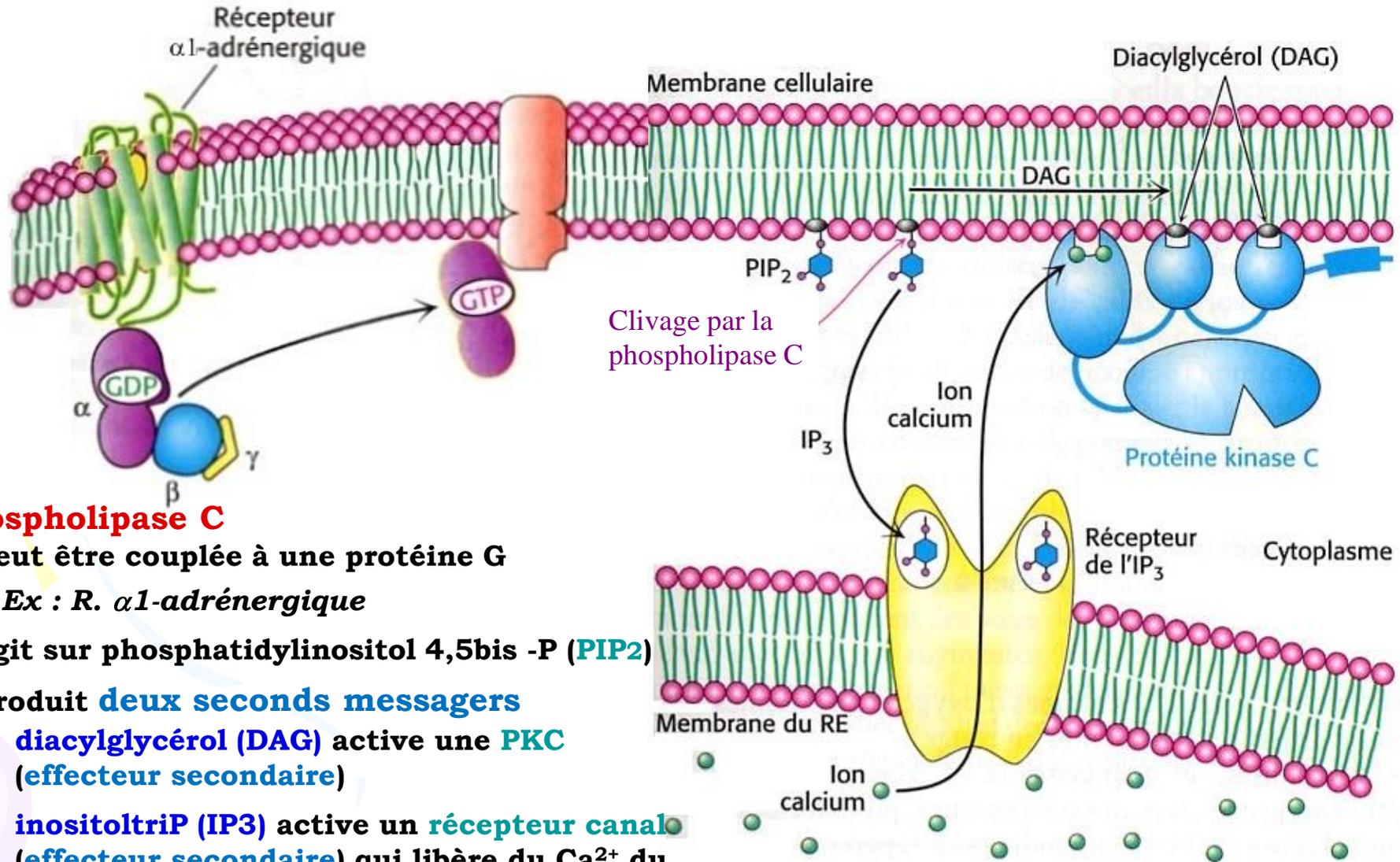
Deux grands types d'effecteurs "enzymes" :

* Adénylyl (adénylate) cyclase

- ▶ peut être couplée à une protéine G activatrice (Gs)
Ex : R. β -adrénergique et R. Glucagon
- ▶ peut être couplée à une protéine G Inhibitrice (Gi)
Ex: R. α 2-adrénergique
- ▶ produit de l'**AMPc** comme **second messenger**
- ▶ active une protéine kinase AMPc dépendante ou **PKA** (**effecteur secondaire**)



4.1 Les Récepteurs couplés aux protéines G



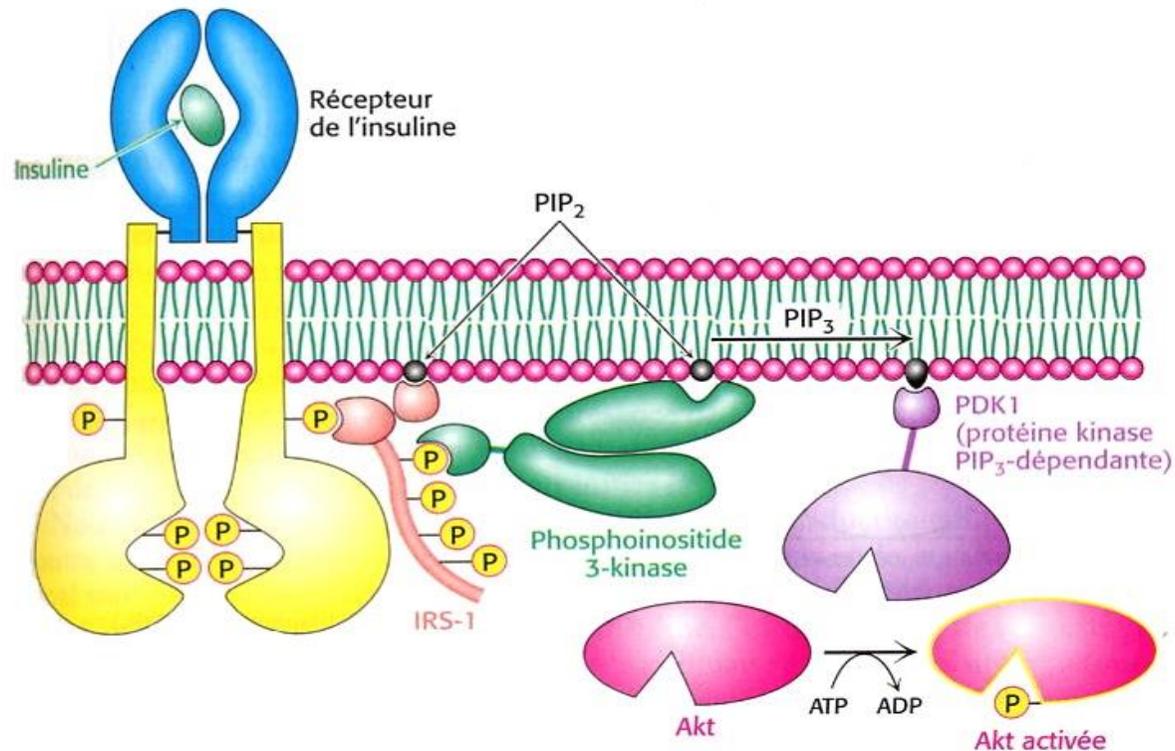
* Phospholipase C

- ▶ peut être couplée à une protéine G
 - Ex : R. $\alpha 1$ -adrénergique
- ▶ agit sur phosphatidylinositol 4,5bis -P (PIP₂)
- ▶ produit **deux seconds messagers**
 - **diacylgycérol (DAG)** active une **PKC** (effecteur secondaire)
 - **inositoltriP (IP₃)** active un **récepteur canal** (effecteur secondaire) qui libère du Ca^{2+} du réticulum (10^{-3} M) vers le cytosol (10^{-7} M). Ca^{2+} active des **protéines kinases Ca-dépendantes**.

Les récepteurs transmetteurs = activité tyrosine kinase ex Insuline

Récepteur à activité Tyrosine kinase

- Récepteurs transmembranaires (glycoprotéines)
- Domaine intracellulaire autophosphorylable sur **Tyr**
- Acquisition d'une activité type Tyrosine-kinase. Phosphorylation de diverses protéines kinases. Phosphorylation de diverses protéines (à domaine SH2) – **Phosphorylation en cascade**



Récepteur de l'insuline : plusieurs voies de transduction

Régulation transcriptionnelle des gènes impliqués dans le métabolisme intermédiaire : quelques exemples

Quelques exemples non exhaustifs

Insuline

- ↗ Expression de
 - GK
 - PFK-1
 - PK
- ↗ Expression de lipoprotéine lipase

Glucagon

- ↗ Expression de
 - PEPCK
 - FBPase-1 (foie)
- ↘ Expression de PK

Apport en AG dans l'alimentation

- ↘ Expression acétyl CoA carboxylase
- ↘ Acides gras synthase

Glucocorticoïdes

- ↗ Expression de PEPCK

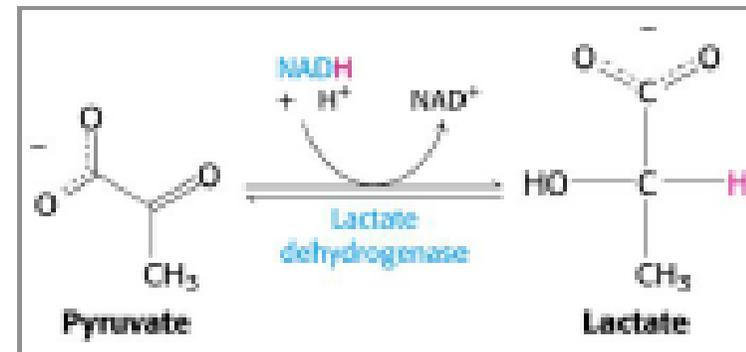
3-6 Autres éléments importants à considérer

3-6-1 Régulation par les formes isozymiques des enzymes

Isozymes: Formes d'une enzyme qui catalysent la même réaction mais qui diffèrent par leur séquence et qui ont donc des paramètres cinétiques (K_M) ou des propriétés régulatrices différents.

- Comportement métabolique particulier
Ex.: Lactate Déshydrogénase (LDH)

Muscle M4 réduction Pyruvate \rightarrow Lactate
Cœur H4 oxydation Lactate \rightarrow Pyruvate



- Régulation différenciée

Ex.: Glycogène phosphorylase

Muscle: AMP activateur allostérique

Foie: Glc inhibiteur allostérique

- Rôle métabolique spécifique
Ex.: Hexokinases

Tissus: HK (isotypes I à III)

K_M 0,1mM, toujours en V_M . Et inhibées par [G6P]

Foie: HK

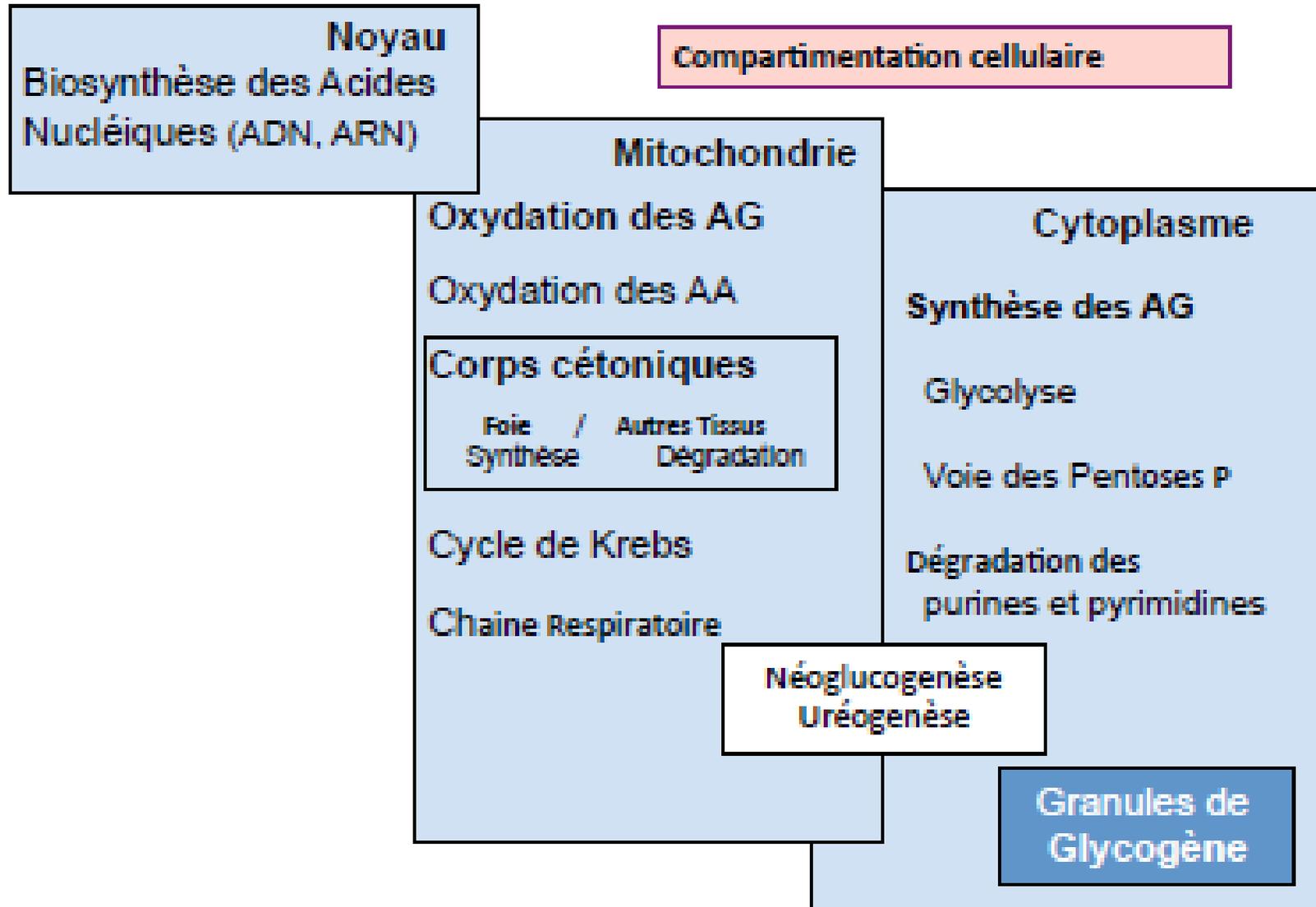
et surtout GK (isotype IV)

K_M de GK : 10 mM.

donc GK active uniquement quand [Glc] élevée
Par ailleurs GK est insensible à la [G6P]

3-6 Autres points importants

3-6-1 Compartimentation cellulaire / Spécialisation d'organes





LE METABOLISME DES SUCRES

Métabolisme des sucres



Le glucose

- concentration circulante : **glycémie 4,5 +/- 0,5 mM**
- **concentration très strictement régulée**. Insuline/Glucagon
- **peut être capté et utilisé par toutes les cellules**

Consommation du glucose

- **aliment énergétique** indispensable à certains tissus : **neurone, globule rouge, médullaire rénale ... tissus glucodépendants**
- certains tissus utilisent du **glucose** mais aussi des **acides gras** : **muscle squelettique et myocarde**
- certains tissus sont capables de
 - **stocker du glucose** sous forme de **glycogène** (**muscle, foie**)
 - **stocker le potentiel énergétique du glucose sous forme d'acides gras** (**tissu adipeux**)
- **le foie est au centre du métabolisme énergétique et assure l'homéostasie du glucose**

Digestion des sucres



RAPPEL

Alimentation apporte

- sucres complexes (**amidon végétal, glycogène animal**)
- un peu de disaccharides (**saccharose**)
- très peu de **monosaccharides** qui seuls sont absorbables
- **nécessité absolue** d'une digestion enzymatique pour les sucres complexes et les disaccharides

Enzymes digestives

- **amylase salivaire** (liaison $\alpha 1,4$ et $\alpha 1,6$), amidon, glycogène \rightarrow maltose, isomaltose, dextrans
Action limitée car inactivée pour $\text{pH} < 4$
- **amylase pancréatique dans l'intestin** (même activité que amylase salivaire)
- **disaccharidases et oligosaccharidases intestinales**
(enzymes attachées à la bordure en brosse des entérocytes)
 - \rightarrow **α -glucosidase** (maltase) : liaison $\alpha 1,4$
 - \rightarrow **saccharase-isomaltase** : saccharose et liaison $\alpha 1,6$
 - \rightarrow **β -glycosidase** (lactase) : galactose, cellobiose, gentiobiose
 - \rightarrow **thréalase** : thréalose
 - \rightarrow **phosphatase** : clive les hexoses phosphates

Absorption du glucose



RAPPEL

Au cours de la digestion

- absorption au pôle apical de l'entérocyte (jéjunum +++) par transport actif : transporteur spécifique SGLT1 (énergie + contre-transport)
- passe dans circulation lymphatique et la circulation sanguine
- arrivée massive au foie (veine porte) : 15 à 20 mM
- arrivée plus modérée aux autres organes (5 à 7 mM en postprandial)



Les transporteurs de glucose

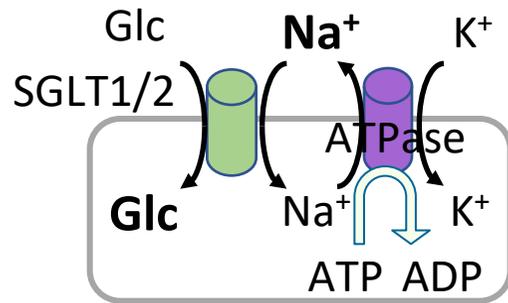
1° Actifs : SGLT1 et SGLT2

- protéines transmembranaires : 11 segments
- pôle apicale des cellules épithéliales (cellules polarisées)
- **SGLT1** assure l'absorption digestive du glucose, à partir de la lumière du tube digestif, dans *l'entérocyte*
 - . Symport glucose/Na⁺
 - . Couplée à une pompe Na/K pour rétablir le gradient de Na⁺
- **SGLT2** assure la réabsorption tubulaire du glucose dans le *néphron*
- **GLUT2** au pôle basolatéral

2° Passifs : diffusion facilitée – les GLUT

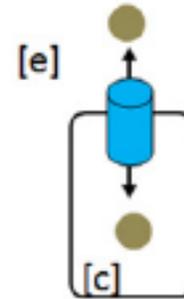
- protéines de 500 aa
- 12 passages transmembranaires
- structure bilobulaire – 5 des 6 passages transmembranaires forment un canal

Transport actif secondaire



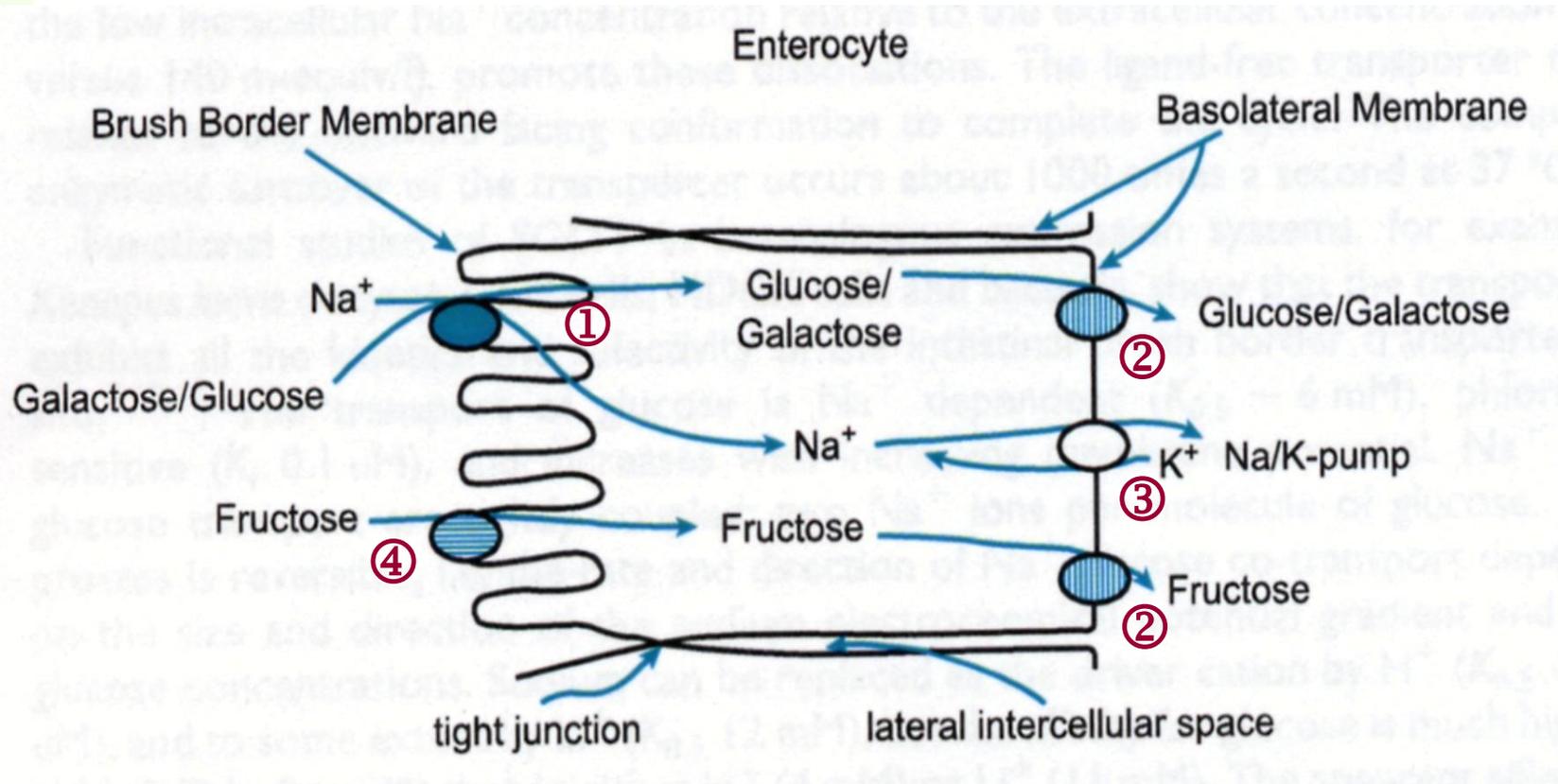
Sodium-dependent glucose transporter-1/2

Diffusion facilitée



GLUT 1/2/3/4/5

Transport des glucides dans l'entérocyte : SGLT1/GLUT5



① **SGLT1 Symport glucose/galactose sodium**

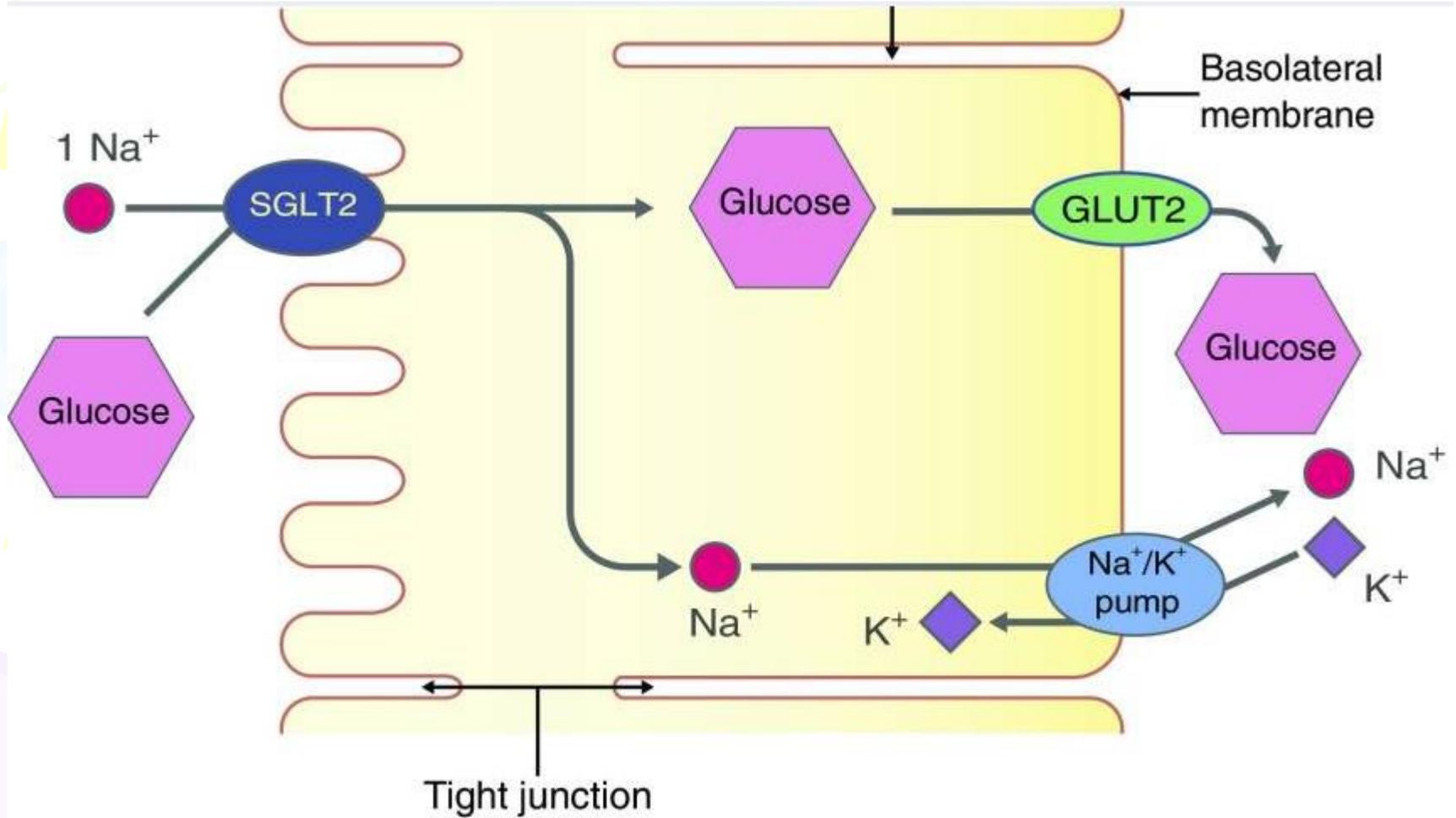
② **GLUT2**

③ **Pompe sodium/potassium**

④ **GLUT5**

SGLT2 et réabsorption tubulaire du glucose

Tubule proximal rénale



Les Principaux Transporteurs du glucose



| | <u>Localisation</u> | <u>Kt pour le glucose</u> | <u>Particularités</u> |
|--------|--|--|--|
| GLUT 1 | Ubiquitaire : Cerveau, rein, colon, placenta, érythrocytes | ~ 1 mM | Transport constant ~ Vmax |
| GLUT 2 | Foie, cellules β pancréatiques | 15 - 20 mM (entrée) 60 mM (sortie) | Transport adapté à la concentration |
| GLUT 3 | Ubiquitaire : Cerveau, rein, placenta | ~ 1 mM | Transport constant ~ Vmax |
| GLUT 4 | Muscles squelettiques, tissu adipeux | 5 mM | Présence à la membrane dépend de l'insuline |
| GLUT 5 | Intestin grêle | | Couplé au transporteur SGLT1 |

glycémie 4,5 +/- 0,5 mM

 Tissus glucodépendants

 Tissus contrôlant la glycémie

 Tissus insulino dépendants

The left side of the slide features three stylized balloons in green, light blue, and purple, each with yellow triangular rays emanating from it, suggesting a festive or celebratory theme.

