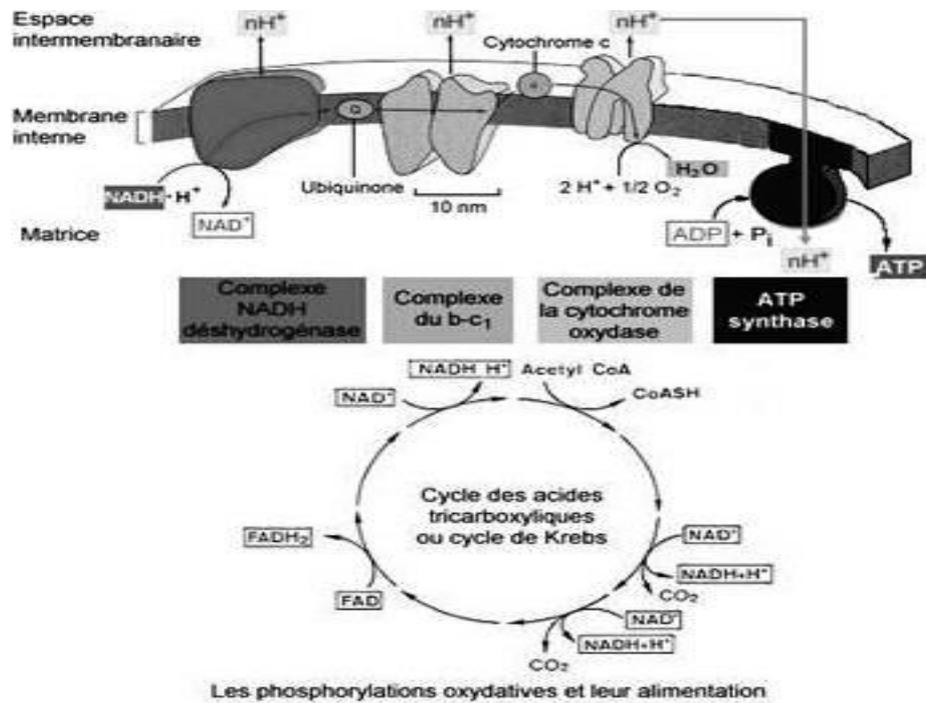
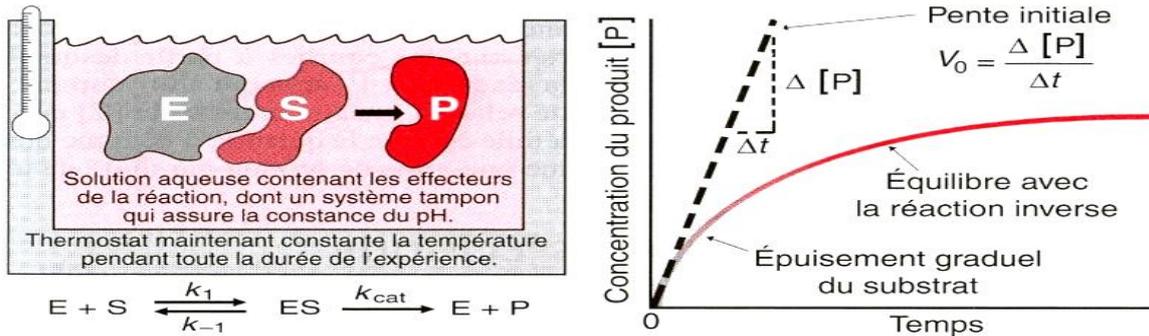


Département : Biologie
Filière : Sciences de la Vie
Semestre 4



Cours du module d'Enzymologie et Biochimie Métabolique (M23)

Responsable : Pr. Khalil HAMMANI

Année Universitaire 2024-2025

I. Introduction et définitions

Les réactions chimiques des systèmes biologiques se font rarement en l'absence d'un catalyseur. L'enzymologie est l'étude des **enzymes**. La grande majorité des enzymes sont des protéines. Les protéines enzymatiques sont des catalyseurs, c'est-à-dire qui agissent à des concentrations très petites. Elles augmentent la vitesse des réactions chimiques, sans en modifier le résultat. A la fin de la réaction, la structure de l'enzyme se retrouve inchangée. Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction car elle catalyse toujours la même transformation, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux. Les protéines enzymatiques sont synthétisées par des êtres vivants. Cette synthèse est déterminée **génétiqument** : sa conservation dans le génome est favorisée par le besoin qu'à cet être vivant de faire cette réaction.

Toutes les molécules qui entrent dans une réaction enzymatique et sont définitivement modifiées sont appelées **substrats**. La nouvelle molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme est appelée **produit**.

La spécificité **Enzyme-Substrat** est due à la conformation de l'enzyme qui la rend spécifique d'un nombre limité de substrats (= réactifs) et de produits. **Emil Fischer** (1894) a proposé un modèle '**serrure-clé**', expliquant le lien spécifique entre le substrat et le **site catalytique** de l'enzyme. Ce modèle a été revu ensuite par **Koshland** où ce dernier postule que le substrat, en se fixant sur le site catalytique de l'enzyme, induit un changement de conformation de l'enzyme, facilitant la réussite de la catalyse. C'est le phénomène dynamique d'**adaptation induite** (Figure 1).

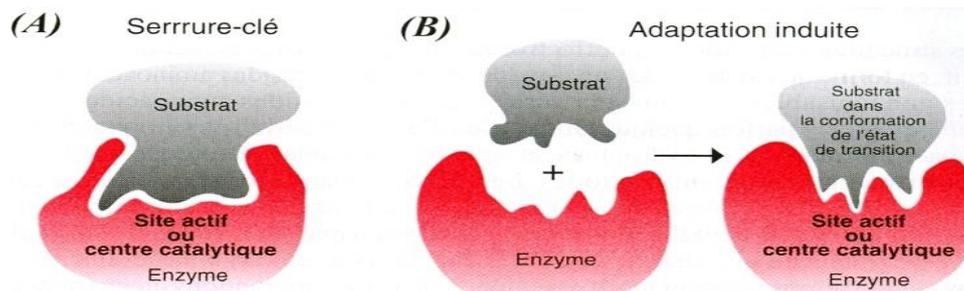


Figure 1. Spécificité entre enzyme et son substrat suivant les modèles '**serrure-clé**' (A) et '**adaptation induite**' (B)

Par ailleurs, l'activité de la plupart des enzymes est régulée. De plus certaines enzymes sont étroitement associées à la transformation des différentes formes de l'énergie au sein de l'organisme.

II. Caractères généraux des enzymes

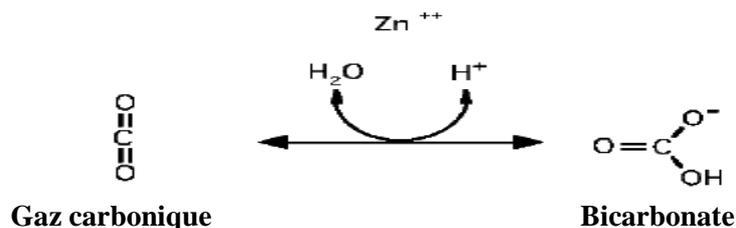
II.1. Nature des enzymes

Mis à part les **ribozymes**, qui sont des ARN doués de propriétés catalytiques (maturation des ARN messagers), les enzymes catalysant les réactions enzymatiques sont des protéines. Les enzymes possèdent 2 propriétés importantes : la **spécificité** et le **pouvoir catalytique**. Elles peuvent multiplier la vitesse de réaction de transformation d'un substrat en produit d'un facteur 10^6 en moyenne, si l'on compare avec la même réaction non catalysée.

Les enzymes sont des polypeptides dont les poids moléculaires (PM) varient de 10.000 daltons (ribonucléase A, PM=13.700) à un million ou plus. Dans ce dernier cas, elles forment des complexes multienzymatiques comme c'est le cas de **la pyruvate déshydrogénase** (PM=4,6 x 10^6 Daltons).

L'activité de certaines enzymes nécessite, en plus de la partie protéique, un composant non protéique qui peut être de différentes natures. Il s'agit d'un **cofacteur**.

Un exemple d'enzyme, l'**anhydrase carbonique**, présente dans toutes nos cellules. C'est une protéine de PM 29.000 daltons, constituée d'une chaîne de 264 acides aminés. La présence d'un atome de Zinc est nécessaire pour son activité. L'anhydrase carbonique permet l'**hydratation** du gaz carbonique (CO₂) selon la réaction :



Sans cette hydratation, le transport du CO₂ des tissus vers le sang puis vers l'air alvéolaire serait incomplet. Cette enzyme catalyse une des réactions les plus rapides connues et chaque molécule d'anhydrase carbonique peut hydrater 10⁴ molécules de CO₂ par seconde. Cette réaction, lorsqu'elle est catalysée, est 10⁷ fois plus rapide que la réaction non catalysée. L'enzyme peut travailler dans deux directions, elle est dite réversible.

II.2. Cofacteurs des enzymes

Les cofacteurs des enzymes sont indispensables dans la catalyse enzymatique d'une réaction. Ils se distinguent des enzymes par son caractère **thermostable**, alors que l'enzyme est **thermolabile**. Un cofacteur libre intervient dans la réaction de manière **stoechiométrique**, alors que celui lié à l'enzyme intervient de manière **catalytique**.

Ces cofacteurs peuvent être des ions métalliques (dans les **métalloprotéines**) ou des **coenzymes**. Les coenzymes sont des molécules biologiques organiques le plus souvent dérivées de vitamines (Tableau 1). Si le coenzyme est lié à la protéine par covalence, on l'appelle **groupement prosthétique**. C'est l'exemple des **fer-tetrapyrroles** que l'on trouve dans les cytochromes, qui font partie intégrante de l'enzyme (réactions d'oxydo-réduction), et qui reste inchangé à la fin de la réaction enzymatique. S'il s'agit des **coenzymes mobiles**, comme le NAD⁺ ou coenzyme A (voir Chapitre VI), ils peuvent se lier irréversiblement à l'enzyme par des liaisons faibles. Ces cofacteurs se trouvent modifiés à la fin de la réaction enzymatique (NAD⁺ se trouve réduit en NADH+H⁺ et coenzyme A, transformé en thioester).

Coenzyme	Précurseur vitaminique	Type de réaction
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD ⁺)	Acide nicotinique (vitamine PP)	Oxydoréduction (transfert d'ion hydrure H ⁻)
Flavine adénine dinucléotide (FAD)	Riboflavine (vitamine B ₂)	Oxydoréduction (transfert d'électrons)
Coenzyme A	Acide pantothénique	Acylation
Phosphate de pyridoxal	Pyridoxine (vitamine B ₆)	Synthèse, transformation des aminoacides
5' désoxyadénosyl cobalamine (coenzyme B ₁₂)	Cobalamine (vitamine B ₁₂)	Réarrangements intramoléculaires
Tétrahydrofolate	Acide folique	Transfert de groupements monocarbonés
Thiamine diphosphate	Thiamine (vitamine B ₁)	Décarboxylation d'acides α-cétoniques, transfert de carbonyles
Biocytine	Biotine (vitamine H)	Réactions de carboxylation

Tableau 1. Types de coenzymes avec les vitamines qui en dérivent et les réactions auxquelles ils participent

II.3. Classification des enzymes

Malgré leur diversité, les réactions biochimiques peuvent être regroupées en six classes distinctes, connus par le système de **nomenclature** IUB (International Union of Biochemistry, tableau 2). Chacune de ces classes est subdivisée, et chaque enzyme reçoit un numéro d'ordre à l'intérieur de la subdivision. C'est en quelque sorte une systématique des enzymes où le **numéro systématique** de chaque enzyme tient compte de son classement dans la nomenclature.

Classe	Type de réaction	Exemple
1. Oxydoréductases	Transfert d'électrons	Alcool déshydrogénase (EC 1.1.1.1) Alcool + NAD ⁺ ⇌ Aldéhyde ou cétone + NADH + H ⁺
2. Transférases	Transfert de groupes fonctionnels	Hexokinase (EC 2.7.1.1) Hexose + ATP ⇌ hexose-6-phosphate + ADP
3. Hydrolases	Hydrolyse	β-Fructofuranosidase ou invertase (EC 3.2.1.26) Saccharose + H ₂ O ⇌ Glucose + Fructose
4. Lyases	Coupure d'une liaison covalente par d'autres moyens que l'hydrolyse ou l'oxydation	Histidine décarboxylase (EC 4.1.1.22) Histidine ⇌ Histamine + CO ₂
5. Isoméras	Transposition intramoléculaire	Triose phosphate isomérase (EC 5.3.1.1) Glycéraldéhyde-3-phosphate ⇌ Dihydroxyacétone phosphate
6. Ligases ou synthétases	Formation de liaison covalente couplée à une dépense d'énergie (ATP)	Glutamine synthétase (EC 6.3.1.2) Glutamate + NH ₄ ⁺ + ATP ⇌ Glutamine + ADP + Pi

*Tableau 2. Nomenclature internationale des enzymes en fonction du type de réactions.
Chaque enzyme a un numéro d'ordre*

Remarque : * Une kinase catalyse un transfert de phosphoryle.

* Quand une réaction est **réversible**, on conserve le même nom : une **déshydrogénase** peut catalyser une **oxydation** comme une **réduction**.

Exemple : la **β-galactosidase** a un numéro systématique **EC 3.2.1.23**, elle catalyse la réaction d'hydrolyse du lactose (lactose + H₂O → Glucose + Galactose). Le nom systématique EC 3.2.1.23 veut dire : 'EC' pour '**Enzyme commission**', le premier chiffre (**3**) désigne le numéro d'ordre de la classe (**Hydrolases**), le second (**2**) celui de la sous-classe (**Glycosidases**), le troisième (**1**) celui de la sous-sous-classe des hydrolases catalysant l'hydrolyse d'une liaison **O-glycosidique**, et le dernier (**23**), le numéro d'ordre de cette enzyme dans la sous-sous-classe 1.

III. La catalyse enzymatique

III.1. Site actif et formation du complexe Enzyme-Substrat

Une enzyme, pour être fonctionnelle, doit présenter dans sa structure un **site actif**, proche d'une **crevasse** accessible de l'extérieur (Figure 1). Ce site est capable de fixer spécifiquement et contient le groupement catalytique responsable de transformer ce dernier en produit. Le site actif a par conséquent un double rôle : fixateur du substrat et catalyse.

La formation du complexe enzyme-substrat (**ES**) est la première étape de la catalyse enzymatique. La synthèse ou le clivage d'une liaison chimique par une enzyme sont précédés par la formation d'un complexe ES. Le substrat est lié spécifiquement au site actif. La plupart des enzymes sont très sélectifs dans leur liaison avec les substrats. En fait, la spécificité catalytique des enzymes dépend pour une grande part de la spécificité du processus de liaison. De plus, le contrôle de l'activité enzymatique peut aussi se faire à ce stade.

Le site actif d'une enzyme est la région qui lie les substrats (et le groupe prosthétique s'il y en a lieu) et apporte les résidus acides aminés (AA) qui participent directement à la formation ou au clivage des liaisons. Bien que les enzymes diffèrent largement dans leur structure, leur spécificité et

leur mode de catalyse, un certain nombre de caractères généraux concernant leurs sites actifs peuvent être établis :

- le site actif occupe une part relativement réduite du volume total d'une enzyme (la majorité des enzymes ont plus de 100 résidus AA ou 10kDa avec un diamètre de plus de 25 Å).
- le site actif est une entité **tridimensionnelle**.
- les substrats sont liés aux enzymes par des forces relativement faibles.
- les sites actifs sont des fissures ou des crevasses créant un microenvironnement où certains résidus AA polaires acquièrent des propriétés particulières essentielles pour leur rôle catalytique.
- la spécificité de liaison dépend de la disposition très précisément définie des atomes dans un site actif.

III.2. Energie d'activation et théorie de l'état de transition

Les enzymes sont des protéines qui augmentent la vitesse d'une réaction thermodynamiquement possible et sans modifier son équilibre. Comme tous les catalyseurs, les enzymes ne modifient pas le bilan énergétique des réactions qu'elles catalysent ni leur équilibre (Figure 2). Pour une réaction de transformation d'un substrat en produit ($S \leftrightarrow P$), l'énergie libre réactionnelle (ΔG) reste la même qu'elle soit catalysée ou non par une enzyme. La **vitesse** de la réaction $S \rightarrow P$ dépend de la température et de la différence d'énergie entre S et l'état de transition (ES^\ddagger), appelée **énergie libre d'activation de Gibbs** ou ΔG^\ddagger :

$$\Delta G^\ddagger = G_{\text{état de transition}} - G_{\text{substrat}}$$

La théorie de l'état de transition postule que pour transformer S en P, il faut qu'il passe par un état activé de contenu énergétique plus élevé (ES^\ddagger). Les enzymes **accélèrent** les réactions en abaissant ΔG^\ddagger , la barrière d'activation. La combinaison de S et l'enzyme crée une nouvelle voie de réaction dont l'énergie de l'état de transition est plus basse que celle de la voie qu'emprunterait la réaction si elle avait lieu en l'absence d'enzyme (Figure 2).

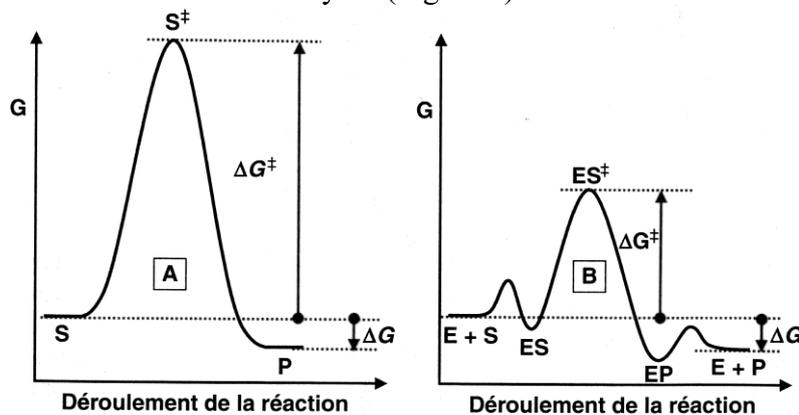


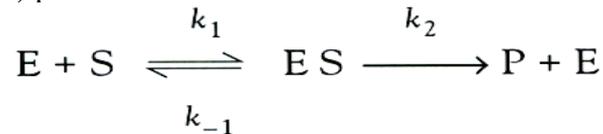
Figure 2. Influence d'un catalyseur sur l'énergie libre d'activation ΔG^\ddagger . A gauche, en absence d'enzyme; à droite, en présence d'enzyme. La catalyse par l'enzyme diminue l'énergie libre d'activation ΔG^\ddagger , mais l'énergie libre réactionnelle ΔG reste inchangée. Notons que la formation des composés ES et EP met en jeu une faible énergie d'activation

IV. Cinétique enzymatique

La catalyse enzymatique comporte deux stades :

- a- formation du complexe enzyme-substrat qui explique une **affinité** et une **complémentarité** de structure entre les deux molécules,
- b- la décomposition de ce complexe donnerait naissance aux produits de la réaction et régénère l'enzyme non modifiée.

En 1913, **Michaelis** et **Menten** ont proposé la réaction de transformation du substrat (S) en produit (P) par l'enzyme (E) par le schéma suivant :

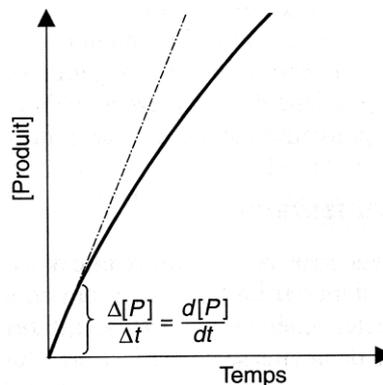


Où k_1 , k_{-1} et k_2 sont des constantes partielles de vitesse de la réaction enzymatique.

IV.1. Notions de vitesse initiale et état stationnaire

En mesurant la concentration du produit P en fonction du temps, dans un milieu où il n'y a au temps 0 que des molécules de l'enzyme et du substrat, la réaction se déroule de façon non uniforme. On distingue une première phase très brève, au cours de laquelle la vitesse de la réaction est croissante. Durant cette phase, les molécules de substrat se lient avec l'enzyme : la concentration du complexe enzyme-substrat augmente (Figure 3A). Lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont occupées par des molécules du substrat, la vitesse de la réaction est maximale et reste constante tant que la concentration du substrat est grande et celle du produit petite. On appelle ce stade les conditions de l'**état stationnaire** qui correspond à une concentration stable du complexe ES (c'est-à-dire, la vitesse à laquelle ES se forme est égale à sa vitesse de disparition) et où la vitesse de la réaction est **constante**. Dans la phase stationnaire, le rapport enzyme lié (ES) sur enzyme total (E_T) est maximum.

Dans cette hypothèse de l'état stationnaire, on peut mesurer la **vitesse initiale** d'une réaction enzymatique (= la vitesse maximale de la réaction enzymatique) par la pente de la partie rectiligne de la courbe $[P] = f(t)$: dans la pratique, on mesure la **tangente** à la courbe expérimentale près de l'origine du diagramme (équation de 1^{er} ordre $Y = aX+b$) :



Lorsque la concentration du produit augmente (Figure 3A), la vitesse de la réaction diminue (= effet du produit). Enfin dans une dernière phase, tardive, la vitesse de la transformation inverse devient égale à celle de départ : les concentrations ne changent plus, on est à l'équilibre.

La figure 3B montre l'évolution des concentrations de substrat [S], de produit [P], de complexe enzyme-substrat [ES] et d'enzyme libre [E] au cours de la mesure de la réaction enzymatique. La vitesse de formation du produit reste presque constante au cours de la mesure, ce qui correspond à une concentration stable du complexe ES, dès que le régime d'état stationnaire est atteint. La baisse progressive de la concentration de substrat conduit à la diminution concomitante de la vitesse.

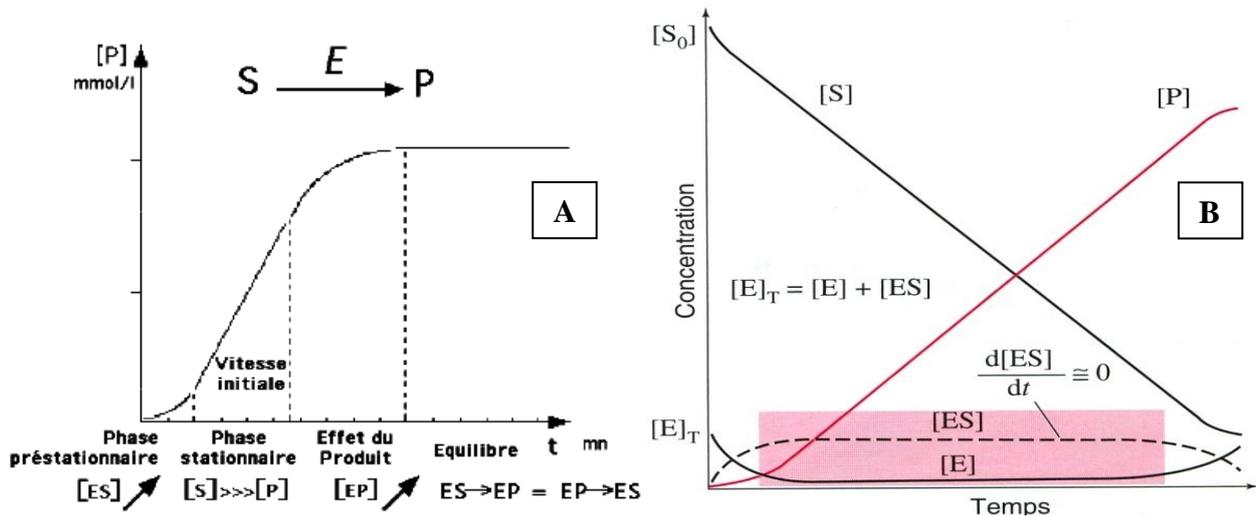


Figure 3. En A, mesure de la concentration du produit P en fonction du temps. En B, évolution des concentrations de substrat $[S]$, de produit $[P]$, de complexe enzyme-substrat $[ES]$ et d'enzyme libre $[E]$ au cours de la mesure de la vitesse initiale (La partie en grise représente l'intervalle de temps durant lequel s'établit le régime stationnaire). $[S]_0$ représente la concentration initiale de substrat et $[E]_T$ la concentration totale d'enzyme ($[E]_T = [E] + [ES]$)

a. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale

Pour une concentration constante de substrat, si on mesure l'évolution de la vitesse initiale (en calculant la différence de concentration de produit au cours d'un temps donné, pour chaque concentration d'enzyme) en présence de concentrations différentes d'enzyme, on constate que cette vitesse est proportionnelle à la concentration d'enzyme (Figure 4).

Ce résultat est important car permet de mesurer la quantité de l'enzyme présente en solution (Ex. homogénat cellulaire) par un simple dosage de son activité. Ces dosages sont couramment utilisés dans les laboratoires d'analyse médicale.

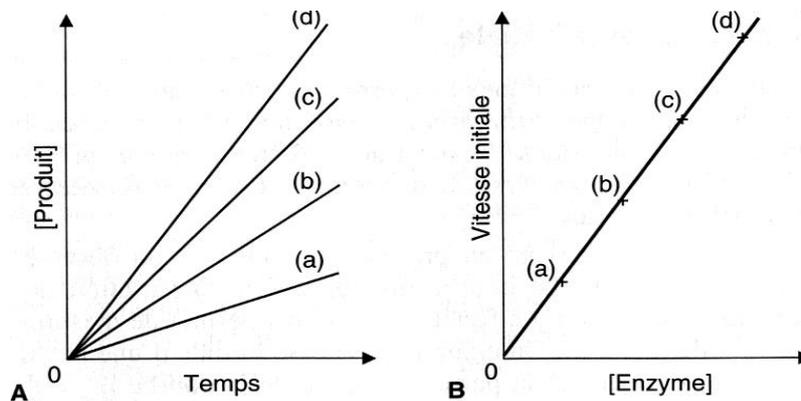


Figure 4. Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale. En A, les droites (a) à (d) correspondent à des concentrations croissantes d'enzyme; les vitesses initiales pour chaque concentration d'enzymes sont calculées à partir des pentes de ces droites. En B sont reportées les pentes de ces 4 droites où l'on montre que la vitesse initiale est proportionnelle à la concentration de l'enzyme.

b. Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale

En examinant l'évolution de la réaction lorsqu'on change cette fois-ci la concentration du substrat, tout en maintenant une concentration fixe d'enzyme, on remarque que les mesures de la concentration du produit en fonction du temps sont différentes pour chacune des concentrations de substrat essayées.

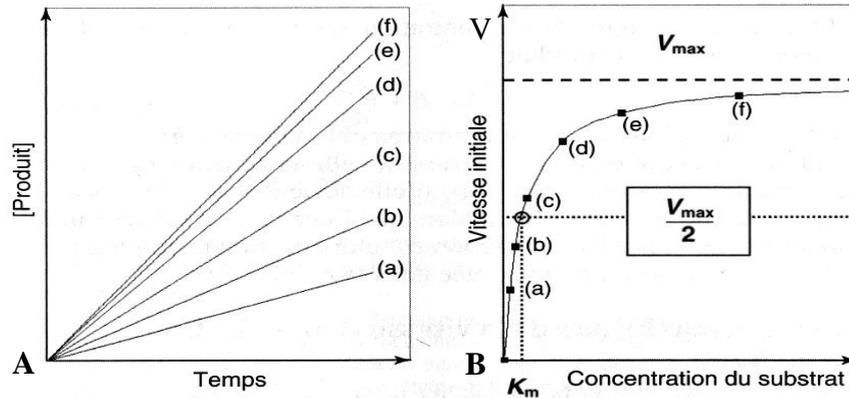


Figure 5. Influence de la concentration du substrat sur la vitesse initiale. En A, les droites (a) à (f) correspondent à des concentrations croissantes de substrat; les vitesses initiales pour chaque concentration d'enzymes sont calculées à partir des pentes de ces droites. En B sont reportées les pentes de ces 6 droites. La courbe $V=f(S)$ est asymptote à l'horizontale d'ordonnée V_{max} ; la concentration de substrat pour laquelle $V=V_{max}/2$ est numériquement équivalente à K_m

Plus la concentration du substrat est grande, plus la vitesse initiale est plus grande. L'analyse de la courbe $V = f([S])$ donne une courbe à allure différente que celle obtenue lorsqu'on varie la concentration d'enzyme.

IV.2. Modèle de Michaelis-Menten

Dans la figure 5B, on montre que la vitesse de catalyse, V , varie avec la concentration du substrat. V est presque linéairement proportionnelle à $[S]$ lorsque $[S]$ est petite (théorie de vitesse initiale). Mais lorsque $[S]$ est grande, V est pratiquement indépendante de $[S]$. On atteint alors la vitesse maximale V_{max} ou V_m . Le modèle de **Michaelis-Menten** permet d'expliquer les propriétés cinétiques de beaucoup d'enzymes à partir de la réaction :



La vitesse de catalyse V est égale au produit de la concentration du complexe ES et de la constante de vitesse de formation du produit k_2 , appelée également **constante catalytique** (k_{cat}):

$$V = k_2[ES] = k_{cat}[ES] \quad (1)$$

Pour exprimer ES en fonction de quantités connues, les vitesses de formation et de destruction de ES peuvent s'écrire :

$$\text{Vitesse de formation de } ES = k_1[E][S] \quad (2)$$

$$\text{Vitesse de destruction de } ES = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (3)$$

L'hypothèse de l'état stationnaire impose :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$

Ce qui veut dire que la vitesse de formation du complexe $[ES]$ est égale à la vitesse de sa destruction (alors que les concentrations $[S]$ et $[P]$ varient) et en égalant les termes de droite des équations (2) et (3) on aura :

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (4)$$

$$\text{En arrangeant l'équation (4), on obtient : } [ES] = \frac{[E][S]}{(k_{-1} + k_2)/k_1} \quad (5)$$

Pour simplifier l'équation (5), on introduit une nouvelle constante, K_m , appelée constante de Michaelis :

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

En la substituant dans l'équation (5), qui devient alors :

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m} \quad (6)$$

Dans l'équation (6), et en pratique, on ne peut pas savoir la concentration de l'enzyme libre [E] mais l'on connaît la concentration totale d'enzyme $[E]_T$, qui est égale à la somme de [ES] et [E]. Par conséquent la concentration d'enzyme libre peut s'écrire :

$$[E] = [E]_T - [ES] \quad (7)$$

En substituant cette expression de [E] dans l'équation (6), on obtient après résolution :

$$[ES] = [E]_T \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

En substituant cette expression de [ES] dans l'équation (1), nous obtenons :

$$V = k_{cat} [E]_T \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad (8)$$

La vitesse maximale, V_{max} , est atteinte lorsque les sites de l'enzyme sont saturés par le substrat (ou lorsque [S] est beaucoup plus grande que K_m de telle façon que $[S]/([S]+K_m)$ soit voisin de 1) et $V_{max} = k_{cat} [E]_T$. La substitution de V_{max} dans l'équation (8) donnera l'équation de **Michaelis-Menten** :

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

Cette équation explique les données cinétiques présentées dans la figure 5B :

- à faible concentration du substrat, lorsque [S] est beaucoup plus petit que K_m , $V = [S]V_{max}/K_m$, la vitesse est alors directement proportionnelle à la concentration en substrat.
- à concentration en substrat élevée, lorsque [S], est beaucoup plus grande que K_m , $V = V_{max}$; la vitesse est alors maximale et indépendante de la concentration en substrat.

