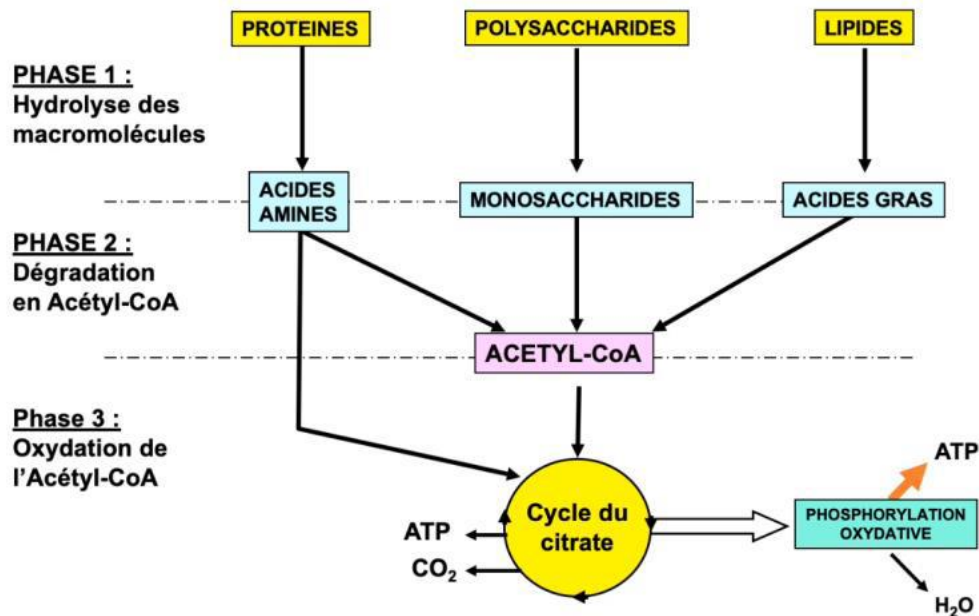


La Pyruvate Déshydrogénase

I- INTROUCTION

Rappels sur les grandes phases du métabolisme mitochondrial :



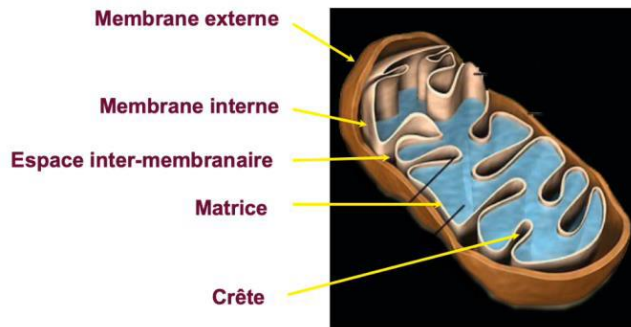
En fait l'acétyl-CoA obtenu, ce dernier va être oxydé dans le cycle du citrate = cycle de Krebs afin de produire des coenzymes réduits tels que le $\text{NADH} + \text{H}^+$ ou encore FADH_2 qui vont eux, être réoxydés au niveau du cycle respiratoire mitochondriale (CRM) afin de produire de l'ATP et des molécules d' H_2O .

Présentation de la mitochondrie++ :

La structure de la mitochondrie est caractéristique. Elle est composée de deux membranes :

- Une membrane mitochondriale externe (*membrane perméable et peu sélective*)
- Une membrane mitochondriale interne (*membrane imperméable et très sélective*)

On retrouve au milieu des deux membranes un **espace inter-membranaires**.



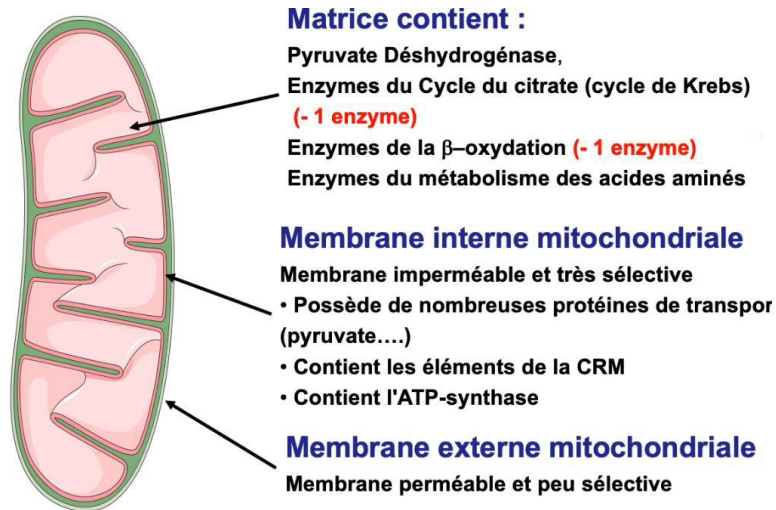
La membrane interne présente des repliements (**des crêtes**) qui va permettre **d'augmenter la surface de contact**.

