

Pyruvate Déshydrogénase (PDH) et Cycle de Krebs

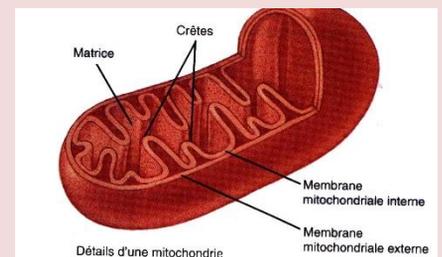
Salut les P1 ! Alors cette fiche a été très légèrement modifiée par rapport à celle de la tut rentrée, avec quelques petits rajouts. Ce n'est pas un cour difficile, des QCMs tombent chaque année dessus et peuvent être gagnés facilement ! Voici donc ma première fiche (soyez indulgents svp je débute <3) qui repose sur les ronéos 2019-2020 et les diapos du prof ! Sur ce, ENJOY .

Vous avez vu que les macromolécules sont hydrolysées en leurs composantes principales (protéines en AA, glucides en glucose ...), elles-mêmes dégradées en pyruvate ou Acétyl-CoA. Si ces deux éléments peuvent être obtenus par des voies métaboliques différentes, on va s'intéresser ici à la production d'Acétyl-CoA à partir du pyruvate.

La mitochondrie c'est comment déjà ? De l'extérieur vers l'intérieur on a :

- La **membrane externe mitochondriale** (MEM) : peu sélective et perméable
- L'**espace intermembranaire mitochondrial** (EIM) : rôle important qu'on reverra dans la CRM*
- La **membrane interne mitochondriale** (MIM) : imperméable et très sélective, on va avoir besoin de système de transport spécifique pour faire passer la plupart de nos molécules ! (plus détaillée aussi dans la CRM) + replis intérieurs (= crêtes) augmentent la surface d'échange
- La **matrice mitochondriale** : contient pleiiiin d'enzymes :

- la Pyruvate DH
- les enzymes du CK SAUF UNE ENZYME (ancrée à la MIM)
- les enzymes de la B-oxydation SAUF UNE ENZYME
- les enzymes du métabolisme des AA



Dans la mitochondrie, on retrouve **beaucoup de protéines nécessaires aux fonctions mitochondriales** (protéines de la CRM, protéines composant l'ATP synthase...) :

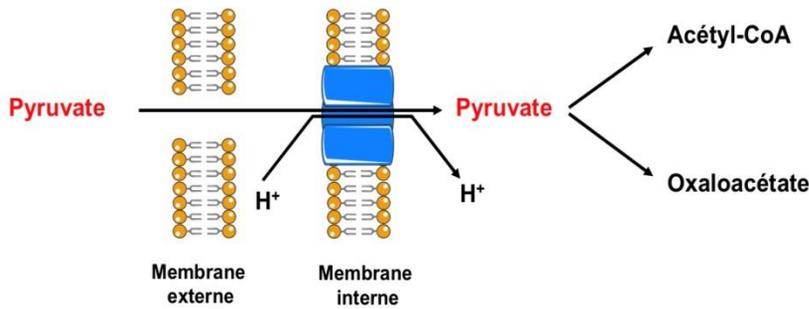
- **20 %** sont codées par le génome mitochondrial → produites in situ qui **restent toujours dans la mitochondrie**
- et les **80 %** restants par le génome nucléaire (transportées du cytosol vers la mitochondrie).

*CRM = Chaîne Respiratoire Mitochondriale

Le Pyruvate

La conversion du pyruvate en Acétyl CoA se fait grâce à la **Pyruvate Déshydrogénase**, qui se trouve dans la mitochondrie. Le pyruvate va donc devoir passer du cytoplasme, où il est produit, à la mitochondrie :

- D'abord, il traverse la membrane externe à travers des pores (= diffusion/transport passif)
- Ensuite, au niveau de la membrane interne, c'est la **pyruvate translocase** (transport actif) qui va faire rentrer le pyruvate en même temps que des protons dans la matrice. C'est un **symport**.