IV.3. Interprétation des paramètres cinétiques

a. Activité catalytique, k_{cat}

V_{max} représente la vitesse de la réaction lorsque les sites actifs de toutes les molécules d'enzyme en solution sont occupés par le substrat ($V_{max} = k_{cat} [E]_T$). La constante catalytique k_{cat} est une simple constante de vitesse dans le seul cas où la transformation de ES en E + P ne nécessite qu'une seule étape. La constante catalytique k_{cat} nous renseigne sur le pouvoir catalytique de l'enzyme et k_{cat} est une constante de vitesse d'ordre 1. La dimension de k_{cat} constante de vitesse d'ordre 1, l'inverse d'un temps (s^{-1}), représente le «**turn-over**» de l'enzyme, c'est-à-dire le nombre (théorique) de molécules de substrat transformées par molécule d'enzyme et par unité de temps lorsque l'enzyme est saturée par le substrat.

b. Affinité pour le substrat, K_m

La signification de K_m s'avère différente, selon les enzymes, et plus particulièrement selon les valeurs relatives des constantes k_1 , k_{-1} et k_{cat} . K_m a la dimension d'une **concentration** (mole.L^{-1}). La plupart du temps $k_{cat} \ll k_{-1}$, et la transformation de ES en E + P représente l'étape limitante de

la réaction. On peut négliger k_{cat} devant k_{-1} dans l'équation de K_m ($= (k_{-1} + k_{cat}) / k_1$). L'expression de K_m devient égale à k_{-1} / k_1 .

K_m correspond alors à la constante de dissociation du complexe ES, et indique simplement l'**affinité du substrat pour l'enzyme**. K_m , la constante de Michaelis, est numériquement égale à la concentration de substrat pour laquelle on enregistre une vitesse initiale égale à la **moitié** de la vitesse maximale (Figure 5).

c. Efficacité catalytique, k_{cat} / K_m

Le rapport k_{cat} / K_m mesure l'**efficacité catalytique** d'une enzyme. Chaque enzyme est caractérisée par une valeur de K_m et une activité catalytique k_{cat} . Que représentent ces valeurs en termes de performances catalytiques *in vivo*? K_m témoigne en quelque sorte l'affinité de l'enzyme pour le substrat, et la valeur de k_{cat} indique la vitesse de transformation du substrat en produit lorsque l'enzyme est saturée par le substrat, mais cette saturation est loin d'être réalisée *in vivo*, où, bien souvent, la concentration de substrat et celle de l'enzyme sont du même ordre de grandeur. Dans ces conditions, le rapport k_{cat} / K_m nous fournit une mesure de la **performance** de la catalyse enzymatique.

L'examen des valeurs portées dans le tableau 3 démontre l'utilité de ce facteur. En effet, les rapports k_{cat} / K_m de certaines réactions enzymatiques, par exemple les phosphatases, peuvent paraître bien modestes comparées à celles de l'anhydrase carbonique ou de la triose phosphate isomérase, qui ont des valeurs dépassant les $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Ceci montre que ces dernières ont atteint la **perfection cinétique**. Leur vitesse catalytique est limitée uniquement par la vitesse à laquelle elles rencontrent leur substrat dans la solution.

Enzyme	Réaction catalysée	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	$\frac{k_{cat}}{K_m}$ ($\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
Anhydrase carbonique	$\text{CO}_2 + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{HCO}_3^-$	$1,4 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$1,2 \cdot 10^8$
Cytidine désaminase	$\text{Cytidine} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Uridine} + \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$	$3 \cdot 10^1$	10^{-5}	$3 \cdot 10^6$
Fructose 1,6 bisphosphatase	$\text{F1,6bisP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{F6P} + \text{H}_2\text{PO}_4^-$	$2,2 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^7$
Fumarase	$\text{Fumarate} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{L-Malate}$	$8 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^8$
Orotidine décarboxylase	$5'\text{OMP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 5'\text{UMP} + \text{CO}_2 + \text{OH}^-$	$5 \cdot 10^1$	10^{-7}	$6 \cdot 10^7$
Phosphatase alcaline	$\text{R-O-PO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{R-OH} + \text{HPO}_4^{2-}$	$2 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^6$
Triose phosphate isomérase	$\text{GAP} \rightleftharpoons \text{DAP}$	10^4	$3,3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^8$
Trypsine	$\text{R-Arg-NH-R}' + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{R-Arg-COO}^- + \text{R}'\text{-NH}_3^+$	$1,2 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^7$

Tableau 3. Paramètres cinétiques de quelques enzymes importantes

VI.4. Détermination de V_{max} et K_m

Comme la détermination graphique de V_{max} et K_m à partir de la courbe $V = f([S])$ se révèle trop imprécise, on préfère placer les points expérimentaux sur un diagramme où ils s'alignent sur une droite. Parmi les différentes transformations de l'équation de Michaelis réalisées dans ce but, la représentation de **Lineweaver** et **Burk** et celle d'**Eadie** et **Hofstee** qui offrent chacune des avantages particuliers (Figure 6).

La représentation de Lineweaver et Burk consiste à porter les variations de $1/V$ en fonction de $1/[S]$. A partir de l'équation de Michaelis, on obtient l'expression de $1/V$:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Cette dernière équation est de la forme $Y = aX + b$, et les variations de $1/V$ en fonction de $1/[S]$ sont représentées par une droite. Cette droite rencontre l'axe des ordonnées à $1/V_{\max}$ et l'axe des abscisses à $-1/K_M$. L'intérêt de cette représentation réside dans les déterminations séparées du paramètre de vitesse maximale et du paramètre d'affinité.

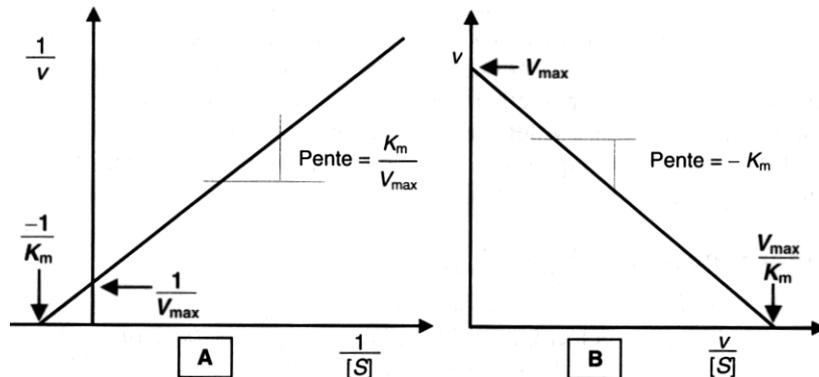


Figure 6. Détermination graphique de V_{\max} et K_m . En A, représentation de Lineweaver et Burk; en B, représentation d'Eadie et Hofstee

Une transformation différente de l'équation de Michaelis conduit à la formule d'Eadie et Hofstee :

$$V = V_{\max} - \frac{K_M V_0}{[S]}$$

La représentation de V en fonction de $V/[S]$ est une droite qui rencontre l'axe des ordonnées en V_{\max} et dont la pente est égale à $-K_M$.

V. Action d'effecteurs sur les réactions enzymatiques

Un grand nombre de substances sont capables, en se combinant avec les enzymes, de modifier l'activité des enzymes (Figure 7). On distingue :

- les **activateurs** qui augmentent l'activité catalytique.
- les **inhibiteurs** qui diminuent l'activité catalytique.

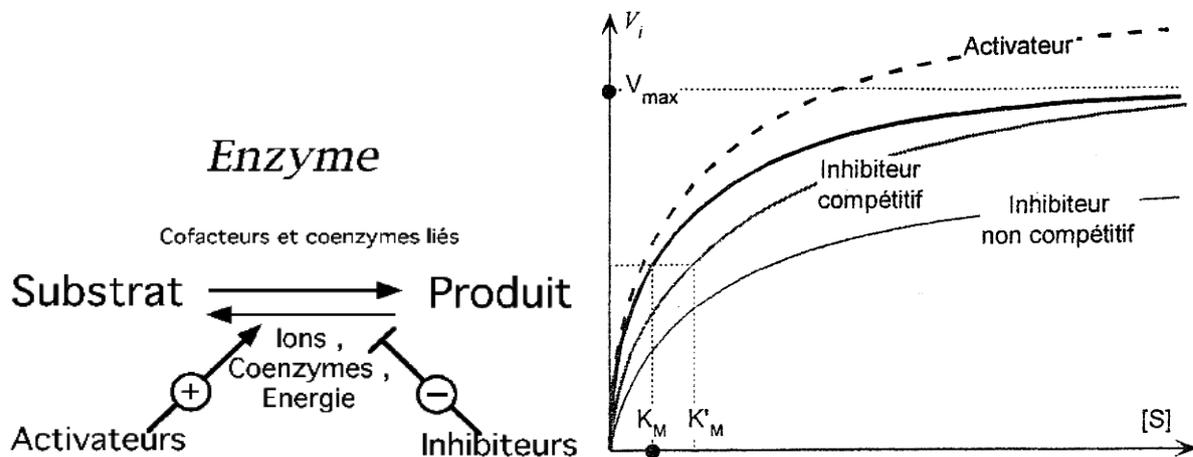


Figure 7. Effecteurs des enzymes et leurs effets sur les paramètres cinétiques

Deux des principaux types d'inhibition connus sont l'inhibition **compétitive** et l'inhibition **non compétitive**. Il s'agit d'un type d'inhibition **réversible**. Il existe un autre type d'inhibition enzymatique **irréversible** où l'inhibiteur est lié par covalence à l'enzyme ou lorsqu'il est lié étroitement que sa dissociation de l'enzyme est très lente.

V.1. Inhibition compétitive

L'inhibiteur compétitif a une similarité de structure avec le substrat de telle façon qu'il se lie sur le centre actif empêchant ainsi le substrat de se fixer. K_m est augmentée alors que V_{max} est constante. Il s'agit d'**analogues structuraux** qui concurrencent le substrat pour se combiner à l'enzyme. L'influence de l'inhibiteur devient négligeable quand le substrat est très excédentaire (Figure 8).

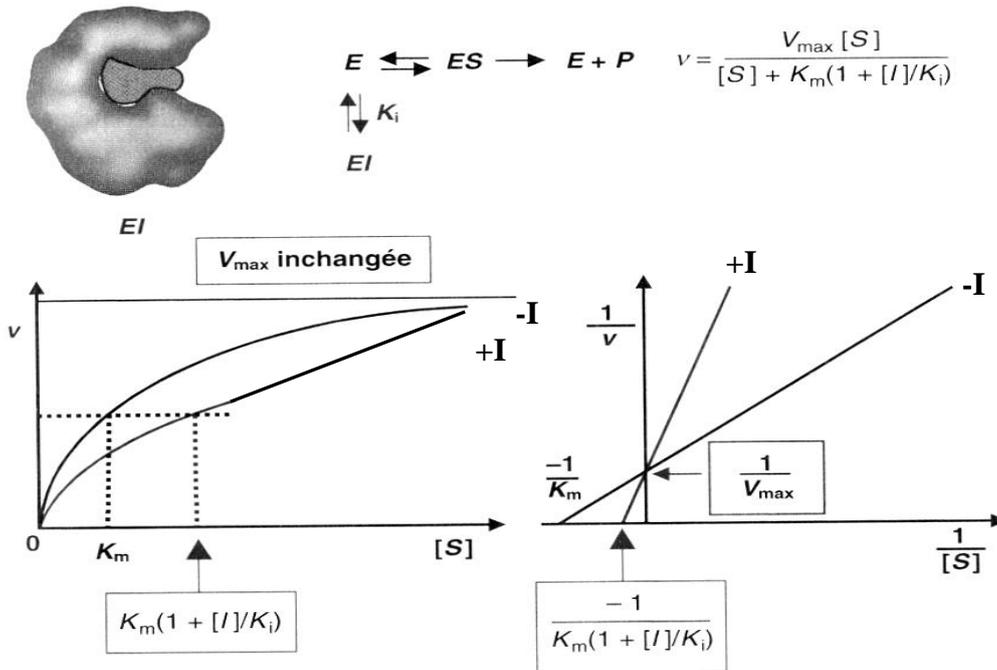


Figure 8. Inhibition compétitive

L'inhibiteur compétitif est souvent un analogue structural du substrat, qui se fixe sur le site catalytique. Le schéma réactionnel et l'équation de vitesse qui en dérive montrent que le substrat peut déplacer l'inhibiteur (I) et restituer la vitesse maximale (Figure 8) qui reste inchangée. Dans les courbes de la figure 8 sont montrés la variation de V en fonction de $[S]$ en absence et en présence de l'inhibiteur, et le digramme de Linweaver-Burk qui permettent de déterminer les valeurs de K_m et de K_i (g du complexe enzyme-inhibiteur, EI).

V.2. Inhibition non compétitive

L'inhibiteur non compétitif se lie aussi bien à l'enzyme libre qu'au complexe ES, mais il bloque néanmoins l'activité de l'enzyme. Dans ce cas K_m est constante alors que V_{max} est diminuée. La fixation du substrat est indépendante de celle de l'inhibiteur et ne modifie pas l'affinité de l'enzyme pour S (Figure 9).

L'inhibiteur se fixe sur E et l'inactive sans affecter la fixation de S. La même constante K_i règle la fixation de S sur E libre comme sur le complexe ES formant EI et EIS (Figure 9). Le schéma réactionnel et l'équation de vitesse montrent que l'augmentation de $[S]$ ne peut déplacer l'inhibiteur fixé sur l'enzyme; seule la constante de Michaelis K_m reste inchangée. Dans les courbes de la figure 9 sont montrés la variation de V en fonction de $[S]$ en absence et en présence de l'inhibiteur, et le digramme de Linweaver-Burk qui permettent de déterminer les valeurs de K_m et de K_i (constante de dissociation des complexes EI et EIS). Un exemple d'inhibition non compétitive concerne les enzymes dont un ion métallique bivalent (Zn^{2+}) fait partie intégrante du site actif. Ces enzymes sont inhibées par l'EDTA (acide éthylène diamine tétracétique), un **chélateur** qui déplace

ces ions et par conséquent inactive plus ou moins totalement l'enzyme. L'EDTA se comporte comme un inhibiteur non compétitif sans se fixer sur l'enzyme.

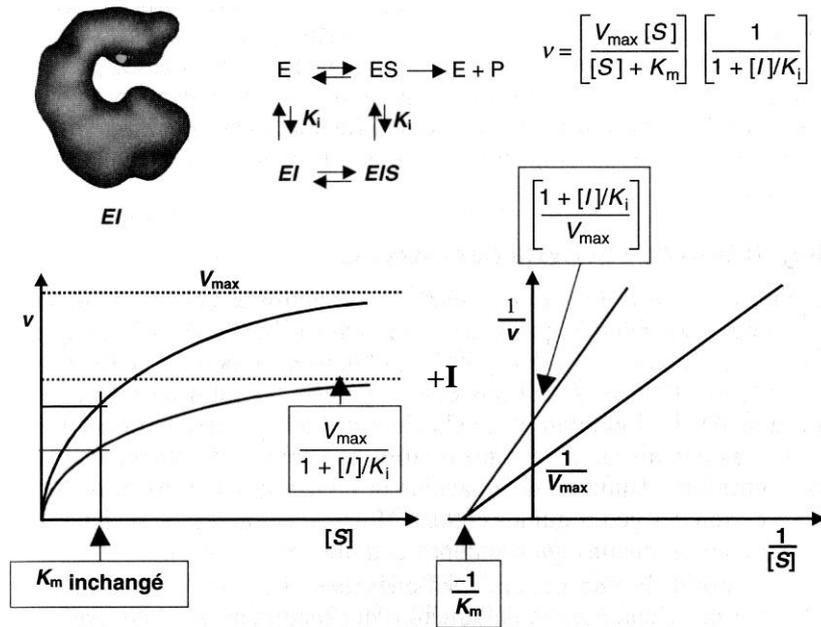


Figure 9. Inhibition non compétitive

V.3. Inhibition incompétitive

Ce type d'inhibition se rencontre rarement. Dans ce cas l'inhibiteur (incompétitif ou uncompétitif) se fixe exclusivement au complexe ES. Il se peut que I a des analogies structurales avec S ou se fixe à une site différent de celui occupé par S, pourvu que la fixation de I ne soit possible qu'après fixation de S (Figure 10). V_m diminue et K_m aussi et donc l'affinité de l'enzyme augmente indiquant que la fixation de I favoriserait la stabilité du complexe ES.

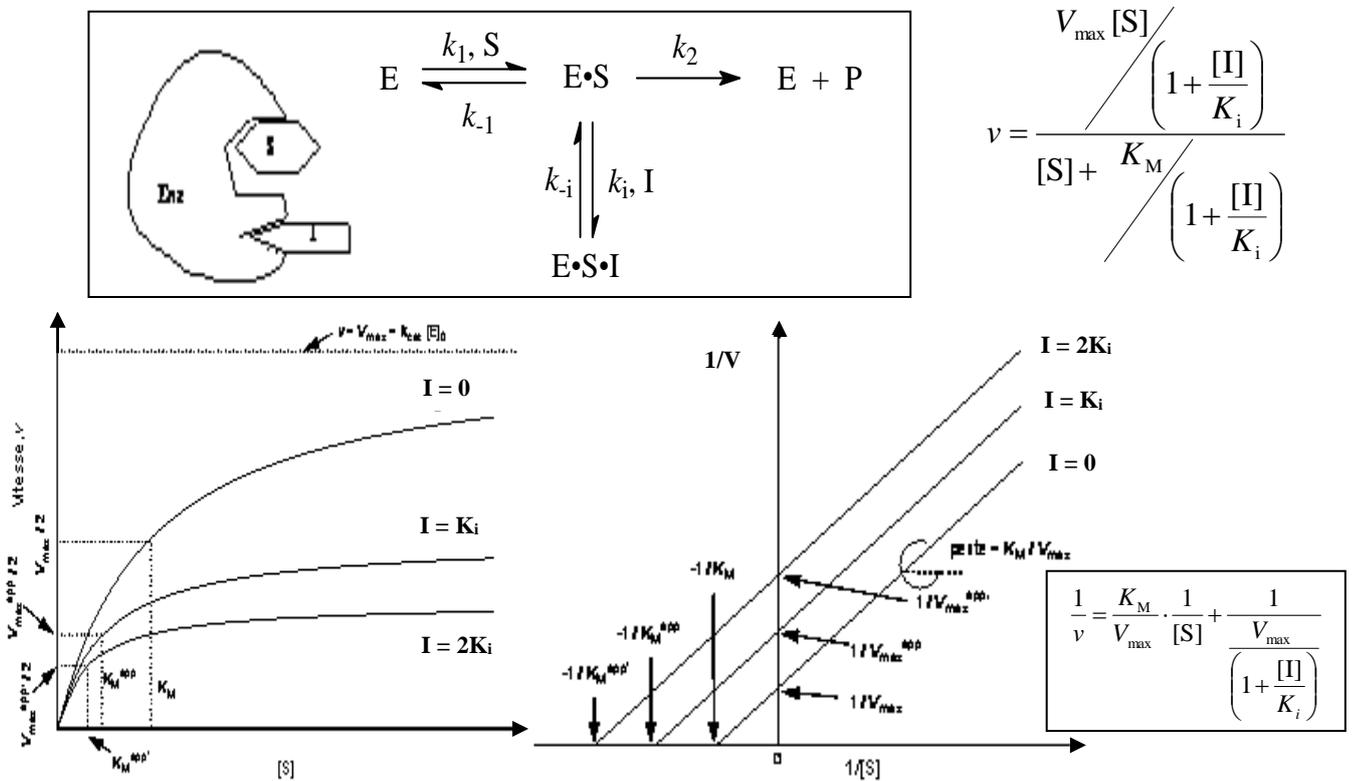


Figure 10. Inhibition incompétitive

Deux modèles ont été proposés pour expliquer les interactions allostériques :

a. Modèle concerté

Ce modèle **symétrique** des enzymes allostériques a été proposé par **Monod, Wyman et Changeux**. Supposons pour simplifier qu'il n'y ait que deux états possibles des protomères : l'état tendu et l'état relâché. Dans une protéine à 2 sous-unités, la conformation tendue d'une d'entre elles imposera à l'autre de prendre cette structure. Supposons que cet état relâché implique une affinité plus grande pour le substrat et que la présence du substrat lui-même favorise le passage à cet état : les 2 protomères à l'état tendu (Figure 11) vont être contraints si l'un d'entre eux se lie au substrat, de passer à l'état relâché, ce qui entraînera pour l'autre sous-unité une affinité plus grande vis à vis du substrat et activera la réaction. Il s'établit par conséquent une **coopération** entre les protomères pour que le substrat soit plus **efficacement transformé**. Dans ce modèle, les sous-unités doivent être dans le même état conformationnel, de sorte que la symétrie du dimère soit conservée.

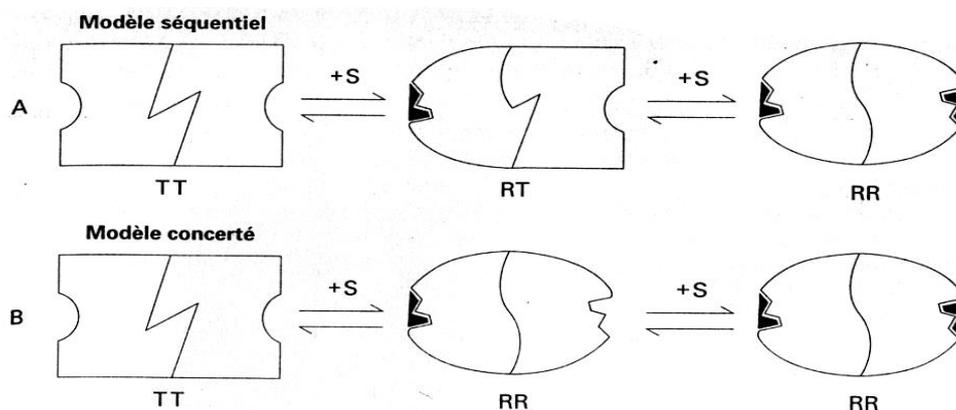


Figure 11. Les deux modèles séquentiel et concerté pour expliquer les interactions allostériques

Les effets des inhibiteurs et des activateurs peuvent être facilement expliqués par ce modèle concerté (Figure 12). En effet, un inhibiteur allostérique déplace l'équilibre conformationnel $R \leftrightarrow T$ vers T, alors qu'un activateur allostérique le déplace vers R.

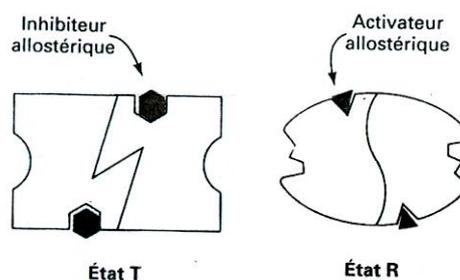


Figure 12. Dans le modèle concerté, un inhibiteur allostérique (représenté par un hexagone) stabilise l'état T, tandis qu'un activateur allostérique (représenté par un triangle) stabilise l'état R

b. Modèle séquentiel

Koshland a étendu ce modèle à des oligomères **non symétriques** dans la structure desquels chacun des protomères peut être tendu ou relâché, sans cesser de subir la contrainte des autres pour le faire changer d'état. Dans ce modèle (Figure 11), la liaison du substrat change la forme de la sous-unité à laquelle il est lié. Cependant, les conformations des autres sous-unités de la molécule ne sont pas modifiées de façon appréciable (mais on peut modifier l'affinité pour la liaison de S à ces sous-unités de la même molécule).

VI.2. Exemple d'allostérie : myoglobine-hémoglobine

La myoglobine est une protéine qui transporte l'oxygène dans le cytoplasme des cellules. Elle est constituée d'une seule chaîne d'acides aminés. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de type Michaelienne et la courbe qui la représente est une **hyperbole** (Figure 13).

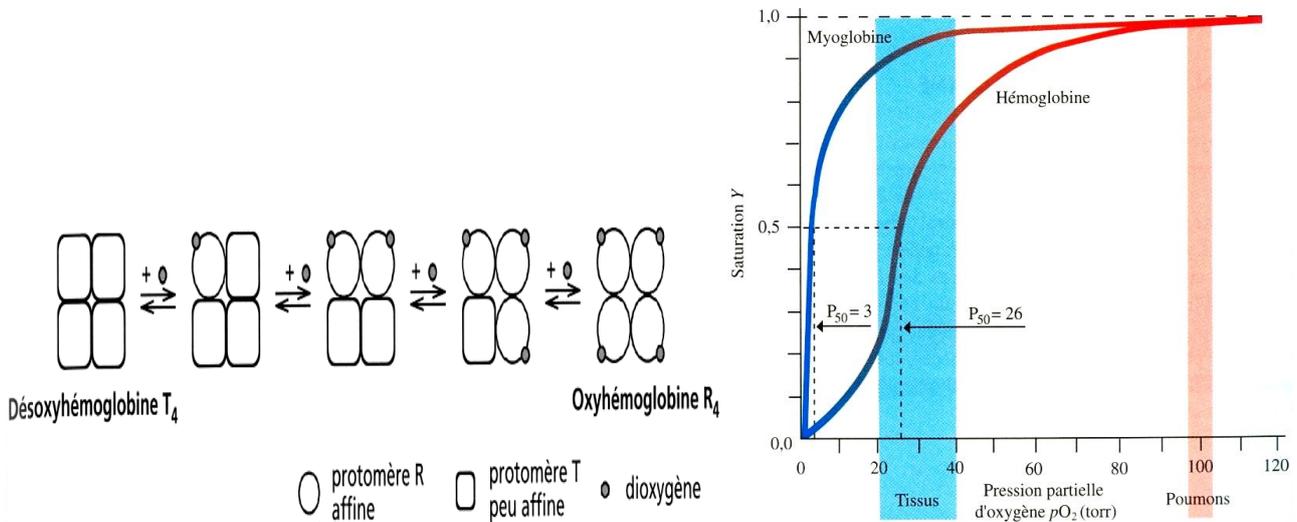


Figure 13. A gauche, effet coopératif pour la fixation de l'O₂ par l'hémoglobine; A droite, courbe de saturation en dioxygène de l'hémoglobine et de la myoglobine

L'hémoglobine est une protéine qui transporte l'oxygène dans les globules rouges. Elle est constituée de quatre chaînes d'acides aminés. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de type allostérique et la courbe qui la représente est une **sigmoïde** (Figures 13 et 14). La coopération entre les protomères confère à l'hémoglobine une grande affinité pour l'oxygène dans les poumons où il est abondant, et au contraire une faible affinité pour l'oxygène dans les tissus où il est transmis aux cellules.

L'hémoglobine a donc un comportement différent d'un organe à l'autre lorsque les pressions d'oxygène sont différentes. Cette protéine s'adapte mieux aux conditions du milieu grâce à l'allostérie.

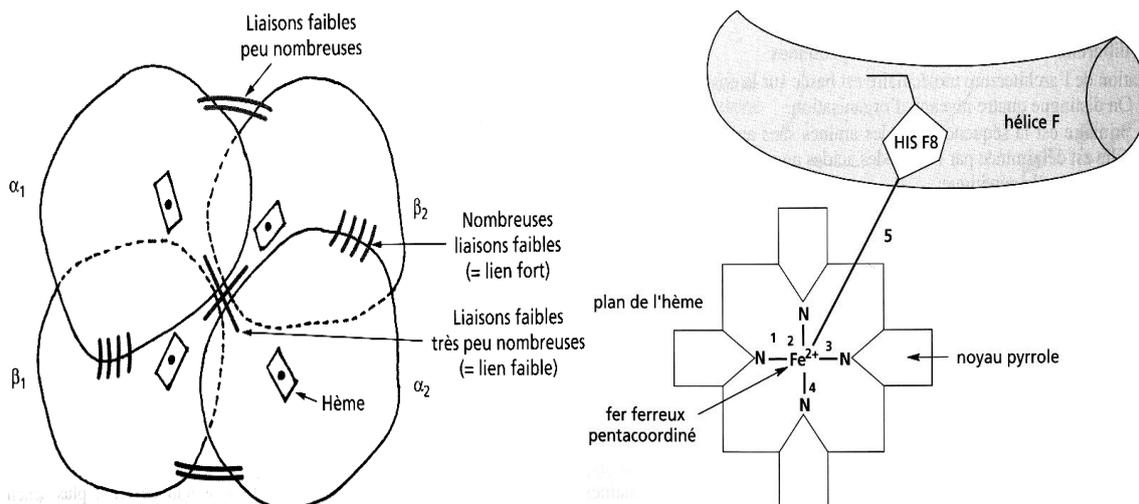


Figure 14. Molécule d'hémoglobine avec les 4 sous-unités avec l'organisation de l'hème et sa liaison à l'hélice α

VII. Effet des facteurs physiques sur la cinétique enzymatique

La vitesse de la réaction dépend de plusieurs paramètres autres que [E] et [S] comme la température, le pH, la force ionique...

VII.1. Effet de la température

La température influence l'activité enzymatique à 2 niveaux :

- * toutes les réactions chimiques voient leur vitesse augmenter selon, la loi d'Arrhenius ($k=A.e^{-E_a/RT}$, avec E_a : énergie d'activation et A : facteur pré-exponentiel). L'agitation thermique des molécules augmente avec la température et leur rencontre est la plus favorisée ;
- * les enzymes sont des protéines. Elles sont donc dénaturées à partir d'une certaine température. L'agitation thermique entraîne la rupture de liaisons faibles. L'édifice moléculaire change de forme et l'activité est annulée.

La courbe de la figure 15 prend en compte ces deux aspects. La température optimale d'une réaction enzymatique se situe en général dans un intervalle compris entre 30 et 40°C (= **température critique**). Elle peut varier selon les réactions car la dénaturation d'une enzyme dépend aussi du pH et de la durée de la réaction.

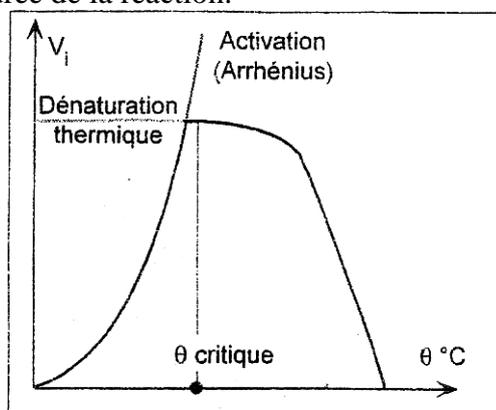


Figure 15. Influence de la température sur l'activité enzymatique (Température critique entre 30 et 40°C)

VII.2. Effet du pH

Les protéines en solution portent des charges électrostatiques dues à l'ionisation des groupements des radicaux ($R-NH_3^+$ et $R-COO^-$) des acides aminés. Ces groupements ionisés peuvent modifier l'activité de l'enzyme. Ainsi du fait que les ions H^+ jouent un rôle essentiel dans l'ionisation de ces groupements, par conséquent l'activité enzymatique va varier en fonction du pH et va présenter un pH optimum.

L'enzyme, les substrats, les cofacteurs sont les corps chimiques qui interviennent obligatoirement dans la réaction enzymatique. Le pH intervient de deux manières différentes : soit en modifiant la structure secondaire ou tertiaire de l'enzyme, soit en modifiant les charges électriques des radicaux des acides aminés du site actif.

Lorsqu'une enzyme est conservée dans un milieu dont le pH est défavorable au maintien de sa structure, elle va subir une dénaturation. Le milieu dans lequel se produit la réaction enzymatique détermine la charge électrique des radicaux des acides aminés de la protéine :

- Aux pH très **acides** la plupart des fonctions ionisables de ces radicaux sont sous la forme protonée c'est-à-dire $COOH$ pour la fonction acide carboxylique et NH_3^+ pour la fonction amine.
- Aux pH les plus **alcalins**, les fonctions ionisables de ces mêmes radicaux sont sous la forme déprotonée c'est-à-dire COO^- pour la fonction acide carboxylique, et NH_2 pour la fonction amine.

- A pH voisin de la **neutralité**, une très grande majorité de ces radicaux à fonctions ionisables sont chargés, ce qui facilite les liaisons enzyme-substrat ou enzyme-coenzyme de type électrostatique.

