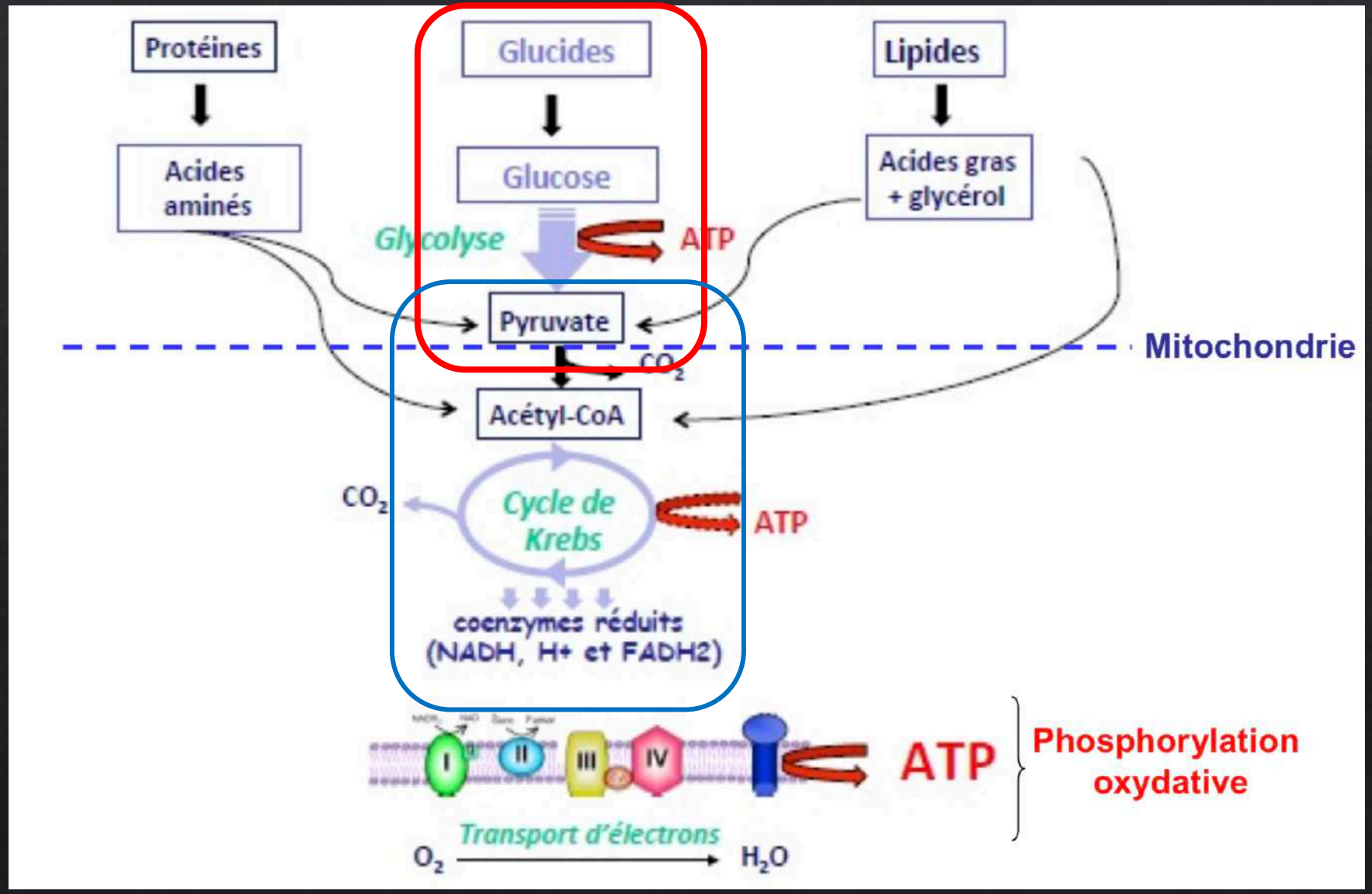
TUTORAT NICOIS
Faculté De Médecine

Pedrassou

La Pyruvate Déshydrogénase et le Cycle de Krebs

Rappel métabolisme :

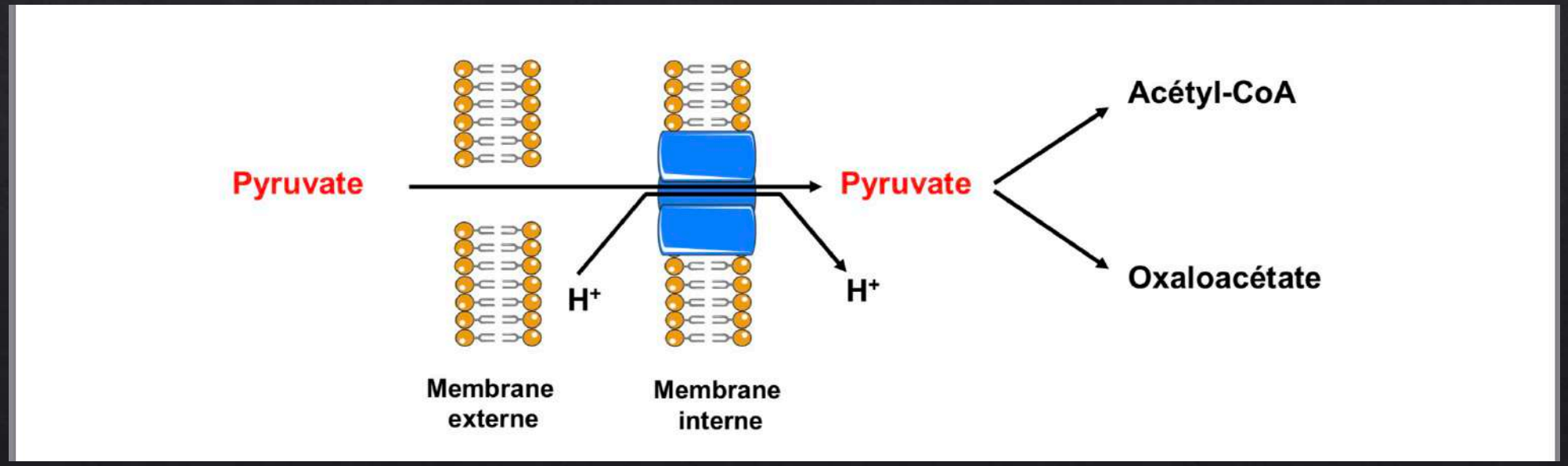


Le Pyruvate

- Conversion en Acétyl-CoA grâce à la Pyruvate Déshydrogénase (→ dans la Mitochondrie)

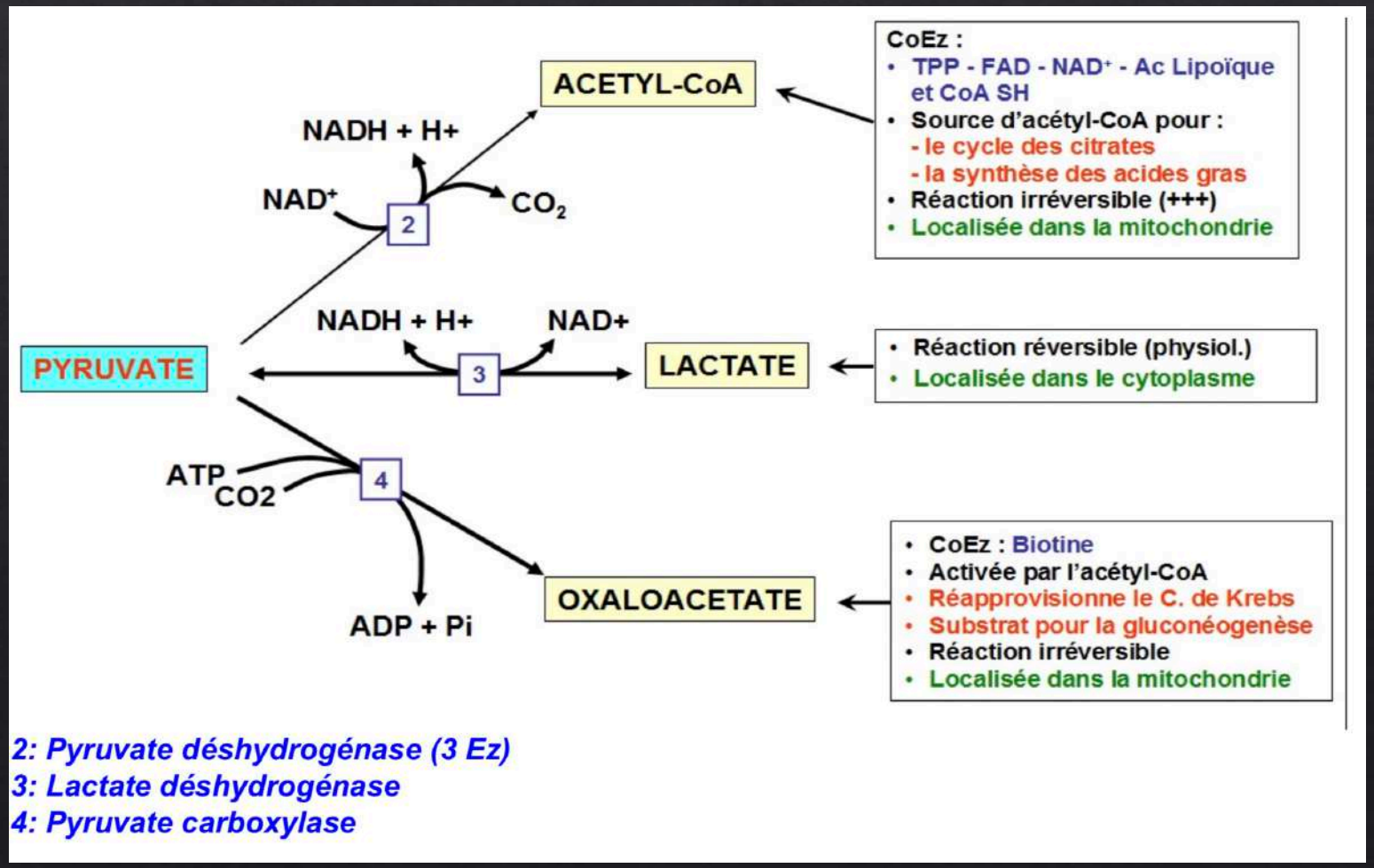
- DONC : Le pyruvate doit passer du Cytoplasme à la mitochondrie !