Au centre de la mitochondrie, on retrouve la **matrice mitochondriale** où l'on va retrouver les principales enzymes des voies métaboliques se déroulant dans la mitochondrie.

La matrice mitochondriale :

Elle contient de nombreuses enzymes importantes :

- La PDH
- Les enzymes du **cylcle du citrate (-1)**
- Les enzyme de **la Béta-Ox - 1** (*attention la première enzyme (l'acyl-CoA DH) est ancrée dans la membrane et donc n'est pas situé dans la matrice !*)
- Les enzymes du métabolisme des AA



La membrane externe mitochondriale : (MEM) :

C'est une membrane perméable et peu sélective + (pensez à une passoire).

La membrane interne mitochondriale : (MIM) :

C'est une membrane imperméable et très sélective ++++

On retrouve au sein de cette membrane :

→ Des éléments de la CRM

→ L'ATP synthase

→ Mais on va surtout retrouver de nombreuses protéines de transport (pyruvate, citrate...). En effet, vu que la membrane est imperméable, il faut la présence de protéine de transport pour réussir à traverser cette membrane !

Membrane interne → Imperméable et très sélective

Membrane externe → Perméable et peu sélective

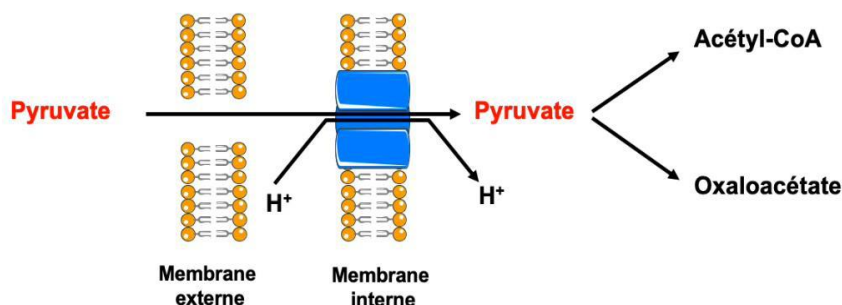
II- LE METABOLISME MITOCHONDRIAL

A) L'entrée du pyruvate dans la mitochondrie

Le métabolisme mitochondrial commence par l'entrée du pyruvate dans la mitochondrie.

Ce passage dans la mitochondrie va se faire en deux étapes :

- 1) Passage de la Membrane externe qui est perméable. Le pyruvate va traverser cette membrane par un **système de diffusion passif** via une **porine**
- 2) Passage de la membrane interne qui est imperméable au pyruvate. Nécessite l'utilisation d'une protéine de transport actif : **La pyruvate translocase**



Cette pyruvate translocase est un **symport** avec un transport de pyruvate couplé à l'entrée de proton (H+). Ces protons proviennent de la CRM (cf. Cours CRM).

C'est le potentiel de membrane généré par le gradient de protons (produit dans la CRM) qui est la force motrice.++

Une fois arrivé dans la mitochondrie le pyruvate peut donner :

- De l'**acétyl-CoA**, catalysé par la **Pyruvate Déshydrogénase (PDH)**
- De l'**Oxaloacétate**

Le devenir du pyruvate sera dépendant du niveau énergétique de notre cellule : fort potentiel énergétique.

Si on a pas besoin de produire de l'ATP, le pyruvate s'orientera vers la voie de la **néoglucogénèse** : faible potentiel énergétique.

Si l'on a besoin d'ATP, le pyruvate s'orientera vers le cycle de Krebs. Il sera transformé en **acétyl-CoA** par la PDH.