Il existe par conséquent, un pH du milieu réactionnel où les charges électriques des radicaux du **site actif** de l'enzyme seront les plus favorables à la liaison enzyme-substrat : on appelle ce pH le **pH optimum** de la réaction enzymatique (Figure 16).

Les enzymes de la digestion des protéines ont des pH optimums différents pour s'adapter aux conditions de pH qui règnent dans la lumière aux différents étages du tube digestif. Ainsi l'activité de la **pepsine** est maximale pour un milieu **très acide**, comme celui de l'estomac où elle est sécrétée. Au contraire les enzymes pancréatiques comme l'**amylase** et la **trypsine**, ont un pH optimum d'action plus alcalin car dans le duodénum, où elles exercent leur activité, le pH est normalement proche de 8.

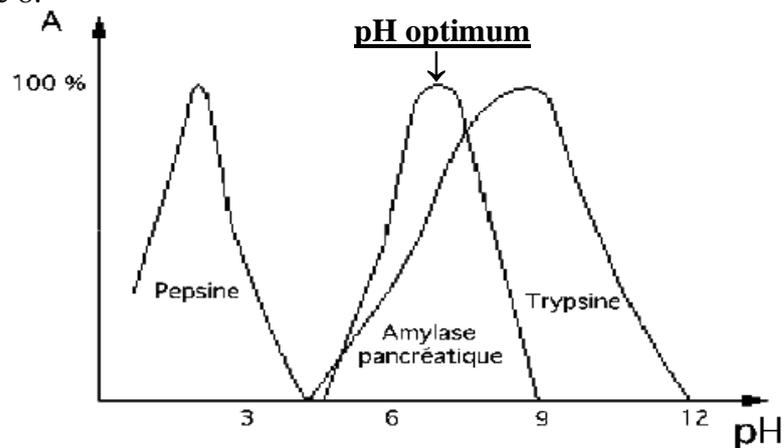
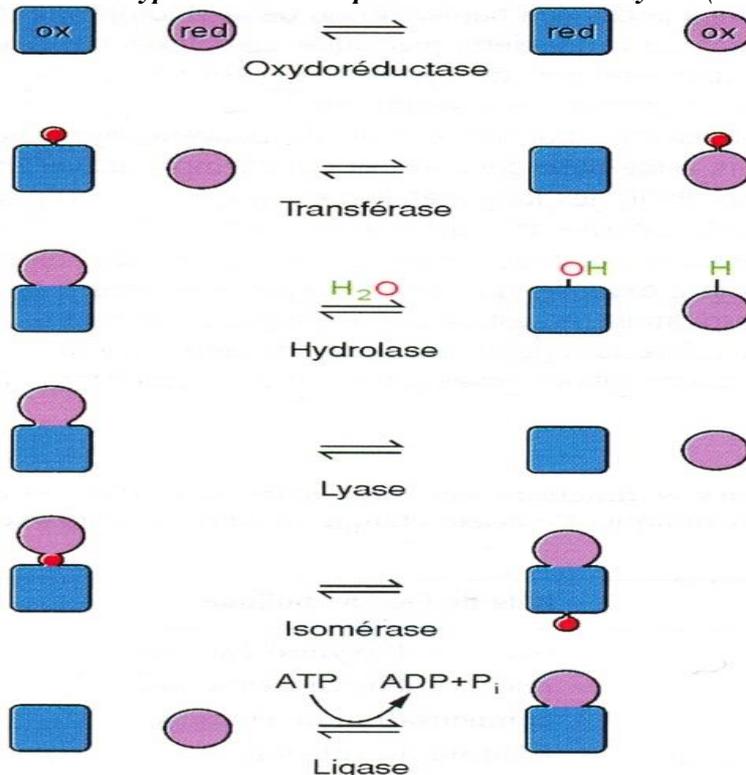


Figure 16. Influence du pH sur l'activité enzymatique

Annexe : - Schéma montrant les types de réactions pour les 6 classes d'enzymes (Voir Tableau 2)



I. Introduction au métabolisme

Le mot métabolisme vient du grec '**metabole**', changement. Il représente l'ensemble des transformations chimiques qui se produisent dans une cellule ou un ensemble de cellules convertissant les **nutriments** (oses, acides aminés, acides gras) ou «matériaux bruts» en produits finis, chimiquement complexes, et en énergie. Il se compose de plusieurs centaines de réactions enzymatiques organisées en séquences distinctes. Au cours de chaque séquence propre ou **voie métabolique**, un précurseur est transformé en un produit «fini» via une série d'intermédiaires appelés **métabolites**.

Dans une voie métabolique, celle des enzymes qui a la vitesse la plus lente et qui par conséquent contrôle la vitesse de la synthèse est appelée l'**enzyme-clé**. C'est habituellement la première des enzymes de la voie. Cette enzyme-clé est inhibée pour diminuer la synthèse du produit final de la voie métabolique ou au contraire activée pour l'augmenter. Les enzymes-clés sont dans la majorité des cas des enzymes allostériques contrôlées par de multiples effecteurs.

Le métabolisme exerce deux fonctions essentielles :

- * production d'énergie nécessaire aux fonctions vitales.
- * synthèse de macromolécules (Acides nucléiques, protéines).

A cet effet, le métabolisme est constitué de 2 types de processus (Figures 1 et 5):

- Le **catabolisme** qui dégrade et oxyde les nutriments apportés par l'alimentation ou par les réserves cellulaires. Les réactions cataboliques sont généralement **exergoniques** et l'énergie libérée est souvent captée sous forme d'ATP, molécule énergétique universelle.
- L'**anabolisme** constitue l'ensemble des séquences métaboliques qui permettent la synthèse de molécules formées à partir de nutriments ou d'intermédiaires métaboliques de structure chimique simple et aboutissant à la synthèse de molécules complexes et/ou de macromolécules.

Nous distinguerons pour chaque type d'aliment, les processus de dégradation digestive qui se déroulent dans le milieu extracellulaire et aboutissent généralement à la formation des nutriments. Ensuite les séquences du catabolisme qui fournissent des produits terminaux de faible masse moléculaire et pauvres en « énergie libre ». Enfin, nous étudierons en fonction de leur intérêt médical, certaines séquences de l'anabolisme.

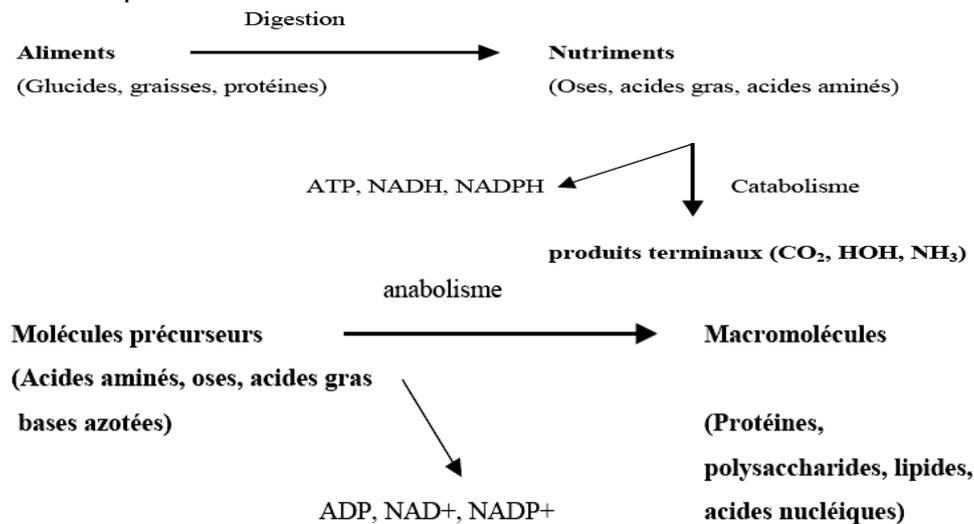


Figure 1. Schémas généraux des principales réactions du métabolisme

L'anabolisme et le catabolisme se déroulent simultanément dans une même cellule. Pour éviter toute anarchie, la cellule utilise deux stratagèmes :

* Elle régule strictement et séparément l'anabolisme et le catabolisme.

* Les séquences métaboliques qui pourraient entrer en compétition sont souvent localisées dans plusieurs compartiments cellulaires. Exemple des acides gras : catabolisme dans la mitochondrie et anabolisme dans le cytosol.

II. Notions de bioénergétique

La bioénergétique ou thermodynamique biologique est l'étude quantitative des transferts d'énergie se produisant dans les cellules vivantes, et l'étude de la nature et de la fonction des processus chimiques constituant ces transferts. Elle permet d'expliquer pourquoi certaines réactions peuvent avoir lieu alors que d'autres ne le peuvent pas.

Les cellules sont des systèmes thermodynamiques ouverts qui échangent énergie, matière et information avec le milieu extérieur. Elles prélèvent dans le milieu de l'énergie lumineuse et de l'énergie chimique qu'elles convertissent en énergies chimique et osmotique, et en chaleur.

Les transferts biologiques de l'énergie suivent les principes de la thermodynamique. Dans les systèmes inanimés, l'énergie calorifique peut être transformée en travail. De même pour les systèmes biologiques (**isothermes**), ils utilisent l'énergie chimique (ATP) pour réaliser leurs processus. Les transformations biologiques de l'énergie suivent les principes de la thermodynamique.

II.1. 1^{ère} et 2^{ème} Lois de thermodynamique

Le premier principe est celui de la conservation de l'énergie : L'énergie totale d'un système et de son milieu extérieur est **Constant**.

Dans un système qui passe entre deux niveaux énergétiques A et B, la variation d'**énergie interne** E est :

$$\Delta E = E_B - E_A = \Delta Q \text{ (chaleur)} + \Delta W \text{ (travail)} = f(T, P, V)$$

ΔE est fonction de la température, T, la pression, P et le volume de la réaction, V. Le passage entre ces deux états d'énergie ne dépend pas du chemin suivi.

Quand P est une constante, $\Delta W = -P(V_2 - V_1) = -P\Delta V$ (négatif car le travail est fourni au milieu extérieur) et on obtiendra :

$$\Delta E = E_B - E_A = \Delta Q - P\Delta V$$

Notons **H** ou **Enthalpie** ($\Delta H = \Delta E + P\Delta V$), l'**énergie totale** d'un système qui est non entièrement utilisable pour fournir du travail. Elle reflète le nombre et la quantité de liaisons chimiques dans les réactifs et les produits. Ce contenu est **conservé** si le système est isolé et n'échange ni matière ni énergie (ΔH est la chaleur de la réaction à pression constante).

Si une réaction chimique libère de la chaleur, est elle **exothermique** et ΔH a une valeur négative. Les systèmes qui prélèvent de l'énergie dans leur environnement sont **endothermiques** et ont une valeur de ΔH positive.

Le deuxième principe de thermodynamique définit une fonction **entropie S**, liée aux caractéristiques propres de la molécule, à ses capacités de subir **vibration, rotation** ou **déformation**; elle est d'autant plus élevée que le système est **désordonné**. Un processus ne peut évoluer **spontanément** que si la somme des **entropies** du système et du milieu extérieur augmente :

$$\Delta S \text{ système} + \Delta S \text{ milieu extérieur} > 0 \text{ pour un processus spontané}$$

Notons **G**, l'**énergie libre de Gibbs** qui représente la quantité d'énergie maximale utilisable pour le travail et contenue dans les liaisons chimiques. G est plus faible que H et dépend



de l'entropie S du système. Dans les conditions qui existent dans les systèmes biologiques (à température et pression constante), les variations de G, H et S sont reliées par l'équation suivante :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

* Si $\Delta G < 0$, la réaction peut se faire spontanément = réaction **exergonique**.

* Si $\Delta G > 0$, la réaction ne se produit que s'il y a un apport d'énergie libre (**énergie d'activation**) = réaction **endergonique**.

* Si $\Delta G = 0$, le système est en **équilibre** et aucune variation ne se produit.

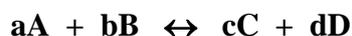
En résumé, les organismes vivants préservent leur **ordre interne** en prenant de l'énergie libre (Cal/Mole) dans leur environnement sous forme de substances nutritives ou de lumière solaire, et en libérant dans leur environnement une quantité égale d'énergie sous forme de chaleur et d'entropie. Autrement dit, les êtres vivants doivent continuellement être pourvus en nutriments d'enthalpie élevée et d'entropie faible pour les convertir en dérivés d'entropie élevée et à faible contenu enthalpique (conversion de l'amidon en pyruvate puis en CO_2). L'énergie libre résultant de ce processus est utilisée pour l'ensemble de leurs fonctions et la libération de chaleur. Les organismes vivants, par définition, ne peuvent donc que maintenir un état **stationnaire** sans jamais atteindre l'équilibre.

II.2. Energie libre standard (ΔG°)

Les variations d'énergie libre sont reliées à la constante d'équilibre et dépendent des concentrations des constituants dans un système. On exprime les constantes en variations d'énergie libre standard (ΔG°) correspondant à des concentrations de 1 mole/L et à température 25°C.

Pour les réactions biochimiques, on a ajouté le paramètre du pH= 7.0 et l'énergie libre **standard** est noté $\Delta G^{\circ'}$, qui peut être déterminée par des méthodes cinétiques à partir de la constante d'équilibre (K'_{eq}):

Soit la réaction:



$$K'_{eq} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Avec :

$$\Delta G^{\circ'} = -2,303 RT \text{Log}_{10} K'_{eq}$$

R est la constante des gaz parfaits = 1,98 Cal/ Mole x T (température absolue en Kelvin = T°C +273).

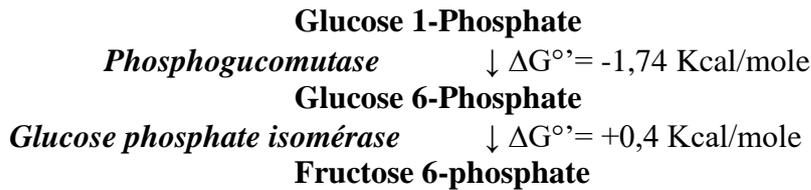
K'_{eq}	$\Delta G^{\circ'}$
>1	négatif et réaction de gauche à droite (\rightarrow).
= 1	0 et réaction en équilibre.
<1	positif et réaction de droite à gauche (\leftarrow).

II.3. Couplage des réactions endergoniques et exergoniques

La plupart des réactions biochimiques d'**anabolisme** sont endergoniques et nécessitent un apport énergétique pour se réaliser, grâce aux réactions exergoniques du **catabolisme**. C'est le **couplage énergétique**.

Ce couplage n'est rentable que lorsque la variation de l'énergie libre de la réaction exergonique est supérieure en valeur absolue à celle nécessitée pour la réaction endergonique, de telle sorte que le système pris dans son ensemble fonctionne de façon exergonique.

Exemple : Soit la séquence de réactions s'effectuant lors de la destruction du glycogène dans le muscle :



La somme des deux réactions du G 1-P \rightarrow F 6-P est $\Delta G^{\circ'} = -1,74 + (+0,4) = -1,34 \text{ Kcal/mol}$

Les organismes **hétérotrophes** obtiennent leur énergie libre par couplage de leur métabolisme à la dégradation de molécules organiques complexes puisées du milieu environnant. Dans ce couplage, l'ATP joue un rôle central dans le transfert d'énergie libre depuis les réactions exergoniques jusqu'aux réactions endergoniques. La variation d'énergie libre de l'hydrolyse de l'ATP est élevée et négative.

	$\Delta G^{\circ'}$ (Kcal/mole)
ATP \rightarrow ADP + Pi	-7,3
ADP \rightarrow AMP + Pi	-7,3
AMP \rightarrow Adénosine + Pi	-3,4

A signaler que l'ATP ne fournit pas uniquement l'énergie simple par hydrolyse mais également par transfert de groupements **P_i** (phosphate inorganique) ou **P_{ii}** (pyrophosphate) pour créer des composés phosphorylés (Figure 2 et 3). Ces derniers avec les **thioesters** (Figure 4) ont également des énergies libres d'hydrolyse importantes comme le **phosphoénolpyruvate** et la **phosphocréatine**.

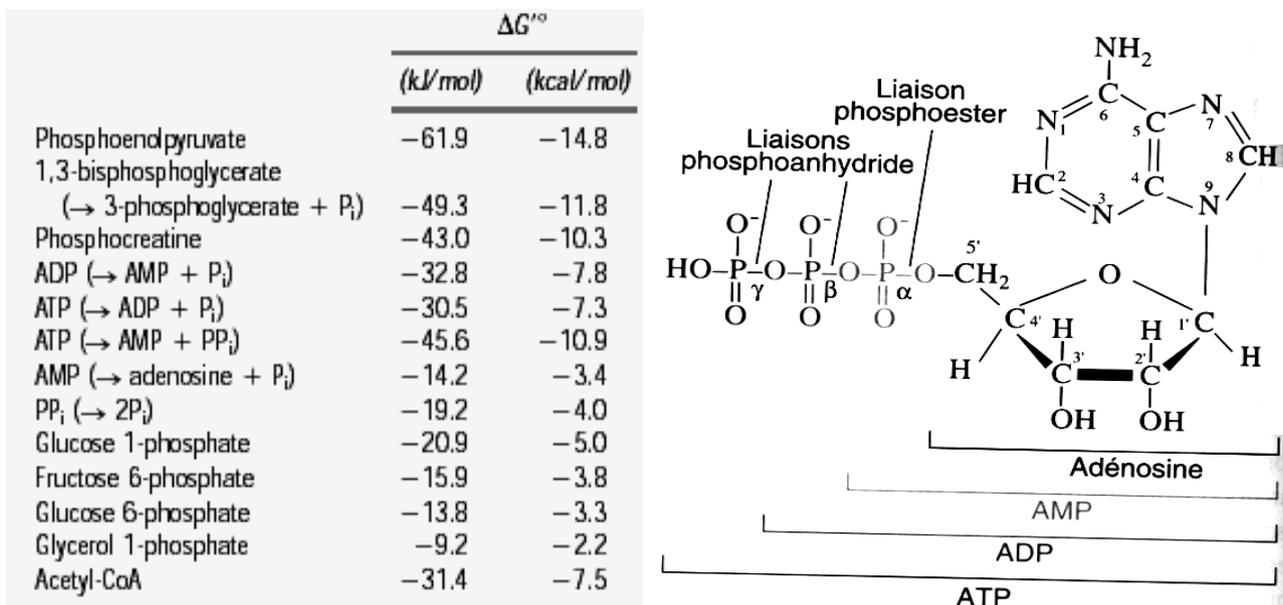


Figure 2. A gauche, les énergies libres standards de l'hydrolyse de quelques composés phosphorylés et de l'acétyle coenzyme A; à droite, l'adénosine triphosphate (ATP) et ses dérivés

Chapitre III. METABOLISME DES GLUCIDES

I. Introduction générale

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui permettent à la cellule d'échanger de la matière et de l'énergie avec le milieu extérieur. Ces réactions lui permettent de se maintenir dans un état hors de l'équilibre appelé **état stationnaire**, caractérisé par l'établissement d'un flux d'énergie à travers la cellule et l'organisme vivant.

Les cellules peuvent être classifiées en des groupes selon plusieurs critères 'métaboliques' (Figure 1):

* forme chimique du carbone assimilé : **Autotrophes** et **hétérotrophes**.

* source d'énergie : **Phototrophes** et **chimiotrophes**.

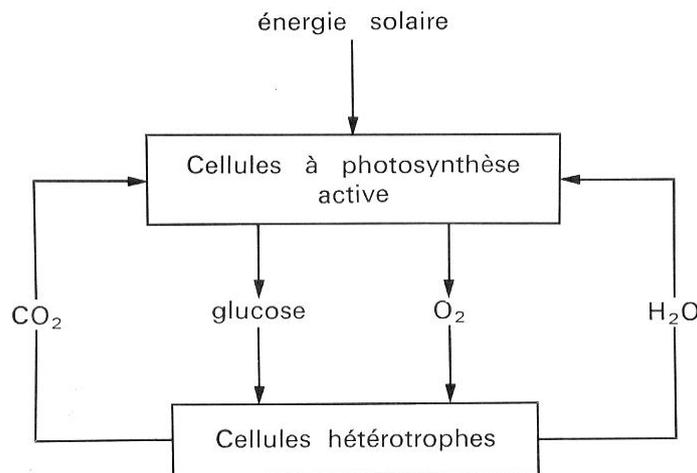


Figure 1. Les organismes vivants sont interdépendants sur le plan nutritionnel et l'énergie solaire représente finalement la seule source d'énergie pour presque toutes les cellules de la biosphère

II. Glycolyse

II.1. Introduction

La glycolyse est la suite de réactions qui convertissent le glucose en pyruvate avec production concomitante d'ATP en quantité faible. C'est une voie presque universelle des systèmes biologiques. C'est une voie cytoplasmique anaérobie (Figures 2 et 3).

Chez les organismes aérobies, la glycolyse est une étape préalable au cycle de l'**acide citrique (cycle de Krebs)** et à la chaîne de transporteurs des électrons qui extrait la plus grande partie de l'énergie contenue dans le glucose. Elle aboutit à une molécule en C₃, le **pyruvate** qui pénètre dans les mitochondries où il est complètement oxydé en CO₂ et H₂O. Si l'apport en oxygène est insuffisant, comme dans le cas dans le muscle en contraction très active, le pyruvate est convertit en **lactate**. Dans certains organismes anaérobies, comme la levure, le pyruvate est transformé est **éthanol**. La formation d'éthanol ou de lactate sont des exemples de **fermentation**.

L'équation globale de la transformation du glucose en pyruvate est :



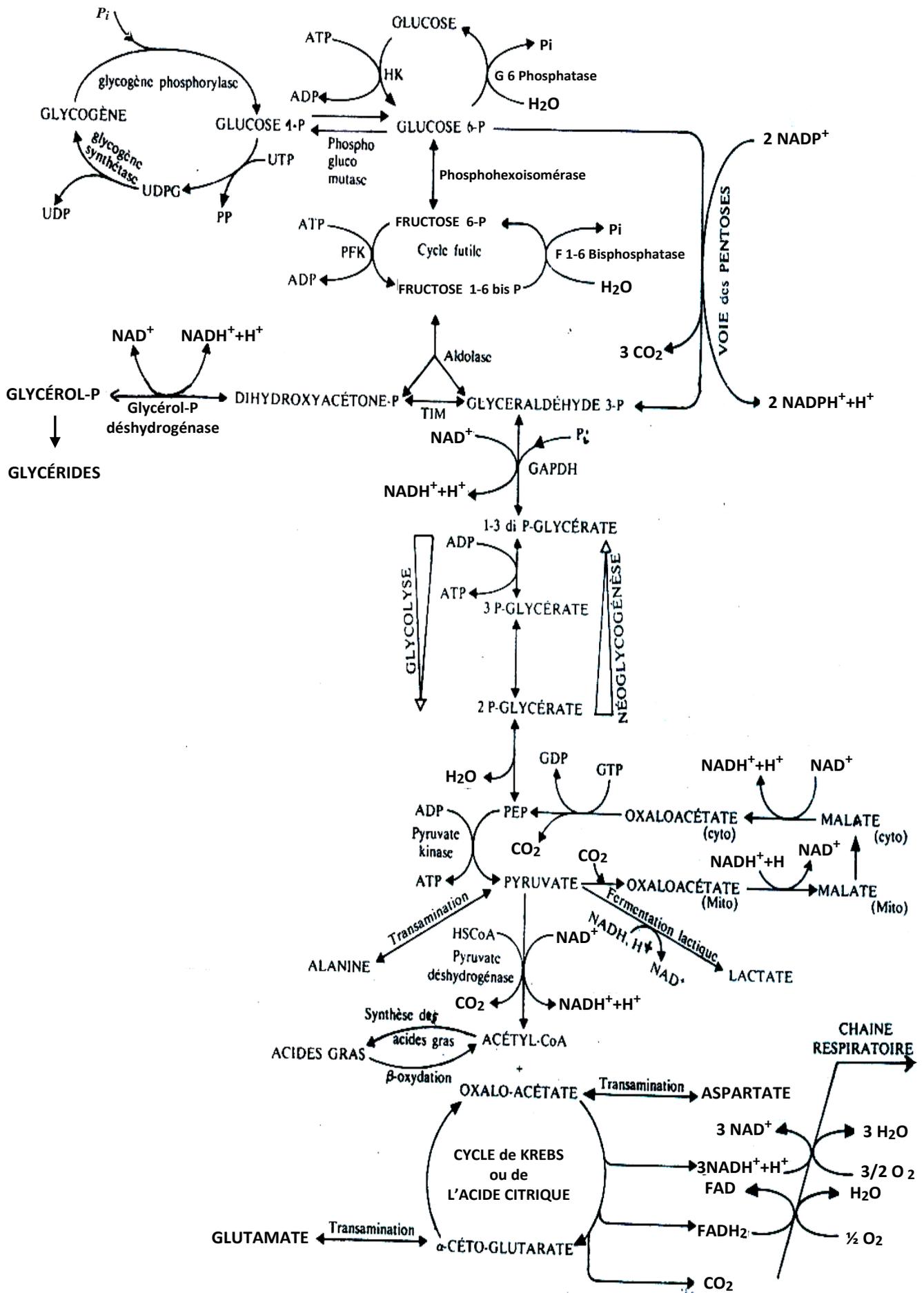


Figure 2. Vue d'ensemble du métabolisme glucidique dans la cellule animale

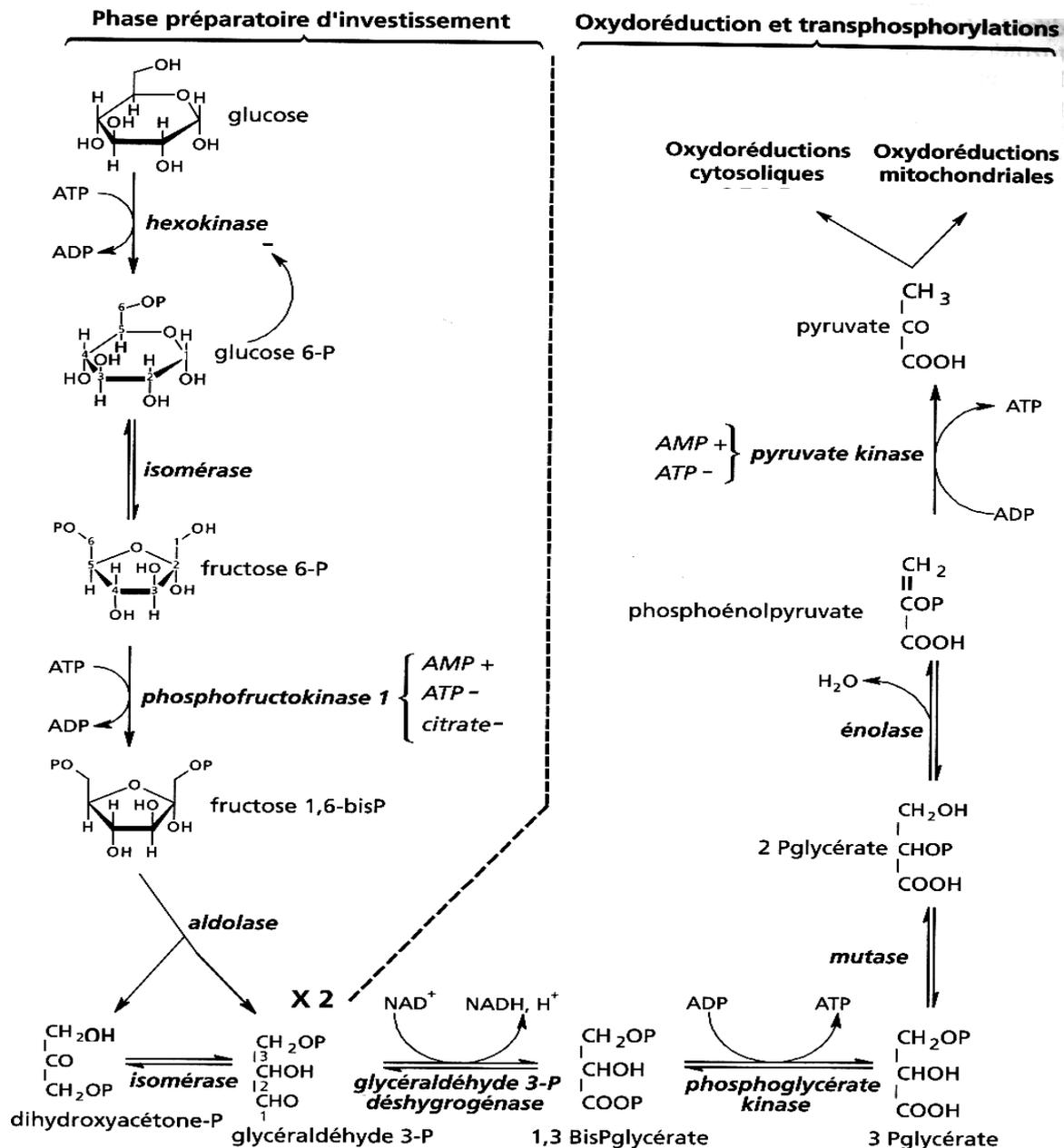


Figure 3. Schéma récapitulatif des réactions de la glycolyse

II.2. Contrôle de la glycolyse

La voie glycolytique a un double rôle : elle dégrade le glucose pour former l'ATP et elle fournit des précurseurs pour des réactions de synthèses telle la formation d'acides gras à longue chaîne.

Il faut noter que la vitesse de conversion du glucose en pyruvate est régulée pour harmoniser ces deux besoins essentiels de la cellule. Dans les voies métaboliques, les enzymes catalysant des réactions essentiellement irréversibles sont des sites de contrôle potentiels. Ainsi, dans la glycolyse, les réactions catalysées par l'**hexokinase** (HK), la **phosphofructokinase** (PFK ou PFK-1) et la **pyruvate kinase** (PK) sont pratiquement irréversibles et hautement régulées :

- La PFK (enzyme clef du contrôle de la glycolyse) est inhibée par les taux élevés d'ATP ou de citrate, alors qu'elle est activée par un apport ATP/AMP faible ou par un faible taux de citrate (l'AMP diminue et le citrate accentue l'effet inhibiteur de l'ATP). Ceci veut dire que l'enzyme n'est activée que lorsque la cellule a besoin à la fois d'énergie (ATP) et de précurseurs (citrate) de biosynthèse (Figure 4).