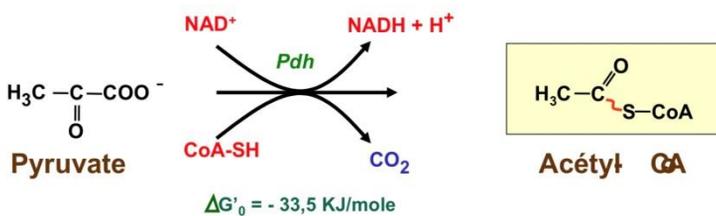
Le devenir du pyruvate dépend des besoins énergétiques de la cellule !

- Etat énergétique suffisant → orientation du pyruvate vers la **NGG**
- Etat énergétique insuffisant → orientation vers le **CK**

Il dépend aussi du tissu dans lequel il se trouve

La Pyruvate Déshydrogénase (PDH)

- C'est le complexe enzymatique qui catalyse la **décarboxylation oxydative du pyruvate en acétyl-CoA**.
- Cette réaction est une passerelle entre la **Glycolyse** et le **cycle du citrate** ; l'**Acétyl-CoA** est un « **carrefour métabolique** ».
- **Seule réaction** qui permet la transformation Pyruvate → Acétyl-CoA
- **Régule l'entrée d'unités acétyles** (sous forme d'Acétyl-CoA) qui proviennent du catabolisme des glucides dans le cycle du citrate.



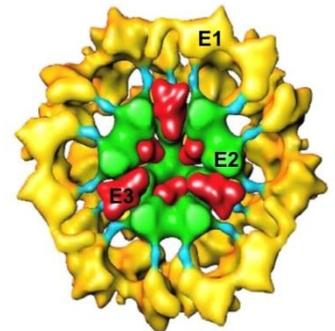
- Réaction irréversible
- Exergonique
- **UNIQUEMENT** en milieu aérobie

I – Structure de la PDH :

C'est un complexe enzymatique (déjà dit 100 fois ...) composé de plusieurs copies de **3 sous unités** enzymatiques E1, E2 et E3. On a de l'extérieur vers l'intérieur : E1, E2 et E3.

A quoi sert cette structure si particulière ?

- Augmentation de la vitesse de réaction
- Canalisation des intermédiaires de la réaction
- Meilleure coordination de la régulation
- **Formation d'une liaison à haut potentiel énergétique thioester sans utiliser d'ATP +++.**



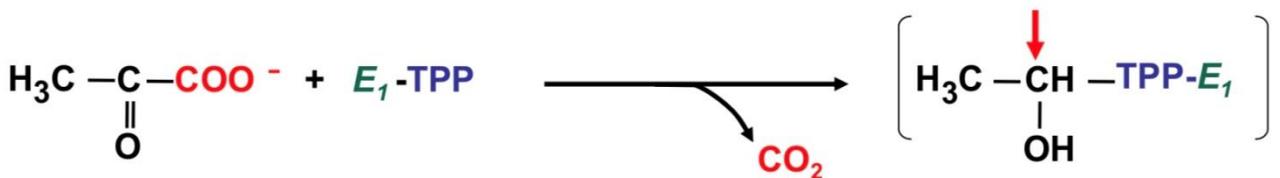
Point Bioénergétique :

L'Acétyl-CoA est une molécule très très énergétique grâce à la liaison Acyl-thioester qui libère 32KJ quand elle est dégradée

Enzymes	Coenzymes
E1 : Pyruvate déshydrogénase	• Thiamine pyrophosphate (TPP)
E2 : Dihydrolipoyl transférase	• Acide lipoïque • CoASH
E3 : Dihydrolipoyl déshydrogénase	• $\text{NAD}^+ / \text{NADH} + \text{H}^+$ • $\text{FAD} / \text{FADH}_2$

II – Réaction détaillée :

Etape 1 : La sous unité E1 utilise le TPP comme coenzyme :