LA GLYCOLYSE

Glycolyse



➤ **catabolisme oxydative du glucose** avec formation de **pyruvate**, production d'**ATP** et de **NADH**

➤ Dans les **organismes anaérobies stricts** : le pyruvate produit est métabolisé en **lactate** (fermentation lactique chez certains microorganismes) ou en **éthanol** (fermentation alcoolique chez les levures et chez certains microorganismes)

➤ Dans certaines cellules en **situations physiologiques ou pathologiques d'anaérobie** = glycolyse anaérobie avec hyperproduction de **lactate** et **emballement de la glycolyse** = **effet Pasteur**

➤ Dans les cellules **aérobies** : **oxydation mitochondriale du pyruvate** (\neq glycolyse)

Pyruvate \rightarrow Mitochondrie \rightarrow Acétyl-CoA \rightarrow CO₂ + H₂O

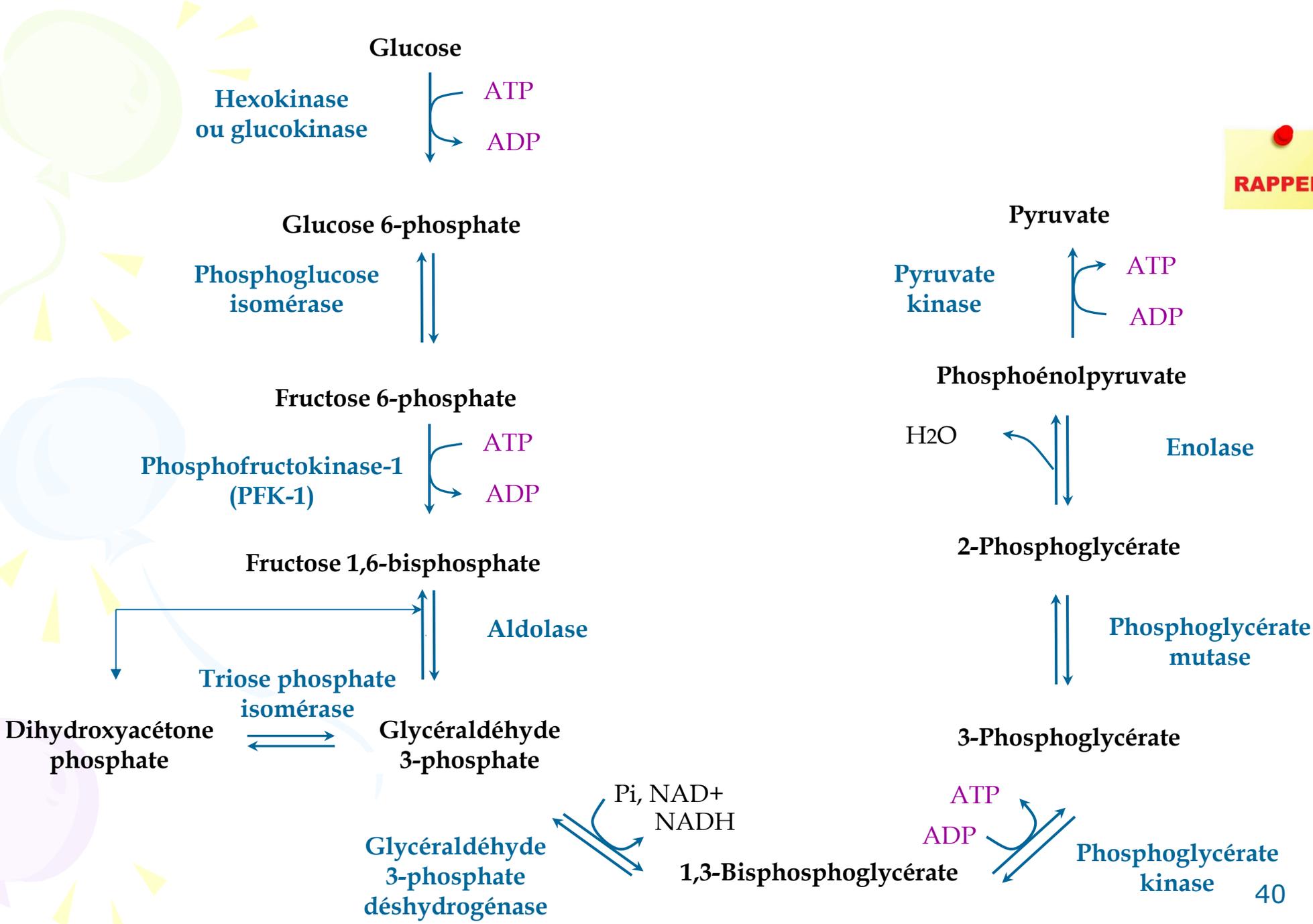
NADH transféré dans la mitochondrie : ATP

➤ La glycolyse a un **double rôle**

énergétique production d'ATP

fournisseur de **précurseurs de synthèse**

RAPPEL



Différentes phases de la GLYCOLYSE



RAPPEL

- 1° Phase de préparation et d'investissement en énergie : cinq étapes
glucose → **glycéraldéhyde 3-P** (2 ATP consommés)
- 2° Phase de récupération de l'énergie : 4 ATP et 2 NADH
→ **pyruvate**

Remarques

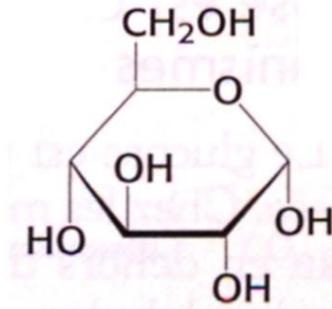
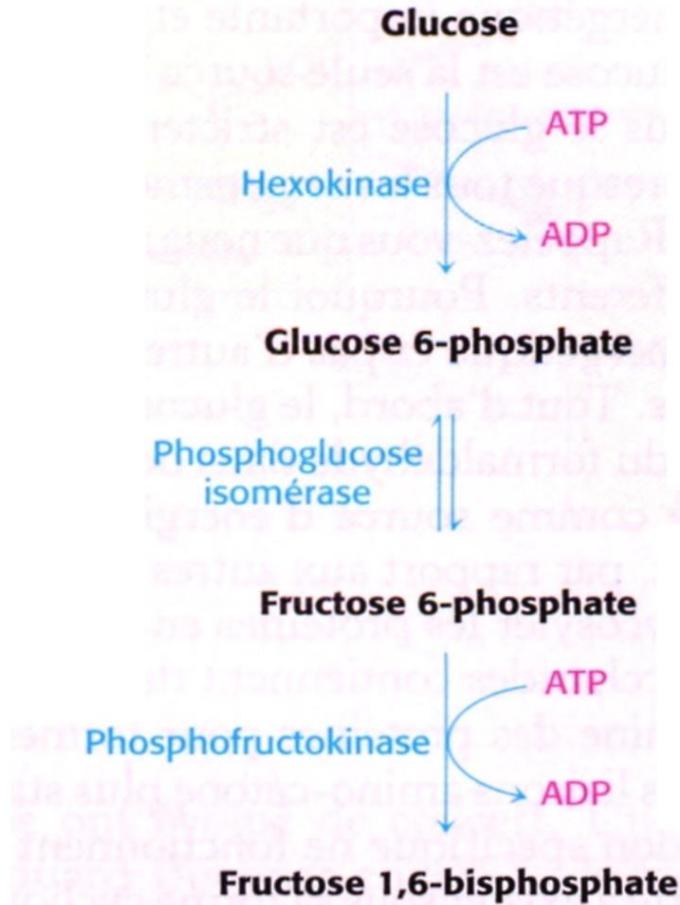
Tous les composés intermédiaires sont des **ester-P** ou des **anhydride-P**

⇒ **ionisés à pH 7** (chargés -). Ils ne peuvent donc quitter ni la cellule ni le compartiment intracellulaire. Seuls les produits finaux (pyruvate ou lactate) le peuvent.

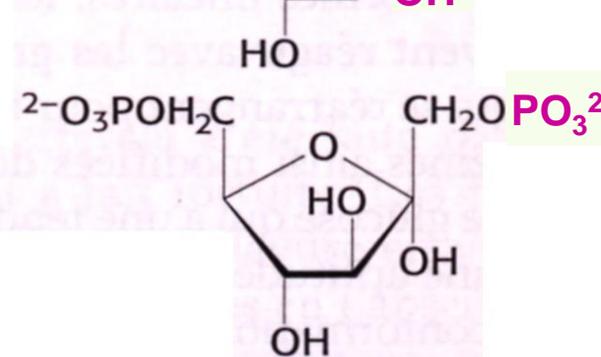
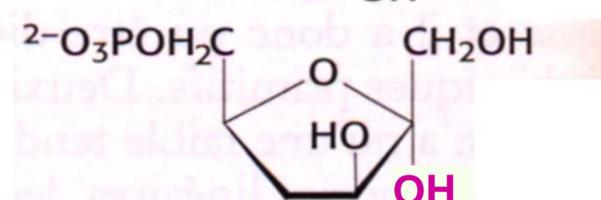
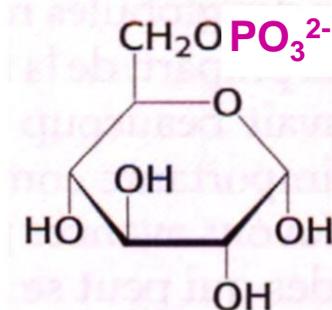
⇒ permettent de **conserver l'énergie** qui en final est transférée sur ADP → **ATP**

⇒ sont des **molécules de reconnaissance** et de **signalisation** pour les enzymes (régulation allostérique)

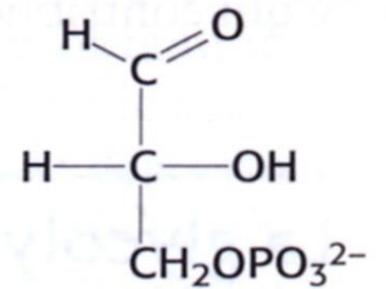
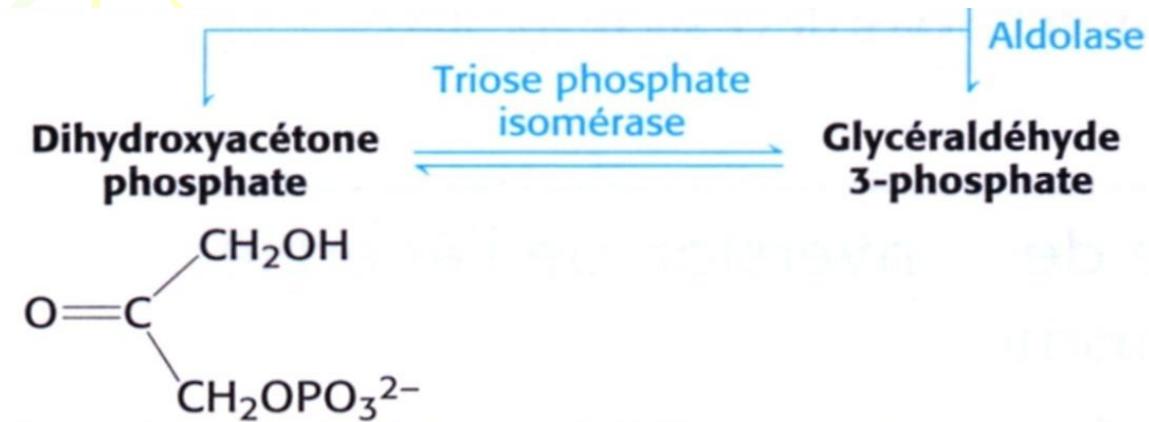
Phase 1



RAPPEL



Fructose 1,6-bisphosphate





RAPPEL

BILAN DES CINQ PREMIERES ETAPES

1 Glc \rightarrow 2 Trioses-P

Energie investie : 2 ATP

Glycéraldéhyde 3-phosphate

Phase 2



1,3-Bisphosphoglycérate



3-Phosphoglycérate



2-Phosphoglycérate

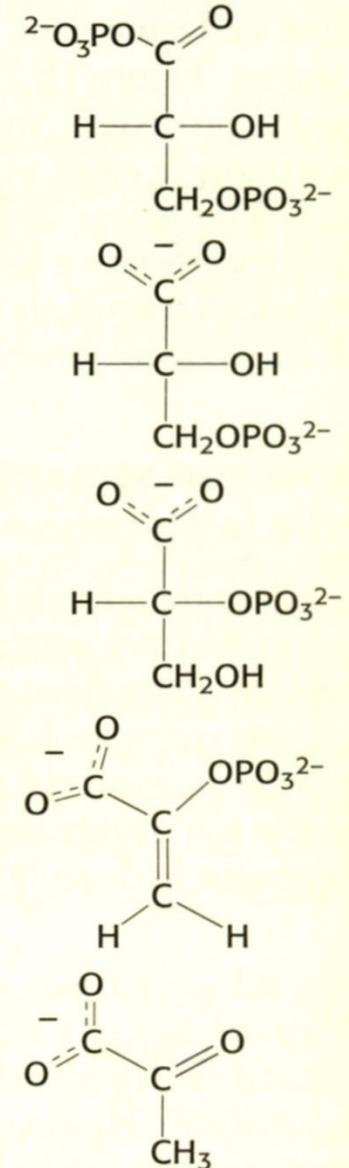


Phosphoénolpyruvate



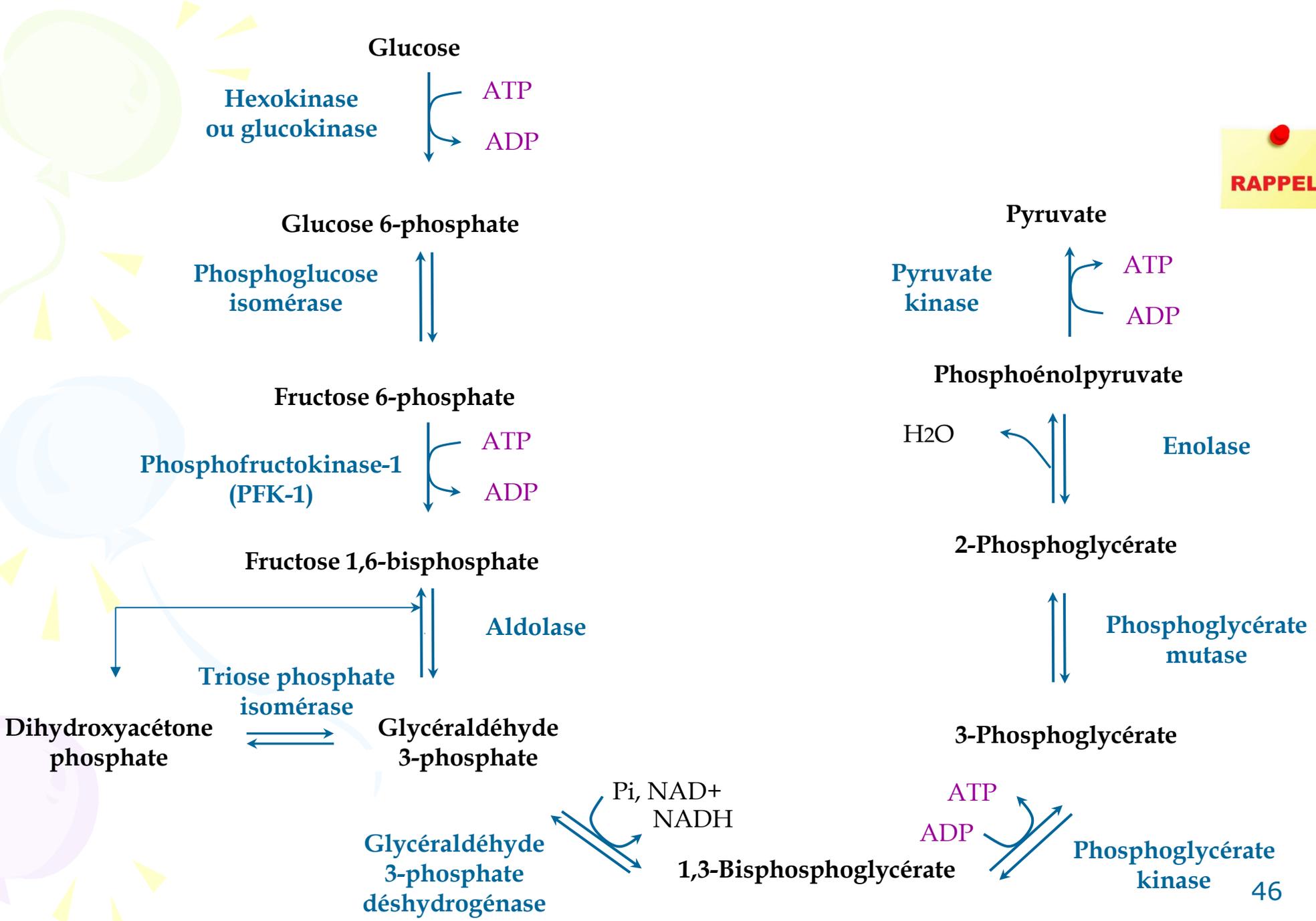
Pyruvate

2 X



RAPPEL

RAPPEL



Devenir des produits formés

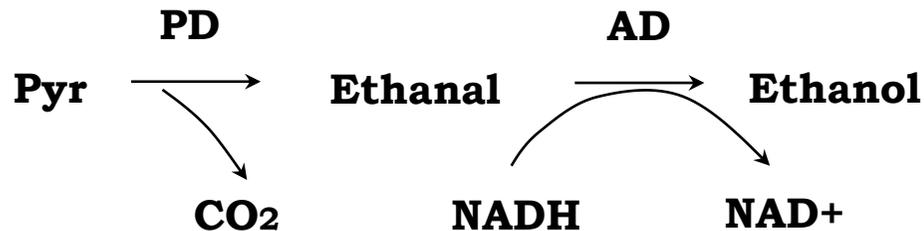


Rq : Dans tous les cas, ne pas oublier : obligation de régénérer le NAD^+

1. Pyruvate

1.1 devenir du pyruvate en Anaérobie

**** Fermentation alcoolique : levures et divers microorganismes**



PD : pyruvate décarboxylase

AD : alcool déshydrogénase

Devenir des produits formés

1. Pyruvate

1.1 devenir du pyruvate en Anaérobie

RAPPEL

Formation de lactate en hypoxie (*microorganismes = fermentation lactique*)



$$\Delta G^{\circ} = - 26 \text{ kJ/mole}$$

- en cas d'hypoxie ou d'anoxie (asphyxie) dans le muscle
- globule rouge (pas de mitochondrie)
- bactéries lactiques

Régénère le NAD+ !!!