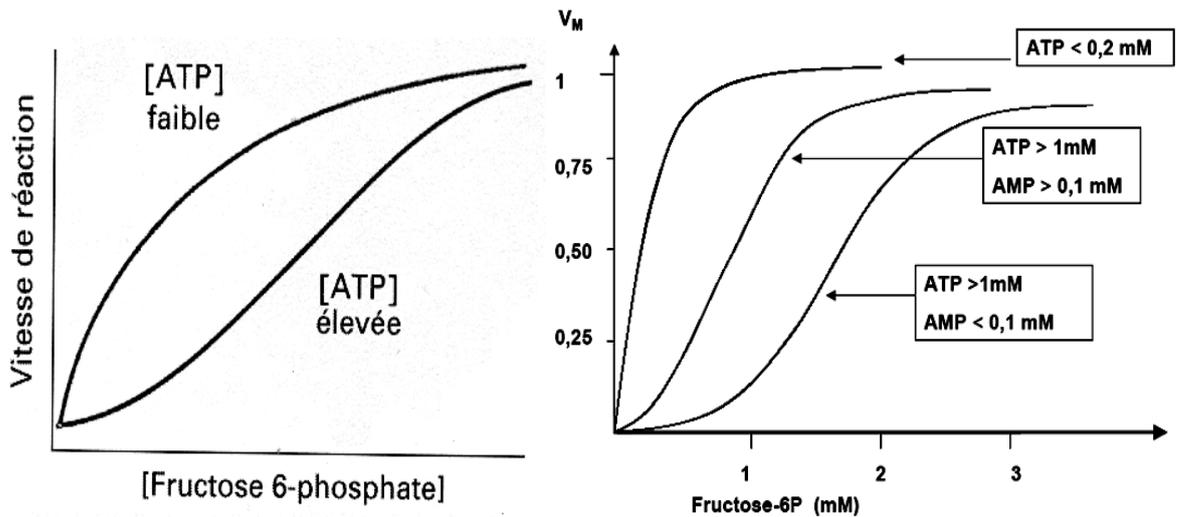
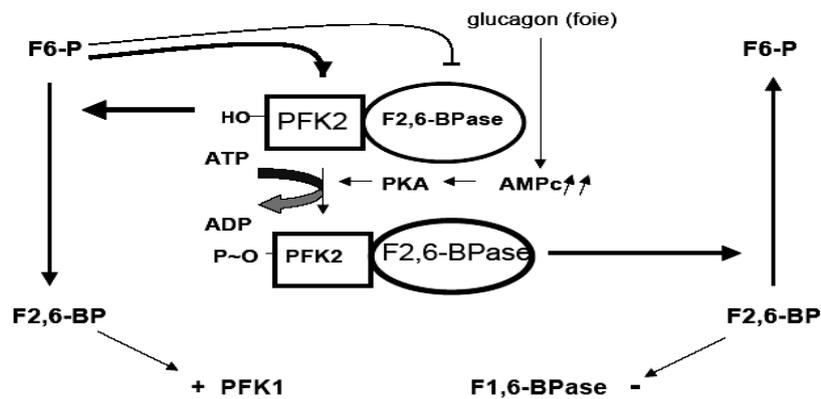


Figure 4. A gauche, Régulation allostérique de la PFK-1. Un taux élevé d'ATP inhibe l'enzyme en diminuant son affinité pour le F 6-P. A droite, importance du rapport ATP/AMP dans la régulation de PFK-1

- La PFK-1 est également régulée par le **fructose 2,6-bisphosphate**. En effet, le fructose 2,6-bisphosphate, produit par la PFK-2 à partir du fructose 6-phosphate, est un puissant activateur de la PFK-1 (enzyme clef de la glycolyse). La concentration du fructose 2,6-bisphosphate dans le foie diminue en réponse à une hormone, le **glucagon**, ce qui ralentit la glycolyse et stimule la synthèse du glucose dans le foie.

ROLE CLE de la PFK-2



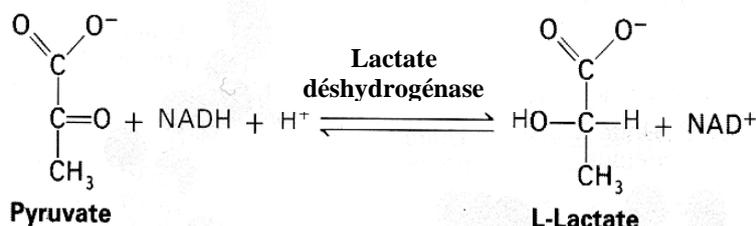
- La PK est inhibée par l'ATP.
- L'HK est inhibée par le glucose 6-P.

Dans le foie, il existe une isoenzyme de l'hexokinase, la **glucokinase**, qui convertit le glucose en glucose 6-P mais qui n'est pas inhibée par glucose 6-P comme l'hexokinase. La glucokinase a un Km élevé pour le glucose et elle n'est efficace que lorsque le glucose est très abondant et son rôle est de fournir du glucose 6-P pour la synthèse du glycogène. Le Km élevé de la glucokinase dans le foie permet au cerveau et aux muscles d'être les premiers à utiliser le glucose lorsque l'apport de celui-ci est limité.

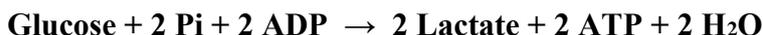
II.3. Réoxydation du NADH.H⁺ en absence d'O₂

Pour que la glycolyse continue à fonctionner, la NAD⁺ (forme oxydée de la nicotinamide- adénine dinucléotide) doit être régénérée à partir de l'oxydation de la NADH.H⁺. Ce processus est conditionné par l'environnement d'aérobie ou d'anaérobie dans lequel se trouve la cellule ainsi que son équipement enzymatique.

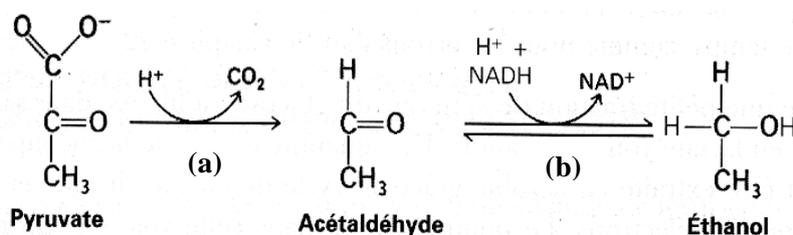
Dans les conditions d'aérobie, la NADH.H⁺ est oxydée dans la chaîne respiratoire. Dans le muscle en état d'anaérobie, la NADH.H⁺ est réoxydée par le pyruvate avec formation d'acide lactique (fermentation lactique) :



Et ainsi la réaction de conversion du glucose en Lactate est :



De la même manière la levure et certains microorganismes en anaérobie régénèrent de la NAD⁺ en transformant le pyruvate en éthanol (fermentation alcoolique) en utilisant deux réactions successives impliquant la **pyruvate décarboxylase (a)** et l'**alcool déshydrogénase (b)**:



Le bilan global de la fermentation alcoolique est :



II.4. Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs ou des acides tricarboxyliques, figure 6 et tableau 1)

C'est la voie commune terminale d'oxydation des molécules énergétiques : acides aminés, acides gras et glucides. La plupart des molécules énergétiques entrent dans ce cycle sous forme d'**Acétyl CoA** (Coenzyme A).

- Formation de l'acétyl-CoA

Dans les conditions d'aérobie, l'étape suivante de la production d'énergie à partir du glucose est la **décarboxylation** du pyruvate pour former l'*Acétyl-CoA* :



(*)Acétyl-CoA comprenant une liaison **thioester** riche en énergie

Cette réaction se passe dans la matrice mitochondriale et consiste en un point de lien entre la glycolyse et le cycle de Krebs. Cette réaction est catalysée par la **pyruvate déshydrogénase**, un complexe multienzymatique formé de trois enzymes (E1, E2 et E3; figure 5) avec la participation de plusieurs coenzymes et cofacteurs :

- E1 est lié à la thiamine pyrophosphate (TPP) et catalyse les réactions 1 et 2 (décarboxylation du pyruvate).
- E2 est lié à la lipoamide et catalyse la réaction 3 (transport de groupe acétyle).

- E3 est lié à la FAD et contient un groupe S-S à activité rédox. Il catalyse les réactions 4 et 5 (réoxydation de la lipoamide par le pont S-S et interchangegement de disulfure; réoxydation de E3 par NAD⁺).

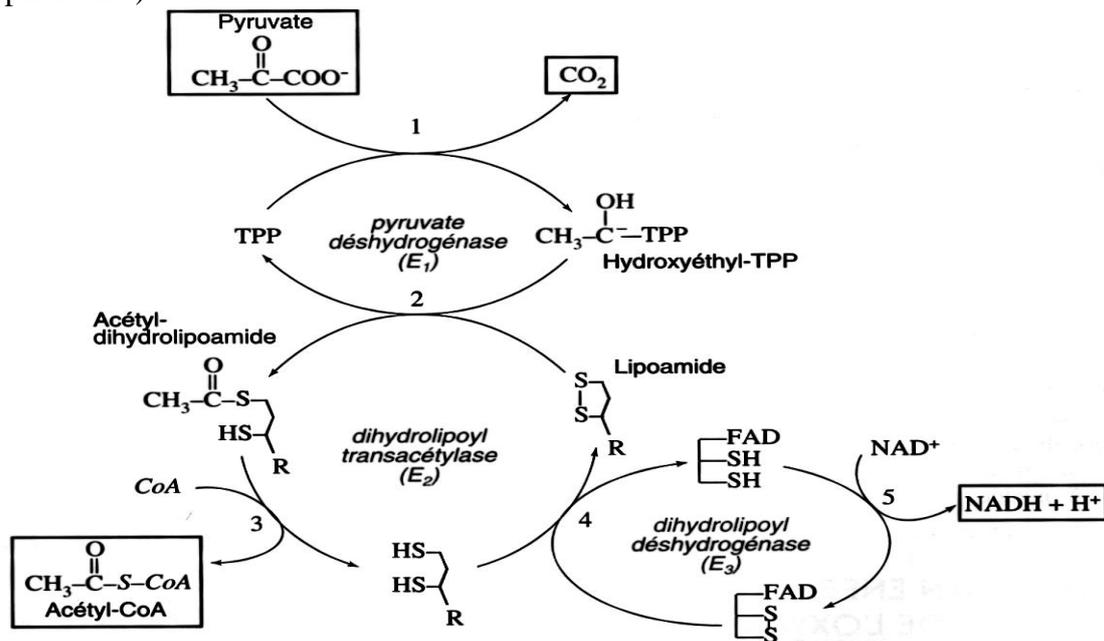


Figure 5. Les cinq réactions catalysées par la pyruvate déshydrogénase

- Vue générale du cycle de Krebs

Un composé à 4 carbones (**Oxaloacétate**) se condense avec une unité acétyle à 2 carbones pour donner un acide tricarboxylique à 6 carbones, le **citrate**. Un isomère du citrate (isocitrate) est ensuite décarboxylé oxydativement pour donner un composé à 5 carbones, l'**α-cétoglutarate** qui subira par la suite une décarboxylation pour donner un composé à 4 carbones, le **succinate** puis à travers le **fumarate** et la **malate** on régénère l'oxaloacétate. En résumé 2 atomes de carbones qui entrent dans le cycle sous forme d'une unité acétylée (acétyl-CoA) et 2 atomes de carbones quittent le cycle sous forme de CO₂ (Figure 6).



Etape	Réaction	Enzyme	Groupement prosthétique	Type (*)	ΔG°'
1	Acétyl CoA + oxaloacétate + H ₂ O → citrate + CoA + H ⁺	Citrate synthase		a	-7,5
2	Citrate ⇌ cis-aconitate + H ₂ O	Aconitase	Fe-S	b	+2,0
3	cis-Aconitate + H ₂ O ⇌ isocitrate	Aconitase	Fe-S	c	-0,5
4	Isocitrate + NAD ⁺ ⇌ α-cétoglutarate + CO ₂ + NADH	Isocitrate déshydrogénase		d + e	-2,0
5	α-cétoglutarate + NAD ⁺ + CoA ⇌ succinyl CoA + CO ₂ + NADH	Complexe α-cétoglutarate déshydrogénase	Acide lipoiqque FAD, TPP	d + e	-7,2
6	Succinyl CoA + P _i + GDP ⇌ succinate + GTP + CoA	Succinyl CoA synthétase		f	-0,8
7	Succinate + FAD (enzyme lié) ⇌ fumarate + FADH ₂ (lié à l'enzyme)	Succinate déshydrogénase	FAD, Fe-S	e	-0
8	Fumarate + H ₂ O ⇌ L-malate	Fumarase		c	-0,9
9	L-malate + NAD ⁺ ⇌ oxaloacétate + NADH + H ⁺	Malate déshydrogénase		e	+7,1

(*) Type de réaction : a) Condensation, b) Déshydratation, c) Hydratation, d) Décarboxylation, e) Oxydation, f) Phosphorylation au niveau du substrat.

Tableau 1. Les réactions du cycle de Krebs

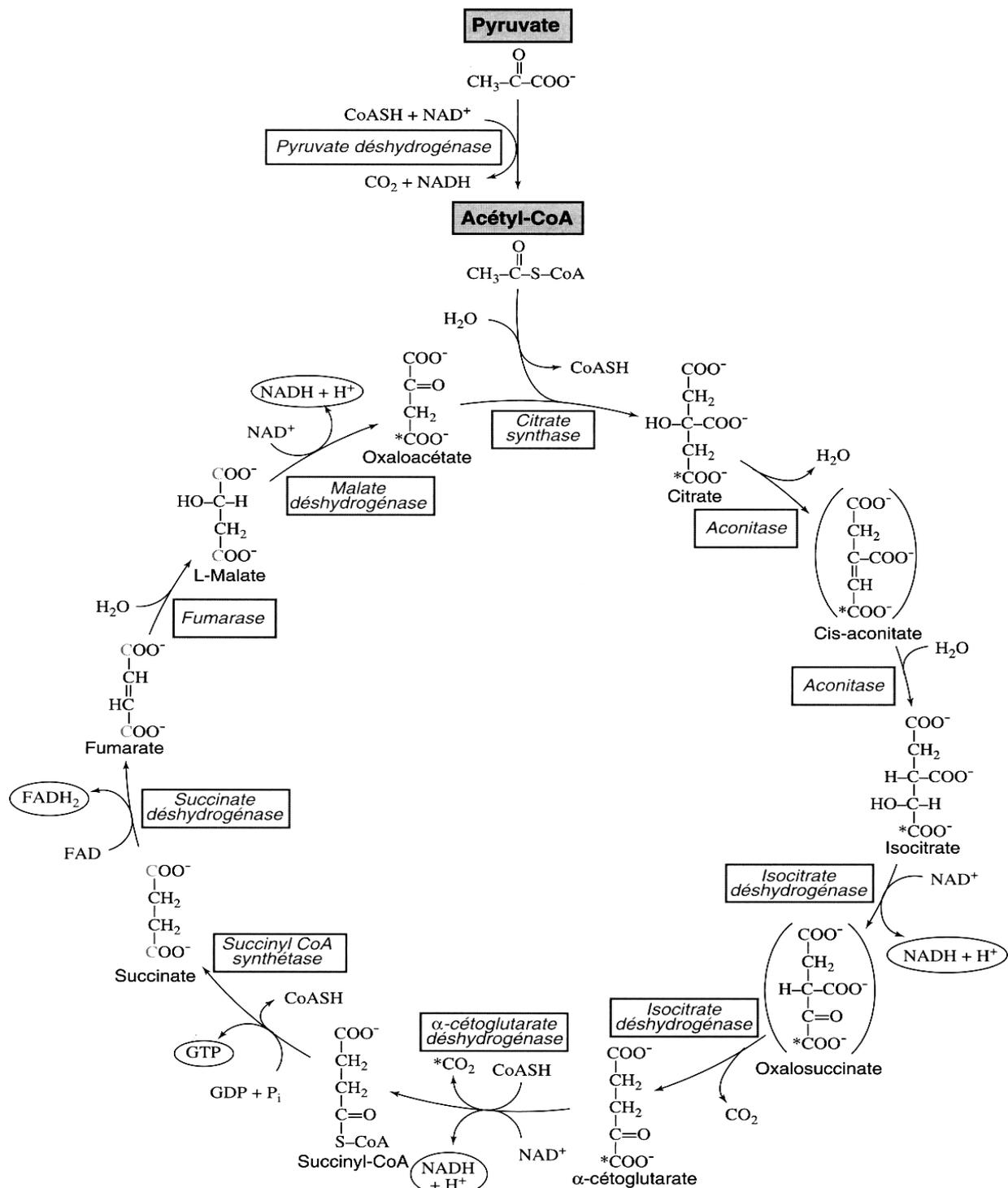


Figure 6. Réactions du cycle de Krebs

- **Contrôle du cycle de Krebs** (Figure 7)

La vitesse du cycle de Krebs est ajustée de façon très précise aux besoins de la cellule en ATP :

- * Le complexe enzymatique catalysant la conversion du pyruvate en acétyl-CoA est inhibé par l'ATP, l'acétyl-CoA et la NADH.H^+ .
- * La citrate synthétase est inhibée par l'ATP.
- * L'isocitrate déshydrogénase est inhibée par l'ATP mais stimulée par l'ADP.
- * l'α-cétoglutarate déshydrogénase est inhibée par le succinyl-CoA et NADH.H^+ .

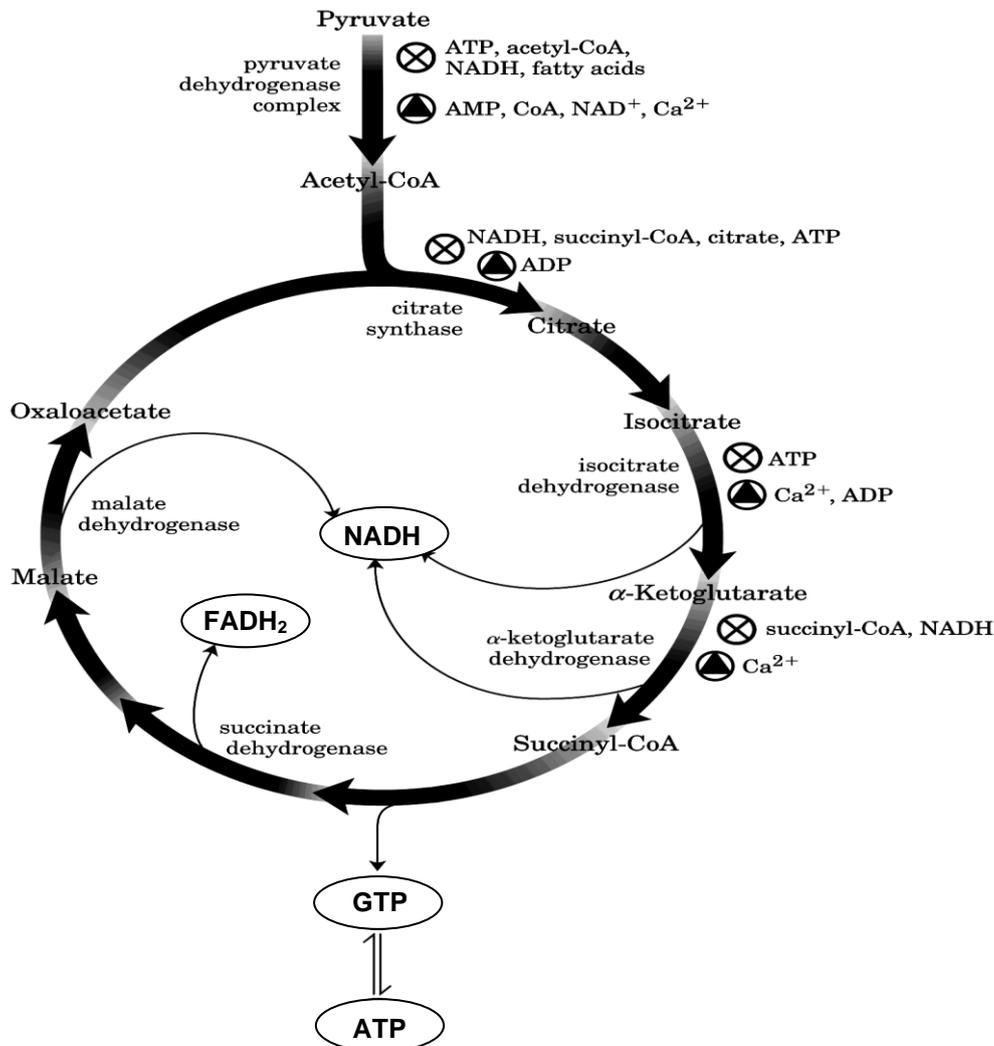


Figure 7. Régulation du cycle de Krebs et de la décarboxylation oxydative du pyruvate. Les régulateurs négatifs sont marqués par une croix encerclée et les régulateurs positifs sont marqués par un triangle encerclé

III. La phosphorylation oxydative

La NADH.H^+ et la FADH_2 formées lors de la glycolyse et du cycle de Krebs sont des molécules riches en énergie car chacune d'entre elles contient une **paire d'électrons à haut potentiel de transfert**.

La phosphorylation oxydative est le processus dans lequel l'ATP est formé lorsque des électrons sont transférés depuis NADH.H^+ ou FADH_2 à l'oxygène par une série de transporteurs d'électrons, c'est la forme essentielle d'ATP dans les organismes aérobies. Elle est effectuée par des ensembles respiratoires (chaîne de transporteurs) localisés dans la membrane interne des mitochondries, alors que les réactions du cycle de Krebs qui fournissent les coenzymes NADH.H^+ et FADH_2 sont situées dans la matrice mitochondriale adjacente (Figure 8).

Ces chaînes de transporteurs peuvent être décomposées en 4 complexes, de Green (Figure 9) :

- **NADH-Coenzyme Q réductase (I),**
- **Succinate-Coenzyme Q réductase (II),**
- **Coenzyme Q H2- cytochrome c réductase (III),**
- **Cytochrome oxydase (IV).**

Séparés par deux structures mobiles, le **cytochrome c** et l'**ubiquinone ou coenzyme Q**.

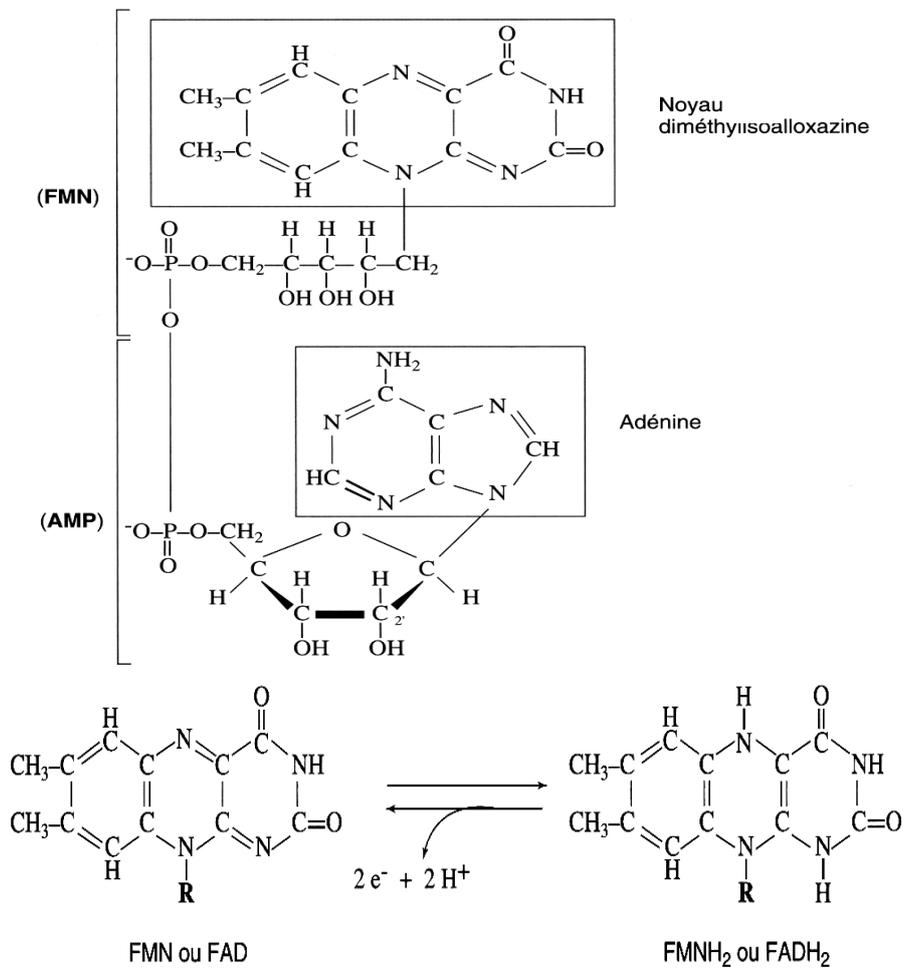
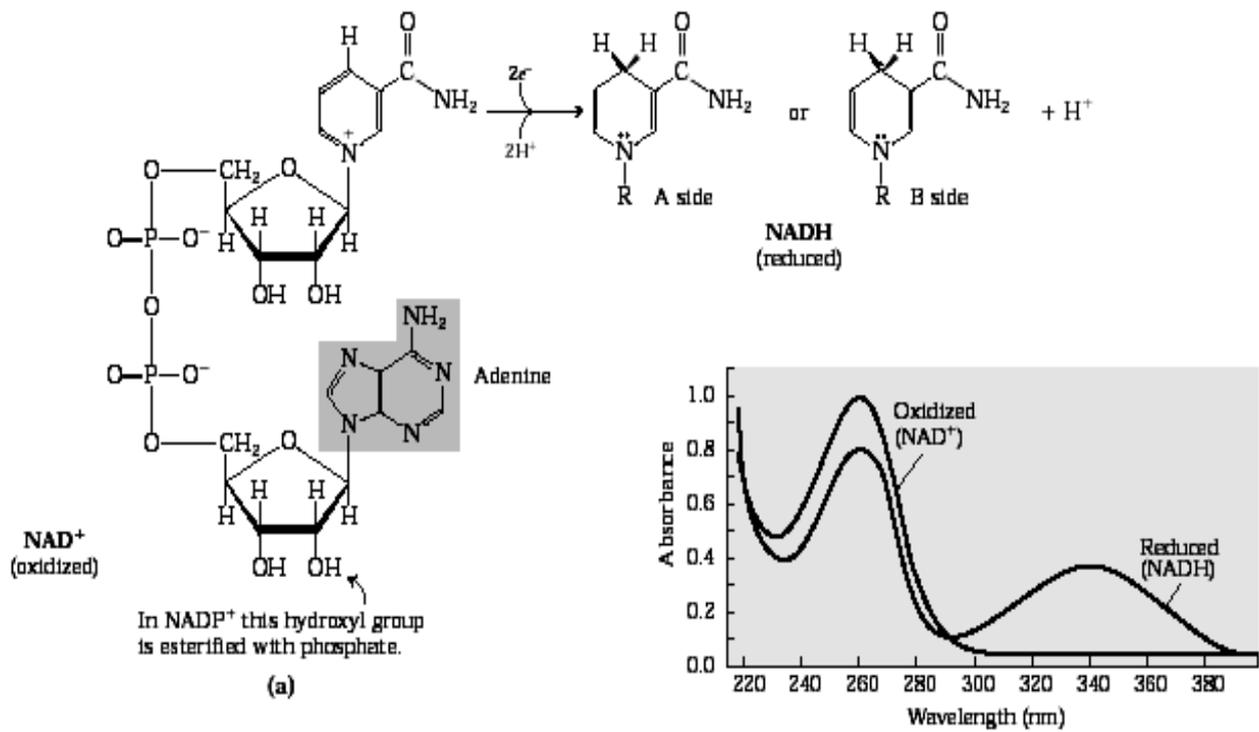


Figure 8. Les formes oxydée et réduite de NAD (nicotinamide adénine dinucléotide), FAD (flavine adénine dinucléotide = AMP+FMN) et FMN (flavine mononucléotide)

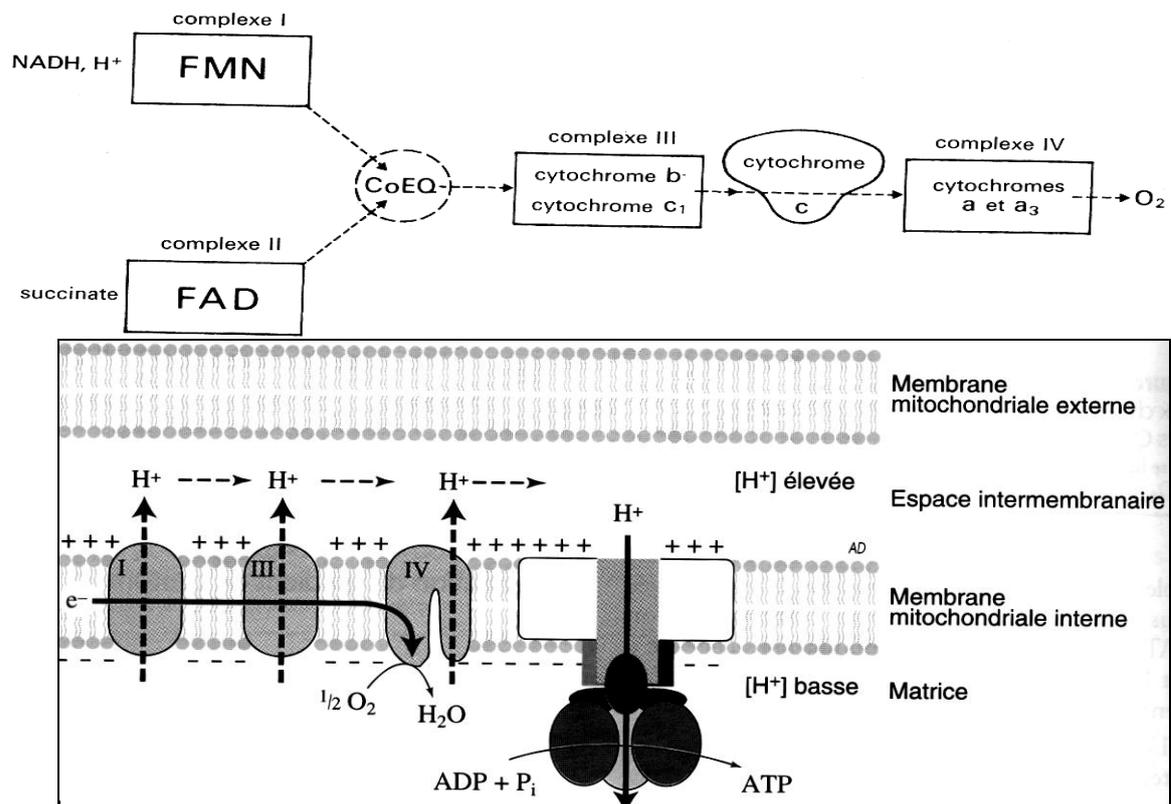


Figure 9. En haut, les complexes de Green de la chaîne respiratoire; En bas, le transfert d'électrons à travers la chaîne respiratoire conduit au pompage de protons, de la matrice vers le côté cytosolique de la membrane mitochondriale interne. Le gradient de pH et le potentiel de membrane constituent une force proton-motrice utilisée pour activer la synthèse d'ATP.

La chaîne respiratoire peut être assimilée à 3 pompes à protons (complexes I, III et IV) activées lors du transfert des électrons. Les réactions d'oxydoréduction dans la chaîne respiratoire sont couplées à la phosphorylation de l'ADP en ATP. L'ATP est synthétisé par un complexe enzymatique d'une unité F_0 de conduction des protons (vers la matrice) et d'une unité catalytique F_1 (ATP synthase ou ATP synthétase).

La dénivellation entre NADH et l'oxygène est de $-0.32V$ à $+0.81V = 1.13V$. L'ATP est formé entre deux complexes lorsque la dénivellation de potentiel d'oxydoréduction est d'environ $0.2V$ et les étapes énergétiques importantes sont (Figure 10):

- **NADH.H⁺ → flavine**
- **Ubiquinone H₂ → cytochrome c**
- **Cytochrome c → oxygène.**

Peter Mitchell (1961) a postulé que la différence de concentration des protons de part et d'autres d'une membrane est le phénomène central du transfert d'énergie. Cette théorie **chimiosmotique** (principe unificateur de biologie au 20^{ème} siècle) du couplage entre le transport d'électrons et de protons et la phosphorylation oxydative a le mérite de proposer un mécanisme de formation de liaisons phosphoanhydride ADP~P, riches en énergie.