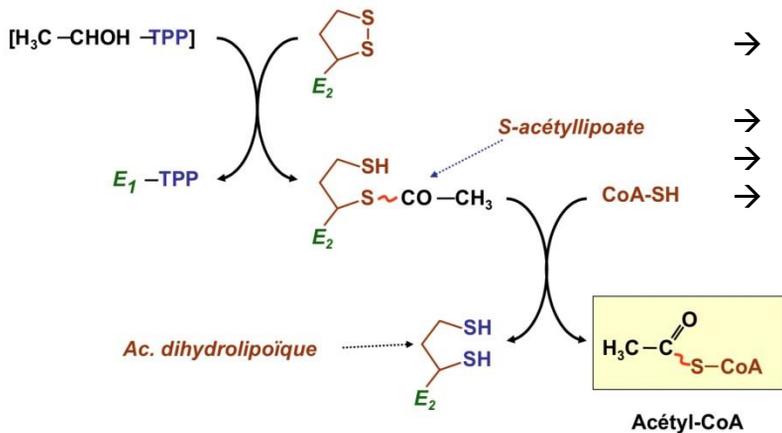


→ Le pyruvate est décarboxylé pour donner un **dérivé hydroxyéthyl** lié au TPP

→ Perte d'un CO_2

→ Réaction la plus lente = étape limitante

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



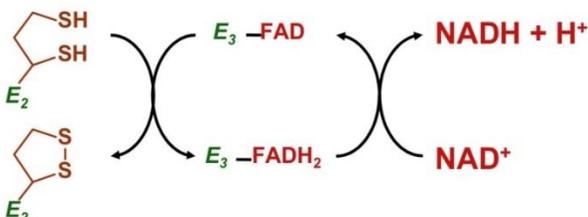
→ L'intermédiaire hydroxyéthyl est oxydé par transfert sur E2-acide lipoïque.

→ On régénère E1 et le TPP

→ Formation de l'intermédiaire S-acétyllipoate

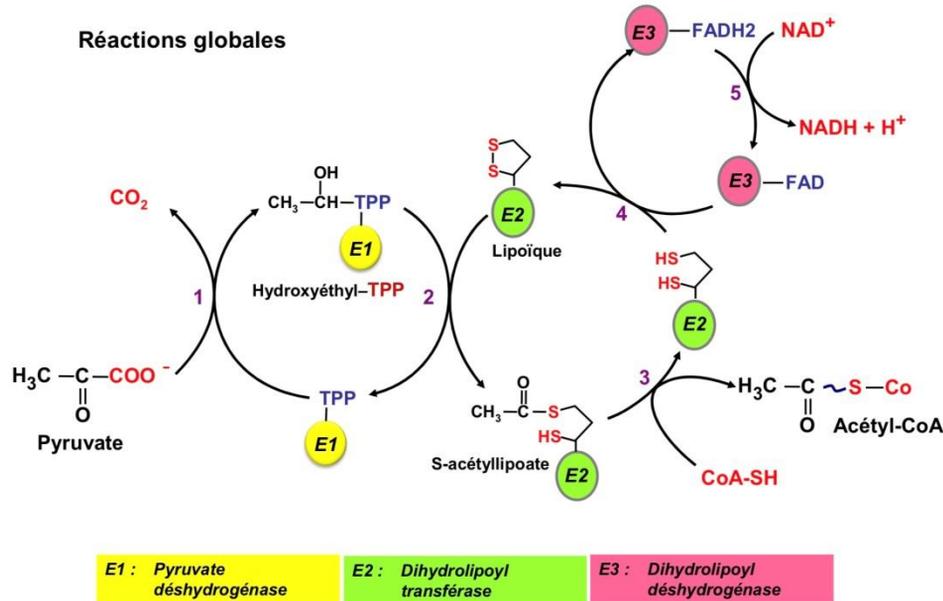
→ Enfin, le coenzyme A récupère le groupement acétyl pour former de l'Acétyl CoA.

Etape 3 : La sous-unité E3 utilise le FAD et le NAD^+ comme coenzyme :



→ E3-FAD permet la réoxydation de l'acide dihydrolipoïque en acide lipoïque ; la flavine réduite et ensuite réoxydée par le NAD^+ (qui devient $\text{NADH} + \text{H}^+$ qui sera réoxydé dans la CRM).

