

LE METABOLISME DES GLUCIDES

Le métabolisme des glucides correspond :

- ⇒ à la production de l'énergie : c'est le catabolisme des glucides aboutissant au **Pyruvate** puis au cycle du citrate en aérobiose.
- ⇒ et la mise en réserve de l'énergie : anabolisme (néosynthèse du Glc, synthèse des polysaccharides complexes).
- L'ose principal chez l'Homme et les animaux est le **Glucose** (Glc), provenant :
 - ⇒ des glucides alimentaires (Amidon, Glycogène ou saccharose)
 - ⇒ mais aussi du **Fructose** (hydrolyse du saccharose) et du **Galactose** (hydrolyse du lactose), dont les métabolismes rejoignent celui du Glc.

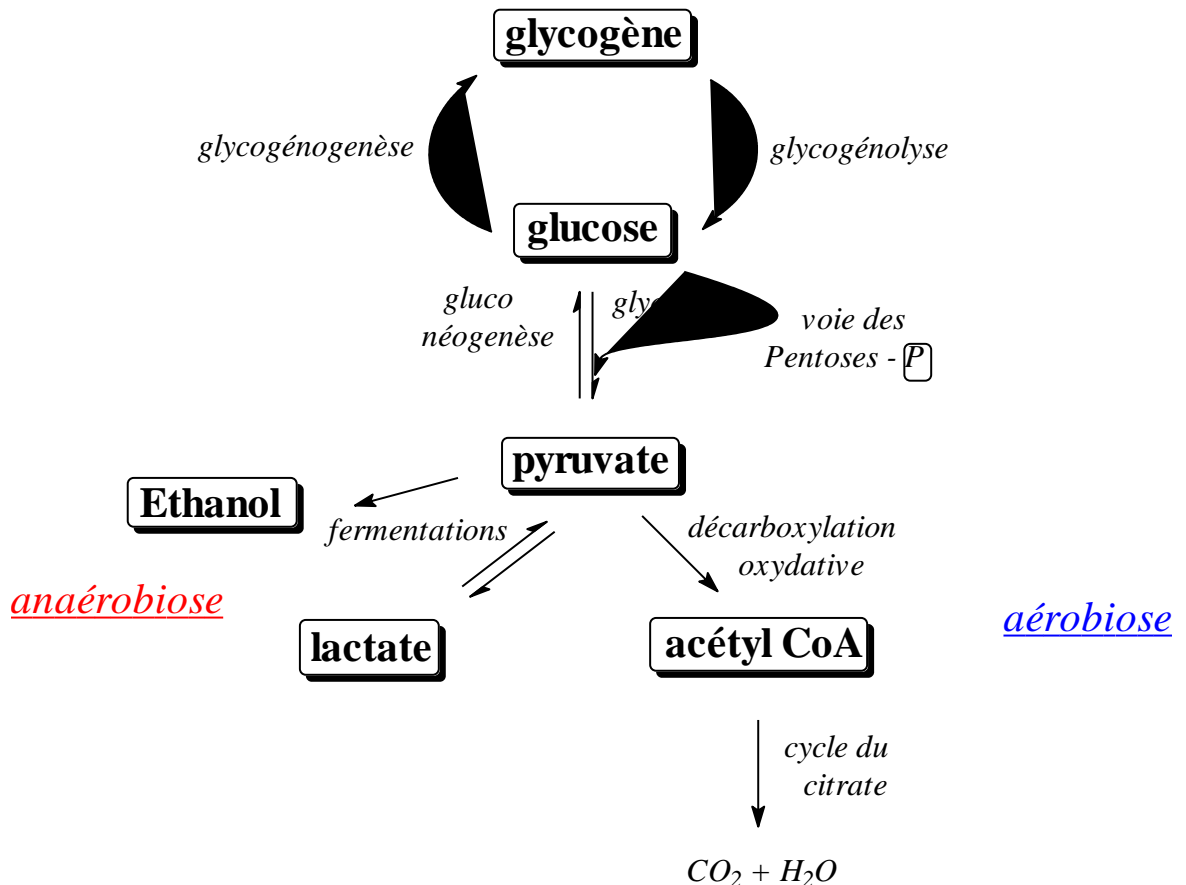
Le Glucose est à la base des principales voies du catabolisme. Toutes les cellules de l'organisme sont capables de le dégrader (de même que les bactéries) ; le Glc, en fonction des besoins, peut être :

- soit dégradé directement
- soit stocké directement sous forme de glycogène (dans les cellules animales) ou d'amidon (cellules végétales).

Il existe 2 voies de dégradation :

1 - la **Glycolyse** (appelée aussi voie d'**EMBDEN-MEYERHOFF**) aboutissant au pyruvate (en aérobiose)

2 - la voie des **Pentoses- P** (voie de **DICKENS-KORECKER**) produisant du NADPH et rejoignant la glycolyse.



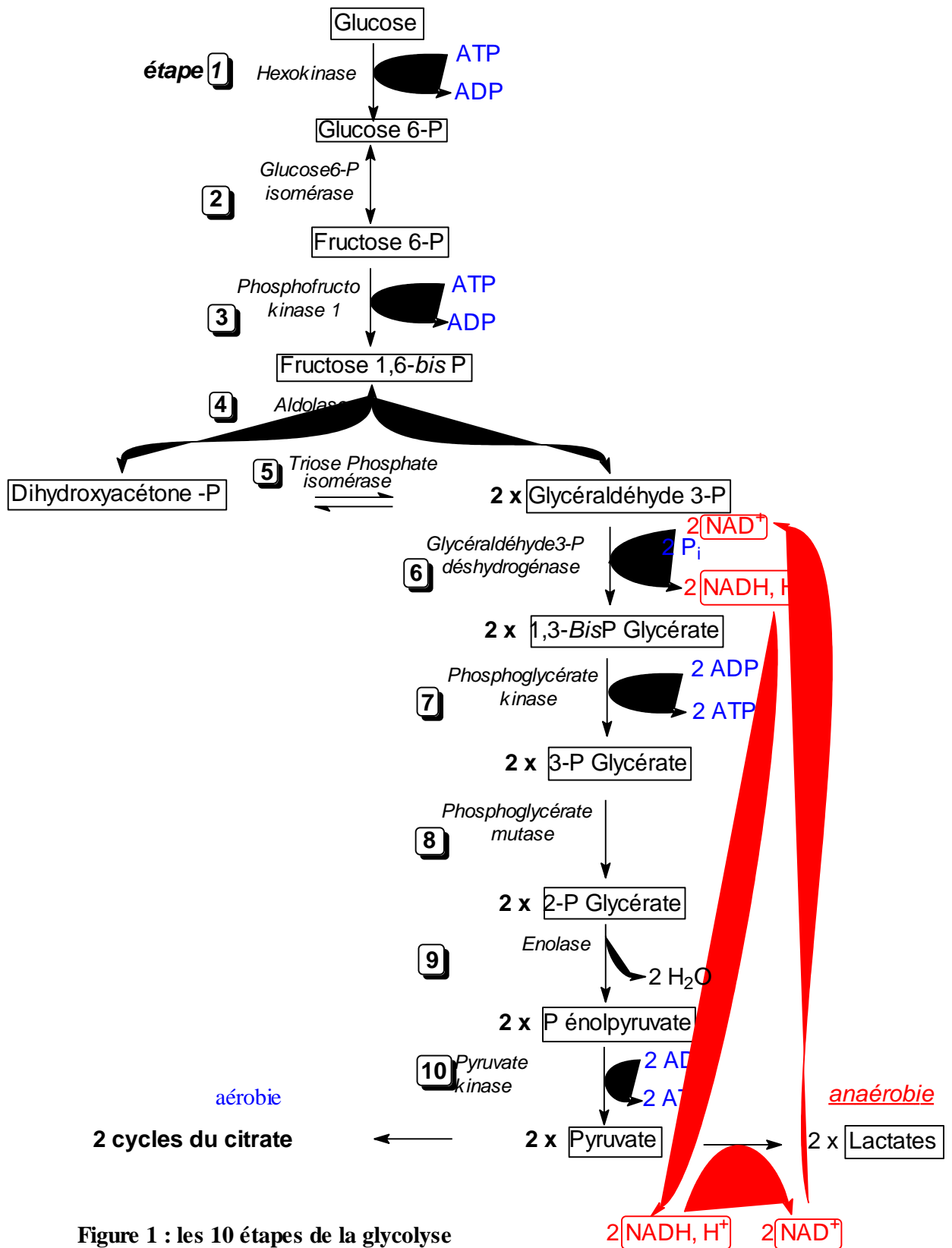
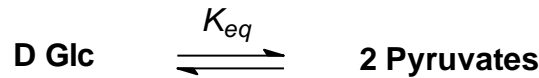


Figure 1 : les 10 étapes de la glycolyse

1- LA GLYCOLYSE

Le mot vient du grec (*glycys*) qui veut dire sucré et (*lysis*) = scission.

C'est une séquence de 10 réactions enzymatiques par lesquelles :



le $\Delta G'^{\circ}$ global est de $-8,4 \text{ Kcal.mol}^{-1}$, ce qui, à une température de 298°K correspond à une Constante d'équilibre K_{eq} de l'ordre de 10^5 . C'est donc, à priori une voie unique et irréversible.

En fait quand on compare la variation d'énergie libre réelle, le $\Delta G'^{\circ} = -17,3 \text{ Kcal/mol}$ (en tenant compte des concentrations réelles des réactifs dans la cellule).

1.1- Schéma général de la glycolyse (fig.1)

On décompose la glycolyse en 2 parties :

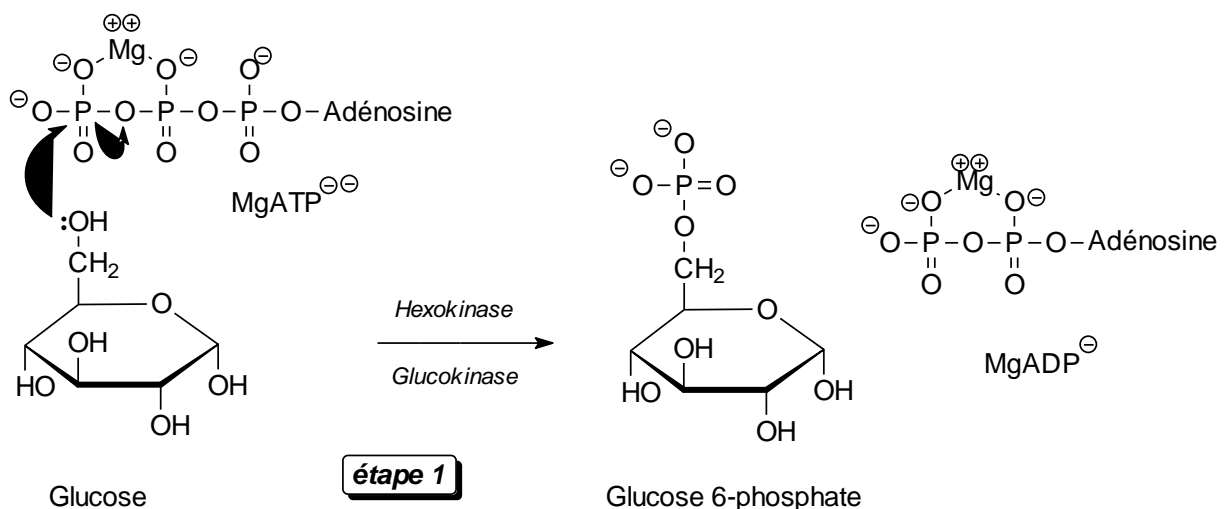
- ⇒ la première = les 3 étapes du Glucose jusqu'au Fructose 1,6-bis Phosphate (F1,6-di P). Elle correspond à la transformation de molécules à 6 carbones et elle consomme de l'ATP.
- ⇒ la deuxième (étape 4 à 10) va du Glycéraldéhyde 3 Phosphate (G-3P) jusqu'au Pyruvate. Elle correspond à la transformation de molécules à 3 carbones et à la production d'ATP. Il faut noter dans cette partie, la scission du F 1,6 diP en 2 molécules à 3 C (le P dihydroxyacétone se transformant en G-3P, on obtient 2 G-3P et cela conduit à la formation de 2 Pyruvates.

1.2- Les différentes étapes de la glycolyse

Les réactions de la glycolyse sont toutes cytoplasmiques et font intervenir des enzymes

solubles. Avant d'être transformé, le Glucose pénètre dans la cellule grâce à des transporteurs spécifiques.

2-a : étape 1 = phosphorylation du Glucose



Formation du Glucose 6-Phosphate (G 6-P). Le glucose réagit avec l'ATP pour former un ester phosphate sur la fonction alcool primaire en C-6.

L'enzyme est une Kinase (terme employé pour les enzymes chargées de greffer un Phosphate en utilisant l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP).

Cette réaction possède un $\Delta G'^{\circ} = -3,4 \text{ kcal/mol}$ dans les conditions standards ce qui la rend peu réversible. Dans les conditions réelles de concentration cellulaire ce $\Delta G'$ est encore plus bas -8 kcal la rendant totalement irréversible.

Les kinases sont au nombre de 2 et nécessitent du Mg^{++} pour stabiliser la structure de l'ATP pendant la réaction :

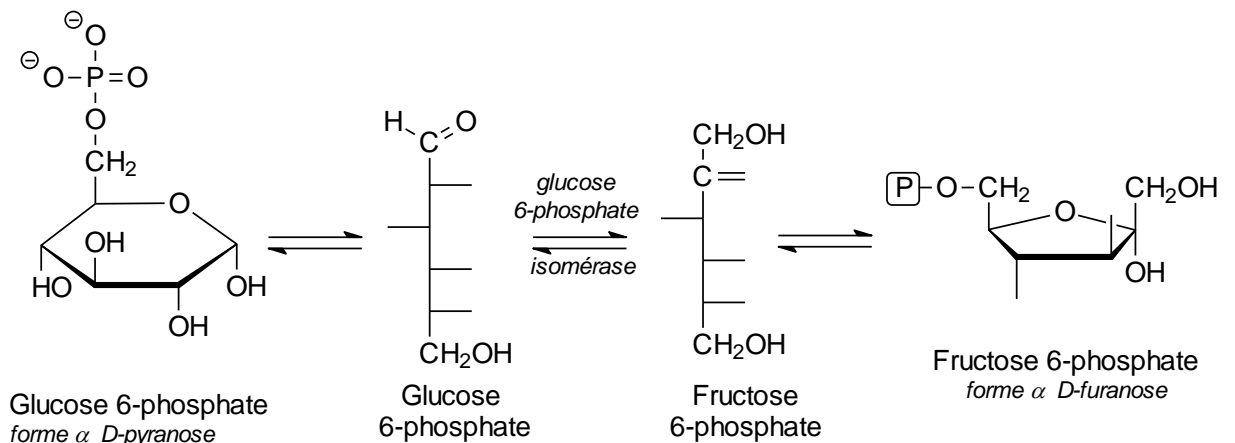
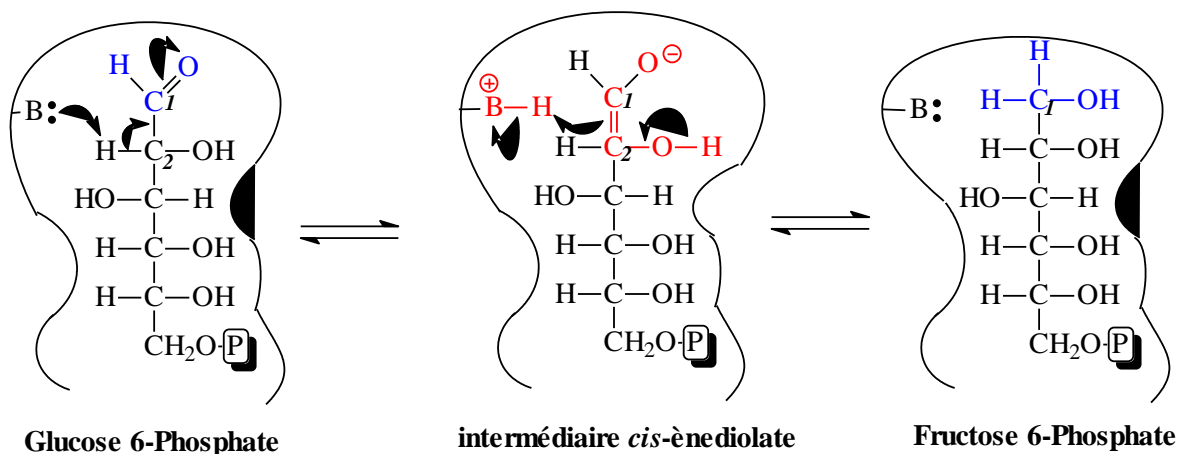
- ⇒ l'*Hexokinase* a une grande affinité ($K_m=0,1 \text{ mM}$) pour le glucose mais réagit avec un grand nombre d'hexoses (elle peut être inhibée par le G 6-P)
- ⇒ la *Glucokinase* qui possède une faible affinité ($K_m=10 \text{ mM}$) pour le glucose (non inhibée par le G 6-P, elle est présente dans le foie, mais absente dans le muscle).

2-b : isomérisation du Glucose 6-P en Fructose 6-P

Cette réaction est catalysée par la *Glucose 6-P isomérase*.

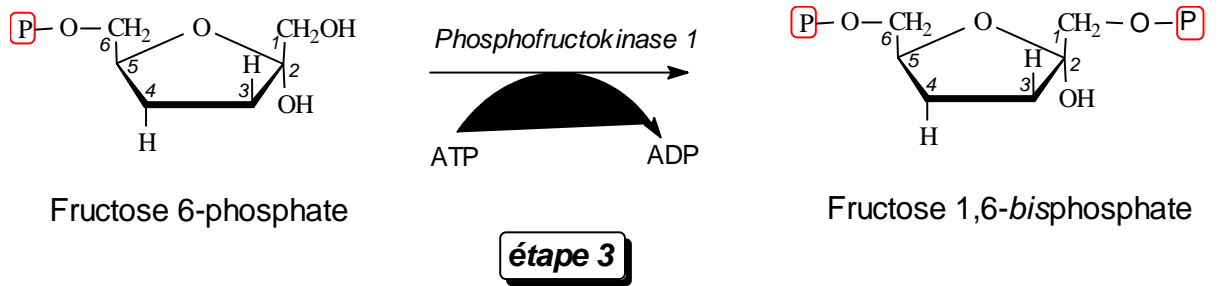
Les $\Delta G'^{\circ}$ standard (+ 0,4 kcal/mol) et réel (-0,6 kcal/mol) sont proches de 0 montrant que cette réaction est réversible.

Cette enzyme est spécifique du G 6-P et du F 6-P. Elle permet la conversion d'un aldohexose sous forme pyranose en un cétohexose sous forme furanose, en passant par un intermédiaire *enediol*.



étape 2

2-c : Etape 3 = phosphorylation du Fructose 6-P en Fructose 1,6-diP



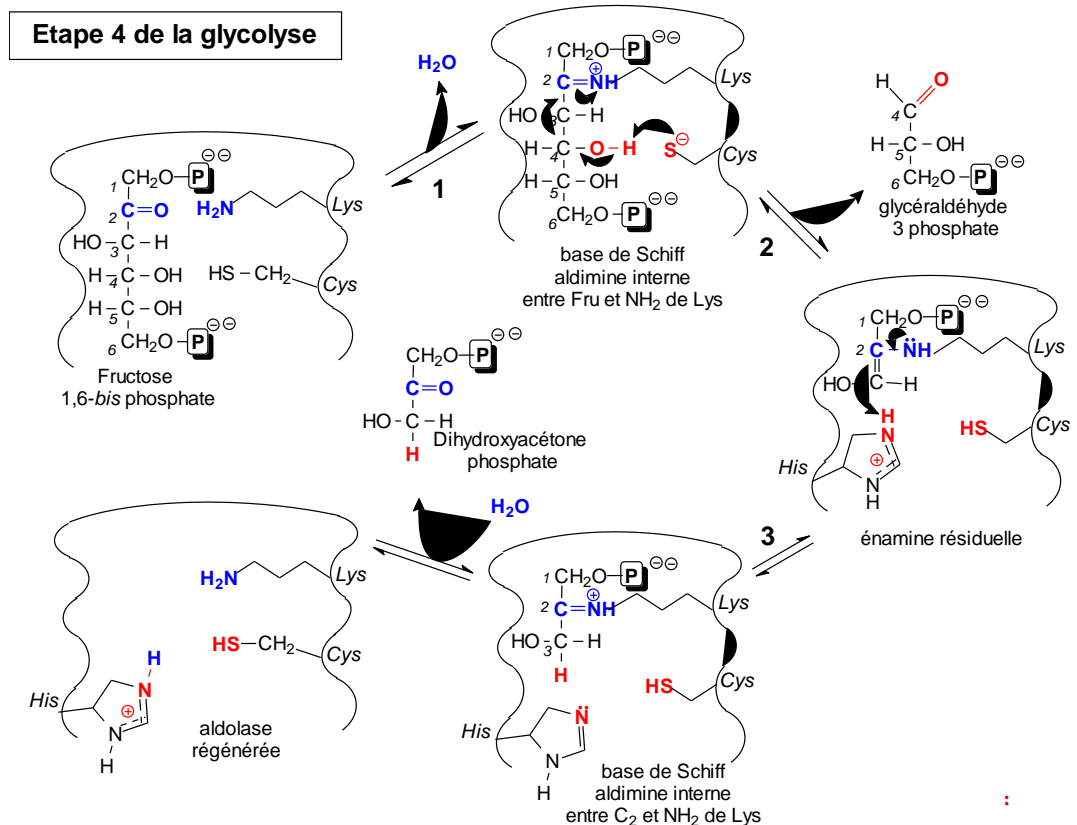
Cette réaction est catalysée par la **phospho-fructo-kinase (PFK)** en présence d'ATP (qui nécessite également un Mg^{++} comme dans l'étape 1).

La réaction est **irréversible** ($\Delta G'^{\circ} = - 3,4$ et $\Delta G'$ réel = - 5,3 kcal/mol)

Cette enzyme est une des principales voies de régulation de la glycolyse. Celle qui agit ici est la **PFK-1** (car elle greffe le phosphate sur le carbone-1).

La **PFK-2** catalyse la fixation du 2^e phosphate sur l'hydroxyle du carbone-2 (on obtient le Fructose 2,6-bisphosphate), cette molécule n'étant pas reconnue par l'enzyme suivante, la glycolyse s'arrête à cette étape.

2-d : étape 4 = clivage du Fructose 1,6-diP en 2 Trioses-P



On obtient un cétose la *dihydroxyacétone phosphate (DHAP)* et un aldose le *Glycéraldéhyde 3phosphate (G 3-P)* qui sont 2 isomères.

L'enzyme est l'*aldolase*. D'après le ΔG° (+ 5,7 kcal/mol) cette réaction est théoriquement impossible dans ce sens, mais le $\Delta G'_{réel}$ est de - 0,3 kcal/mol rendant la **réaction réversible**

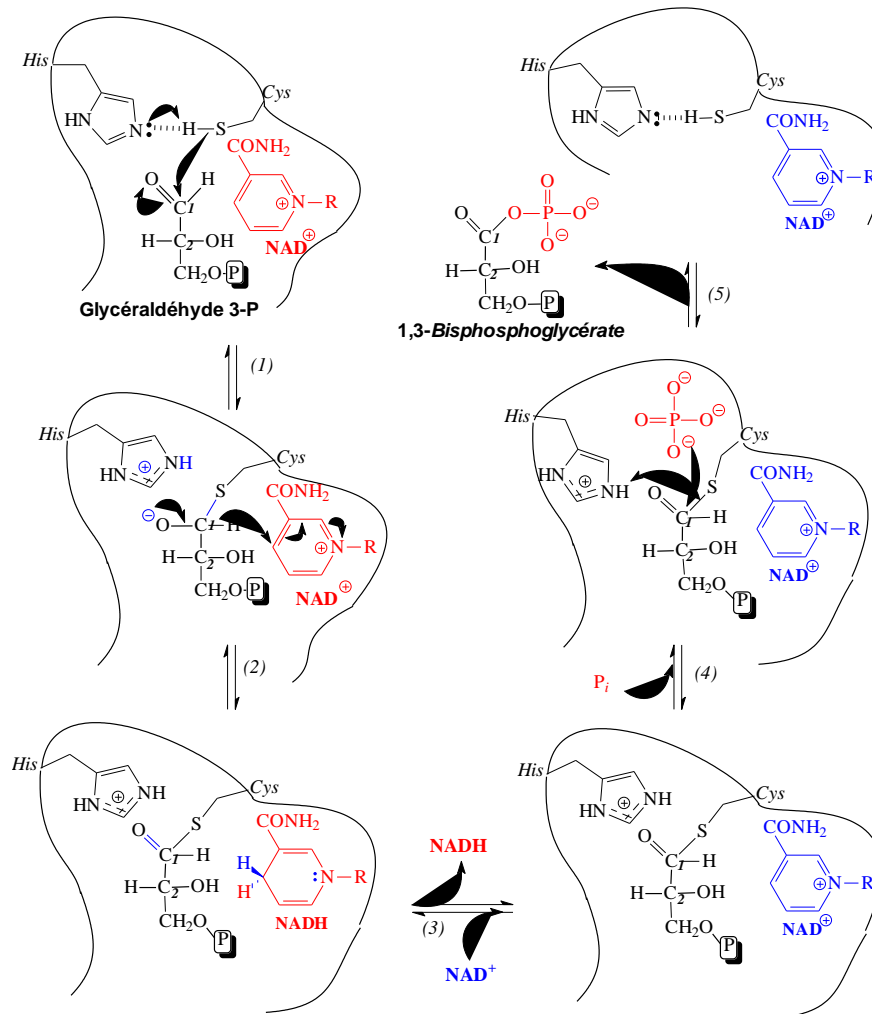
2-e : étape 5 = interconversion des trioses phosphates

La *triose phosphate isomérase* catalyse la transformation réciproque des 2 trioses-P formés. Elle possède un rôle très important dans le muscle, car seul le G 3-P est transformé dans la suite de la glycolyse. La DHAP doit donc être convertie en G 3-P.

La réaction est **rapide et réversible**. Ici aussi le ΔG est >0 . A l'équilibre il y a 96% de DHAP et seulement 4% de G 3-P. C'est l'utilisation ultérieure du G 3-P qui provoquera le déplacement de l'équilibre dans le sens transformation DHAP en G 3-P

2-f : étape 6 = oxydation du Glycéraldéhyde 3-P en 1,3-diphosphoglycérate

étape 6 de la glycolyse



C'est un couplage entre une phosphorylation et une déshydrogénation pour donner le **1,3-diphosphoglycérate (1,3-DPG)**.

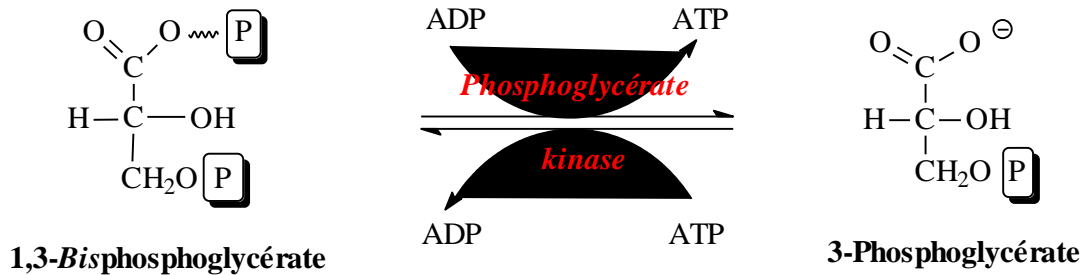
C'est la **glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase** qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction (déshydratation très exergonique permettant le transfert de phosphate qui lui est endergonique). Le bilan thermodynamique $\Delta G'_{\text{réel}}$ est proche de 0 cette réaction est donc **réversible**.

La 1^{ère} étape de ce mécanisme fait intervenir une mole de **NAD⁺**.

Cette réaction est très importante, car sans consommer d'ATP, elle permet la synthèse d'une liaison riche en énergie (**Acyl-Phosphate**) et la production d'un **NADH + H⁺**.

2-g : étape 7 : formation de 3-P glycérate et d'ATP

La **Phosphoglycérate kinase** catalyse le transfert du Phosphate de la liaison acyl-P vers l'ADP pour synthétiser une mole d'ATP (nécessite du **Mg⁺⁺**).



étape 7

Cette réaction, irréversible dans les conditions standard ($\Delta G'^{\circ} = - 4,5 \text{ kcal/mol}$) est réversible dans les conditions réelles ($\Delta G' = + 0,3 \text{ kcal/mol}$)

2-h : étape 8 = isomérisation du 3-phosphoglycérate

Le mécanisme de la conversion du 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate (chez les animaux et les levures).