Lactate déshydrogénase : LDH

Plusieurs formes tétramériques isozymiques (K_m , V_{max} , régulation) provenant des combinaisons des monomères M et H : M4, M3H1, M2H2, M1H3, H4

muscle : $\text{Pyr} \rightarrow \text{Lac}$

M4 active en présence de lactate

Lactate peut s'accumuler

coeur : $\text{Lac} \rightarrow \text{Pyr}$

H4 inhibé par le pyruvate

foie : réaction réversible : H2M2

$\text{Pyr} \rightarrow$ gluconéogenèse (foie)

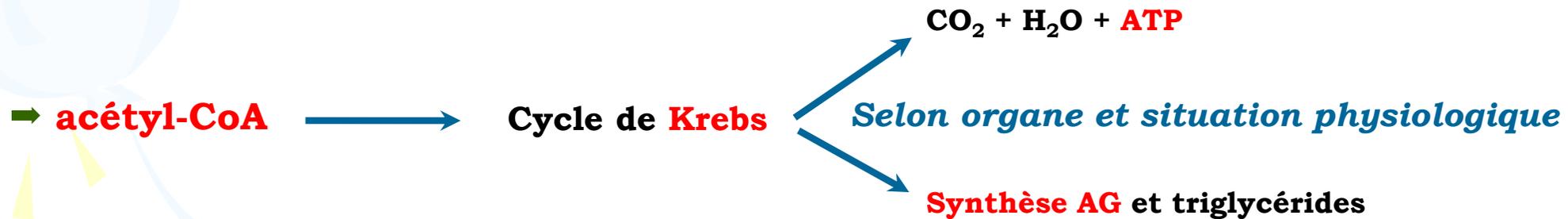
Devenir des produits formés chez les mammifères



1.2 devenir du pyruvate en Aérobie

1° transporté dans la mitochondrie pour y être oxydé

2° décarboxylation oxydative par **pyruvate déshydrogénase**



2. Coenzymes réduits (NADH, H⁺)

2.1 en anaérobie : (cf diapo 47) LDH formation lactate

2.2 en aérobie : Transfert dans la mitochondrie

Obligation de régénérer les coenzymes réduits :

- ☛ pour oxyder de nouveaux substrats
- ☛ pour permettre une récupération d'énergie dans la chaîne respiratoire

Problème

Le NADH est produit dans le **cytosol**

Le NADH est majoritairement retransformé en NAD⁺ dans la **mitochondrie** (sauf LDH)

Le NADH ne franchit pas la **membrane mitochondriale pas de transporteur**

➔ Nécessité de **navettes** pour assurer le transfert cytoplasme ► mitochondrie du NADH

1. Navette α glycérophosphate monodirectionnelle
(**muscle, cerveau**)

2. Navette malate-aspartate bidirectionnelle
(**foie, rein, cœur**)

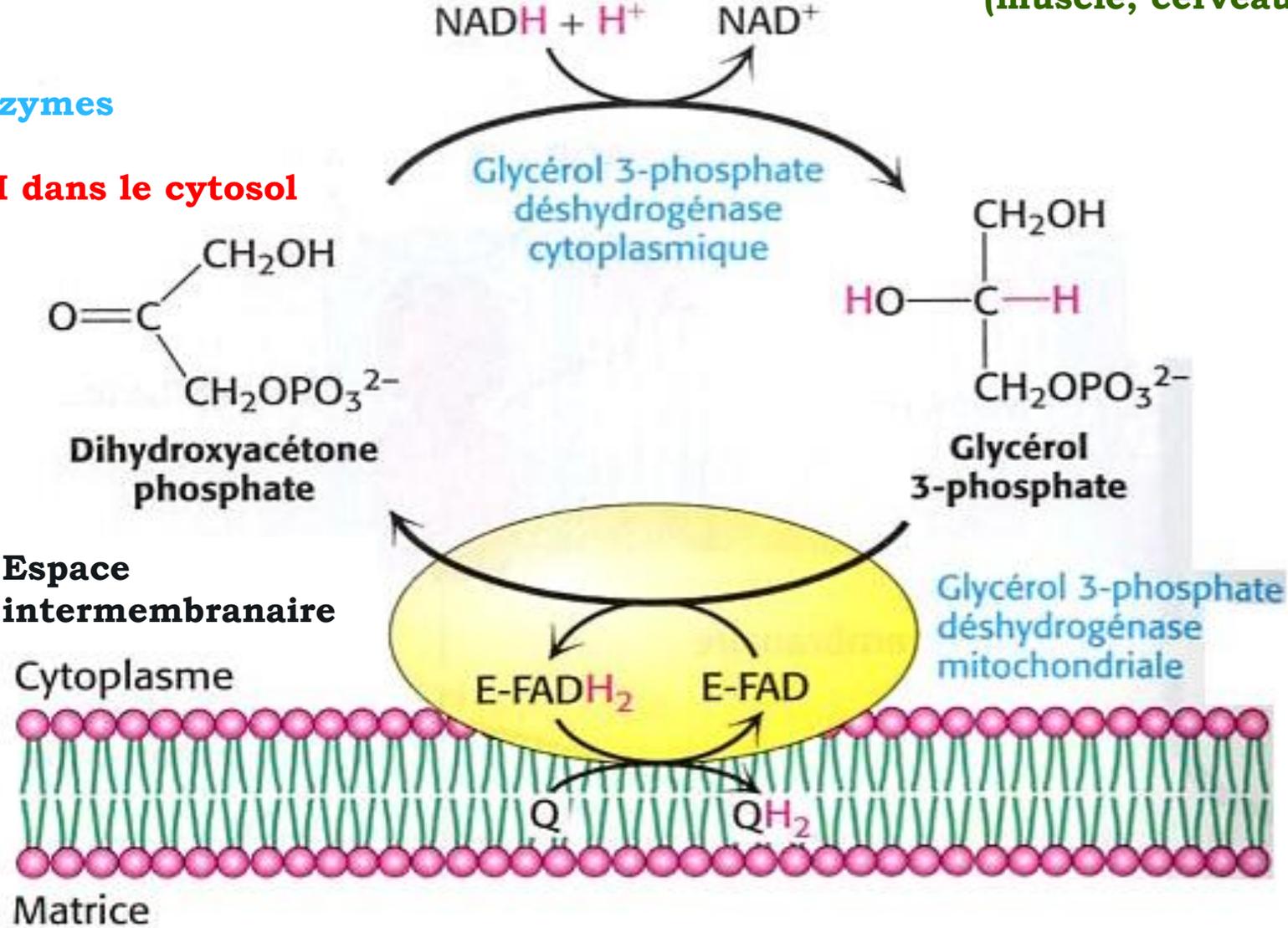
1. Navette α glycérophosphate monodirectionnelle

(muscle, cerveau)



1 isoenzymes

1 NADH dans le cytosol



1 FADH₂ dans la mitochondrie

2. Navette malate-aspartate bidirectionnelle

(foie, rein, cœur)



RAPPEL

Navette malate aspartate : 2 transporteurs antiports (malate et aspartate) & Réactions de transamination

La réaction catalysée par une aminotransférase permet de faire passer un groupement aminé d'un acide aminé « donneur » sur un acide alpha-cétonique « accepteur ». L'acide aminé se transforme en acide alpha-cétonique et l'acide alpha-cétonique en acide aminé.

ALAT (néoglucogénèse)



ASAT(navette malate aspartate)



ALAT : alanine aminotransférase

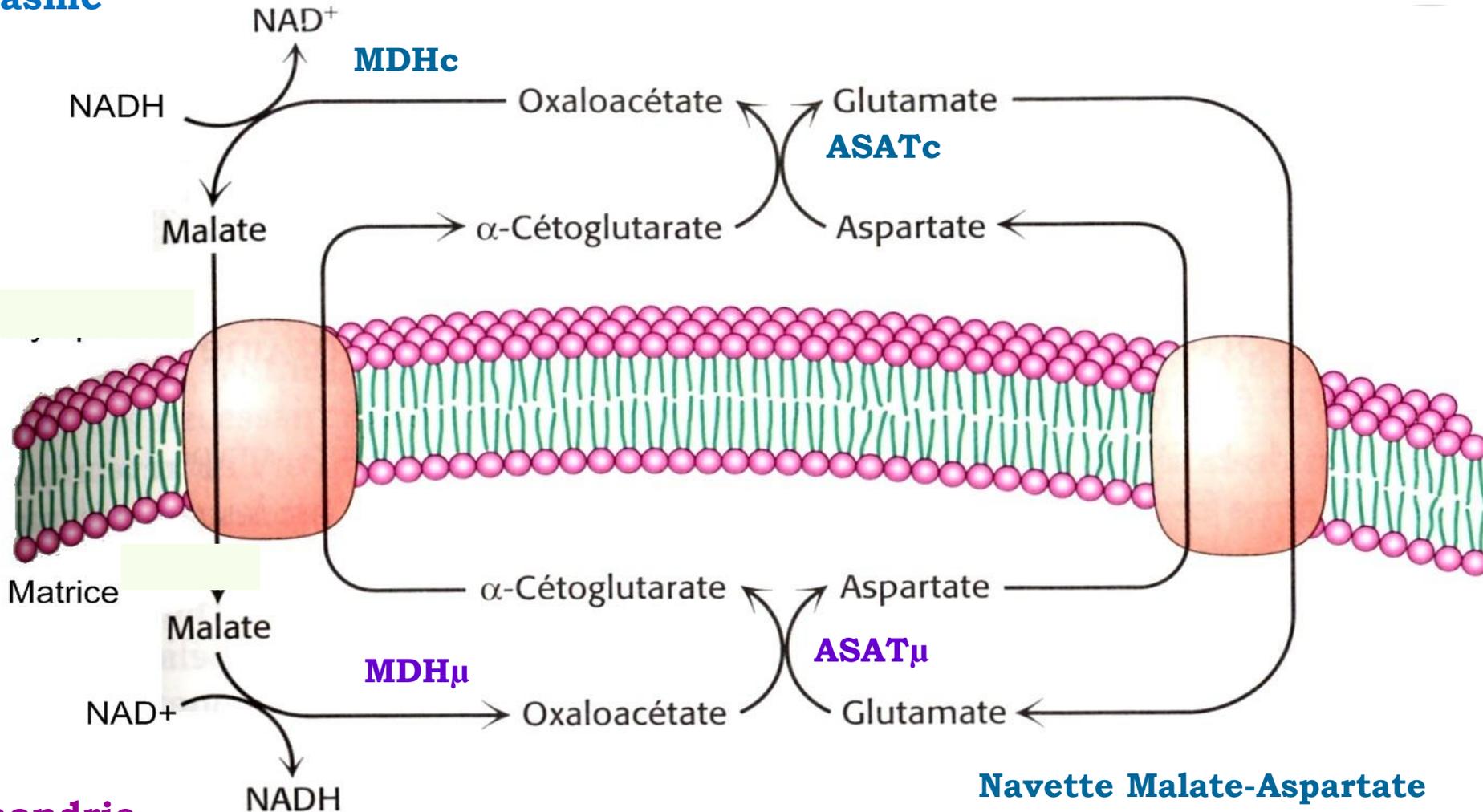
ASAT : aspartate aminotransférase

2. Navette malate-aspartate bidirectionnelle

(foie, rein, cœur)



Cytoplasme



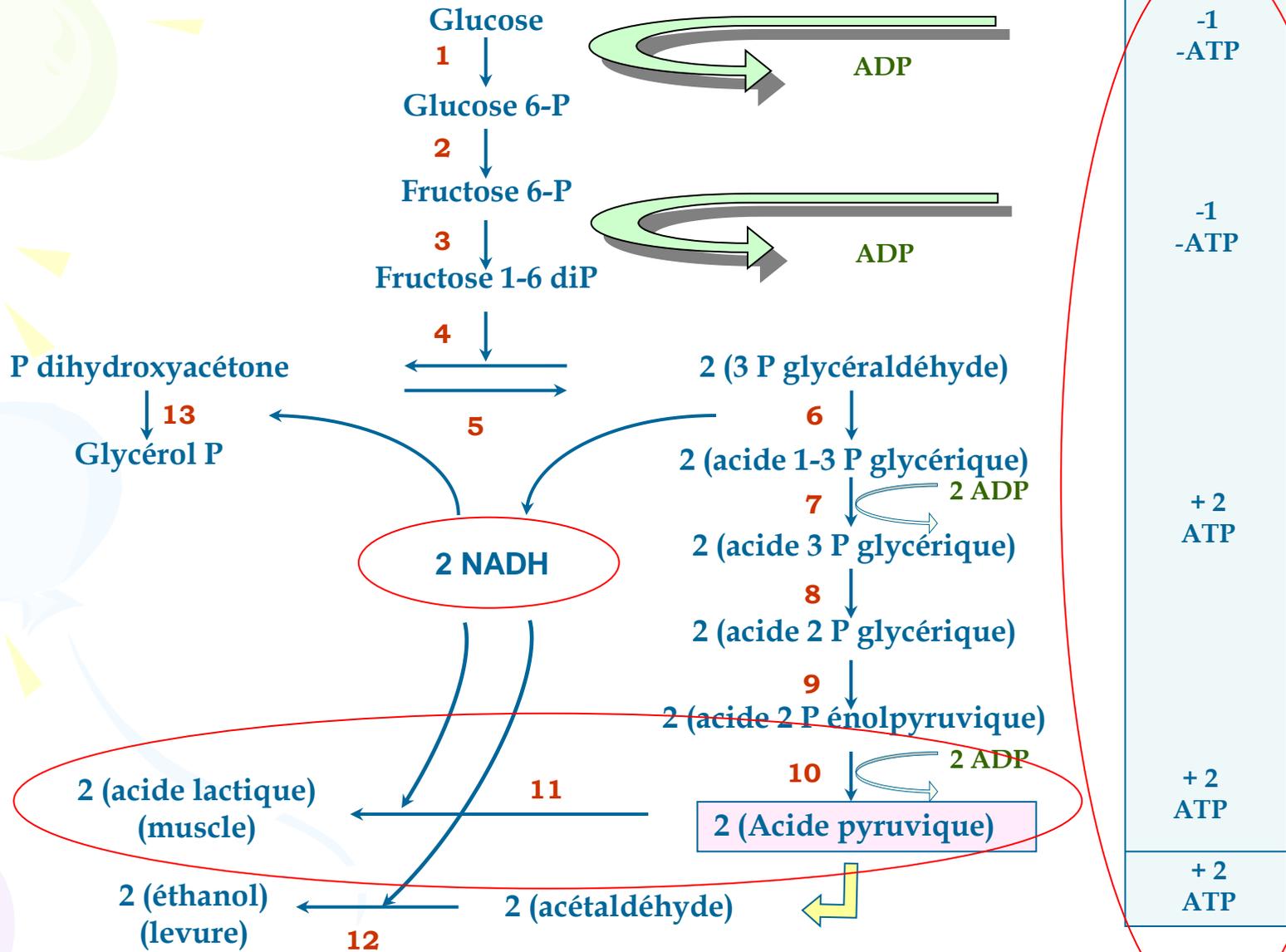
Mitochondrie

2 isoenzymes

MDH : malate déshydrogénase
ASAT : aspartate aminotransférase

Navette Malate-Aspartate

1 NADH dans le cytosol → 1 NADH dans la mitochondrie



Bilan de la glycolyse en anaérobie oxydation partielle

1 Glc → 2 lactate + 2 ATP

1 Glc → 2 pyruvate : **2 ATP (cytosol)**
+ 2 NADH : **6 ATP (mito)**

(pyruvate → acétyl CoA)2 : **6 ATP (mito)**
+ 2 NADH

(acétyl CoA → Krebs)2 : **24 ATP (mito)**

Au total : ***38 ATP max***

Bilan de la glycolyse en aérobie (oxydation totale)

1 Glc → 36/38 ATP + CO₂ + H₂O

Régulation de la Glycolyse

Les étapes de régulation théoriques correspondent aux étapes essentiellement irréversibles.

Dans tous les tissus, l'étape essentielle de régulation est celle catalysée par la PFK-1

(la première étape est commune à plusieurs voies métaboliques).

Les autres étapes jouent un rôle variable selon les tissus.

| Etape | Réaction | Enzyme | Type de réaction | ΔG° en kJ mol ⁻¹ | $\Delta G'$ en kJ mol ⁻¹ |
|-----------|--|-----------------------------------|---------------------------------------|--|-------------------------------------|
| 1 | Glucose + ATP \rightleftharpoons glucose 6-P + ADP + H ⁺ | Hexokinase | Transfert de phosphoryle | -16,7 | -33,5 |
| 2 | Glucose 6-P \rightleftharpoons fructose 6-P | Phosphoglucose isomérase | Isomérisation | 1,7 | -2,5 |
| 3 | Fructose 6-P + ATP \rightleftharpoons fructose 1,6-bisP + ADP + H ⁺ | Phosphofruktokinase | Transfert de phosphoryle | -14,2 | -22,2 |
| 4 | Fructose 1,6-bisP \rightleftharpoons dihydroxyacétone P + glycéraldéhyde 3-P | Aldolase | Clivage aldolique | 23,8 | -1,3 |
| 5 | Dihydroxyacétone phosphate \rightleftharpoons glycéraldéhyde 3-P | Triose phosphate isomérase | Isomérisation | 7,5 | 2,5 |
| 6 | Glycéraldéhyde 3-P + Pi + NAD ⁺ \rightleftharpoons 1,3-biphosphoglycérate + NADH ⁺ | Glycéraldéhyde 3-P déshydrogénase | Phosphorylation couplée à l'oxydation | 6,3 | -1,7 |
| 7 | 1,3-bisphosphoglycérate + ADP \rightleftharpoons 3-phosphoglycérate + ATP | Phosphoglycérate kinase | Transfert de phosphoryle | -18,8 | 1,3 |
| 8 | 3-phosphoglycérate \rightleftharpoons 2-phosphoglycérate | Phosphoglycérate mutase | Déplacement de phosphoryle | 4,6 | 0,8 |
| 9 | 2-phosphoglycérate \rightleftharpoons phosphénolpyruvate + H ₂ O | Enolase | Déshydratation | 1,7 | -3,3 |
| 10 | Phosphénolpyruvate + ADP + H ⁺ \rightleftharpoons pyruvate + ATP | Pyruvate kinase | Transfert de phosphoryle | -31,4 | -16,7 |

Importance de la variation d'énergie libre pour l'équilibre des réactions enzymatiques

RAPPEL

La variation de l'énergie libre d'une réaction (ΔG) détermine si une réaction peut se produire spontanément

Le ΔG est la différence entre le niveau d'énergie libre du ou des composés de départ (substrats) et ceux du ou des composés d'arrivée (produits)

ΔG° correspond à la variation d'énergie libre standard quand les composés de départ et d'arrivée sont à une concentration fixe de 1 M

Le « prime » utilisé pour les expressions de $\Delta G'$ ou $\Delta G^{\circ'}$ exprime le fait que le pH des réactions est standardisé à 7

Dans une réaction de type :

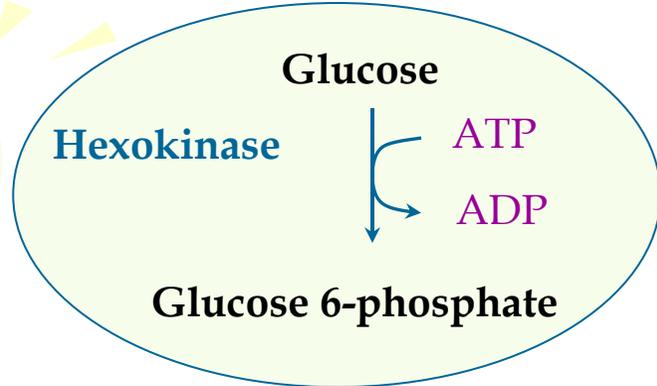


le ΔG est donné par
$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{|C| |D|}{|A| |B|}$$

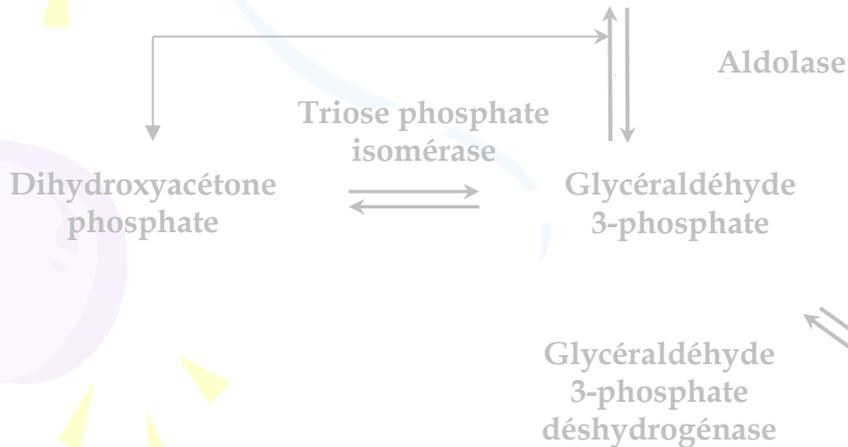
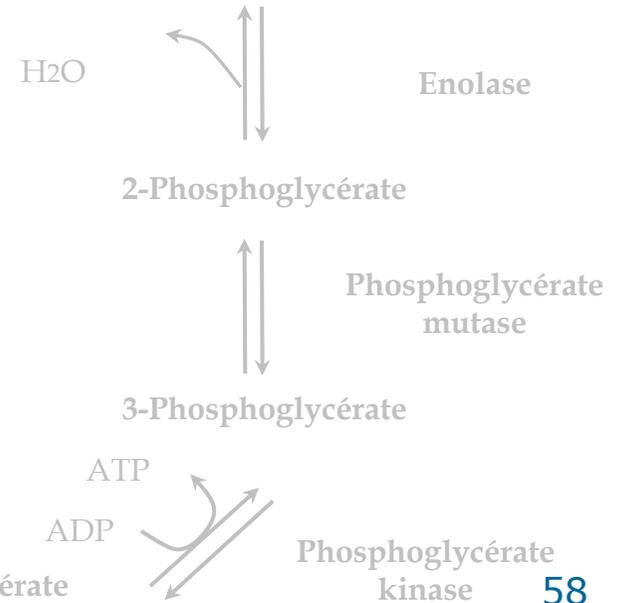
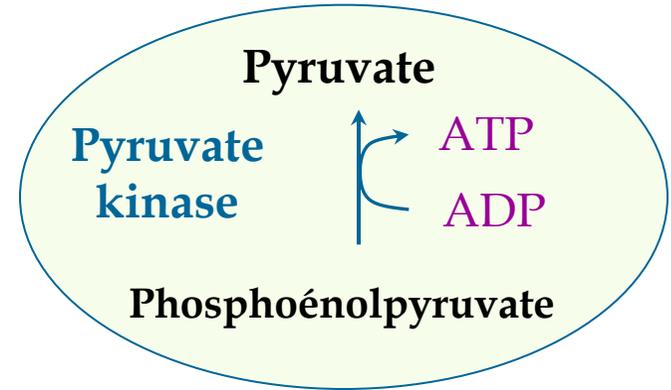
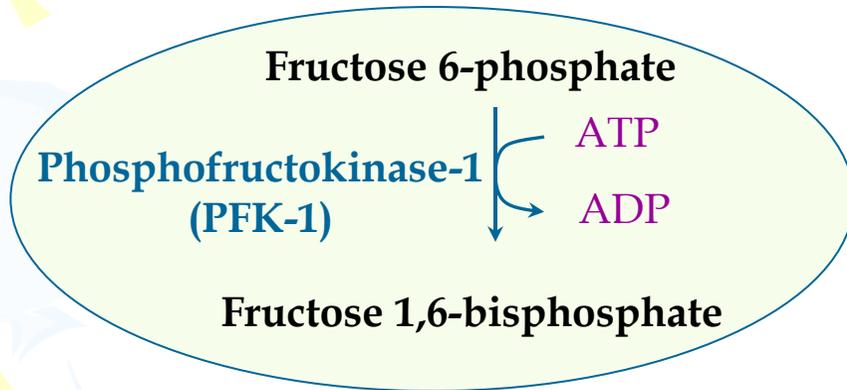
- quand le ΔG est négatif, la réaction se déroule spontanément et est irréversible
- quand le ΔG est proche de 0, la réaction est réversible
- quand le ΔG est positif, la réaction ne peut se dérouler sauf si elle est couplée avec une autre réaction de ΔG négatif



3 étapes irréversibles cf notion de cycle futile



Phosphoglucose isomérase



1^{ère} étape régulée : Glc → Glc 6-P



2 types d'isoenzymes → régulation tissu spécifique

Hexokinase

Ubiquitaire, Mg²⁺

Peu spécifique (Glc, Fru, Man)

Forte affinité Km 0,01 à 0,5 mM (Km moyen = 0,1 mM) à la |glu| cellulaire

→ travaille en V_{max}

Forte capacité

- Inhibée dans le muscle par Glc 6-P quand glycogène reconstitué
- Non inhibée dans le TA car réserves en triglycérides non limitées !!!

Glucokinase

Foie et cellules β du pancréas

Spécifique du Glc

Faible affinité Km très élevé = 10 mM = activité augmente avec l'augmentation de la glycémie (15 à 20 mM dans la veine porte en post-prandial)

- Non inhibée dans le foie par Glc 6-P car glycogénogenèse et néosynthèse d'acides gras

-- Inhibée par Fru 6-P par le biais d'une protéine régulatrice de la GK.