B) L'origine de l'acétyl-CoA

L'**acétyl-CoA** peut être produit à partir de plusieurs origines :

- Oxydation des AG → **β-oxydation**
- Lors de la **cétolyse**
- La dégradation oxydative des AA cétoènes
- Lors de la **décarboxylation oxydative du pyruvate** via la PDH

Cette décarboxylation oxydative du pyruvate constitue la passerelle entre la **glycolyse** et le **cycle du citrate**.

Elle est catalysée par la **pyruvate déshydrogénase** qui est un complexe multi-enzymatique :

→ Composé de **3 enzymes** différentes

→ L'implication de **5 coenzymes** différents

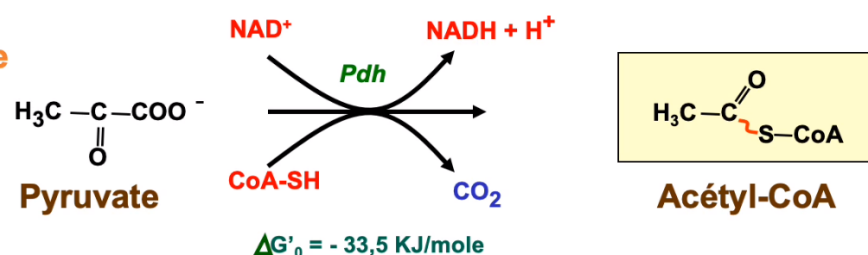
III- LA PYRUVATE DESHYDROGENASE (PDH) +++

A) Définition

La PDH est un enzyme contenue dans la matrice mitochondriale qui régule l'**entrée d'unités acétyl** (sous forme d'acétyl-CoA) provenant du catabolisme des glucides dans le cycle du citrate.

→ Cette **enzyme** est fonctionnelle uniquement en condition **aérobie** !

Réaction globale



Cette réaction permet le passage du pyruvate (molécule à 3 carbones) à une molécule d'acétyl-CoA (2C). On utilise le coenzyme NAD^+ qui sera réduit en $\text{NADH} + \text{H}^+$ (qui sera réoxydé au niveau de la CRM pour produire de l'ATP).

Chez les mammifères, la réaction de décarboxylation est irréversible ($\Delta G = -33,5 \text{ KJ/mol}$) → C'est la seule voie de **synthèse d'acétyl-CoA** à partir du pyruvate.

B) Structure de la PDH +++++

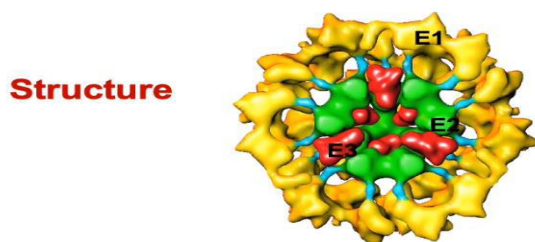
Cette partie c'est vraiment par cœur !

Le complexe enzymatique de la PDH est composé de 3 sous-unités enzymatique avec leurs coenzymes respectifs+++++

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

Voici la modélisation du complexe de la PDH, c'est une structure dans laquelle les différentes sous unités sont localisées de manière précise :

(Attention il faut bien savoir où se situe quelle enzyme au niveau du complexe → tombe souvent en item !!)



- ✚ A l'extérieur → on retrouve l'enzyme E1 : PDH
- ✚ Un peu plus à l'intérieur → on retrouve la sous unité E2 : Dihydrolipoyl transférase avec en bleu l'acide lipoïque qui est au contact de l'enzyme E1. Cela permet le transfert des groupements entre E1 et E2
- ✚ Au centre → on retrouve E3 : dihydrolipoyl - déshydrogénase.

Cette structure est organisée de sorte à pouvoir prendre en charge cette réaction qui libère beaucoup d'énergie. Une seule enzyme ne pourrait pas catalyser à elle seule cette réaction !