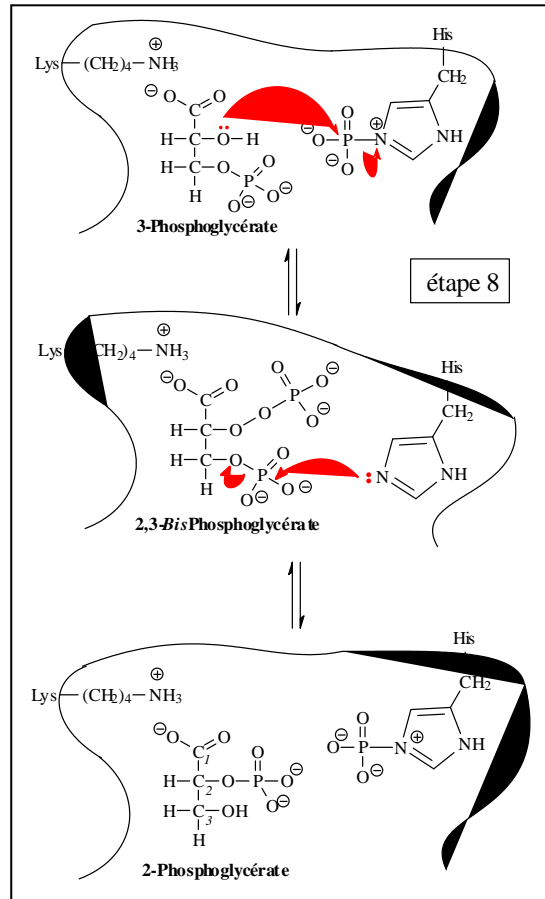
Un résidu de Lysine de l'enzyme (la **phosphoglycérate mutase**) positionne le substrat par l'intermédiaire de son carboxylate

On passe alors par un intermédiaire **2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG)** grâce à l'intervention d'un résidu d'Histidine phosphorylé du site actif de l'enzyme

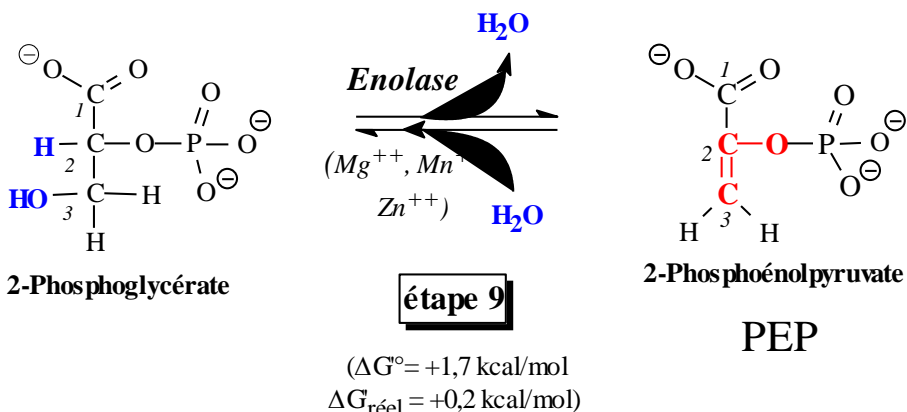
Le Phosphate se retrouve ensuite sur l'hydroxyle du C-2, on obtient le **2-phosphoglycérate (2-PG)**. L'enzyme est alors rephosphorylée et peut recommencer un cycle.

Le ΔG est proche de 0, cette réaction est réversible.

Il existe une autre voie qui fait intervenir l'intermédiaire **2,3-Bisphosphoglycérate**. Dans les globules rouges il y a conversion de **1,3-Bisphosphoglycérate (1,3BPG)** en **2,3Bisphosphoglycérate (2,3BPG)** par l'intermédiaire d'une **bisphosphoglycérate mutase**.

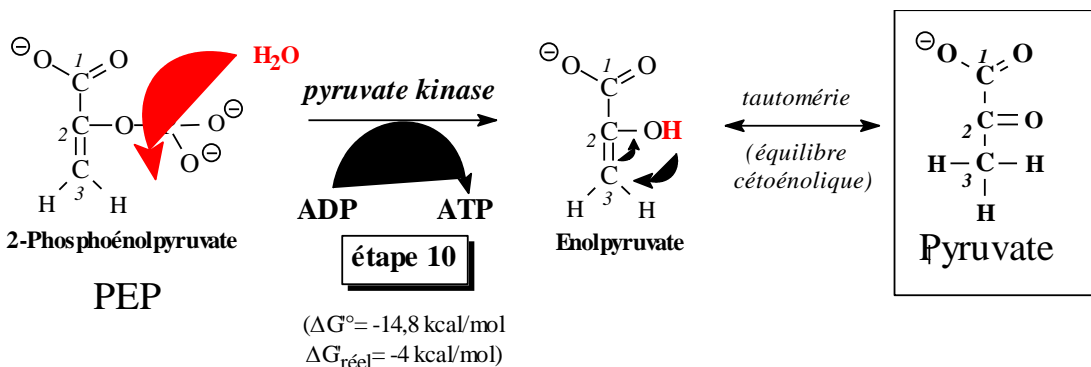


**2-i : étape 9 :
énolisation**



L'*énolase* catalyse le départ d'une mole d' H_2O pour donner le *Phosphoénolpyruvate* ou *PEP* (nécessite des ions Mg^{++} , Mn^{++} , Zn^{++}). Ce qui donne une liaison Phosphoénol qui est très riche en énergie ($\Delta G'^0 = -14,8 \text{ kcal/mol}$). Alors que l'hydrolyse de celle du 2-PG ne libère que $-4,2 \text{ kcal/mol}$. Cette réaction est aussi réversible ($\Delta G'_{\text{réel}} = +0,2 \text{ kcal/mol}$)

2-j : étape 10 = formation d'acide pyruvique et d'ATP



C'est la dernière réaction de la glycolyse qui permet le transfert du Phosphate du PEP à l'ADP pour permettre la synthèse d'ATP.

On obtient l'*énolpyruvate* qui est en équilibre avec le *pyruvate*. Le pyruvate étant plus stable est la forme majeure.

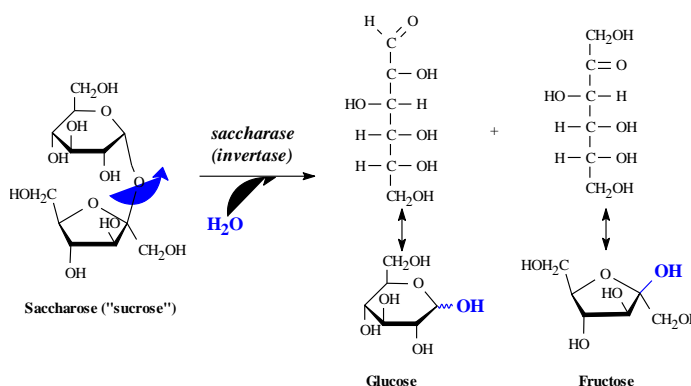
Cette réaction est catalysée par la *pyruvate kinase*. le $\Delta G'^0$ standard est parmi les plus élevés avec $-14,8 \text{ kcal/mol}$, dans les conditions physiologiques de la cellule la valeur est encore fortement négative avec un $\Delta G'_{\text{réel}}$ de -4 kcal/mol rendant cette **réaction irréversible**. Cette notion est capitale dans la compréhension des interconnexions entre les métabolismes des Glucides/lipides/protides.

1.3- Catabolisme du saccharose et du lactose

Ils sont catabolisés via la glycolyse

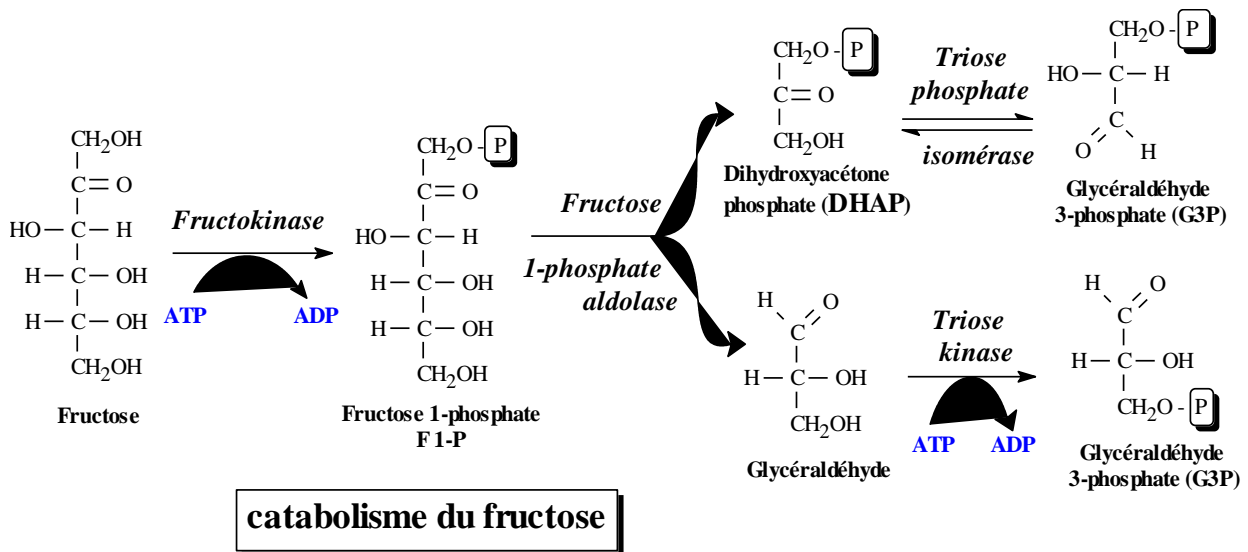
3-a : le saccharose

Il est hydrolysé par la *saccharase* (ou *invertase*) pour donner du Glucose et du fructose.



Le fructose est converti en Fructose 1-P (par l'action d'une fructokinase spécifique qui utilise 1 ATP).

Le F 1-P est ensuite clivé en DHAP et Glycéraldéhyde (ce dernier étant ensuite phosphorylé en G3-P). Le G 3-P rejoint ensuite la glycolyse normale, des même que le DHAP.



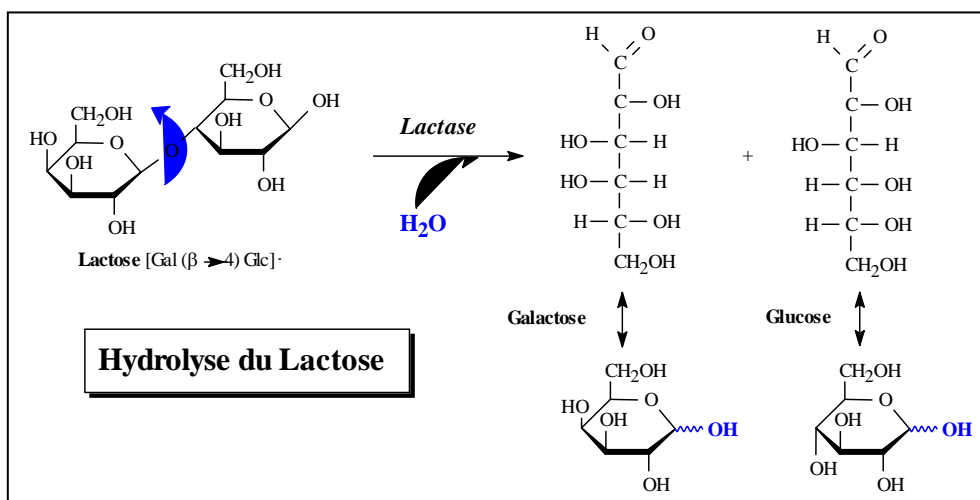
Ce **catabolisme du fructose évite l'étape n° 3** (catalysée par la **PFK-1**) qui est une des étapes régulatrices majeure de la glycolyse (**dépend d'hormone comme le Glucagon**) ce qui permet d'expliquer que les régimes riches en Saccharose et en Fructose provoquent une surproduction de pyruvate (moins de régulation) qui peut être précurseur de graisses via la fabrication d'acétyl CoA.

On constate que la production de 2 trioses phosphate (2 G3-P) à partir du Fructose consomme aussi **2 moles d'ATP**

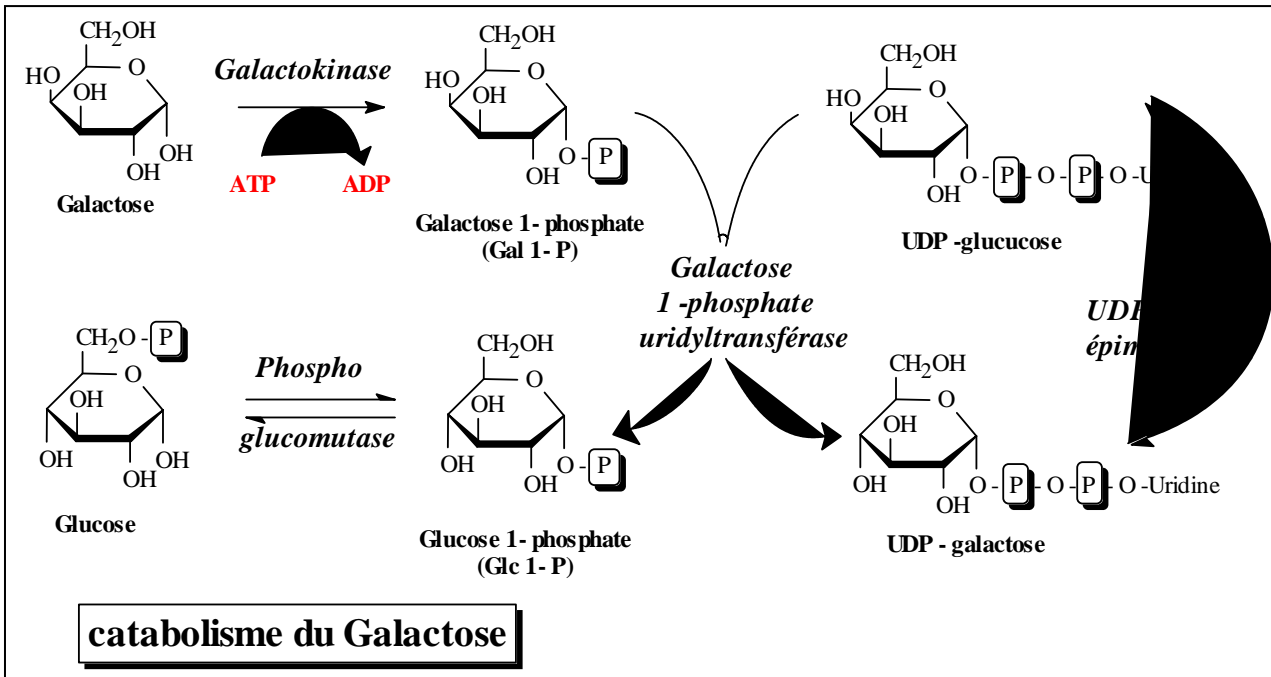
Une molécule de saccharose donnera donc naissance à 4 G3-P (en consommant 4 ATP) puis via le reste de la glycolyse à 4 moles de pyruvate.

3-b : le lactose

C'est le sucre du lait. C'est l'aliment principal des nouveau-nés chez les mammifères. Il existe une **lactase** intestinale chez les nouveau-nés (qui diminue ensuite à l'âge adulte) qui l'hydrolyse en **Galactose** et **Glucose**.



Le glucose est ensuite dégradé par glycolyse classique et le galactose est phosphorylé en Gal-1P par la *Galactokinase* (en utilisant 1 ATP). Le Gal-1P réagit avec l'*UDP-Glc* pour donner du *Glc-1P* et de l'*UDP-Gal*.



Le Glc-6 P est alors dégradé selon la suite de la glycolyse

Les désordres de ce métabolisme provoquent certaines maladies :

- **galactosémies** (déficience en *Gal 1-P Uridyl Transférase*) peut provoquer l'accumulation de Gal 1-P dans les tissus (maladie très grave)
- **intolérance au lactose** (à l'âge adulte, l'homme peut être intolérant au lactose, par suite d'une déficience en *lactase* dont le taux diminue fortement, le lactose ingéré s'accumule alors dans la lumière intestinale ce qui provoque un déséquilibre de la balance osmotique, une déshydratation des cellules de l'épithélium intestinal et des crampes abdominales). Cette intolérance au lactose existe aussi chez les nourrissons atteints de la maladie de Kwashiorkor nécessitant des « laits » spécialisés sans lactose.

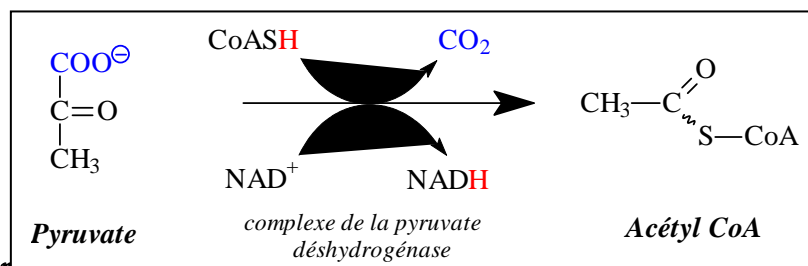
1.4- Devenir du pyruvate

4-A : EN AEROBIOSE

C'est la décarboxylation oxydative (cycle du citrate), qui fait intervenir le complexe de la pyruvate décarboxylase (Thiamine PP pour l'enzyme E1, Acide lipoiqque pour l'enzyme E2 et FAD pour l'enzyme E 3).

Le bilan de cette étape cruciale pour le métabolisme aérobie est :

- l'activation du chaînon dicarboné sous forme d'Acétyl CoA (liaison riche en énergie)
- la production d'une mole de NAD réduit



Le pyruvate produit dans le cytosol, doit d'abord rentrer dans la mitochondrie ou va s'effectuer le cycle du citrate. Ceci est réalisé par l'intermédiaire d'une translocase spécifique du pyruvate.

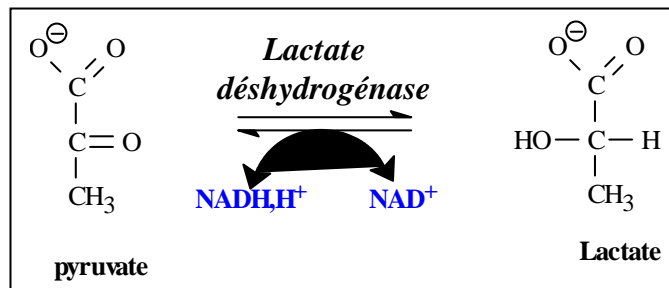
La décarboxylation oxydative ayant eu lieu l'Acétyl CoA produit entre dans le cycle du citrate (il est pris en charge par l'oxaloacétate pour donner le citrate).

4-b : en anaérobiose

b1- Réduction en lactate (fermentation lactique)

Le lactate est formé par un grand nombre de microorganismes ainsi que dans les cellules animales.

La plupart des cellules de l'organisme humain sont capables de transformer le pyruvate en lactate en absence d'oxygène grâce à la **Lactate déshydrogénase** (ou Lacticodéshydrogénase, LDH), enzyme à NAD. En anaérobiose elle utilise le NAD réduit produit au cours de l'étape 6 de la glycolyse.



Cette réaction est réversible, mais cette enzyme est constituée de 5 iso enzymes. Ces iso enzymes sont localisées différemment selon les tissus et ne catalysent pas la réaction dans le même sens.

Dans le **muscle**, *c'est la production de lactate qui sera favorisée*, lors d'efforts plus importants, quand l'apport en **oxygène est insuffisant** pour pouvoir réaliser la phosphorylation oxydative (il manque le dernier accepteur d'électrons de la chaîne).

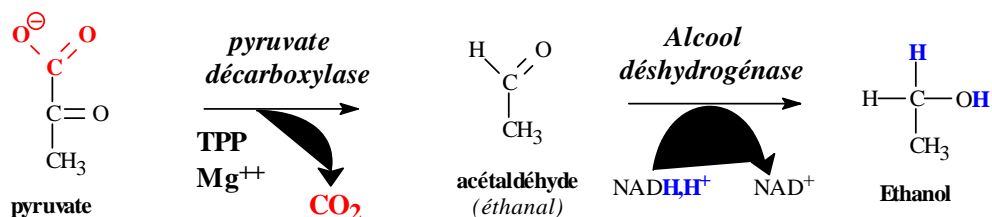
A l'arrêt de l'effort (**phase de repos** ou de récupération), le lactate va ensuite sortir de la cellule musculaire passer dans le sang et retourner dans le **foie** ou une autre forme de la LDH va le retransformer en **pyruvate** (réaction inverse étant possible dans ces conditions).

Le muscle ne pouvant pas métaboliser le lactate, lors d'efforts intenses durant des périodes trop longues, celui ci va s'accumuler dans le muscle et causer les « **crampes** », signal physiologique de l'arrêt de l'effort anaérobie.

L'excès d'acide lactique passant dans le sang provoquera une acidose (baisse du pH du sang) et une sensation de fatigue

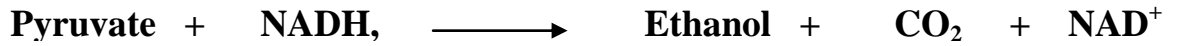
b2 : Formation d'éthanol (fermentation alcoolique)

Chez la levure, en anaérobiose, le pyruvate sera transformé en éthanol, via la formation d'acétaldéhyde (coenzyme Thiamine-PP en présence de Mg^{++}), puis réduction de l'aldéhyde en alcool par l'**Alcool déshydrogénase** (enzyme à NAD) utilisant le NADH réduit produit lors de l'étape 6 de la glycolyse (comme précédemment)



Les conditions de cette fermentation ont lieu généralement en anaérobiose, ou en aérobie si la concentration de glucose est trop importante, ce qui bloque la respiration cellulaire. La production d'éthanol permet aux levures de **régénérer le NADH formé lors de la glycolyse** qui est **la seule voie de production d'ATP en absence d'oxygène**. Sans régénération du NAD⁺ (oxydé) la glycolyse serait bloquée et les cellules mourraient.

Le bilan chimique des cette fermentation est :



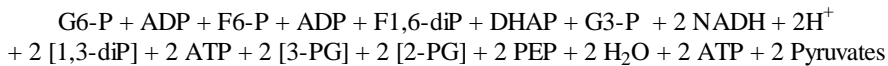
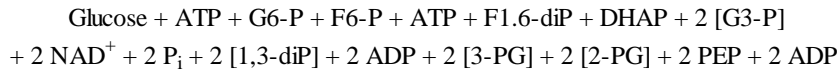
C'est cette réaction qui est utilisée pour la production d'alcool et de boissons fermentées par *saccharomyces*

A partir du Glucose on obtient :

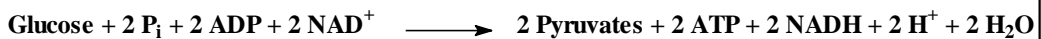


1.5- Bilan de la glycolyse

5-A : BILAN CHIMIQUE :



cette équation se simplifiant en l'équation bilan suivante



5-B : BILAN ENERGETIQUE

Il correspond à la détermination du nombre de moles d'ATP consommées et formées dans cette voie métabolique.

Ici il s'agit de la glycolyse partant du glucose libre.

La glycolyse est donc une voie énergétique car elle permet la synthèse de 2 moles d'ATP/mole d'hexose

Réaction		nb d'ATP échangés
Glc	→ G6-P	- 1
Fru diP	→ F 1,6-	- 1
2 [1,3-diPG	→ 2[3-PG]	+ 2
2 PEP	→ 2	+ 2
Pyruvates		
Bilan		+ 2

Dans le cas du Fructose et du Galactose le bilan énergétique est identique + 2 ATP (consommation de 2 ATP et production de 4 ATP/hexose). Leur catabolisme rejoignant la glycolyse (voir schéma suivant).

La différence entre la glycolyse aérobie et anaérobie viendra du **devenir du NADH, H⁺** produit à l'étape 6

On a constaté que la vitesse de consommation du glucose est beaucoup plus importante en anaérobiose qu'en présence d'oxygène. Ce phénomène est relié au **rendement énergétique de la glycolyse anaérobie** par rapport au catabolisme aérobie du glucose.

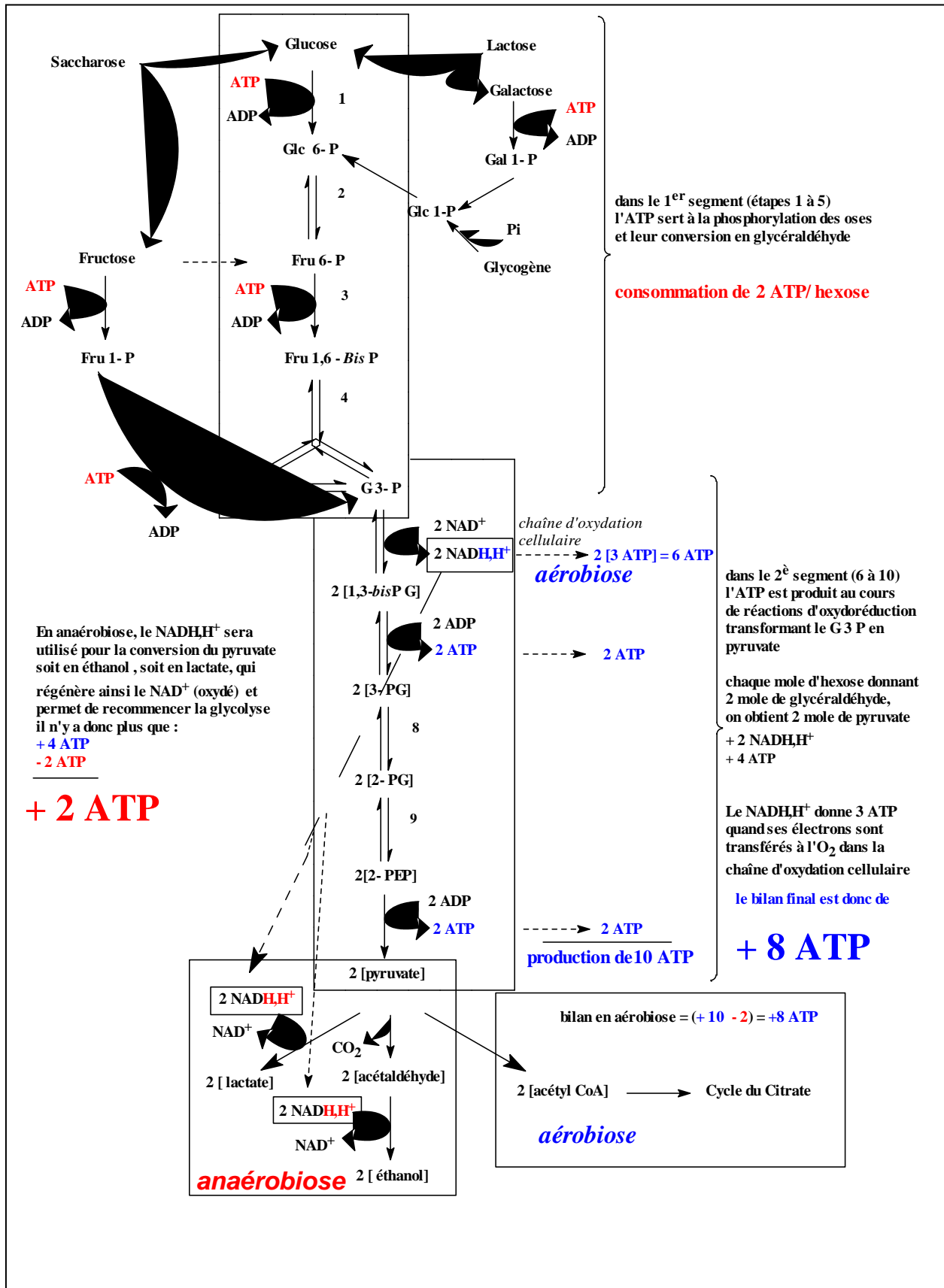
En effet le NADH, H⁺ formé peut :

- i) soit donner ses e⁻ à la chaîne d'oxydation cellulaire en présence d'O₂ accepteur final (*aérobiose*) ;
- ii) soit réduire le pyruvate en Lactate (*glycolyse anaérobie*) car il ne peut pas être pris en charge par la chaîne par manque d'O₂ accepteur.

Dans le 1^{er} cas il y aura production de **3 ATP supplémentaires/mole de NAD réduit** (soit 2x3 = 6 ATP, car 1 Glc donne 2 G3-P).

En aérobie on aura donc 2 + 6 = 8 ATP/Glc et en anaérobiose seulement 2 ATP/Glc

Schéma général du bilan de la glycolyse



2- VOIES DES PENTOSE PHOSPHATES

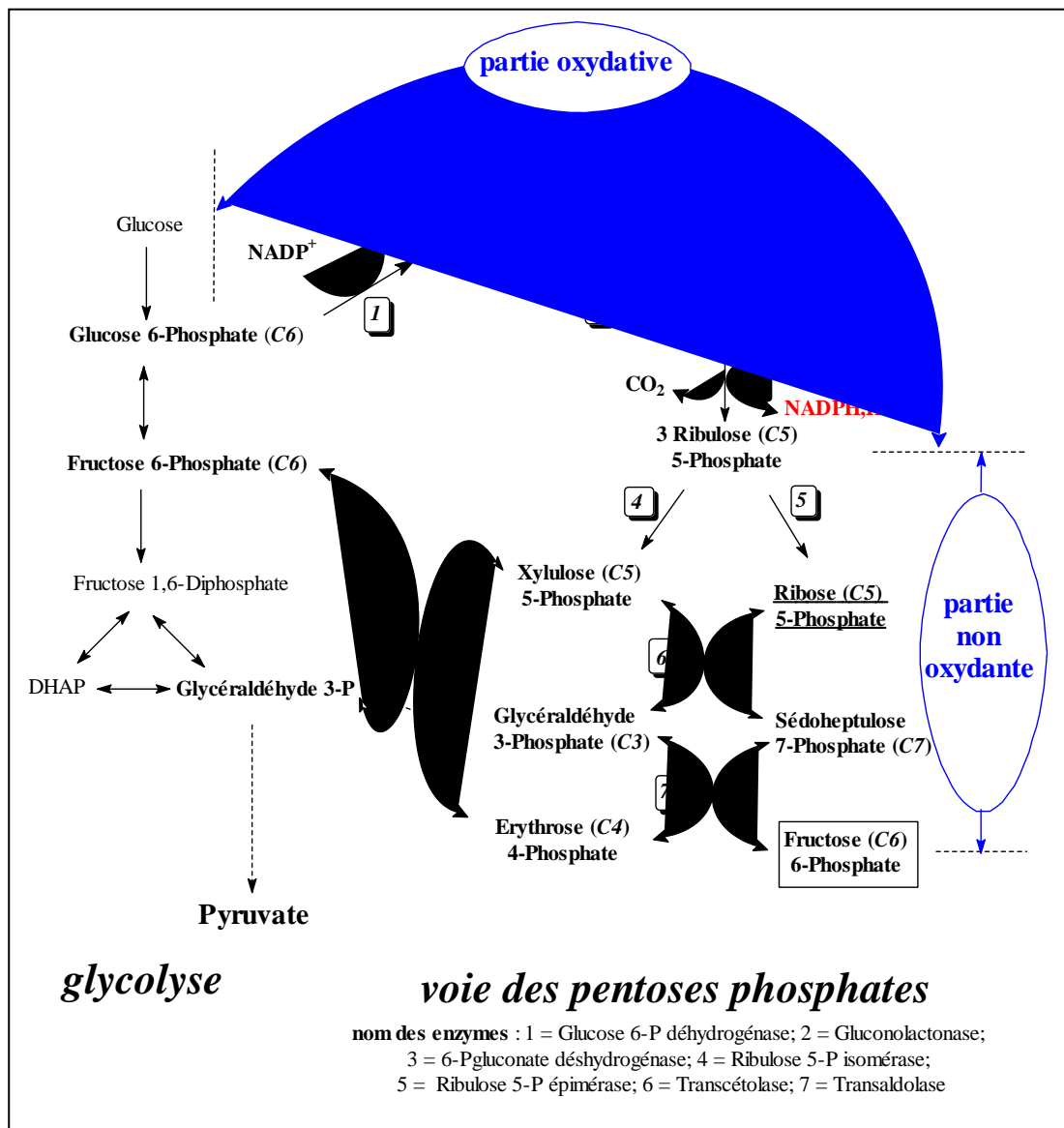
Cette voie est parallèle à la glycolyse et la rejoint. Elle possède 3 intermédiaires communs avec la glycolyse : le G 6-P, le F 6-P et le 3-PG.