- Le Fru 1-P (métabolite du Fru) qui entre en compétition avec le Fru 6-P, lève cette inhibition

2^{ème} étape régulée : Fru-6-P → Fru-1,6-bisP

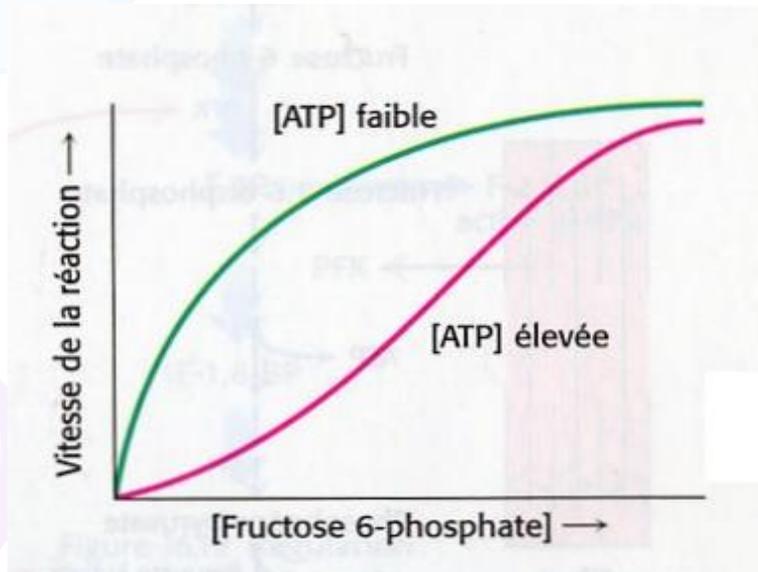


PFK-1 : enzyme clé de régulation dans tous les tissus

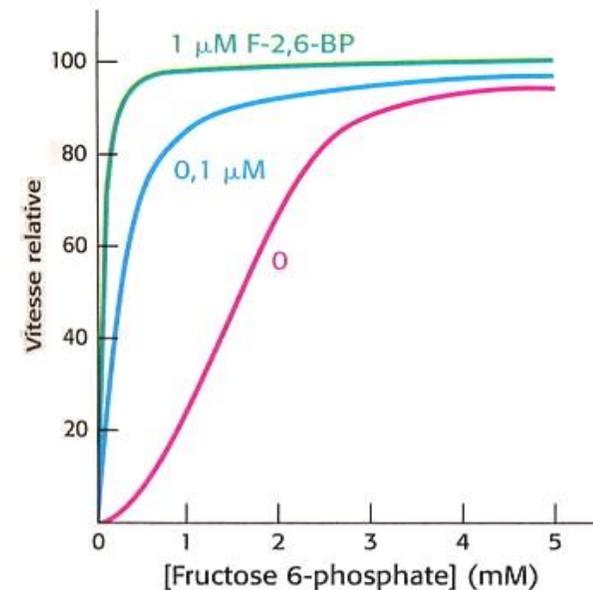
Modulation **uniquement allostérique** (partiellement tissus spécifique)

Modulateurs **négatifs** : ATP, créatine-P (**muscle**), citrate (**foie**), H⁺ (**muscle**)

Modulateurs **positifs** : AMP (**muscle**), Fru-2,6-bisP (**foie, adipocytes**)



Effet de la charge énergétique



Effet du Fru-2,6-bisP

Régulation allostérique par la charge énergétique



représente le pool d'adénylate capable de **transférer un -P et de l'énergie**

$$\text{Charge} = \frac{|\text{ATP}| + \frac{1}{2} |\text{ADP}|}{|\text{AMP}| + |\text{ADP}| + |\text{ATP}|}$$

| ATP | # 2 à 5 mM
| ADP | # 1 mM
| AMP | # 0,3 mM

$\frac{1}{2}$ ADP car $2 \text{ ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$
**adénylate
kinase**

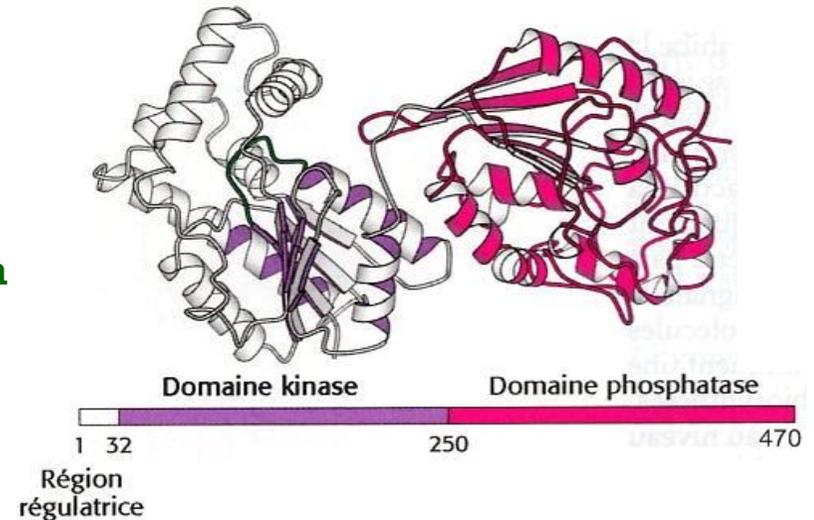
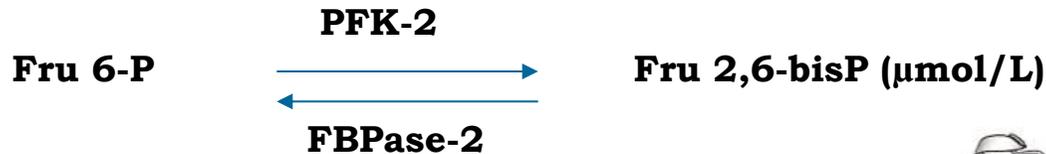
Dans les cellules vivantes : charge # 0,93

La charge énergétique, à travers les | conc | des différents nucléotides -P, est un **régulateur allostérique important** dans de nombreuses voies métaboliques

Il existe d'autres nucléotides -P que l'ATP, permettant les transferts d'énergie

Ce type de régulation est **surtout présente au niveau du muscle**

2° Régulation allostérique par le fructose 2,6-bisphosphate



Enzyme bifonctionnelle
Plusieurs isoformes
Régulation par phosphorylation/déphosphorylation

- Dans foie et TA : forme phosphorylée (Ser) (à jeun)
FBPase-2 active, PFK-2 inactive :
Fru 2,6 bisP \searrow
- Dans muscle, régulation inverse
Si phosphorylée, PFK-2 active, FBPase-2 inactive
Fru 2,6 bisP \nearrow

L'état de phosphorylation est essentiellement sous la dépendance du rapport insuline/glucagon et le cas échéant des catécholamines.

Ce type de régulation est essentiel au niveau du foie et du tissu adipeux où l'excès de glucose est dirigé vers la synthèse d'acide gras (activation de la PFK1 par formation du Fru-2,6-BisP et complémentaire au niveau musculaire.

3^{ème} étape : PEP → Pyruvate



Pyruvate kinase

La régulation est uniquement allostérique sauf dans le foie.

Différentes isoenzymes

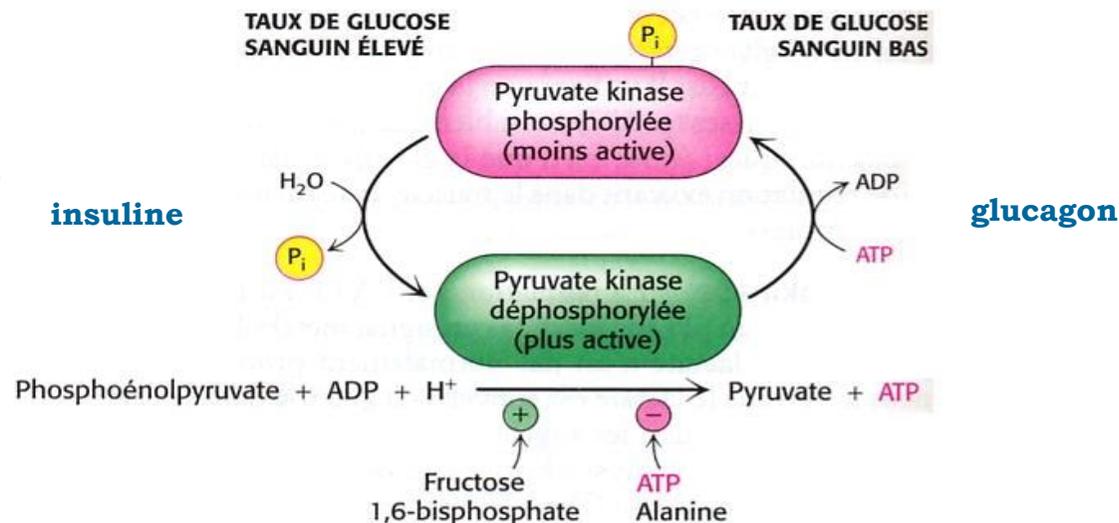
- hépatique PK_L
- muscle, cerveau : PK_M

Allostérie

Régulateur **positif** : Fru 1,6-BisP

Régulateurs **négatifs** : témoins de pléthore énergétique ATP, citrate, acétyl-CoA, AG et l'alanine.

Uniquement dans le foie, l'isoenzyme présente, la PK_L, est également régulée par covalence, essentiellement en fonction du rapport insuline/glucagon



Régulation transcriptionnelle de la glycolyse

Insuline active la transcription de :

PFK-1

pyruvate kinase

PFK-2/FBPase-2

Glucagon active la transcription de :

PEPCK (PhosphoEnolPyruvate CarboxyKinase)

FBPase-1

Glucagon inhibe la transcription de :

hexokinase

PFK-1

pyruvate kinase

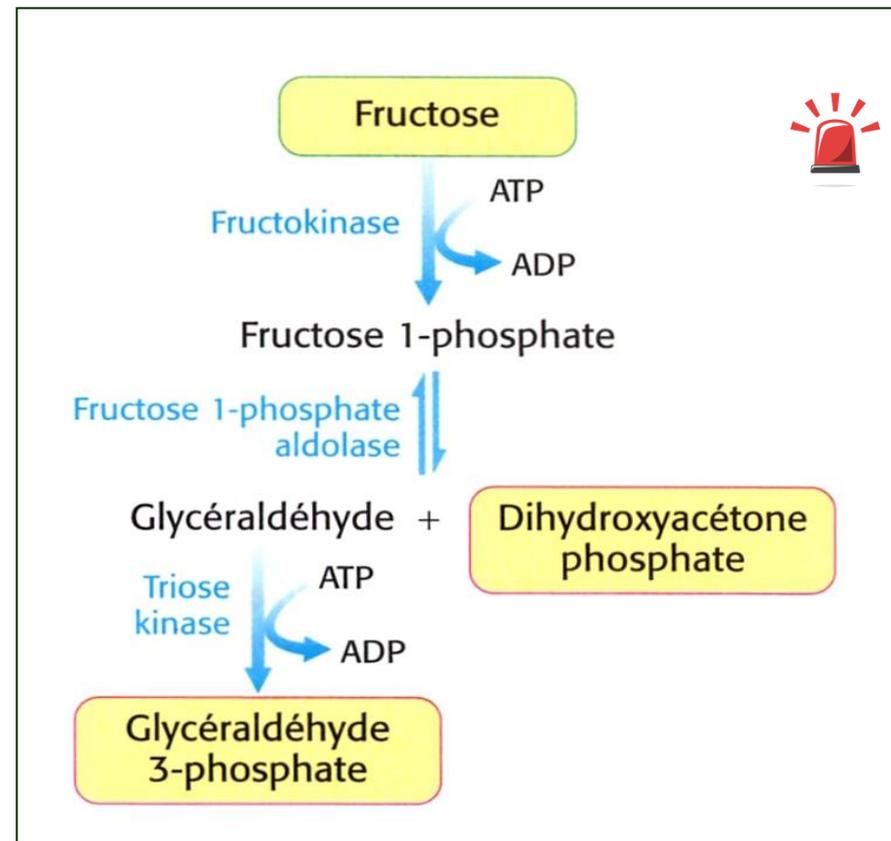
Utilisation du fructose

- ▶ Provient de l'alimentation (nombreux fruits)
- ▶ Provient de l'hydrolyse du **saccharose**
- ▶ Dans l'**entérocyte**, le **muscle**, le **rein**
hexokinase : Fru → Fru 6-P
- ▶ Dans l'**hépatocyte** →
fructokinase : Fru → Fru 1-P
fructose 1-P aldolase
triose phosphate isomérase
triose kinase
Shunt l'étape limitante de la PFK1 → oriente préférentiellement vers la lipogénèse

Rappel Fru 1-P lève l'inhibiton du Fru 6-P sur GK

Utilisation du mannose

- ▶ Provient de l'alimentation
hexokinase : Mannose → Mannose 6-P
Phosphomannoisomérases → Fru 6-P → glycolyse
UDP-Man → glycoconjugués



Utilisation du galactose

▶ Provient de l'alimentation – le **lactose** hydrolysé dans l'intestin en glucose et galactose

Dans l'hépatocyte

galactokinase : Gal → Gal 1-P

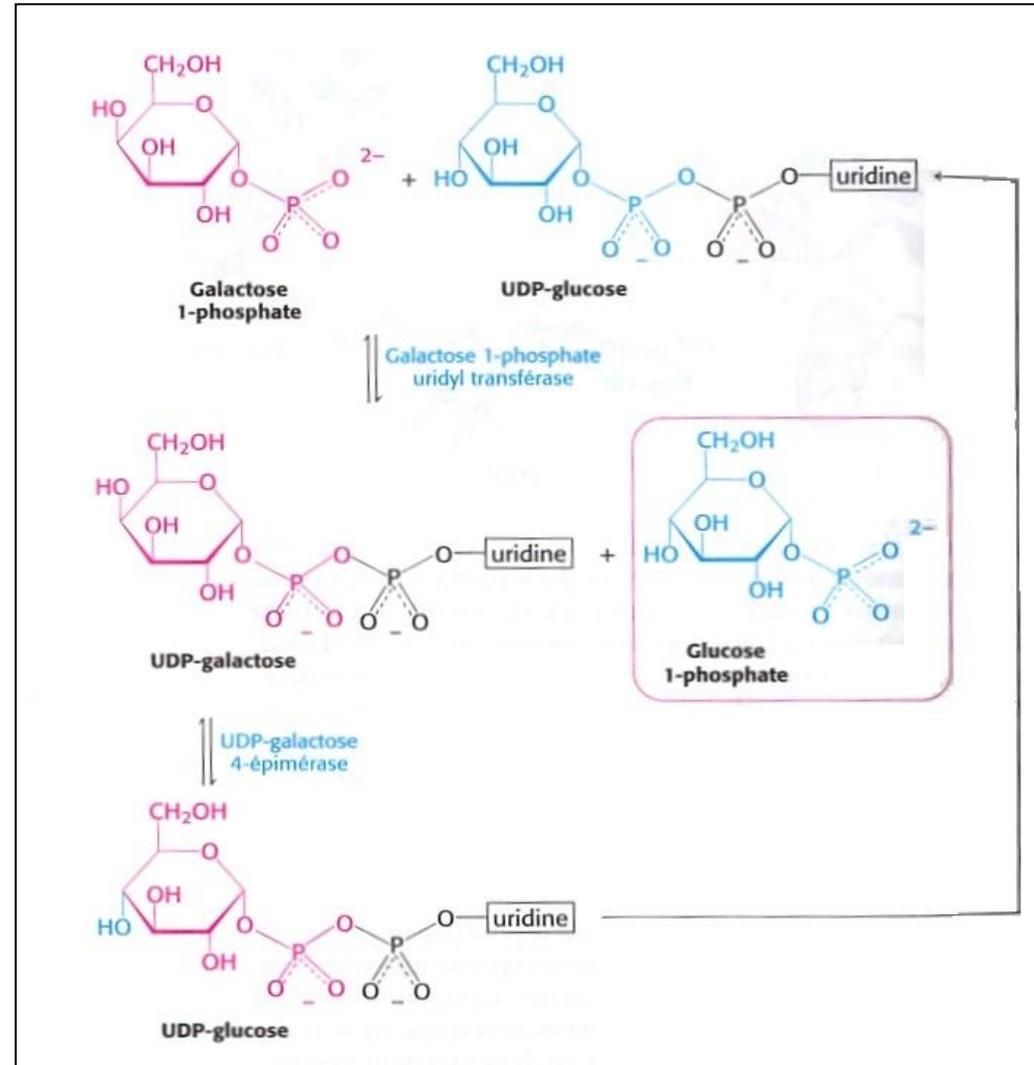
UDP-Glc-galactosyl 1-Puridyl transférase
qui conduit à la synthèse de UDP-Gal

Devenir de l'UDP-Gal

- synthèse de lactose
- synthèse de glycoconjugués
- synthèse de glycogène

Synthèse de glycogène

UDP glucose 4 épimérase → UDP-Glc





Un peu de pathologie

Déficit en lactase : au cours de la vie apparaît progressivement une perte de l'activité de la lactase, enzyme qui dégrade normalement le lactose en glucose et galactose.

Conséquences :

- dégradation par les micro-organismes \Rightarrow ballonnements
- lactose osmotiquement actif \Rightarrow diarrhée

Fructosurie essentielle : déficit en fructokinase, pathologie bénigne caractérisée par la présence de fructose dans les urines

Intolérance au fructose : déficit en fructose 1-P aldolase, pathologie grave avec hypoglycémie sévère (fructose 1-P toxique), tubulopathie, hyperlactacidémie, hypophosphatasie

Signes cliniques : vomissements, hépatosplénomégalie, retard staturo-pondéral

Galactosémie : déficit en galactose 1-P uridyl transférase

Signes cliniques : insuffisance hépato-cellulaire, insuffisance rénale, sensibilité aux infections à gram \ominus . Moins fréquemment : diarrhée, vomissements, ictère, cataracte

The left side of the slide features three stylized balloons in light green, light blue, and light purple. Each balloon has a white highlight and is surrounded by several small yellow triangles, giving the impression of light or motion. The balloons are arranged vertically, with the green one at the top, the blue one in the middle, and the purple one at the bottom.

LA GLUCONEOGENESE

Gluconéogenèse : synthèse de glucose de novo à partir du pyruvate ou du glycérol en période de jeûne



Hépatocyte

- réserve locale de glucose sous forme de glycogène : 100 g
- consommation par les neurones : 120 g/jour



La néosynthèse de glucose est une absolue nécessité :

- débute 5 à 6 heures après un repas
- **prépondérante au jeûne physiologique**
- **tissus gluco-dépendants**



Voie active principalement dans **le foie** / rein



Rein : surtout en cas de **jeûne prolongé**

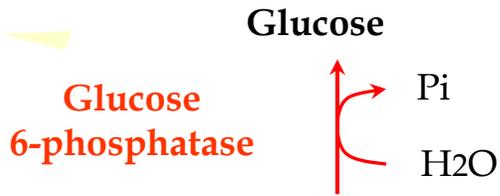


Voie métabolique

La gluconéogenèse n'est pas l'inverse de la glycolyse

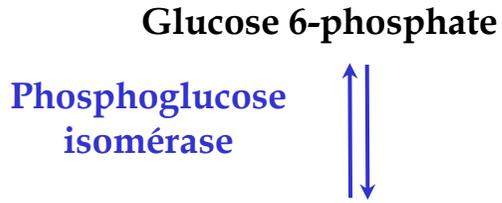
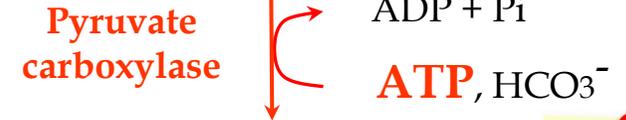
($\Delta G^{\circ} = + 84 \text{ kJ mol}^{-1}$, donc voie très endergonique et spontanément impossible)

- sept réactions sont inverses de la glycolyse
- **trois étapes irréversibles :**
 - étapes de régulation
 - notion de cycle futile
 - * permanence de l'adaptation
 - * rapidité de l'adaptation



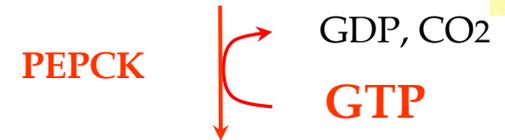
Lactate
Certains acides aminés **Ala**

Pyruvate



Certains acides aminés glucoformateurs

Oxaloacétate

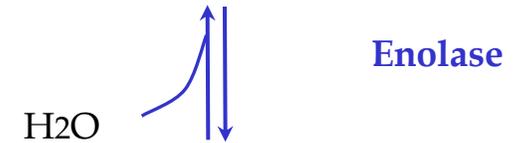


RAPPEL

Fructose 6-phosphate



Phosphoénolpyruvate



Fructose 1,6-bisphosphate

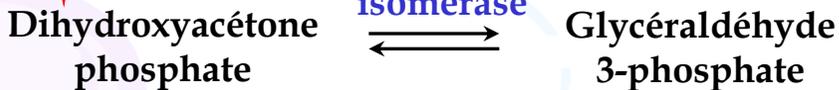
Besoins :
Substrats
Énergie
Pouvoir réducteur
Régulation favorable

2-Phosphoglycérate

Phosphoglycérate mutase

Glycérol

Triose phosphate isomérase



3-Phosphoglycérate



Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase

Gluconéogenèse



Voie **anabolique** qui nécessite :

1° des substrats



• **Glycérol** (TA) libéré lors de la LIPOLYSE \rightarrow **DHAP**

• **Intermédiaires du cycle de Krebs** formés à partir du catabolisme des acides aminés glucoformateurs :

α -cétoacides, oxalo-acétate, α -cétoglutarate, succinyl-CoA, fumarate

2° de l'énergie

ATP fournie par la β -oxydation des acides gras issus de la lipolyse dans le TA **couplage** voie d'oxydation avec voie anabolique

3° un signal hormonal

- Assure la coordination : foie, (muscle), TA
- **insuline/glucagon** (+ catécholamines, + cortisol)

Gluconéogenèse



Les étapes spécifiques de la gluconéogenèse correspondent aux trois étapes irréversibles de la glycolyse, fortement exergoniques :

- changement de compartiment
- régulation très précise

1^{ère} étape spécifique : Pyruvate → PEP

3 Décarboxylation en PEP

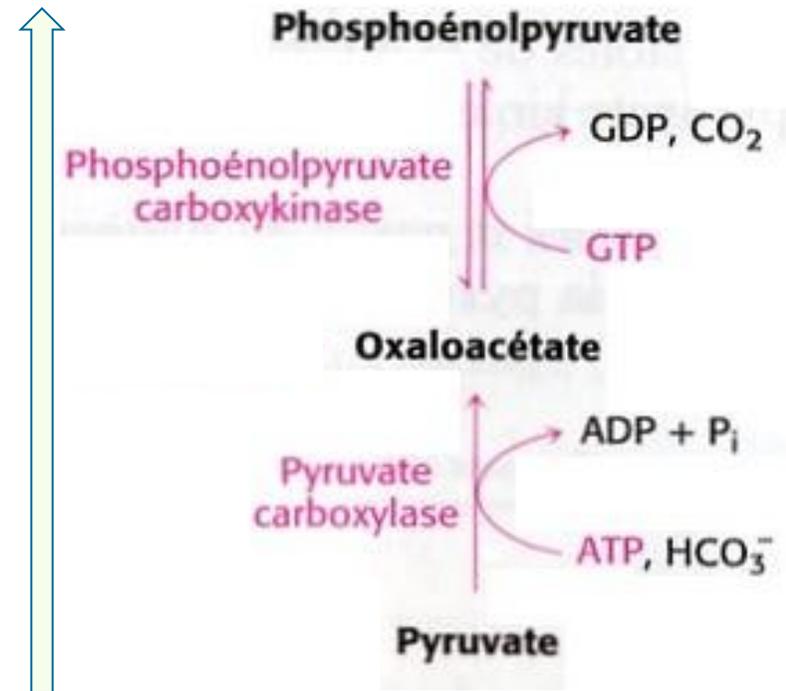
Phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK)-GTP
(cytosol)

3 Export de l'OA de la mitochondrie vers le cytosol
(2 options possibles)

2 Carboxylation en oxalacétate

Pyruvate carboxylase (*mitochondrie*)

1 Transporteur Pyruvate (cytosol → mitochondrie)



NB : L'oxalo-acétate produit dans la mitochondrie ne peut pas directement être transféré dans le cytosol : nécessité d'un système de transport qui dépend du substrat d'origine.