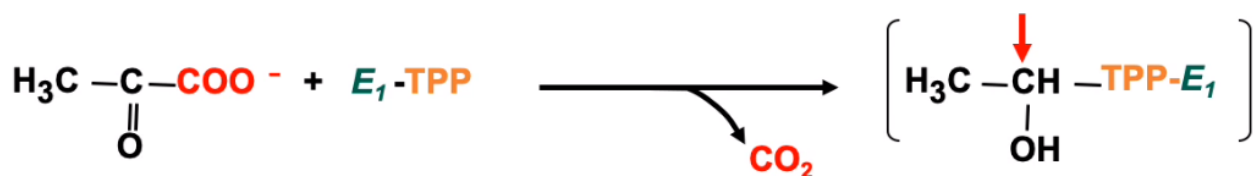
Ce complexe possède plusieurs caractéristiques :

- On retrouve **plusieurs copies de chaque enzyme** (E1, E2 et E3).
- Le fait que les Enzymes soient très serrés, cela permet d'empêcher que certains produits de puissent quitter le complexe. → **Canalisation des intermédiaires réactionnels**.
- Cette structure permet aux réaction de se faire **plus rapidement**.
- Cela permet d'avoir une **meilleure coordination de la régulation**.

Ce complexe permet la formation d'une liaison à haut potentiel énergétique (thioester) sans utilisation d'ATP ++++

C) Les étapes du complexe PDH

Etape 1 :

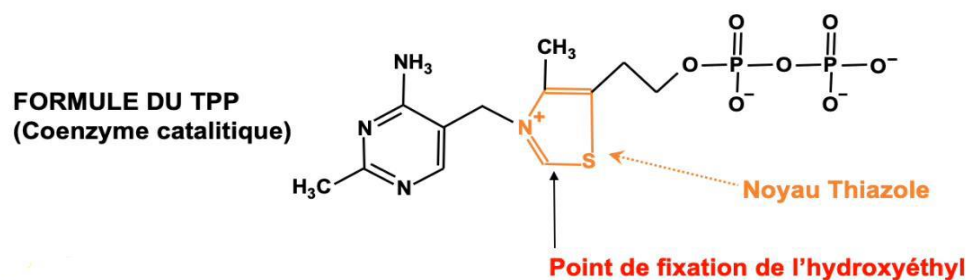


- E1 : Pyruvate DH
- Coenzyme utilisé → le TPP

Lors de cette réaction, le pyruvate est **décarboxylé** pour donner un dérivé hydroxyéthyl lié au TPP

Production : Hydroxyéthyl et libération d'un CO₂

C'est l'étape la plus lente → étape **limitante** de la réaction.



Vous voyez ici le point de fixation de l'hydroxyéthyl produit au niveau du noyau thiazole.

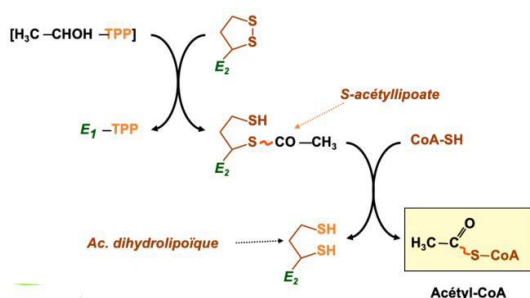
Etape 2 :

- E2 : Dihydrolipoyl transférase
- Coenzyme utilisé → Acide Lipoïque + CoA-SH

Dans cette réaction on aura le premier coenzyme (l'**acide lipoïque**) qui est sera **attaché à la sous unité E2** et ensuite on aura **le coenzyme A** qui va participer à la réaction et permettre la formation d'un **acétyl-CoA**.

Au début, la molécule hydroxyéthyl-TPP va être oxydée par transfert sur l'acide lipoïque fixé à E2 → **formation d'un S-acétyllipoate**.

Ensuite le groupement acétyl est donné au **coenzyme A** (CoA-SH) afin de former **un acétyl-CoA**. D'autre part, il y a la formation d'un **acide lipoïque sous forme réduite** (Ac. Dihydrolipoïque) fixé à E2.

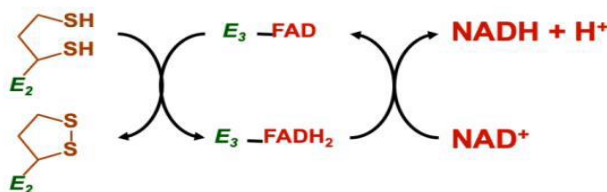


Mais maintenant que le produit de la réaction (Acétyl-CoA) est formé, à quoi sert E3 ?
Le but des prochaines réactions va être de réoxyder l'acide lipoïque pour permettre le bon fonctionnement du complexe !