2.1- Généralités

Cette voie métabolique est présente chez tous les animaux, les végétaux ainsi que presque toutes les bactéries. Bien qu'elle ne serve pas à produire de l'énergie, c'est une voie très importante car elle sert essentiellement à produire :

- Des oses (de C4 à C7) dont le **Ribose 5-phosphate** (d'où son nom) **principal précurseur des nucléotides** (ATP, mais aussi Coenzyme A et les des acides nucléiques ARN et ADN).
- et le **NADP réduit** (NADPH) qui servira de réducteur dans de nombreuses biosynthèses de molécules dont les acides gras (donc la lipogénèse).
- La production **d'hexoses** à partir de certains pentoses
- L'assimilation du CO₂ au cours du cycle de Calvin (uniquement chez les végétaux)
- La production **d'intermédiaires** intervenant dans la synthèse de **certains acides aminés**

Toutes les étapes de cette voie se déroulent dans le **cytoplasme** de la cellule.

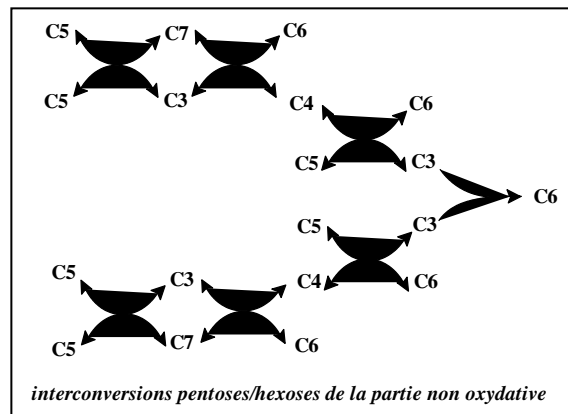


Les enzymes des étapes 1 à 3 participent à la part oxydative, celles des étapes 4 à 7 à la part non oxydative. Les activités des étapes 6 et 7 (transcétolases et transaldolase) sont spécifiques de cette voie (et non les autres).

Lors de la partie oxydative il y a formation de 2 moles de NADPH, H⁺ et décarboxylation pour obtenir un pentose le Ribulose 5-P. Celui ci conduit au Ribose 5-P, précurseur des Ribonucléotides et Désoxyribonucléotides.

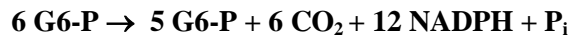
La partie non oxydative permet de retrouver les intermédiaires de la Glycolyse (G 3-P et F 6-P) et de redonner du Glc 6-P par néoglucogénèse.

Si on résume de manière simplifiée on peut constater que deux groupes d'inter conversions non oxydatives rendent possible la formation de 5 oses en C6, à partir de 6 Oses en C5



Ces 6 oses en C5 (Ribulose 5-P) proviennent de 5 Glc 6-P.

On obtient donc un cycle dont le bilan chimique global est donc :

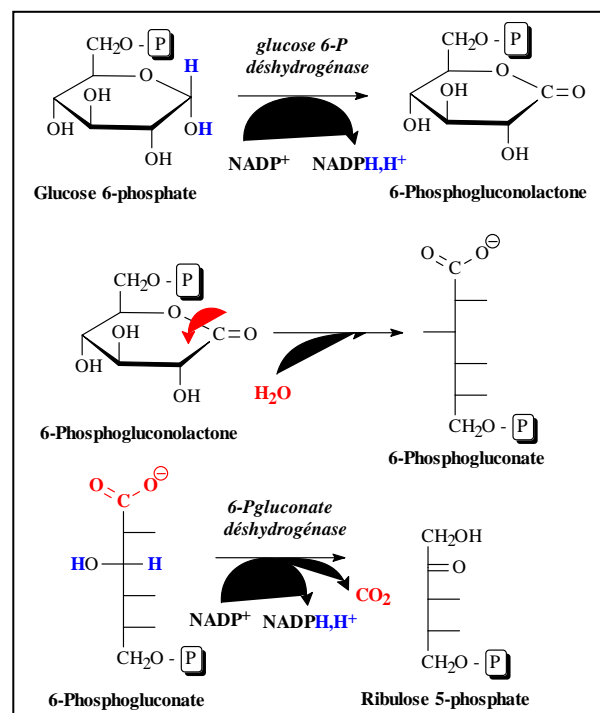


Cette voie est particulièrement active dans certains tissus chez les mammifères, notamment dans la glande mammaire et le tissu adipeux.

2.2- Partie oxydative

La voie des pentoses commence à partir du G 6-P, par l'oxydation du C₁. Réaction catalysée par la Glucose 6-P déshydrogénase dont le coenzyme est le NADP⁺. On obtient une lactone (ester interne entre la fonction acide en C₁ et la fonction alcool en C₅) et la formation de la 1^{ère} mole de NADPH, H⁺.

La 2^e étape consiste en l'hydrolyse de cet ester avec ouverture du pont oxydique pour conduire au 6-Phosphogluconate, par l'intermédiaire d'une lactonase



La 3^e étape consiste en une décarboxylation oxydative, encore par l'intermédiaire du NADP oxydé, coenzyme de la 6-Phosphogluconate déshydrogénase. Il y a libération de CO₂ et production d'une 2^e mole de NADPH, H⁺.

On obtient un ose en C5, le ribulose 5-P, premier pentose de la série. Ces trois premières étapes sont irréversibles dans les conditions de la cellule.

2.3- Partie non oxydative

Toutes les réactions suivantes mettant en jeu des Pentoses, des hexoses ou des trioses sont réversibles.

Le Ribulose 5-P subit ensuite une épimérisation en Xylulose 5-P et une isomérisation en Ribose 5-P.

Cette réaction permet la transformation d'un cétose en aldose. Il faut 2 moles de Ribulose pour obtenir Un Xylulose et Une Ribose 5-P.

Le Ribose 5-P est généralement utilisé pour la Biosynthèse de l'ATP et des acides Nucléiques, mais il peut également servir à la synthèse de plusieurs autres oses qui permettent de réintégrer la voie de la Glycolyse.

La transcétolase catalyse le transfert de 2C d'un cétose phosphate sur un aldose phosphate (par l'intermédiaire de la Thiamine pyrophosphate = TPP). Elle agit à l'étape 6 : C5 + C5 = C3 + C7 (Xylulose 5-P + Ribose 5-P donne du G 3-P + du Sédoheptulose 7-P). Elle intervient une 2^e fois lors 2C seront transférés du Xylulose 5-P à l'Erythrose 4-P (C5 + C4 = C3 + C6).

La transaldolase transfère sans coenzyme 3C du Sédoheptulose 7-P sur le G 3-P (C7 + C3 = C4 + C6). L'érythrose 4-P formé est un précurseur des acides aminés aromatiques. Le Fructose 6-P rejoint la Glycolyse.

3- METABOLISME DU GLYCOGENE

Le métabolisme du Glucose occupant une place stratégique dans le métabolisme énergétique de la cellule.

Cette homéostasie du Glucose provient en grande partie de l'ajustement entre synthèse et dégradation de polysaccharides de réserve du glucose **Glycogène** (animaux mais aussi certaines bactéries et champignons) ou **amidon** (plantes).

- biosynthèse du glycogène : **Glycogénogenèse**
- dégradation du glycogène : **Glycogénolyse**

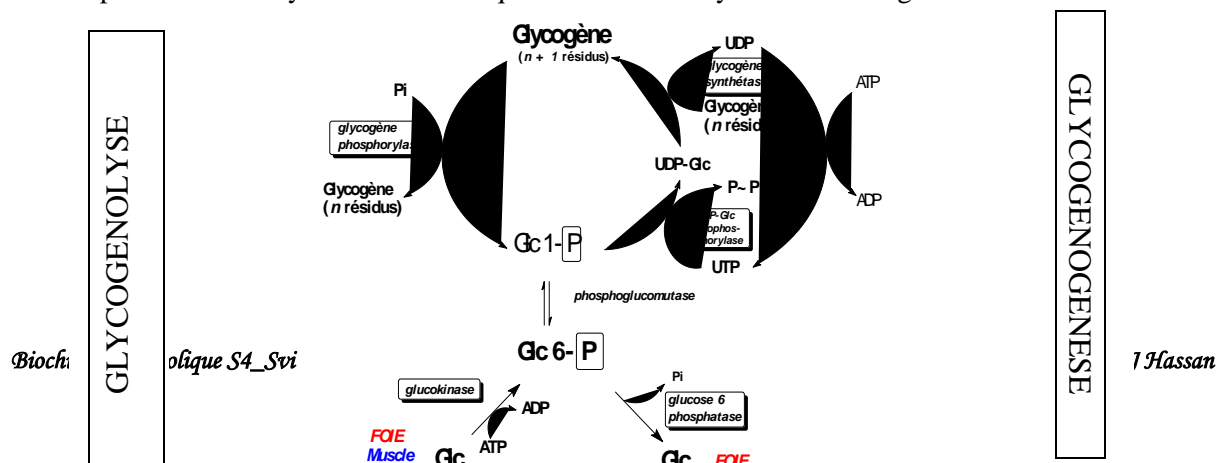
Mais aussi de la synthèse de Glucose à partir de précurseurs non glucidiques : **Gluconéogenèse** (voie inverse de la glycolyse), ainsi que son utilisation dans la voie des pentoses-P.

Ces 3 voies métaboliques sont étroitement reliées (ainsi que la glycolyse) et ajustées à chaque instant aux besoins de l'organisme.

3.1- Schéma général du métabolisme du glycogène

Chez les vertébrés, le glycogène est surtout concentré dans les muscles et dans le Foie. Les enzymes sont identiques **mais** peuvent présenter des mécanismes de régulations différents.

Ce sont par contre 2 enzymes différentes qui assurent la biosynthèse et la dégradation du glycogène.



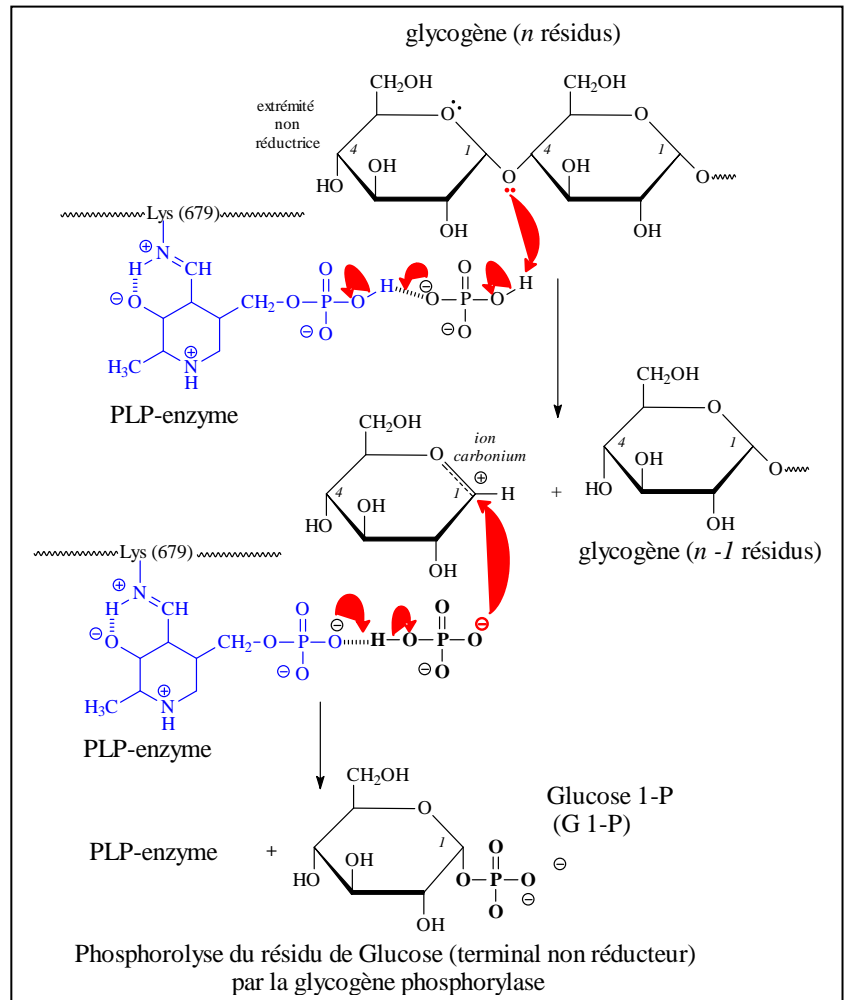
3.2- La glycogénolyse : source majeure de Glucose

Les résidus de Glucose des branches externes du polysaccharide sont libérés par l'action combinée de 2 enzymes :

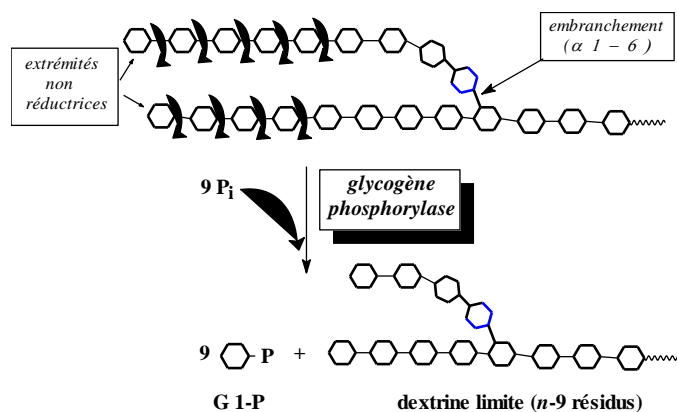
- la **Glycogène phosphorylase** (ou Amidon phosphorylase chez les plantes) qui hydrolyse les liaisons (α 1-4) pour donner du Glc 1-P
- une **enzyme débranchante bifonctionnelle** qui possède une activité **4- α -glucanase** qui transfère un maltotriose sur l'extrémité non réductrice de la chaîne et une activité (**α 1-6**) **glycosidase** qui détache le point de branchement en (α 1-6).

La glycogène phosphorylase nécessite comme coenzyme le **Pyridoxal phosphate** ou PLP (formé à partir de la vitamine B6). L'enzyme est dimérique (chaque monomère possède une masse de 97 kDa) et allostérique. Un site de liaison de l'activateur allostérique AMP s'étend sur les 2 monomères. Sous forme monomérique, l'enzyme est inactive.

Le mécanisme d'action de la 1^{ère} étape est une phosphorolyse, fixation de P_i sans intervention d'ATP détaillée dans le schéma ci-contre



La glycogène phosphorylase catalyse un **clivage phosphorolytique** récurrent des liaisons glucosidiques α -(1-4) à partir des extrémités non réductrices des chaînes de glycogène. Elle ne s'arrête qu'à 4 résidus d'un point de branchement α -(1-6). Chaque résidu de Glucose est transformé en une molécule de Glucose 1-P par la glycogène phosphorylase.



1^{ère} étape : phosphorolyse des extrémités jusqu'à 4 résidus d'un embranchement

Dans le cas ci-contre on obtient 9 G1-P.

La phosphorylase ne peut continuer son action qu'après **l'élimination du branchement en α -(1-6)**. Ceci est réalisée en 2 étapes par l'enzyme de débranchement. Les 2 activités sont catalysées par la même enzyme dont l'action est résumée dans le schéma ci-contre. L'activité **4- α -glucanotransférase** catalyse le transfert d'un maltotriose porté par une des branches de dextrine limite vers l'extrémité C₄ resté libre d'une molécule de glycogène.

L'activité **amylo-1,6-glucosidase** catalyse la libération du résidu glucose restant lié par une liaison α -(1-6).

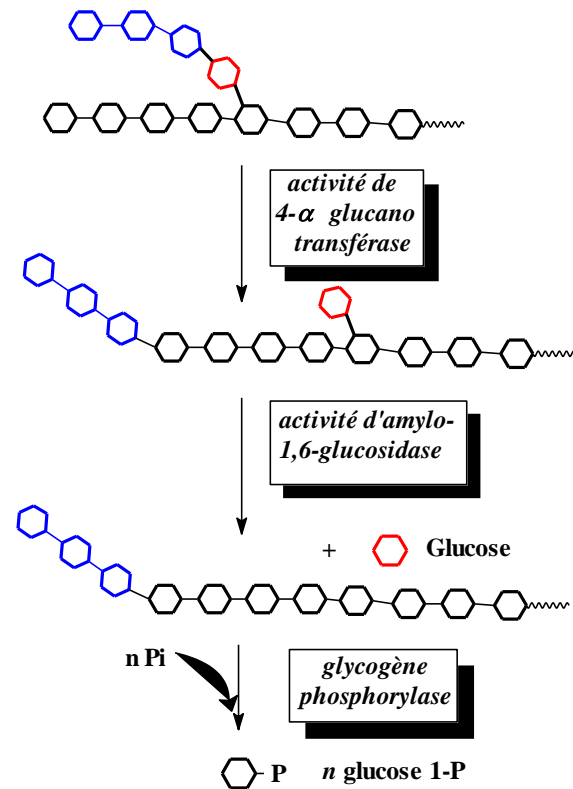
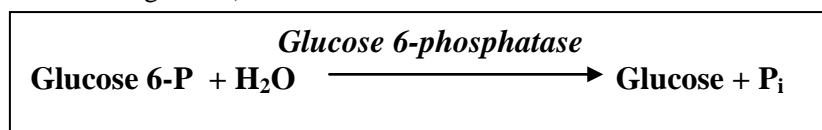
On obtient alors une nouvelle chaîne de Glc lié en α -(1-4) suffisamment longue pour être dégradée par la glycogène phosphorylase et obtenir à nouveau du Glucose 1-P.

Au niveau du bilan chimique il se forme une mole de Glucose libre par branche de polyoside initial et un très grand nombre de moles de Glucose 1-P.

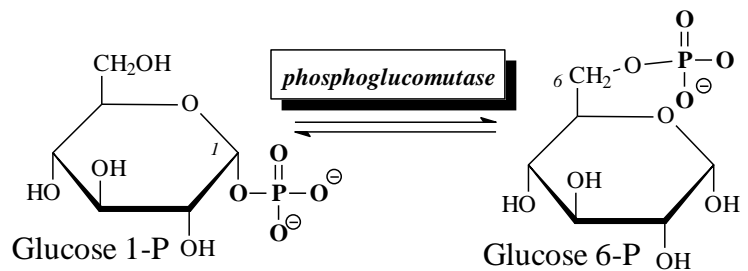
Dans la cellule, le **glucose 1-P** se transforme rapidement en **Glucose 6-P** sous l'action de la **phosphoglucomutase** (réaction quasiment à l'équilibre et donc très facilement réversible). Le G 6-P se retrouve dans de nombreuses voies métaboliques cellulaires, dont :

- la glycolyse
- la synthèse de glycogène
- la voie des pentoses -P

Dans le **foie** le produit ultime sera le Glucose libéré par la Glucose 6-phosphatase, ce glucose pourra ainsi sortir de la cellule et aller dans le sang. Il fournira ainsi du glucose aux autres tissus (dont le cerveau gros consommateur de glucose).



2^e étape : effet de l'enzyme de débranchement



Par contre, cette réaction ne sera pas possible dans le **muscle**. Le glycogène musculaire servant à fournir du Glucose 6-P qui rentrera dans la glycolyse pour fournir ensuite l'ATP nécessaire à la contraction musculaire. D'ailleurs, lors de contractions musculaires en anaérobiose, le glycogène musculaire sera la seule source d'ATP via la glycolyse anaérobie (phase anaérobie lactique).

Si on calcule le **bilan énergétique de la dégradation du Glycogène** par Glycogénolyse et puis du Glucose via la glycolyse, le cycle du citrate et la phosphorylation oxydative, on constate qu'il y a consommation de 1 ATP en moins (étape 1 de la glycolyse est « shuntée ») car on obtient directement le G 6-P. Le bilan sera donc de :

- $38 + 1 = 39$ ATP / résidu de glucose en aérobose
- $2 + 1 = 3$ ATP / résidu de Glucose en anaérobiose

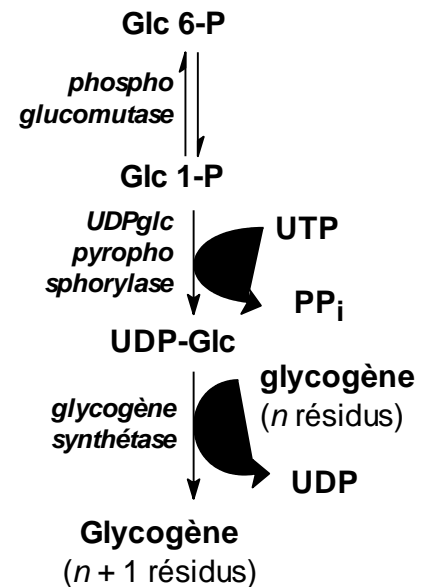
3.3- La glycogénogenèse

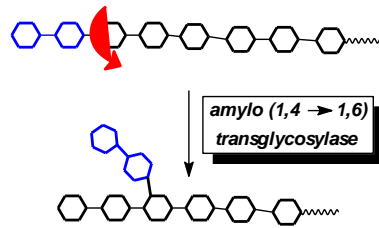
La synthèse du glycogène s'effectue à partir du Glucose par une voie différente de sa dégradation (ce qui permettra la régulation). L'enzyme qui catalyse cette réaction est la Glycogène synthétase qui nécessite en fait 3 réactions enzymatiques successives.

Tout d'abord, le Glucose 6-P (venant soit de la gluconéogenèse, soit du glucose phosphorylé par l'hexokinase) doit être transformé par la **phosphoglucomutase** (même enzyme que dans la glycogénolyse). Cette réaction étant équilibrée, seules les concentrations des métabolites indiqueront le sens de la réaction.

Ensuite, le G 1-P sera activé par l'UTP pour former l'UDP-Glucose et du pyrophosphate inorganique (PPi), réaction catalysée par l'**UDP-Glucose pyrophosphorylase**. Le P~Pi libéré est immédiatement hydrolysé par une **pyrophosphatase inorganique** en 2 Pi. Cette hydrolyse du PPi est très **exergonique** et explique l'irréversibilité de la réaction de formation de l'UDP-Glc.

Enfin à la dernière étape, la glycogène synthétase catalyse l'addition du groupement Glucose de l'UDP-Glc à l'extrémité non réductrice d'une chaîne amorce de glycogène. Cette amorce comporte au minimum 4 résidus glucose liés en α -(1-4) et au maximum 8 résidus, portée par une protéine la **Glycogénine** (liaison O glycosidique avec une Tyr). L'amorce se constitue en 2 étapes, tout d'abord la fixation d'un premier résidu de Glucose sur la glycogénine (par l'intermédiaire d'une glucosyltransférase spécifique et avec l'UDP-G comme donneur), puis ensuite par l'apport de 7 UDP-Glucose sous l'action de la glycogénine elle-même (qui sert donc d'amorce et d'enzyme). La glycogène synthétase agrandit ensuite l'amorce de glycogène (de façon linéaire liaisons α (1-4)). Il existe donc une seule mole de glycogénine par mole de glycogène (au maximum 60 000 résidus de glucose). Les branchements en α (1-6) sont réalisés par une autre enzyme l'**amylo-(1,4 - 1,6)-transglycosylase** aussi appelée **enzyme de branchement**.





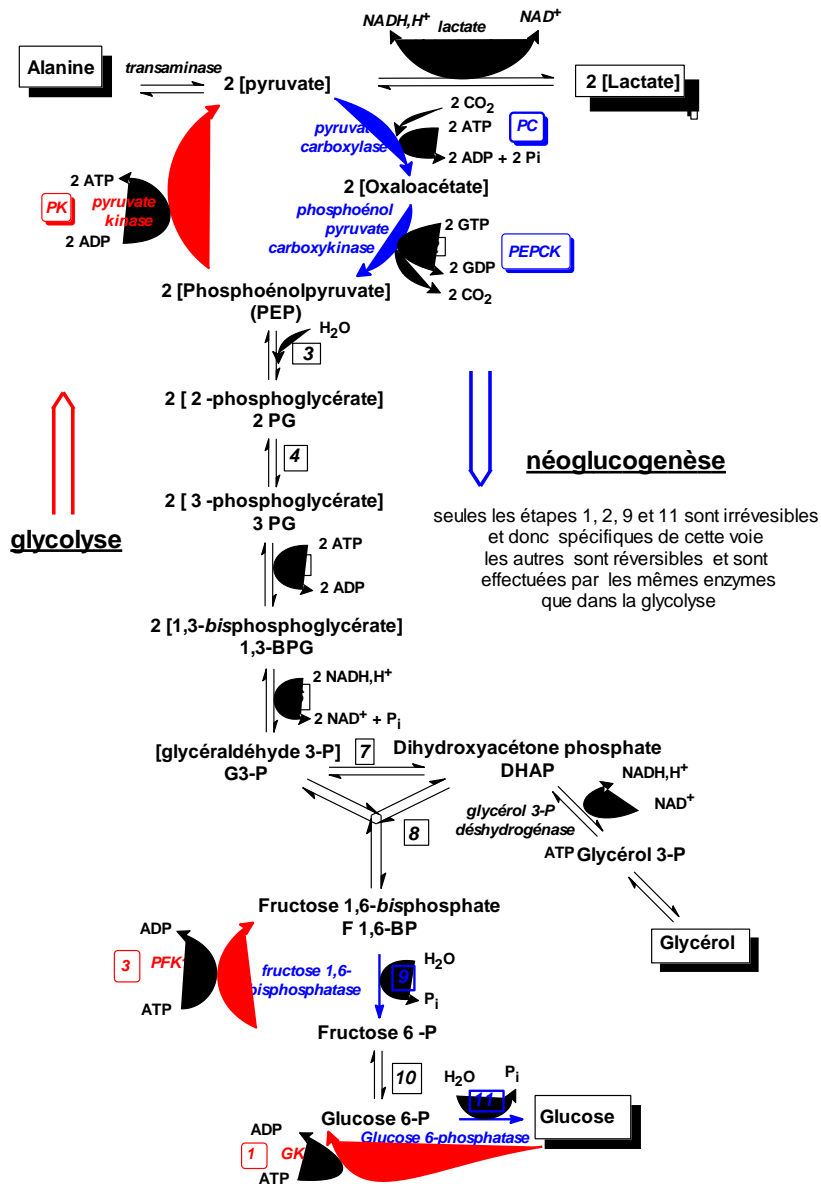
action de l'enzyme de branchement

4- LA GLUCONEOGENESE

C'est une voie qui permet de produire du glucose à partir de précurseurs non glucidiques.

4.1- SCHEMA GENERAL DE LA GLUCONEOGENESE

La gluconéogenèse fonctionne essentiellement dans le foie et dans le rein (mais aussi chez certaines plantes et microorganismes qui poussent en absence de glucose). Dans le foie, la source principale est le lactate produit lors de la glycolyse anaérobie (efforts supérieurs à la VO_{2max}).



4.2- LA GLUCONEOGENESE EST UNE VOIE INVERSE DE LA GLYCOLYSE

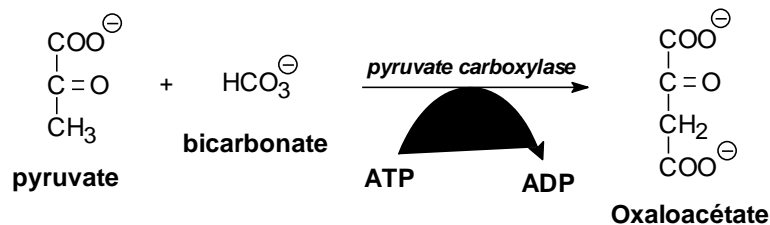
La figure précédente résume la voie néoglucogénétique en partant du pyruvate. De nombreuses étapes sont identiques à celles de la glycolyse (toutes celles qui se déroulent au voisinage de l'équilibre sont catalysées par les mêmes enzymes). Il existe cependant **3 étapes non réversibles** dans les conditions de la cellule (car très exergoniques) : les étapes 1 = **Glucokinase** (GK), 3 = **Phosphofructokinase 1** (PFK1) et 10 catalysée par la **Pyruvate Kinase** (PK).

4.3- LES ENZYMES SPECIFIQUES DE LA NEOGLUCOGENESE

Elles permettent en catalysant des réactions différentes mais thermodynamiquement favorables, de contourner ces 3 étapes non réversibles de la glycolyse. Ces enzymes sont au nombre de 4.

