

### III. Ex. de catabolisme énergétique

Au programme :

- L'oxydation des substrats organiques.
  - Oxydation du glyceraldéhyde-3P dans le cytosol (glycolyse).
  - Oxydation du pyruvate (entrée dans le cycle de Krebs) et des acides gras (bêta oxydation) dans la mitochondrie.
  - Oxydation de l'acétyl-coenzyme A dans la mitochondrie (cycle de Krebs).
- Chaîne respiratoire et phosphorylations oxydatives
- Fermentations lactique et éthanologique.

#### A. Dégradation du Glucose en condition anaérobie dans le hyaloplasme : glycolyse

##### 1- Entrée dans la glycolyse par formation de G6P

###### a) Le G6P : carrefour métabolique obtenu à partir de Glucose ou de glycogène

- Le glucose entre dans la cellule par transporteur spécifique transmembranaire de la famille des prot Glut (ex glut4)
- G6P non dialysable et non reconnu par transporteur : bloqué dans la cellule
- Voie des pentoses phosphate (formation des acides nucléiques, des coenzymes, des noyaux benzéniques...) / sécrétion de glucose (déphosphorylation sans formation d'ATP!) / réserves de glycogène (par glycogène synthétase) / glycolyse

###### b) Les enzymes orientent le sens des réactions par leur spécificité de substrat

- A partir du glycogène :
  - Phosphorylase catalyse formation de G1P en présence de Pi. (Mutase le transforme en G6P)
  - Glycogène synthétase catalyse la réaction inverse
- A partir de Glucose :
  - Hexokinase (muscle et foie) ou
  - glucokinase (foie)
  - catalysent formation de G6P ( $\Delta G'^{\circ} = + 13.8 \text{ kJmol}^{-1}$ ) par hydrolyse de l'ATP ( $\Delta G'^{\circ} = - 30.5 \text{ kJmol}^{-1}$  : phase d'investissement)
- Phosphatase du foie déphosphoryle G1P (ne produit pas d'ATP)

##### 2- La glycolyse fournit de l'ATP et du pyruvate par réduction des coenzymes

###### a) Mise en place et hydrolyse de liaisons phosphoester riches en énergie

###### a1) Phase d'investissement : phosphorylations du substrat et mise en place de liaisons P

- G1P (par phosphorylase à partir du glycogène) ou (par mutase  $\Delta G'^{\circ} = - 7.3 \text{ kJmol}^{-1}$ ) G6P (par hexokinase des muscles ou glucokinase du foie);
- F16dP (F6P donne F16dP :  $\Delta G'^{\circ} = + 16.3 \text{ kJmol}^{-1}$ ; couplé avec utilisation de l'ATP  $\Delta G'^{\circ} = + 30.5 \text{ kJmol}^{-1}$ ; total  $\Delta G'^{\circ} = - 14.2 \text{ kJmol}^{-1}$ );
- ac1-3diPglycérique (13BPG) : par deshydrogénase à cofacteur à  $\text{NAD}^+ + \text{P}_i$

###### a2) Formation d'ATP par couplage avec l'hydrolyse des liaisons énergétiques

- 2 ac3Pglycérique + 2ATP; aspirateur thermodynamique de la scission du F16dP
- 2 ac Pyruvique (Pyruvate) + 2 ATP (à partir d'ac2Phosphoenolpyruvique ou 2 PEP); ; aspirateur thermodynamique de la scission du F16dP

###### b) Réduction du $\text{NAD}^+$ (accepteur d' $e^-$ et de $\text{H}^+$ )

- TrioseP donnent 1,3BPG ( $\Delta G'^{\circ} = - 4.2 \text{ kJmol}^{-1}$ ) et fixe un Pi en libérant  $\text{NADH} + \text{H}^+$

###### c) Bilan de la glycolyse anaérobie

###### c1) voie énergétique :

- Reste à exploiter les deux molécules de Pyruvate
- $4 - 2 = +2 \text{ ATP}$

### c2) voie constructive ne fournissant pas d'ATP

- Lipides : à partir d'ac Pglycérique
- Protides : à partir de Pyr donne Ala par transamination grâce au glutamate (dans le foie essentiellement); à partir de PEP donne Tryp, Tyr, Phé
- Glucides à partir de G6P donne Glycogène, amidon, cellulose (à partir d'UDP GLu); à partir de G6P oxydé donne pentoses phosphate (nucléotides)