Noter le coût énergétique : couplage indispensable avec une réaction du catabolisme apportant de l'énergie la b-oxydation des acides gras



Particularités en fonction du substrat d'origine

Lactate

- substrat le plus important **en cas de jeûne physiologique**
- **apporte son propre pouvoir réducteur** nécessaire à la réaction :
1,3-bisphosphoglycérate → glycéraldéhyde 3-P
- l'oxalo-acétate sort de la mitochondrie après **transamination en aspartate et transporteur aspartate-glutamate** (pouvoir réducteur)

Alanine

- substrat préférentiel **si jeûne prolongé**
- **n'apporte pas son pouvoir réducteur**
- l'oxalo-acétate sort de la mitochondrie en utilisant la navette oxalacétate/malate pour faire sortir 1 NADH, H⁺ de la mitochondrie

Malate déshydrogénase

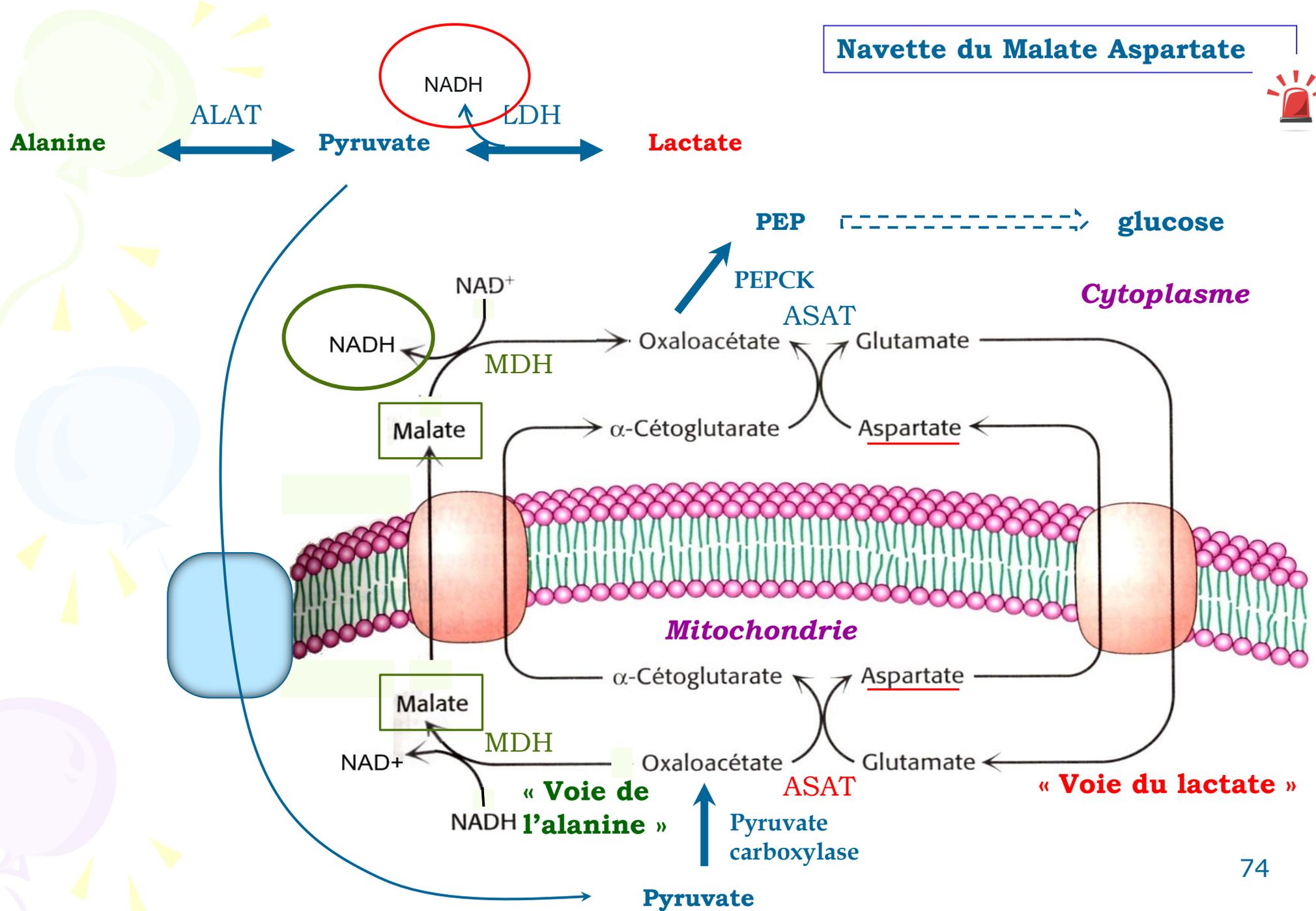
exergonique $\Delta G^{\circ\prime} = - 29,7 \text{ kJ/mole} \rightarrow \Delta G \# 0$: réaction réversible

→ malate (gluconéogenèse)

→ oxaloacétate (cycle de Krebs)

- il existe une voie alternative utilisant une **PEPCK mitochondriale** et le PEP repasse dans le cytosol

Navette du Malate Aspartate



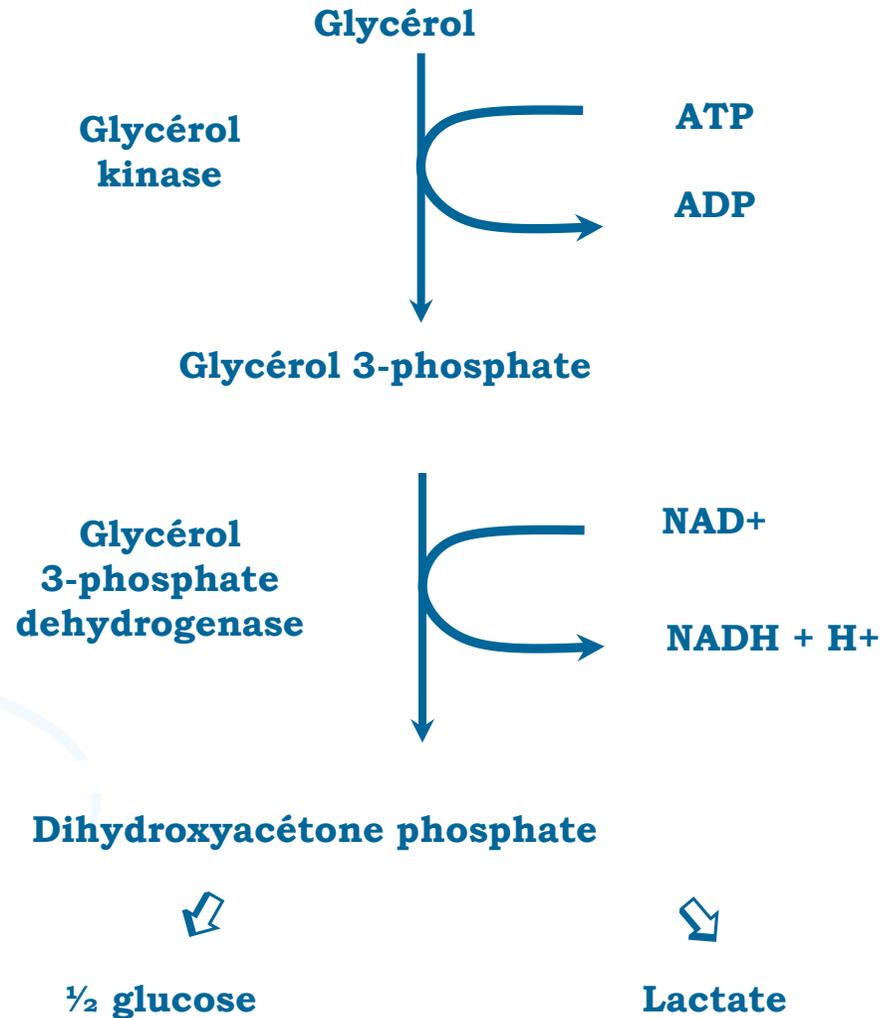
Gluconéogenèse



Particularités en fonction du substrat d'origine

Glycérol

Deux étapes :



Gluconéogenèse



2^{ème} étape spécifique : Fru 1,6-bisP → Fru 6-P

$\Delta G^{\circ\prime} = - 16,3 \text{ kJ/mole}$

Fructose 1,6-bisphosphatase-1 (PBPase-1)

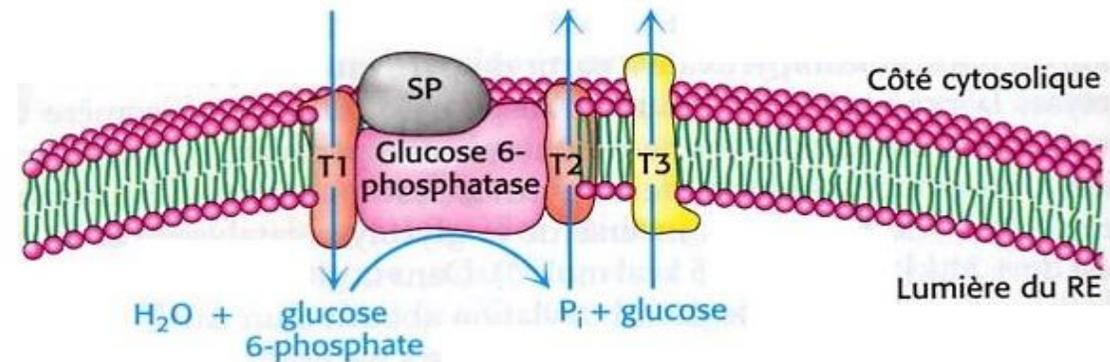
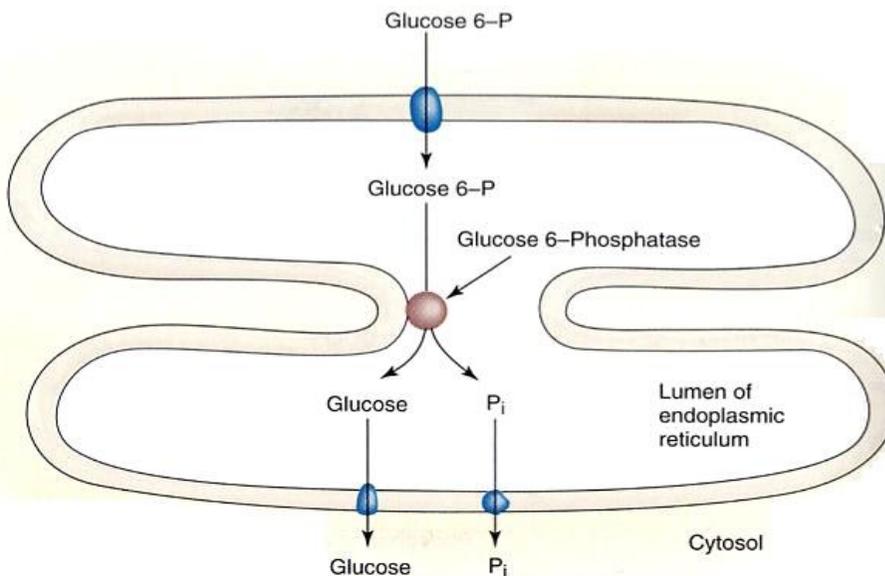
3^{ème} étape spécifique : Glc 6-P → Glucose

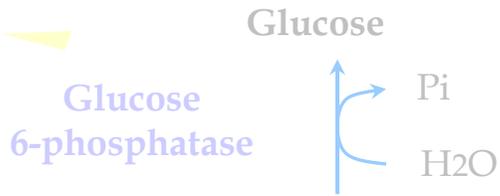
$\Delta G^{\circ\prime} = - 13,8 \text{ kJ/mole}$

Glucose 6-phosphatase, Mg^{2+}

Enzyme localisée du côté luminal du réticulum endoplasmique

Le glucose sort grâce à un transporteur (GLUT 2)





Glucose 6-phosphate

Phosphoglucose isomérase

2 (Pyruvate) + 2 (2 ATP) + 2 (GTP) + 2 (NADH)
 → Glucose + 2 NAD⁺ + 4 ADP + 2 GDP

ΔG° global = + 83,7 kJ/mole compensé par la β -oxydation
 des acides gras soit un ΔG global de - 16 kJ/mole

H₂O

Fructose 1,6-bisphosphate

Aldolase

Triose phosphate isomérase

Dihydroxyacétone phosphate

Glycéraldéhyde 3-phosphate

Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase

Pi, NAD⁺

NADH + H⁺

1,3-Bisphosphoglycérate

Pyruvate

Pyruvate carboxylase

ADP + Pi

ATP, HCO₃⁻

Oxaloacétate

Fructose 1,6-bisphosphatase

GDP, CO₂

GTP

RAPPEL

Phosphoénolpyruvate

Enolase

H₂O

2-Phosphoglycérate

Phosphoglycérate mutase

3-Phosphoglycérate

ATP

ADP

Phosphoglycérate kinase

Gluconéogenèse



**Régulation : contexte glucagon (lipolyse, oxydation AG
→ Energie dans le foie)**

Premier carrefour : pyruvate → PEP

① Orientation du pyruvate

pyruvate carboxylase → oxalacétate

rég allostérique pos : **acétyl CoA**

rég allostérique nég : **ADP**

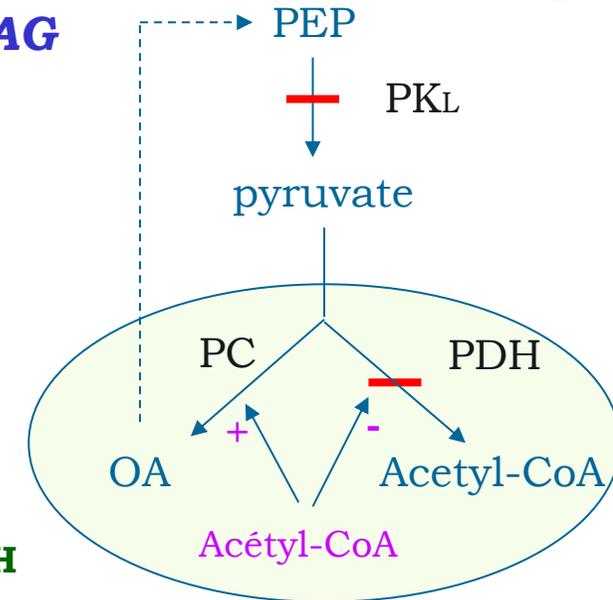
pyruvate déshydrogénase → acétylCoA

rég allostérique nég : **acétyl CoA, ATP, NADH**

Si β -oxydation des acides gras : ↗ acétyl CoA

→ ↗ GNG

rég covalente : forme O-P = forme inactive



② PKL (hépatocyte)

Régulateur positif : Fru 1,6-BisP

Régulateurs négatifs : **ATP**, alanine, citrate, acétyl CoA, AG
**empêche le cycle futile car β -oxydation produit beaucoup
d'ATP et d'acétyl-CoA**

Régulation covalente : forme O-P = forme inactive

Gluconéogenèse



Régulation

Deuxième carrefour

FBPase-1 (néoglucogenèse) est régulée par allostérie en opposition avec la PFK1

Activation par ATP et le citrate

inhibition par le Fru-2,6-bisP et l'AMP

En cas de jeûne,

production de glucagon ➡ PFK-2/FBPase-2 phosphorylée par PKA ➡ PBPase-2 active

➡ Fru 2,6-bisP ↘ ➡ non inhibition (= activation) la FBPase-1 ➡ GNG

Ce mécanisme est le plus important au niveau du foie.

Schéma résumé de la régulation coordonnée glycolyse/gluconéogenèse dans le foie

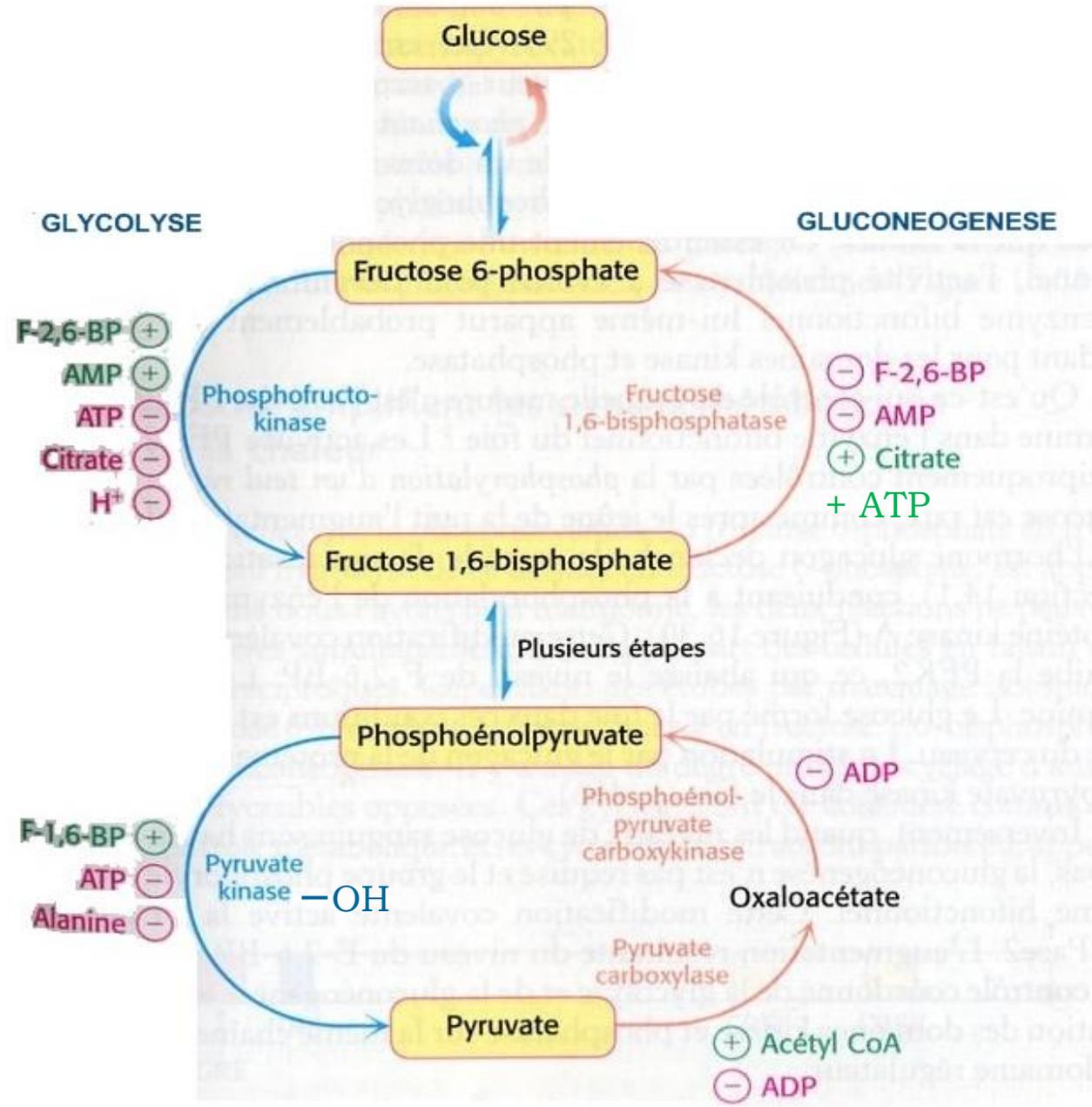
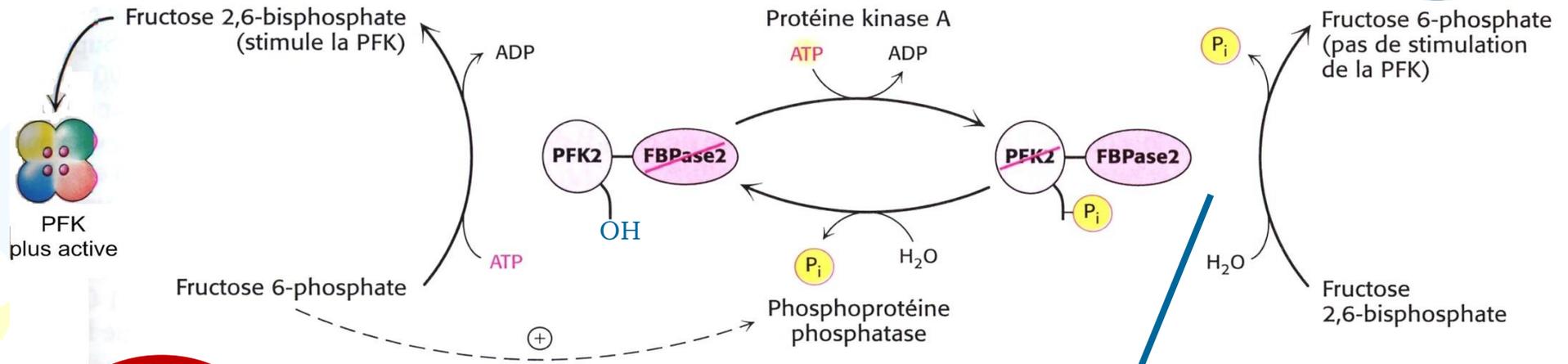


Schéma intégratif de régulation au niveau du foie

Le fructose 2,6-bisP s'élève, la glycolyse est activée et la gluconéogenèse est inhibée

En état de jeûne, le glucagon est produit et stimule la PKA

GLUCOSE BAS



GLUCOSE ELEVE

Le fructose 2,6-bisP diminue, la glycolyse est inhibée et la gluconéogenèse est stimulée

En situation post-prandiale, le fructose 6-P s'élève et l'insuline qui est secrétée, active tous deux la protéine phosphatase



Un peu de pathologie

Il existe de nombreux déficits enzymatiques sur la voie de la gluconéogenèse, mais ils sont rarissimes (pyruvate carboxylase, PEPCK, fructose 1,6-bisphosphate aldolase ...).

Tous ces déficits entraînent une hypoglycémie la plupart du temps très grave et réduisant le pronostic vital. Il s'agit d'hypoglycémie de jeûne « long ».

En revanche, il existe beaucoup plus fréquemment des déficits secondaires de la gluconéogenèse, déficits qui entraînent le même type d'hypoglycémie. Il s'agit en général de déficits de la beta-oxydation des acides gras (plus d'une dizaine de déficits sont connus) par exemple liés à un défaut de pénétration de ces acides gras dans la mitochondrie. C'est le cas du déficit en Carnitine Palmitoyl Transférase 1 (CPT1).



LA VOIE DES PENTOSE PHOSPHATES

Voies des pentoses phosphates



A partir du glucose



Formation de coenzymes réduits

NADPH

- Biosynthèse des « lipides » : acides gras, stéroïdes, H. stéroïdes
- Réduction du ribose en désoxyriboses (ribonucléotides réductases)
- Réduction du glutathion

Formation du ribose (et du désoxyribose)

Métabolisation des pentoses pour rejoindre la voie de la glycolyse

Dans le cytosol

Voie non endergonique et plutôt anabolique ; ubiquitaire mais essentielle dans certains tissus

Surrénales, testicules, ovaires : synthèse de stéroïdes

Tissu adipeux, glandes mammaires : synthèse des acides gras

Foie : synthèse des acides gras et du cholestérol

Globules rouges : maintien du glutathion à l'état réduit

Le substrat de départ est le Glc 6-P : sa production suit une étape commune avec la première étape de la glycolyse

Oxydation dans les deux premières étapes

formation de coenzymes NADPH + CO₂

seules étapes régulées

Transfert de motifs à 2 ou 3 C par des réactions d'interconversion

Voies des pentoses phosphates

Phase 1. Les étapes oxydatives : formation de 2 NADPH, H⁺ et d'une molécule de Ribose 5-P

Déshydrogénation du Glc 6-P

Glucose 6-P déshydrogénase, Mg²⁺



Deux étapes :

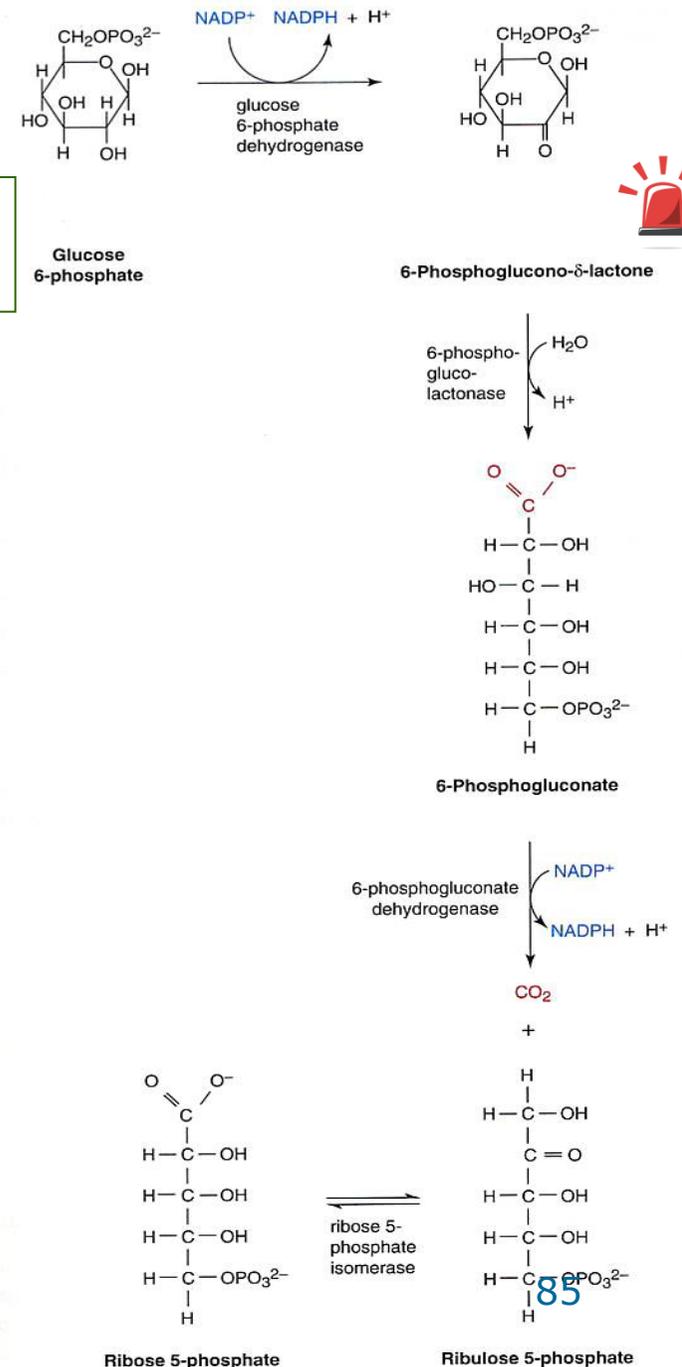
- oxydation en lactone : 6-P glucono-δ-lactone
- hydrolyse par une lactonase, Mg²⁺

Décarboxylation oxydative du 6-P gluconate

6-P gluconate déshydrogénase, Mg²⁺



Interconversion Ribulose/Ribose phosphopentose isomérase



Voies des pentoses phosphates



Phase 2. Les étapes non oxydatives d'interconversion



Réactions réversibles

Aboutissent à la régénération de Fru 6-P qui peut soit donner lieu à un nouveau cycle d'oxydation pour augmenter la production de NADPH, soit être oxydé (glycolyse)