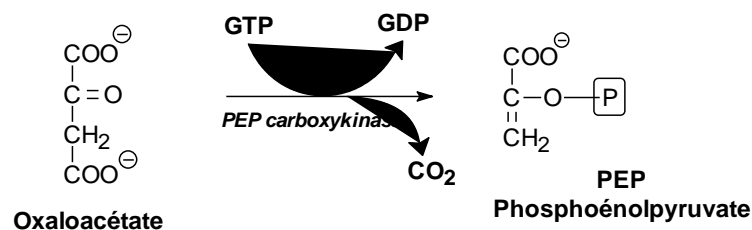
- Il faut d'ailleurs 2 étapes, catalysées par 2 enzymes différentes, pour contourner la réaction 10 de la glycolyse catalysée par la **PK**.

La 1^{ère} est la formation d'**Oxaloacétate** par la **pyruvate carboxylase** (**PC**) elle consomme **1 ATP** (étape 1)



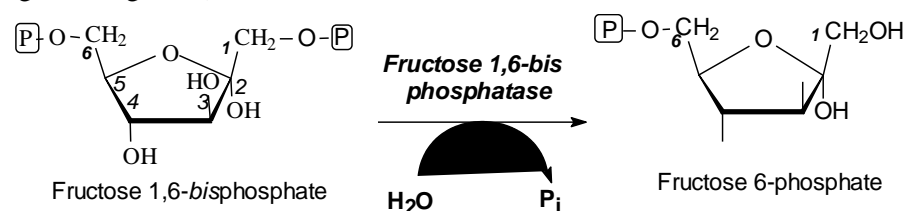
Cette réaction est irréversible dans les conditions métaboliques, intracellulaires. La réaction est catalysée par la **Biotine** (Vit B₈) qui permet le transfert de CO₂. L'enzyme est néanmoins activée de façon allostérique par l'Acétyl CoA.

- La 2^{ème} est l'action de la **Phosphoenolpyruvate carboxykinase** (**PEPCK**), elle consomme **1 GTP** (étape 2). Cette réaction est aussi irréversible dans les conditions de la cellule. Elle est dépourvue d'effecteurs physiologiques et ne possède pas de régulation allostérique.



Dans ces conditions, la régulation est assurée par la quantité d'enzyme synthétisée par la cellule, qui limitera la vitesse de la gluconéogenèse. Cette synthèse sera stimulée par le Glucagon.

- Ensuite, la réaction catalysée par la **PFK-1** (étape 3 de la glycolyse) sera contournée par une autre enzyme, spécifique de la gluconéogenèse, la **fructose 1,6-bisphosphatase** (étape 9 de la gluconéogenèse). Cette réaction libère un P_i.

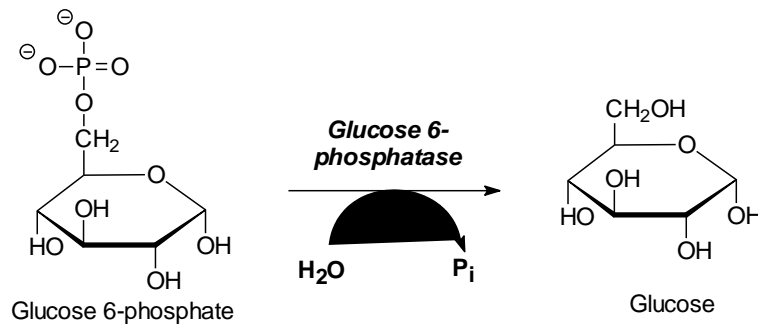


Cette enzyme est inhibé de façon allostérique par le Fructose 2,6-bisphosphate (lui même activateur allostérique de la PFK-1).

Ces 2 enzymes sont donc régulées en sens inverse par la concentration de Fructose 2,6-bisphosphate.

➤ La dernière enzyme spécifique, mise en jeu dans la gluconéogenèse (étape 11), est la **glucose 6-phosphatase** (contournant l'étape 1 de la glycolyse). Cette réaction exergonique se fait avec libération de phosphate (sans synthèse d'ATP).

Cette enzyme est en fait composée de 2 protéines, l'une est un transporteur de G6-P et est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE), l'autre qui constitue la partie catalytique est située dans la lumière du RE et hydrolyse le P_i pour libérer du glucose libre. **Cette enzyme n'est présente que dans les cellules du foie et du rein (pas muscle).**



4-3 Bilan énergétique de la gluconéogenèse

Comme le montre le schéma général de la gluconéogenèse, la gluconéogenèse peut être effectuée à partir de différents précurseurs :

- A partir de **2 pyruvates**, on obtient **1 Glucose** ce qui nécessite la consommation de 4 moles d'ATP et 2 moles de GTP, ainsi que de 2 moles de NADH, H^+ .
- A partir de l'Alanine, le bilan sera identique.
- A partir de 2 glycérols on consomme 2 ATP supplémentaires soit 6 ATP, 2 GTP et 2 NADH, H^+ .

LE CYCLE DU CITRATE

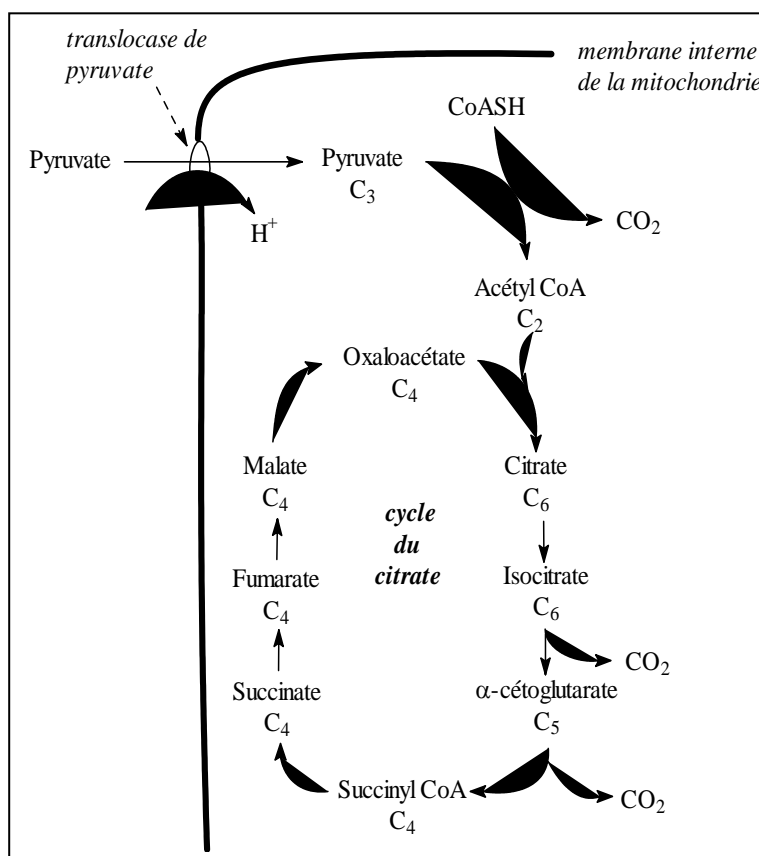
Le cycle du citrate est aussi appelé le cycle des acides tricarboxyliques, ou cycle de **Krebs** (présenté pour la 1^{ère} fois en 1932 par Krebs et coll.). Il permet à la cellule d'oxyder complètement les composés en $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Le cycle de Krebs, lui, permet à la cellule de produire de l'énergie en couplant les oxydations à la chaîne respiratoire et ainsi de produire de l'ATP.

C'est la plaque tournante du métabolisme aérobie car on retrouve les catabolites d'oxydation des glucides, des lipides et des acides aminés parmi les substrats du cycle et inversement de nombreux intermédiaires du cycle sont les substrats de départ des biosynthèses. Il se déroule dans le cytosol des procaryotes et dans les mitochondries des eucaryotes.

1 - Schéma général du cycle

Chez les eucaryotes, la glycolyse ayant lieu dans le cytosol, il faut que le pyruvate entre dans la mitochondrie (fig.1) via une translocase. L'étape primordiale est la décarboxylation oxydative du pyruvate (C_3) pour donner l'Acétyl-CoA (C_2) qui seul peut être fixé par l'accepteur en C_4 pour donner C_6 , puis par 2 décarboxylations successives C_5 et à nouveau C_4 qui repart pour un tour.



Au point de vue bilan : le pyruvate en $\text{C}_3 \longrightarrow 3 \text{CO}_2$

2 - Décarboxylation oxydative du pyruvate en Acétyl-CoA

Cette réaction est primordiale pour l'alimentation du cycle de Krebs, elle se fait en aérobie et est catalysée par le complexe de la **pyruvate déshydrogénase**.

Ce complexe est formé de 3 enzymes : la *pyruvate déshydrogénase E₁*, la *Dihydrolipoyl transacétylase E₂* et la *Dihydrolipoamide déshydrogénase E₃*.

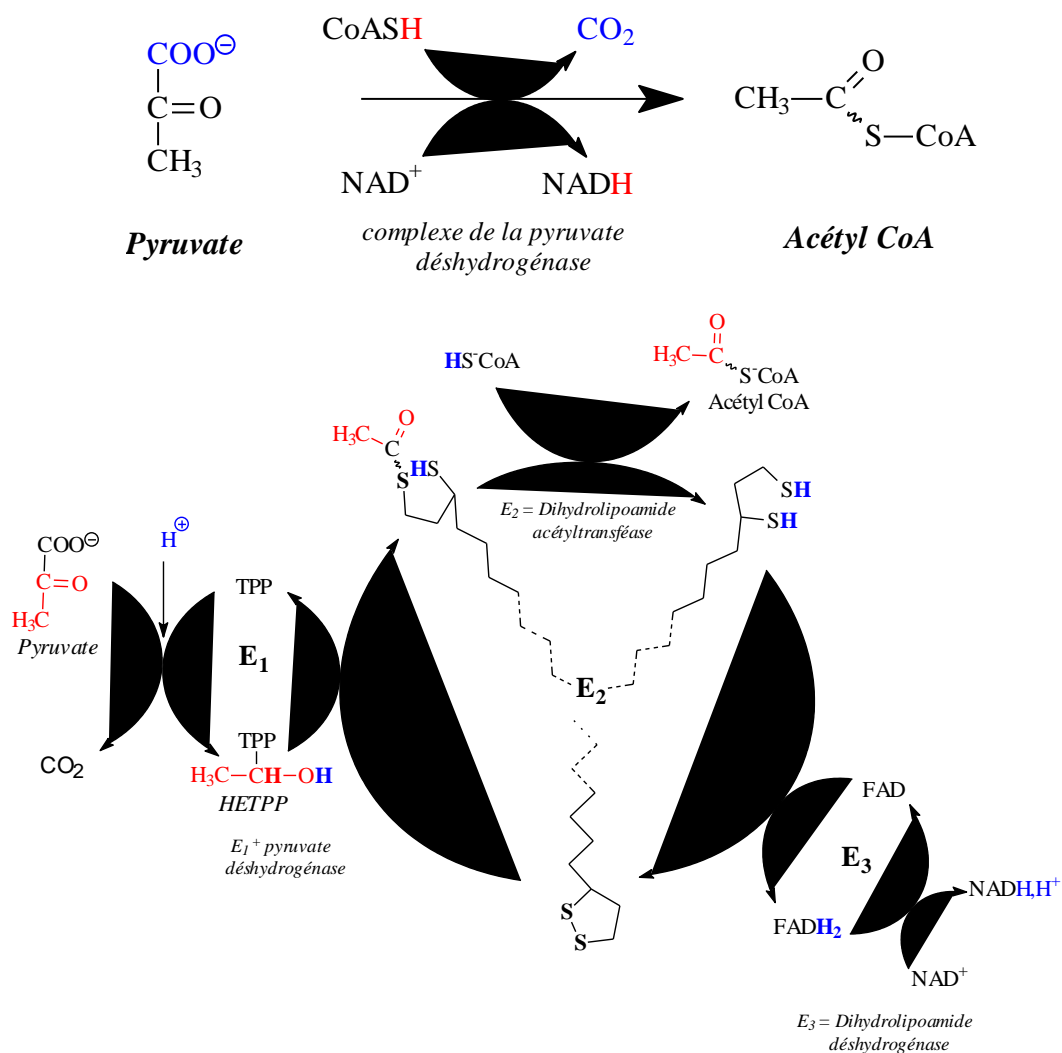


Figure 2 : réactions catalysées par le complexe de la pyruvate déshydrogénase

2.1 - LA PYRUVATE DESHYDROGENASE PROPREMENT DITE E₁

Son coenzyme est la **Thiamine pyrophosphate (TPP)**. Ce coenzyme dérive de la Thiamine qui est la **vitamine B₁**. La TPP intervient dans la décarboxylation du pyruvate, en se combinant à l'**hydroxyéthyl** pour donner **HETPP** (fig. 2).

2.2 - LA DIHYDROLIPOYL TRANSACÉTYLASE E₂

Qui réalise l'oxydation de HETPP en **Acétyl** et le transfert de celui-ci sur le CoA (fig.2). Le coenzyme de E₂ est un résidu du **Lipoyl** dérivant de l'acide lipoïque et qui est aussi une **vitamine du groupe B**.

2.3 : LA DIHYDROLIPOAMIDE DESHYDROGENASE E₃

Dans un 3^e temps cette enzyme ré-oxyde le résidu pour reformer le pont S-S (fig.2). Cette enzyme à **FAD** présente la particularité de céder l'H à **NAD⁺** (FAD = groupe prosthétique lié

à l'enzyme alors que NAD est un coenzyme libre). Le **FADH₂** réduit est alors ré oxydé par **NAD⁺** pour donner **NADH, H⁺** et E₃ est régénérée.

3 : Les différentes étapes du cycle

La figure 3, montre les 8 étapes du cycle du citrate : condensation des 2 C de l'Acétyl CoA sur un accepteur en C₄ qui donne du Citrate en C₆, qui s'isomérisé en isocitrate (C₆), puis il y a 2 décarboxylations successives qui amènent un C₅ puis 4 intermédiaires en C₄ pour régénérer l'oxaloacétate (C₄) accepteur d'une nouvelle mole d'acétyl CoA.

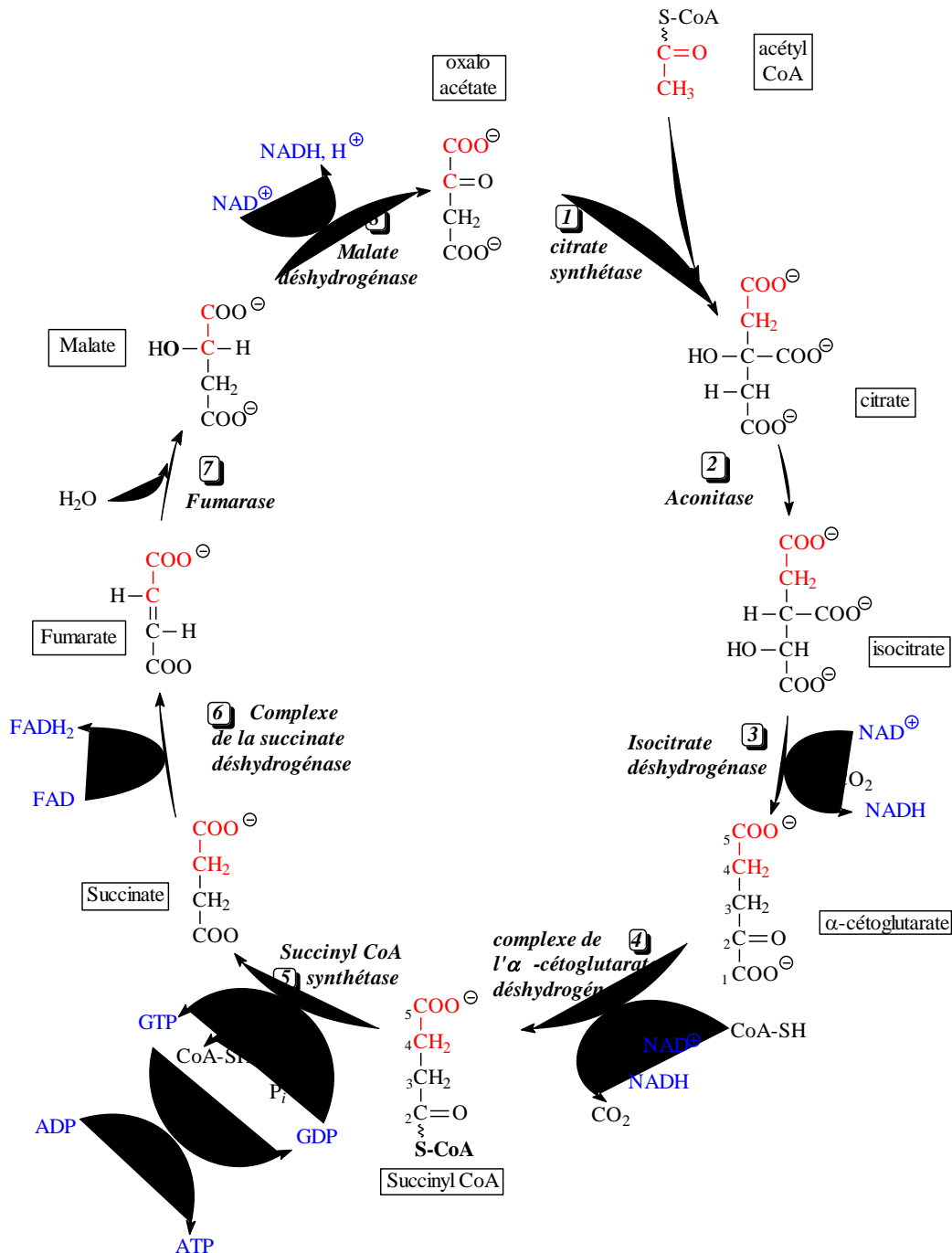


Figure 5 : le cycle du citrate (cycle des acides tricarboxyliques de KREBS)

3.1 : ETAPE 1 = SYNTHESE DE L'ACIDE CITRIQUE (C₆)

C'est la condensation de l'Acétyl CoA sur l'accepteur en C₄ qu'est l'Oxaloacétate, pour donner un triacide carboxylique en C₆ le Citrate, réaction catalysée par la *citrate synthétase*.

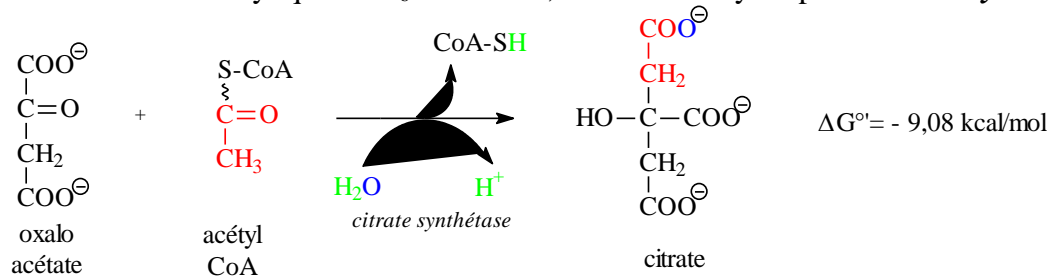


Figure 7 : étape 1 du cycle (synthèse du citrate)

C'est un doublet électronique de l'N imidazol de l'enzyme qui arrache un proton au Méthyl de l'Acétyl CoA. Le carbanion formé est stabilisé par résonance, puis se fixe sur le C-2 de l'Oxalate : on obtient un intermédiaire **Citryl CoA** qui est hydrolysé en **Citrate + CoA-SH** (qui est régénéré). La réaction de condensation est exergonique ($\Delta G^\circ = -9,08 \text{ Kcal}$) l'énergie est fournie par l'hydrolyse de la liaison thioester. Elle est irréversible (*une des étapes limitantes*).

3.2 : ETAPE 2 = ISOMERISATION EN ISOCITRATE (C₆)

Etape résumée fig. 8. Elle catalysée par l'*aconitase* en 2 temps :

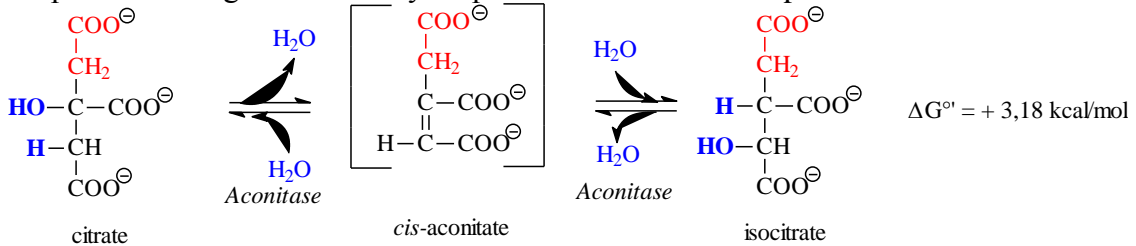


Figure 8 : étape 2 du cycle (isomérisation du citrate en isocitrate)

* le 1^{er} temps est le départ d'une mole d'H₂O pour donner l'intermédiaire **cis-aconitate** (C₆) qui possède une double liaison (il donnera son nom à l'enzyme : *Aconitate hydratase* ou *Aconitase*)

* puis dans un 2^e temps, il y a fixation d'une mole d'H₂O, l'OH sur le C-2 pour donner l'**Isocitrate** (C₆) isomère du citrate qui possède 2 C* (c'est le 2R, 3S isocitrate). Le $\Delta G^\circ = +3,08$ indique que l'étape est réversible et les 3 composés sont en équilibre avec une prépondérance pour le citrate (90% de citrate) car ΔG° est >0, mais seul le composé asymétrique est reconnu par l'enzyme suivante : c'est la 1^e régulation.

3.3 : ETAPE 3 = DESHYDROGENATION ET DECARBOXYLATION DE L'ISOCITRATE

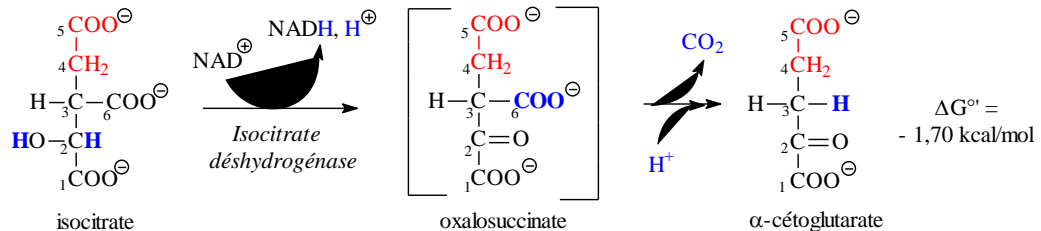


Figure 9 : étape 3 (déshydrogénation et décarboxylation de l'isocitrate)

Sous l'action de l'*Isocitrate déshydrogénase*, enzyme à NAD^+ , on obtient un intermédiaire instable l'**Oxalosuccinate** (C_6) par départ de 2 H puis décarboxylation non-enzymatique du COO^- sur le C-3 on obtient l'acide α cétonique correspondant l' **α -cétooglutarate** (C_5). Le $\Delta G^{\circ'} = -1,7$ est faible indiquant une réversibilité.

3.4 : ETAPE 4 = DECARBOXYLATION OXYDATIVE DE L' α -CETOGLUTARATE

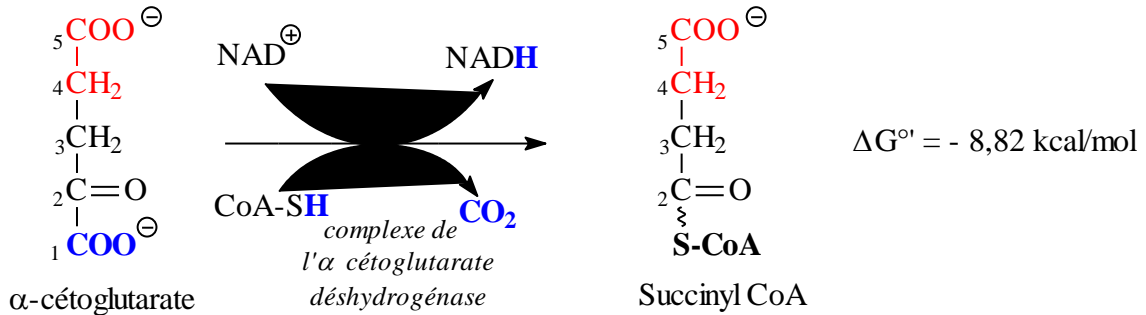


Figure 10 : étape 4 du cycle (décarboxylation oxydative de l' α -cétooglutarate)

Ce mécanisme est similaire du mécanisme de transformation du **Pyruvate** en **Acétyl CoA**. La réaction est catalysée par le complexe multienzymatique de l' *α -cétooglutarate déshydrogénase* qui contient 3 enzymes :

* **E₁** l' *α -cétooglutarate déshydrogénase* proprement dite dont le Coenz est le **TPP**

* **E₂** la *dihydrolipoyl transacétylase*

* **E₃** la *dihydrolipoyl déshydrogénase* qui produit un **FADH₂** puis un **NADH, H⁺**

On obtient finalement le **succinyl CoA** et la production d'un **NAD réduit**. Cette réaction qui possède un $\Delta G^{\circ'}$ de - 8,8 kcal/mol est aussi **irréversible**.

3.5 : ETAPE 5 = DESACYLATION DU SUCCINYL COA

La *succinate Thiokinase* (ou *succinyl CoA synthétase*) hydrolyse la liaison thioester riche en énergie qui permet la synthèse d'une mole de **GTP** à partir de **GDP + P_i** en produisant le **succinate** diacide en C_4 .

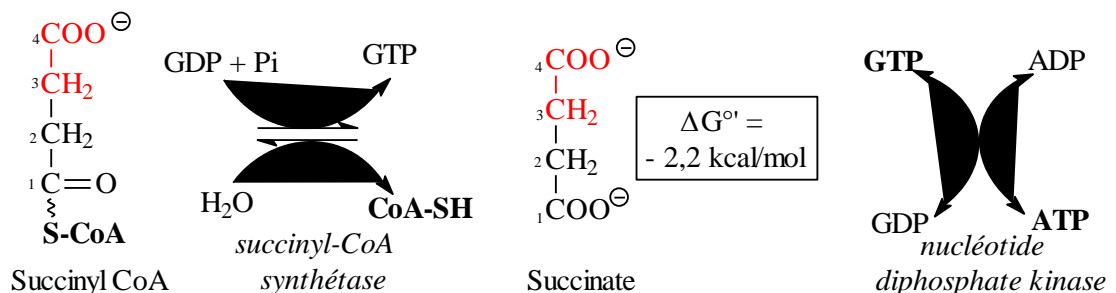


Figure 11 : étape 5 (désacylation du succinyl CoA)

En fait la réaction est plus compliquée et passe par l'intermédiaire d'*l* **succinyl-P**. C'est le P_i qui déplace le CoA du succinyl CoA pour former l'intermédiaire succinyl-P (liaison acyl~P). Le groupement P_i est ensuite transféré sur l'N d'une Histidine du site actif de

l'enzyme en libérant le succinate. Le Phosphoryle est alors greffé sur le GDP pour donner du GTP. Chez certains organismes c'est l'ATP qui est synthétisé. L'énergie d'hydrolyse de la liaison γ -P est identique à celle de l'ATP ($\Delta G^{\circ} = -7,3$ Kcal) et le GTP pourra régénérer de l'ATP en cas de besoin d'énergie selon l'équation : Le $\Delta G_{\text{réel}}$ de la réaction étant < 0 (rapport [ADP/ATP]).

3.6 - ETAPE 6 : DESHYDROGENATION DU SUCCINATE (C₆)

C'est la réaction catalysée par la *Succinate déshydrogénase*, enzyme intégrée au complexe II de la Succinate-Ubiquinone réductase dont le coenzyme est le **FAD**. Le **FADH₂** produit transfère 2H^+ et 2e^- à l'**Ubiquinone** (ou Coenz Q) pour donner l'**Ubiquinol** (Coenz QH₂).

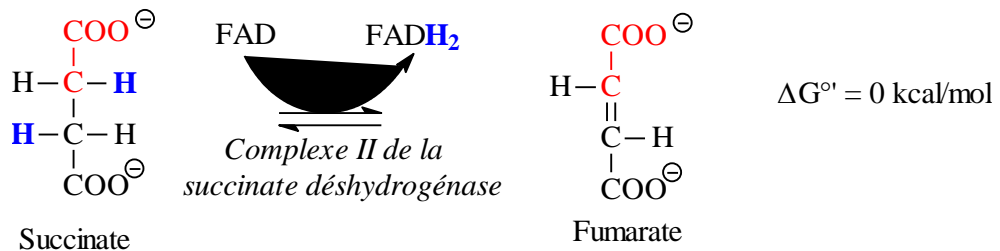


Figure 13 : étape 6 (déshydrogénation du succinate)

On obtient le **Fumarate** (isomère *trans* de l'acide butènedioïque en C₄). Le maléate (*cis*) n'est pas produit dans le cycle de *KREBS*.

3.7 - ETAPE 7 : HYDRATATION DU FUMARATE

La *Fumarase* catalyse la fixation d'une molécule d'eau sur la double liaison (*trans-addition selon Markovnikov*) pour donner le **L-Malate** possédant un C* (le C-2 est de configuration S).

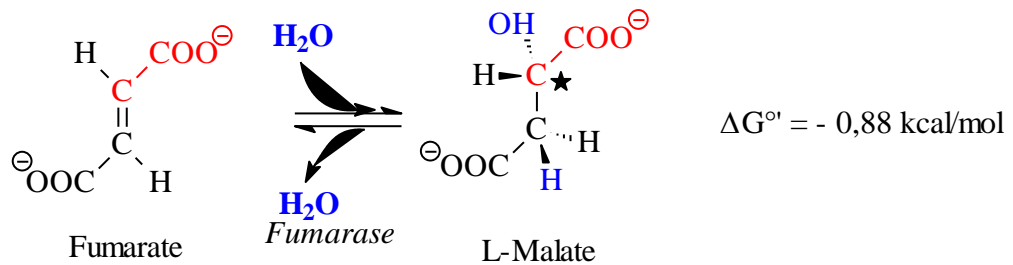


Figure 14 : étape 7 (hydratation du fumarate)

En raison de son ΔG° proche de 0 (-0,88) cette réaction est facilement réversible.