Etape 3 :

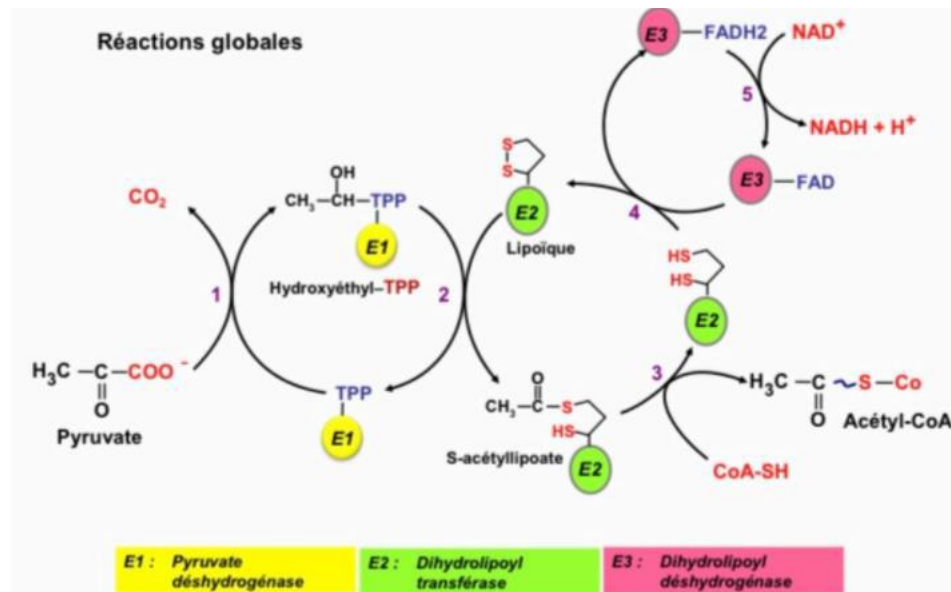
- E3 : Dihydrolipoyl déshydrogénase
- Coenzyme utilisé → FAD et NAD^+

Dans cette dernière étape, l'**acide lipoïque est réoxydé** par le **FAD** par l'intervention de l'**E3**. Ensuite le **FADH₂-E3** sera lui aussi réoxydé par le **NAD⁺**



- Libération d'une molécule de $NADH+H^+$ qui sera réoxydé au niveau de la CRM.
- A la fin de cette 3^{ème} étape, tous les coenzymes auront retrouvés leur forme d'origine ++

Schéma récap :



1. **Décarboxylation** = perte d'1 CO_2
2. Transfert groupement hydroxyethyl sur TPP associé à E1
3. Transfert groupement hydroxyethyl sur l'acide lipoïque associé à E2 (permet la régénération de E1 et du TPP)
4. Formation d'un S-acétyllipoate
5. Transfert du groupement acétyl sur le CoA
→ Formation de l'acétyl CoA

Ensuite : Oxydation de l'acide lipoïque :

- E3 porte FAD qui va se retrouver dans sa forme réduite de FADH2
- Intervention d'une NAD à réoxydation du FADH2 en FAD au niveau de la sous unité E3
- Production de la molécule de NADH + H^+ qui sera oxydé au niveau de la CRM

D) Le devenir de l'acétyl-CoA

L'acétyl-CoA fonctionne comme un interrupteur moléculaire selon les besoins énergétiques de la cellule. (Foie)

- ✚ Dans le cas d'un niveau énergétique faible : On aura besoin de produire de l'énergie, l'acétyl-CoA intègre le cycle du citrate où il sera dégradé en CO_2 pour produire de l'énergie.
- ✚ Dans le cas d'un niveau énergétique élevé : L'acétyl-CoA est un donneur d'acétate pour la synthèse des AG et des corps cétoniques.

E) Mécanisme de régulation de la PDH

Il est important que le complexe puisse être finement régulé pour répondre aux besoins de la cellule.

Le complexe enzymatique de la PDH présente plusieurs type de régulation :

→ Covalente par phosphorylation/déphosphorylation

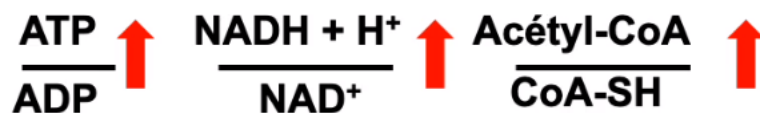
→ Allostérique

Lorsque E1 (PDH) est phosphorylé → inhibition du complexe +++++
 Lorsque E1 (PDH) est déphosphorylé → activation du complexe +++++

1- Régulation covalente ++

Au repos :

- ✚ Période de repos donc pas de **demande de production d'énergie**. Au repos, les ratios de l'ATP, du NAD⁺ et de l'acétyl-CoA sont élevés.