### 3- Régulations et Contrôles de la glycolyse

Notion de régulation (d'un paramètre physicochimique avec seuil) / contrôle (peut prendre le pas sur le fonctionnement d'une cellule au bénéfice de l'organisme)

#### a) Régulations de la glycolyse par facteurs cytoplasmiques

##### a1) [Glu]

- Si [Glu<sub>extracellulaire</sub>] augmente [Glu<sub>intracellulaire initial</sub>] augmente donc [G6P] augmente ce qui favorise l'entrée dans la glycolyse des cellules du foie par action de glucokinase (dans les autres tissus, hexokinase travaille déjà à  $v_{max}$ ) puis la glycogénogenèse

##### a2) [Pi]

- Si Pi augmente, favorise formation de G1P à partir de Glycogène ce qui favorise un peu glycolyse et beaucoup sécrétion de glucose par le foie (par inhibition de glucokinase par Pi ?)
- Si Pi augmente, favorise également formation de 1,3-BPG par deshydrogénase

##### a3) Le rapport ATP/AMP joue essentiellement sur le rapport F6P/F16dP

- Si ATP augmente, inhibe fructokinase qui transforme F6P en F16dP d'une part, et active F16dPphosphatase d'autre part ce qui favorise formation de F6P
- Si AMP augmente; inhibe F16dPphosphatase d'une part et active fructokinase d'autre part ce qui favorise formation de F16dP

##### a4) O<sub>2</sub>

- Par oxydation de la deshydrogénase, l'inhibe
- Favorise amorce de la voie des pentoses à partir de G6P ce qui détourne la glycolyse ce qui évite engorgement des mitochondries indirectement (voies aérobie issues de la glycolyse : respiration aérobie par utilisation de Pyr dans les mito)
- Favorise respiration mitochondriale ce qui tire Pyr (aspire indirectement glycolyse)

#### b) Contrôle de la glycolyse par facteurs hormonaux

##### b1) Insuline

- Rappels :
  - hormone peptidique 51 aa synthétisée par îlots de Langerhans (à partir de prosinsuline repliée et stabilisée par ponts dissulfures puis clivée en deux chaînes de 21 et 30 aa). ( - Récepteur membranaire : tyrosine kinase = dimère (600 à 900 aa extracellulaire + 25 aa transmembranaires en hélice alpha + 50 aa intracelulaires portant site de fixation de ATP et site actif de fixation du substrat et de phosphorylation)
- augmente perméabilité cellulaire à Glucose en activant Glut4 donc augmente [Glu<sub>initiales</sub>] ce qui augmente G6P ce qui favorise glycolyse; de plus, lève inhibitions sur hexokinase
- active glycogène synthétase dans tous les tissus (via prot G qui activent Adénylate cyclase membranaire qui augmente AMPc et active MARKinase activant glycogène synthétase) (foie et muscle)

##### b2) Adrénaline et Glucagon

- Rappel Adrénaline : hormone synthétisée par medullosurrénale; agit sur muscle, foie et tous les tissus
- Rappel glucagon : hormone peptidique synthétisée par îlots de Langerhans; n'agit pas sur les muscles mais sur le foie
- Active adénylatecyclase qui transforme ATP en AMPc capable d'activer Protéine kinase qui inhibe la glycogène synthétase et active la glycogène phosphorylase, par phosphorylations donc favorise glycolyse et sécrétion de glucose

## **B. Devenir du pyruvate : voies constructives, fermentations ou respiration mitochondriale**

### **1- Voies constructives**

- Cycle de Cori assurant circulation de l'Alanine entre foie qui le fabrique directement à partir du Pyr et muscle qui dégrade Ala pour donner Pyr
- Alanine : acide aminé glucogène, par opposition aux acides aminés céto-gènes donnant non pas Pyr mais alpha céto-glutarate
- cf diabète grave stade cétoné : la dégradation des aa céto-gènes (à la place des sucres dont le taux n'est plus correctement régulé) provoque des cétones circulant dans le sang et éliminées par voie pulmonaire