3.8 - ETAPE 8 : DESHYDROGENATION DU MALATE ET REGENERATION DE L'OXALOACETATE

C'est la *Malate déshydrogénase*, enzyme à **NAD** qui va oxyder le **Malate** en **Oxaloacétate** (ou **OAA**, pour Oxalo Acetic Acid) avec production d'un **NADH**, H^+ et le cycle peut recommencer.

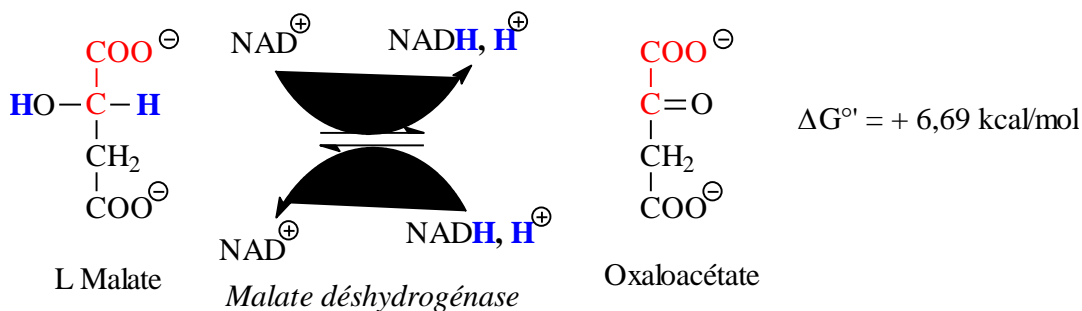


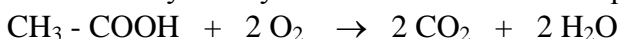
Figure 15 : étape 8 (déshydrogénation du malate et régénération de l'oxaloacétate)

Le $\Delta G^{\circ} = + 6,63$ et serait plutôt en faveur de la réaction inverse, mais lorsqu'il y a besoin de production d'énergie, le cycle tourne à plein régime et à défaut d'OAA, sa faible concentration /celle du malate donnera un $\Delta G_{\text{réel}} < 0$ favorisant la formation d'OAA.

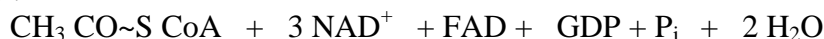
4 - Bilan du cycle

4.1 - BILAN GLOBAL

Un tour de cycle oxyde une mole d'acide acétique



En réalité il s'agit d'une suite de décarboxylations et de déshydrogénations faisant intervenir des coenzymes :



Les 2 C qui disparaissent sous forme de 2 CO_2 lors du cycle ne viennent pas directement de cet Acétyl CoA. Aucun carbone de l'acétyl condensé n'est éliminé lors du 1^{er} tour (c'est le C-1 et le C-4 de l'oxalate). Lors du 2^e tour seul 1 des carbones venant de l'acétyl CoA (se retrouvant le C-1 de l'oxalate) disparaît et le 2^e carbone (se retrouvant le C-2 de l'oxalate) ne disparaît qu'au 4^e cycle.

4.2 - BILAN ENERGETIQUE

Sur les 8 réactions du cycle, 5 produisent de l'énergie en *aérobiose* (6 si on part du pyruvate) en ré-oxydant les coenzymes de la chaîne respiratoire comme le résume le tableau suivant :

<i>Réactions et enzymes</i>	<i>Coenzyme ou nucléotide</i>	<i>Equivalent s ATP</i>
3 = Isocitrate déshydrogénase	NADH	3
4 = Complexe de l' α -cétoglutarate déshydrogénase	NADH	3
5 = Succinyl CoA synthétase	GTP (ou ATP)	1
6 = Complexe de le succinate déshydrogénase	FADH ₂ (ou UQH ₂)	2
8 = Malate déshydrogénase	NADH	3
Total en équivalents ATP (aérobiose)		12

En effet, si on considère que le GTP peut régénérer une mole d'ATP (*selon les conditions de concentration, donc selon les besoins en ATP*) **chaque tour de cycle génère 12 ATP par mole d'acétyl CoA.**

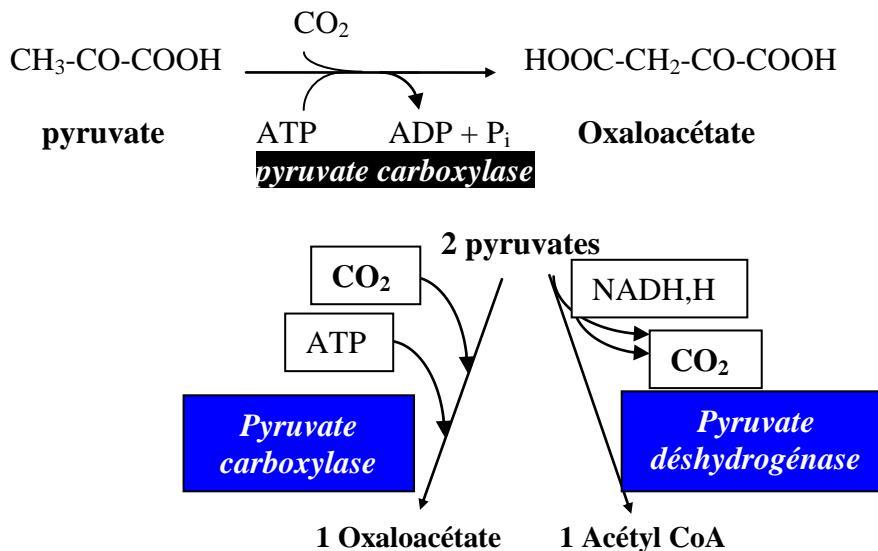
Si on y ajoute le NADH produit par la décarboxylation oxydative du pyruvate, on peut ajouter 3 ATP supplémentaires soit un total de **15 ATP en partant du pyruvate (en aérobiose).**

L'oxydation de l'acide acétique dans une bombe calorimétrique libère **215 Kcal/mole** par l'intermédiaire du cycle : $12 \times 7,3 = 88 \text{ Kcal/mole}$ soit $88/215 = 40\%$ de rendement.

4.3 - BILAN BIOCHIMIQUE

En plus de la production d'énergie, le 2^e rôle du cycle est de synthétiser les intermédiaires métaboliques importants. Il sert de carrefour ou se branchent de nombreuses autres voies métaboliques C'est la **plaque tournante** du métabolisme aérobie.

Beaucoup des intermédiaires du cycle sont soustraits par des « fuites » vers d'autres voies biosynthétiques, il peut donc y avoir manque de l'accepteur **Oxaloacétate**. Celui-ci peut être synthétisé en cas de besoin à partir du **pyruvate** grâce à la *Pyruvate carboxylase*.



4.4 - REGULATION DU CYCLE

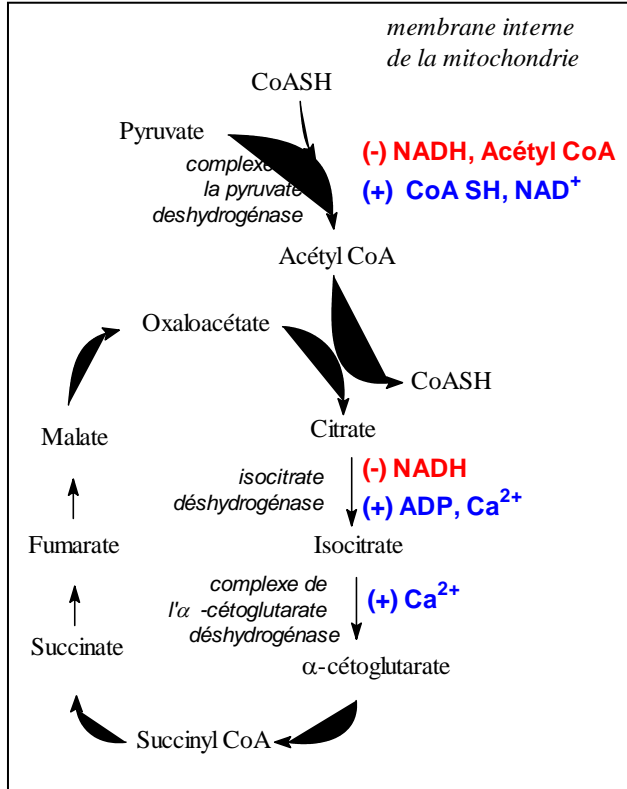
C'est une voie étroitement surveillée en raison de son importance capitale, essentiellement régulée par des effecteurs allostériques et des modifications covalentes des enzymes du cycle ainsi que par le taux d'acétyl CoA.

Il y a 3 enzymes clefs :

- le complexe de la pyruvate déshydrogénase
- l'isocitrate déshydrogénase
- l' α -cétoglutarate déshydrogénase

qui sont contrôlés par les taux de NADH/NAD⁺, d'acétyl CoA/CoASH, d'ADP ou/et de Ca⁺⁺ et par des systèmes de phosphorylation d'enzymes par des kinases.

S'il y a accumulation de NADH et d'Acétyl CoA, il y a suffisamment d'énergie, et donc inhibition de la pyruvate déshydrogénase. De la même manière l'excès de NADH inhibe l'isocitrate déshydrogénase qui catalyse l'étape n°3, ce qui empêche la production d'énergie. Par contre un excès de NAD⁺ ou de CoASH va activer la pyruvate déshydrogénase qui va produire NADH et Acétyl CoA et le cycle peut commencer. Il existe un autre effecteur le Ca²⁺ : déclencheur principal de la contraction musculaire, qui active la pyruvate déshydrogénase et l'Isocitrate déshydrogénase (besoin d'ATP pour la contraction musculaire).



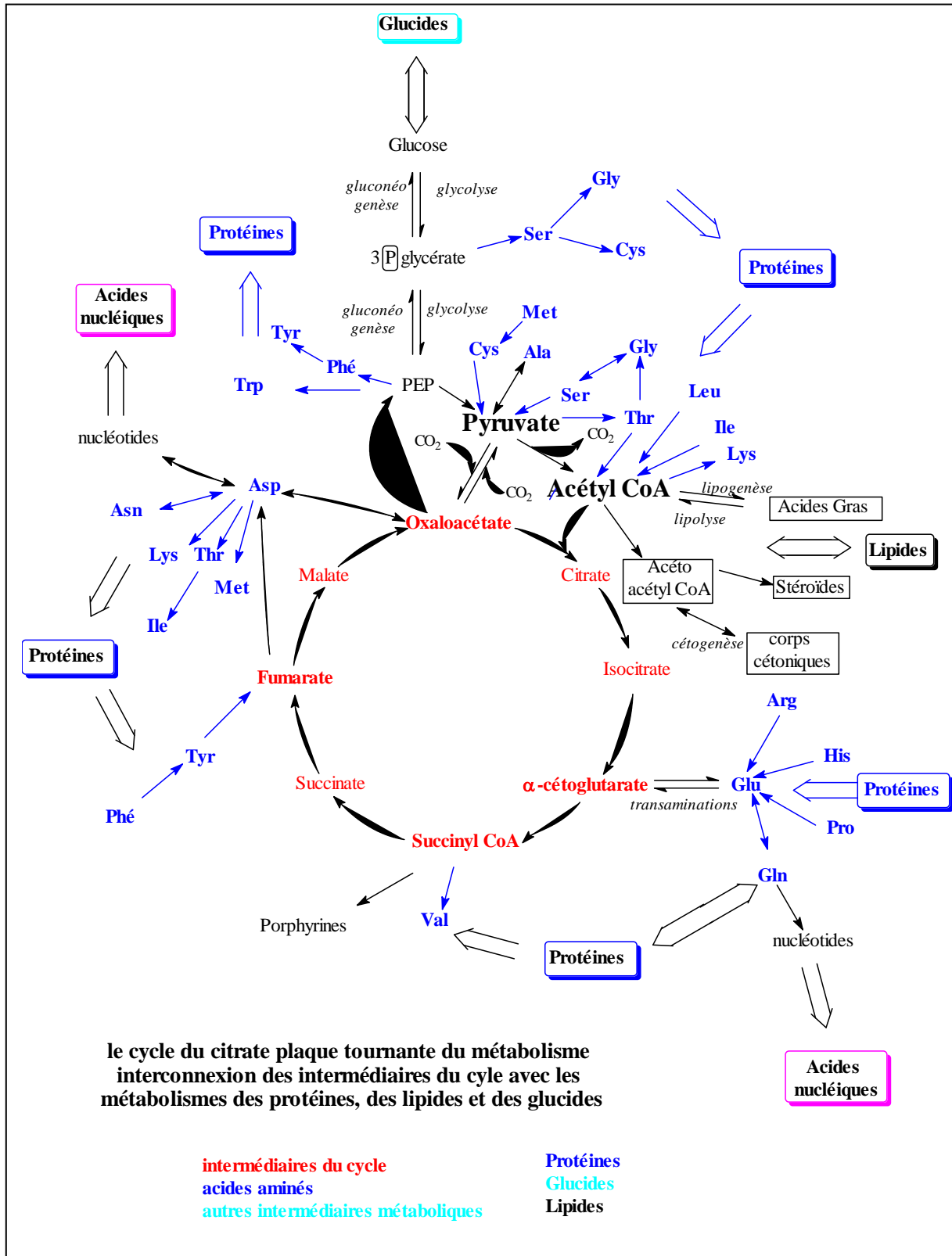


Tableau : bilan chimique et thermodynamique des réactions enzymatiques du cycle du citrate

étape	réaction	enzyme	ΔG° kcal/mol
1	acétyl CoA + oxaloacétate + H ₂ O \longrightarrow citrate + CoASH + H ⁺	citrate synthétase	- 9,08
2	citrate \longleftrightarrow isocitrate	aconitase (aconitate hydratase)	+ 3,18
3	isocitrate + NAD ⁺ \longrightarrow α -cétooglutarate + NADH + CO ₂	isocitrate déshydrogénase	- 1,70
4	α -cétooglutarate + CoASH + NAD ⁺ \longrightarrow succinyl CoA + NADH + CO ₂	complexe de l' α -cétooglutarate déshydrogénase	- 8,82
5	succinyl CoA + GDP (ou ADP) + P _i \longleftrightarrow succinate + GTP (ou ATP) + CoASH	succinyl CoA synthétase	- 2,12
6	succinate + FAD \longleftrightarrow fumarate + FADH ₂	complexe de la succinate déshydrogénase	- 0,00
7	fumarate + H ₂ O \longleftrightarrow L-malate	fumarase (fumarate hydratase)	-0,88
8	L-malate + NAD ⁺ \longleftrightarrow oxaloacétate + NADH + H ⁺	malate déshydrogénase	+ 6,69
		bilan total	- 14,73
Acétyl CoA + 3 NAD ⁺ + FAD + GDP (ou ADP) + P _i + 2 H ₂ O \longrightarrow CoASH + 3 NADH + FADH ₂ + GTP (ou ATP) + 2 CO ₂ + 3H ⁺			

METABOLISME DES LIPIDES

Les lipides, qu'ils soient d'origine endogène (synthétisés dans le foie) ou exogène (alimentation), possèdent (comme les glucides) un triple rôle :

- structural : ils entrent dans la composition des membranes cellulaires (lipides complexes, cholestérol) et de certains tissus comme le cerveau (sphingolipides)
- de fournisseur d'énergie : les Triacylglycérols (TAG) ils représentent avec les glucides la source d'énergie de l'organisme.
- fonctionnel : en temps que précurseur de certains composés biologiques (sels biliaires, prostaglandines, hormones stéroïdiennes)

Les lipides se retrouvent principalement sous forme de **Triacylglycérols** (TAG) constituant les graisses de réserve de la plupart des organismes. Ils représentent également la plus grande partie des lipides alimentaires (chez l'Homme). Ces corps gras consomment plus d'oxygène et libèrent cependant plus d'énergie que les glucides.

Le mécanisme de dégradation des acides gras (la **β -oxydation**) fournit de l'acétyl CoA qui fournit l'énergie via le cycle du citrate et la phosphorylation oxydative (voie normale). Dans certaines conditions la fourniture aux tissus périphériques de l'acétyl CoA provenant des acides gras sera possible par l'intermédiaire des **corps cétoniques** (cétogenèse).

Le catabolisme des lipides de réserve (TAG) s'appelle la **lipolyse**, leur biosynthèse la **lipogénèse**.

1 – Catabolisme

Regroupe la dégradation des lipides alimentaires et de réserve, ainsi que la dégradation des acides gras et la cétogenèse.

1.1 – DEGRADATION DES LIPIDES

1-a – Absorption et hydrolyse des lipides alimentaires

Majoritairement représentés par les TAG, ils renferment un peu de phospholipides et de cholestérol.

1-a-2 : dégradation des TAG alimentaires

Les TAG alimentaires subissent une digestion dans la lumière intestinale, sous l'action des lipases gastriques et intestinales. Ils sont scindés en AG libres et en Monoacylglycérol (MAG) pour pouvoir être absorbés par l'entérocyte sous forme d'une micelle mixte avec les sels biliaires.

90% des sels biliaires sont ainsi réabsorbés et donc seulement 10% éliminés dans les fèces (c'est la seule voie d'élimination du cholestérol).

1-a-3 : dégradation des phospholipides alimentaires

Les phospholipides alimentaires subissent un sort identiques. ils sont attaqués successivement par 4 lipases pancréatiques, appelés **p**

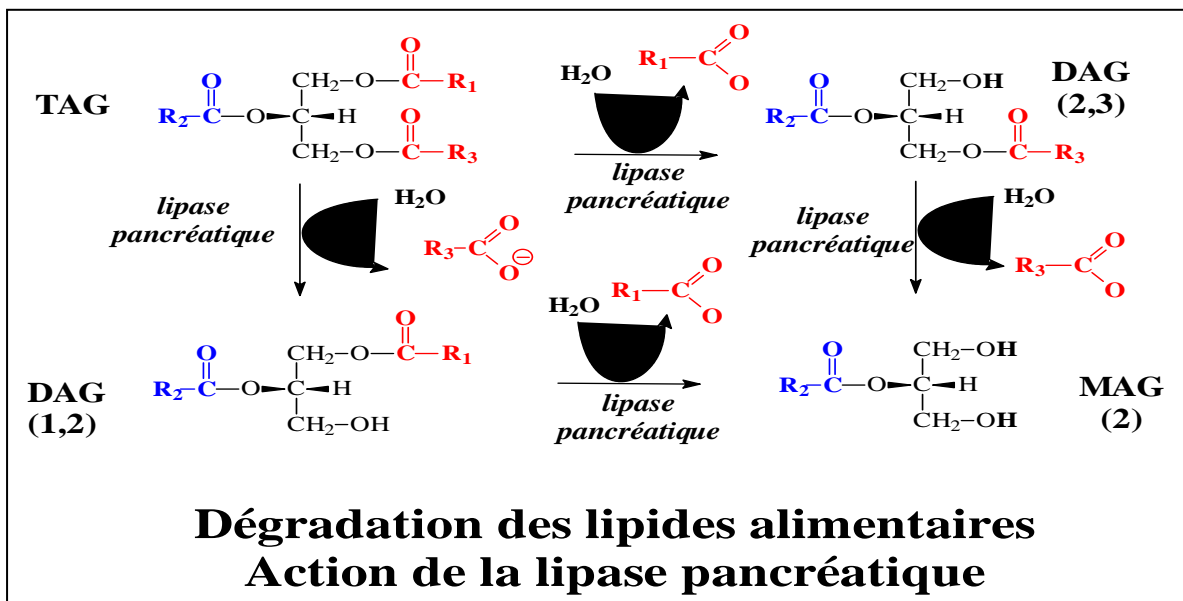
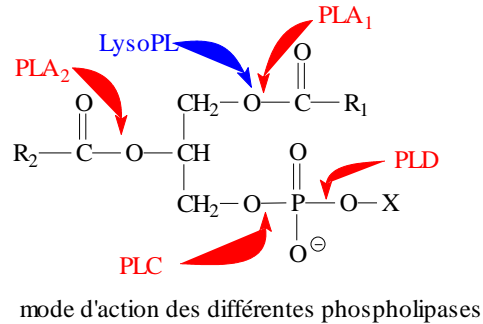
Les PL A₁ et PL A₂ libèrent 2 acides gras et un lysophospholipide.

La phospholipase C libère un DAG et un composé polaire phosphorylé. Le DAG suivra la voie précédente pour former un MAG et 1 AG.

L'action de la phospholipase D donne un phosphatidate et un composé polaire.

La principale PL pancréatique est la PL A₂.

Tous ces composés se retrouvent aussi dans les chylomicrons.



Les AG libres et le glycérol vont traverser la membrane plasmique, se retrouver dans le sang. Le glycérol, dans le foie, sera transformé en glycérol 3-P qui reformera du glucose par gluconéogenèse. Les Acides gras libres seront immédiatement captés par le sérum albumine qui les transportera dans le sang vers les différents tissus utilisateurs (cœur, muscles, foie) où ils sont oxydés pour fournir de l'énergie.

2.2 – DEGRADATION DES ACIDES GRAS (β-OXYDATION)

C'est Knoop (1904) qui montra que la dégradation des acides gras s'effectuait 2 C à la fois, par des oxydations successives du C-β (C n° 3).

Le catabolisme des AG chez les eucaryotes peut se diviser en 3 étapes :

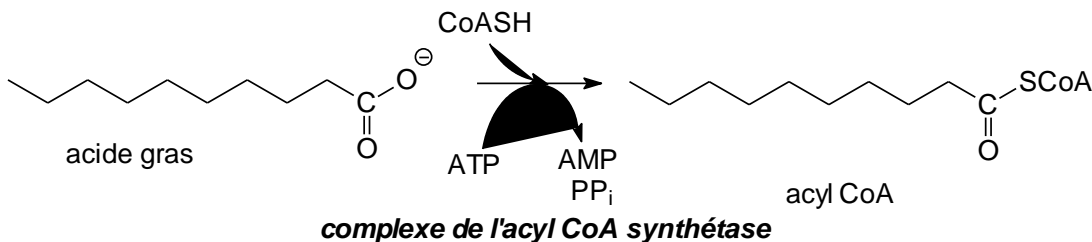
- activation des AG dans le cytosol
- transport dans la mitochondrie
- β-oxydation

L'oxydation sera complète si l'acétyl CoA est pris en charge par le cycle du citrate.

Comme les glucides se trouvent dans un état d'oxydation plus avancé que les lipides, le rendement énergétique associé à leur oxydation est inférieur de ~25% à celui des acides gras, calculé en ATP ramené à 1C oxydé en CO₂. Les graisses sont la forme de réserve à long terme car leur capacité d'emménagement d'énergie est plus grande par rapport aux glucides et dans la cellule elles forment des agrégats anhydres, occupant le moins de place possible et de faible densité, alors les réserves de glucides (comme le glycogène) sont hydratées (2 g d'eau/g de glycogène). Cependant l'énergie libérée dans ces oxydations ne conduira pas nécessairement à la synthèse d'ATP. Dans la graisse brune, par exemple, il y a découplage du transfert d'électrons mitochondrial et de la synthèse d'ATP (notamment au niveau de la rentrée du flux de H⁺) ce qui permet d'utiliser toute l'énergie sous forme de chaleur, c'est un processus thermogénique.

2.a – activation des acides gras

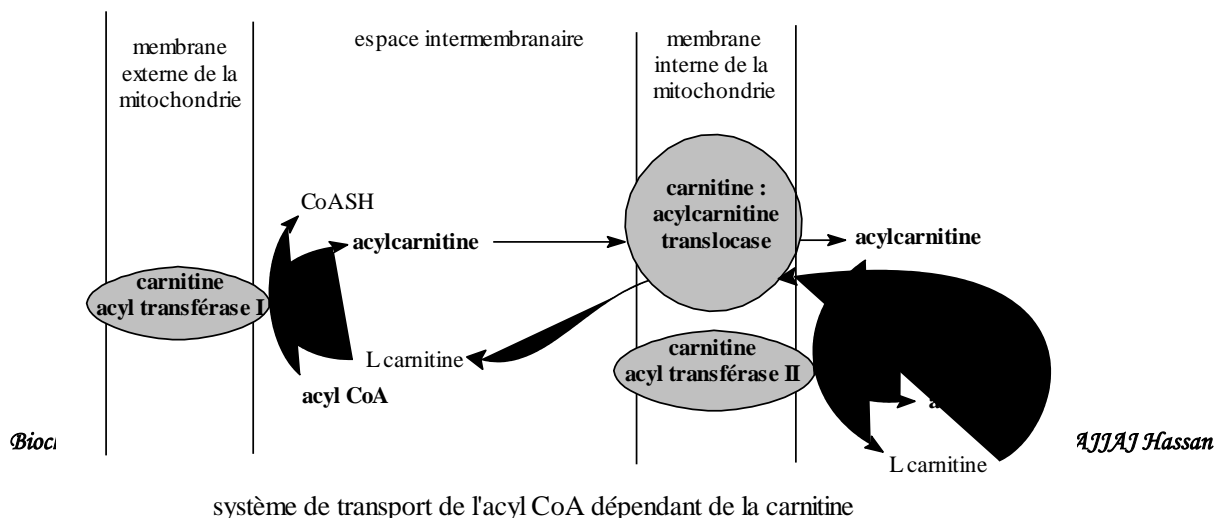
Avant d'être oxydés les AG doivent être activés sous forme d'acyl CoA, par l'intermédiaire du complexe multi-enzymatique de **l'acyl CoA synthétase** (acyl CoA ligase, formateur d'AMP), classé selon la spécificité envers la longueur de la chaîne hydrocarbonée de l'AG. Ces enzymes sont associées à la membrane externe de la mitochondrie et au réticulum endoplasmique. Elles catalysent la formation d'une liaison thio-ester entre l'AG et le CoA



Dans la cellule, cette réaction est impulsée par l'hydrolyse du PP_i par la **pyrophosphatase**.

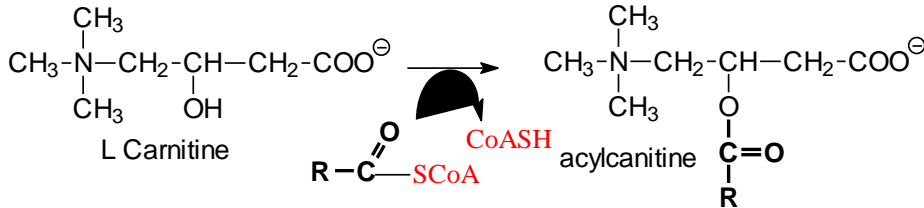
2.b – transport d'acides gras à la matrice mitochondriale

La majorité des AG se trouvent dans le cytosol, soit parce qu'ils y sont synthétisés, soit parce qu'ils y ont été transportés de l'extérieur de la cellule. Cependant leur oxydation a lieu dans la matrice mitochondriale. Or l'acétyl CoA formé est incapable de traverser la membrane mitochondriale. Il existe donc un système de navette dépendant de la **L-carnitine**



La L-carnitine est un acide aminé naturel (ne faisant pas partie des constituant des protéines)

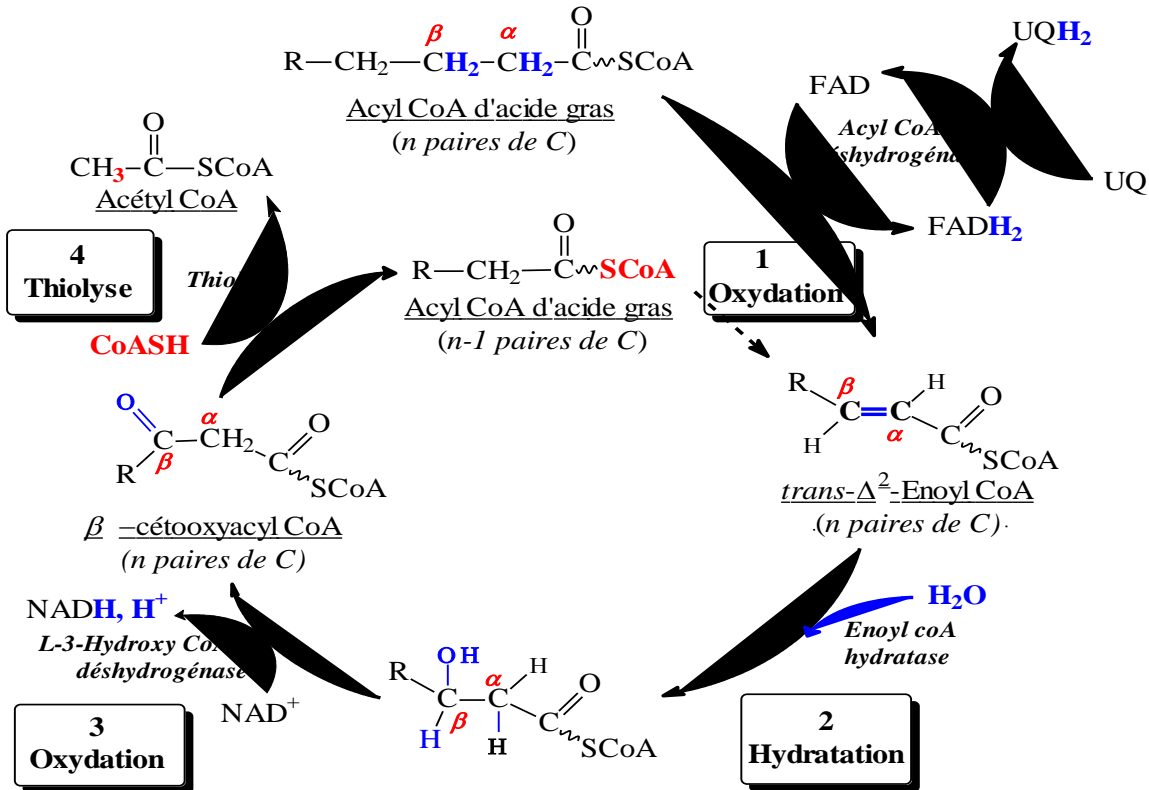
L'acyl Carnitine est synthétisée grâce à la *carnitine acyltransférase I* (**CAT I** située dans la membrane externe de la mitochondrie. L'acyl carnitine peut alors traverser la membrane interne grâce à la *carnitine acyltranslocase* et à l'échange avec la L carnitine libérée, dans la matrice mitochondriale, par la **CAT II** (iso-enzyme de la CAT I catalysant la réaction inverse) et régénérant l'acyl CoA. Ce système finit par vider le cytosol de ses Acyl CoA d'AG est un de nombreux points de régulation (la CAT I étant régulée de manière allostérique).