1) Traverse la MEM
2) Traverse la MIM → Pyruvate Translocase (= symport = transport actif)



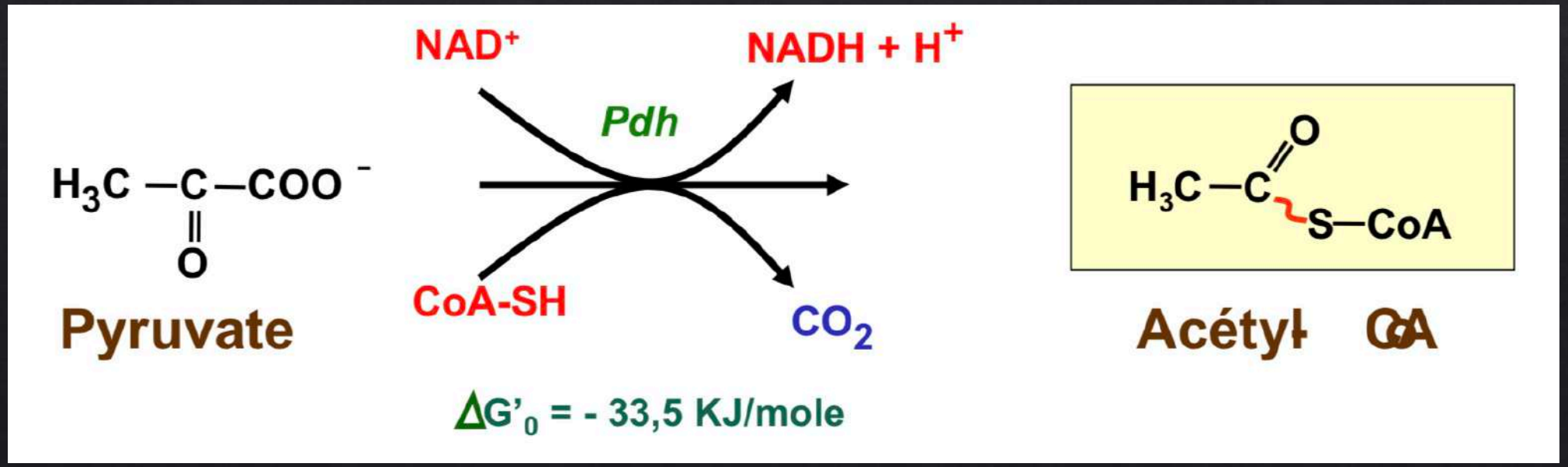
Une fois dans la Mitochondrie , le pyruvate peut :

- Faire la NGG → Conversion en OAA (si état énergétique de la cellule suffisant)
- Faire le CK → **Conversion en Acétyl-CoA** (si la cellule a besoin d'énergie)



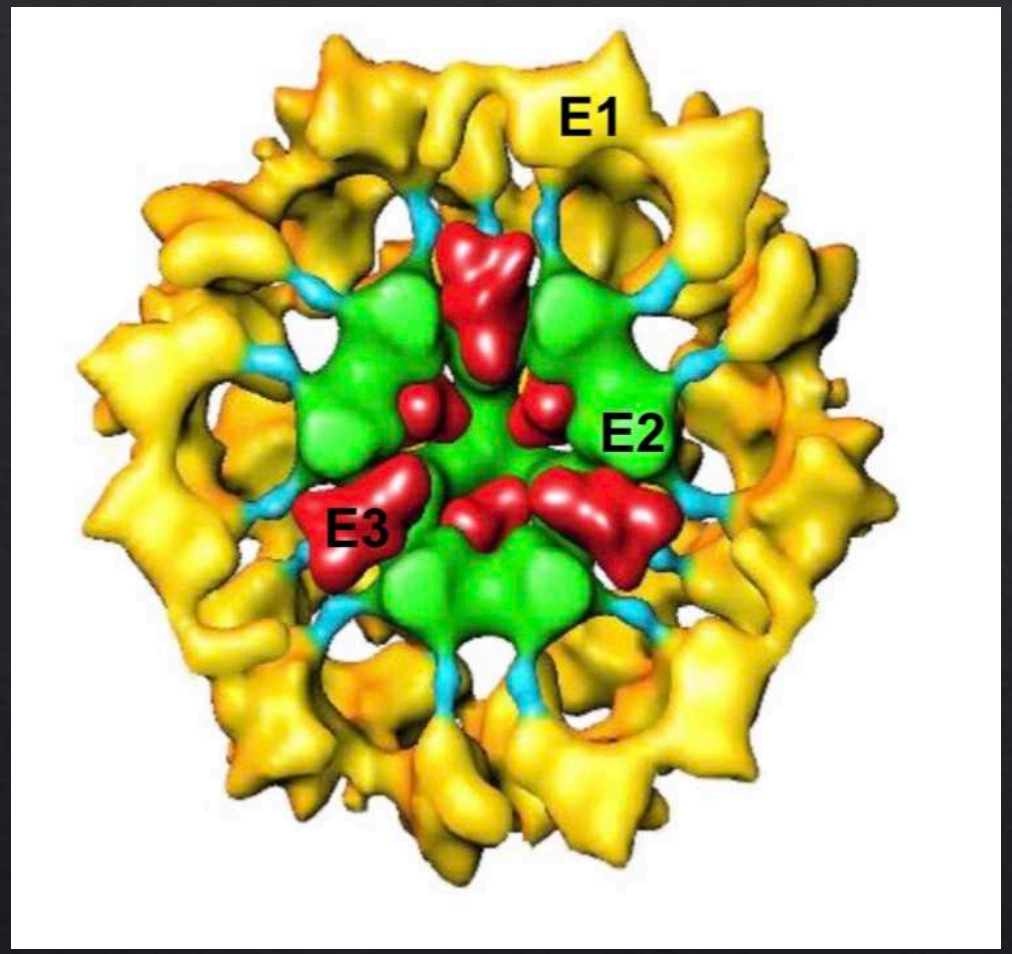
La Pyruvate Déshydrogénase (PDH)

- **<u>Complexe enzymatique</u>** qui catalyse la **Décarboxylation Oxydative du Pyruvate en Acétyl-CoA**
- Se passe dans la Matrice Mitochondriale
- Passerelle entre Glycolyse et Cycle du Citrate
- **Régule l'entrée d'unités acétyle (acétyl-CoA) provenant du catabolisme des glucides en condition aérobie ++**



- Réaction IRREVERSIBLE
- **Exergonique**

I – Structure de la PDH



→ Complexe enzymatique de **3 sous unités E1,E2,E3**

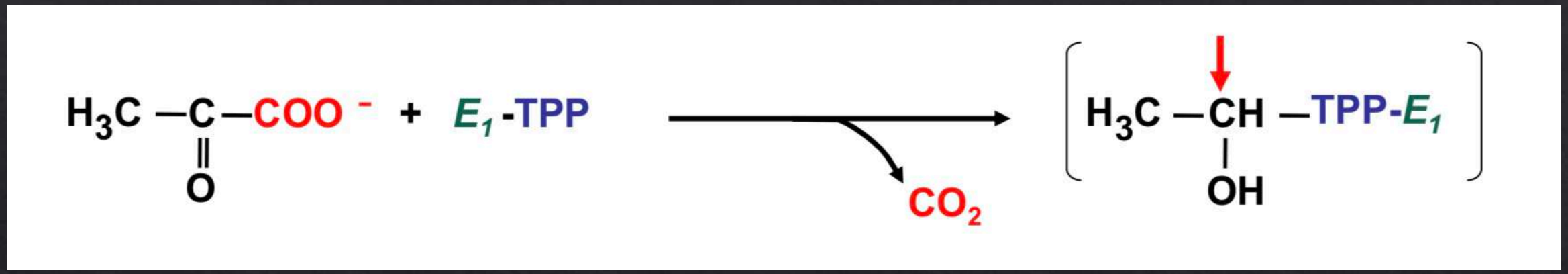
→ Chaque enzyme travaille avec les coenzymes qui lui correspondent

Enzymes	Coenzymes
E1 : Pyruvate déshydrogénase	• Thiamine pyrophosphate (TPP)
E2 : Dihydrolipoyl transférase	• Acide lipoïque • CoASH
E3 : Dihydrolipoyl déshydrogénase	• NAD^+ / NADH + H^+ • FAD / $FADH_2$

💣 La PDH contient plusieurs copies de E1 E2 et E3

II – Réaction détaillée de cette Décarboxylation Oxydative :

Etape 1 : E1 utilise le TPP comme coenzyme :