Bilan :

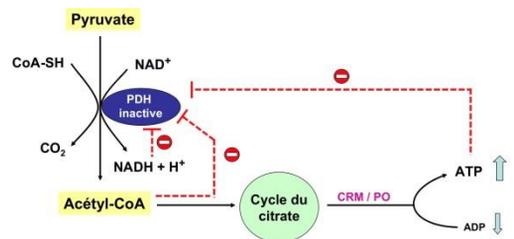
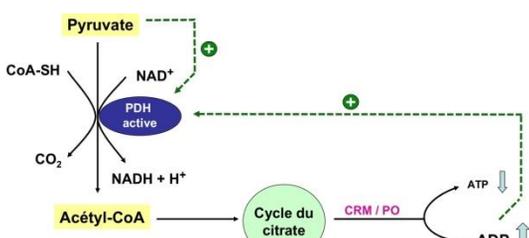
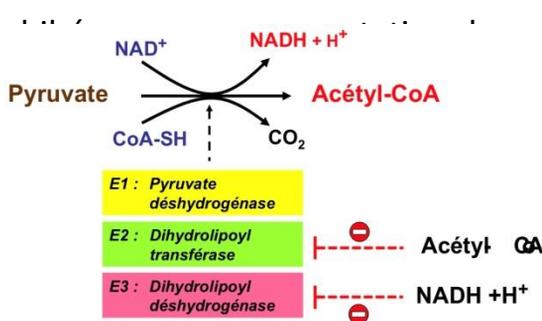


Produits initiaux	Produits finaux
<ul style="list-style-type: none"> - Pyruvate - CoA-SH - NAD⁺ 	<ul style="list-style-type: none"> - CO₂ - Acétyl-CoA - NADH+H

III – Devenir de l'Acétyl CoA :

- **Niveau énergétique faible :**
Acétyl -CoA → Citrate → Suite du CK → production NRJ
- **Niveau énergétique élevé :**
Acétyl-CoA → Citrate → Sort de la mitochondrie → synthèse AG/CC

IV – Régulation de la PDH :

<p>Régulation Covalente (que E1)</p>	<p>PDH kinase</p>	<p>→ Phosphorylation sur le résidu Sérine de E1</p> <p>→ INHIBITION PDH</p> <p>→ Se réalise quand on a une augmentation de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - [NADH] - [Acétyl-CoA] - ATP 
	<p>PDH Phosphatase</p>	<p>→ Déphosphorylation sur le résidu Sérine de E1</p> <p>→ ACTIVATION PDH</p> <p>→ Se réalise quand on a une augmentation de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - [Pyruvate] - ADP - [Ca²⁺ intracellulaire] résultant d'une activité musculaire <p>Le pyruvate et l'ADP inhibent la PDH Kinase tandis que le Ca²⁺ activent la PDH Phosphatase.</p> 
<p>Régulation allostérique (E2 et E3)</p>	<p>E2</p> <p>E3</p>	<p>→ Inhibée par une augmentation de [Acétyl-CoA]</p> <p>→</p> 

⌘ Exemple du jeûne : (= faible [Glucose])

- Augmentation de la transcription des gènes codants pour la PDH Kinase
- Diminution de la transcription des gènes codants pour la PDH Phosphatase

On veut **un max de PDH phosphorylée donc un max de PDH inactive** pour favoriser :

- Blocage catabolisme du glucose
- Orientation vers l'utilisation de lipide
- Augmentation de la protéolyse musculaire → précurseurs de la NGG

Ptit récap Régulation :

Deux systèmes :

- **Allostérique : inhibition par des produits de la réaction:**
 - Acétyl-CoA inhibe E2
 - NADH inhibe E3
- **Modifications covalentes : balance phosphorylation/déphosphorylation:**
 - Phosphorylation par PDH Kinase → inactive PDH
 - Déphosphorylation par PDH Phosphatase → active PDH

Patho : Déficit en PDH (= DPD)

- *Maladies neurologiques rares associant anomalies neurologiques et métabolisme énergétique.*
- *Premières causes d'acidose lactique congénitale primitive.*
- *6 sous types décrits en fonction de la SU affectée ; la plus fréquente est celle du gène PDHA1 codant pour E1.*
- *Manifestations variables : d'une forme néonatale létale à des présentations neurologiques plus tardives.*



Ta tête quand tu réalises que t'en es qu'à la moitié de la fiche, mais que tu te mélanges déjà les pinceaux entre inhibition et activation de la PDH ... Allez accrochez-vous , c'est bientôt fini 😊

Cycle de Krebs / Cycle du Citrate

I – C'est quoi ça ?