2-c : β -oxydation des acides gras saturés à nombre pair de C

Les dérivés acyl CoA sont oxydés successivement sur le Carbone β en libérant en même temps séquentiellement des chaînons de 2 C sous forme d'acétyl CoA.

Chaque cycle d'oxydation est constitué des 4 réactions suivantes : **1) oxydation** par une déshydrogénase à **FAD** ; **2) hydratation** par une hydratase ; **3) nouvelle oxydation** par une déshydrogénase à **NAD⁺** ; et **4) thiolyse** par une thiolase et CoASH avec libération **d'acétyl CoA**.

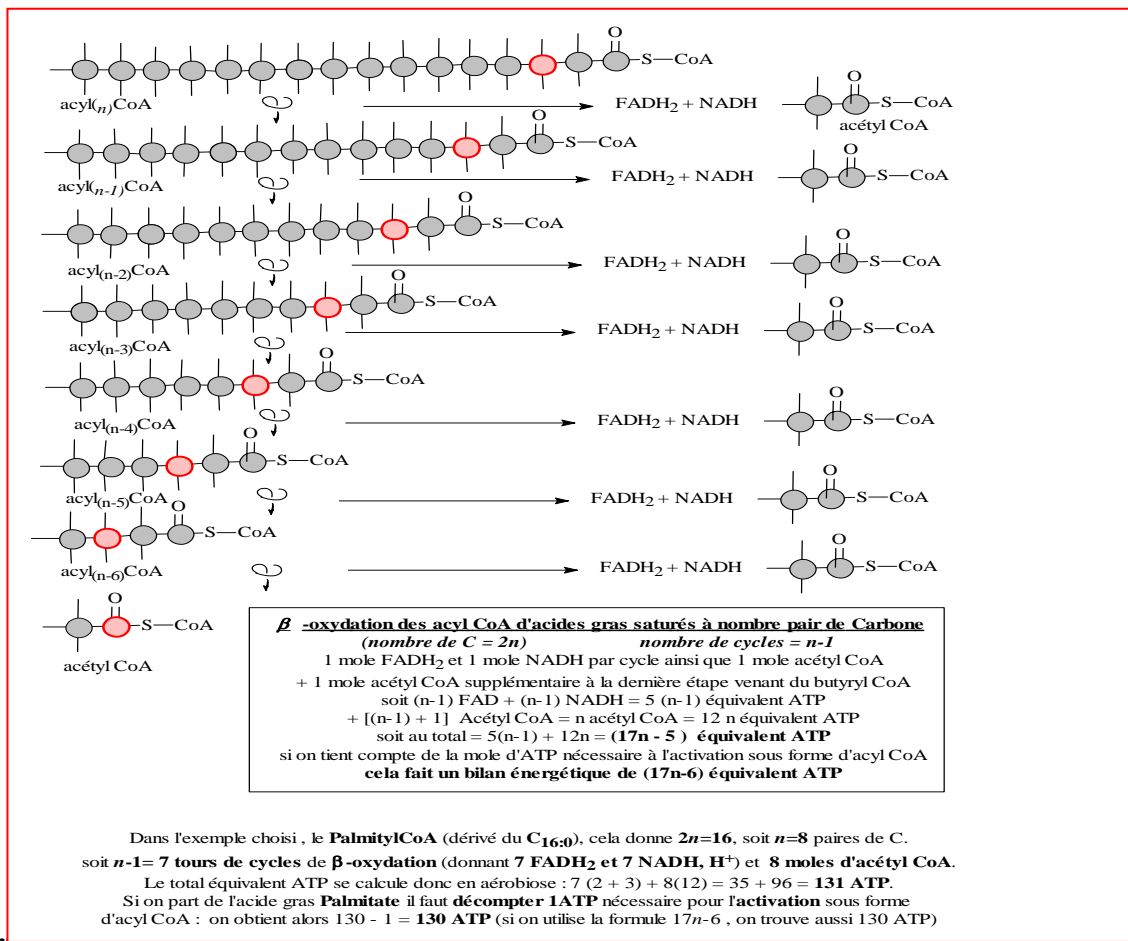


Les 4 étapes d'un cycle de β oxydation des Acides gras saturés a nombre pair de Carbone

Il est intéressant de comparer ces étapes avec les 3 dernières étapes du cycle du citrate, du succinate à l'oxaloacétate, correspondant également à une β -oxydation et ainsi de constater une certaine analogie.

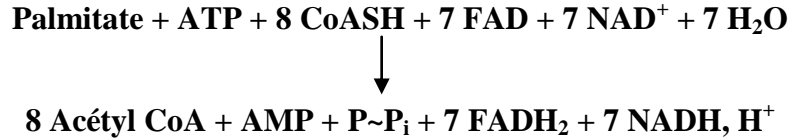
- une **oxydation** par une **déshydrogénase à FAD** (enzyme du complexe de la chaîne de transfert des électrons) cédant ensuite ses électrons au Coenzyme Q (on obtient un isomère géométrique *trans*);
- ensuite une **hydratation** par hydratase donnant naissance à un composé β -hydroxylé L
- puis une **nouvelle oxydation** par une **déshydrogénase à NAD⁺**, conduisant à une cétone correspondant à une β -oxydation, (bien que par les règles de nomenclature, on obtienne un acide α -cétonique, l'oxaloacétate étant un diacide).

A chaque tour de cycle il y a libération d'1 acétyl CoA Et le cycle recommence avec un acyl CoA d'acide gras amputé de 2 carbones. La molécule d'acyl CoA raccourcie devient le substrat pour la même série de réaction et ainsi de suite jusqu'à ce que toute la molécule ait été transformée en acétyl CoA. Au fur et à mesure du raccourcissement de la chaîne, il y aura utilisation d'iso enzymes **acyl CoA déshydrogénase** différentes selon les substrats (AG à chaîne longue, moyenne ou courte). Le schéma suivant illustre ce mécanisme en prenant l'exemple du **Palmityl CoA**, dérivé activé de l'acide palmitique (acide gras saturé à 16 C, C_{16:0}), avec libération d'1 acétyl CoA. Après un tour on obtient le **myristyl CoA** (C14) puis le **Lauryl CoA** (C12) au 2^e tour, et on aboutit au bout de 6 tours au **Butyryl CoA** (C4) qui fournit au 7^e et dernier tour **2 Acétyl CoA**.



2-d : bilan de la β -oxydation des AGS à nb pair de C

Si on reprend l'exemple ci dessus le *bilan chimique* de la réaction équilibrée s'établit à :



Si l'acétyl CoA produit est oxydé dans le cycle du citrate et que tous les coenzymes produits NADH et FADH₂ sont oxydés dans la chaîne d'oxydation cellulaire (donc en présence oxygène) on peut alors dire que le bilan final correspond à l'oxydation du palmitate en CO₂ et H₂O :



Le *Bilan énergétique*, détaillé dans le schéma précédent correspond à **130 équivalent ATP**, en tenant compte de l'ATP nécessaire à l'activation sous forme de palmityl CoA, si les coenzymes réduits (FADH₂ et NADH + H⁺) cèdent leurs électrons à la chaîne de transfert des électrons mitochondriale (en présence de l'accepteur O₂ moléculaire). Ramené à 1C cela donne 130/16 = 8,12 ATP/C).

Evidemment ce rapport change avec le nombre de C pour les acides gras dont la formule brute est C_nH_{2n}O₂, par exemple pour l'acide gras en C6 :0, l'acide caproïque on trouve 7,5 ATP/C (45/6).

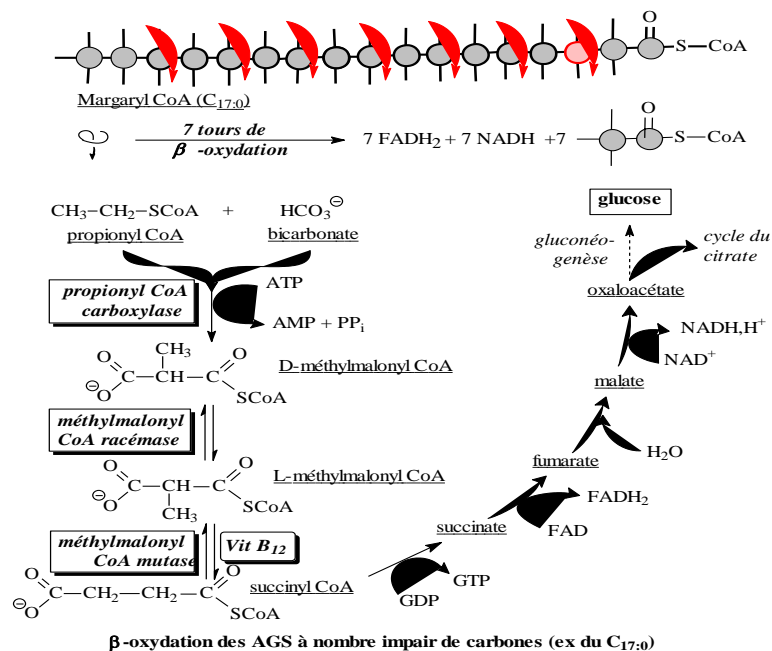
Si on compare avec le glucose (ose à 6 C) qui produit 38 ATP, ramené à 1C on obtient seulement 38/6 = 6,33 ATP/C.

L'oxydation des AGS est donc plus énergétique que celle des oses, ce qui est logique car les glucides se trouvent déjà sous une forme plus oxydée. Cette propriété, additionnée à leurs propriétés hydrophobes, explique leur rôle en tant que réserve d'énergie de l'organisme. L'organisme pourra constituer des réserves importantes de TAG, non chargée d'eau (à l'inverse du glycogène), de densité plus faible et donc encore plus énergétiques ramené à 1g de composé.

2-e : oxydation des acides gras saturés à nombre impair de C

La plupart des AGS naturels possèdent un nombre de pair de Carbone (du au mécanisme de biosynthèse, voir § suivant qui additionne les Carbones 2 par 2).

L'oxydation de ces AGS suit les mêmes étapes que celle des AGS à nombre pair de C, mais le produit final est le **propionyl CoA** (C₃) au lieu de l'acétyl CoA (C₂).

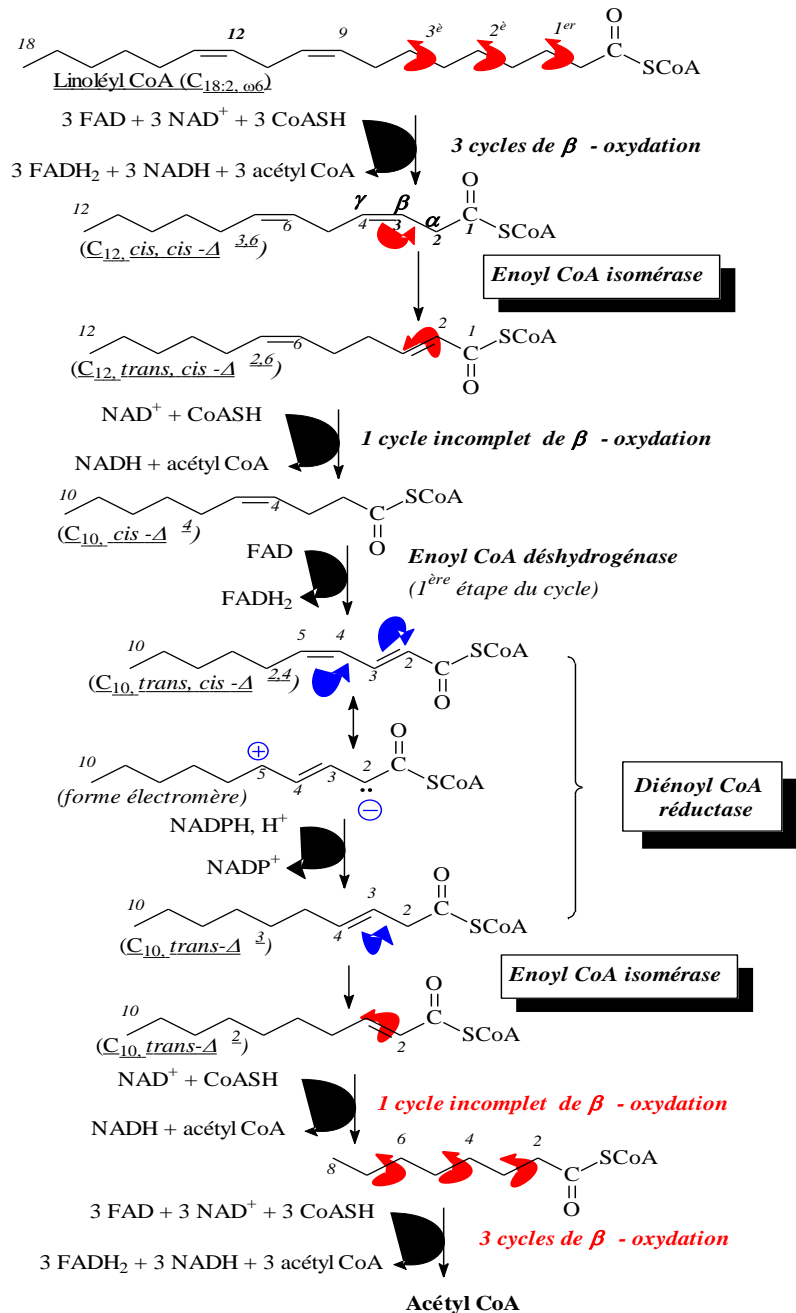


Dans le foie de mammifères, 3 enzymes permettent la conversion en **succinyl CoA** qui rejoint le cycle du citrate aboutissant ainsi à l'oxaloacétate. Ce dernier permet selon les besoins :
 - soit de rejoindre la gluconéogenèse
 - soit de recommencer un tour de cycle du citrate en utilisant l'acétyl CoA produit précédemment. En partant du C_{17:0}, le bilan énergétique sera : $7(5+12) - 2 = 117$ ATP jusqu'au **succinyl CoA** + 6 = **123 ATP** jusqu'à l'OAA soit (7,2 ATP/C)

2-f : oxydation des acides gras insaturés

L'oxydation des acides gras insaturés requière des enzymes supplémentaires, chez les mammifères.

Le schéma suivant, en prenant comme exemple l'acide linoléique (C_{18:2, ω6}), explique le mécanisme. La différence vient du nombre et la position des doubles liaisons qui empêche la reconnaissance par la 2^e enzyme du cycle : l'énoyl CoA hydratase. L'objectif sera donc de placer la double liaison au bon endroit pour être reconnue par cette enzyme et ainsi continuer la dégradation.



On notera aussi l'intervention du NADPH (coenzyme de réduction) déjà vu dans le métabolisme des glucides au niveau de la voie des pentoses-P. Il permet de réduire une double liaison et de positionner la double liaison restante sur le C₃ (en position β-) et ainsi à la même enzyme qu'à l'étape 2 (l'énoyl CoA isomérase) d'agir et de positionner la double liaison en 2 sur le C-β.

L'étape suivante consiste en un cycle incomplet de β-oxydation « *shuntant* » la 1^{ère} déshydrogénase à FAD et conduisant à l'acyl CoA en C_{8:1}, *trans* Δ², qui peut subir alors les cycles de la β-oxydation classique.

Le bilan éner-gétique sera donc différent, selon le nombre de doubles liaisons de l'AGI

S'il s'agit d'un AGMI (mono insaturé) seule l'énoyl CoA isomérase intervient et supprime l'intervention d'une acyl CoA déshydrogénase à FAD (en raison de l'existence d'une double liaison). Le bilan sera donc de **- 2 ATP** (FADH₂ en moins). Dans le cas d'un AGPI (ici *Linoléate*) on aura aussi 1 seul FADH₂ produit en moins mais aussi l'utilisation d'1 NADPH, H⁺ soit **- 2ATP - 1 NADPH**

2-g : Régulation de l'oxydation des Acides gras

La libération des acides gras des adipocytes est stimulée par **l'adrénaline** (via la lipase *hormonosensible*), ce qui provoque une augmentation des AG liés à la sérum albumine et une entrée accrue d'AG dans les tissus en vue de leur oxydation.

Il y a également contrôle sur l'entrée des AG dans les mitochondries des cellules capables de les oxyder. Par exemple la **CAT I** est inhibée (par allostérie) par le **malonyl CoA** (métabolite de la synthèse des AG, voir § 12.3.1-b). Ce qui empêche les acyl CoA d'entrer dans la mitochondrie donc leur oxydation qui ne peut se dérouler qu'à l'intérieur.

Cette inhibition est levée par le **Glucagon**, qui provoque la libération d'AMP_c dans les adipocytes, qui va inactiver l'enzyme qui catalyse la synthèse du malonyl CoA (via une protéine kinase et une cascade de phosphorylation). L'inhibition de la CAT I est donc levée et permet à nouveau l'entrée de l'acyl CoA dans la mitochondrie.

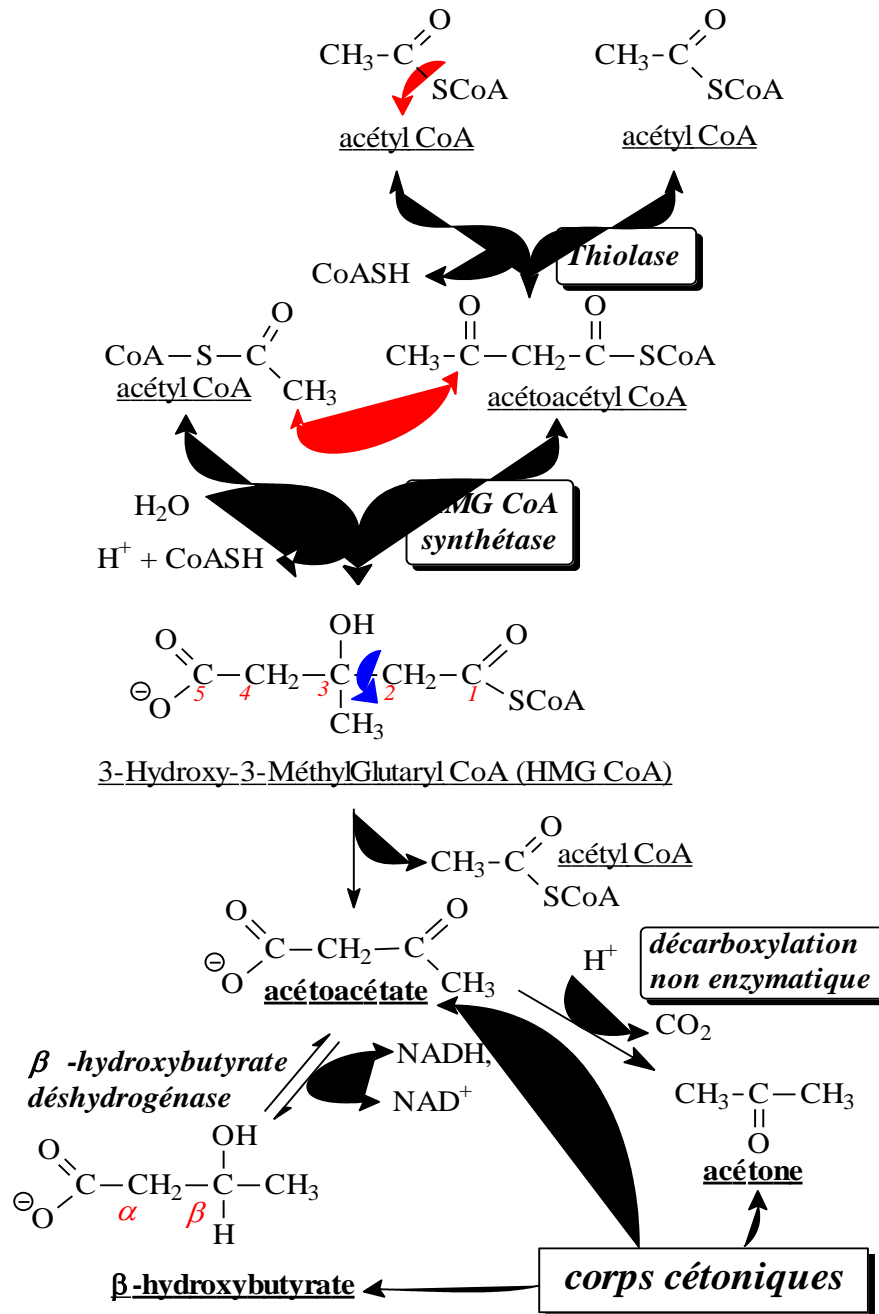
12.2.3 – LA CETOGENESE

Une fraction significative de l'acétyl CoA produit par la β-oxydation des acides gras dans la mitochondrie hépatique est convertie en **acétoacétate**, en **β-hydroxybutyrate** ou en **acétone**, composés appelés les **corps cétoniques**. Ce processus s'appelle pour cette raison la **cétogenèse**.

Ce processus est important dans les situations où la concentration en oxaloacétate est faible (par exemple lors de la gluconéogenèse) et ne permet pas d'accepter l'acétyl CoA pour réaliser la synthèse du citrate et faire tourner le cycle de Krebs.

L'acétoacétate est facilement réduit en β-hydroxybutyrate par la **β-hydroxybutyrate déshydrogénase** (réaction facilement réversible dans les conditions physiologiques). Ces deux composés sont transportés dans le sang pour aller vers les tissus périphériques où ils seront convertis en acétyl CoA (cœur, muscles, cerveau) quand le glucose devient déficient. Il se produit également, lors de fortes concentrations en acétoacétate une décarboxylation non enzymatique (et irréversible) conduisant à l'**acétone** (non utilisable par les tissus). Tous les corps cétoniques ne sont pas des cétones

La figure ci-contre montre la synthèse de ces corps cétoniques dans le foie à partir de 2 moles d'acétyl CoA. Leur accumulation dans le sang en cas de jeûne prolongé (ou de jeûne glucidique) provoque une **acidocétose** (baisse du pH du sang).



la cétogenèse :

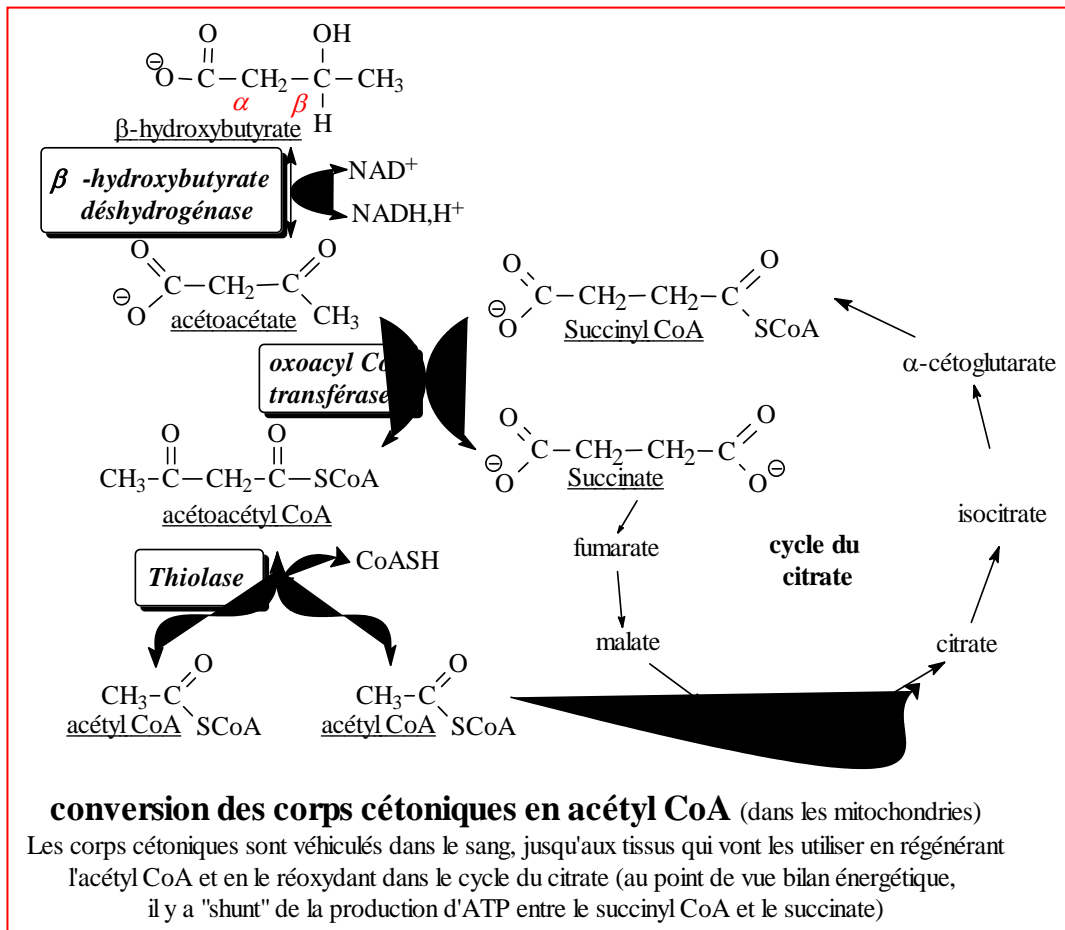
biosynthèse des corps cétoniques : **acétoacétate**, **β -hydroxybutyrate** et **acétone**
 l'HMG CoA est également le précurseur des polyprénoïdes (dont le cholestérol)

Les corps cétoniques sont des combustibles métaboliques importants pour de nombreux tissus, particulièrement le cœur et le muscle squelettique. Dans des conditions plus extrêmes, quand le glucose est déficient ils seront aussi utilisés par le cerveau et deviendront sa principale source d'énergie (épargne glucidique)

La figure suivante montre la dégradation des corps cétoniques en acétyl CoA, par les tissus périphériques, grâce notamment à la **3-oxoacyl CoA transférase** (ou *succinyl CoA transférase*). Cette enzyme n'est pas exprimée dans le foie ce qui le transforme en exportateur de corps cétonique sans possibilité de les consommer.

La **cétose est un cas pathologique** dans lequel la production d'acétoacétate est supérieure à son utilisation. C'est un des symptômes du **diabète**. Dans le diabète sucré, non traité, on peut détecter l'odeur d'acétone dans l'haleine des individus (de même qu'en situation de jeûne long)

L'**acétoacétyl CoA** redonnant naissance à **2 moles d'acétyl CoA** grâce une **thiolase** (enzyme identique à celle de la 1^{ère} étape de la cétogenèse).



L'utilisation de l'acétyl CoA est possible, dans les tissus qui possèdent la 3-oxoacyl CoA transférase, notamment grâce au couplage avec le cycle du citrate au niveau du succinyl CoA. Il y a remplacement de l'étape du cycle réalisant l'hydrolyse du *Succinyl CoA* en *Succinate* couplée à la production du **GTP**. Le succinate suit les étapes du cycle jusqu'à l'oxaloacétate qui accepte l'acétyl CoA régénéré.

Au niveau du bilan énergétique, en partant de *l'acétoacétate*, on retrouvera donc que $2 \times 11 = 22$ ATP, (soit **11 ATP/acétyl CoA** de départ). Si on considère le *β -hydroxybutyrate*, le NADH utilisé dans le foie est récupéré dans les tissus périphériques, on obtient donc globalement le même bilan énergétique = **11 ATP/acétyl CoA**.

12.3 – ANABOLISME : LA LIPOGENESE

12.3.1 – BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS

Depuis le début du XX^e siècle on savait déjà que la plupart des AG possédaient un nombre pair d'atomes de Carbone, car le processus de biosynthèse impliquerait l'addition successive d'un composé à 2 C. cette hypothèse fut démontrée dans les années 40 avec l'aide de traceurs radioactifs (pour la 1^{ère} fois). Mais la découverte de la biosynthèse des acides gras comme une voie totalement différente de leur dégradation fut faite par *Wakil* à la fin des années 50.