### **2- Fermentations**

#### **a) Fermentation lactique dans les muscles : un gaspillage énergétique qui permet de réoxyder les coenzymes**

- Pyr donne lactate par lactate déshydrogénase (C=O donne C-HOH) cf. TP enzymo
- $\Delta_{\text{lactate}}H^{\circ} = - 217,4 \text{ kJmol}^{-1}$
- Rendement apparent bon :  $2 \text{ ATP}/2 \text{ lactates} = 31/217 = 25\%$ ; en réalité, lactate pas utilisé par les cellules (lésions, coagulation, raideurs); partiellement réutilisé dans le foie. Rendement réel =  $61/2821 = 2\% = \text{gaspillage}$
- Certaines bactéries lactiques ne fonctionnent que comme cela. Ex. : Lactobacille, qui coagule la caséine

#### **b) Fermentations alcooliques chez levures et bactéries**

- Pyr donne (grâce à pyruvate décarboxylase utilisant thiamine pyrophosphate comme coenzyme) acétaldéhyde ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ) +  $\text{CO}_2$  en présence de  $\text{H}^+$  puis donne éthanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) par alcool déshydrogénase, enzymes absentes des cellules animales
- Fermentation anaérobie stricte chez E. Coli (symbiote) et parasites (Ascaris, Nématodes)
- Fermentation anaérobie facultative : vie ralentie des levures (Pain) et moisissures (Mucor), hématies nucléées des vers inf, ovocytes d'oiseau avant fécondation

#### **c) Autres fermentations**

- Propionique
- cas des enterobacter formant butendiol
- cas de Clostridium formant acétate (à partir de cellulose) utilisé dans recyclage des déchets végétaux

### **3- Entrée dans le cycle de Krebs : Formation d'acétylCoA à partir de Pyruvate et réduction des coenzymes**

N.B : le pyruvate passe la membrane externe des mitochondries par diffusion simple (membrane ext très perméable) mais utilise un symport Pyr/ $\text{H}^+$  pour passer la membrane interne

#### **a) Apoenzymes à cofacteurs**

- par un complexe multienzymatique matriciel :
  - E1 décarboxylase à cofacteur thiamine PP (vit B1),
  - E2 transacétylase à cofacteur coenzyme A (Adénine-ribose-pp-vit pantothénique-  $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$  provenant de la cystéine) possédant 3 longues chaînes acyl (acides lipoiques associées à une lysine) capables de rotation et prenant en charge les acétyl avant de les céder à CoA tandis que deux  $\text{H}^+$  passent à E3
  - E3 deshydrogénase à cofacteur FAD (Adénine- ribose- PP- ribitol-Flavine = vit B2)

#### **b) Bilan**

- Rejet  $\text{CO}_2$
- Formation de  $\text{FADH}_2$ , réoxydé immédiatement et donnant  $\text{NADH}_2$
- Formation de liaison thioester de l'acétylCoA riche en énergie  $\Delta G^{\circ} = - 31.8 \text{ kJmol}^{-1}$

## [c) Régulation

Pas au programme

- Formation de  $\text{FADH}_2$   $\Delta G^\circ = + 26 \text{kJmol}^{-1}$  aspiré thermodynamiquement par rupture de liaisons acétylCoA  $\Delta G^\circ = - 32 \text{kJmol}^{-1}$
- Activation hormonale de E1 par insuline qui lève inactivation de la carboxylase
- Inhibition par encombrement : saturation en  $\text{NADH}_2$  et AcétylCoA (NAD<sup>+</sup> et CoA ne sont plus disponibles)]

## 3- Le cycle de Krebs : Formation d'ATP par décarboxylations et réduction des coenzymes

### a) Principales étapes du cycle de Krebs:

- Entrée dans le cycle par rupture de liaison thioester
- Succession de décarboxylations et deshydrogénations permet destruction totale de l'acide acétique
- Permet également dégradation des acides gras et aa

### +b) Régulation du cycle de Krebs

- Par rétroinhibition allostériques
- Par manque de NAD ou CoA

### c) Bilan

- 1er temps (entrée dans le cycle) :  $2 \text{CO}_2 + 2 \text{NADH}_2$
- 2ème temps :  $4 \text{CO}_2 + 6 \text{NADH}_2 + 2 \text{FADH}_2 + 2 \text{ATP}$