- Voie finale de l'**oxydation** du glucose et d'autres molécules énergétiques, telles que les acides gras et les acides aminés, avec comme **point d'entrée ... l'Acétyl-CoA !** (*tiens donc*)
- **L'Acétyl-CoA = point de convergence du catabolisme des différentes molécules (lipides, glucides, protéines) et de la production d'énergie.**
- Permet l'oxydation de l'Acétyl-CoA en CO₂
- Permet la **formation de coenzymes réduits** (1 tour → 3 NADH+H⁺ et 1 FADH₂)
- Toutes les réactions se font **en voie aérobie car dans la matrice mitochondriale**



Le CK a lieu dans la mitochondrie, donc dans toutes les cellules qui en possèdent ! Il concerne ainsi toutes les cellules SAUF LES ERYTHROCYTES (GR) qui n'ont pas de mitochondrie.

- En gros : **Voie du catabolisme oxydatif et aérobie du groupement acétyl activé sous forme d'Acétyl-CoA.**
- Ensemble de **8 réactions** avec élimination de 2C de l'Acétyl-CoA sous forme de CO₂ avec :
 - 4 réactions sur 8 d'oxydo-réduction
 - 1 réaction sur 8 avec production d'1 GTP

Attention, le CK permet surtout une **production indirecte** d'énergie par la production des coenzymes réduits qui seront réoxydés plus tard avec la CRM. (production directe → 1 GTP)

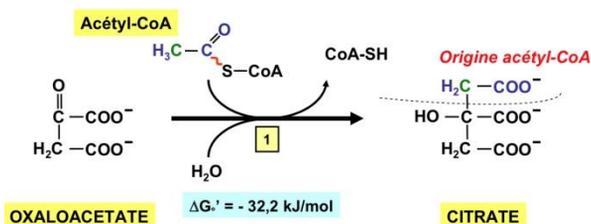
Plus de 95% de l'énergie de l'être humain est générée par le CK en associant avec la phosphorylation oxydative (PO) !

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

II – Réactions détaillées :

Les schémas proviennent du diapo de l'année dernière du prof, je vais faire étape par étape en rentrant un peu dans les détails mais je sortirai à la fin un schéma récap !

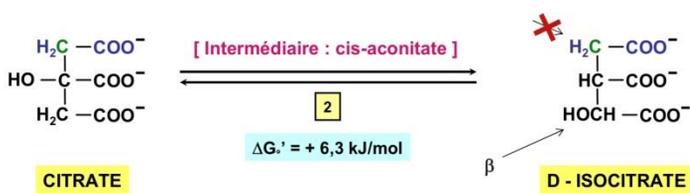
Etape 1 : Condensation de l'Acétyl-CoA sur l'OAA



- Enzyme : **Citrate synthase (1)**
- Produit : Citrate
- **Exergonique et irréversible**
- Réalisable même avec [OAA] basse

(si la cellule n'a pas besoin d'énergie, le citrate est exporté vers le cytoplasme pour faire la synthèse d'AG et de cholestérol → je ne détaille pas, vous le reverrez en lipidique)

Etape 2 : le citrate est isomérisé en isocitrate :

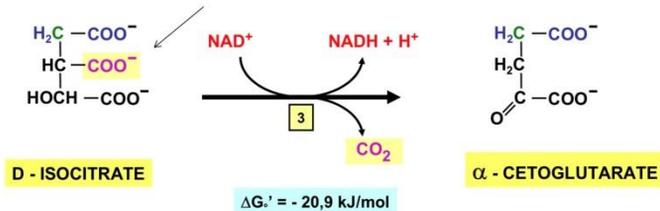


- Enzyme : **aconitase (2)**
- **Réversible** en 2 étapes :
 - 1) Déshydratation (formation cis-aconitate)
 - 2) Hydratation (formation Isocitrate)
- Cofacteur : centre Fer-Soufre et Glutathion