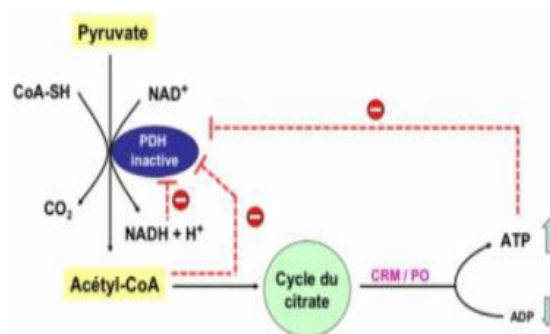
- ✚ La cellule a donc pas besoin de produire de d'énergie, on a pas besoin que le complexe de la PDH soit actif ! → On va donc **inhiber la PDH**
- ✚ Ces ratios élevés d'ATP, du NADG et de l'acétyl-CoA stimulent l'activité de la **PDH kinase**.
- ✚ **PDH kinase active** : on aura une **phosphorylation du résidu Ser de la PDH** (enzyme E1 du complexe) entraînant l'**inhibition du complexe** +++

Donc, **lorsque la charge énergétique est élevée**, on a une augmentation de :

- La concentration de **NADH** et **d'acétyl-CoA**
- La concentration **d'ATP** (produit métabolique ultime)



Inhibition du complexe **PDH**



En période d'activité :

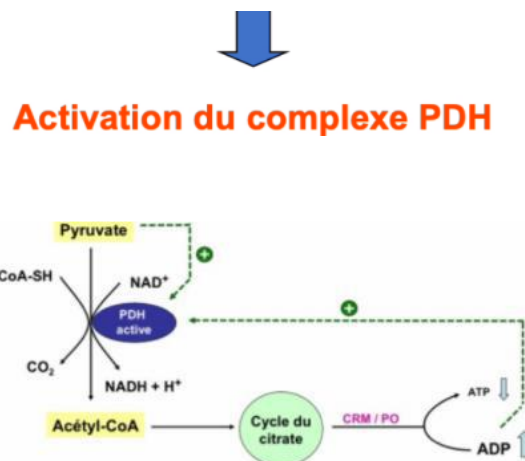
- ✚ Période d'effort, le muscle a besoin d'une **production d'énergie** : lors d'une contraction musculaire, le muscle a besoin d'énergie donc il faut que le complexe soit activé.
- ✚ Il faut donc que la PDH soit sous sa forme déphosphorylée (forme active)

On aura **deux mécanisme** :

- D'une part, on aura une **augmentation de [ADP]** (*effet de la consommation d'ATP*) ainsi que l'**augmentation de [pyruvate]** (*activité de la glycolyse*). L'ATP et le pyruvate inhibent la PDH kinase
- D'autre part, lors de la contraction musculaire, il y a une **augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire**

➔ Cette **augmentation de $[Ca^{++}]$** va activer la PDH phosphatase

La PDH (E1) du complexe sera sous forme déphosphorylée donc sous forme active !



Si l'on résume, la PDH est active lorsque la cellule a besoin de produire de l'énergie. Mais lors d'une situation de repos, la PDH devient inactive +++

ACTIVE

- [glucose] élevée / après un repas
- insuline
- **Demande importante en ATP**
- Déficit en substrat énergétique de remplacement (AG, CC)
- Lipogenèse

INACTIVE

- Déficit en glucose / jeûne
- Faible demande en ATP
- Excédent en substrats énergétiques alternatifs (AG, CC)