## 4- Phosphorylations oxydatives et réoxydation des coenzymes dans la membrane interne des mitochondries

### a) Mee expérimentale des transporteurs d'e<sup>-</sup> et de flux de H<sup>+</sup>

- ultrasons : vésicules mitochondriales étranglées à pH cavitair acide
- Disposition asymétrique de complexes supramoléculaires (complexes I à IV)
- couplage cytochrome/complexe IV par incorporation aléatoire dans bicouche de vésicule lipidique : seule la position cyto externe/efflux de protons est fonctionnelle (sinon, pas d'efflux de proton)
- L'état oxydé/réduit des cytochromes est suivi par étude du spectre d'absorption (3 pics  $\alpha\beta\gamma$  pour forme réduite, un seul  $\alpha$  pour forme oxydée)
- Importance de la fluidité membranaire
- Conséquences du gradient de  $\text{H}^+$  :  $\text{ddp} = 150 \text{mV}$ : pH intermembranaire = 1 ou 2
- Etude expérimentale du fonctionnement de l'ATPsynthétase ou ATPase : oligomycine ferme Fo transmembranire; DNP (dinitrophénol) = protonophore découple ATPase (cf ionophores à  $\text{H}^+$  des mito des tissus adipeux bruns des hibernants)

### b) Modèle énergétique : transfert d'e<sup>-</sup> selon les potentiels croissants

- Diagramme
- Bilan : 3 ATP pour 2 e<sup>-</sup> soit pour 1 NADH, H<sup>+</sup>

### c) Modèle membranaire et théorie chimiosmotique

il existe 3 sauts de potentiel potentiellement couplés à la formation d'ATP à partir de NADH mais seulement 2 à partir de FADH<sub>2</sub>

### d) Bilan et Rendement

- Glycolyse = - 2 ATP + 4 ATP + 2 NADH<sub>2</sub> transformés en 2 FADH<sub>2</sub> par complexe II (Membrane des mito imperméable à NADH<sub>2</sub>)
- Krebs : 2 ATP + 8 NADH<sub>2</sub> + 2 FADH<sub>2</sub>
- Respiration mitochondriale (Phosphorylations oxydatives et réoxydation des coenzymes dans la membrane des mito) :

- +2 ATP par FADH<sub>2</sub> soit 4\*2 = 8 ATP pour glycolyse et Krebs
- + 3 ATP par NADH<sub>2</sub> soit 3\*8 = 24 ATP pour Krebs
- TOTAL = 36 ATP (ou 38 si navette à proton malate AOA cf. paragraphe suivant)
- RENDEMENT :  $36 \cdot 30.5 / 2820 \cdot 100 = 40\%$

Compte tenu des concentrations qui ne sont pas équimolaires dans la cellule, l'hydrolyse de l'ATP est plus rentable et le rendement s'approche de 50% ce qui est excellent!!!

En fonction du type de navette, NADH<sub>2</sub> peut donner NADH<sub>2</sub> si on utilise navette Malate/Aspartate au lieu de Navette GlycerolP

### **e) Navette à protons entre cyto et mito**

- Navette GlycerolP

DHAP reoxyde NADH<sub>2</sub> par glycerolPdeshydrogenase cytosolique et donne GlycerolP  
GlycerolP passe membrane ext de mito et est réduit en DHAP par glycerolPdeshydrogenase de la membrane int des mito face intermembranaire qui fonctionne avec coenz FAD qui devient FADH<sub>2</sub> transmet à CoQ de l'ubiquinone de la chaîne resp mito

- Navette Malate Aspartate :

AOA donne Malate par réoxydation de NADH<sub>2</sub>. Malate passe membrane int par transporteur antiport au alphacetoglutarate.

Dans matrice de mito, Malate redonne AOA par réduction de NAD<sup>+</sup>

Par transamination AOA couplé à glutamate donne Aspartate et alphacetoglutarate

Aspartate ressort de la mito par navette antiport avec glutamate

Dans le cyto, Aspartate redonne AOA par transamination avec alphacetoglutarate qui donne glutamate!