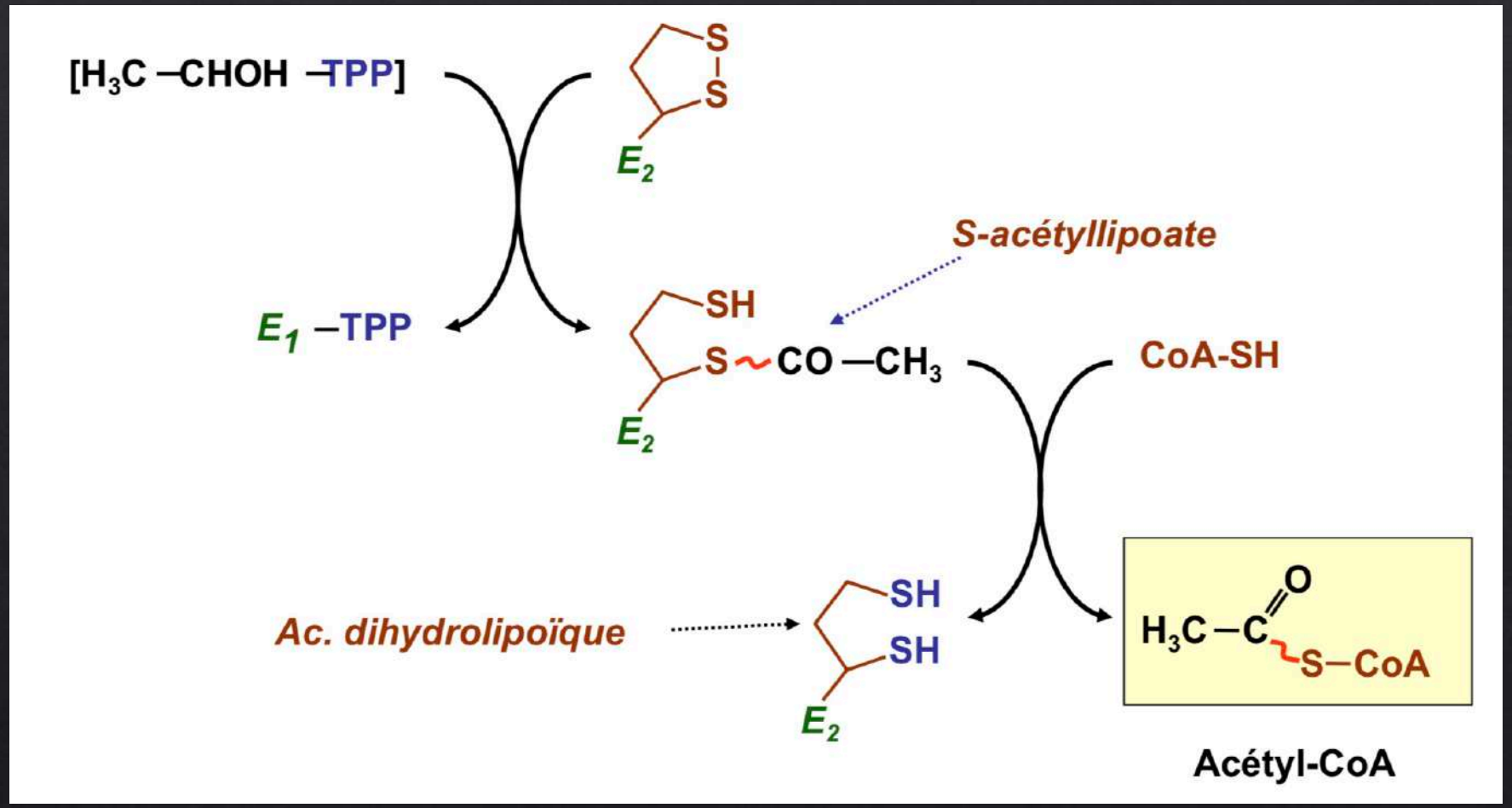
→ Pyruvate décarboxylé pour donner un **dérivé hydroxyéthyl** lié au TPP

→ Perte d'un CO2

→ Etape limitante

(Je n'ai pas détaillé la structure du TPP mais pour plus d'info je vous conseille d'aller voir la diapo du prof → De toute façon, vous aller revoir tous les coenzymes, dont la TPP, en enzymo….. Avec moi ❤)

Etape 2 : E2 utilise l'acide lipoïque et le CoA-SH comme coenzyme



→ Intermédiaire hydroxyéthyl oxydé par transfert sur E2-Acide lipoïque

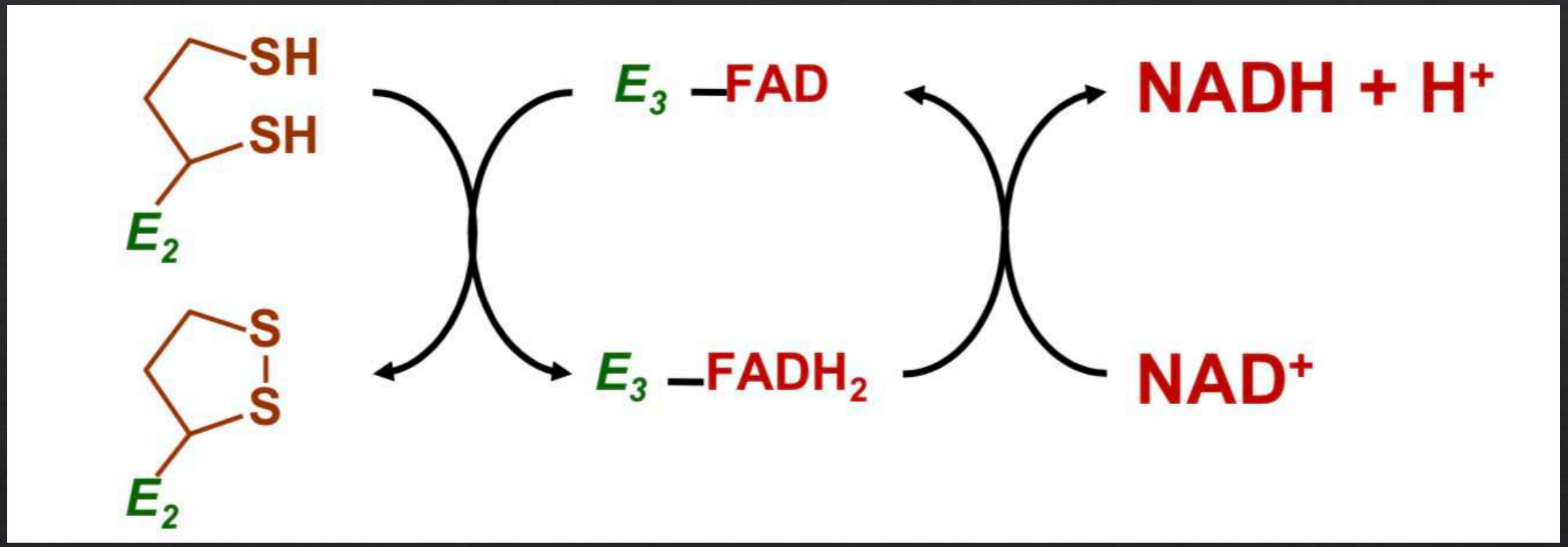
→ Formation S-acetyllipoate

→ CoA récupère l'acétyl pour former l'Acétyl-CoA

→ On relâche de l'acide dihydrolipoïque

Problème : on doit récupérer nos coenzymes dans leur état d'origine, donc on doit trouver un moyen pour passer de l'Acide dihydrolipoïque à l'acide lipoïque …

Etape 3 : E3 utilise le FAD et NAD^+ comme coenzyme



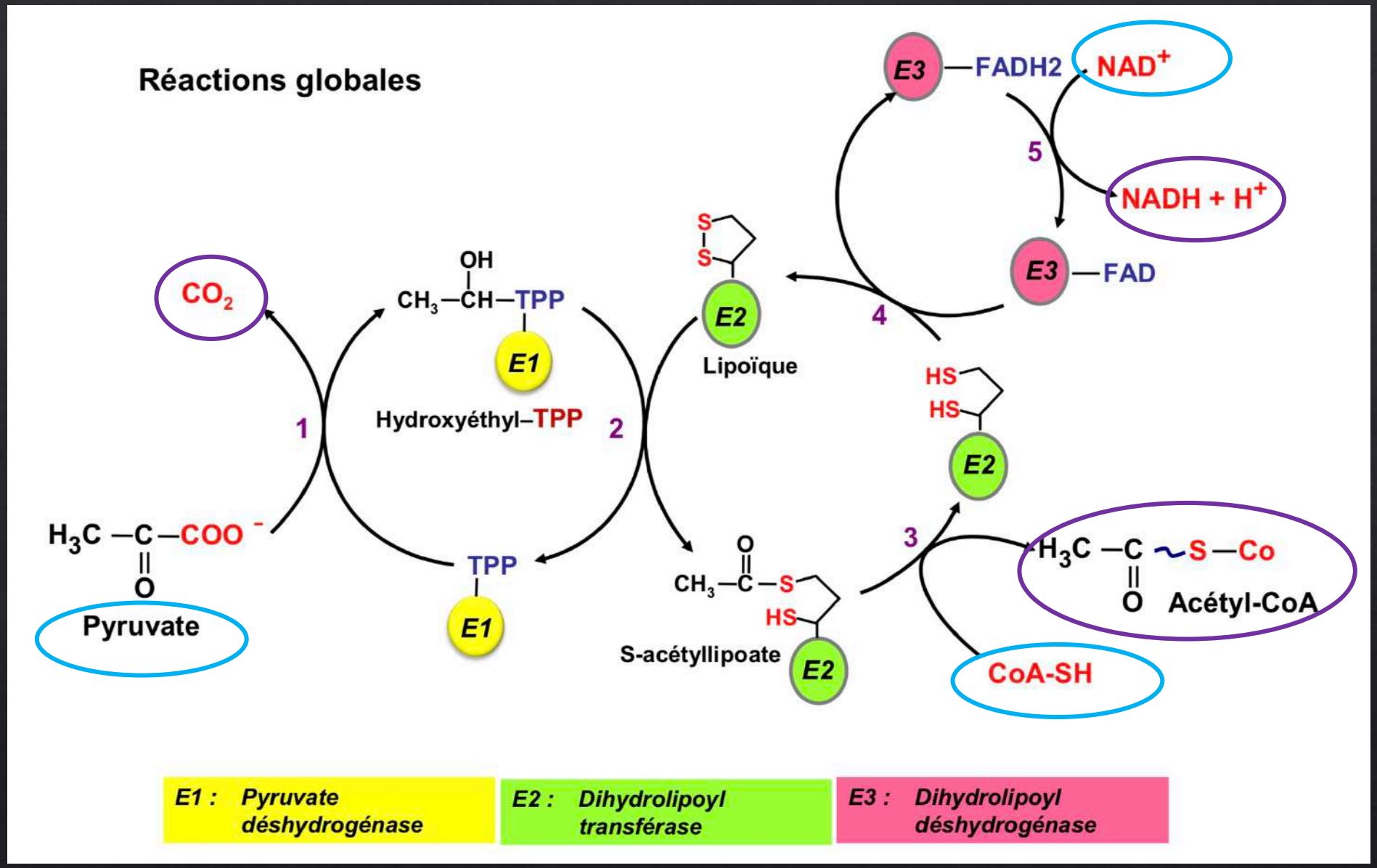
→ E3-FAD va réoxyder l'acide dyhydrolipoique en acide lipoique; la flavine est réduite (E3-FADH2), puis réoxydée par le NAD^+