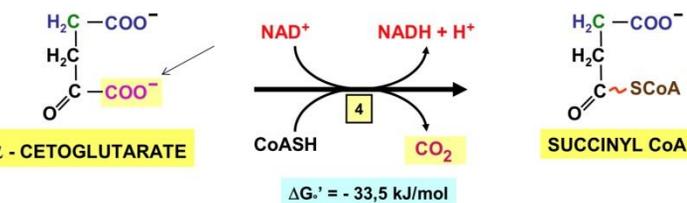
Déplacement stéréospécifique de -OH toujours vers le carbone β

Etape 3 : 1^{ère} réaction de décarboxylation oxydative :



- Enzyme : **Isocitrate DH (3)**
- **Irréversible** et **exergonique ++**
- Formation de l' α -cétooglutarate
- On libère le 1^{er} CO₂
- Coenzyme réduit NADH+H+

Etape 4 : 2^{ème} réaction de décarboxylation oxydative :



- Enzyme : **α -cétooglutarate DH (4)**
- **Irréversible** et **exergonique ++**
- Formation du Succinyl CoA (liaison très énergétique)
- On libère le 2^{ème} CO₂
- Coenzyme réduit NADH+H+

- ① L' α -cétooglutarate est un complexe enzymatique constitué de :
- 3 apoenzymes (E1, E2, E3)
 - 3 coenzymes liés (TPP, Acide lipoïque, FAD)
 - 2 coenzymes libres (NAD⁺, CoA-SH)

Apoenzyme

E1 : α -Cetoglutarate déshydrogénase

E2 : Dihydrolipoyl transférase

E3 : Dihydrolipoyl déshydrogénase

Coenzyme

• Thiamine pyrophosphate (TPP)

• Acide lipoïque
• CoASH

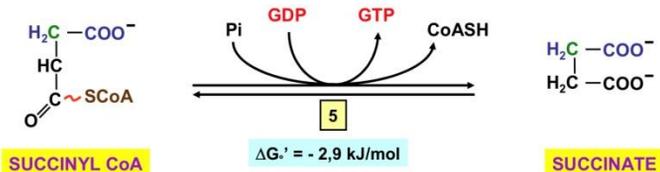
• NAD⁺ / NADH + H⁺
• FAD / FADH₂

Le substrat et le produit de cette réaction = **carrefours métaboliques** :

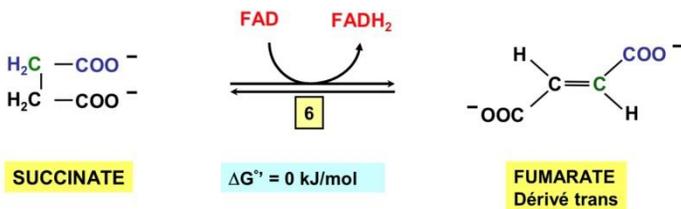
→ **α -cétooglutarate** = voie d'entrée dans le CK d'AA et fait partie de la navette malate/aspartate

→ **Succinyl-CoA** = élément de base de la synthèse de l'hème + utilisation non hépatique des CC

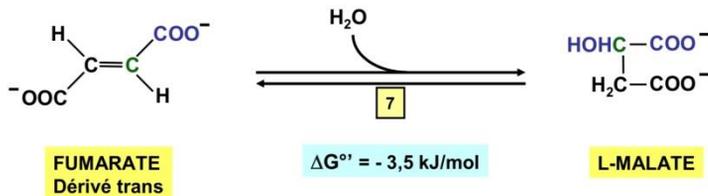
Etape 5 : transfert de la liaison à haut potentiel énergétique du Succinyl CoA à partir de Pi et de GDP :



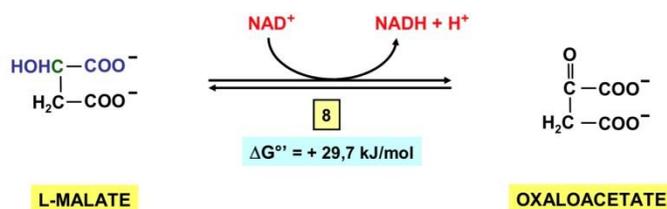
- Enzyme : **succinyl-CoA synthétase (5)**
- On libère **1 GTP**
- Seule réaction qui produit directement de l'énergie
- Le GTP pourra se transformer en ATP grâce à la nucléoside diphosphate kinase.