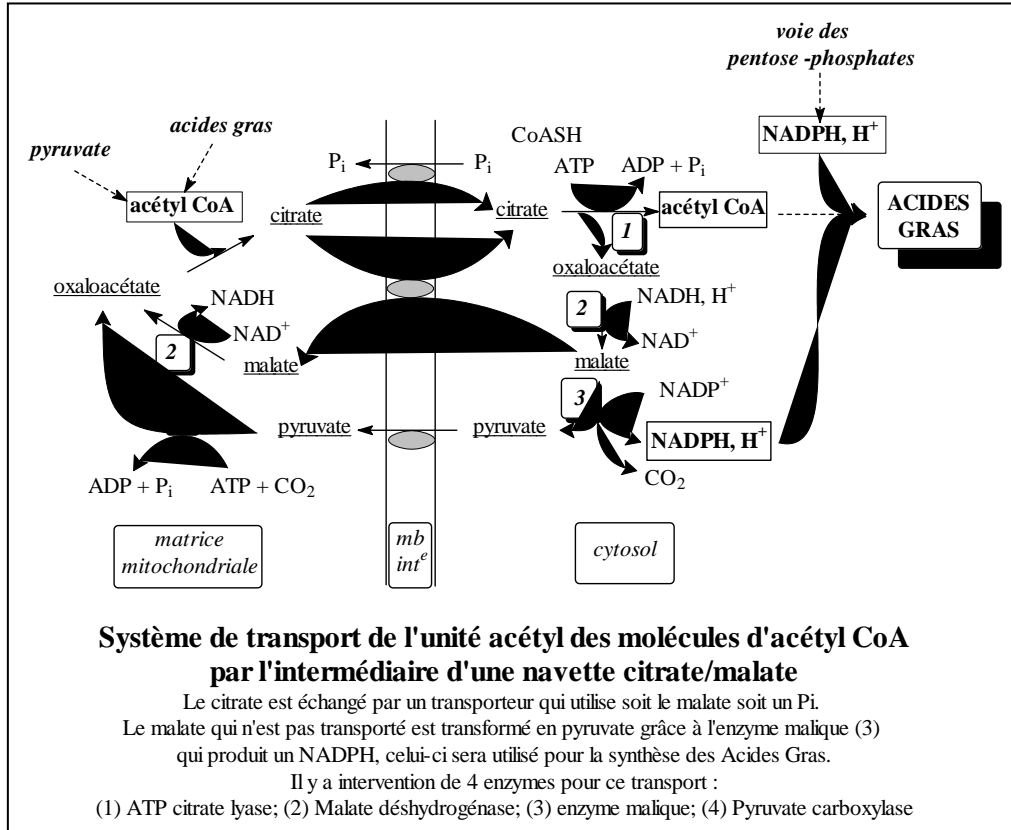
La synthèse des AG est similaire chez la plupart des organismes. Chez les mammifères elle a lieu principalement dans le cytosol des cellules du foie, dans les adipocytes et dans les cellules mammaires au moment de la lactation.

Nous étudierons particulièrement le processus chez les eucaryotes (plus particulièrement chez les mammifères) nous nous bornerons à préciser les différences chez les procaryotes (ex. d'*E. Coli*).

Chez les eucaryotes, la synthèse et la dégradation sont donc des voies totalement séparées :

	Oxydation	Synthèse
Compartiment cellulaire	Matrice mitochondriale	Cytosol
transporteur d'acyle	Coenzyme A SH (CoASH)	ACP (protéine porteuse d'acyle)
Elément carboné	C ₂	C ₂
Accepteur/donneur	Acétyl CoA (C ₂)	Malonyl CoA (C ₃ , le donneur perdant 1 CO ₂ pendant la réaction)
Coenzymes red/ox	NAD ⁺ , FAD	NADPH
Organisation des enzymes	Enzymes séparées	Enzyme plurifonctionnelle
Nécessité de citrate	non	Oui

1-a) transport d'unité acétyl de la mitochondrie au cytosol par le système transporteur de citrate



La mitochondrie fournit l'acétyl CoA qui doit passer la barrière mitochondriale.

En dehors des périodes de jeûne, les AG sont synthétisés à partir de l'acétyl CoA provenant du métabolisme des glucides. L'acétyl CoA est exporté de la mitochondrie vers le cytoplasme par le système transporteur de citrate:

- condensation de l'oxaloacétate et de l'acétyl CoA dans la matrice mitochondriale pour donner le citrate (***citrate synthétase***) qui quitte la mitochondrie par un transporteur de citrate, soit couplé avec un anion dicarboxylate : le **malate**, soit couplé avec un autre anion le **phosphate inorganique**
- dans le cytosol, le citrate libère l'acétyl CoA (***ATP citrate lyase***), qui sera utilisé pour la biosynthèse des AG, et redonne l'oxaloacétate qui sera réduit en malate (***malate déshydrogénase***)
- le malate est soit transporté dans la mitochondrie contre un citrate par le transporteur de citrate, soit décarboxylé et oxydé en pyruvate par ***l'enzyme malique*** en produisant un NADPH, H⁺

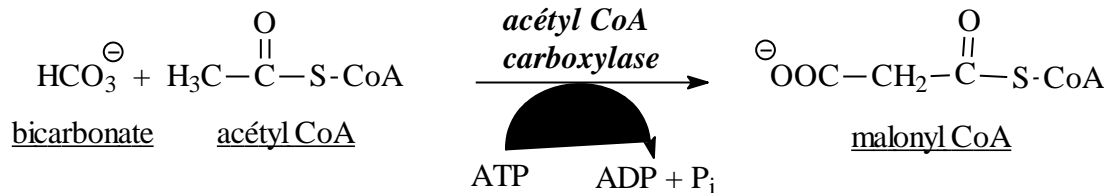
- le pyruvate entre dans la mitochondrie par une pyruvate translocase et est carboxylé en oxaloacétate par la *pyruvate carboxylase*
- l'oxaloacétate ainsi reformé peut à nouveau prendre en charge une nouvelle mole d'acétyl CoA. Si c'est le malate qui entre dans la mitochondrie en échange avec le citrate (transporteur de citrate), le malate est oxydé en oxaloacétate par la *malate déshydrogénase* (réaction réversible) et le cycle peut aussi recommencer.

Ce cycle fournit 1 **NADPH, H⁺** qui servira à la synthèse des acides gras. L'autre mole de NADPH nécessaire à la biosynthèse sera fournie par la voie de pentoses-P.

1-b) activation de l'acétyl CoA en Malonyl CoA

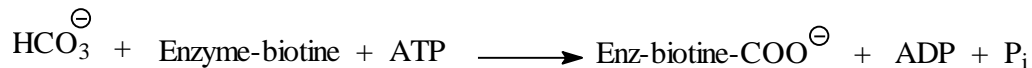
La 2^e étape de la biosynthèse d'AG correspond à la carboxylation de l'acétyl CoA (C₂) en Malonyl CoA (C₃) réaction catalysée par l'**acétyl CoA carboxylase** qui utilise la **biotine** comme groupe prosthétique. La biotine est le coenzyme des carboxylase elle appartient au groupe des vitamine B (vitamine B₈).

Cette réaction est une étape clef de la régulation de la synthèse des AG

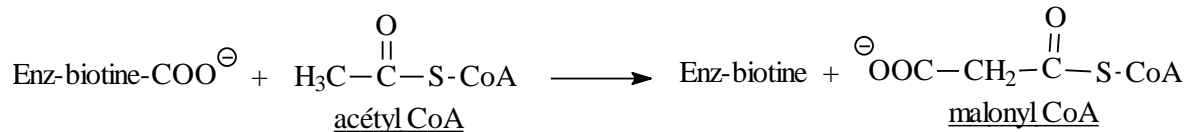


L'acétyl CoA étant carboxylé en 2 étapes :

- activation ATP-dépendante du bicarbonate en carboxylant la biotine donne la **carboxybiotine**



Dans un 2^e temps l'enzyme catalyse le transfert du CO₂ ainsi activé sur l'acétyl CoA



La régulation de l'acétyl CoA carboxylase est hormonale et se fait par phosphorylation : le **glucagon**, via une protéine kinase AMP_c dépendant et une cascade de phosphorylation, va phosphoryler l'enzyme et **inactiver** l'enzyme du foie. **L'adrénaline** réalise cette phosphorylation dans les adipocytes et inactive l'enzyme. Ceci diminue la synthèse des AG. L'insuline stimule aussi la phosphorylation de l'*acétyl CoA carboxylase* mais sur un autre site ce qui active l'enzyme.

Enfin l'*acétyl CoA carboxylase* est contrôlée par l'acyl CoA d'AG (inhibe l'enzyme à forte concentration de manière allostérique). Ce qui signifie que lorsqu'il y a suffisamment d'acides gras cela entraîne le ralentissement de la 1^e étape conduisant à la synthèse d'AG.

La biosynthèse des AG peut se diviser en 2 étapes :

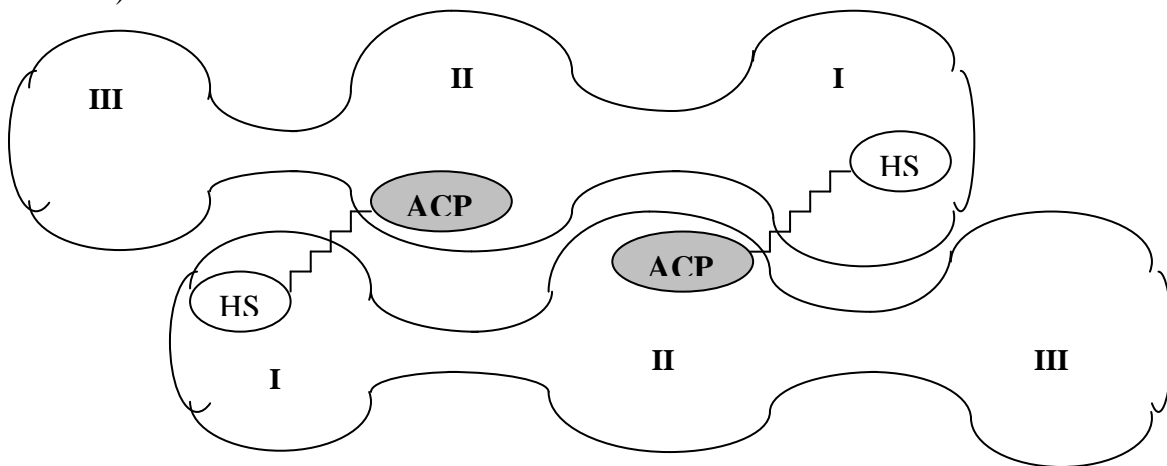
- la synthèse de *novo* du **Palmitate** (C_{16:0}) et du **Stéarate** (C_{18:0}) AGCM (AG chaînes moyennes)
- et les modifications postérieures de la chaîne hydrocarbonée, incluant **l'élongation** ou/et l'introduction d'une ou de plusieurs **insaturations**.

Certains organismes sont incapables de synthétiser toutes les classes d'acides gras (par défaut de certaines enzymes de la chaîne) et par exemples certaines insaturations chez les animaux. Ces Acides gras nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme devront obligatoirement être amenés par la Diète, ils correspondent aux **acides gras essentiels**.

1-c) l'acide gras synthétase : biosynthèse des AGS chaîne moyenne

Il y a 7 réactions enzymatiques qui sont impliquées dans la conversion de l'acétyl CoA en acides gras par l'action de l'**acide gras synthétase** (*figure suivante*). Cette enzyme est une **protéine multifonctionnelle** chez les animaux (mammifères et Levures). Chez les procaryotes il s'agit d'un complexe multienzymatique constitué de différentes protéines, portant chacune une activité enzymatique.

L'acide gras synthétase, comme le montre la figure suivante est dimère multifonctionnel, constitué de 3 domaines. Chaque domaine présente différentes activités enzymatiques et c'est dans le domaine II qu'est localisée la **protéine porteuse d'acide gras** ou **ACP** (*Acyl Carrier Protein*).

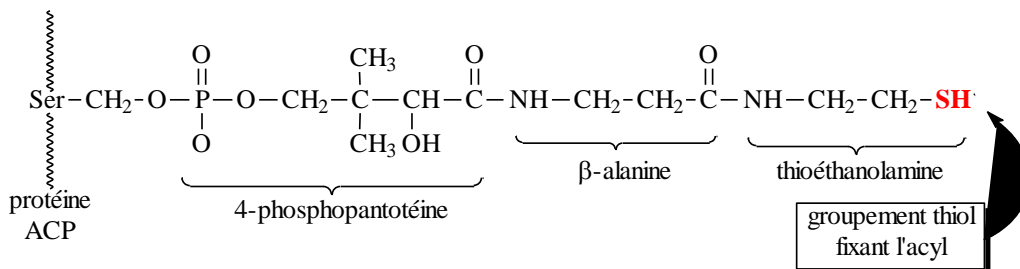


Domaines	activités enzymatiques	Fonction
I	1 - 1 acétyl CoA/ACP transacylase 2 - 2 malonyl CoA/ACP transacylase 3 - cétoacyl ACP synthétase	Chargement condensation
II	4 - cétoacyl ACP réductase 5 - β-hydroxyacyl ACP déshydratase	Réduction Déshydratation

	6 – enoyl ACP réductase ACP (protéine porteuse d'acyles)	réduction
III	7 - thiolase	détachement

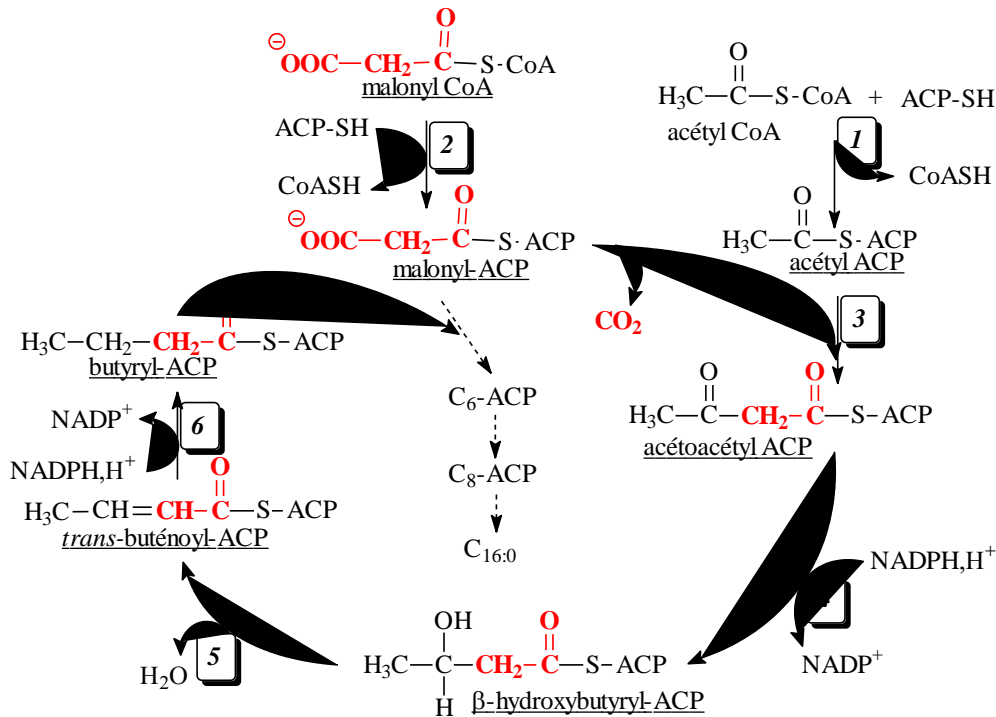
Structure de l'acide gras synthétase de mammifères.

Les 2 chaînes polypeptidiques, comportant chacune les 7 activités enzymatiques, sont placées tête-bêche. Le domaine I est le domaine condensant, le domaine II où s'effectuent les réactions de réduction et de déshydratation et le 3^e domaine, un peu à l'écart, est celui de la thiolase, qui catalyse le départ de la chaîne d'acide gras complète à 16 C.



structure du groupe prosthétique de la protéine ACP

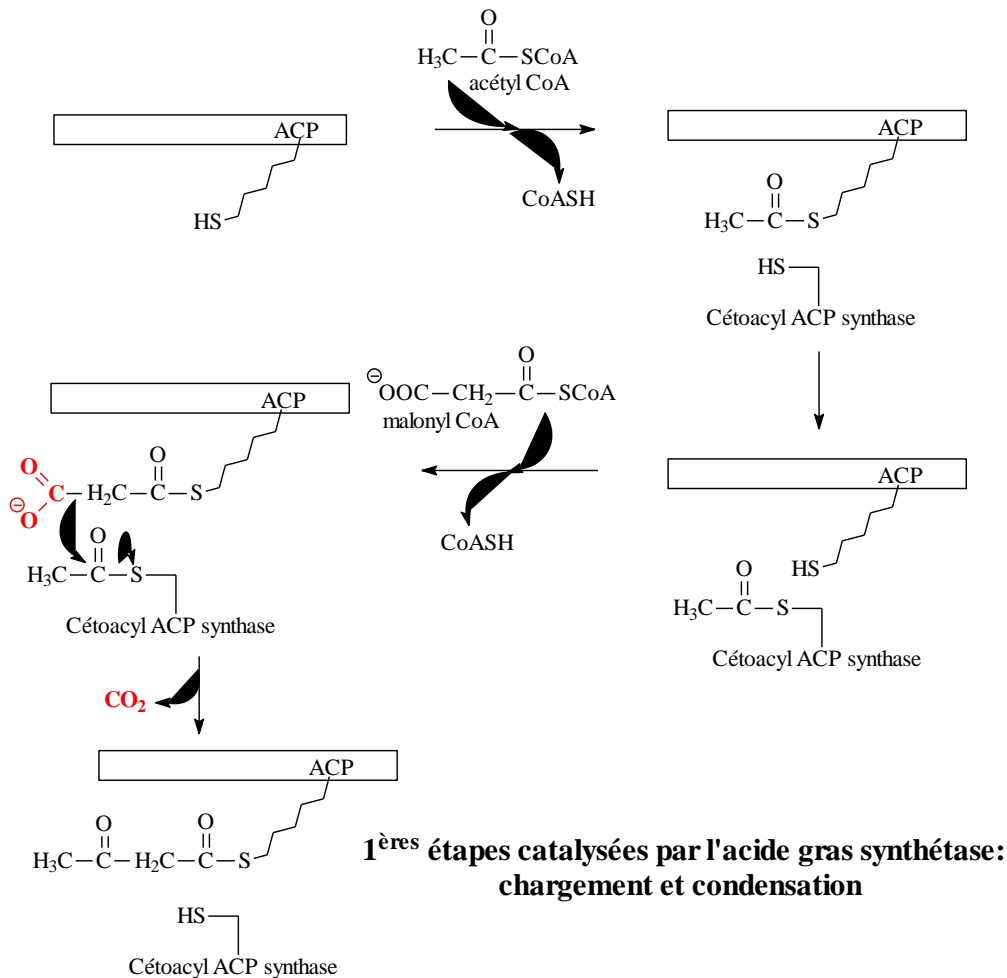
Le groupe prosthétique de l'ACP est identique à celui du Coenzyme A, c'est le groupement thiol de la thioéthanolamine qui chargera et fixera les acyles par une liaison thioester.



Biosynthèse des AG catalysée par l'acide gras synthétase

- Les réactions 1 et 2 sont les étapes de chargement, l'enzyme se charge des précurseurs de la réaction de condensation : un groupe acétyl et le malonyl ACP. Comme la réaction de condensation nécessite la juxtaposition des groupes SH de l'ACP et d'une Cystéine de l'enzyme, ces groupes se trouvent sur des sous-unités séparées qui interagissent tête-bêche. La chaîne d'acyle s'attache d'abord au groupe thiol de la **cétoacyl ACP synthétase** du protomère opposé. L'ACP sert de nouveau de point d'entrée pour le malonyl CoA et les 2 précurseurs se condensent (étape 3). Le produit de la réaction restant fixé à l'ACP.
- Les étapes 4, 5 et 6 se déroulent ensuite correspondant à une réduction, une déshydratation et une nouvelle réduction, faisant intervenir **2 moles de NADPH, H⁺** (formé dans la voie des pentoses-P et dans le système transporteur de citrate).
- La synthèse se poursuit alors avec la reprise de ces étapes, la 2^e condensation reprenant avec le **butyryl CoA** (C₄) au lieu de l'acétyl CoA, puis à nouveau les étapes 4, 5 et 6 pour aboutir au C₆ et ainsi de suite jusqu'au **palmityl CoA** (C₁₆) qui sera détaché par l'enzyme N° 7 la **thiolase** du domaine III pour donner le **palmitate**.

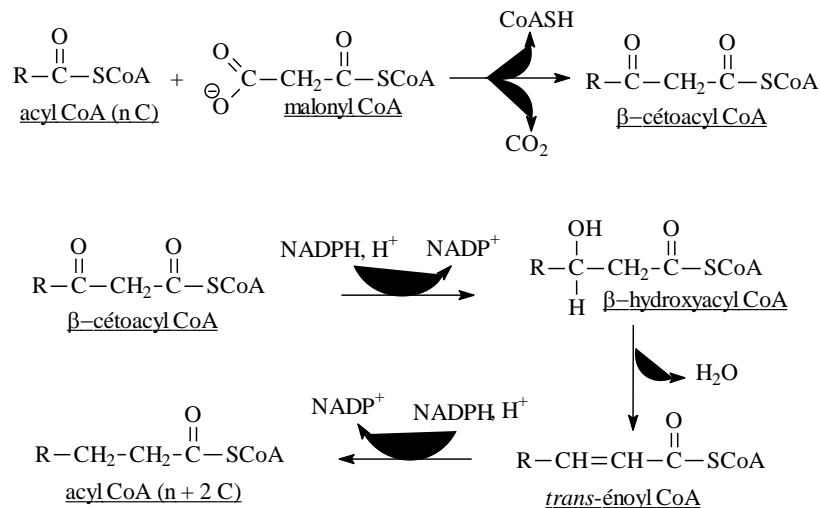
Les activités complémentaires de chacun des protomères se déroulent de concert dans le dimère symétrique. **2 acides gras sont donc synthétisés à chaque fois.**



La synthèse des acides gras selon ce processus produit essentiellement du **palmitate (C16 :0)** la **thioestérase** du domaine III étant spécifique du C16 et dans une moindre mesure du C18 :0 (stéarate).

1-d) biosynthèse des AGCL (AG à chaîne longue)

Pour la synthèse d'**acides gras à chaîne plus longue**, il se produit une élongation qui se déroule, chez les eucaryotes, dans la mitochondrie, pour une partie, mais surtout dans le **réticulum endoplasmique**. L'allongement, dans le RE, est réalisé par une **élongase** qui utilise aussi le malonyl CoA et qui ajoute 2C à chaque fois.

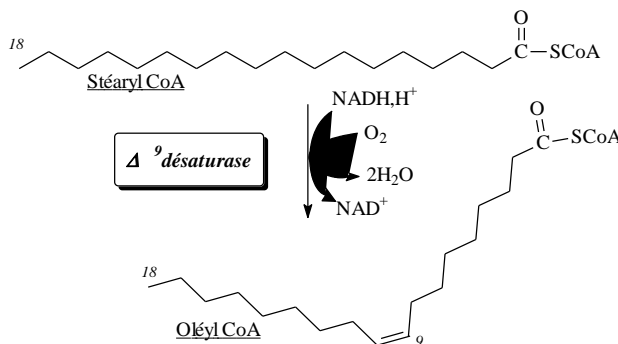


Elongation des acides à chaîne longue

1-e) biosynthèse des AGPI et AGHI (AG indispensables et essentiels)

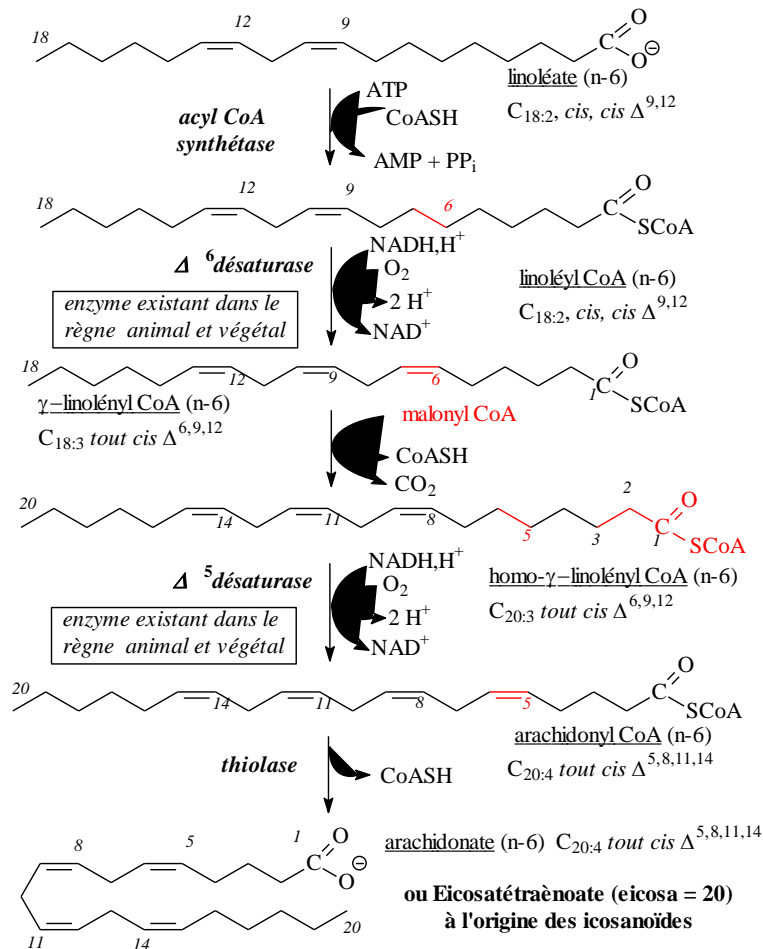
La **désaturation** des acides gras est différente chez les procaryotes et les eucaryotes. Il existe une voie anaérobie chez les procaryotes et une voie aérobie chez les eucaryotes, bien étudiée chez les mammifères et que nous allons voir ci-après. La réaction se déroule dans un système microsomal par une **désaturase** d'acyl CoA d'acides gras dont le coenzyme est le NADH, H⁺ en présence d'oxygène.

Les doubles liaisons supplémentaires sont réalisées tous les 3C par des désaturases spécifiques. Les acides gras polyinsaturés à longues chaînes sont obtenus à partir de l'oléate par combinaison de l'action de désaturases et d'élongases.



Toutes les espèces ne possèdent pas les mêmes désaturases, par exemple, dans le règne animal il n'y a pas de désaturases supérieures à une Δ^9 désaturase, celles-ci n'existant que dans le règne végétal (Δ^{12} ou 15). Les acides gras polyinsaturés produits par ces désaturases les **C18 :2 (n-6)** et **C18 :3 (n-3)** étant indispensables pour la biosynthèse de leurs homologues supérieurs nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme, devront donc être apportés par la Diète.

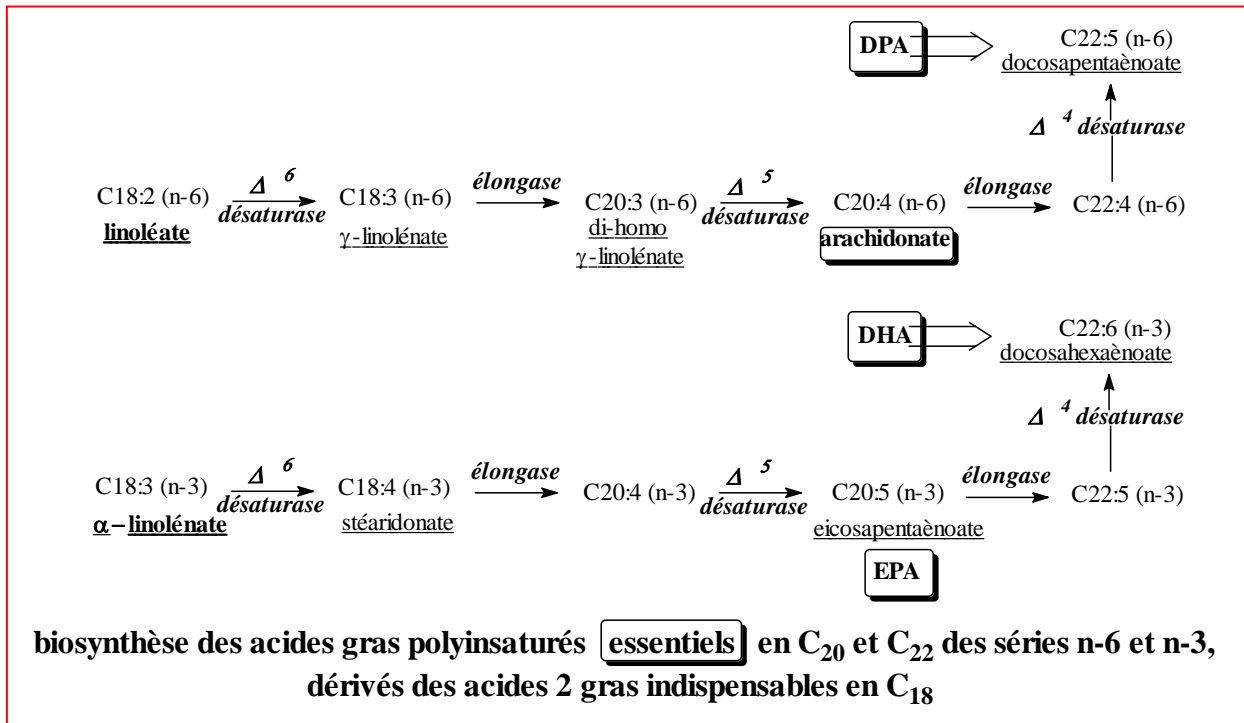
Les 2 acides gras précurseurs **linoléate** (n-6) et **α -linoléate** (n-3) sont appelés **acides gras indispensables** et vont induire la biosynthèse de 2 séries d'acides gras dont la dernière double liaison se trouvera toujours soit à 6C du CH_3 (série n-6) soit à 3 C du CH_3 (n-3).