→ NAD^+ devient du coup $NADH+H^+$ qui sera réoxydé dans la CRM

BILAN :

Produits initiaux

Produits finaux



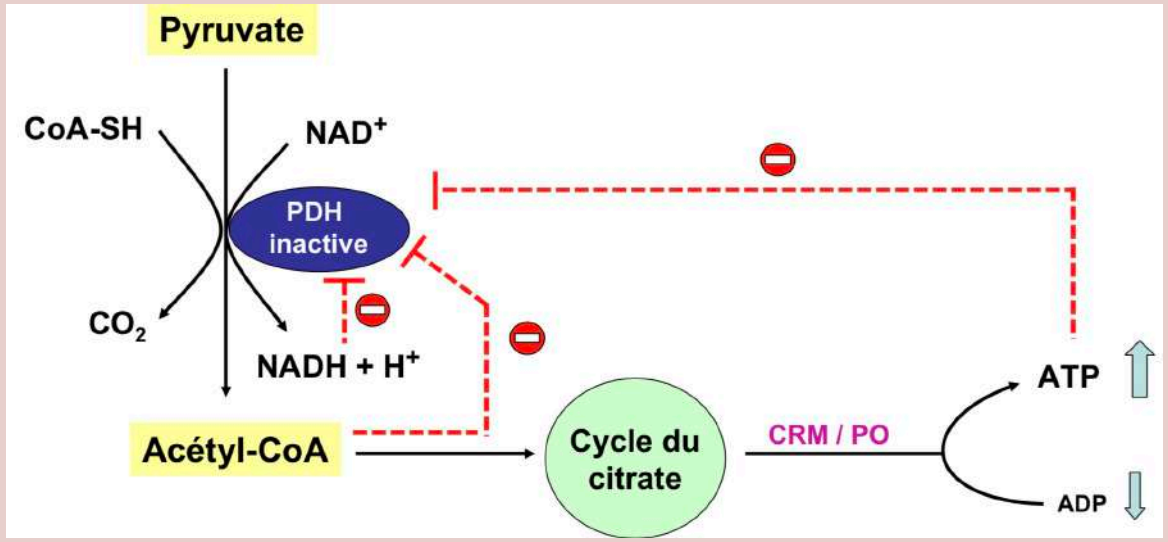
IV – Régulation de la PDH

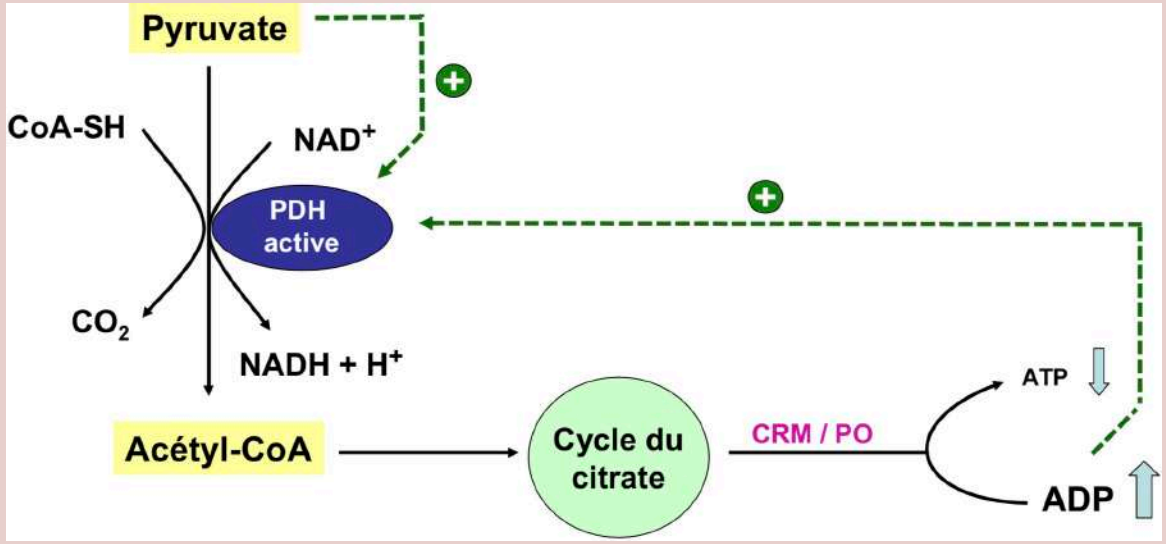
<u>2 types de régulation :</u>

- Covalente → UNIQUEMENT sur E1
- Allostérique → sur E2 et E3

A) Régulation Covalente :

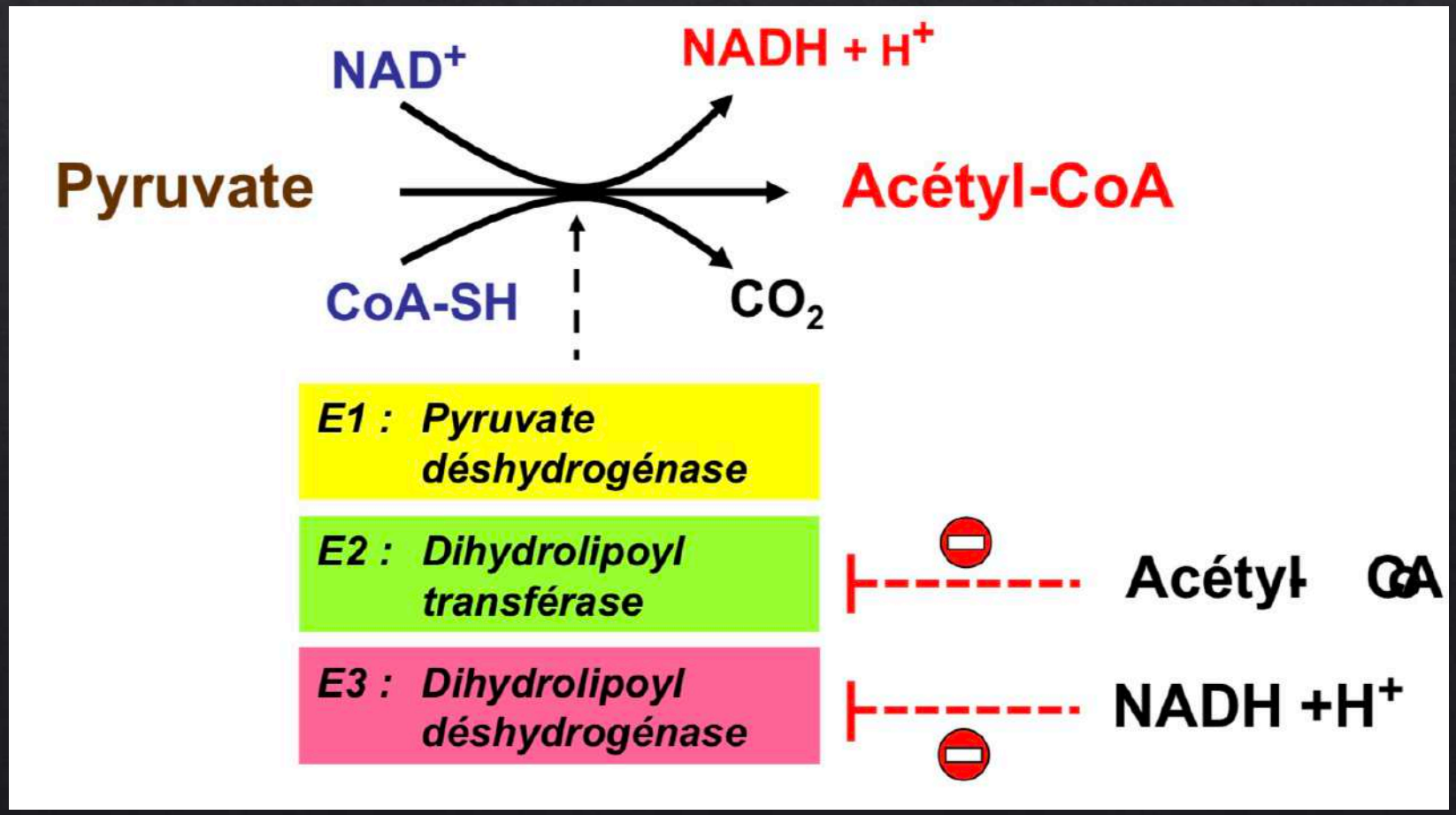
PDH Kinase	PDH Phosphatase
- **Phosphorylation** sur le résidu Sérine de E1 - **INHIBITION DE LA PDH** - Dans quelles situations ? → ↗ NADH → ↗ Acétyl-CoA → ↗ ATP } = Charge énergétique élevée	- Déphosphorylation sur le résidu Sérine de E1 - ACTIVATION DE LA PDH - Dans quelles situation ? → ↗ Pyruvate (glycolyse++) → ↗ ADP → ↗ $Ca2^{+}$ intracellulaire } = Charge énergétique faible