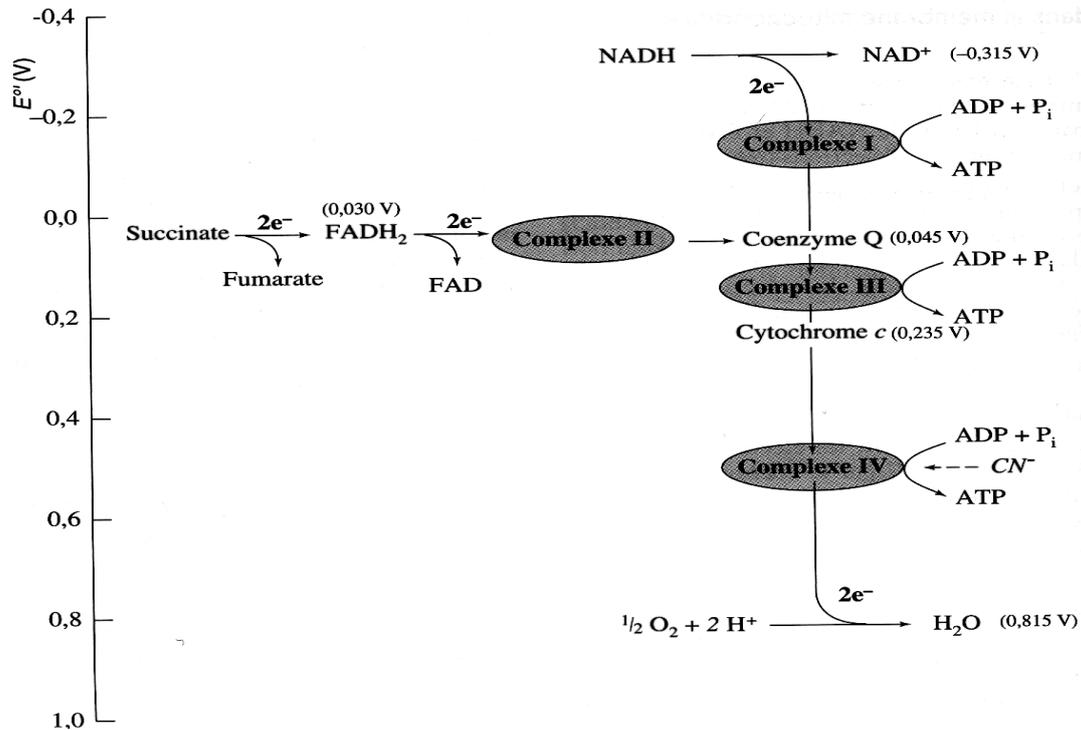


Figure 10. Couplage entre réactions d'oxydoréduction dans la chaîne respiratoire et la phosphorylation de l'ADP. L'échelle des potentiels standards d'oxydoréduction de la chaîne de transport d'électrons et localisation des réactions dont le ΔG permet la synthèse d'ATP. CN^- : site de l'inhibiteur 'cyanure'

La phosphorylation serait donc :

- 1- directement dépendante du gradient transmembranaire des concentrations de protons et d'électrons réalisé grâce au ΔG des réactions d'oxydoréduction successives;
- 2- due à la perméabilité sélective des membranes (mitochondries et chloroplastes) qui permettent la connexion de canaux à protons et d'ATPases pouvant agir réversiblement en tant qu'ATP synthases (Figures 11 et 12).

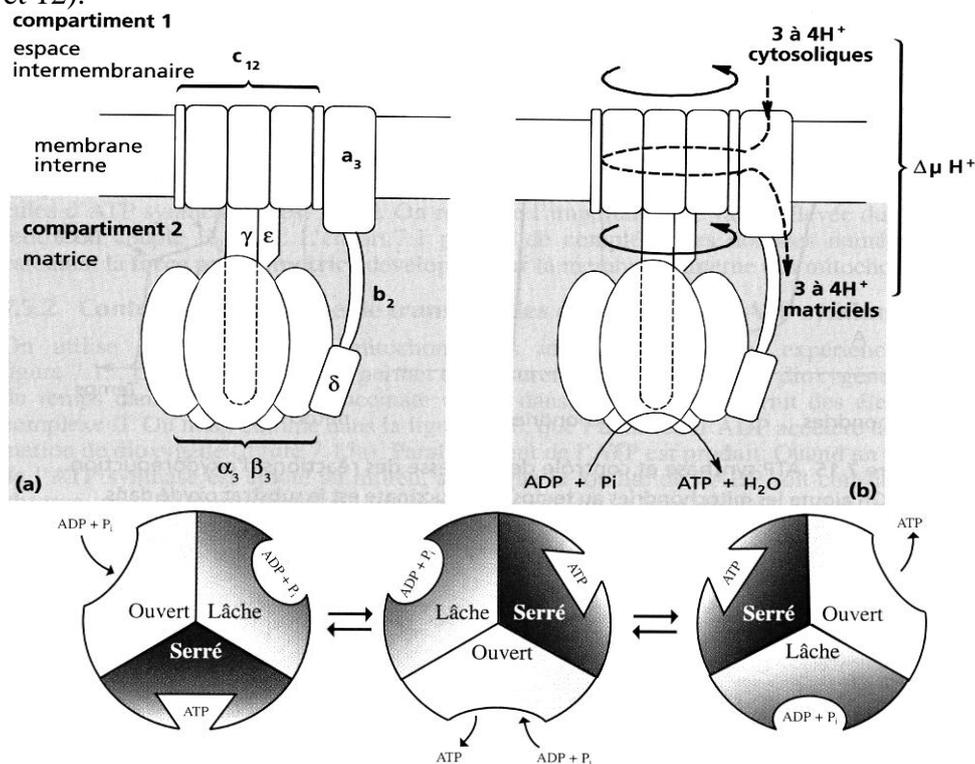


Figure 11. Architecture moléculaire de l'ATP synthase. En haut, (a) agencement moléculaire et (b) schéma réactionnel; en bas, activité catalytique

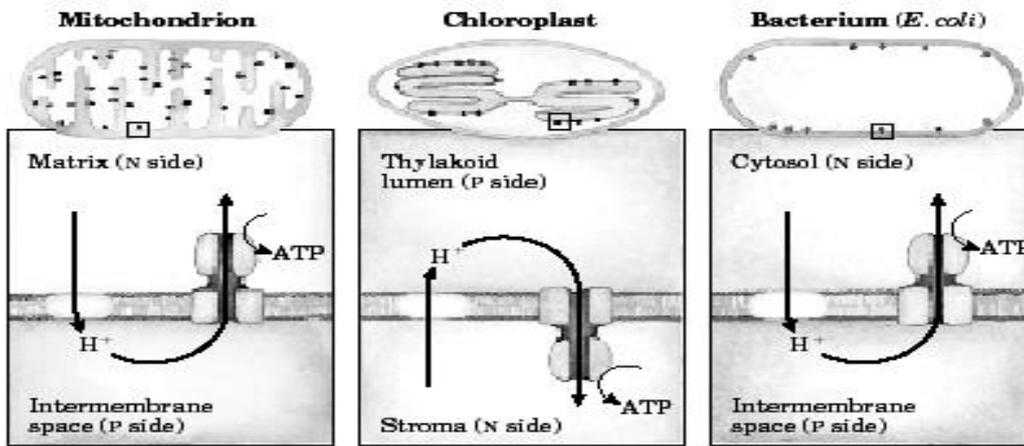


Figure 12. Comparaison de la topologie du mouvement de protons et de l'orientation de l'ATP synthase dans les membranes des mitochondries, des chloroplastes et de la bactérie *E. coli*. Dans chaque cas, l'orientation relative du gradient de protons par rapport à l'ATP synthase est la même.

IV. Rendement en ATP de l'oxydation complète du glucose (Tableau 2)

L'oxydation complète d'une molécule de glucose donne environ 30 ATP : la meilleure estimation du nombre de protons (H^+) pompés vers la face cytosolique et qui doivent regagner la matrice à travers le complexe F_0-F_1 est : 4-4-2 pour les complexes de greens I, III et IV respectivement et que 3 H^+ servent à synthétiser une molécule d'ATP par l'ATP synthase et un H^+ supplémentaire est nécessaire pour transporter chaque ATP vers le cytosol (Figure 13). Donc l'oxydation du $NADH.H^+$ conduit à 2,5 ATP alors que celle du $FADH_2$ produit 1,5 ATP. La majorité des ATP formés par l'oxydation du glucose provient de la chaîne respiratoire (26).

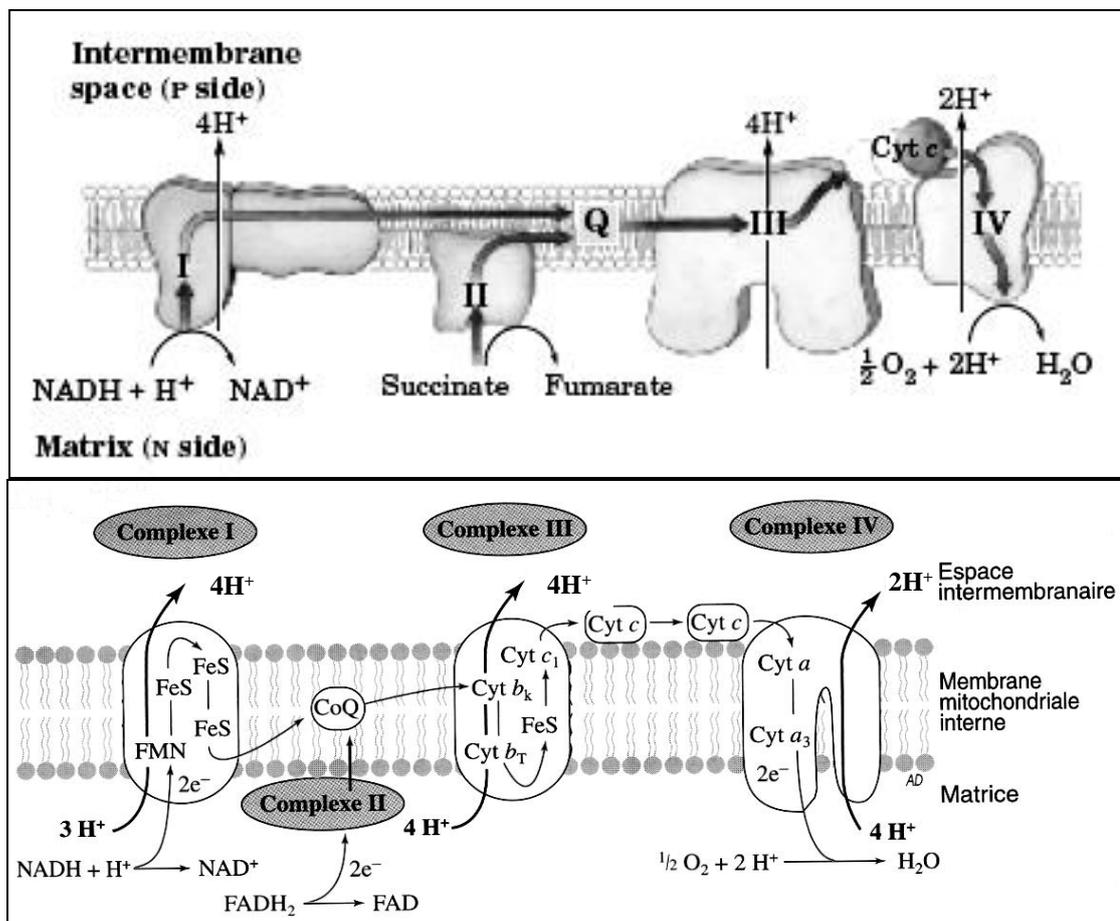


Figure 13. Chaîne de transport d'électrons et exportation des protons

Séquences des réactions	Rendement en ATP /Glucose
* Glycolyse : du glucose au pyruvate (dans le cytosol)	
- Phosphorylation du glucose	-1
- Phosphorylation du fructose 6-Phosphate	-1
- Déphosphorylation de 2 molécules de 1,3-BPG	+2
- Déphosphorylation de 2 molécules de phosphoénolpyruvate	+2
- 2 NADH sont formés au cours de l'oxydation de 2 molécules de glycéraldéhyde 3-P	
* Conversion du pyruvate en acétyl-CoA (à l'intérieur des mitochondries)	
- 2 NADH sont formés	
* Cycle de l'acide citrique (à l'intérieur des mitochondries)	
- 2 molécules de GTP sont formées à partir de 2 molécules de succinyl-CoA	+2
- 6 NADH sont formés au cours de l'oxydation de 2 molécules d'isocitrate, d' α -cétoglutarate et de malate	
- 2 FADH ₂ sont formés au cours de l'oxydation de 2 molécules de succinate	
* Phosphorylation oxydative (à l'intérieur des mitochondries)	
- 2 NADH formés dans la glycolyse : chacun fournit 1,5 ATP (en supposant un transfert du NADH par la navette du glycérol phosphate)	+3
- 2 NADH formés dans la décarboxylation oxydative du pyruvate (chacun fournit 2,5 ATP)	+5
- 2 FADH ₂ formés dans le cycle de l'acide citrique (chacun fournit 1,5 ATP)	+3
- 6 NADH formés dans le cycle de l'acide citrique (chacun fournit 2,5 ATP)	+15

* Rendement global par glucose	+30

Tableau 2. Rendement en ATP par glucose si l'on utilise la navette glycérol phosphate. Il faut ajouter deux ATP supplémentaires si l'on utilise la navette malate-aspartate.

La membrane mitochondriale externe est perméable à la quasi-totalité des métabolites par contre la membrane mitochondriale interne (80% de protéines et 20% de lipides) est imperméable à la majorité des ions et molécules comme la NADH.H⁺ cytosolique. Ce dernier pour participer à la phosphorylation oxydative doit utiliser des navettes transmembranaires à hydrogène. Il existe 2 navettes dans ce but :

- **Navette glycérol phosphate** : Le bilan de cette voie est la formation de 1,5 molécules d'ATP par molécules de NADH.H⁺ cytoplasmique (NADH.H⁺ entre dans la matrice sous forme de FADH₂)

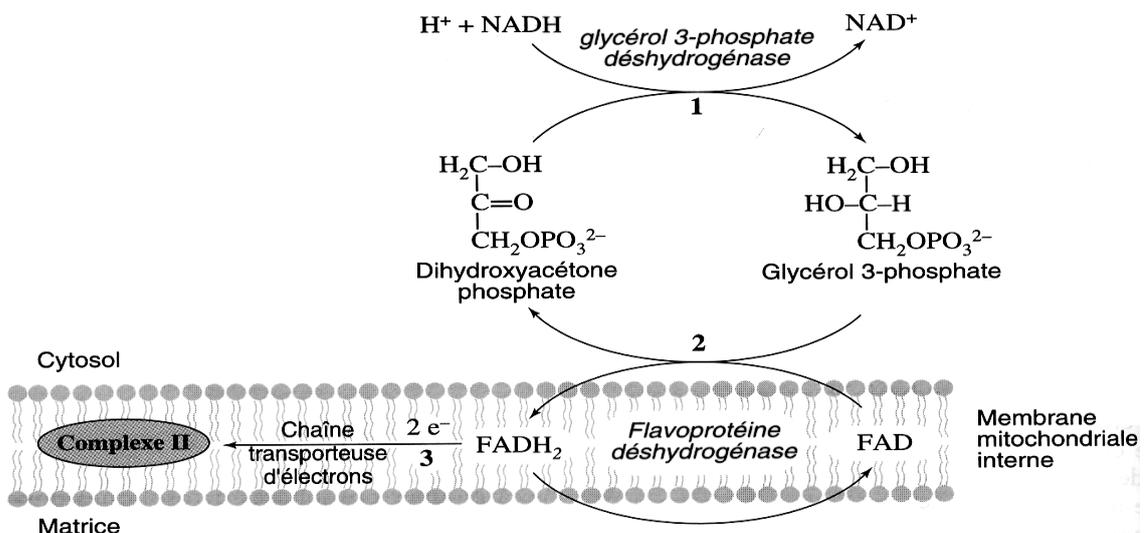


Figure 14. Navette du glycérol phosphate

- **Navette malate-aspartate** : Cette navette ne consomme pas d'énergie et la réoxydation de NADH.H^+ cytoplasmique produit 2,5 ATP.

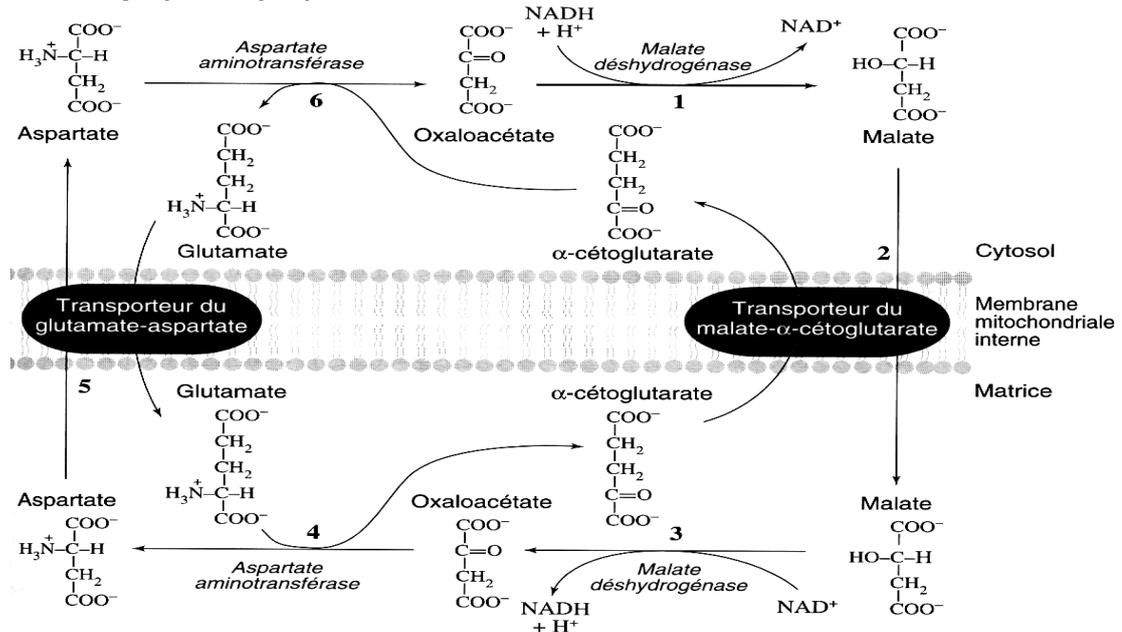


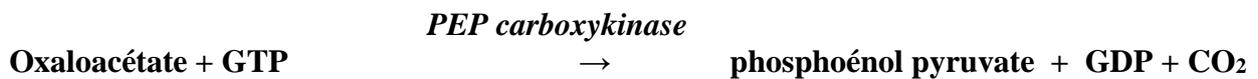
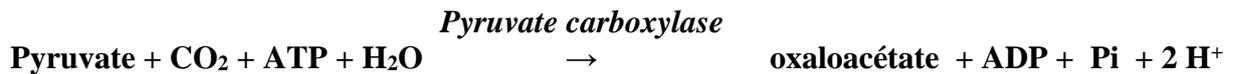
Figure 15. Navette malate-aspartate. Etapes 1 à 3, transport des électrons du NADH cytosolique au NADH mitochondrial; étapes 4 à 6, régénération de l'oxaloacétate cytosolique.

Il faut noter que la navette glycérol phosphate est particulièrement active dans le muscle de vol des insectes alors que la deuxième navette est active dans le cœur et le foie.

V. Gluconéogenèse

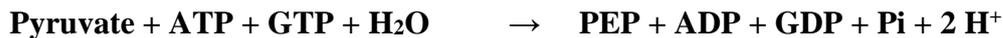
La gluconéogenèse n'est pas l'inverse de la glycolyse. Dans la glycolyse, le glucose est convertit en pyruvate alors que dans la gluconéogenèse, le pyruvate est convertit en glucose. Cependant cette dernière doit contourner les 3 réactions irréversibles catalysées par l'**hexokinase**, la **phosphofructokinase** et la **pyruvate kinase** par 3 réactions différentes (Figure 16) :

- 1- formation du phosphoénol pyruvate (PEP) à partir du pyruvate par l'intermédiaire de l'oxaloacétate :

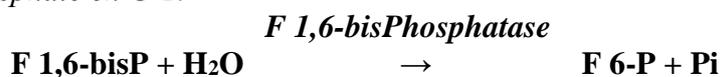


La première réaction, catalysée par la **pyruvate carboxylase**, est réalisée dans la mitochondrie.

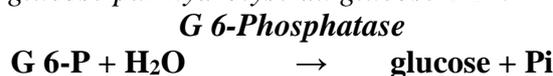
La somme des 2 réactions donne :



- 2- Formation du fructose 6-P à partir du fructose 1,6-bisphosphate (F 1,6-bisP) par hydrolyse de l'ester phosphate en C-1.



- 3- Formation du glucose par hydrolyse du glucose 6-P :



La glucose 6-phosphatase (G 6-Ptase) n'est pas présente dans le cerveau et le muscle et ainsi le glucose ne peut quitter ces organes.

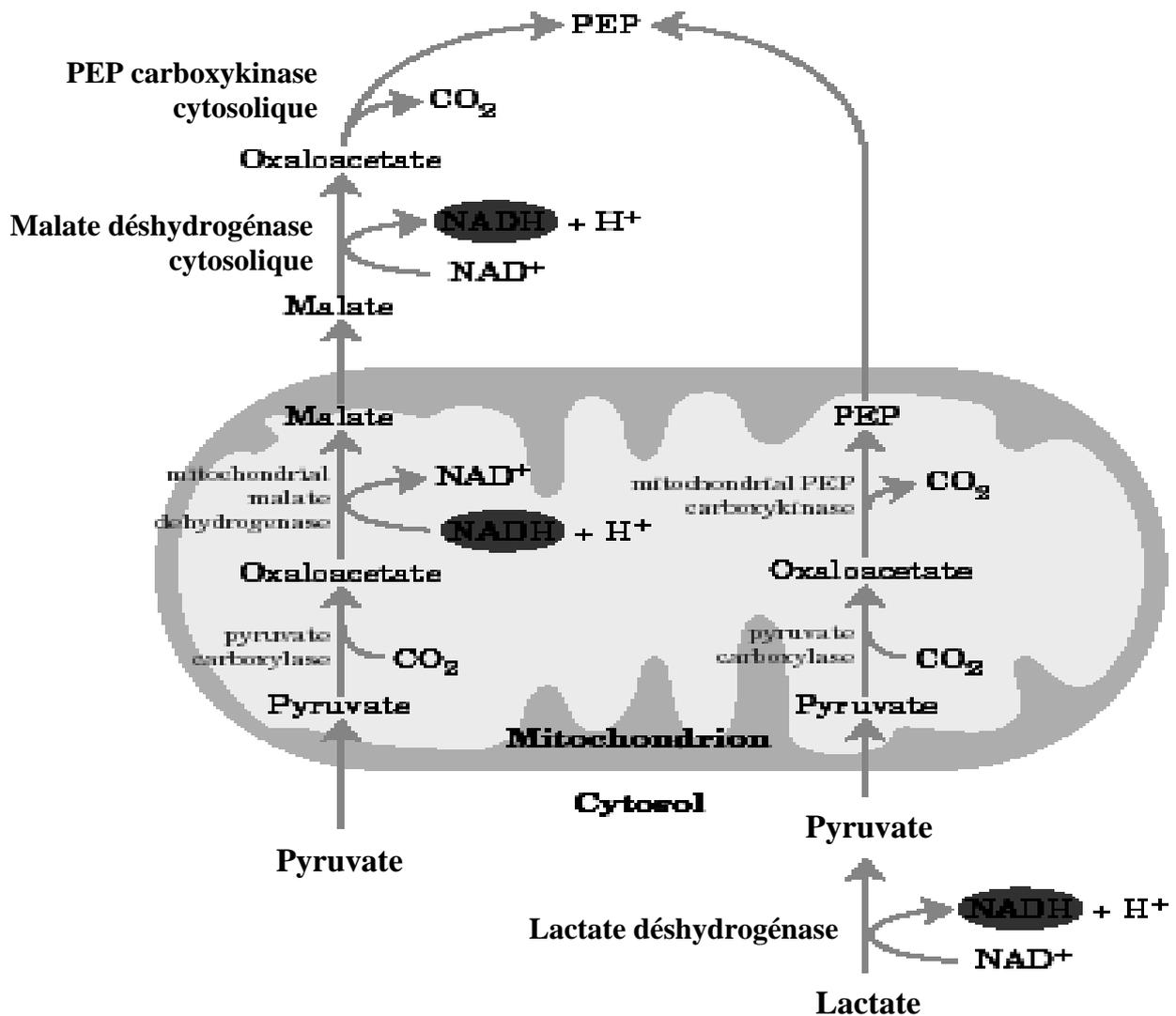
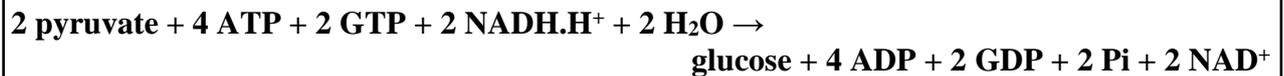


Figure 16. L'oxaloacétate utilisé dans le cytosol pour la gluconéogenèse est formé dans la matrice mitochondriale par carboxylation du pyruvate. L'oxaloacétate quitte la mitochondrie sous la forme de malate, qui est réoxydé en oxaloacétate dans le cytosol.

Donc pour synthétiser une molécule de glucose à partir de 2 pyruvates, il faut consommer 6 molécules d'ATP :



La gluconéogenèse et la glycolyse sont réciproquement régulées et sont coordonnées de telle sorte qu'une voie est relativement inactive lorsque l'autre est très active de façon à adapter le métabolisme cellulaire aux situations physiologiques et pathologiques de l'organisme.

La phosphorylation du Fructose 6-Phosphate, étape limitante de la glycolyse est activée lorsque la charge énergétique de la cellule est basse. Inversement, le Fructose 1,6-bis Phosphate est hydrolysé et la gluconéogenèse est stimulée lorsque la charge énergétique cellulaire est élevée et les intermédiaires du cycle de l'acide citrique sont abondants (Figure 17).

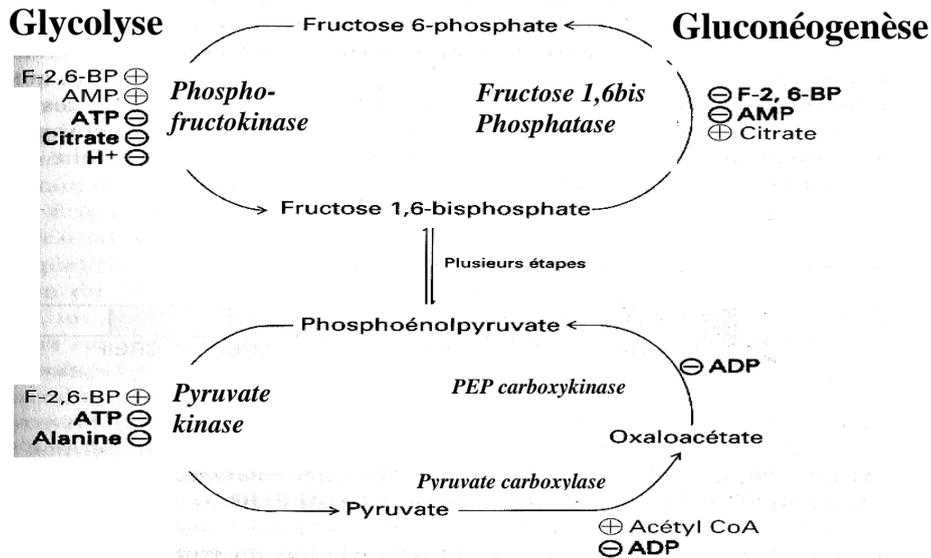


Figure 17. Régulation réciproque de la gluconéogenèse et de la glycolyse dans le foie. Le taux de F 2,6bisP est élevé chez un sujet correctement nourri ; il est bas au cours du jeûne. Un autre point de contrôle est l'inhibition par phosphorylation de la pyruvate kinase, lors du jeûne.

VI. Coopération métabolique entre le muscle strié et le foie : cycle de Cori

Le muscle squelettique, en contraction rapide, fonctionne presque exclusivement avec l'ATP issu de la glycolyse, soit 2 ATP par molécule de glucose avec formation de deux lactates. Ceci suppose la dégradation d'une énorme quantité de glucose pour satisfaire les besoins du muscle. Le stock du glycogène musculaire étant limité, un approvisionnement en glucose extérieur s'avère indispensable. Il fait intervenir le processus connu sous le nom de cycle de **Cori** (Figure 18).

Le lactate, formé à l'issue de la glycolyse dans la cellule musculaire, est repris par le sang et conduit jusqu'au foie où il est transformé en pyruvate (par la **lactate déshydrogénase**), puis en glucose. Ce glucose est rapporté au muscle par le sang pour y être utilisé. La transformation du pyruvate en glucose se fait par gluconéogenèse et le processus du stockage dans le foie ou dans le muscle se fait par la glycogénogenèse. Ainsi le cycle de Cori permet de relier la glycolyse musculaire et la gluconéogenèse hépatique.

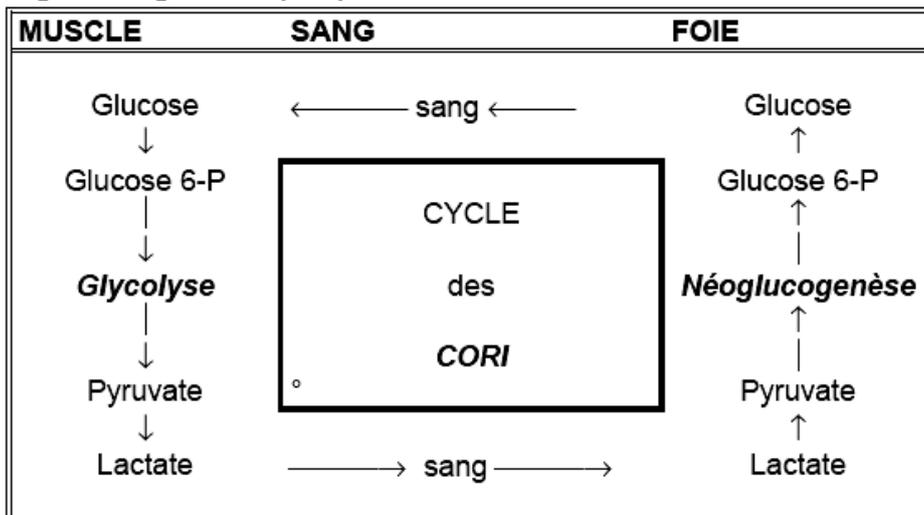


Figure 18. Cycle de Cori : une coopération entre le muscle squelettique et le foie

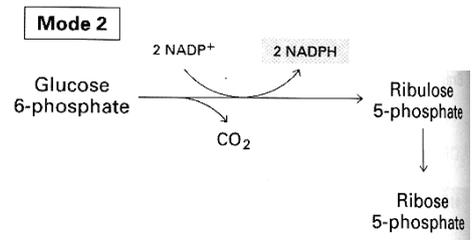
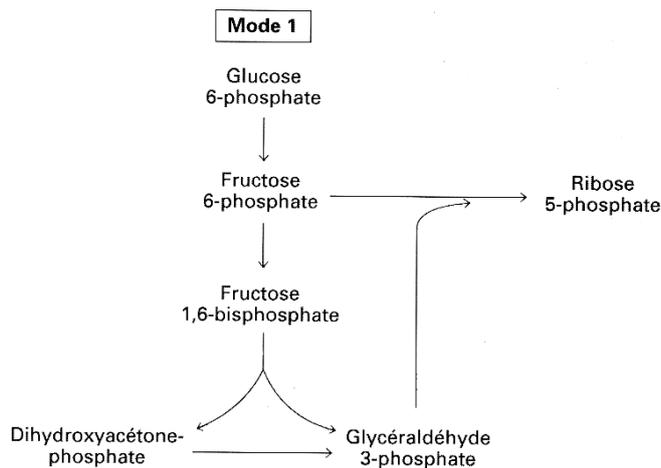
VII. La voie des pentoses phosphates (voie de Dickens-Horecker)

La voie des pentoses (Figure 19), appelée aussi voie des pentoses monophosphates, existe chez tous les organismes animaux et végétaux et chez la quasi-totalité des bactéries. On peut la

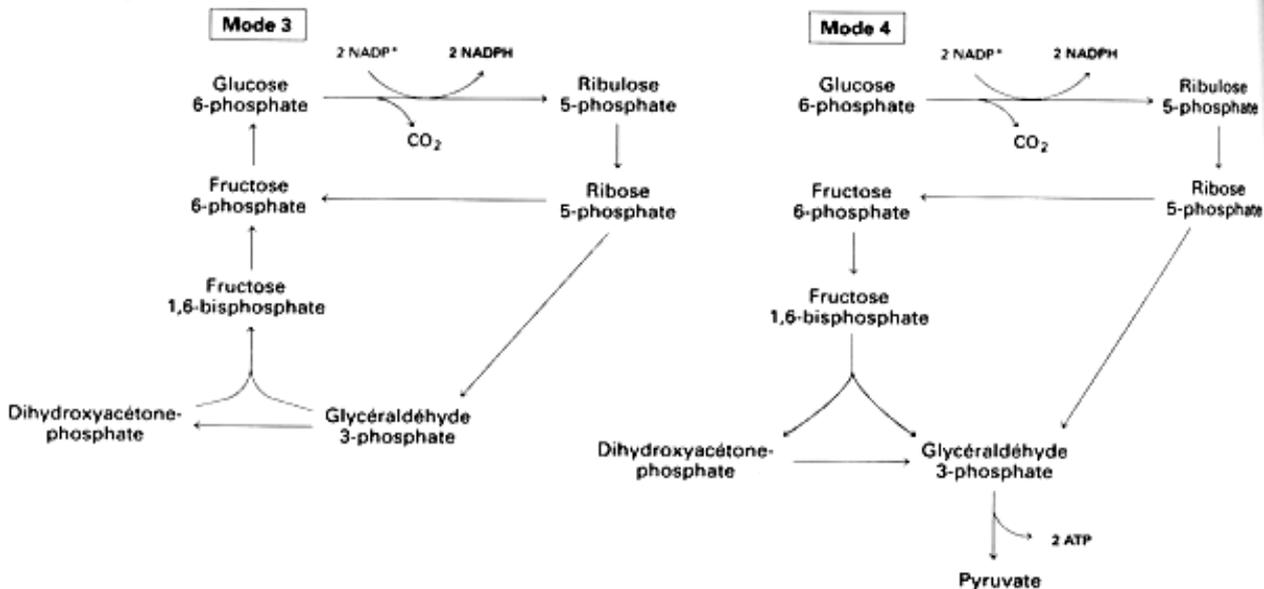
considérer comme une voie d'oxydation du glucose branchée en parallèle sur la glycolyse. Toutefois elle se distingue de cette dernière car elle produit des équivalents réducteurs sous forme de **NADPH.H⁺**, qui est un donneur d'électrons dans les réactions des synthèses d'acides gras, de stéroïdes, de l'erythrose-P, précurseurs de certains acides aminés et à la synthèse du glucose à partir de CO₂ chez les organismes photosynthétiques et du **ribose 5-P** qui sert à la synthèse des nucléotides et des acides nucléiques. Cette voie est développée dans les adipocytes, glande mammaire, cortex surrénal et foie et quasi inexistante dans le muscle.