Transformation du Ribulose 5-P

Isomérisation en Ribose 5-P

Phosphopentose isomérase

Epimérisation en Xylulose 5-P

Phosphopentose épimérase

Interconversion

• Xylulose 5-P + Ribose 5-P \rightleftharpoons
Sédoheptulose 7-P + Glycéraldéhyde 3-P
(2 C du xylulose sur le ribose)

transcétolase

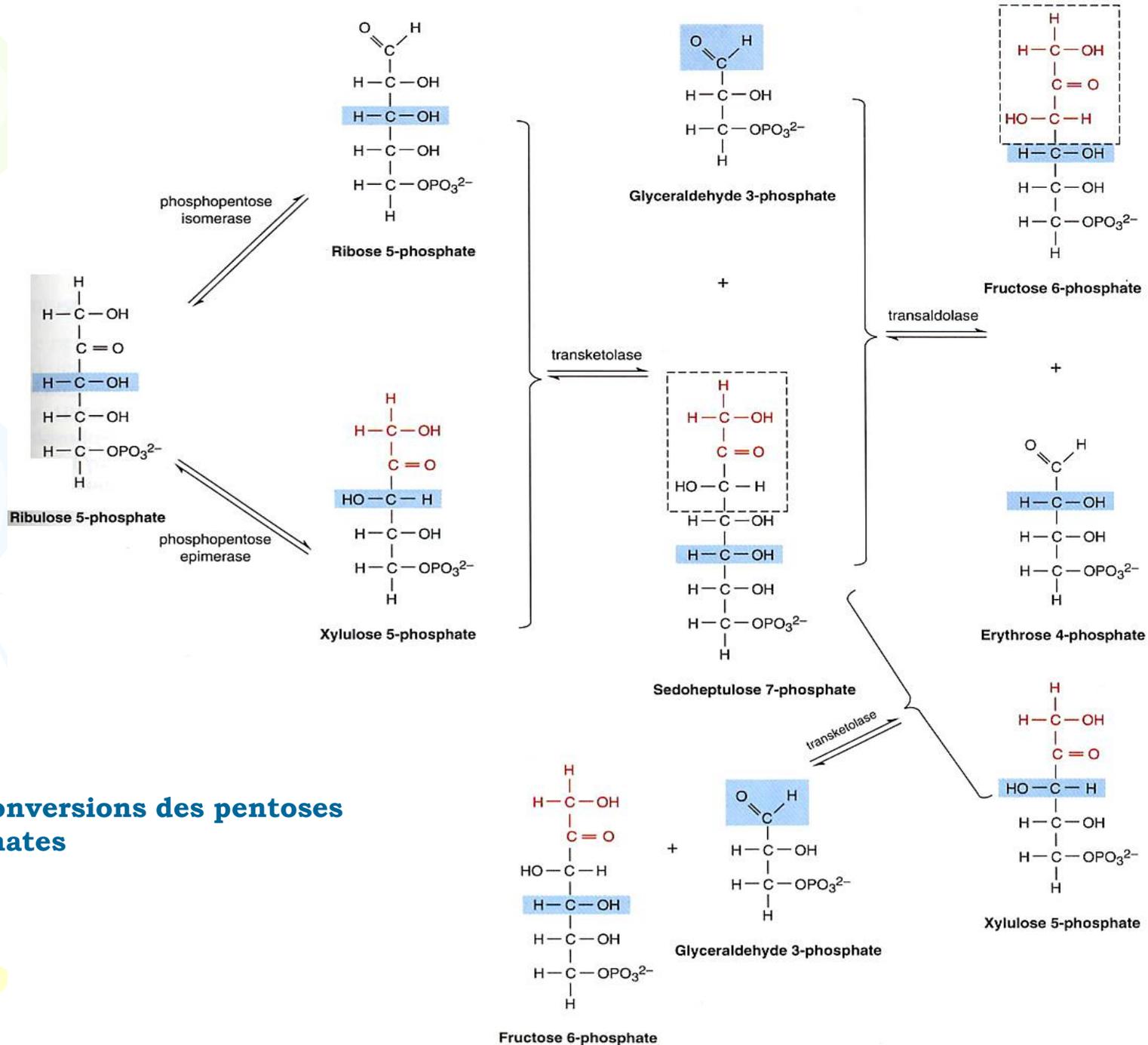
• Sédoheptulose 7-P + Glycéraldéhyde 3-P \rightarrow
Fru 6-P + Erythrose 4-P

transaldolase

• Erythrose 4-P + Xylulose 5-P \rightarrow
Fru 6-P + Glycéraldéhyde 3-P

transcétolase

• 2 Glycéraldéhyde 3-P \rightarrow Fru 6-P



Interconversions des pentoses phosphates

Voies des pentoses phosphates



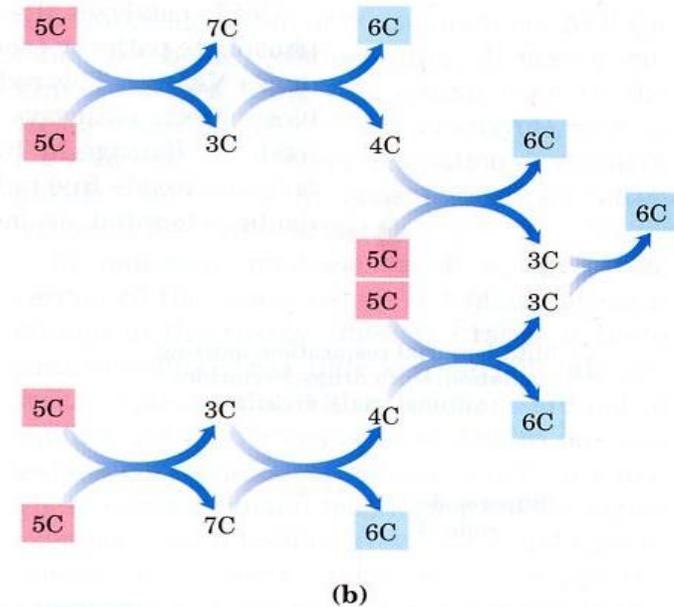
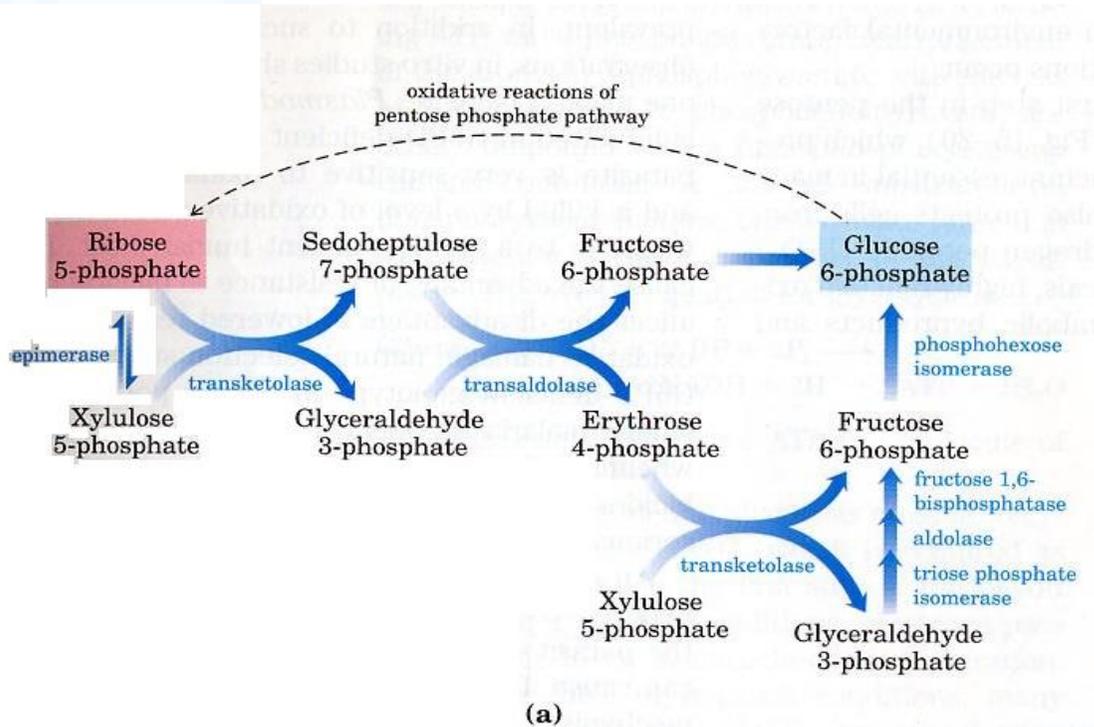
Bilan 1 (uniquement phase oxydative)

Un hexose-P produit deux NADPH et du ribose 5-P



Bilan 2

Six pentoses-P (issues de six hexoses-P) régénèrent cinq hexoses-P qui peuvent rentrer de nouveau dans la voie. Au total :



Régulation coordonnée de la glycolyse et de la voie des pentoses



Le glucose 6-phosphate peut :

- être oxydé en ATP (glycolyse)
- produire du NADPH et/ou du ribose (voie des pentoses).

La **réversibilité** de la voie des pentoses permet de former du ribose 5-phosphate à partir de la glycolyse sans passer par la phase oxydative de la voie des pentoses.

Le **facteur limitant** de la voie des pentoses est la disponibilité en NADP⁺ (avec un rapport NADP⁺ sur NADPH = 0,014). Si la consommation de NADPH augmente il y a augmentation de NADP⁺ et donc accélération de la voie des pentoses.

Au total, **l'orientation du glucose 6-phosphate** entre voie des pentoses et glycolyse dépend des besoins de la cellule selon quatre modes :

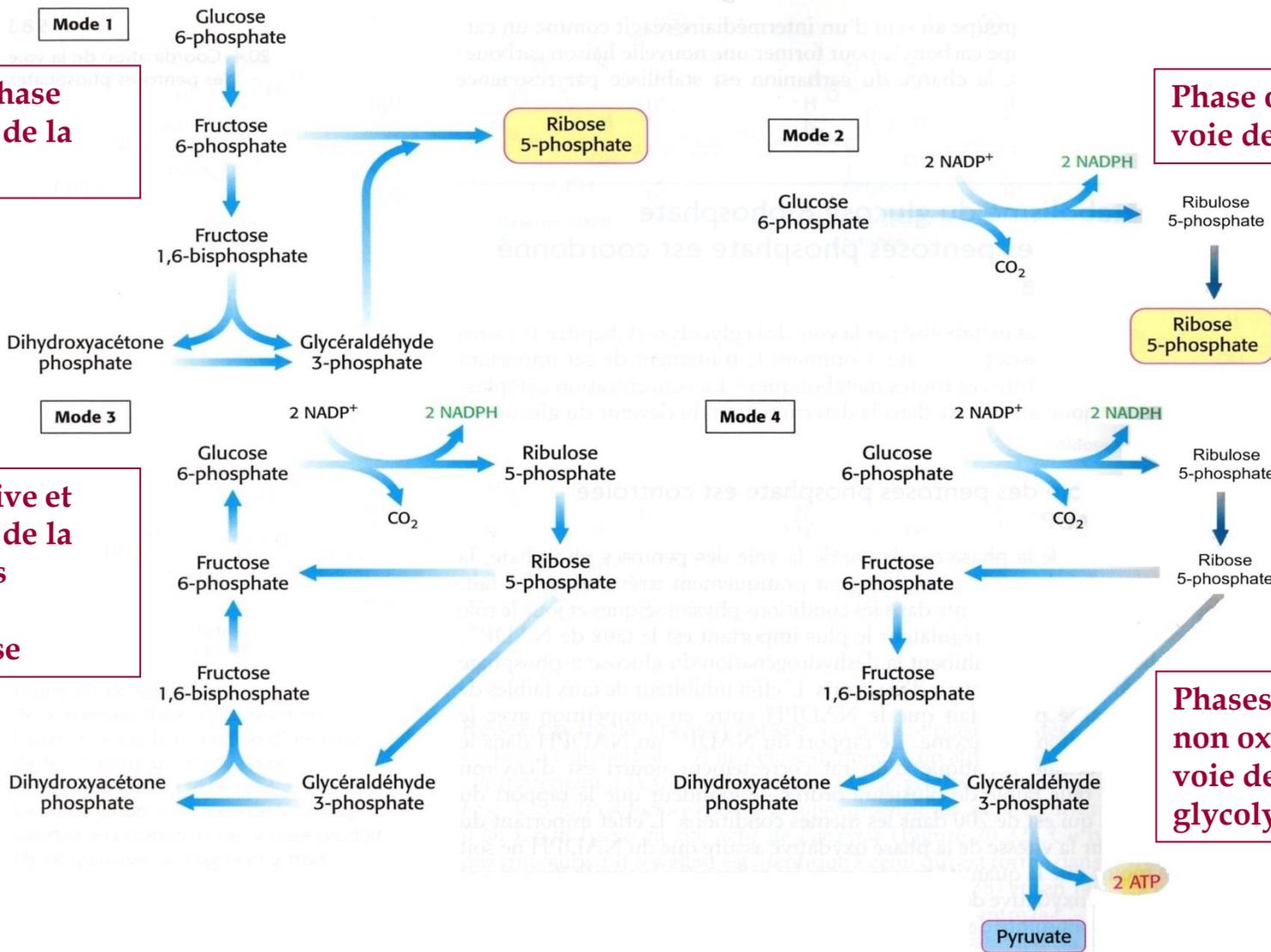
- **Mode 1** : besoin en ribose > besoin NADPH
- **Mode 2** : besoin en ribose = besoin NADPH
- **Mode 3** : besoin NADPH > besoin en ribose
- **Mode 4** : besoin NADPH et besoin en ATP

Glycolyse et phase non oxydative de la voie des P

Phases oxydative et non oxydative de la voie des P puis recyclage par gluconéogenèse

Phase oxydative de la voie des P

Phases oxydative et non oxydative de la voie des P puis glycolyse





Un peu de pathologie

Dans la plupart des cellules, des molécules très oxydantes, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (générées dans le métabolisme oxydatif) infligent des dommages à toutes les macromolécules.

Les ROS sont naturellement « dégradées » par réduction par le glutathion réduit (GSH). Après action, le GSH est transformé en forme oxydée qui peut repasser à l'état réduit grâce au NADPH.

Dans le globule rouge, un déficit en glucose 6-phosphate déshydrogénase diminue la production de NADPH, diminue la capacité de réduction du GSH et facilite la dégradation de l'hémoglobine par les ROS. Il s'en suit une anémie hémolytique caractéristique des déficits en G6PDH des globules rouges.



LE METABOLISME DU GLYCOGENE

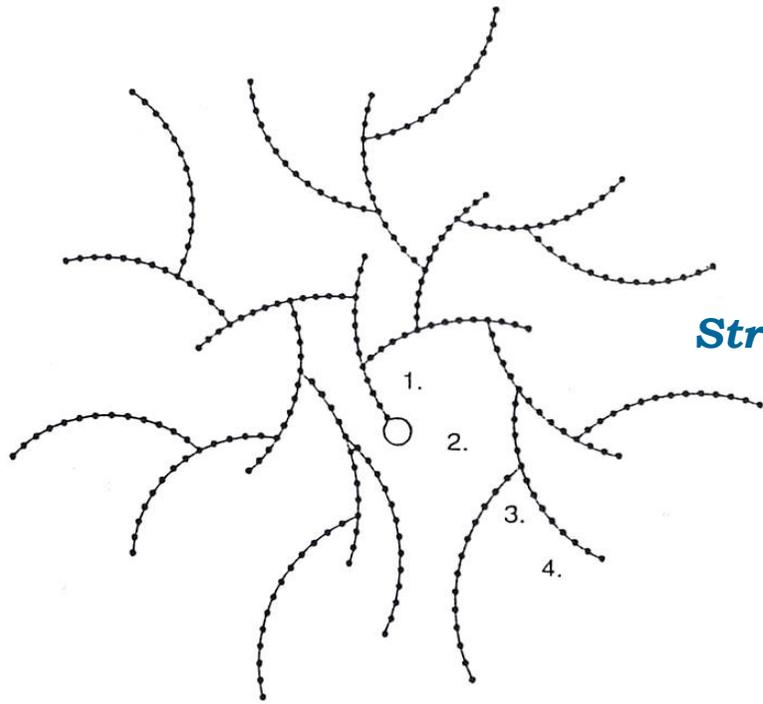
Le Glycogène



- **Principale forme de stockage du glucose**
- **Seule réserve du carburant en anaérobiose**
 - muscle : 400 g
 - foie : 100 g
- **Forme très compacte de stockage ; pas de gonflement**
 - une molécule : 6×10^5 résidus, MM : 10^8 D
- **Granules** organisation structurale qui contiennent tous les enzymes du métabolisme
- **Structure**
 - chaînes linéaires de glucose en $\alpha 1,4$ + branchement $\alpha 1,6$ → arborescence
 - chaque nouvelle molécule de glucose engage sa fonction carbonyle qui porte le pouvoir réducteur. Pour une molécule de glycogène un seul résidu glucose possède un pouvoir réducteur et cette fonction est engagée sur la protéine « initiatrice » : la glycogénine.
- **Dégradé par amylases salivaire et intestinale**
- **Biosynthèse et dégradation obéissent à des régulations inverses et coordonnées**
- **Tissus différents** (foie et muscle) nécessitent des régulations différentes (surtout la dégradation)

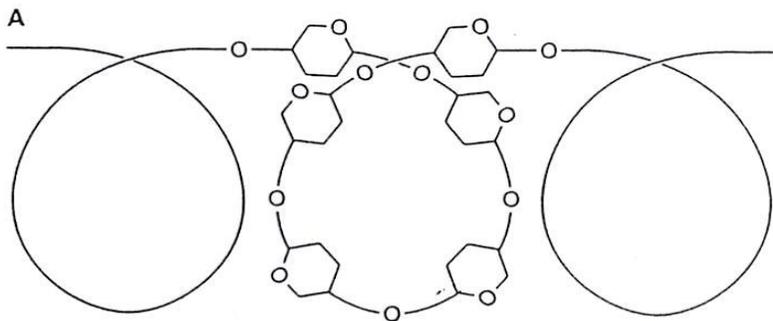
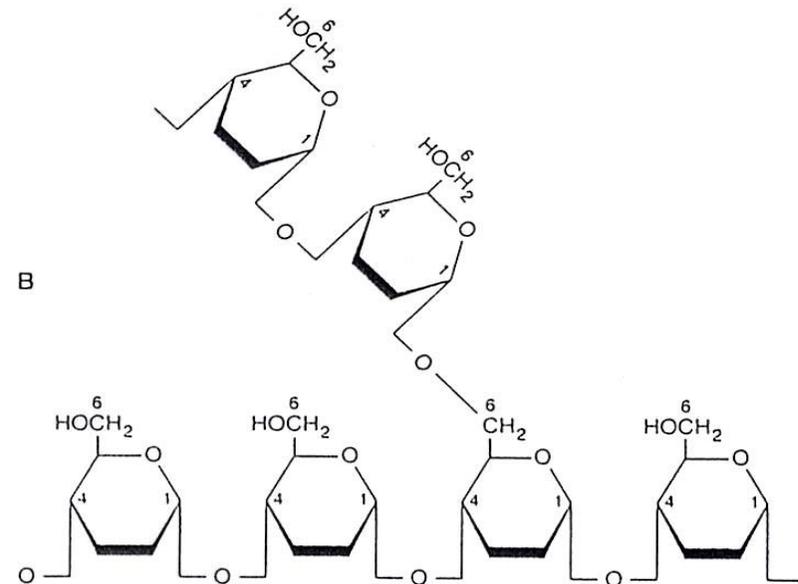
Structure du Glycogène

RAPPEL



Structure générale

Détail d'une ramification



Structure hélicoïdale d'une chaîne

1° Allongement des chaînes de glycogène

Glycogène synthase :

- **Glucosyl transférase** : transfère d'un glucosyl d'un **donneur** glucosyl nucléotide (UDP-Glc) pour le fixer en $\alpha 1,4$ sur un **accepteur** : résidu glucosyl d'une extrémité non réductrice d'une molécule de glycogène



- **Première initiation** : **glycogénine** (37 kD)

Tyr 194 ; glucosyl transférase initie une chaîne de 8 Glc

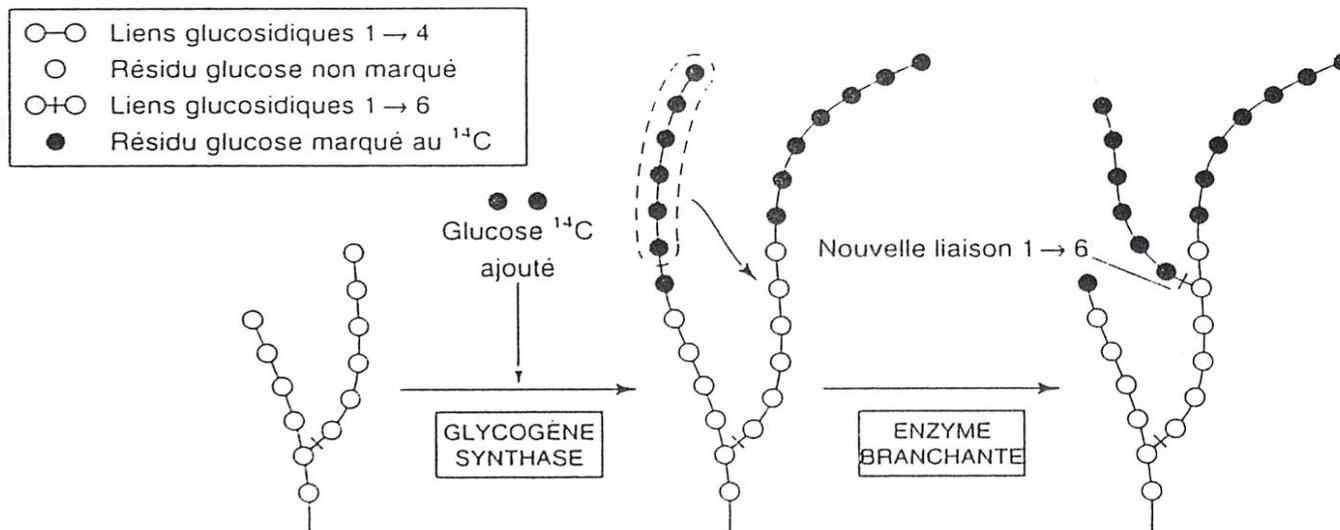
RAPPEL

2° Ramification

$\alpha 1,4$ - $\alpha 1,6$ transglycosylase : enzyme branchante

Transfert d'un oligosaccharide (5 à 8 Glc) d'une extrémité non réductrice (11 résidus minimum) et fixation en $\alpha 1,6$ sur une chaîne $\alpha 1,4$

Non soumise à régulation



3° Origine de UDP-Glc

▣ Du glucose $\text{Glc} \rightarrow \text{UDP-Glc}$ consomme 2 ATP



UTP-Glc 1-P.uridyl transférase

$\Delta G^{\circ\prime} \# 0 \text{ kJ/mole}$



Le Glc 1-P provient de l'isomérisation $\text{Glc 6-P} \rightarrow \text{Glc 1-P}$

Nécessite forte concentration en Glc 6-P

Le Glc 6-P est issu du Glc (voir 1^{ère} étape de la glycolyse)

▣ De l'UDP-Gal (cf diapo sur l'utilisation du galactose)

RAPPEL

La glycogénolyse

1° Raccourcissement des chaînes

Glycogène phosphorylase :



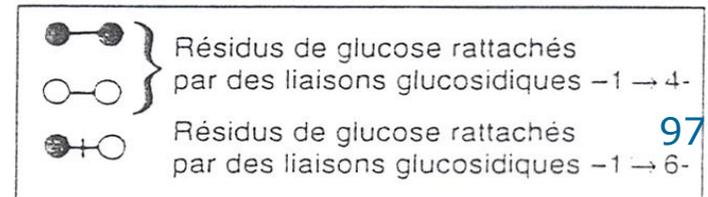
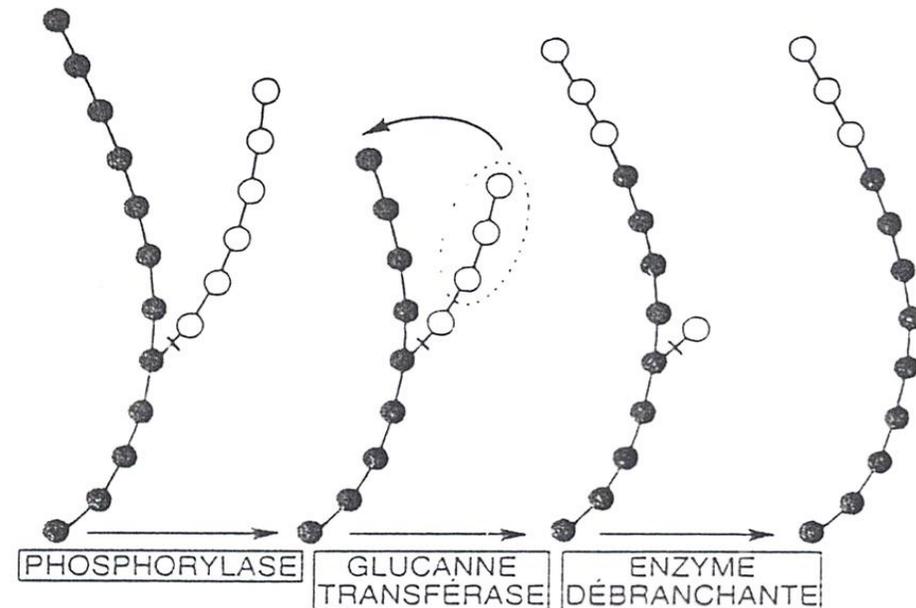
- exoglucosidase
- phosphorylase
- **transglycosylase** : coupe liaison $\alpha 1,4$ et transfère de l'acide phosphorique sur l'extrémité non réductrice d'un glucosyl
- coupe une liaison riche en énergie, récupérée par un composé riche en énergie
- forme isozymique différente selon le tissu
- action s'arrête à quatre unités glucose en amont d'une ramification