B) Régulation Allostérique :

- E2 → Inhibée par une ↗ en [Acétyl-CoA]
- E3 → Inhibée par une ↗ de [NADH]



Situation particulière : le jeûne :

- ↗ Transcription gênes codants pour la PDH Kinase (dans la plupart des tissus)
- ↘ Transcription gênes codants pour la PDH Phosphatase

↗ **PDH Phosphorylée inactive**

Régulation de la PDH

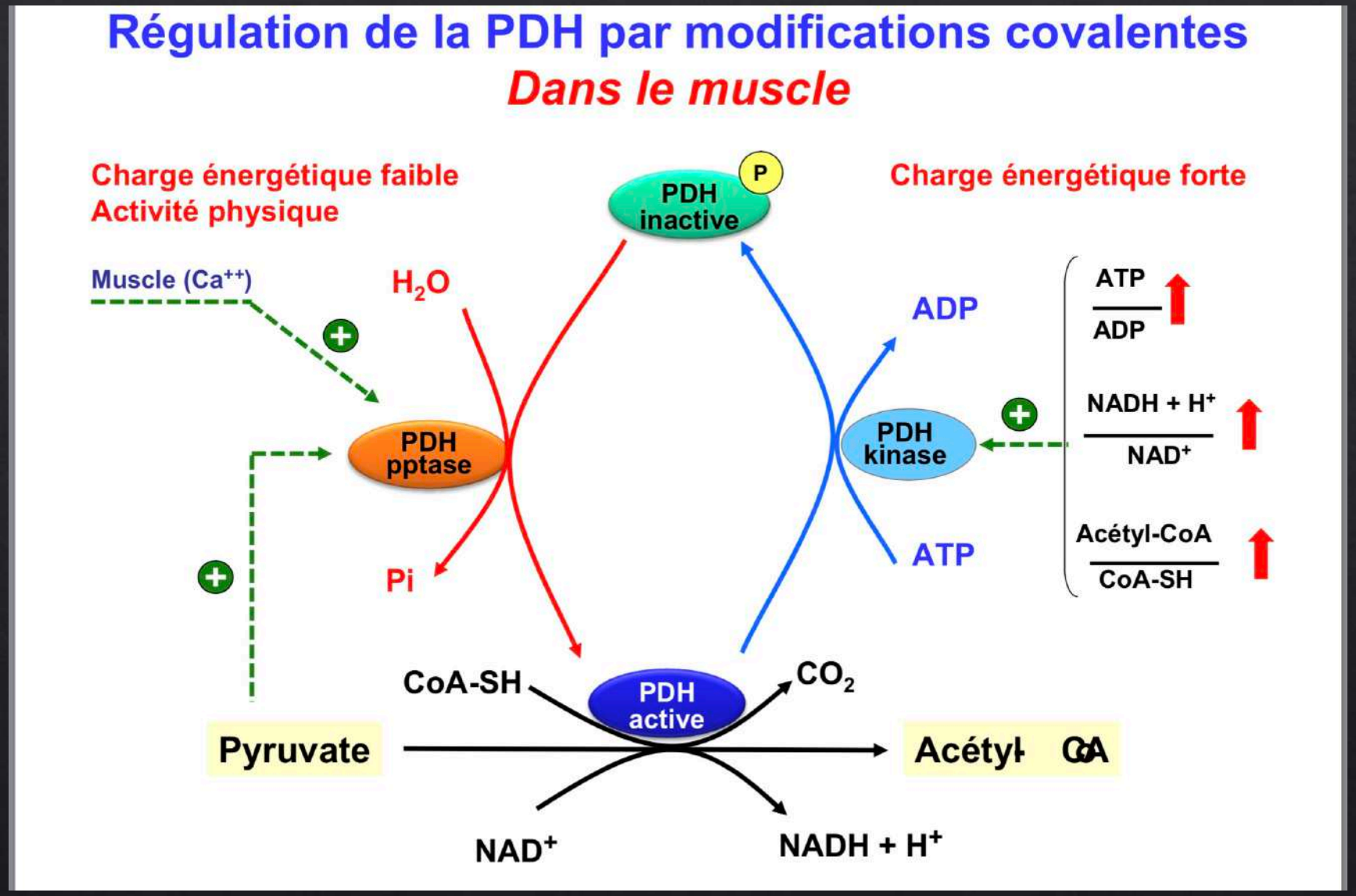
Active :

- ↗ [Glucose] → post prandial
- Insuline
- Demande ++ en ATP
- Lipogenèse
- Déficit en substrat énergétique de remplacement (AG et CC)

Inactive :

- ↘ [Glucose] → jeûne
- Faible demande en ATP
- Excès de AG ou CC

Schéma Récap régulation du prof :



Le Cycle de Krebs / Cycle du Citrate

- **Voie du Catabolisme Oxydatif et Aérobie du groupement acétyl activé sous forme d'Acétyl-CoA.**

Oxydatif ? → oxydation des substrats et réduction des coenzymes
Aérobie ? → possible QUE dans les cellules qui ont des mitochondries (pas GR)

- Dans la matrice mitochondriale (sauf une enzyme ancrée à la MIM)

- Oxydation de l'Acétyl-coA en CO_2

- Formation de plusieurs coenzymes réduits (NADH+H et FADH2) → synthèse d'ATP avec la CRM

- Ensemble de 8 réactions dont :
  - **4 réactions d'oxydo-réduction**
  - **1 réaction qui produit un GTP (production <u>directe</u> d'énergie)**

- Permet surtout une production **<u>indirecte</u>** d'énergie via les coenzymes réduits NADH+H et FADH2 qui, quand ils seront réoxydés dans la CRM libéreront :

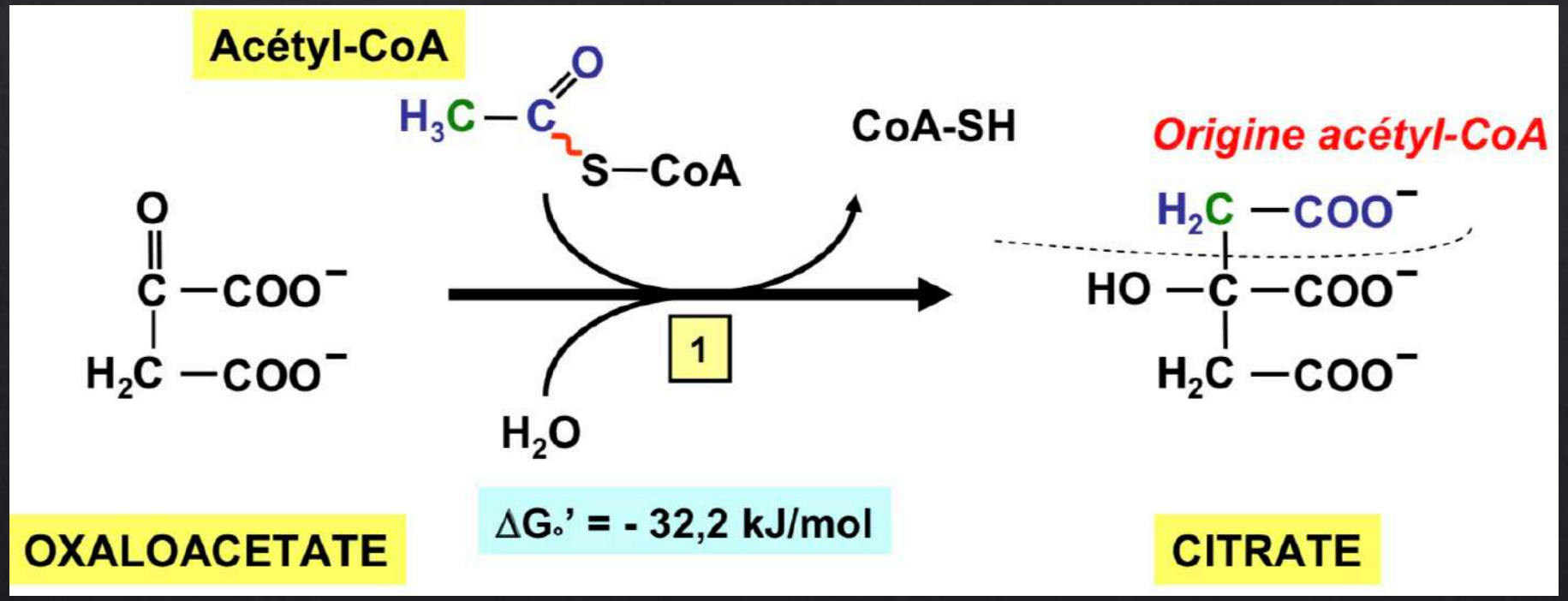
- NADH+H → 3 ATP
- FADH2 → 2 ATP

💣 Plus de 95% de l’énergie d’un être humain est générée par le cycle de Krebs en association avec la Phosphorylation Oxydative (vue au prochain cour) 💣

Tout ça pour dire que le rôle du CK est suuuuper important dans la production d’énergie pour notre corps