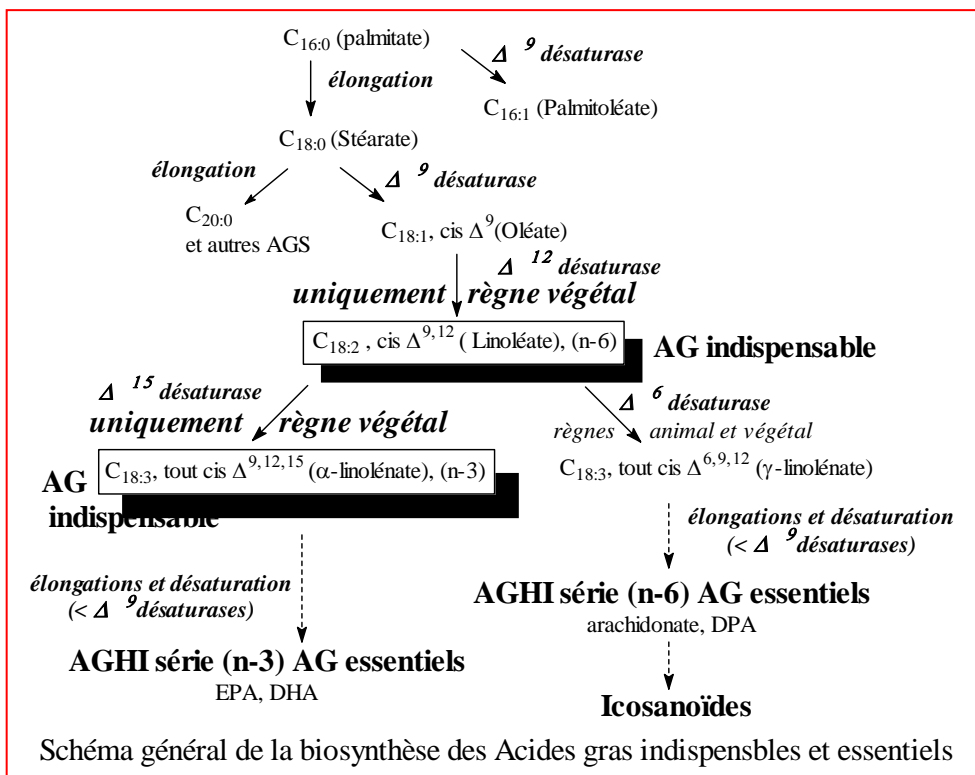
réactions d'élongation et de désaturation permettant la biosynthèse des AGHI à partir d'un Acide gras indispensable, ici le linoléate (n-6)

Ces acides gras dont notamment *l'arachidonate*, le *DPA*, le *DHA* et *l'EPA* doivent être synthétisés en quantité importante à partir de ces précurseurs indispensables. Si le linoléate et l' α -linoléate font défaut dans l'alimentation, leurs dérivés peuvent être ramenés directement par la Diète, on parlera alors **d'acides gras essentiels** des séries (n-6 ou $\omega 6$) et (n-3 ou $\omega 3$). La figure suivante montre l'exemple de la synthèse de *l'arachidonate* (AG essentiel de la série (n-6) à partir

du linoléate. Cet AGHI (hautement insaturé) est très important car c'est un constituant des Phospholipides membranaires (participe à la fluidité de la membrane) ainsi que le schéma général



La figure suivante schématise la biosynthèse des AGPI (polyinsaturés) et AGHI (hautement insaturés)



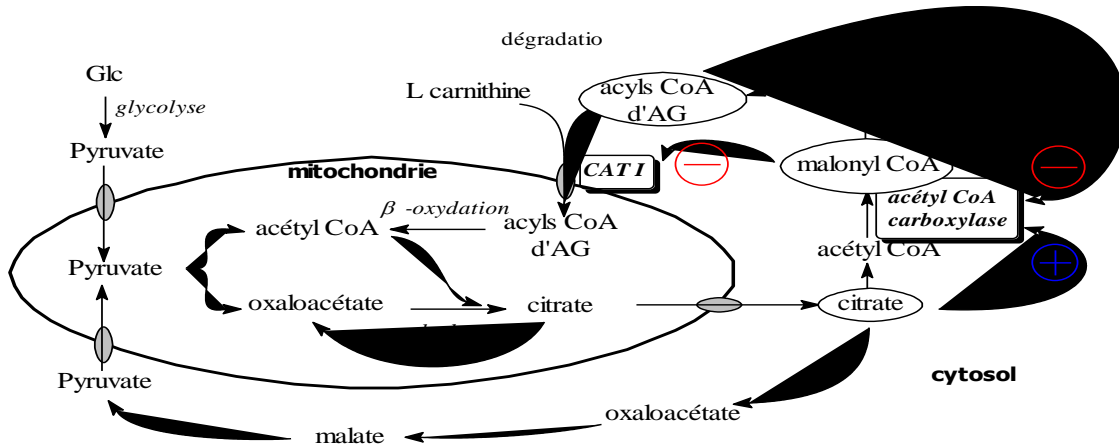
12.3.2 REGULATION DU METABOLISME DES ACIDES GRAS

En général, les mécanismes de synthèse et de dégradation des acides gras sont similaires dans le foie des mammifères et chez E. Coli, mais les stratégies de régulation sont différentes car les bactéries n'utilisent pas les « graisses » comme réserve d'énergie.

Dans la majorité des cellules, l'oxydation des acides gras est régie par la disponibilité des substrats. Chez les animaux, la mobilisation des « graisses » du tissu adipeux est sous contrôle hormonal. Dans le foie, l'entrée des acides gras dans la mitochondrie est contrôlée par le niveau de malonyl CoA (inhibiteur de la CAT I). Ainsi un niveau élevé en malonyl CoA indique la synthèse d'acides gras et donc l'inhibition de l'accès au compartiment cellulaire où ils s'oxydent.

Le citrate stimule la production de malonyl CoA (activateur de l'acyl CoA carboxylase) orientant vers la synthèse d'AG donc de TAG. Par contre, cette enzyme est inhibée de manière allostérique par des concentrations élevées en acyls CoA d'AG induisant une diminution de la biosynthèse.

Le schéma suivant représente cette balance entre dégradation et biosynthèse

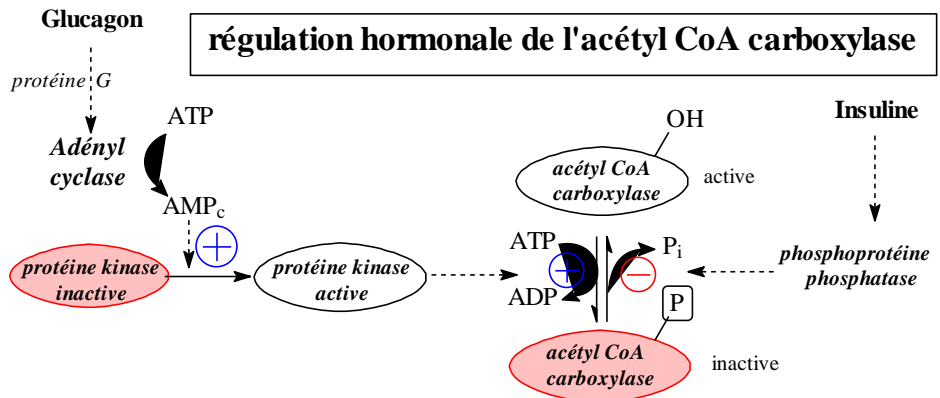


Régulation de la β -oxydation et de la biosynthèse des AG sont ajustées par la régulation de l'acétyl CoA carboxylase (\oplus activation ou \ominus inhibition) et la CAT I (carnithine acyl transférase)

La régulation hormonale agit aussi sur l'acétyl CoA carboxylase sous la dépendance du **Glucagon** et de **l'insuline** par le mécanisme classique de phosphorylation /déphosphorylation, comme le montre le schéma :

Le **Glucagon** va inhiber l'acétyl CoA carboxylase et donc inhiber la biosynthèse du malonylCoA et donc indirectement activer la dégradation des AG, la **lipolyse**

L'**insuline** en déphosphorylant l'enzyme va donc activer le processus inverse de synthèse des AG donc la **lipogénèse**.



METABOLISME DES ACIDES AMINES

Les acides aminés sont à la fois les précurseurs et les produits de dégradation des protéines, ils jouent un rôle capital dans l'élaboration et le maintien de la matière vivante, ils proviennent soit d'une synthèse endogènes, soit de l'alimentation, soit enfin de la dégradation ou de renouvellement des protéines circulantes et tissulaires. Comme il n'existe pas de réserve en acides aminés, les interrelations avec les métabolismes glucidique et lipidique contribuent à équilibrer les échanges d'azote aminé et les adapter aux besoins cellulaires.

Le cycle de l'azote dans la biosphère est entièrement dépendant des microorganismes tels que :

- La fixation de l'azote atmosphérique
- La nitrification
- L'ammonification de l'azote organique

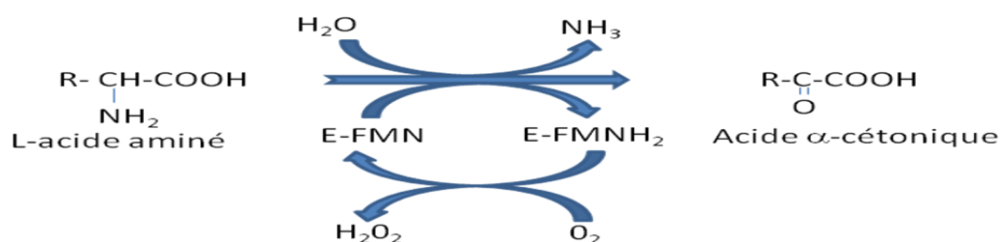
Sont assurés en partie ou en totalité par les bactéries, les cyanophycées et les champignons inférieurs.

CATABOLISME DES ACIDES AMINES

1- La désamination oxydative

Dans le cas général, le catabolisme des acides aminés commence par une désamination oxydative, dans de nombreux organismes, on trouve plusieurs types d'acidoaminoacides déshydrogénases, dont certaines n'exercent qu'un rôle mineur.

L'une est une flavoprotéine auto-oxydable à FMN, spécifique des acidoaminoacides de configuration L, appelée L-acidoaminoacide oxydase :



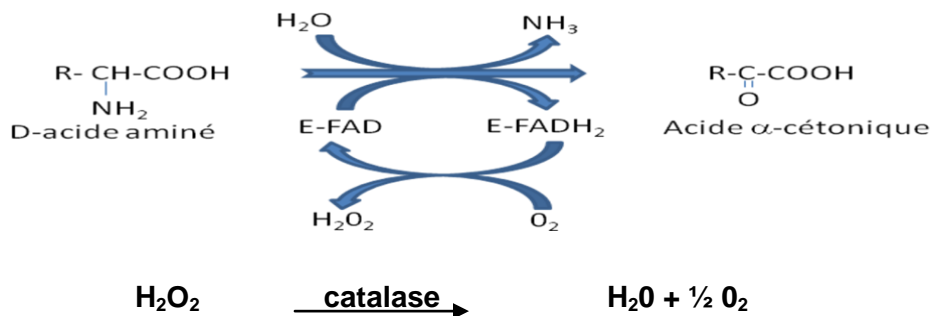
Le peroxyde d'hydrogène, H₂O₂, est ensuite décomposé par une catalase



La participation de cette enzyme au catabolisme général des acides aminés peut être considérée comme négligeable.

L'autre enzyme est une flavoprotéine auto-oxydable à FAD, spécifique des acidoaminoacides de configuration D, appelée D-acidoaminoacide oxydase.

Cette enzyme est très active, bien que ses substrats (les D-aminoacides) ne se rencontrent pas dans les conditions naturelles.



La seule enzyme catalysant une désamination oxydative d'acide aminé, dont la distribution dans l'organisme et l'activité soient suffisantes pour expliquer le catabolisme des acides aminés, est la **glutamate déshydrogénase**.

Cette **voie principale** passe par une série de **transaminations** entre les acides aminés et l'acide α -cétoglutarique, suivie d'une désamination oxydative de l'acide glutamique formé.

On peut séparer le devenir du groupe α -aminé et celui du squelette carboné de l'aminoacide. Il n'y a pas de désamination directe des acides aminés sauf pour le **Glutamate** et le **Glutamine** dans le foie et le rein.

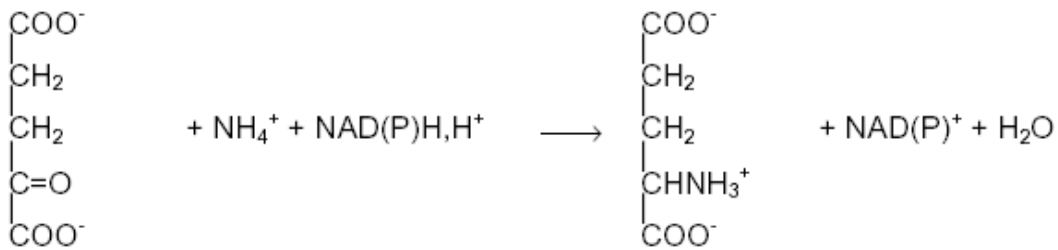
D'une manière générale, le squelette carboné est converti en acétyl-CoA ou acéto-acétyl CoA ou pyruvate ou un des intermédiaires du cycle de Krebs et qui sont utilisés comme élément énergétique ou néoglycogénèse (pour certains acides aminés).

2 - ASSIMILATION DE L'AMMONIAC

L'ammoniac, qu'il dérive de la fixation biologique de l'azote atmosphérique, de la réduction des nitrates ou des nitrites ou de l'absorption directe de l'ion ammonium, est toxique pour l'organisme. Il sera transformé en fonction amine ou amide non toxique. On parle alors de l'assimilation de l'ammoniac. Trois enzymes interviennent : **la glutamate déshydrogénase, la glutamine synthétase et la glutamate synthase (GOGAT : glutamine 2-oxoglutarate aminotransférase)**.

2.1 – GLUTAMATE DESHYDROGENASE

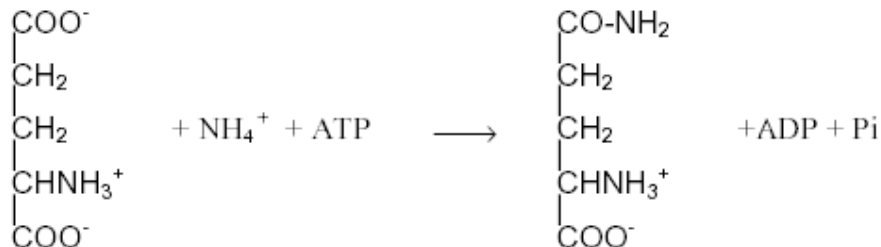
L'assimilation de l'ammoniac est réalisée dans tous les organismes par une enzyme allostérique : **la glutamate déshydrogénase**. On la rencontre dans les mitochondries et dans les chloroplastes. Elle utilise aussi bien le NADPH, H^+ que le NADH, H^+ . Elle catalyse :



La réaction est réversible. Son sens dépend des concentrations relatives du glutamate, de l' α -cétooglutarate, de NH_3 et du rapport des formes réduites et oxydées des coenzymes ($\text{NADPH,H}^+/\text{NADP}^+$ et $\text{NADH,H}^+/\text{NAD}^+$). Elle intervient donc aussi bien dans la réaction d'assimilation de l'ammoniac que dans celle du catabolisme des acides aminés. La **glutamate déshydrogénase** est très active dans le foie et les reins. Elle fait l'objet d'une régulation allostérique, inhibée par ATP et GTP mais activée par ADP et GDP.

2.2 – GLUTAMINE SYNTHETASE

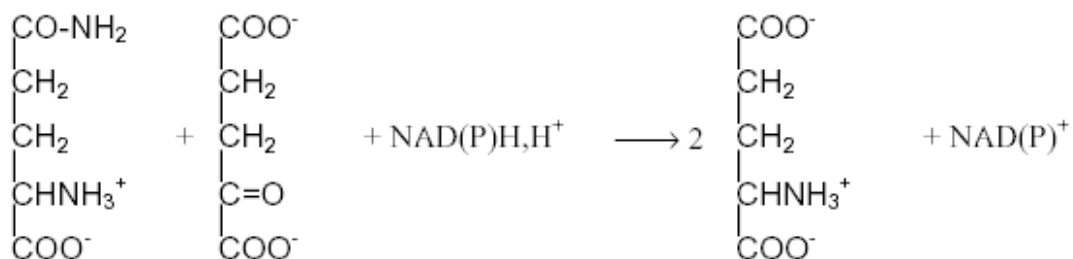
L'assimilation de l'ammoniac peut aussi se faire par l'action de la **glutamine synthétase** avec consommation d'énergie, sous forme d'une liaison phosphate riche en énergie de l'ATP. Elle catalyse la réaction :



La glutamine devient un transporteur du groupement amine à partir du foie **via** le plasma sanguin vers les autres tissus.

2.3 – GLUTAMATE SYNTHASE

La glutamine peut être impliquée dans une deuxième réaction catalysée par la **glutamine synthase** (Glutamine 2-oxoglutarate aminotransférase ou GOGAT) qui conduit à la formation du glutamate.

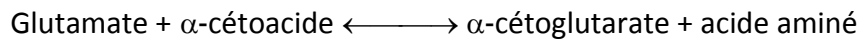


L'action de la **glutamine synthétase** et de la **glutamate synthase** est couplée dans les cyanobactéries et dans les systèmes symbiotiques associant *Rhizobium-légumineuses*. Le groupe amide du glutamate sert à la synthèse des autres acides aminés (transamination) et fournit l'azote dans la synthèse des autres composés azotés.

3 - LA TRANSAMINATION : TRANSFERT DU GROUPEMENT AMINE

C'est le processus qui conduit à un échange de la fonction amine entre un acide aminé (principalement le glutamate) et un α -cétoacide ou 2-oxo-acide (figure 1). Les enzymes qui catalysent de telles réactions sont appelées des **aminotransférases** ou **transaminases**.

Les **aminotransférases** majeures se trouvent dans tous les tissus et la réaction catalysée est réversible. Le transfert de la fonction amine du glutamate sur un α -cétoacide s'écrit :



Le cofacteur impliqué est le pyridoxal phosphate qui dérive de la vitamine B6. Il constitue le groupement prosthétique de toutes les **aminotransférases** et est lié au reste lysine de l'apoenzyme par une liaison covalente sous forme de base de SCHIFF en l'absence de substrat. Sa liaison provisoire avec l'acide aminé substrat est aussi une base de SCHIFF. Le mécanisme détaillé sera détaillé dans le chapitre du métabolisme des acides aminés.

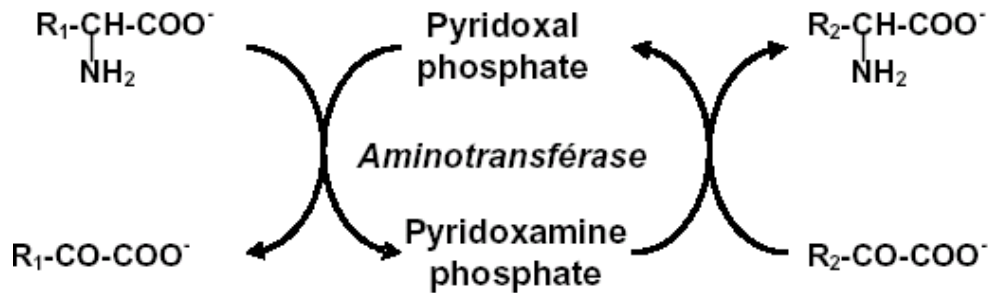


Figure 1: La transamination ou l'aminotransfert. Le groupement aminé est transféré de l'acide aminé 1 sur un α -cétoacide pour former l'acide aminé correspondant (acide aminé 2).

4 – ORIGINE ET TRANSPORT DE L'AMMONIAC CHEZ LES ANIMAUX

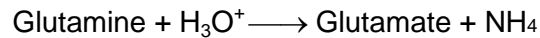
4.1 – SOURCE DE L'AMMONIAC

Le catabolisme d'un grand nombre de composés azotés dans la cellule animale conduit à la production de l'ammoniac. Ce dernier est toxique pour l'organisme à partir d'un certain seuil de concentration.

- Les acides aminés, provenant de l'hydrolyse des protéines, sont quantitativement les producteurs majeurs d'ammoniac grâce à l'action combinée des **aminotransférases** (qui

transfèrent le groupement amine d'un acide aminé sur l' α -cétoglutarate pour former le glutamate), et de la **glutamate déshydrogénase**.

- La glutamine est la forme de transport non toxique de l'ammoniac. Elle est formée dans les muscles, le foie et aussi dans le système nerveux. Elle est ensuite excrétée dans le sang où son taux est supérieur à celui des autres acides aminés. Dans les reins et dans l'intestin, la glutamine circulante subit l'action de la **glutaminase** qui l'hydrolyse en glutamate et en ammoniac.



- La dégradation des purines, des pyrimidines et des autres amines, est aussi source de formation d'ammoniac.

4.2 – TRANSPORT DE L'AMMONIAC

Deux formes de transport sont privilégiées :

- la glutamine formée par fixation de l'ammoniac sur le glutamate avec consommation d'énergie,
- l'urée formée exclusivement dans le foie des animaux et qui contribue à l'élimination de l'ammoniac. La séquence de réactions conduisant à la formation de l'urée constitue le **cycle de l'Urée** ou l'**Uréogénèse**.

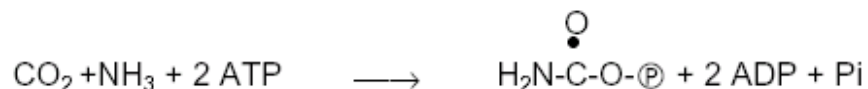
5 - UREOGENESE OU CYCLE DE L'UREE (ELIMINATION DE L'ION AMMONIUM)

L'excès d'ammoniac ou d'ion ammonium doit être éliminé. Les poissons l'excrètent sous la forme d'ion ammonium dans l'eau, d'acide urique chez les oiseaux et reptiles. Pour les autres vertébrés terrestres l'ion ammonium est éliminé sous forme d'urée. La séquence des réactions qui vont intervenir comporte une phase mitochondriale et une phase cytosolique, illustrée dans la figure 2. Elle ne se déroule que dans le foie.

PHASE MITOCHONDRIALE

5.1 - SYNTHÈSE DU CARBAMOYLPHOSPHATE

Dans les mitochondries la **carbam(o)ylphosphate synthétase** utilise le CO_2 , le NH_3 et 2 ATP comme substrats pour former le carbam(o)ylphosphate. Deux liaisons phosphates riches en énergie sont consommées.



5.2 – SYNTHÈSE DE LA CITRULLINE

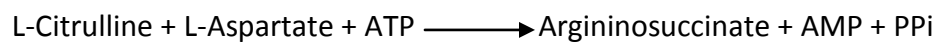
Une fois le carbam(o)ylphosphate formé, il est rejoint par l'ornithine transportée du cytosol. Sous l'action de ***l'ornithine carbam(o)yltransférase*** (transcarbamylase) le radical carbamoyle est transféré sur l'ornithine pour former la citrulline.



PHASE CYTOSOLIQUE

5.3 - FORMATION DE L'ARGININOSUCCINATE

La citrulline obtenue est transportée dans le cytosol. Sous l'action de ***l'argininosuccinate synthétase***, la citrulline se condense avec l'aspartate pour donner l'argininosuccinate avec consommation de deux liaisons phosphates riches en énergie d'une molécule d'ATP.



5.4 – FORMATION DE L'ARGININE

Elle est catalysée par une ***argininosuccinate lyase*** qui assure le clivage en L-arginine et en fumarate. Cette réaction intervient aussi dans la synthèse de l'arginine.



Le fumarate est transporté dans les mitochondries et repris par le cycle de Krebs qui l'oxyde en oxaloacétate. Ce dernier sera transaminé en aspartate par ***l'aspartate aminotransférase***. Ainsi est créé un lien entre les deux cycles de Krebs et de l'Urée.

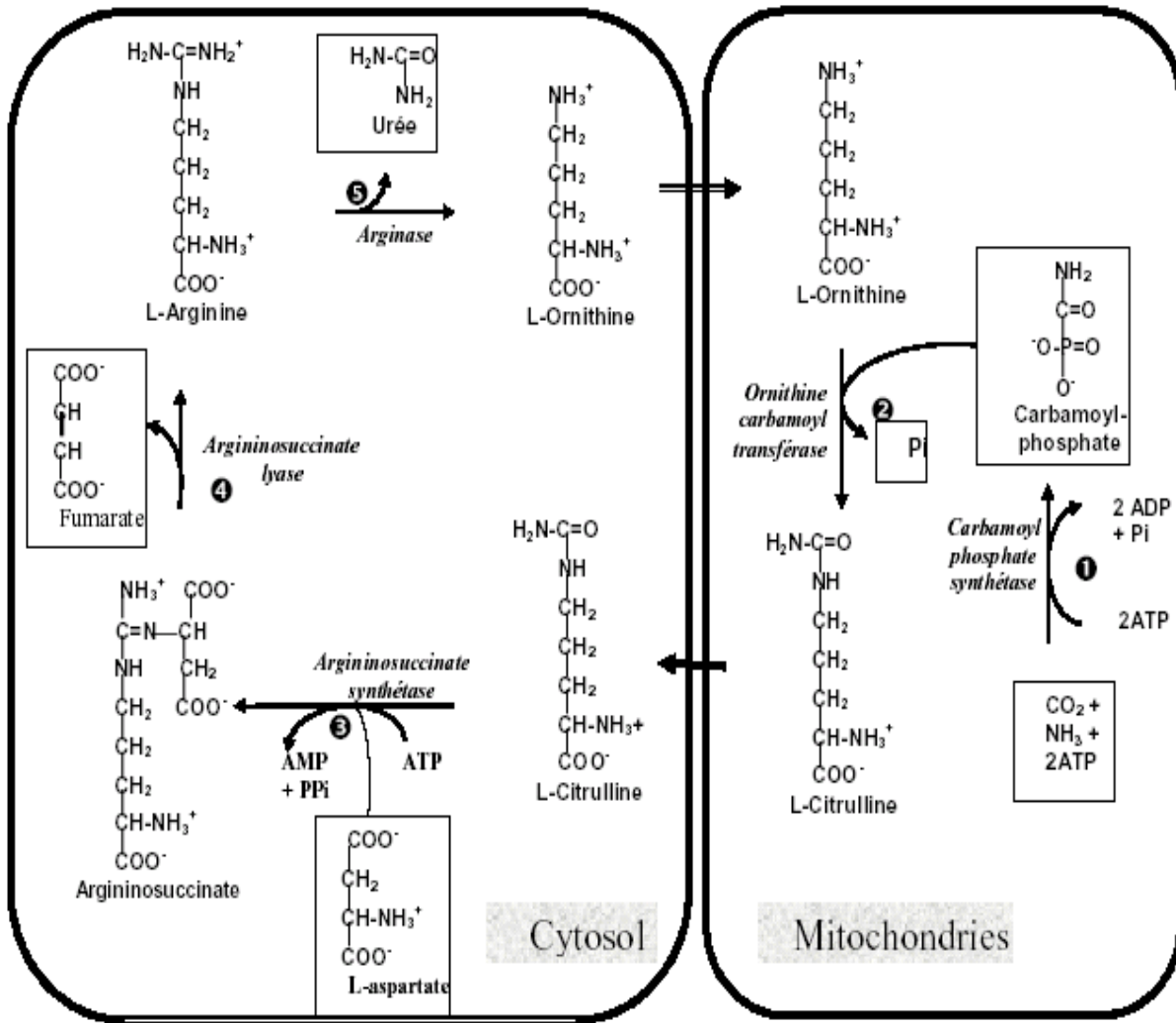
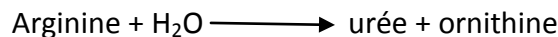


Figure 2: Cycle de l'Urée ou Uréogénèse. On distingue bien les deux phases mitochondriale et cytosolique.

5.5 - HYDROLYSE DE L'ARGININE

L'hydrolyse de l'arginine termine le cycle. Il se forme de l'urée et de l'ornithine. La réaction est catalysée par l'**arginase**



Alors que l'urée est excrétée pour être éliminée par l'urine, l'ornithine est transportée dans les mitochondries pour ré-initier le cycle

C – BILAN DU CYCLE

Le bilan brut du cycle s'écrit :



Au cours de la formation d'une molécule de l'urée, 4 liaisons riches en énergie ont été utilisées (2 ATP en 2 ADP + 2 Pi, ATP en AMP + PPi). Lorsque le fumarate est transformé en oxaloacétate (cycle de Krebs) pour régénérer l'aspartate après transamination, il en résulte la formation d'une molécule de NADH,H+ qui correspond à 3 ATP. En conclusion, l'élimination d'un ion ammonium libre et de l'amine de l'aspartate sous forme d'une molécule d'urée ne consomme qu'une liaison phosphate riche en énergie.

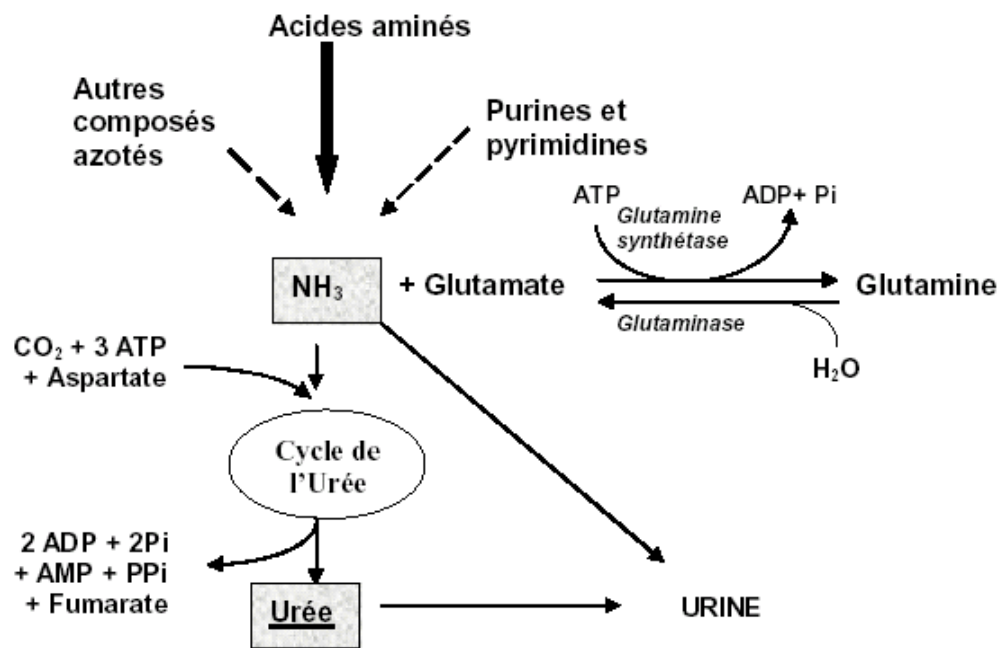


Figure 3: Résumé du métabolisme de l'ammoniac.