Etape 6 :

- Enzyme : **Succinate DH (6)** → seule enzyme du CK ancrée à la MIM, partagée avec la CRM
- Coenzyme : FAD (réduit en FADH₂)
- Formation de **Fumarate en Trans**

Etape 7 :

- Enzyme : **Fumarase (7)**
- Réversible
- On utilise **une molécule d'H₂O**
- Formation de **L-Malate**

Etape 8 :

- Enzyme : **Malate DH (8)**
- **Formation de l'OAA**
- Coenzyme réduit NADH+H⁺
- Réaction **endergonique** qui déplace **l'équilibre en faveur du malate** et maintient une concentration faible d'OAA

Bilan :**D'un point de vue énergétique :**

- Le CK ne permet la formation que d'1 GTP (= 1 ATP)
- La dégradation d'un acétyl-CoA au cours du cycle permet la formation de **3 NADH+H⁺ et 1 FADH₂**:
- Chaque NADH+H⁺ réoxydé au niveau de la CRM génère **3 ATP**
- Chaque FADH₂ réoxydé au niveau de la CRM génère **2 ATP**

Donc : 1 pyruvate → 1 Acétyl-CoA + 1 NADH → 1 tour de CK → 1 GTP + 3 NADH + 1 FADH₂
 soit en équivalent ATP = 1x3 ATP à ajouter à → 1 ATP + 3x3 ATP + 1x2 ATP = 12 ATP
= 15 ATP

Autrement dit, si on part du pyruvate (conversion du pyruvate en Acétyl-CoA, puis Acétyl-CoA qui fait un tour du CK, on produit l'équivalent de 15 ATP. Si on part de l'Acétyl-CoA, qui va faire un tour du CK, on produit l'équivalent de 12 ATP ++

III – La régulation du Cycle du Citrate :

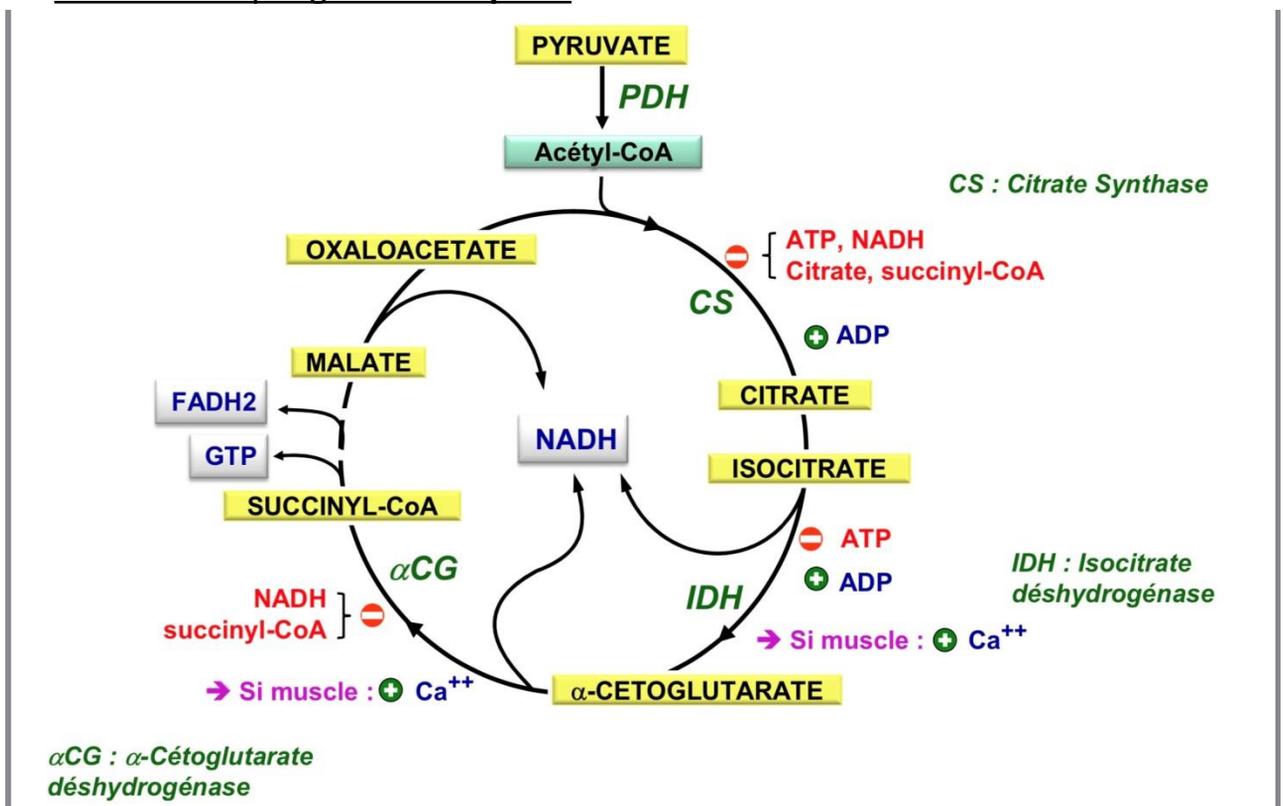
La régulation se fait au niveau de **3 enzymes** :