Réactions détaillées du CK

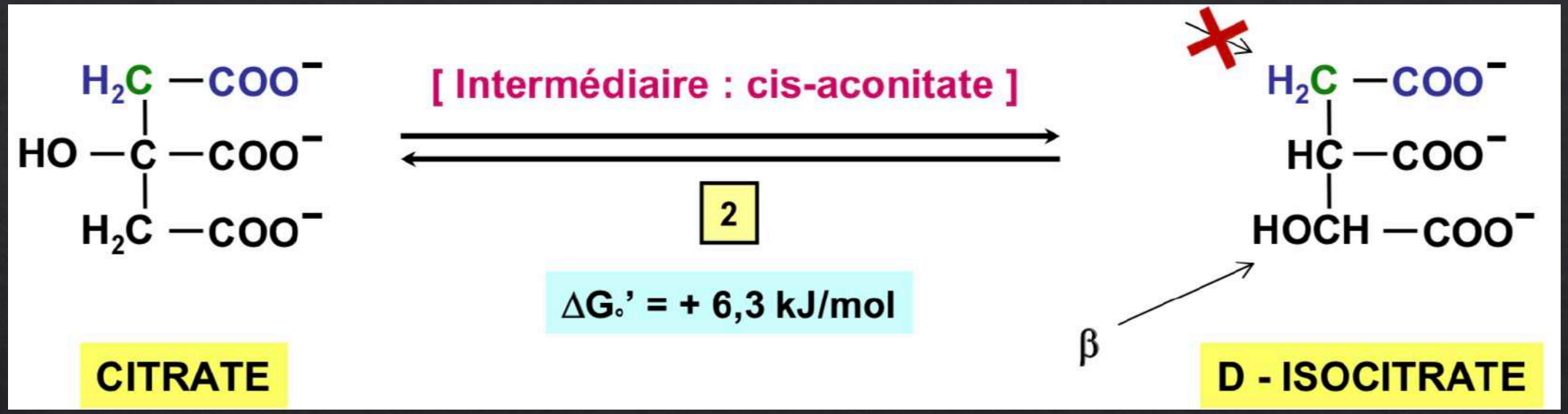
Etape 1 : Condensation de l'Acétyl-CoA sur l'OAA :



- Catalysée par **la Citrate Synthase (1)**
- **Exergonique** → même avec une OAA basse, réaction possible
- **Irréversible**
- On note l'utilisation d'un H2O

A partir de là, si la cellule n'a pas besoin d'énergie, CK ↘, le citrate sort vers le cytoplasme pour faire la synthèse d'AG

Etape 2 : le Citrate est isomérisé en Isocitrate :



- Catalysée par **l'Aconitase** (2)

- **Réversible**

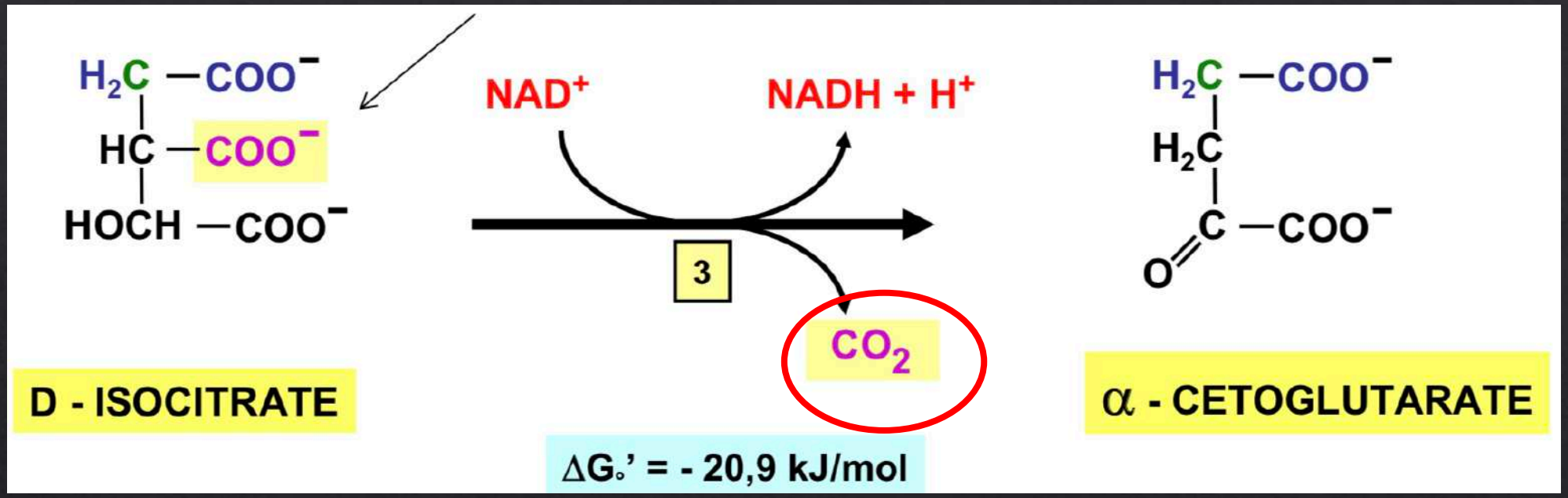
- En 2 étapes

1) Déshydratation → on forme le cis-aconitate
2) Hydratation → on forme l'isocitrate

- **Cofacteurs : FeS et Glutathion**

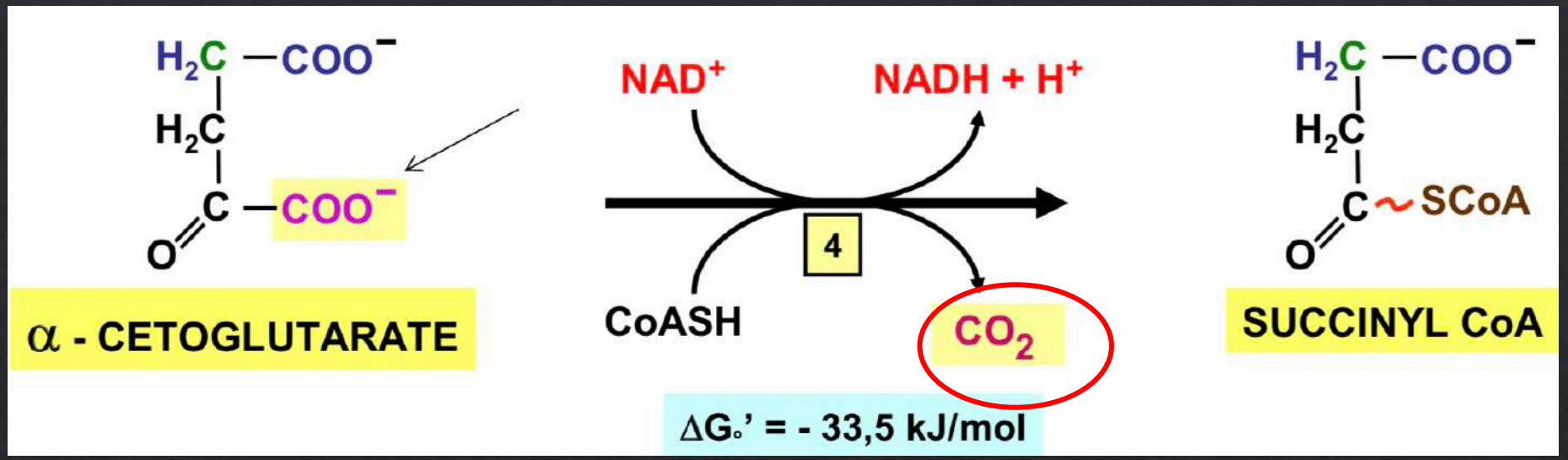
☠ Attention : Déplacement stéréospécifique du OH TOUJOURS vers le Carbone β provenant de l'OAA ☠

Etape 3 : 1ère réaction de décarboxylation oxydative :



- Catalysée par **l'Isocitrate DH** (3)
- **Irréversible** → étape limitante (point de régulation)
- **Exergonique**
- On libère le 1er CO2 (perte d'un C de l'OAA)
- Coenzyme réduit $NADH+H^+$

Etape 4 : 2ème réaction de décarboxylation oxydative :



- Catalysée par **l'α-céto-glutarate DH** (4)
- **Irréversible** → 2° étape limitante (point de régulation)
- **Exergonique**
- On forme du **Succinyl-CoA = liaison à haut potentiel énergétique**
- On libère le 2° CO2 (encore 1 Carbone de l'OAA)
- Coenzyme réduit $NADH+H^+$

Structure de l'α-céto-glutarate DH :

- **Complexe multienzymatique** constitué de :

- 3 apoenzymes : E1 , E2 et E3
- 3 coenzymes liés : TPP, acide lipoïque et FAD
- 2 coenzymes libres : NAD^+ et CoA-SH

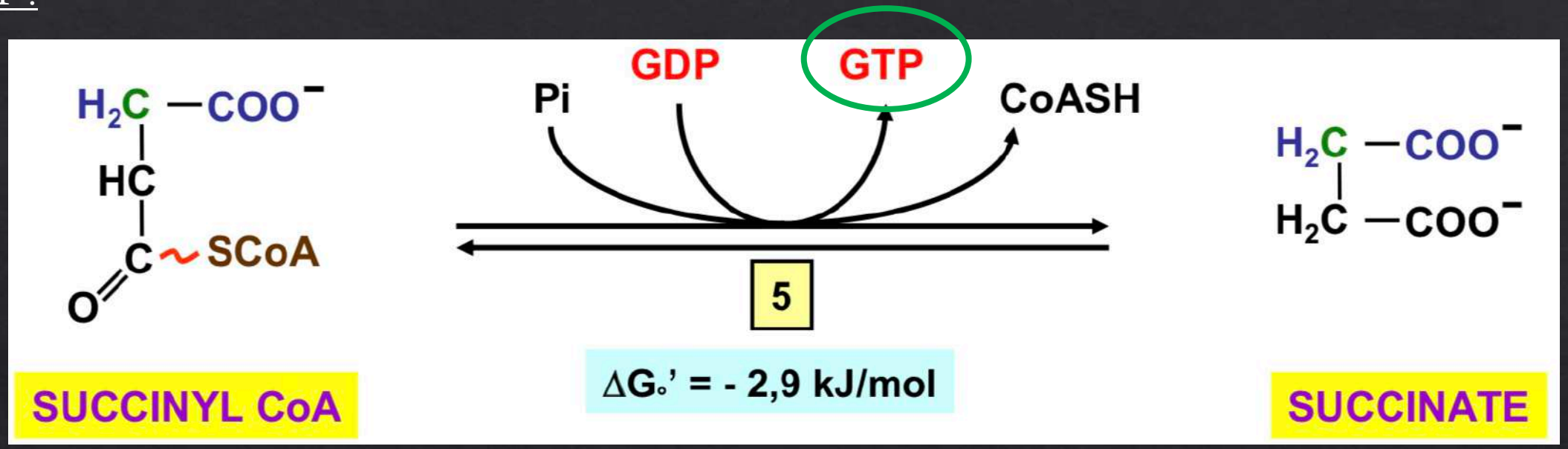
Apoenzyme	Coenzyme
E1 : α - Cetoglutarate déshydrogénase	• Thiamine pyrophosphate (TPP)
E2 : Dihydrolipoyl transférase	• Acide lipoïque • CoASH
E3 : Dihydrolipoyl déshydrogénase	• NAD^+ / NADH + H^+ • FAD / $FADH_2$