RAPPEL

2° Enlèvement des branches

Enzyme débranchante :

- $\alpha 1,4 - \alpha 1,4$ - **transglycosylase** prélève trois glucoses d'une branche et transfère sur une autre branche
- α -**glucosidase** hydrolyse la liaison $\alpha 1,6$ et libère un glucose
- non soumise à régulation



La glycogénolyse

3° Devenir du Glc 1-P

Phosphoglucomutase : Glc 1-P → Glc 6-P

- Étape intermédiaire : Glc 1,6-bisP
- Hydrolyse du Glc 1-P : $\Delta G^{\circ} = 21 \text{ kJ/mole}$
- Hydrolyse du Glc 6-P : $\Delta G^{\circ} = 14 \text{ kJ/mole}$
- $\Delta G^{\circ} (\text{Glc 1-P} \rightarrow \text{Glc 6-P}) = - 7 \text{ kJ/mole}$
- Réaction en faveur du Glc 6-P ($K_{eq} = 19$) mais réversible du fait du mécanisme ping-pong de l'enzyme

RAPPEL

4° Devenir du glucose 6-P

Hépatocyte : glucose 6-phosphatase → glucose

Muscle : Glc 6-P → glycolyse

Régulation du métabolisme du glycogène



- Différente dans le foie et dans le muscle
- **Essentiellement hormonale = covalente (glucagon, catécholamines, insuline) et calcium ionisé (muscle) => modification de l'état de phosphorylation des enzymes**
- **Régulation allostérique complémentaire**
- **Adaptée à la situation physiologique (état post-prandial, jeûne, repos, exercice musculaire)**
- **Repose sur la régulation de deux enzymes : la glycogène phosphorylase et la glycogène synthase**

Régulation de la glycogène phosphorylase



La glycogène phosphorylase est un homodimère (foie)

- 1 régulation principale covalente :

- La glycogène phosphorylase existe sous deux formes : phosphorylée (*a*) et non phosphorylée (*b*)

- 2 régulation secondaire allostérique

- Chaque forme est en équilibre entre deux états : un état relâché (R) actif et un état tendu (T) peu actif

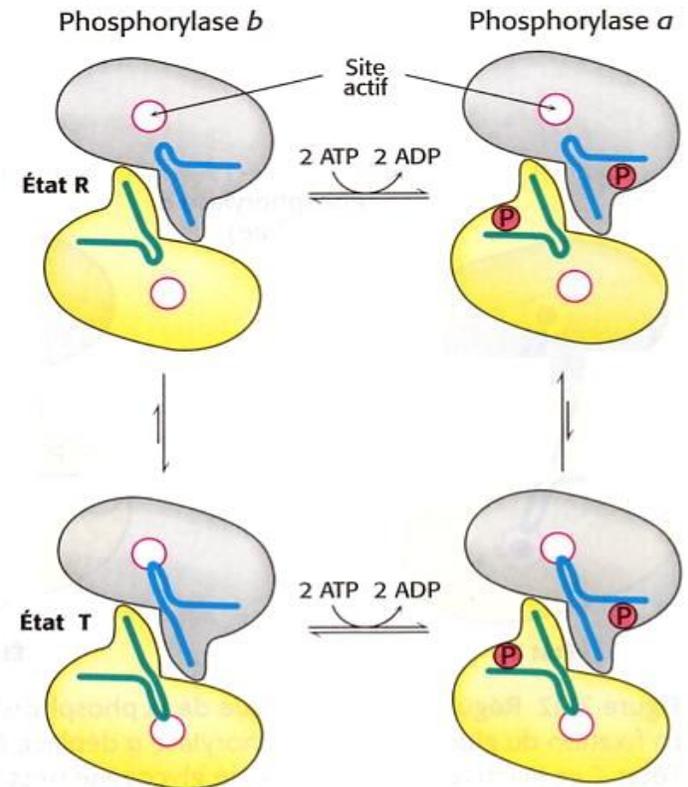
- Pour la forme phosphorylée (*a*), la configuration R est la plus fréquente = *forme active*

- Pour la forme non phosphorylée (*b*), la configuration T est la plus fréquente = *forme non active*

- Un seul site de phosphorylation N terminal – Ser 14

- Une seule protéine kinase : glycogène phosphorylase kinase ou phosphorylase kinase

Forme la + active



Forme la + « inactive »

Phosphorylase kinase :

- ◆ quadruple hétérotétramère (α , β , γ , δ)4. 1200 kDa.
- ◆ γ : sous-unité catalytique
- ◆ α et β : sous-unités régulatrices, régulées par phosphorylation/ déphosphorylation
- ◆ δ sous-unité régulatrice régulée par fixation de Ca^{2+}



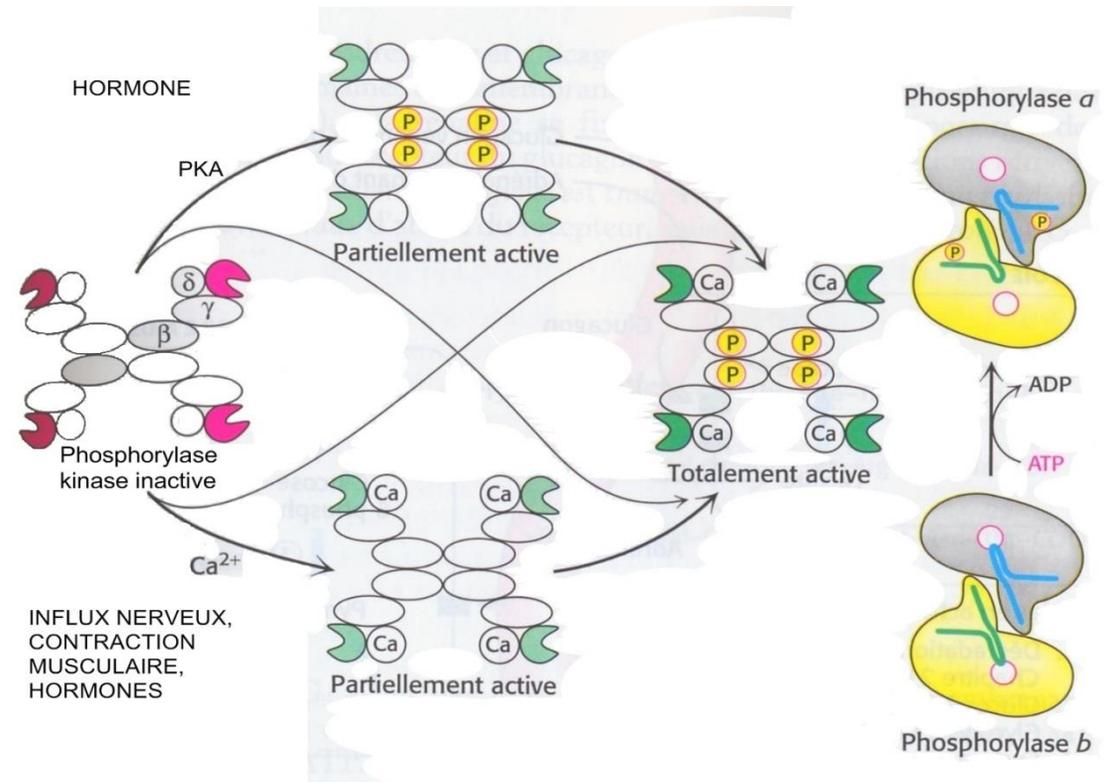
◆ mécanisme d'activation :

soit fixation de Ca^{2+} sur la sous-unité δ

- sous l'influence du Ca^{2+} libéré par la contraction musculaire
- sous l'influence du Ca^{2+} libéré par l'IP3 (vasopressine, angiotensine, catécholamines $\alpha 1$) dans le foie

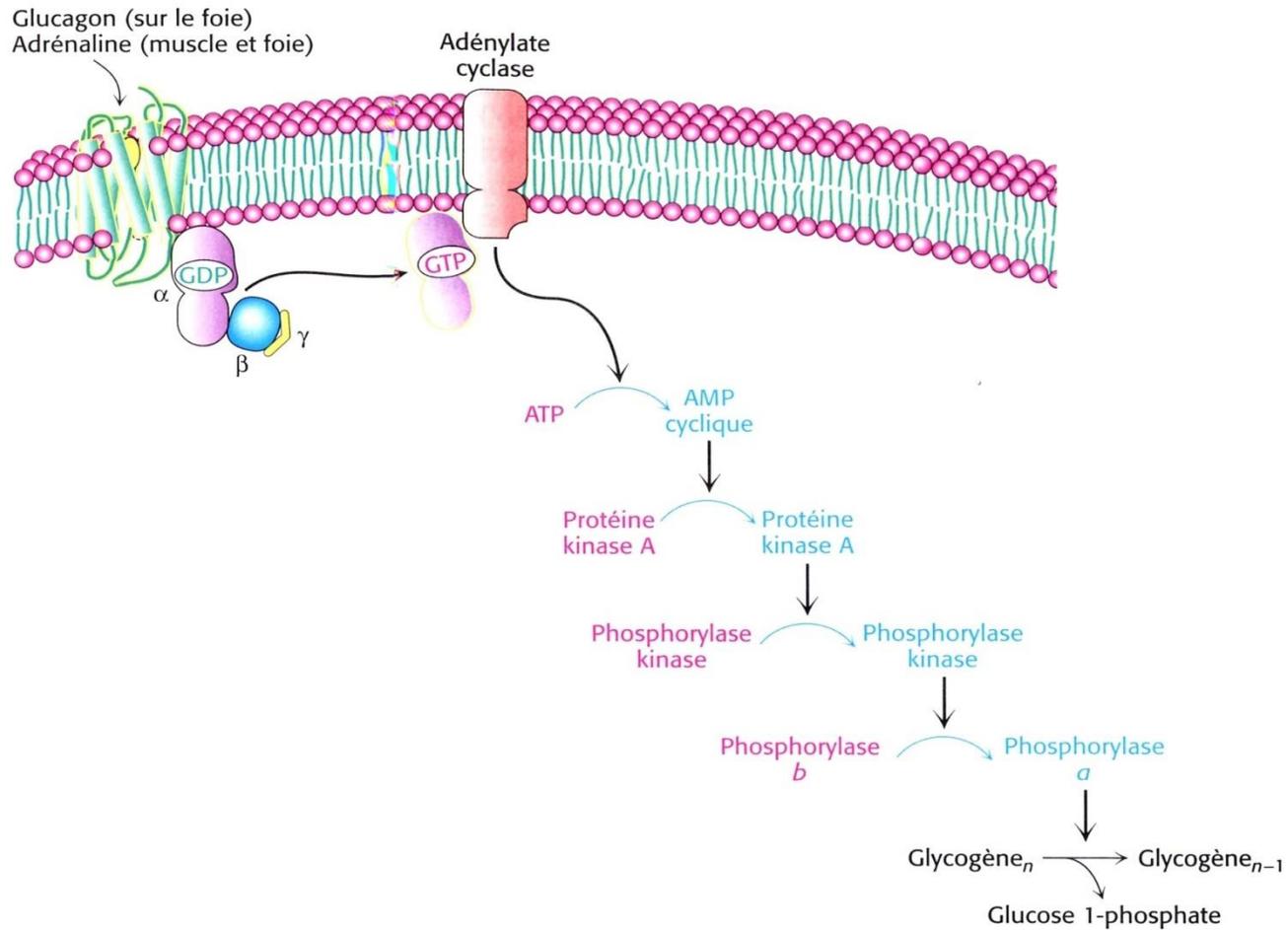
soit phosphorylation de β puis α par la PKA

- sous l'influence du glucagon et des catécholamines (foie) ou des catécholamines (muscle)



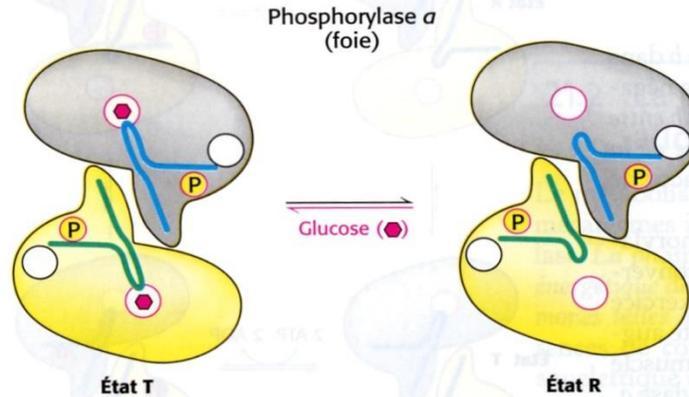
Régulation de la glycogène phosphorylase

PENDANT L'EXERCICE OU LE JEÛNE



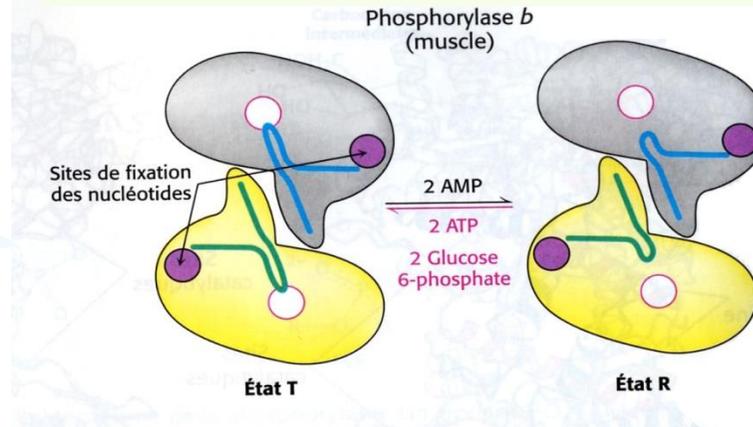
Régulation complémentaire de la glycogène phosphorylase par allostérie

FOIE



Glucose régulateur allostérique négatif de la phosphorylase α active (favorise le passage R \Leftrightarrow T)
Relai glycogénolyse \rightarrow GNG

MUSCLE



AMP régulateur allostérique positif de la phosphorylase b inactive (favorise le passage T \Leftrightarrow R)
Anticipation besoins énergétiques

Effet inverse de l'ATP et du glucose 6-P (modulateur allostérique négatif)
Relai glycogénèse

Régulation de la glycogène synthase

- **Forme phosphorylée (*b*) = forme inactive**
- **Forme non phosphorylée (*a*) = forme active**
- **De très nombreux sites de phosphorylation (serines ou thréonines) sont accessibles pour de nombreuses protéines kinases**
- ☛ **1 site N terminal site 2 : PKA, PhK, Ca²⁺, CaMdekinase II**
- ☛ **plusieurs sites C terminal :**



La PKA et le Ca²⁺ sont respectivement activés et libérés dans les mêmes conditions que pour la glycogène phosphorylase. Mais avec une conséquence opposée

En cas de contraction musculaire : libération de Ca²⁺ et de catécholamines dans le muscle → phosphorylation de la glycogène synthase et arrêt de la synthèse de glycogène.

En cas de jeûne : libération de glucagon → phosphorylation de la glycogène synthase → arrêt de la synthèse de glycogène dans le foie.

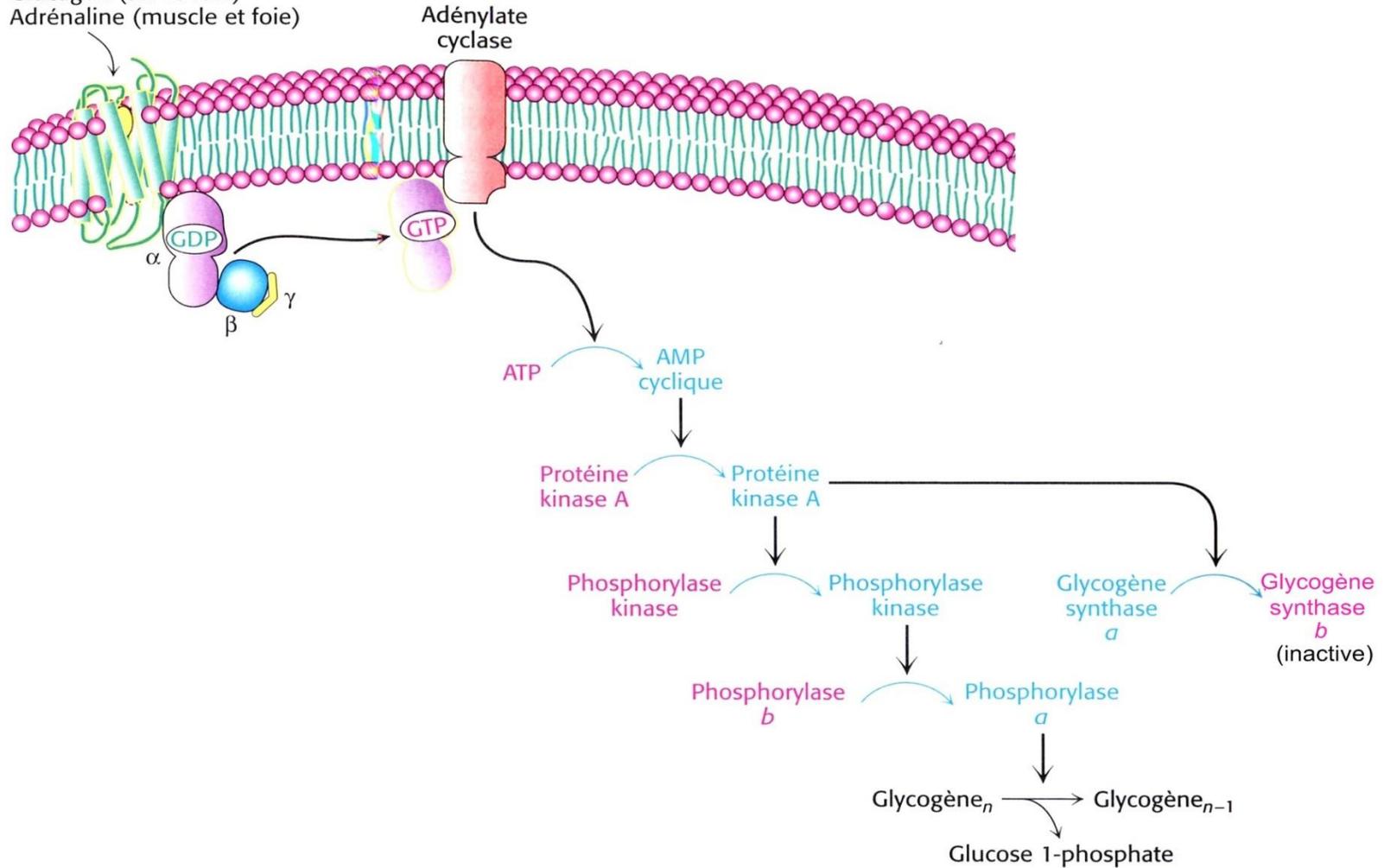
Régulation complémentaire par allostérie

Le glucose 6-P active allostériquement la forme *b* phosphorylée normalement inactive de la glycogène synthase.

Régulation couplée de la glycogène phosphorylase et de la glycogène synthase

PENDANT L'EXERCICE OU LE JEÛNE

Glucagon (sur le foie)
Adrénaline (muscle et foie)



En bref

La glycogénolyse est déclenchée dans le muscle par l'exercice musculaire.
La glycogénolyse est déclenchée dans le foie par le jeûne et par l'exercice musculaire (récepteurs aux catécholamines et au glucagon dans le foie).



Signal Ca²⁺ :

dans le muscle, sur la sous-unité δ de la glycogène phosphorylase kinase
dans le foie via le récepteur $\alpha 1$ adrénergique

Signal PKA :

dans le foie : glucagon + catécholamines
dans le muscle : catécholamines

Au final : activation de la phosphorylase kinase qui active la glycogène phosphorylase et donc active la glycogénolyse. Dans le même temps, inactivation de la glycogène synthase et donc de la glycogénogenèse.

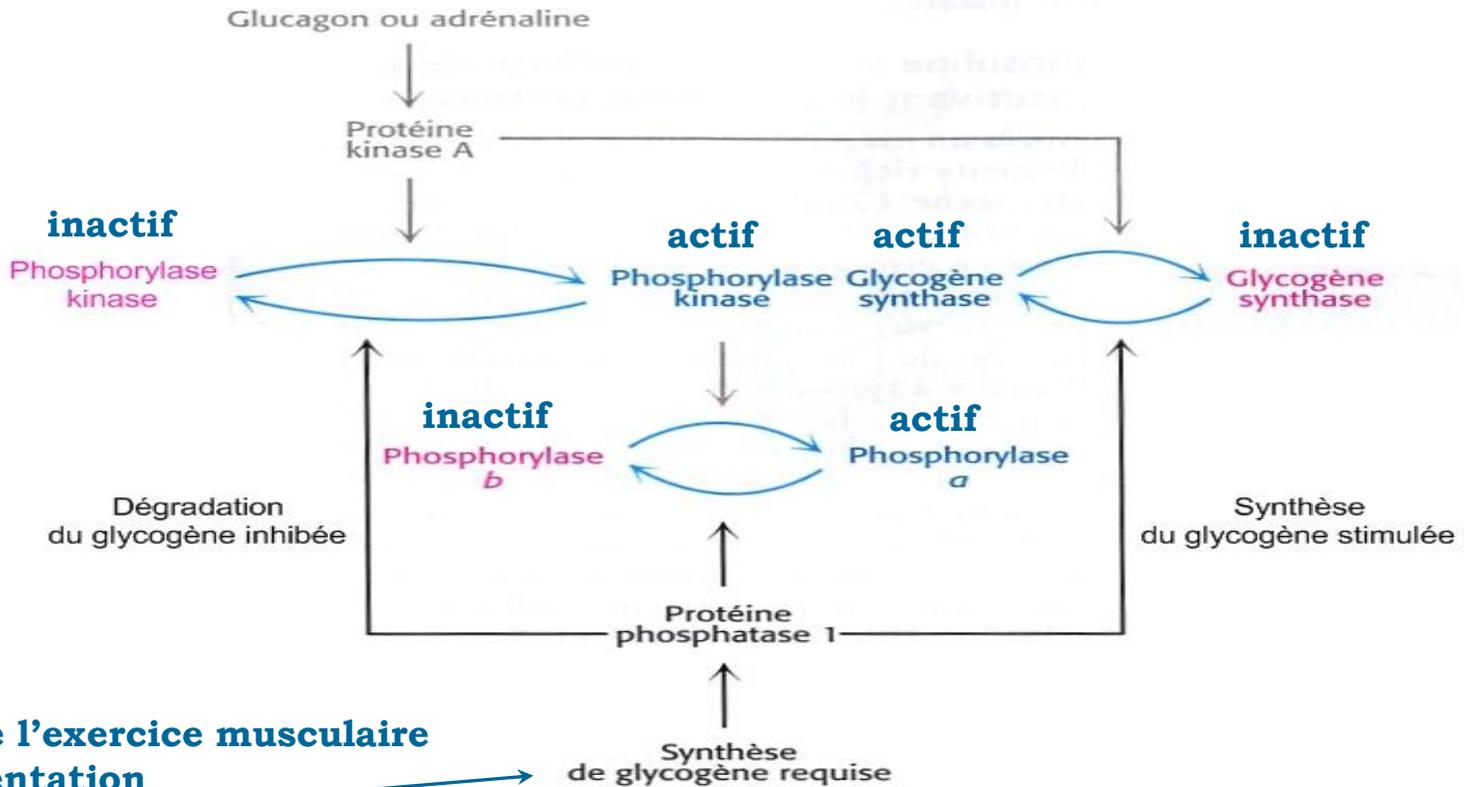
Toutes ces cascades de phosphorylation doivent être inversées en cas d'arrêt de l'exercice musculaire ou en cas de réalimentation.

Ces déphosphorylations mettent en jeu une nouvelle classe d'enzymes : les protéines phosphatases.

Déphosphorylation des enzymes du métabolisme du glycogène



Les **protéines phosphatases** déphosphorylent la glycogène synthase (qui devient active), la glycogène phosphorylase kinase et la glycogène phosphorylase (qui deviennent inactives). La principale de ces protéines est la **protéine phosphatase 1** ou **PP1**.