	Activateurs	Inhibiteurs
Citrate Synthase	- ADP	- ATP - NADH - Citrate - Succinyl-CoA
Isocitrate DH	- ADP - Ca ²⁺ (dans le muscle)	- ATP
α-cétoglutarate DH	- ADP - Ca ²⁺ (dans le muscle)	- ATP - NADH - Succinyl-CoA

→ Le CK est : **Accéléré si les besoins énergétiques sont insatisfaits**
Freiné si besoins énergétiques sont satisfaits

→ Le rapport [citrate]/[isocitrate] commande la vitesse de production d'Acétyl-CoA cytosolique (donc après la sortie du citrate dans le cytoplasme)

Schéma Récap régulation du prof :



IMPORTANT :

- Complexité du CK permet une conservation efficace de l'énergie
- Interface entre **Catabolisme** avec production d'énergie et **Anabolisme** par la synthèse de nouvelles molécules à partir de ces intermédiaires.

Patho 1 : Béribéri :

- *Carence en vitamine B1 = thiamine → défaut de synthèse de la TPP → activités enzymatiques de la PDH et de l'α-cétoglutarate faible*
- *Signes cliniques : paralysie, tremblements des mains, pieds ou tout le corps, parfois pertes des fonctions neuronales.*
- *Surtout en extrême orient → consommation de riz ++ faible en vitB1*

Patho 2 : Mutation des enzymes du CK :

- *Rares chez l'homme mais conséquences graves*
- *Mutation de la fumarase → cancer des muscles lisses et des reins*
- *Mutation de la succinate DH → cancer des glandes surrénales*



Et voilà cette fiche est terminéeeee ! Cette fiche est SUPER détaillée, donc peut vous servir de support cette année, si vous préférez bosser sur les fiches plutôt que sur les ronéos (s'il y a des modifs dans l'année, no problemo, je corrige). C'est ma toute première fiche donc j'espère que cette présentation vous conviendra pour que vous puissiez agréablement bosser avec !

Si vous avez des remarques constructives à faire, du genre « plus de tableau », « plus de schémas », « écris plus gros ou plus petit », « plus de couleurs », ... bref ce que vous aimeriez avoir dans vos fiches, n'hésitez pas à m'en faire part ! Côté présentation (*pas trop tôt*) : moi c'est Elisa (**Pedrassou** sur le fofo), une de vos tut de Biochimie ! Cette année nous sommes une team bien girly, et deux super nanas m'accompagnent dans cette aventure : Marianne (aka **Marianemie**) et Sarah (aka **Blass**) ! Nous sommes toutes les trois là pour vous accompagner jusqu'au concours et faire tout notre possible pour que vous soyez prêts au maaaaax le jour J !

La bioch n'est pas une matière facile, on le sait, mais croyez moi ça en vaut la peine, alors donnez-vous à fond <3