La vitesse de la voie des pentoses est régulée par le taux de NADP⁺ et le flux du glucose 6-P dans cette voie dépend des besoins en NADPH.H⁺, ribose 5-P et ATP et suit 4 modes différentes :

- Mode 1 : les besoins en ribose 5-P sont supérieurs à ceux du NADPH.H⁺,
- Mode 2 : les besoins en ribose 5-P et de NADPH.H⁺ sont équivalents,



- Mode 3 : les besoins en NADPH.H⁺ sont supérieurs à ceux en ribose 5-P avec la resynthèse du G 6-P par gluconéogenèse,
- Mode 4 : les besoins en NADPH.H⁺ sont supérieurs à ceux en ribose 5-P et le G 6-P emprunte la glycolyse.



Le bilan global de la voie des pentoses peut être comme suit :



Si le cycle tourne deux fois et 2 trioses-P \rightarrow F 1,6-bisP \rightarrow F 6-P + Pi \rightarrow G 6-P

Et par conséquent : $1 \text{ G 6-P} + 12 \text{ NADP}^+ \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ NADPH.H}^+ + \text{Pi}$

Et donc la voie des pentoses peut oxyder totalement une molécule de glucose en CO₂.

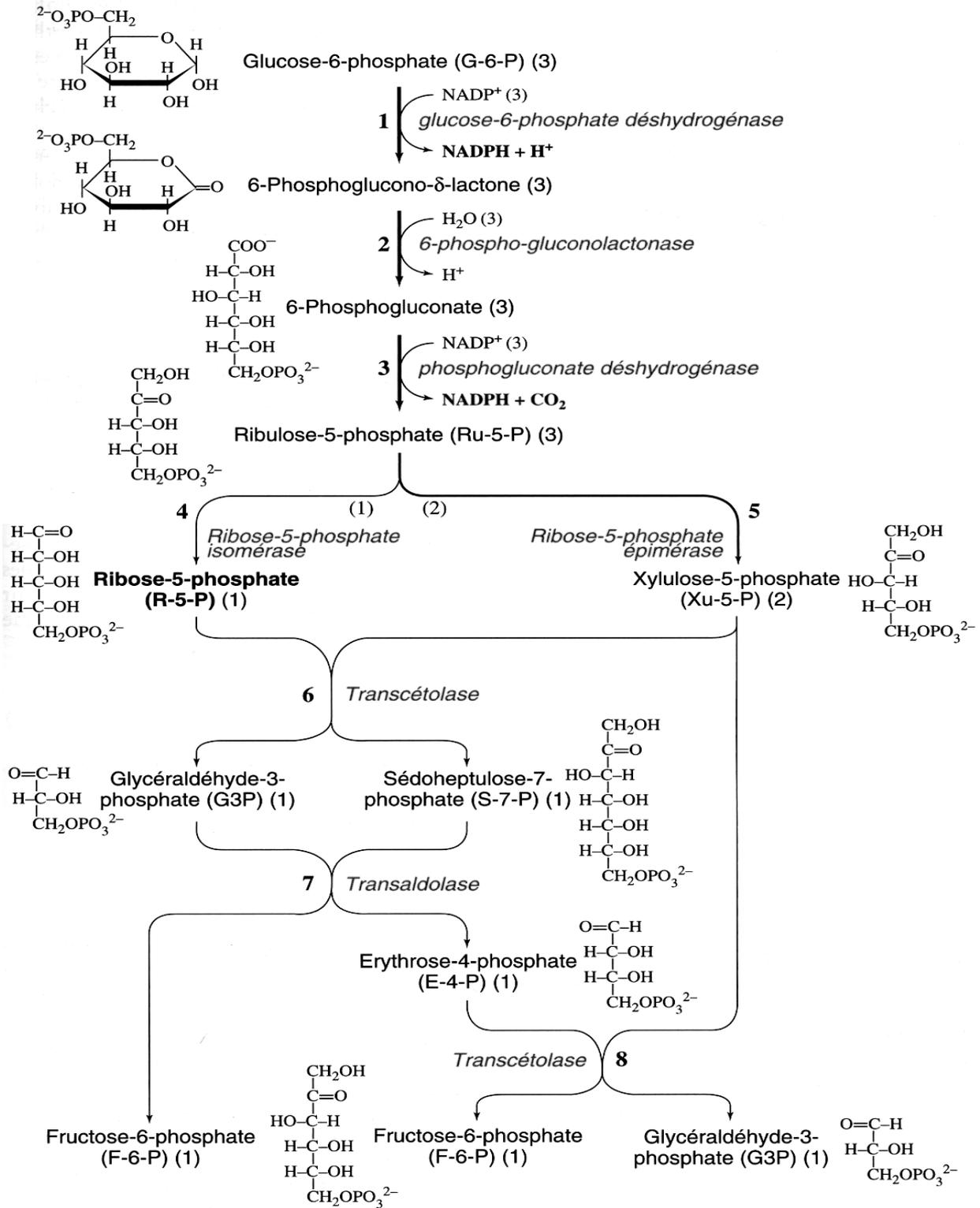
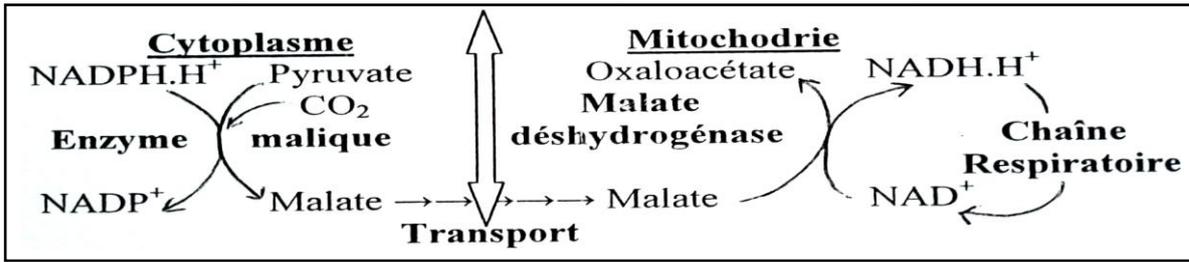


Figure 19. Voie des pentoses

Le NADPH.H^+ ne peut pas pénétrer dans la mitochondrie et donc ne peut pas être réoxydé par les systèmes de transporteurs d'électrons, cependant chez les animaux supérieurs, un certain nombre de mécanismes permettent cette réoxydation grâce à l'**enzyme malique**.



Ainsi cette voie de pentoses peut avoir un rôle énergétique.

VIII. Métabolisme du glycogène

Le glycogène est une forme de mise en réserve du glucose facilement mobilisable chez les animaux, les champignons et certaines bactéries. Chez les animaux supérieurs, le glycogène est stocké principalement dans le foie et les muscles squelettiques. Dans les cellules, les granules de glycogène apparaissent denses sur les micrographies électroniques. Ils contiennent des enzymes de dégradation et de synthèse du glycogène ainsi que des enzymes qui régulent ces processus. Ces activités de dégradation et de synthèse du glycogène :

- i- Régulent le taux de glucose sanguin,
- ii- Se font selon des voies réactionnelles différentes,
- iii- Subissent une régulation hormonale de son métabolisme et où le rôle de l'AMP cyclique (APMc) est bien établi,
- iv- Certaines maladies de stockage du glycogène sont létales dès l'enfance (appelées glycogénoses).

La **glycogène phosphorylase** catalyse l'élimination séquentielle des résidus **glycosyles** à partir de l'extrémité non réductrice par **phosphorolyse** :

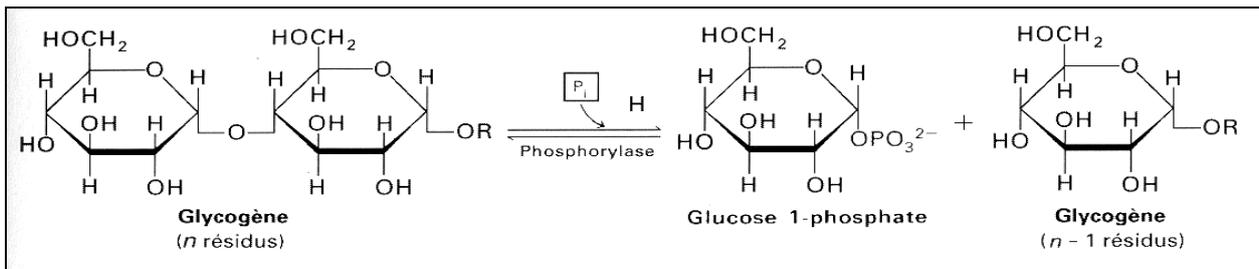
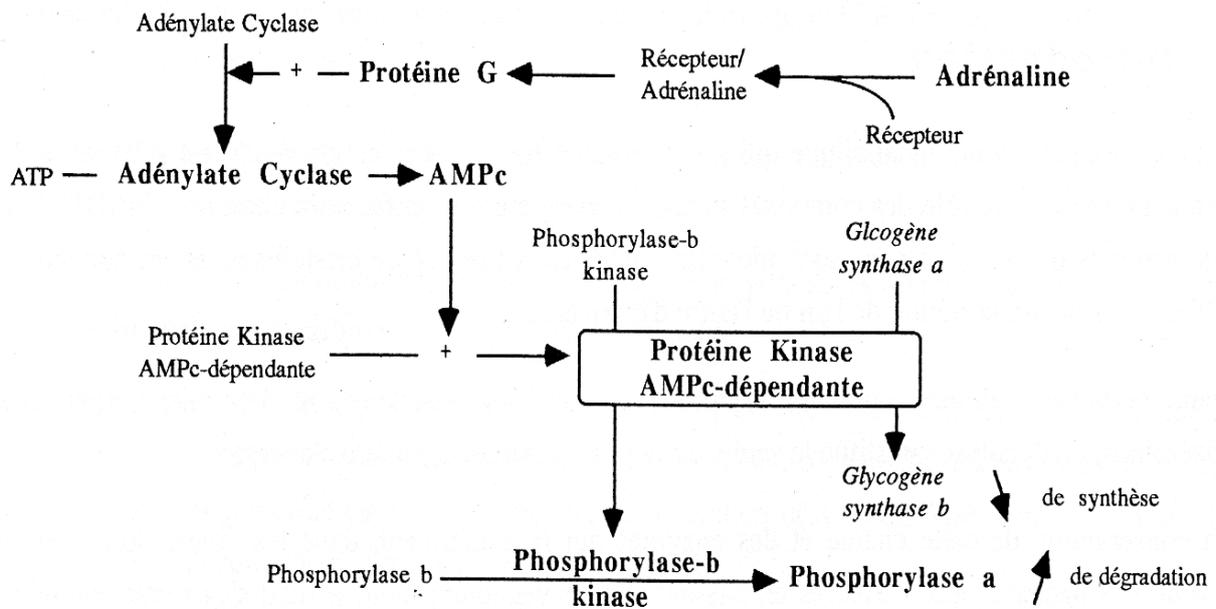


Figure 20. Clivage d'une liaison $\alpha,1-4$ par l'orthophosphate (\neq hydrolyse par l'eau). Le G 1-P sera ensuite transformé par la phosphomutase en G 6-P.

VIII.1. Régulation de la glycogène phosphorylase

Dans la plupart des conditions physiologiques, la **phosphorylase** (qui existe sous deux formes interconvertibles: phosphorylase 'a' active et une phosphorylase 'b' habituellement inactive) de type b est inactive par l'inhibition par l'ATP alors que la phosphorylase de type a est totalement active.

Concernant le contrôle de la glycogène phosphorylase du muscle squelettique, l'enzyme peut adopter une conformation T (tendue), inactive sur le plan catalytique ou une conformation R (relâchée) active. L'équilibre $\text{R} \rightarrow \text{T}$ de la phosphorylase 'a' est très en faveur de l'état actif R. Par contre, la phosphorylase 'b' est essentiellement dans l'état inactif, sauf lorsque le taux d'AMP est



en caractères gras la cascade activée par l'adrénaline

Figure 22. Effets de l'adrénaline sur le métabolisme du glycogène dans la cellule musculaire

Chez les végétaux, c'est l'amidon qui est stocké par une voie similaire mais qui utilise l'ADP-glucose au lieu de l'UDP-G comme donneur des résidus glycosyles.

Annexes :

* Effets respectifs du glucagon, de l'adrénaline et de l'insuline sur les cibles du métabolisme du glycogène :

	<u>Glucagon</u>	<u>Adrénaline</u>	<u>Insuline</u>
Source	pancréas	surrénale	pancréas
Cible	foie	muscle	foie, muscle, adipocyte
Effets			
AMPc	Augmente	Augmente	Diminue
Glycogénolyse	Augmente	Augmente	Diminue
Fructose-2,6-bisP	Diminue	Diminue	Augmente
Néoglycogénèse	Augmente	Augmente	Diminue

* La régulation de l'activité des enzymes (HK, PFK, ...) se fait par:

- Liaison réversible d'effecteurs allostériques → quelques millisecondes.
- Modification covalente (phosphorylation par exemple) → quelques secondes.
- Régulation au niveau de la transcription → quelques heures.

Chapitre IV. METABOLISME DES LIPIDES

I. Introduction

Quantitativement, la fraction la plus importante du métabolisme des lipides intéresse les lipides de réserve (simples ou graisses neutres) sous forme de triglycérides ou triacylglycérols. Ils possèdent une réserve d'énergie hautement concentrée par rapport aux autres nutriments (plus de 9 Kcal/g comparé aux protéines et glucides avec environ 4 Kcal/g). Les triglycérides fournissent plus de la moitié des besoins énergétiques de certains organes comme le foie, le muscle squelettique au repos et le cœur, et représentent la seule source d'énergie des animaux hibernant et les oiseaux migrateurs.

Si le glycogène n'offre que des possibilités limitées de stockage des glucides, ces derniers peuvent être convertis en **triacylglycérols** pour un stockage à long terme car sont **anhydres** et **réduits** et donc résistent à une hydrolyse. Les triglycérides se déposent sous forme de gouttelettes de graisse presque pures et sont stockées en très grande quantité dans les tissus adipeux ou les graines oléagineuses.

Les triglycérides sont hydrolysés par des **lipases** (régulés par l'AMPc) en leurs constituants les acides gras et glycérol (Figure 1). L'énergie globale biologiquement disponible d'un triglycéride se répartit entre 95% pour les acides gras et 5% pour le glycérol.

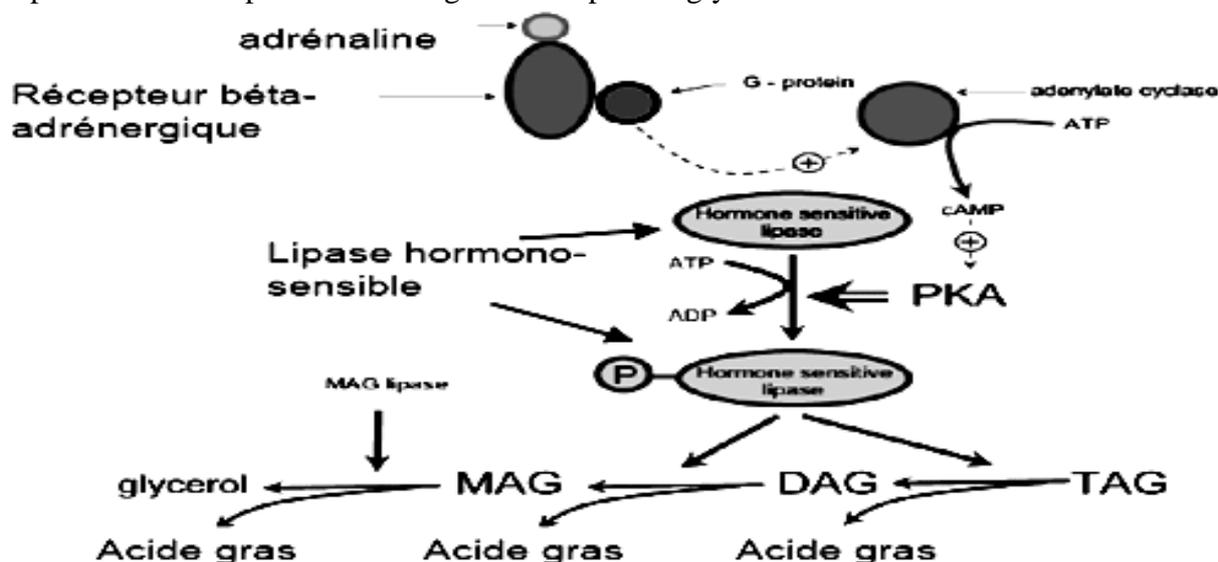


Figure 1. Mobilisation des acides gras dans les cellules adipeuses

II. Métabolisme des acides gras

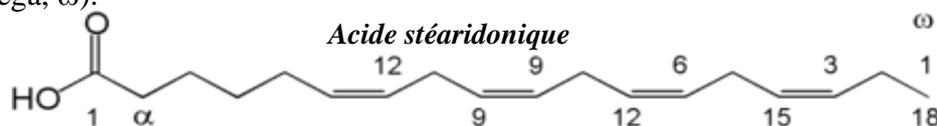
Un acide gras (AG) est un acide carboxylique aliphatique (acyclique) à nombre élevé d'atomes de carbone. Cette chaîne hydrocarbonée (4 à 36 C) est responsable du caractère **hydrophobe**. Ce nombre est généralement pair dans la matière vivante et compris entre 12 et 24. Le tableau 1 montre quelques exemples d'AG. Le caractère acide est dû à la fonction carboxylique COOH, ionisé sous la forme COO⁻ au pH de la cellule. Parfois la chaîne est hydroxylée; dans de rares cas, la chaîne peut être ramifiée (cas de certaines bactéries).

Les AG sont rarement à l'état libre dans la cellule mais sont souvent liés à un alcool pour former un lipide. Ils peuvent être saturés (pas de double liaison) ou insaturés (présence de double(s) liaison(s)). Les acides gras les plus communs sont l'**acide palmitique** (C₁₆) et l'**acide stéarique** (C₁₈).

Nb de C	Nb de d.l.	Nom commun de l'acide gras	P.F. (°C)	Formule moléculaire	Symbole
12	0	laurique	44,2	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COO ⁻	C12:0
14	0	myristique	53,9	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COO ⁻	C14:0
16	0	palmitique	63,1	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COO ⁻	C16:0
18	0	stéarique	69,6	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COO ⁻	C18:0
20	0	arachidique	76,5	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COO ⁻	C20:0
22	0	béhénique	80,0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COO ⁻	C22:0
16	1	palmitoléique	-0,5	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COO ⁻	16:1Δ ⁹
18	1	oléique	13,4	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COO ⁻	18:1 Δ ⁹
18	2	linoléique	-5,0	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COO ⁻	18:2 Δ ^{9,12} ω ₆
18	3	α linoléique ALA	-11,0	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COO ⁻	18:3 Δ ^{9,12,15} ω ₃
18	3	γ linoléique	-11,0	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₃ COO ⁻	18:3 Δ ^{6,9,12} ω ₆
20	4	arachi- donique	-49,5	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₂ COO ⁻	20:4 Δ ^{5,8,11,14} ω ₆

Tableau 1. Quelques acides gras qu'on trouve dans les membranes biologiques. Nb de d.l., nombre de double liaison; P.F., point de fusion.

La numérotation des acides gras commence à partir du carboxyle terminal (C₁) vers le groupe CH₃ (C_n); la double liaison est indiquée par un triangle (Δ) accompagné du chiffre correspondant au 1^{er} atome participant à la double liaison (C₁₈ Δ⁹; C₁₈ Δ^{9, 12}). En situation physiologique, il y a toujours trois carbones entre 2 doubles liaisons. Une autre numérotation est basée sur le méthyle terminal (oméga, ω).



Les AG sont des molécules très réduits dont l'oxydation complète fournit une grande part des besoins énergétiques nécessaires au métabolisme. Les acides insaturés ont une ou plusieurs doubles liaisons entre deux atomes de carbone successifs -HC=CH- (2H en moins par double liaison). Dans les AG insaturés naturels, les doubles liaisons sont en configuration isomérique **cis**, provoquant une courbure de la chaîne d'un angle de flexion de 30°. La présence de doubles liaisons empêche la rotation des deux C impliqués, ce qui donne une flexibilité plus réduite de ces chaînes d'AG.

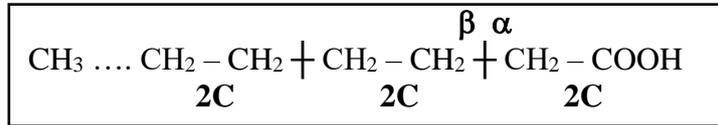
Les AG monoinsaturés ont souvent la double liaison située entre C₉ et C₁₀, comme l'acide oléique qui s'écrit 18:1Δ⁹ ou C18:1ω₉ (nomenclature la plus utilisée en médecine clinique et biologie). C'est un AG abondant dans les graisses végétales et animales. Chez les végétaux, le nombre de C dépasse rarement 18 par contre chez les mammifères, la chaîne des AG polyinsaturés peut atteindre 24C et 6 doubles liaisons. Cependant, les mammifères n'ont pas d'enzymes leur permettant d'introduire de doubles liaisons sur les atomes de C au-delà de C₉, ils ne peuvent synthétiser des AG polyinsaturés, comme l'**acide linoléique** (18:2Δ^{9,12} ou C18:2ω₆) et l'**acide linolénique** (18:3Δ^{9,12,15} ou C18:3ω₃). Il s'agit de deux AG **essentiels**, car l'homme doit les trouver dans son alimentation. L'acide linoléique donne chez l'organisme l'acide arachidonique à 20C avec 4 doubles liaisons (C20:4ω₆), qui peut être transformé en dérivés ayant des activités biologiques comme les prostaglandines, les thromboxanes et les leucotriènes. Les prostaglandines PGE₂, par exemple, régulent la pression sanguine et facilitent le travail de l'accouchement.

Bien que l'acétyl-CoA se trouve à l'origine de la synthèse des acides gras, il constitue de même le produit final de la dégradation de ces acides. Toutefois, il faut noter que les deux voies de dégradation et de synthèse se font selon des processus différents :

- * La synthèse se fait au niveau du cytoplasme alors que la dégradation est mitochondriale,
- * La synthèse utilise le NADPH.H⁺ alors que la dégradation libère du NADH.H⁺ et FADH₂.

III. Catabolisme des acides gras

La voie essentielle de ce catabolisme est la **β-oxydation**, qui est une oxydation qui a pour conséquence la scission de la molécule de deux en deux atomes de carbone en partant du carboxyle.



Les acides gras sont libérés par lipolyse intracellulaire dans le cytoplasme, mais leur catabolisme se passe dans la mitochondrie. Cette dégradation est précédée d'une activation qui se fait en 2 phases :

- i- Formation de l'**acyl-coenzyme A** (acyl-CoA),
- ii- Transfert du cytoplasme de cet acyl-CoA vers la matrice mitochondriale.

III.1. Formation de l'acyl-CoA



Cette réaction est catalysée par une **thiokinase** ou **acyl-CoA synthétase**, localisée dans la membrane mitochondriale externe. Il existe des thiokinases différentes selon que le résidu 'acyl' renferme + ou - de 12C.

III.2. Transfert de l'acyl-CoA dans la mitochondrie

Les acyl-CoA à chaîne courte pénètrent de façon relativement aisée dans la matrice mitochondriale, par contre les acyl-CoA à longue chaîne (12 à 18 C) sont stoppés par la membrane mitochondriale interne. Ces derniers doivent être transportés sous forme d'**acyl-carnitine**. Ce transfert requiert deux réactions de **transacylations**, localisées sur les faces externe et interne de la membrane interne mitochondriale et sont catalysées par l'**acyl-carnitine transférase**.

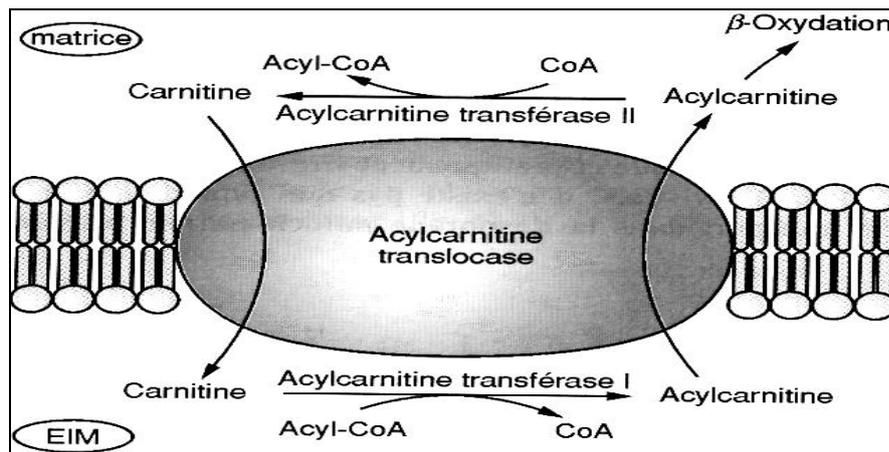


Figure 2. Rôle de la carnitine dans le transport des acides à longue chaîne (AGL) à travers la membrane mitochondriale interne. La carnitine-acyl-carnitine translocase agit comme transporteur membranaire dans l'échange de la carnitine

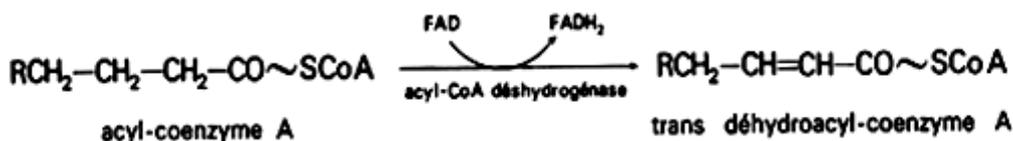
IV. La β-oxydation

Se fait avec des petites différences selon l'état de saturation et du nombre pair ou impair des atomes de carbone.

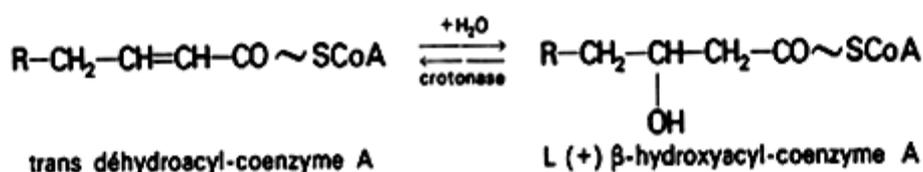
IV.1. Oxydation des acides gras saturés

L'enlèvement d'un chaînon dicarboné à partir de l'extrémité carboxylique de l'acyl-CoA est réalisé en 4 étapes :

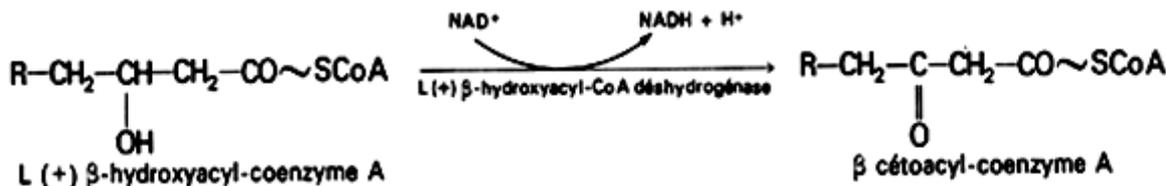
1. Déshydrogénation de l'acyl-CoA : l'acyl-CoA est déshydrogéné par l'acyl-coenzyme A-FAD oxydoréductase encore appelée l'acyl-CoA déshydrogénase à FAD.



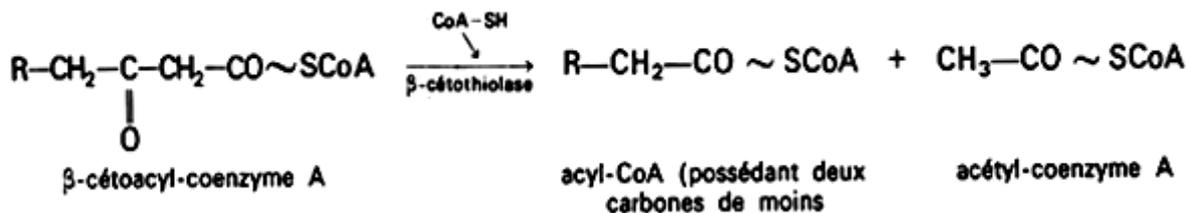
2. Hydratation de la double liaison du déhydroacyl-coenzyme A : le déhydroacyl-CoA fixe une molécule d'eau sous l'influence d'une hydratase appelée crotonase pour donner le β -hydroxyacyl-CoA.



3. Déshydrogénation du L(+) β -hydroxyacyl-coenzyme A : la déshydrogénation du L(+) β -hydroxyacyl-CoA est catalysée par une enzyme à NAD⁺, la L(+) β -hydroxyacyl-CoA oxydoréductase ou L(+) β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase.