Arrêt de l'exercice musculaire
Réalimentation

Pendant l'exercice, dans le muscle, la glycogène phosphorylase est activée par phosphorylation et la protéine phosphatase 1 est maintenue dans un état inactif pour permettre le maintien de la glycogénolyse par deux mécanismes.

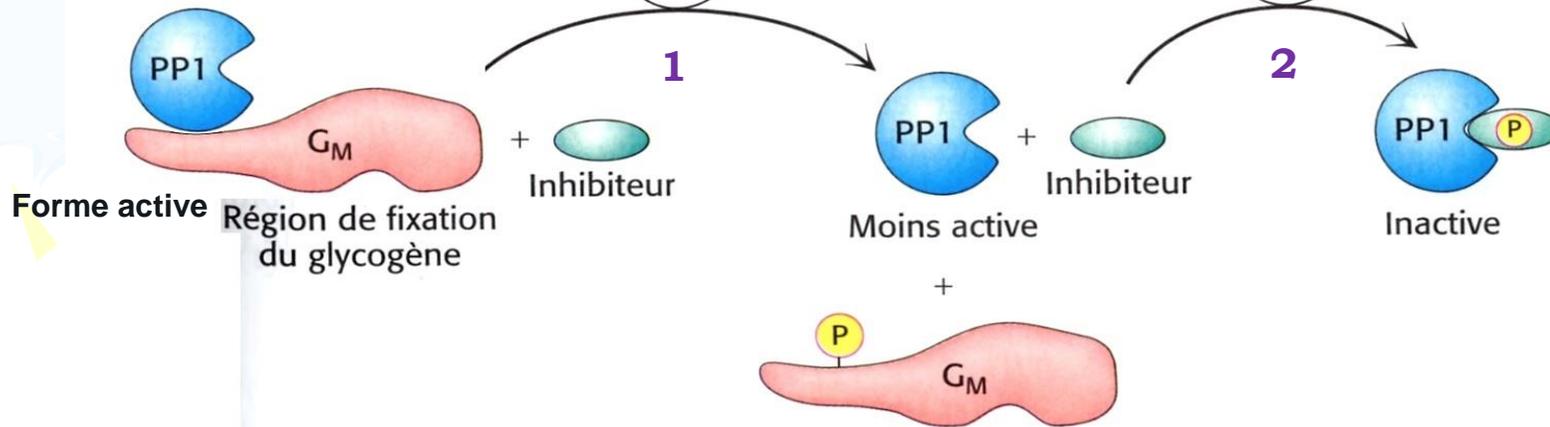
PENDANT L'EXERCICE OU LE JEÛNE **muscle**

Adrénaline ou glucagon

Protéine kinase A activée

A l'effort, la PKA va phosphoryler la SU régulatrice de la glycogène phosphorylase puis l'inhibiteur de la PP1

Au repos la PP1 est associée aux enzymes du métabolisme du glycogène pour les maintenir déphosphorylés rendant inactive la glycogénolyse



Première étape 1 : phosphorylation des enzymes du métabolisme du glycogène qui se détachent de PP1 entraînant une inactivation **partielle** de la PP1

Seconde étape 2: phosphorylation par la PKA de l'inhibiteur de la PP1 ce qui entraîne sa liaison à la PP1 et son inactivation **totale**



DANS LE MUSCLE :

En fin d'exercice musculaire, il y a nécessité d'arrêter la glycogénolyse

Disparition des catécholamines > arrêt de l'activation de la PKA



l'arrêt de la glycogénolyse est réalité lancé par anticipation dès la contraction par le signal Ca^{2+} (signal calcium/calmoduline) qui à long terme qui va activer une protéine phosphatase PP2B laquelle à son tour :

1° déphosphoryle l'Inhibiteur de la PP1 → active la PP1 (l'activation de la PP1 musculaire se fait donc par la « voie PP2B »)

2° déphosphoryle la sous-unité α de la glycogène phosphorylase kinase

La PP1 à son tour déphosphoryle les enzyme du métabolisme du glycogène:
la glycogène phosphorylase kinase (sous-unité β) et donc l'inactive
la glycogène phosphorylase et l'inactive
la glycogène synthase et donc l'active

Il y a arrêt de la glycogénolyse et le muscle est prêt pour une éventuelle glycogénogenèse (en attente de substrats)

Particularité du muscle : un inhibiteur spécifique de la PP1 et une PP2 phosphatase spécifique de cet inhibiteur

DANS LE FOIE :

La PP1 existe elle-même sous deux formes interconvertibles (il n'y a pas de peptide inhibiteur comme dans le muscle)

PP1 phosphorylée active

PP1 déphosphorylée inactive

La phosphorylation de la PP1 est sous le contrôle d'une protéine kinase stimulée par l'insuline (paradoxe)

Reprise alimentaire : production d'insuline → activation de la PP1

Déphosphorylation de toutes les enzymes du métabolisme du glycogène





Dans le foie, c'est majoritairement l'élévation du taux de glucose consécutif à l'alimentation qui est le facteur déclenchant de l'inactivation de la glycogénolyse et de l'activation de la glycogénogenèse :

le glucose en se fixant à la glycogène phosphorylase l'inhibe en facilitant sa transformation de R vers T

NB : c'est la même élévation du glucose due à l'activation de la gluconéogenèse qui en seconde partie de jeune ralentit la glycogénolyse

Un peu de pathologie

Les maladies du stockage du glycogène ou glycogénoses

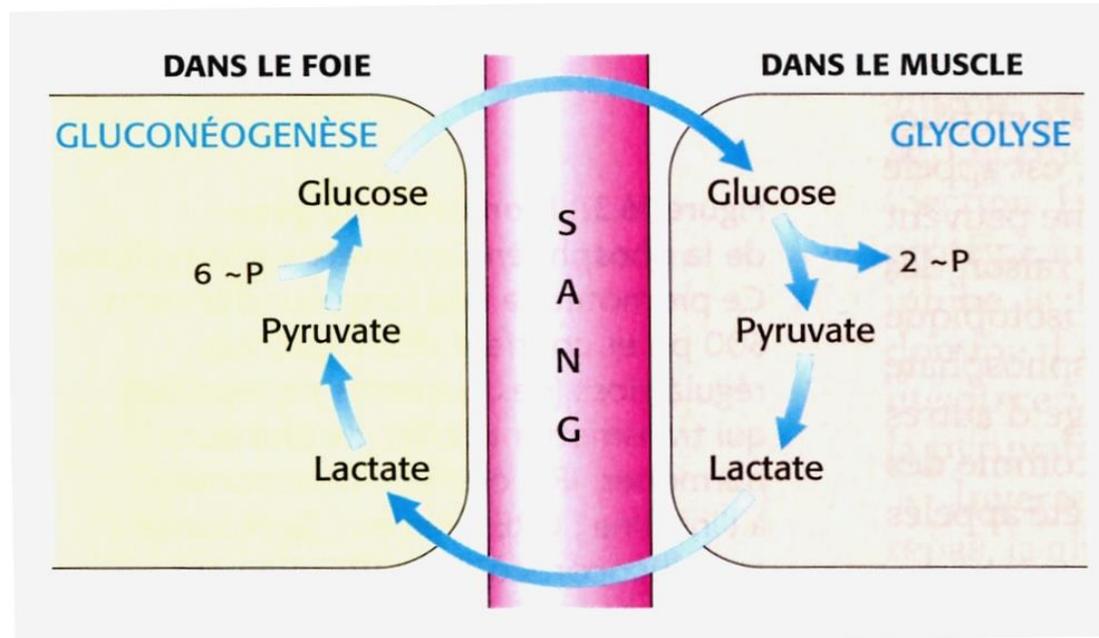
| Type | Enzyme défectueux | Organe affecté | Glycogène dans l'organe affecté | Signes cliniques |
|-------------------------------|--|------------------|---|---|
| I MALADIE DE VON GIERKE | Glucose 6-phosphatase ou système de transport | Foie et rein | Quantité augmentée ; structure normale | Augmentation massive du volume du foie. Retard de développement. Sévère hypoglycémie, cétose, hyperuricémie, hyperlipidémie |
| II MALADIE DE POMPE | α -1,4 glucosidase | Tous les organes | Augmentation massive de la quantité ; structure normale | Détresse cardiorespiratoire provoquant la mort, habituellement avant l'âge de 2 ans |
| III MALADIE DES CORI | Amylo-1,6-glucosidase (enzyme débranchant) | Muscle et foie | Quantité augmentée ; les ramifications externes sont courtes | Comme le type I, mais évolution clinique moins grave |
| IV MALADIE D'ANDERSEN | Enzyme branchant (α -1,4 \rightarrow α -1,6) | Foie et rate | Quantité normale ; les ramifications externes sont très longues | Cirrhose hépatique progressive. Insuffisance hépatique provoquant la mort, habituellement avant l'âge de 2 ans |
| V MALADIE DE McARDLE | Phosphorylase | Muscle | Augmentation modérée en quantité ; structure normale | Limitation de la réalisation d'exercices intenses en raison de crampes musculaires très douloureuses. Les patients sont par ailleurs normaux et bien développés |
| VI MALADIE DE HERS | Phosphorylase | Foie | Quantité augmentée | Comme le type I, mais évolution clinique moins grave |
| VII | Phosphofructokinase | Muscle | Quantité augmentée ; structure normale | Comme le type V |
| VIII | Phosphorylase kinase | Foie | Quantité augmentée ; structure normale | Foie modérément augmenté de volume. Hypoglycémie modérée. |

Note : les types I à VII sont des maladies à transmission autosomique, le type VIII est lié au sexe.



INTERRELATIONS METABOLIQUES

Quelques exemples d'interrelations entre tissus



Le cycle de Cori

Le lactate formé par le muscle en activité est converti en glucose par le foie qui peut alors rediriger ce glucose vers le muscle

DÉPENSE ÉNERGÉTIQUE DANS DIFFÉRENTES ACTIVITÉS

| Activités | Hommes (kcal.min ⁻¹) | Femmes (kcal.min ⁻¹) | Rapportée au poids du corps (kcal.kg ⁻¹ .min ⁻¹) |
|------------------|--|--|---|
| Basket-ball | 8,6 | 6,8 | 0,123 |
| Cyclisme | | | |
| 11 km/h | 5 | 3,9 | 0,071 |
| 16 km/h | 7,5 | 5,9 | 0,107 |
| Hand-ball | 11 | 8,6 | 0,157 |
| Course à pied | | | |
| 12 km/h | 14 | 11 | 0,200 |
| 16 km/h | 18,2 | 14,3 | 0,260 |
| Station assise | 1,7 | 1,3 | 0,024 |
| Sommeil | 1,2 | 0,9 | 0,017 |
| Station debout | 1,8 | 1,4 | 0,026 |
| Natation (crawl) | | | 0,285 |
| 5,5 km/h | 20 | 15,7 | |
| Tennis | 7,1 | 5,5 | 0,101 |
| Marche | | | 0,071 |
| 4,5 km/h | 5 | 3,9 | |
| Haltérophilie | 8,2 | 6,4 | 0,117 |
| Lutte | 13,1 | 10,3 | 0,187 |

Note . Ces valeurs sont estimées pour un sujet masculin d'environ 70 kg et pour un sujet féminin d'environ 55 kg. Elles peuvent varier considérablement d'un individu à l'autre.

Vitesse de production de l'ATP

| | Vitesse (mmol.S ⁻¹) | Réserve (mmol) |
|---|---|--------------------------|
| ATPm | 220 | 220 |
| Créatine-P | 70 | 450 |
| Glycogène musculaire Glycolyse anaérobie | 40 | 6 700 |
| Glycogène musculaire Glycolyse aérobie | 17 | 84 000 |
| Glycogène hépatique Glycolyse aérobie | 6 | 19 000 |
| Acides gras (TA) | 6,7 | 4 000 000 |

Sources énergétiques et effort musculaire

100 m



Effort musculaire bref et intense # 10 s

- ATP (une à deux secondes)
- Créatine P (quelques secondes)
- Glycolyse anaérobie à partir du glycogène
 - acide lactique → 8 mmol/L
 - acidose pH : 7,24

Effort limité dans le temps du fait des effets cytotoxiques de l'acidose métabolique.

Effort prolongé (ex d'un jogging d'une ½ heure)

- L'essentiel de l'énergie provient de la glycolyse aérobie du glucose (en fait glucose 6-P) produit par la glycogénolyse musculaire.
- Un complément d'énergie est fourni par la glycolyse aérobie après captation par le muscle du glucose circulant provenant de la glycogénolyse hépatique (activation de la glycogénolyse hépatique par les catécholamines et translocation de GLUT4 liée à l'exercice musculaire).

Sources énergétiques et effort musculaire

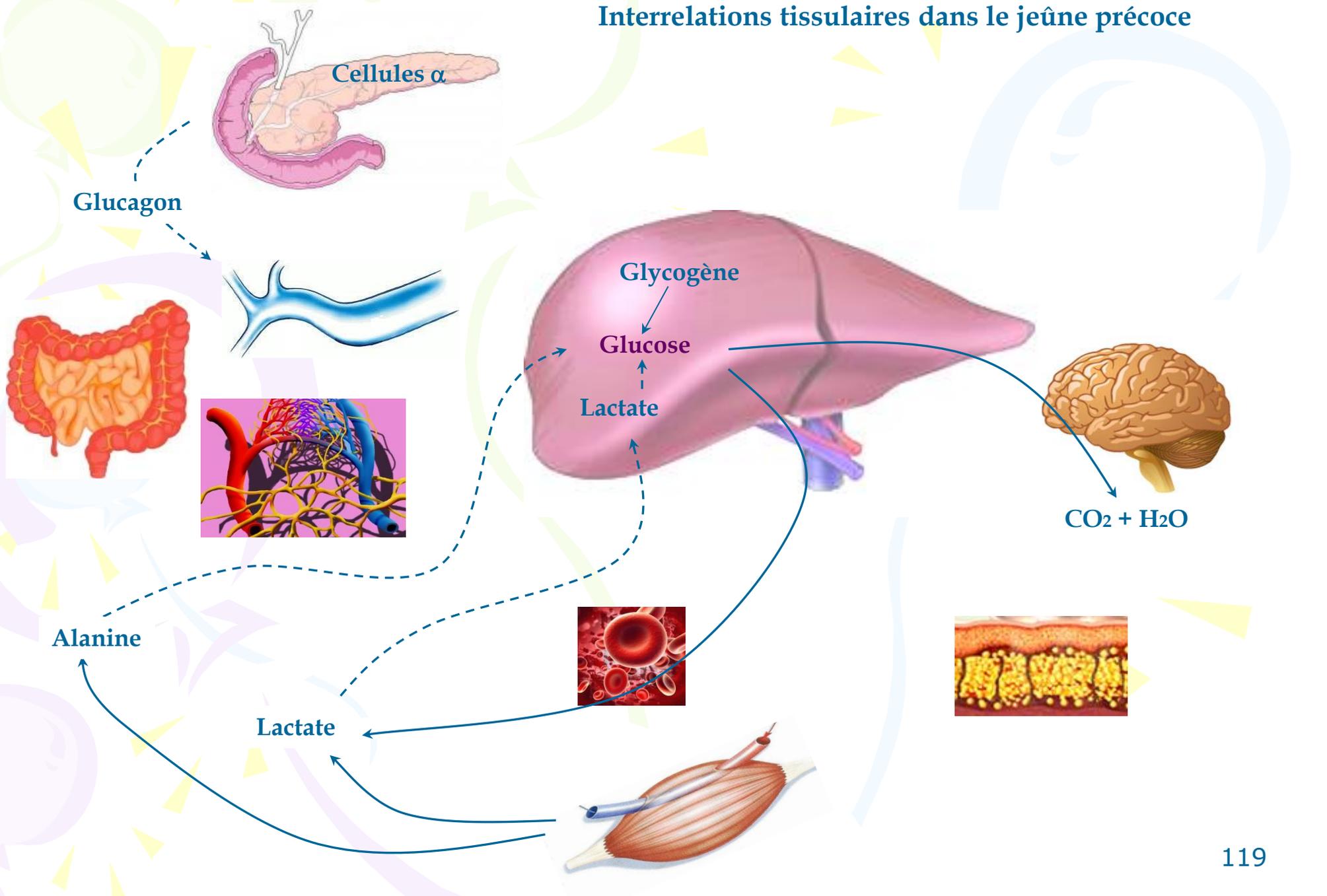
Marathon



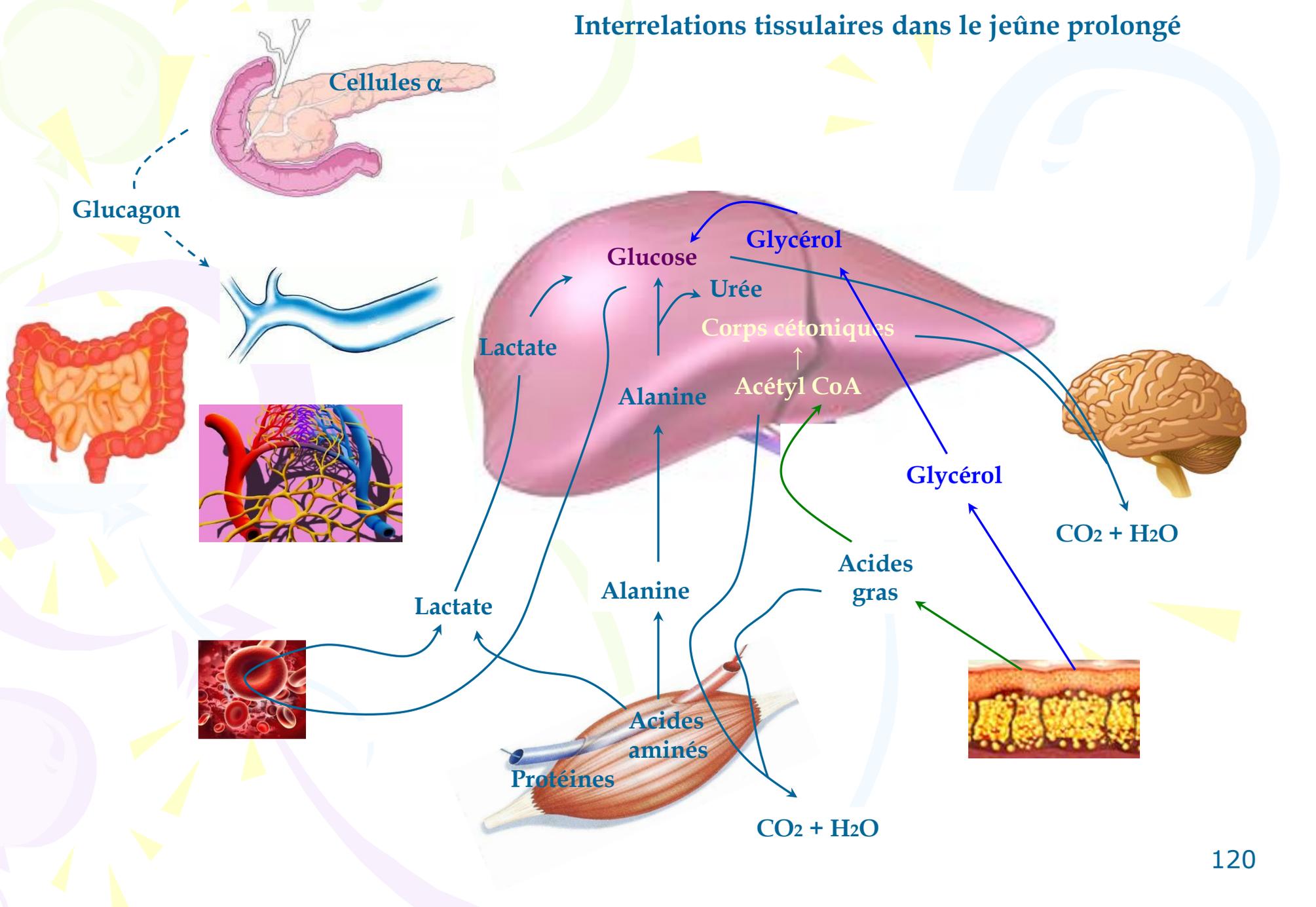
Effort musculaire prolongé > 2 h (vitesse divisée par 2)

- La réserve en glycogène (muscle + foie) est insuffisante, ne couvre que les 2/3 des besoins (100/150 moles d'ATP)
- Le recours à la β oxydation des acides gras devient obligatoire
- L'utilisation mixte (glucose et acides gras) est obligatoire et simultanée (si AG seul \rightarrow marathon dure 6 h). En pratique, l'équilibrage se fait au niveau de la pyruvate déshydrogénase qui régule l'accès de la glycolyse au cycle de Krebs en concurrence avec l'acétyl CoA provenant de la β oxydation des acides gras.

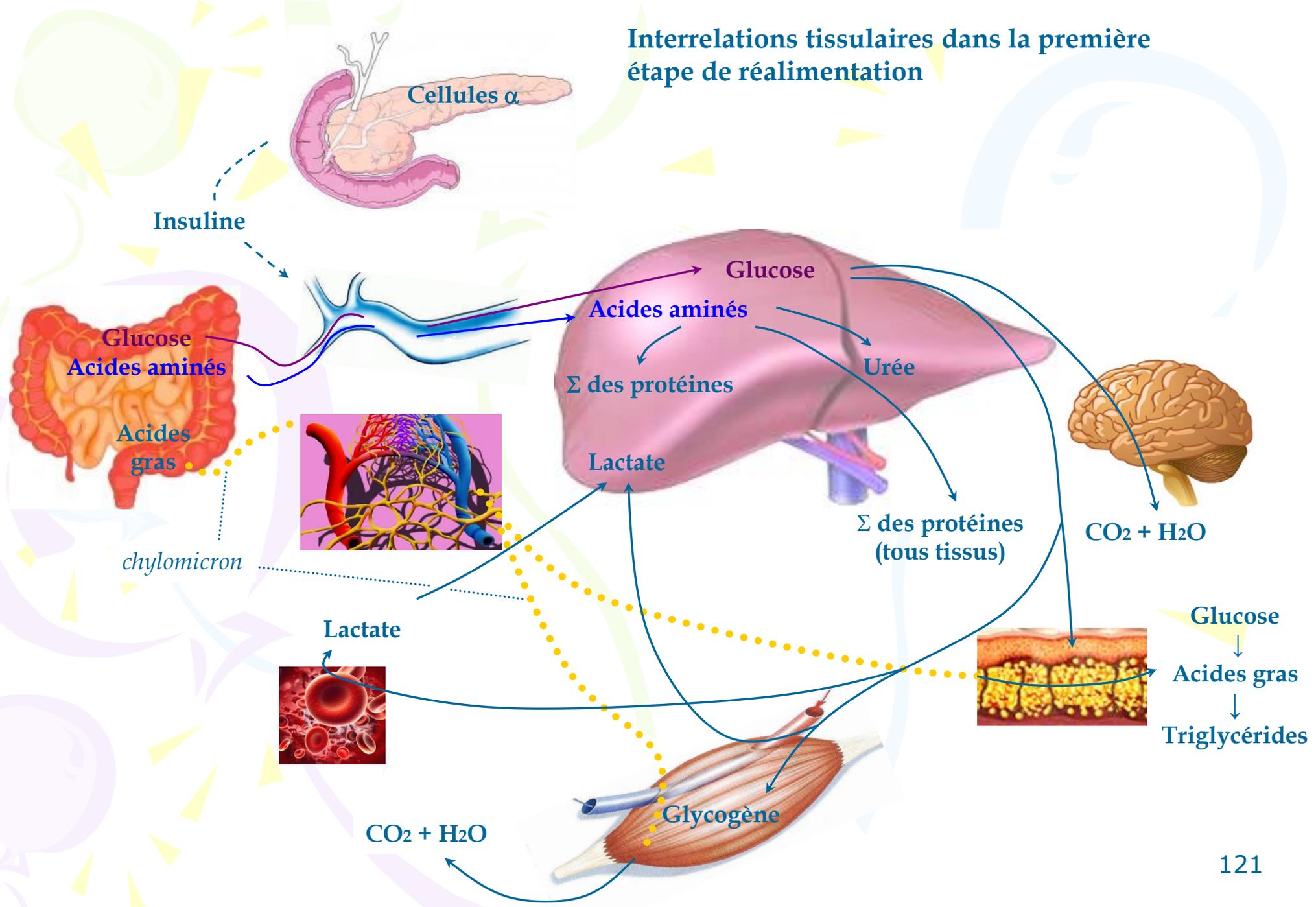
Interrelations tissulaires dans le jeûne précoce



Interrelations tissulaires dans le jeûne prolongé



Interrelations tissulaires dans la première étape de réalimentation



Interrelations tissulaires en phase post-prandiale