### **f) Respiration mitochondriale des végétaux**

La chaîne respiratoire des mitochondries des plantes est caractérisée par la présence de multiples NAD(P)H déshydrogénases (ou NDH) localisées dans la membrane interne. Outre le complexe I commun à toutes les mitochondries (qui oxyde le NADH matriciel), deux NAD(P)H déshydrogénases supplémentaires sont présentes : l'une interne (face matricielle) et l'autre, dite externe, orientée vers le cytosol. Ces deux déshydrogénases oxydent respectivement le NAD(P)H matriciel provenant du cycle de Krebs et le NAD(P)H cytosolique. Elles court-circuitent le complexe I, donc le premier site de translocation des protons, et sont insensibles à la roténone, inhibiteur du complexe I.

- La NAD(P)H déshydrogénase interne oxyde le pool de NAD(P)H lorsque celui-ci est très élevé dans la matrice.

- La NAD(P)H déshydrogénase externe oxyde directement le NADH formé par la glycolyse et/ou le NADPH qui résulte de l'oxydation du glucose 6-phosphate par la voie des pentoses phosphates. Cette voie d'oxydation se substitue aux navettes enzymatiques rencontrées chez les animaux.

De plus, la chaîne respiratoire des plantes comprend deux voies de transfert des électrons qui possèdent chacune une oxydase terminale :

- La voie cytochromique "classique" qui comprend la cytochrome c oxydase sensible au cyanure, inhibiteur du complexe IV.

- La voie alternative qui comprend l'AOX (OXYdase Alternative insensible au cyanure). La protéine AOX consomme de l'oxygène et forme de l'eau.

Les mitochondries des plantes possèdent donc deux oxydases terminales

La voie alternative est impliquée dans un transfert d'électrons qui court-circuite, au niveau du pool des quinones, deux sites de pompage de protons. Elle est donc très peu ou pas productrice d'ATP. Son rôle est d'oxyder rapidement les substrats respiratoires lorsque la charge énergétique est élevée et de réduire la tension d'oxygène et donc la production des AOS (Activated Oxygen Species) dans les situations de stress.

En conditions normales, l'AOX est faiblement exprimée dans les mitochondries de plantes (sauf chez les Aracées où elle est responsable de la thermogénèse des organes floraux). Par contre, l'expression de l'AOX est fortement stimulée en conditions de stress biotiques (froid, sécheresse...) et abiotiques (attaque par les pathogènes, réponse hypersensible...).

### 5- Autre devenir du pyruvate : gluconéogenèse (synthèse de sucres, en général) ou neoglycogenogenèse (synthèse de glycogène en particulier)

#### a) Origine du Pyruvate à partir des acides aminés. Catabolisme des aa dans le foie Ex de l'Alanine du cycle de Cori

- Dans les cellules musculaires :
- Par transamination grâce à une alanine aminotransférase qui utilise l'alphacétoglutarate et l'alanine pour donner du glutamate (lequel peut être dirigé vers le cycle de l'urée) et du pyruvate
- LA réaction inverse a lieu spécifiquement dans le foie et nécessite le transport sanguin de l'Alanine

#### b) Irréversibilité de la gluconeogenèse

- La glycolyse présente 3 étapes irréversibles : Glu donne Glu6P, F6P donne F16diP et PEP donne PYR
- La gluconeogenèse utilise des enzymes cytoplasmiques différentes de celles de la glycolyse pour les deux premières.
- Pour la transformation du Pyr, il faut utiliser une enzyme mito :  
PYR traverse les membranes mito  
PYR + HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se transforme grâce à pyruvate carboxylase (dont le coenz est la biotine) et avec conso d'ATP qui libère Pi donne AOA

AOA ne traverse pas les membranes mito : il doit être hydrogéné grâce au NADH<sub>2</sub> en Malate  
Le malate peut traverser les membranes mito.