4. Thiolyse du β -cétoacyl-coenzyme A : l'enzyme qui catalyse cette réaction est la β -céthiolyase.



La dernière étape nous ramène au point de départ mais avec 2 carbones de moins dans l'acyl-CoA et production d'un acétyl-CoA. Le nouvel acyl-CoA poursuit son cycle d'oxydation, par une nouvelle β -oxydation avec une nouvelle molécule de CoA, et conduit à un acyl-CoA ayant encore 2 carbones de moins et d'autre part un nouveau acétyl-CoA. Le cycle de ces 4 réactions recommence jusqu'à ce que l'acide gras soit entièrement transformé en acétyl-CoA.

Lynen a représenté schématiquement la β -oxydation par une hélice dont chaque spire correspond à la formation d'un acétyl-CoA et au départ de 4H⁺ sous forme d'un NADH.H⁺ et FADH₂. Le dernier tour de la spire fournira en plus un second acétyl-CoA (Figure 3).

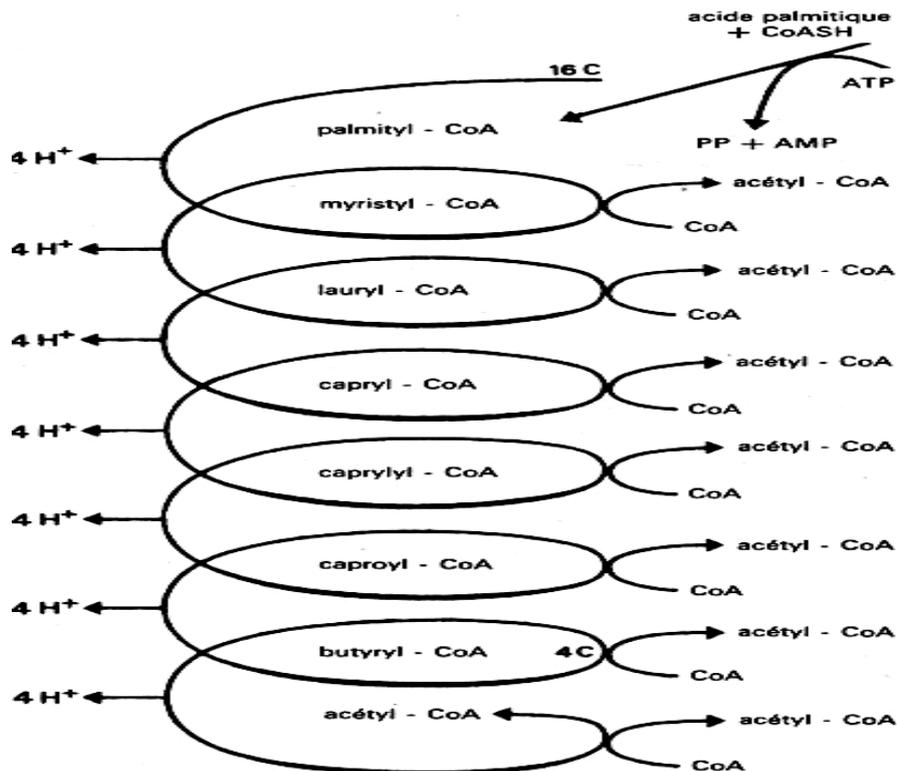


Figure 3. Cycle de Lynen et production d'énergie

La réaction bilan de la β -oxydation d'un acide gras à 16C, l'acide palmitique qui se dégrade dans 7 cycles est:



Et l'oxydation complète de l'acide palmitique en CO_2 et H_2O va nous libérer :

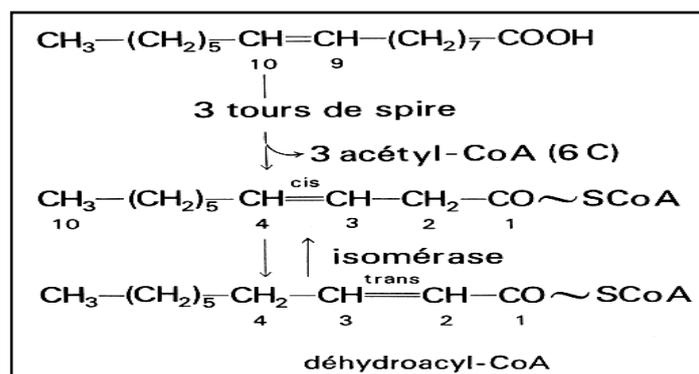
- réoxydation des 7 FADH_2 par la chaîne respiratoire $\rightarrow 7 \times 1,5 = 10,5 \text{ ATP}$
- réoxydation des 7 NADH.H^+ par la chaîne respiratoire $\rightarrow 7 \times 2,5 = 17,5 \text{ ATP}$
- oxydation des 8 acétyl-CoA par le cycle de krebs/chaîne respiratoire $\rightarrow 8 \times 10 = 80 \text{ ATP}$

Et le bilan énergétique s'établit à environ **108 ATP** par molécule.

IV.2. Oxydation des acides gras insaturés

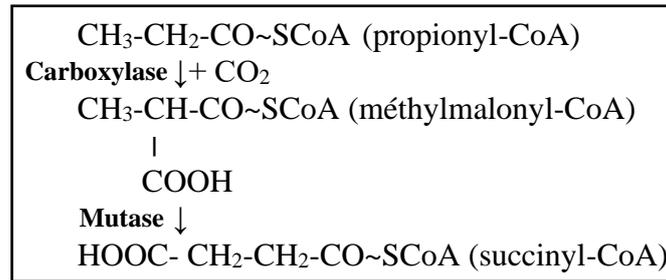
Elle procède selon un mécanisme identique à celui des acides gras saturés jusqu'à ce que la dégradation s'approche de la double liaison, alors il y a une **isomérase** qui déplace la double liaison permettant de reprendre le tour de spire normalement.

L'oxydation de l'acide palmitoléique ($\text{C}_{16}\Delta^9$) se fait comme suit :



IV.3. Oxydation des acides gras saturés à nombre impair de carbones

Ces acides gras à nombre impair de carbone sont peu abondants et leur oxydation aboutit à un composé en C3, le **propionyl-CoA**, qui est carboxylé en **méthylmalonyl-CoA**. Ce dernier est ensuite isomérisé en **succinyl-CoA** qui s'intègre dans le cycle de Krebs :



Il est important de noter que pour que l'acétyl-CoA puisse être intégré dans le cycle de Krebs, il doit se condenser avec l'oxaloacétate qui provient du catabolisme des glucides et donc les **lipides brûlent au feu des glucides**.

D'autres parts, en l'absence de glucides, quand l'acétyl-CoA produit dans le foie au cours de la β -oxydation excède la capacité du cycle de l'acide citrique, l'excès d'acétyl-CoA forme des **corps cétoniques** (Figure 4): **acétoacétate**, **D- β -hydroxybutyrate** et **acétone**. Ces corps cétoniques sont soit éliminés par les urines (acétone) ou transportés (acétoacétate et D- β -hydroxybutyrate) par le sang vers les tissus extrahépatiques où ils sont oxydés par le cycle de Krebs pour fournir de l'énergie nécessaire par des tissus comme le muscle squelettique, le muscle cardiaque mais aussi le cerveau. Une surproduction de corps cétoniques peut se produire dans des conditions de jeûne prolongé sévère et dans le diabète non contrôlé.

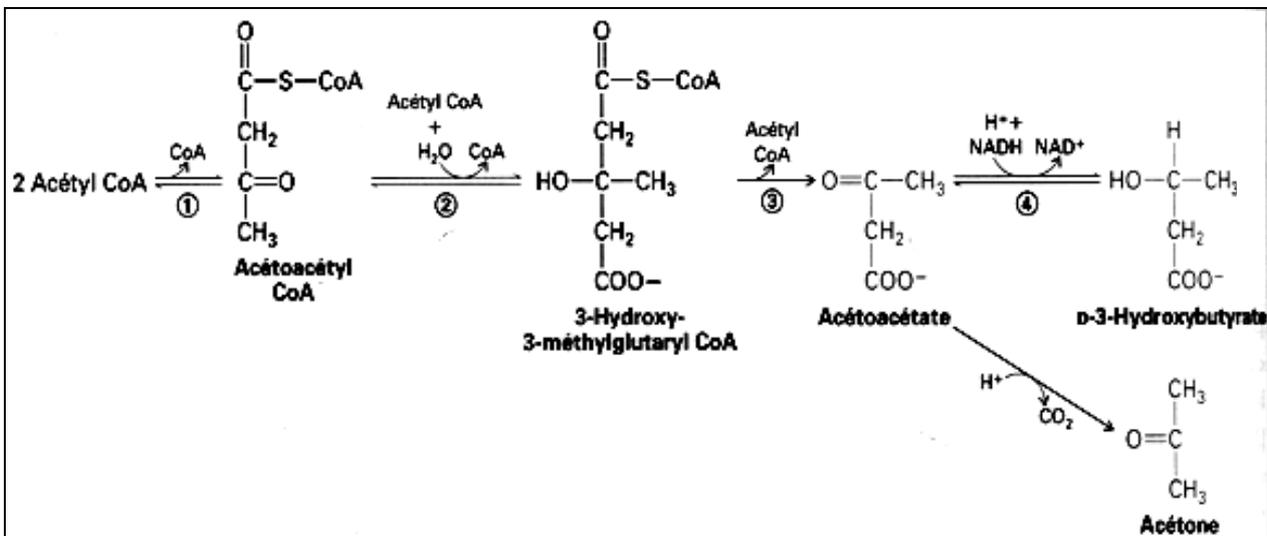


Figure 4. Formation dans le foie, de corps cétoniques à partir d'acétyl-CoA. Les enzymes catalysant ces réactions sont : (1) la 3-cétothiolase, (2) l'hydroxyméthylglutaryl CoA synthétase, (3) l'enzyme de clivage de l'hydroxyméthylglutaryl CoA et (4) la D- β -hydroxybutyrate déshydrogénase. L'acétoacétate se décarboxyle spontanément pour former l'acétone.

IV.4. Conversion des acides gras en glucose

Les animaux sont incapables de convertir les acides gras en glucose car l'acétyl-CoA ne peut être converti en pyruvate ou oxaloacétate. Mais chez les plantes (notamment les graines oléagineuses en germination) et certains microorganismes, il y a deux enzymes supplémentaires qui leur permettent de modifier le cycle de Krebs pour convertir l'acétyl-CoA en glucose : l'**isocitrate lyase** et la **malate synthétase**.

Le cycle court-circuité est appelé cycle du **glyoxylate** (Figure 5) et le bilan est :



Le glucose peut être synthétisé à partir de l'oxaloacétate par gluconéogenèse via le succinate.

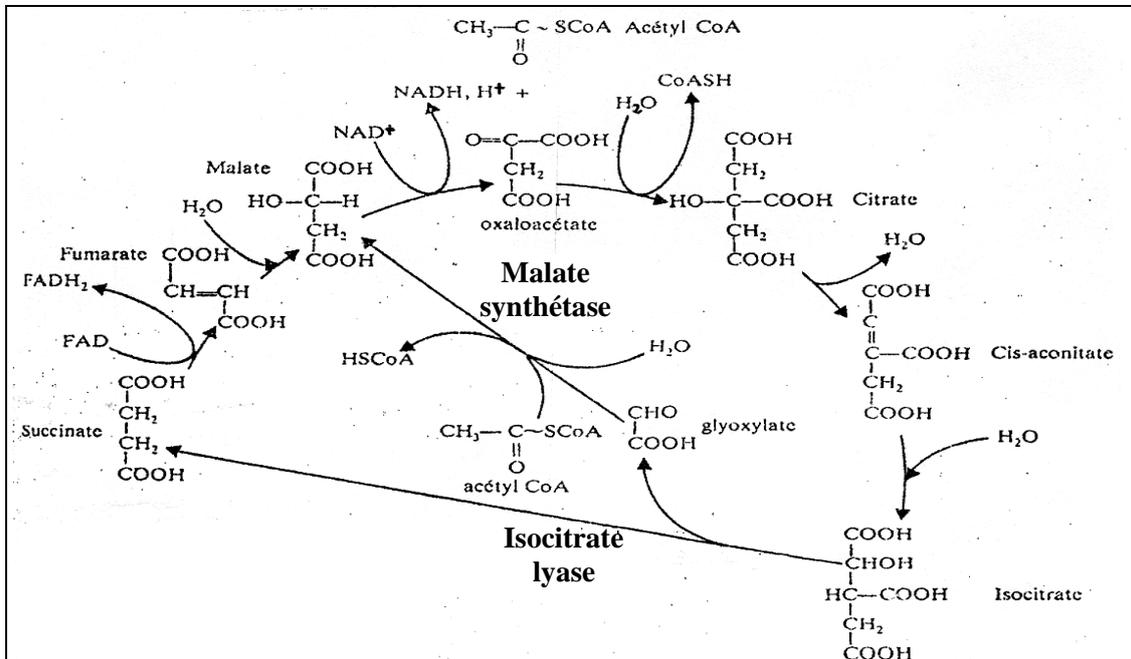
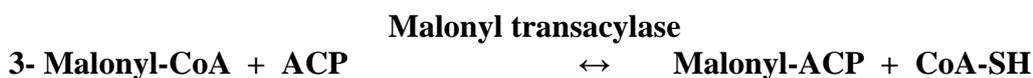
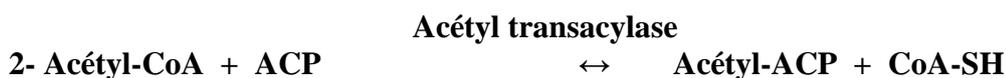
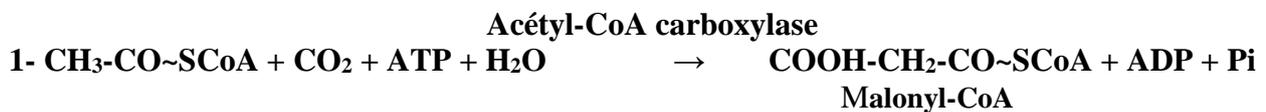


Figure 5. Cycle du glyoxylate : Chez le végétaux et les bactéries, les réactions de ce cycle sont les mêmes que celles du cycle de l'acide citrique, à l'exception des réactions catalysées par l'isocitrate lyase et la malate synthétase

V. Biosynthèse des acides gras

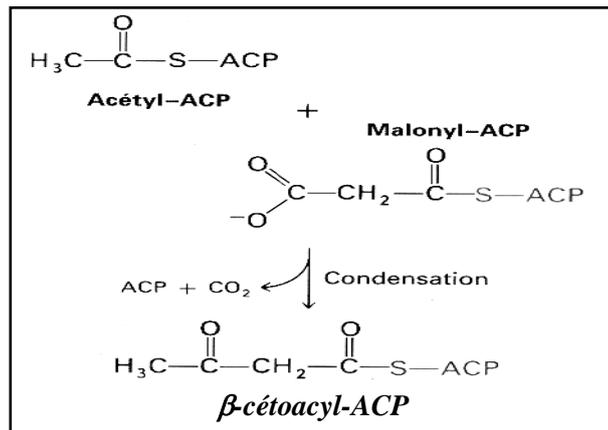
La synthèse des acides gras se fait par un nouveau groupe de réactions non inverse de la dégradation de ceux-ci et se réalise par deux mécanismes : l'un est *cytoplasmique* qui est très actif et permet la synthèse d'acides gras et l'autre essentiellement *microsomial*, qui permet l'allongement et la dé-saturation des chaînes d'acides gras.

Les intermédiaires dicarbonés de la synthèse des acides gras sont apportés par une protéine, l'**acyl carrier protein** ou ACP qui joue le même rôle du coenzyme A dans le catabolisme. Les chaînons dicarbonés sont apportés par le **malonyl-CoA** ; les 3 étapes préliminaires de synthèse sont :

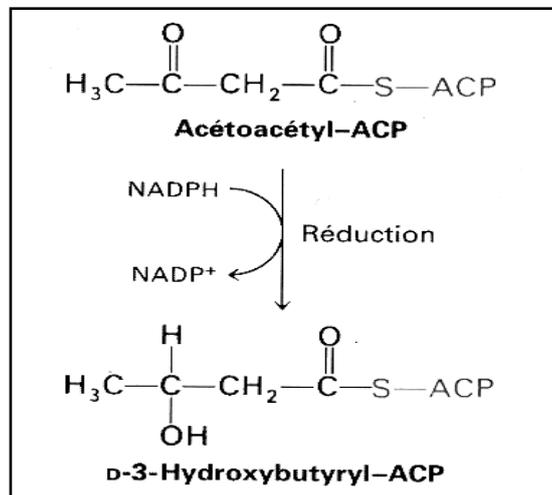


La synthèse se fait comme lors de la β -oxydation par 4 étapes successives :

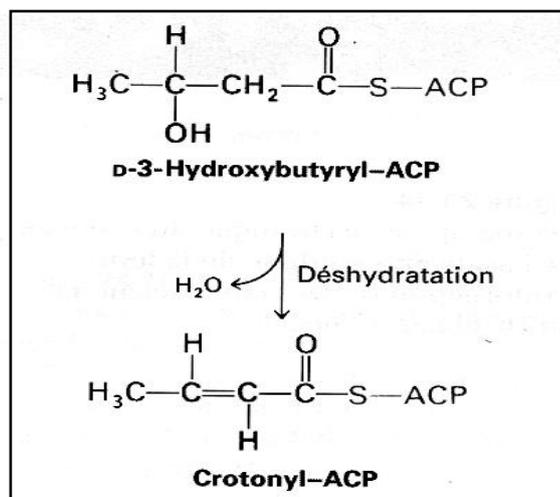
- 1- La biosynthèse commence par la condensation d'un composé dicarboné issu du **Malonyl-ACP** sur le groupement acétyl d'un **acétyl-ACP**. Cette réaction est catalysée par la **β -cétolacétyl-ACP synthétase** :



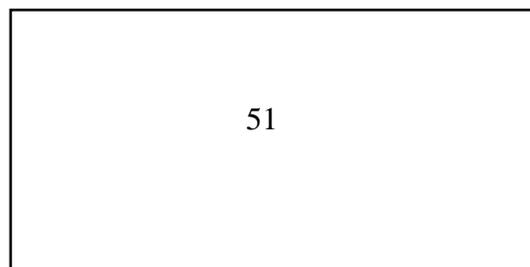
- 2- Réduction du **β -cétolacétyl-ACP** en **β -hydroxyacyl-ACP** en utilisant du **NADPH.H⁺** par la **β -cétolacétyl-ACP réductase** :

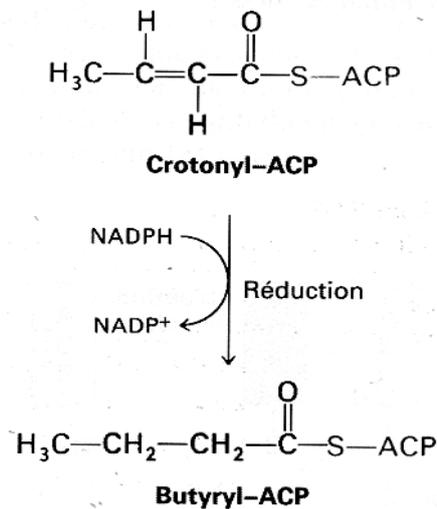


- 3- Déshydratation du **β -hydroxyacyl-ACP** en **déhydroacyl-ACP** appelé **crotonyl-ACP**, réaction catalysée par la **β -hydroxyacyl-ACP déshydrogénase** :

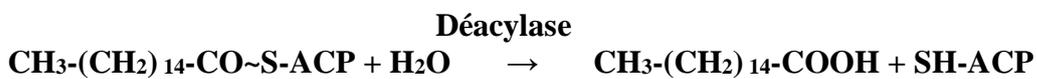


- 4- Réduction du **déhydroacyl-ACP** en **acyl-ACP** par l'**énoyl-ACP réductase** et formation du **butyryl-ACP** :





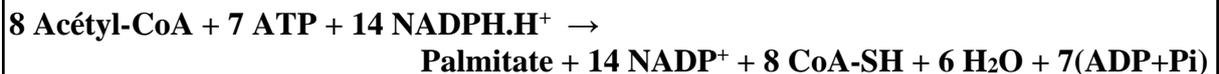
L'incorporation de chaînons dicarbonés va se répéter jusqu'à la formation d'un composé C₁₆-acyl-ACP. Cet intermédiaire n'est pas un substrat pour l'enzyme condensante (complexe multienzymatique), mais plutôt être hydrolysé pour donner le palmitate et l'ACP :



Les 2 équations majeures pour synthétiser la palmitate sont:



Et l'équation globale de synthèse de l'acide palmitique est:



L'enzyme catalysant l'étape limitante de la synthèse d'acides gras a une régulation complexe (Figure 6):

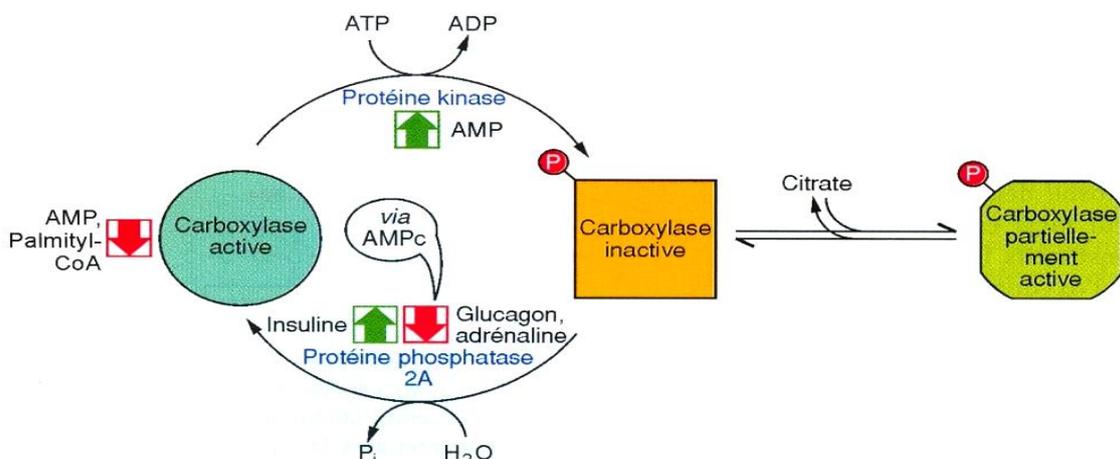


Figure 6. Régulation multilatérale de l'activité de l'acétyl-CoA-carboxylase

A noter que les acétyl-CoA utilisés pour la synthèse du palmitate sont formés, à partir du pyruvate, au niveau de la mitochondrie, puis traversent la barrière mitochondriale sous forme de

citrate et simultanément le NADH.H^+ est convertit en NADPH.H^+ par une série de réactions (Figure 7):

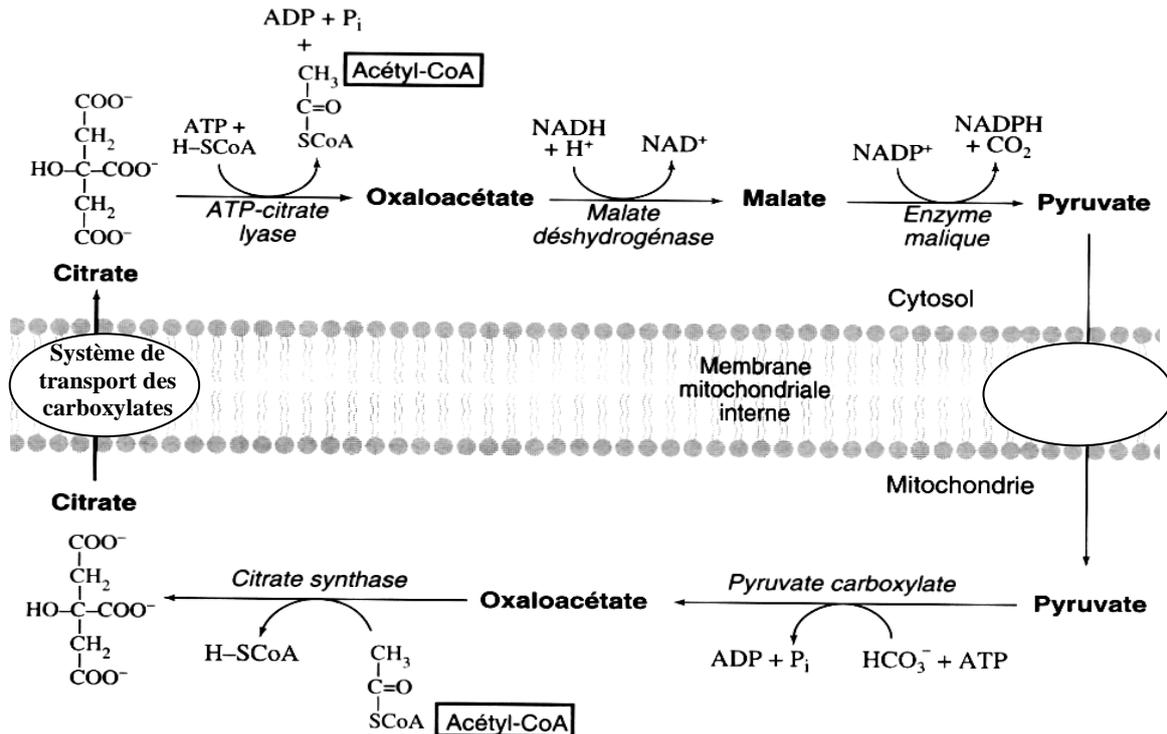
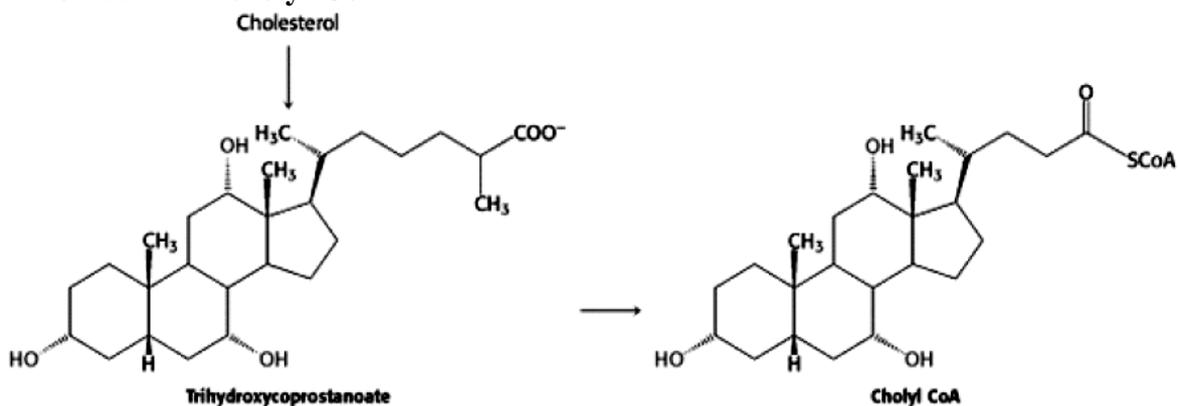


Figure 7. Transfert de l'acétyl-CoA des mitochondries vers le cytosol par le système de transport des acides tricarboxyliques

VI. Catabolisme du cholestérol

Le cholestérol cellulaire est issu de l'apport sanguin par les lipoprotéines LDL (Low Density Lipoproteins) et de la synthèse locale. Le rejet et le transport par des lipoprotéines HDL (High Density Lipoproteins) vers le foie permettent le catabolisme. Une partie du cholestérol est éliminée par voie biliaire puis transformée par la flore bactérienne intestinale en coprostérol.

La voie principale conduit aux acides biliaires. Ainsi pour l'acide cholique, il y a successivement hydroxylation du cholestérol en 7 α et 12 α puis changement d'isomérie en 3, saturation de la double liaison et amputation grâce au coenzyme A de 3 carbones de la chaîne latérale. On obtient le **cholyl-CoA** :



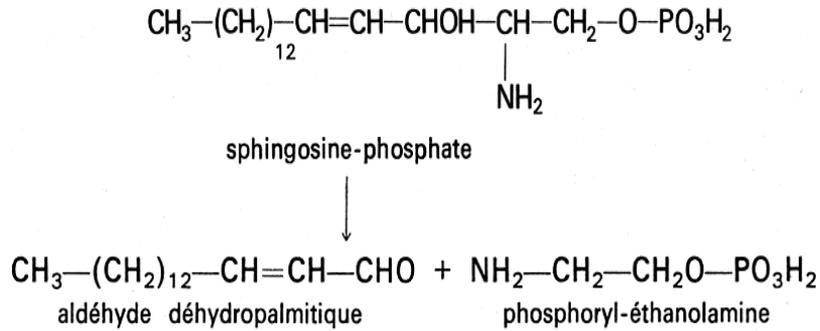
Le cholyl-CoA donne ensuite des conjugués avec la taurine et le glycolle, c'est-à-dire les sels biliaires. L'un des acides biliaires (l'acide chénodésoxycholique ou acide 3 α 7 α cholanique) est actuellement utilisé dans le traitement de la lithiase biliaire pour tenter de solubiliser les calculs de cholestérol.

VII. Catabolisme des sphingomyélines.

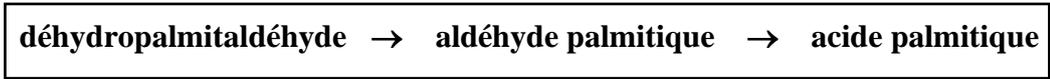
La dégradation de la sphingosine est précédée d'une phosphorylation :



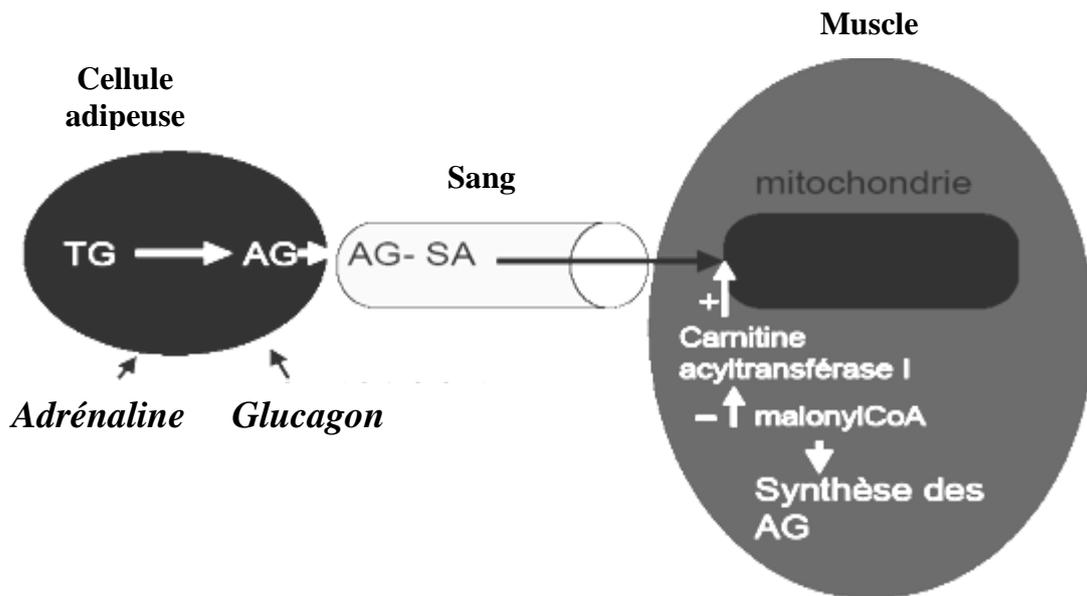
Une lyase coupe la molécule de sphingosine-phosphate en 2 molécules :



Une déshydrogénase conduit à l'**aldéhyde palmitique**, qui sera oxydé en acide palmitique :



Annexe : Régulation de l'oxydation des acides gras



Chapitre V. METABOLISME DES ACIDES AMINES ET COMPOSES AZOTES

I. Introduction

Qu'ils proviennent de l'absorption intestinale ou de la dégradation des protéines endogènes, les aminoacides, ne pouvant être mis en réserve, à la différence des oses et des acides gras, subissent trois destinées possibles :

- incorporation aux protéines;
- transformation en d'autres composés actifs (hormones, neurotransmetteurs, mélanines, etc.);
- dégradation en vue de l'élimination d'azote et de l'utilisation de la chaîne carbonée.