2- Régulation allostérique

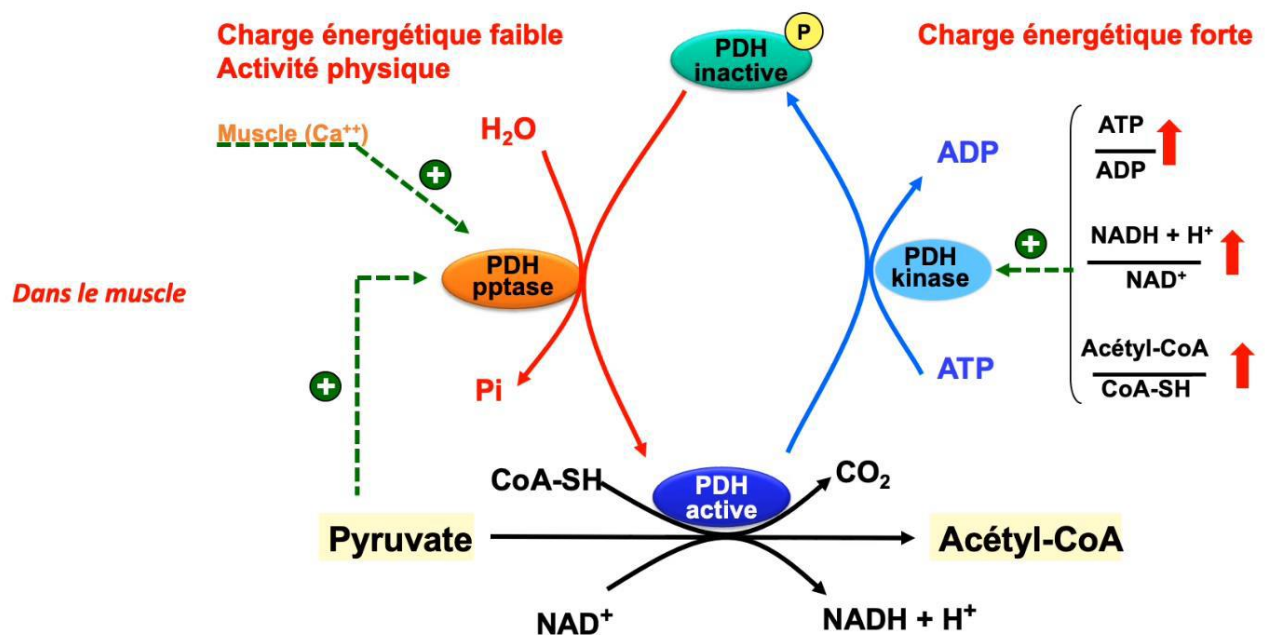
On aura une inhibition par les produit de la réaction. Cette régulation se fait sur les **sous unités E2 et E3** :

- L'acétyl-CoA inhibe la sous unité E2
- Le NADH+H⁺ inhibe la sous unité E3

3- Récap de la régulation ++

Régulation covalente	Régulation allostérique
<ul style="list-style-type: none"> - Elle se fait uniquement au niveau de l'enzyme E1 du complexe (au niveau de la ser) par phosphorylation/déphosphorylation - Au repos : activation de la PDH kinase qui phosphoryle E1 → forme inactive - PDH kinase inhibée par l'ADP et le pyruvate - PDH phosphatase activée par augmentation du Ca²⁺ intracellulaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Au niveau des enzymes E2 et E3 du complexe - L'acétyl-CoA inhibe E2 - NADH+H⁺ inhibe E3

Schéma récap de la prof :



F) Fonctionnement de la PDH musculaire

L'isoforme musculaire de la PDH phosphatase qui déphosphoryle l'enzyme E1-PDH peut être activé par le Ca^{++} .

En effet, lors de la **contraction musculaire**, on a une augmentation du Ca^{++} cytosolique qui se traduit par une augmentation de **Ca^{++} mitochondriale**.

→ Cette augmentation du Ca^{++} mito, permet d'activer la **PDH phosphatase** qui va **déphosphoryler** la PDH qui sera **sous forme active**.

PDH active → entraîne une production d'acétyl-CoA à partir du pyruvate et qui permet au cycle de Krebs de fonctionner.

Lors d'un exercice, le métabolisme mitochondrial musculaire peut être stimulé.

Conclusion :

PDH est responsable de la transformation du pyruvate en acétyl-CoA au niveau de la mitochondrie.

Ce complexe est composé de 3 sous unités enzymatique (E1 ; E2 et E3) et 5 co-enzymes

Il y aura une régulation par phosphorylation au niveau de E1 sur une Serine :

- PDH phosphorylé par la PDH kinase → inactive
- PDH déphosphorylée par la PDH phosphatase → active

Une régulation par allostérie au niveau de E2 et E3 :

- Acétyl-CoA → inhibition de la sous unité E2
- NADH → inhibition de la sous unité E3