α-céto-glutarate et Succinyl-CoA = Carrefours métaboliques

- Voie d'entrée dans le CK d'AA
- Navette Malate/Aspartate

- Elément de base de la synthèse de l'hème
- Utilisation non hépatique des CC

Etape 5 : Transfert de la liaison à haut potentiel énergétique du Succinyl CoA à partir de Pi et de GDP :

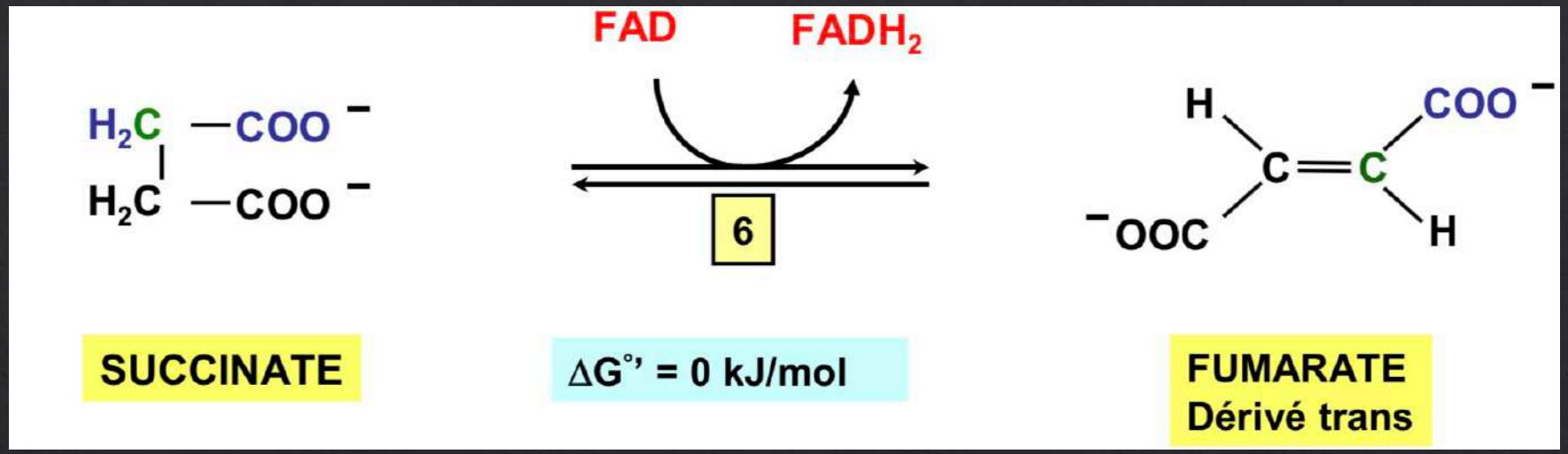


- Catalysée par la **Succinyl-CoA synthétase** (5)

- **Réversible**

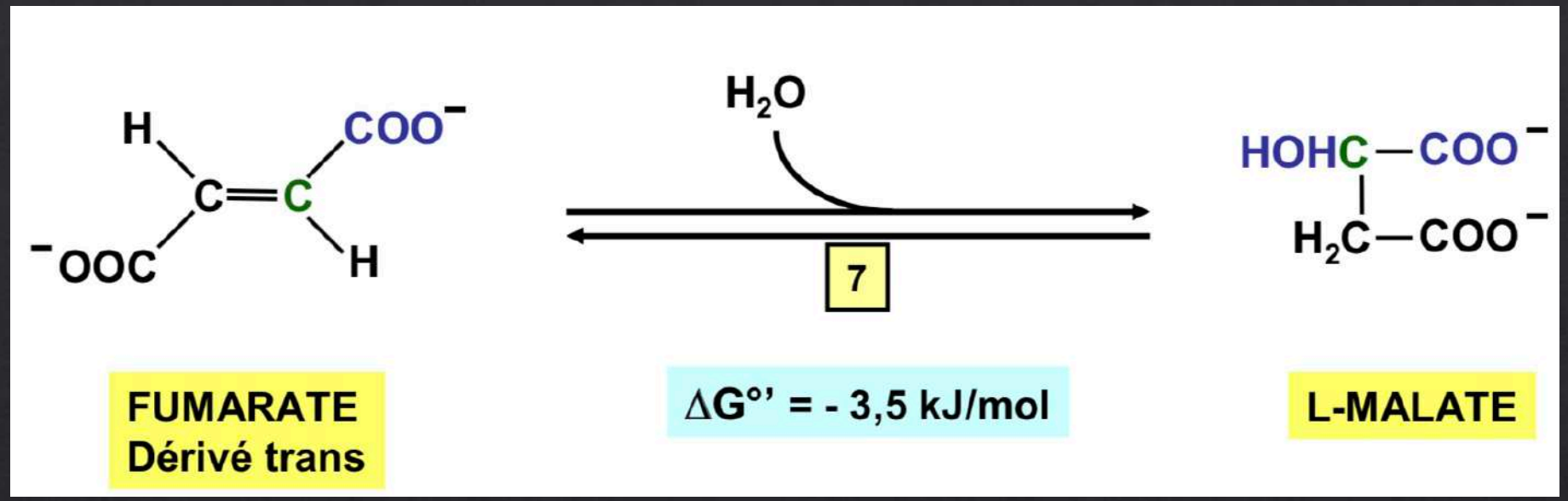
- Seule étape qui **libère DIRECTEMENT** une liaison à haut potentiel énergétique (**GTP** qui pourra se transformer en ATP grâce à la Nucléoside diphosphokinase)

Etape 6 :



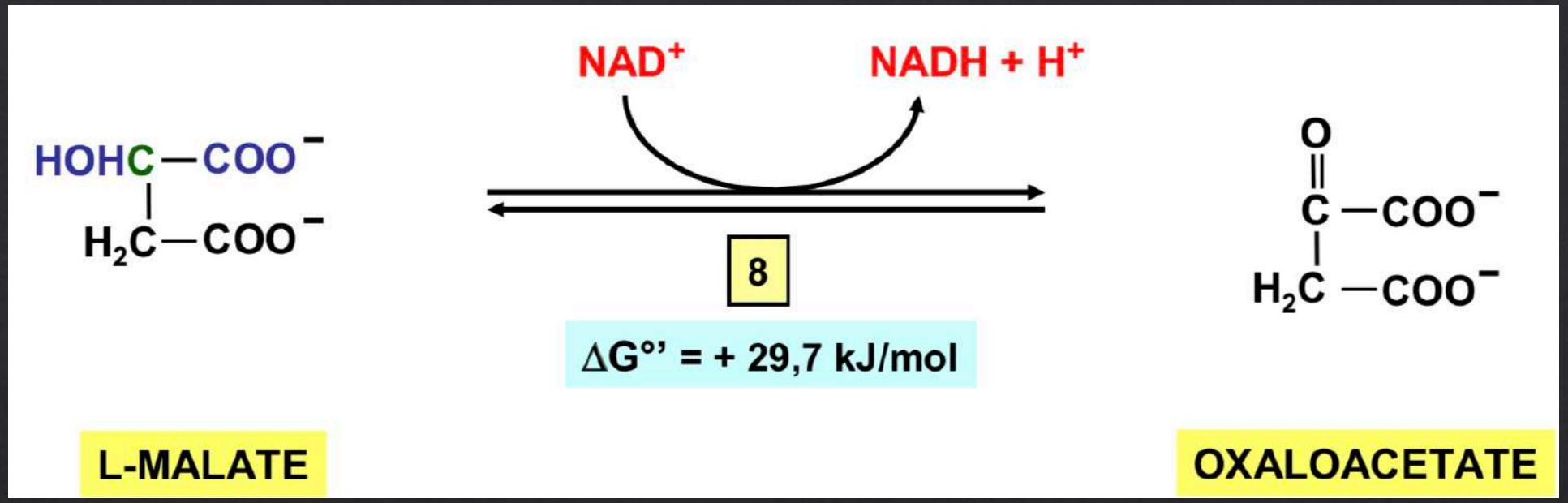
- Catalysée par la **Succinate DH** (6) → seule enzyme du CK ancrée à la MIM ++
- Coenzyme : FAD, réduit FADH2
- Formation de Fumarate **dérivé TRANS**

Etape 7 :



- Catalysée par la **Fumarase** (7)
- **Réversible**
- Utilisation d'1 H2O
- Formation du **L-Malate**

Etape 8 :



- Catalysée par la **Malate DH** (8)
- **Endergonique** ++ → équilibre déplacé en faveur du malate → [OAA] reste basse.
- Dernier NAD^+ réduit en $NADH+H^+$.