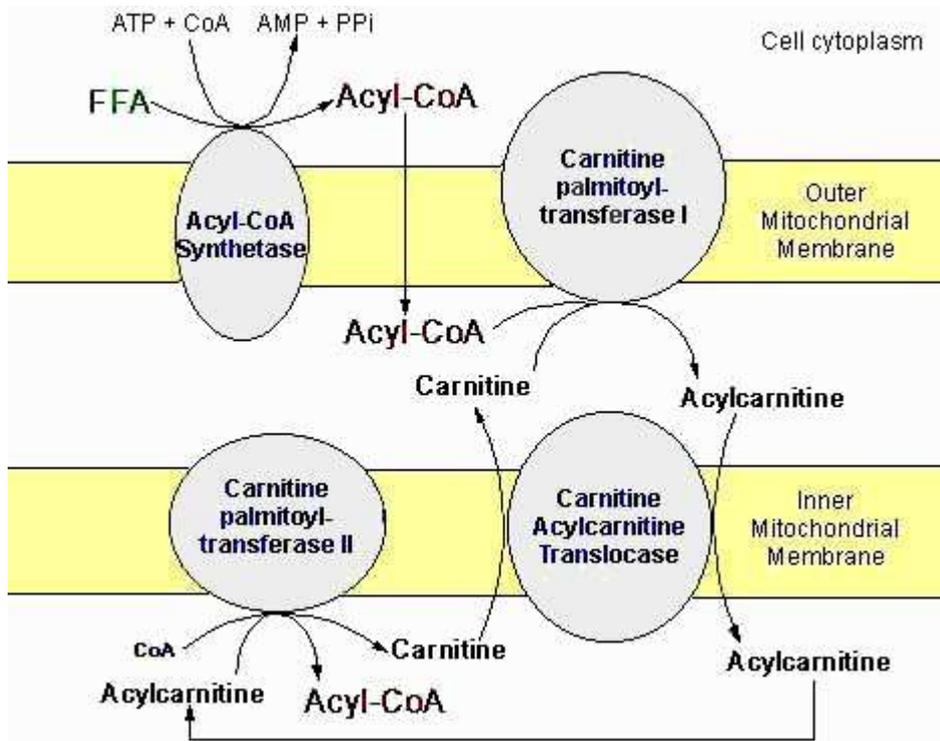
Dans le cyto, le NAD<sup>+</sup> deshydrogène le malate en AOA  
AOA donne ensuite PEP et CO<sub>2</sub> avec conso d'une GTP qui redonne GDP

cout énergétique : 4 ATP + 2 GTP + 2 NADH<sub>2</sub>

### C. Catabolisme des lipides : cas de la bêta oxydation des acides gras dans la mitochondrie

#### 1- Hydrolyse des triglycérides en glycérol et acides gras

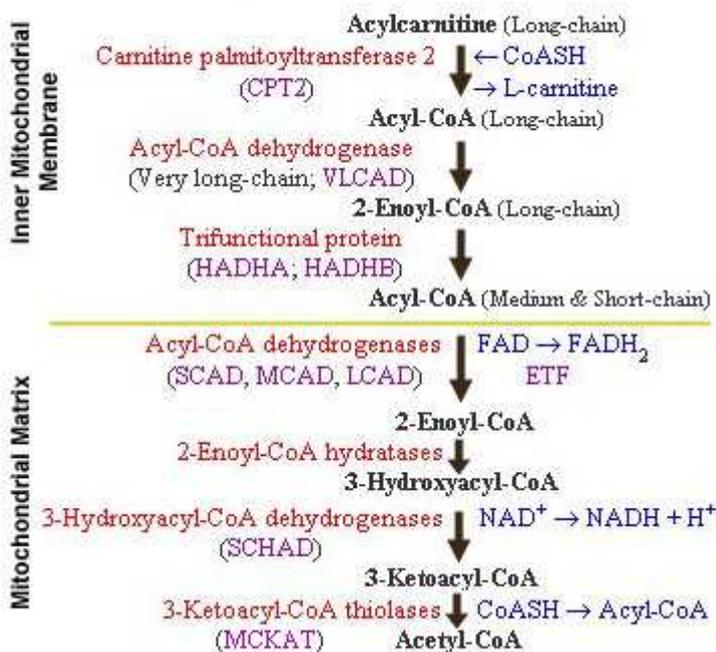
#### 2- Entrée des acides gras dans la mitochondrie : transport par la L carnitine des acylCoA à ch + longues



### 3- cas des AcylCoA à très longues chaines : complexes de la membrane interne trifonctionnel

### 4- Hydolyse des AcylCoA à longues chaines en AcylCoA à moyennes et courtes chaines et AcétylCoA par deshydrogénases, hydratases et thiolases matricielles

#### Fatty Acid Oxidation Pathway



### BILAN du catabolisme

- des glucides
- des protides
- des lipides