Seul ce dernier point sera abordé ici. Ainsi le groupe α -amine est éliminé et le squelette carboné qui en résulte est converti en un intermédiaire métabolique important.

II. Utilisation énergétique des acides aminés

Au cours de l'utilisation de la chaîne carbonée des aminoacides, peuvent apparaître les produits terminaux suivants : acétyl-CoA, acétoacétyl-CoA, pyruvate ou l'un des intermédiaires du cycle de Krebs.

Parmi les 20 aminoacides courants, un seul est strictement cétoène, l'isoleucine, car il ne fournit que l'acétyl-acétate et l'acétate. Cinq acides aminés, leucine, lysine, tryptophane, phénylalanine et tyrosine sont à la fois cétoformateurs et glucoformateurs. Tous les autres sont exclusivement glucoformateurs car, au terme de leur catabolisme, prend naissance un métabolite susceptible de remonter au glucose (pyruvate, succinate, fumarate, oxaloacétate).

III. Les grandes 'familles' d'acides aminés de point de vue métabolique (Figure 1)

Les principales voies métaboliques sont représentées dans le schéma suivant sur lequel nous pouvons discerner trois grandes 'familles' d'acides aminés.

A. Le groupe du pyruvate.

B. Le groupe de l' α -cétoglutarate, du succinyl-CoA et du fumarate.

C. Le groupe des acides aminés cétoformateurs.

Quelques exemples seulement seront pris dans chacun de ces 3 groupes.

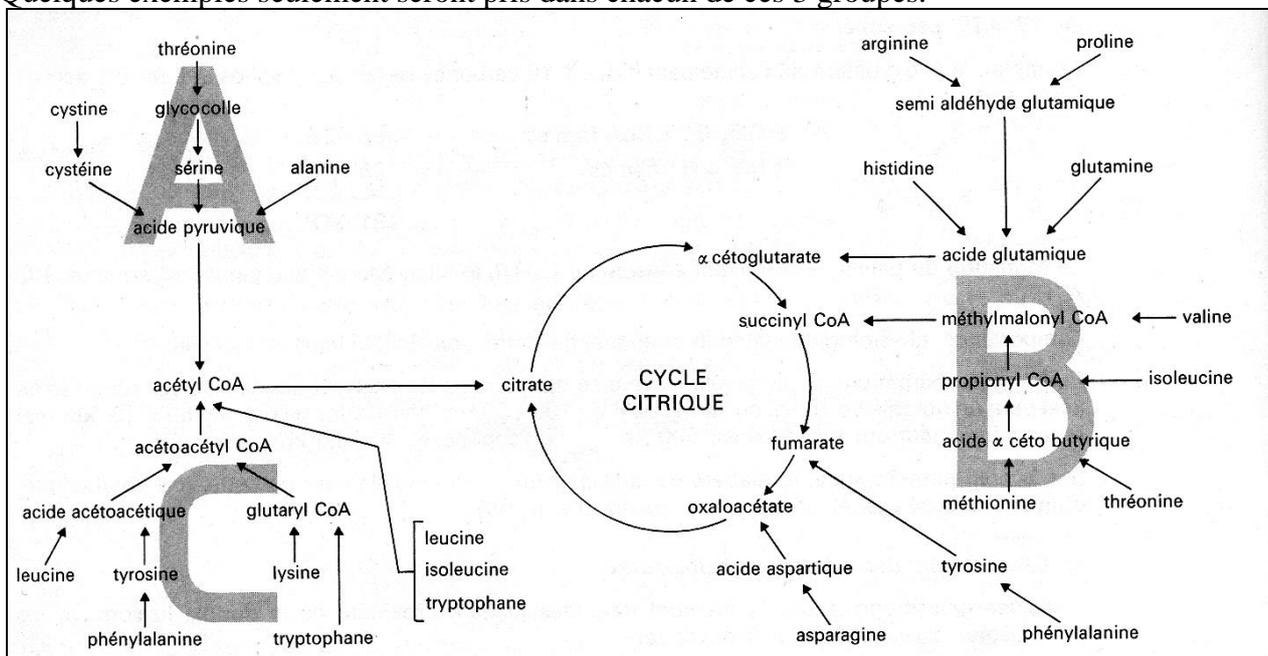
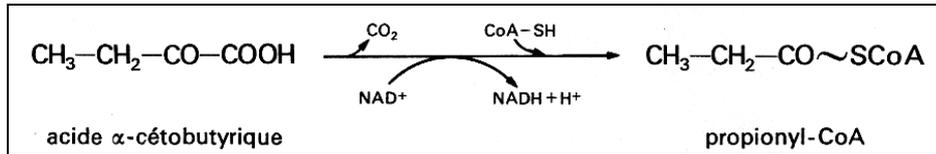


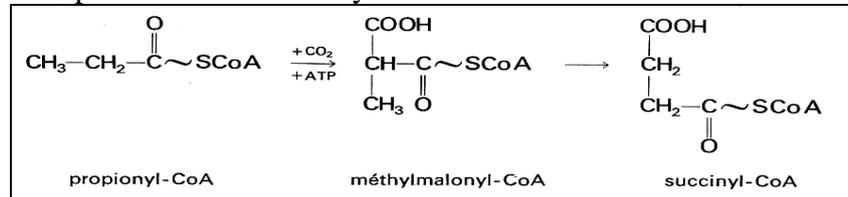
Figure 1. Les Grandes 'familles d'acides aminés'

1. Groupe du pyruvate (Ex. alanine, glycocolle-sérine)

- **Alanine** : se transforme très facilement et réversiblement en acide pyruvique par désamination ou transamination :



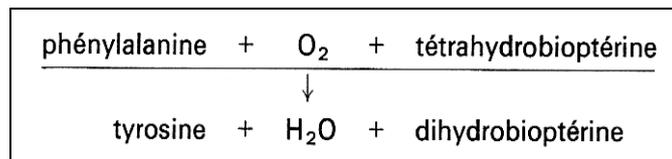
- Le dernier temps est la transformation du propionyl-CoA en succinyl-CoA. Un intermédiaire se crée par carboxylation : le méthylmalonyl-CoA qui subit enfin l'action d'une isomérase à coenzyme B₁₂ pour donner le succinyl-CoA :



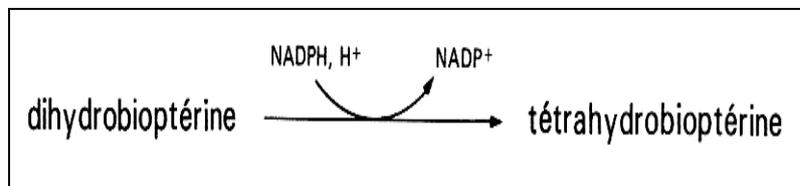
3. Groupe de l'acétoacétyl-CoA (Ex. Phénylalanine et tyrosine)

C'est un exemple d'utilisation du cycle benzénique par la cellule animale.

- La première étape du métabolisme de la phénylalanine est catalysée par la phénylalanine hydroxylase et conduit à la tyrosine. Elle rend compte du caractère non indispensable de la tyrosine.



Le retour de la dihydrobioptérine à tétrahydrobioptérine se fait par l'intermédiaire du NADPH.H⁺ :



La phénylalanine hydroxylase joue un rôle prépondérant dans le catabolisme de la phénylalanine; son absence entraîne une maladie congénitale, la **phénylcétonurie**.

- A partir de la deuxième étape, le catabolisme s'effectue donc sur la tyrosine. Ses diverses étapes sont représentées sur la figure 2.

Ces réactions conduisent à la formation d'**acide acéto-acétique** et d'**acide fumarique**.

En résumé, le catabolisme de la chaîne carbonée des acides aminés emprunte des voies longues, complexes et variables. Il s'oppose en cela à l'unicité des réactions qui affecteront le radical NH₂. Cependant, à côté du rôle purement énergétique ou du rôle dans l'anabolisme du glucose, ces réactions auront aussi un rôle dans la fourniture de métabolites intermédiaires.

En pathologie, l'utilisation excessive des aminoacides des protéines, musculaires essentiellement, rendra compte de l'**amyotrophie** et de l'**amaigrissement**.

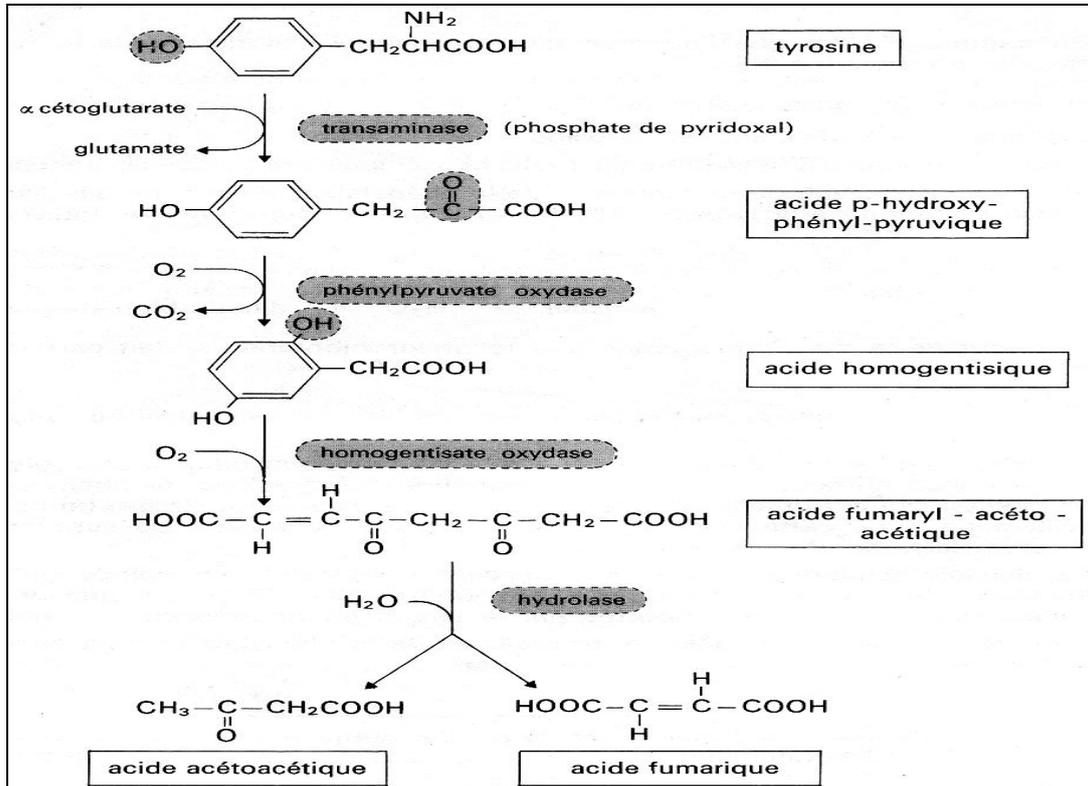


Figure 2. Suite du catabolisme de la phénylalanine à partir de la tyrosine

IV. Destinées du groupement NH₂

Le groupement NH₂ peut donc être arraché directement ou indirectement par transamination. Il conduit à l'ammoniac NH₃. Ce dernier peut provenir, en dehors de la désamination des acides aminés, de la désamination des bases puriques et pyrimidiques, de la désamination du porphobilinogène au cours de la synthèse des porphyrines, des désaminations bactériennes dans l'intestin (Figure 3).

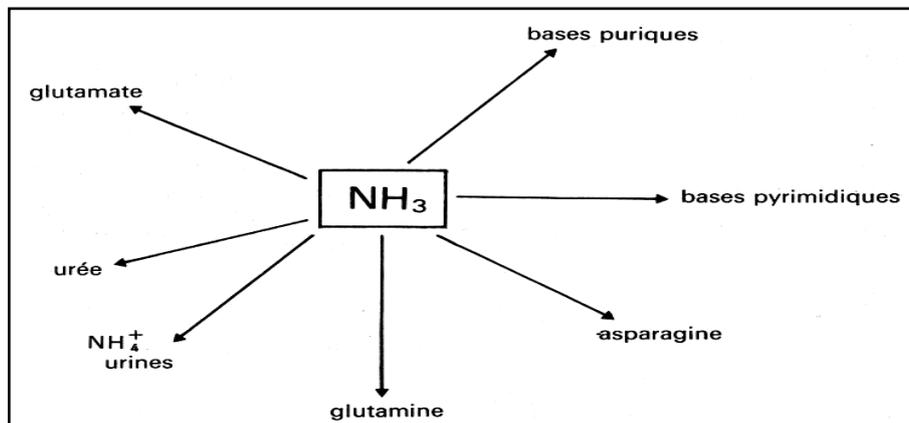


Figure 3. Destinées du groupement NH₃

Le sang veineux porte contient davantage d'ammoniac que le sang du système cave. Mais le foie détouque immédiatement ce composé très toxique sous forme de glutamine. Tout excès d'ammoniac dans le système porte au cours des hypertensions portales conduiront donc à une **hyperammoniémie** dangereuse pour le cerveau et responsable de troubles de la conscience (encéphalopathie porto-cave).

V. Cycle de l'urée

Une partie du NH₄⁺ formé lors de la dégradation des aminoacides est consommée dans la biosynthèse de composés azotés. Chez la plupart des vertébrés terrestres, l'excès de NH₄⁺ est converti en **urée** puis excrété. Chez les oiseaux et les reptiles terrestres, NH₄⁺ est transformé en

acide urique pour être excrété, alors que chez de nombreux animaux aquatiques, NH_4^+ lui-même est rejeté. Ces trois classes d'organismes sont appelées **urotéliques**, **uricotéliques** et **ammoniotéliques**.

L'homme est un être urotélique car l'urée est le principal déchet du métabolisme protidique. Le foie est le principal formateur d'urée. Chez les vertébrés terrestres, l'urée est synthétisée à partir de l'ornithine et aboutissant à l'arginine selon le **cycle de l'urée** (Figure 4). Ce cycle a été le premier cycle décrit par **H. Krebs** et **K. Henseleit**.

Le cycle de l'urée est lié au cycle de l'acide citrique (Figure 5). En effet la synthèse de fumarate par le cycle de l'urée est importante parce qu'elle relie ce dernier au cycle de Krebs. Le fumarate est hydraté en malate qui lui-même oxydé en oxaloacétate. Ce dernier a plusieurs destins possibles :

- a. transamination en aspartate,
- b. conversion en glucose par gluconéogenèse,
- c. condensation avec l'acétyl-CoA pour former du citrate,
- d. conversion en pyruvate.

La stœchiométrie de la synthèse de l'urée est :

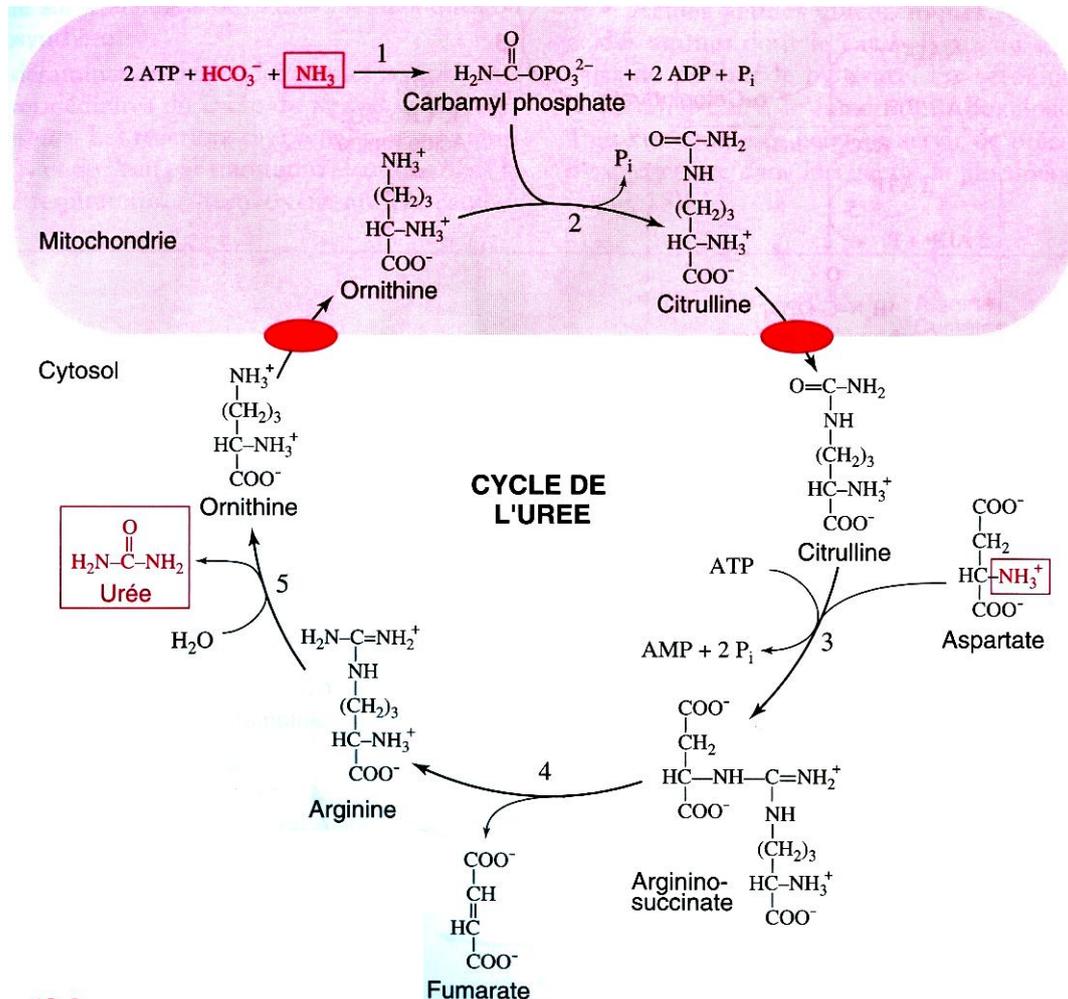
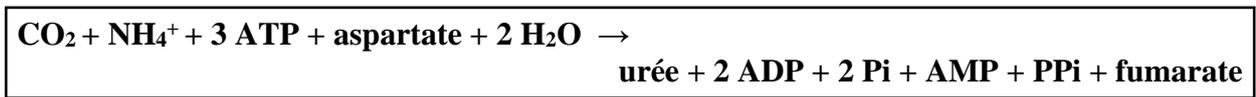


Figure 4. Cycle de l'urée

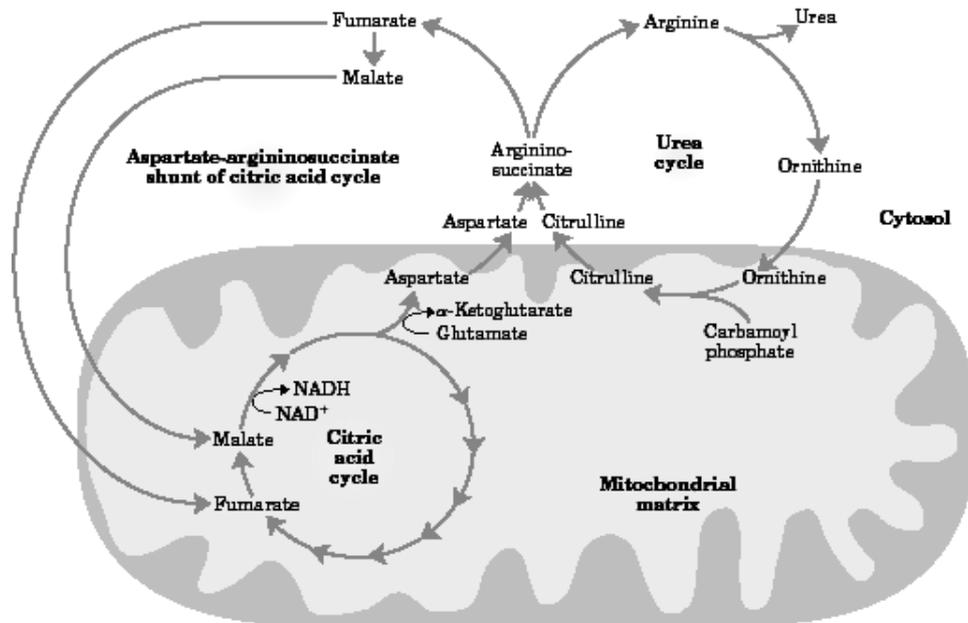


Figure 5. Le cycle de l'urée, le cycle d'acide citrique et la transamination de l'oxaloacétate sont liés par le fumarate et l'aspartate (Carbamoyl phosphate provient du $CO_2 + NH_4^+$)

VI. Catabolisme des bases azotées

VI.1. Catabolisme des bases puriques

Les bases puriques qu'on trouve en abondance dans les acides nucléiques sont l'adénine et la guanine. Leur catabolisme aboutit à l'**acide urique (uricogénèse)** qui est le terme ultime de la dégradation des purines chez l'homme. Présentes sous forme de nucléotides, les bases sont rapidement libérées et conduisent en deux étapes à l'acide urique (Figure 6) : étape désaminative et étape oxydative.

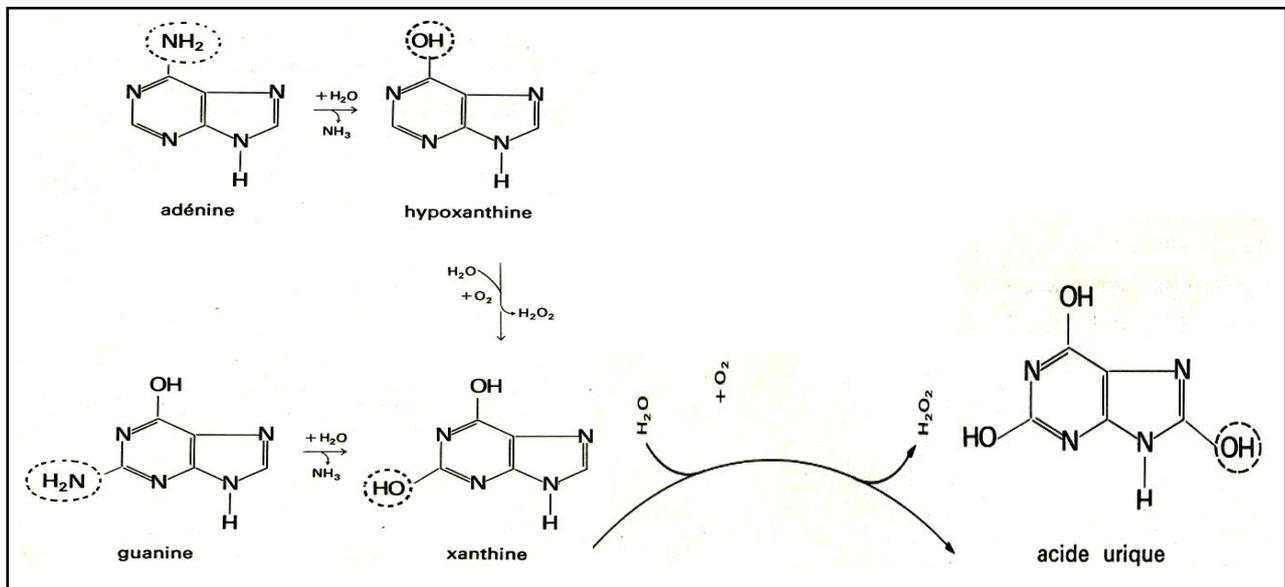


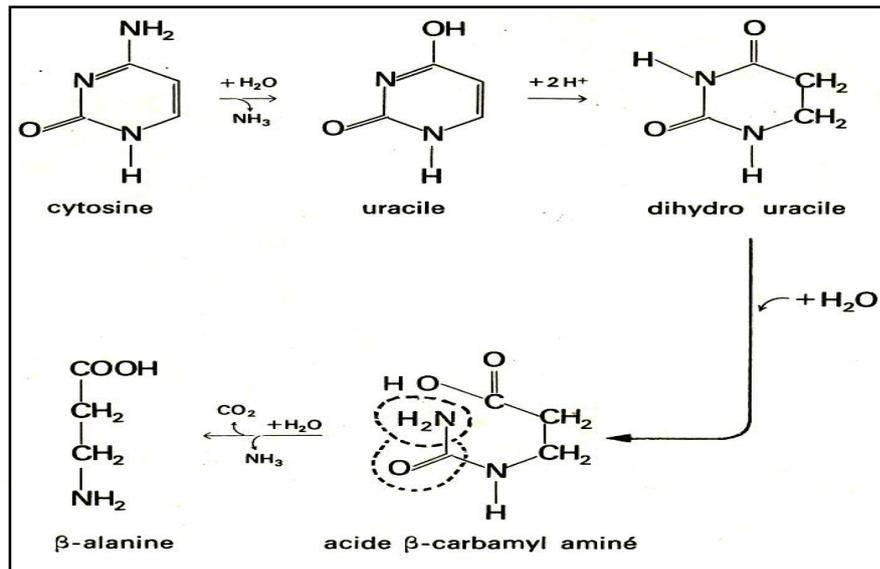
Figure 6. Transformation des bases puriques en acide urique

L'enzyme responsable de l'étape finale est la **xanthine-oxydase**, enzyme très répandue à FAD contenant du fer et du molybdène. Elle peut être spécifiquement inhibée par l'allopurinol, utilisé comme agent **hypouricémiant**. La pathologie de l'acide urique est très fréquente. Elle s'explique par l'hyperuricémie et la faible solubilité de l'acide urique ou des urates (précipitation dans les voies excrétrices rénales conduit à des **coliques néphrétiques** ou précipitation dans les synoviales articulaires conduit à une crise de **goutte**).

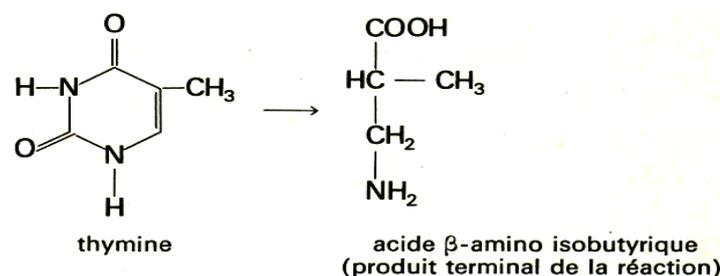
VI.2. Catabolisme des bases pyrimidiques

Issues des nucléotides, les bases pyrimidiques sont totalement métabolisées:

a. La cytosine se transforme en uracile par désamination. Après réduction, il y a ouverture du noyau pyrimidique, puis une désamination et une décarboxylation conduisent à la β -alanine :



b. La thymine conduit par les mêmes processus à l'acide β -amino-isobutyrique qui est désaminé, transformé en méthylmalonyl-CoA puis en succinyl-CoA qui rentre dans le cycle citrique. Ainsi, finalement, les bases pyrimidiques sont entièrement dégradées en CO_2 et NH_3 et ne conduisent donc jamais à une pathologie de surcharge comme leurs homologues puriques.



En conclusion générale, la stratégie fondamentale du métabolisme est de former de l'ATP, du pouvoir réducteur et des modules élémentaires pour les biosynthèses. Ce réseau complexe de réactions est contrôlé par des interactions allostériques et des modifications covalentes réversibles des enzymes (phosphorylation), par des modifications de leur taux, par une compartimentation et par des interactions entre organes métaboliquement distincts.

Références Bibliographiques :

- La biochimie du Lubert Stryer, Eds. Flammarion, 1994.
- Biochimie de Lehninger A.L. , Eds. Flammarion, 2004.
- Biochimie. Approche bioénergétique et biomédicale. Georges Hennen. Eds Dunod. 2006.
- Biochimie et Biologie Moléculaire. Werner Müller-Esterl. Eds Dunod. 2007.
- Mini manuel de Biochimie. M. Guilloton et B. Quintard. Eds Dunod. 2007.
- Exercice de Biochimie : Biochimie générale, analyse biochimique et biochimie clinique. F. Lafont, C. Plas et P. Cazaubon. Eds Doin. 2000.

Pr Khalil Hammani, Février 2025

SOMMAIRE

Chapitre I. NOTIONS D'ENZYMOLOGIE . . . 1

I. Introduction et définitions	1
II. Caractères généraux des enzymes	1
II.1. Nature des enzymes	1
II.2. Cofacteurs des enzymes	2
II.3. Classification des enzymes	3
III. La catalyse enzymatique	3
III.1. Site actif et formation du complexe Enzyme-Substrat	3
III.2. Energie d'activation et théorie de l'état de transition	4
IV. Cinétique enzymatique	4
IV.1. Notions de vitesse initiale et état stationnaire	5
IV.2. Modèle de Michaelis-Menten	7
IV.3. Interprétation des paramètres cinétiques	8
IV.4. Détermination de V_{max} et K_m	9
V. Action d'effecteurs sur les réactions enzymatiques	10
V.1. Inhibition compétitive	11
V.2. Inhibition non compétitive	11
V.3. Inhibition incompétitive	12
VI. Enzymes allostériques	13
VI.1. Types d'allostéries	13
VI.2. Exemple d'allostérie : myoglobine-hémoglobine	15
VII. Effet des facteurs physiques sur la cinétique enzymatique	16
VII.1. Effet de la température	16
VII.2. Effet du pH	16

Chapitre II. INTRODUCTION AU METABOLISME ET BIOENERGETIQUE .18

I. Introduction au métabolisme	18
II. Notions de bioénergétique	19
II.1. 1 ^{ère} et 2 ^{ème} Lois de la thermodynamique	19
II.2. Energie libre standard (ΔG°)	20
II.3. Couplage des réactions endergoniques et exergoniques	20

Chapitre III. METABOLISME DES GLUCIDES 23

I. Introduction	23
II. Glycolyse	23
II.1. Introduction	23
II.2. Contrôle de la glycolyse	25
II.3. Réoxydation du NADH.H ⁺ en absence d'O ₂	26
II.4. Cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs)	27
III. La phosphorylation oxydative	30

IV. Rendement en ATP de l'oxydation complète du glucose	34
V. Gluconéogenèse	36
VI. Coopération métabolique entre le muscle strié et le foie: cycle de Cori	38
VII. La voie des pentoses phosphates (voie de Dicken Horecker)	38
VIII. Métabolisme du glycogène	41
VIII.1. Régulation de la glycogène phosphorylase	41
VIII.2. Glycogénogenèse	42
VIII.3. Contrôle coordonné de la glycogène-synthétase et -phosphorylase	42

Chapitre IV. METABOLISME DES LIPIDES 44

I. Introduction	44
II. Métabolisme des acides gras	44
III. Catabolisme des acides gras	46
III.1. Formation de l'acyl-CoA	46
III.2. Transfert de l'acyl-CoA dans la mitochondrie	46
IV. La β -oxydation	46
IV.1. Oxydation des acides gras saturés	47
IV.2. Oxydation des acides gras insaturés	48
IV.3. Oxydation des acides gras saturés à nombre impair de carbones	49
IV.4. Conversion des acides gras en glucose	49
V. Biosynthèse des acides gras	50
VI. Catabolisme du cholestérol	53
VII. Catabolisme des sphingomyélines	54

Chapitre V. METABOLISME DES ACIDES AMINES ET COMPOSES AZOTES 55

I. Introduction	55
II. Utilisation énergétique des acides aminés	55
III. Les grandes 'familles' d'acides aminés de point de vue métabolique	55
IV. Destinées du groupement NH ₂	58
V. Cycle de l'urée	58
VI. Catabolisme des bases azotées	60
VI.1. Catabolisme des bases puriques	60
VI.2. Catabolisme des bases pyrimidiques	61

Références bibliographiques 61

Cours d'Enzymologie et Biochimie Métabolique
Pr Khalil Hammani

A.U. 2024-2025