Bilan du Cycle de Krebs :

$$\text{Acétyl-CoA} + 3\ NAD^+ + FAD + GDP + P_i + 2\ H_2O \rightarrow 2\ CO_2 + 3\ NADH + H^+ + FADH_2 + GTP + CoA\ SH$$

Rappel :
1 NADH+H⁺ = 3 ATP
1 FADH2 = 2 ATP

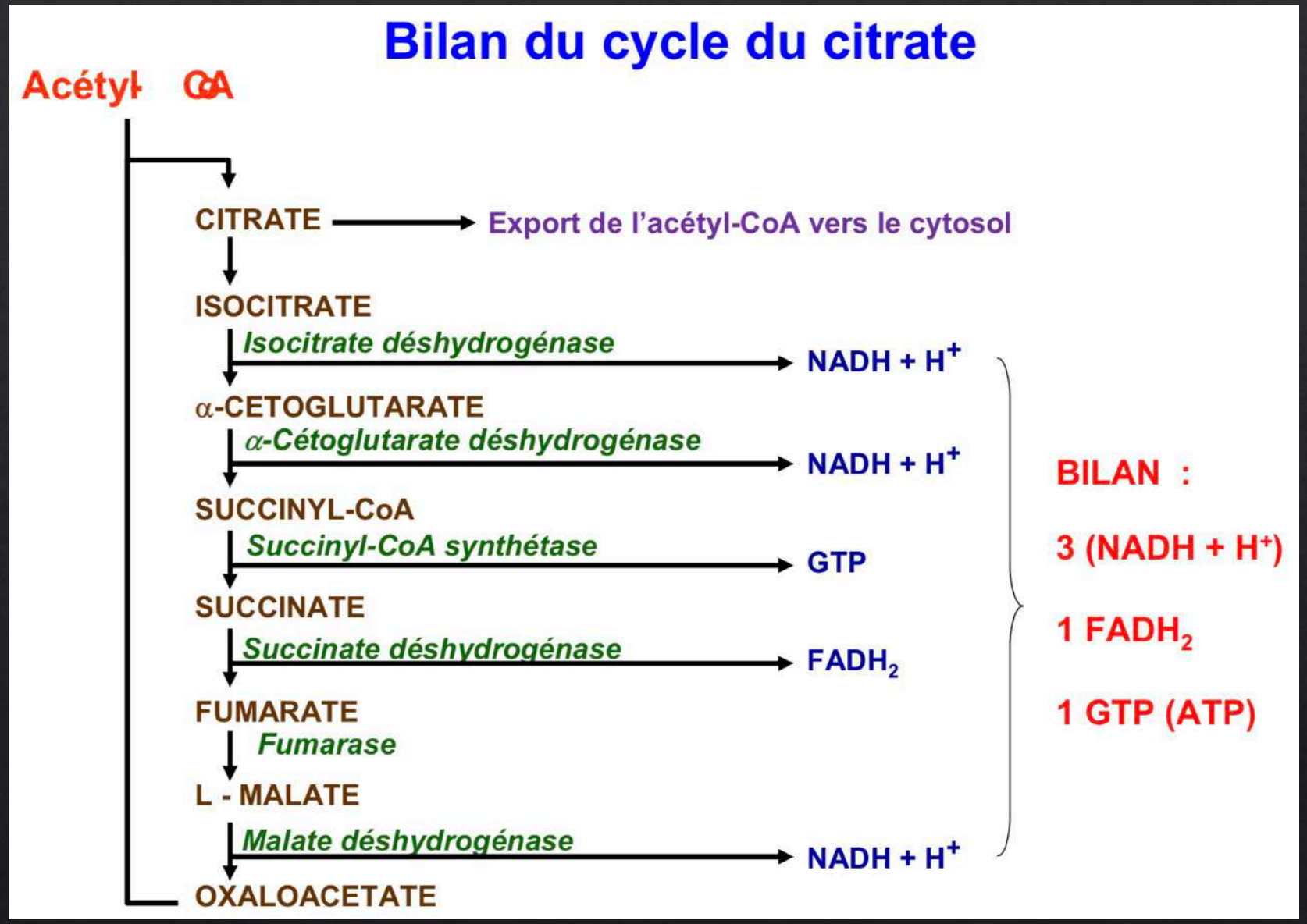
Au niveau **énergétique**, un tour du CK produit :

- DIRECTEMENT → 1 GTP (= 1 ATP)

- INDIRECTEMENT → 3 NADH+H⁺ = 9 ATP
  → 1 FADH2 = 2 ATP

Grâce à la réoxydation dans la CRM ++

Schéma Bilan du prof avec récap rapide de toutes les réactions :



Régulation du CK

Elle se fait au niveau de 3 enzymes qui catalysent des réactions irréversibles :

La Citrate Synthase

L'Isocitrate DH

L'α-céto-glutarate DH

La Citrate Synthase

Activée par :

- ADP

Inhibée par :

- ATP
- $NADH+H^+$
- Citrate
- Succinyl-CoA

L'Isocitrate DH

Activée par :

- ADP
- Ca2+ intracellulaire (si dans le muscle)

Inhibée par :

- ATP

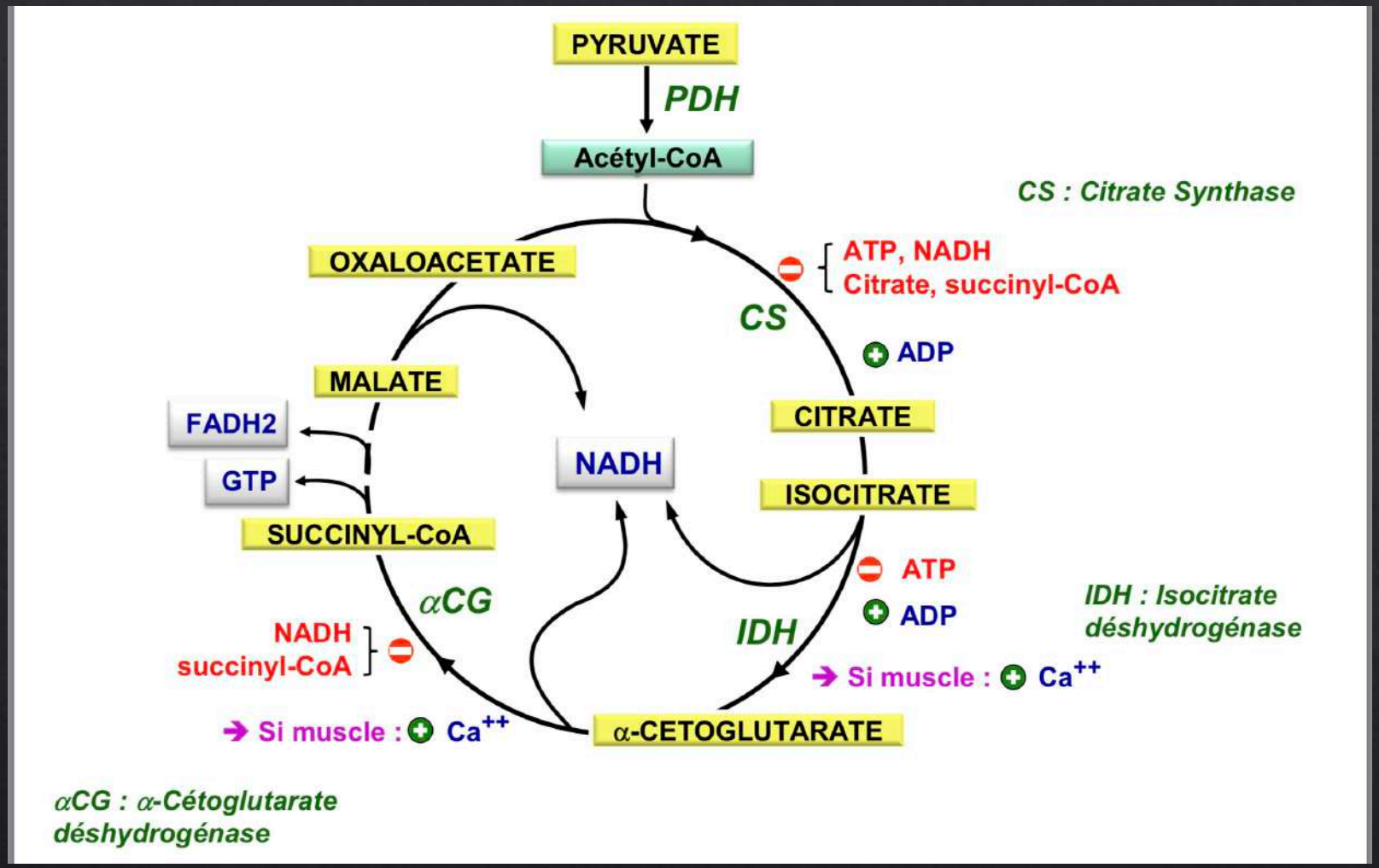
L'α-céto-glutarate DH

Activée par :

- ADP
- Ca2+ (si dans le muscle)

Inhibée par :

- ATP
- $NADH+H^+$
- Succinyl-CoA



Résumé :

- Si on a **besoin d'énergie → CK accéléré**
- Si on a **pas besoin d'énergie → CK freiné**

→ Le rapport [Citrate] / [Isocitrate] commande la vitesse de production d'Acétyl-CoA cytosolique++

La Vitesse d'oxydation de l'Acétyl-CoA dans le CK dépend finalement ;

- [Acétyl-CoA] après Glycolyse et β–oxydation
- Accumulation de produits énergétiques (NADH ou ATP)

La complexité du CK permet une conservation efficace de l'énergie

CK = interface entre Catabolisme et Anabolisme

The End

Pour être le plus rapide et le plus efficace possible, il y certains points qui n'ont pas été abordés dans cette diapo, mais qui sont quand même à connaître :

- Structure de la mitochondrie
- Quelques détails sur la structure de la PDH
- Les pathologies associées aux désordres de la PDH (DPD) ou du CK (Béribéri et Mutations des Enzymes)