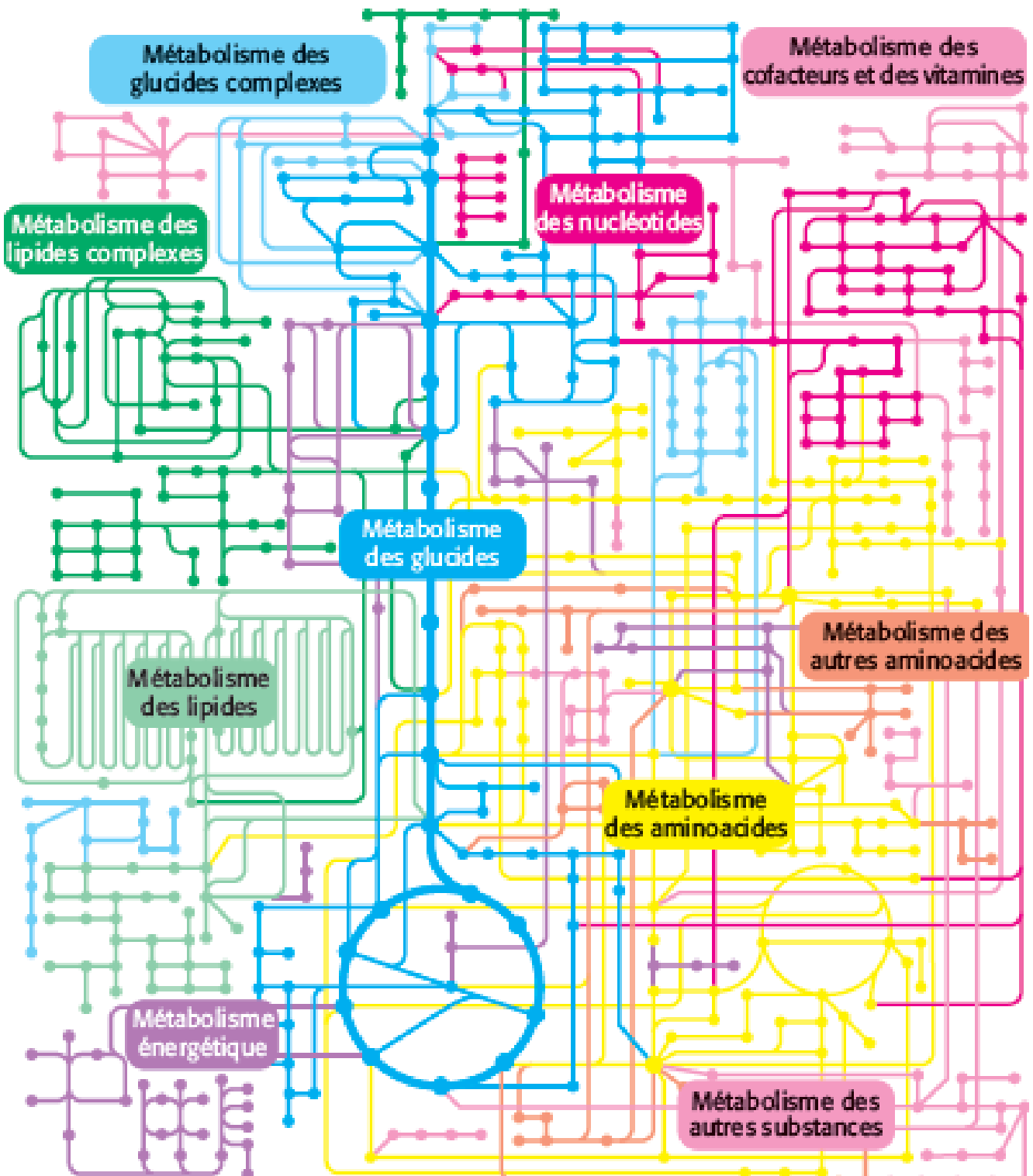


Module : Voies Métaboliques et Régulation
Niveau : Master II
Spécialité : Biochimie Appliquée



Chapitre I : Rappel du métabolisme énergétique, métabolisme des glucides et leurs mécanismes de régulation

1. Généralités

Les êtres vivants requièrent un apport permanent d'énergie libre pour réaliser trois objectifs essentiels : (1) un travail mécanique au cours de la contraction musculaire ou des mouvements cellulaires, (2) le transport actif de molécules et d'ions, et (3) la synthèse de macromolécules ou d'autres biomolécules à partir de précurseurs simples.

L'énergie libre utilisée dans ces processus qui maintiennent un organisme dans un état éloigné de l'équilibre, est tirée de l'environnement. Les organismes photosynthétiques, ou phototrophes, trouvent de l'énergie en captant la lumière solaire tandis que les chimiotrophes, qui incluent les animaux, tirent leur énergie par l'oxydation des aliments produits par les phototrophes.

L'énergie dans les cellules est fournie donc par le catabolisme oxydatif d'un nutriment provenant de la digestion intestinale des aliments énergétique. Les molécules soumis au catabolisme oxydatif sont essentiellement les glucides avec le glucose, les lipides avec les acides gras, concernant les protéines et leurs fameuses briques constitutive c'est-à-dire les acides aminés retenus qu'elles peuvent être utilisées à des fins énergétiques seulement en carence en glucides et en lipides, ces acides aminés ont un rôle dans la synthèse des protéines.

L'énergie nécessaire au bon fonctionnement des cellules peu également provenir de réserves de nature glucidique essentiellement dans « le foie » et dans « les muscles striés squelettiques » on parle donc de la « glycogène ». Il existe des réserves autres que glucidique de nature lipidique sous forme de « triglycérides » dans « les tissus adipeux » mais, il n'existe pas des réserves énergétiques protéiques.

Il existe une petite molécule énergétique qui circule dans vos cellules elle possède des liaisons particulières dont la rupture du dernier groupement phosphate permis de libérer de l'énergie je parle ici de l'ATP. Cette molécule permet par couplage énergétique à de nombreuses réactions énergétiques exergoniques d'être réalisés qu'on appelle « une véritable monnaie énergétique » pour la cellule. L'ATP donc permet la réalisation de nombreux travaux cellulaires nécessitant un apport énergétique.

Le catabolisme oxydatif du glucose commence dans les cellules par la glycolyse dans le cytosol et celui des acides gras commencent par la bêta-oxydation dans la matrice mitochondriale et

ses deux voies permettant la production d'une molécule centrale du métabolisme énergétique une molécule avec seulement deux petites atomes de carbone nommé « l'acétyl- COA »

La suite de voyage de cette l'acétyl- COA se déroule au sein de la mitochondrie et les l'origine de synthèse d'une autre ATP. L'acétyl-COA alimente le fameux cycle de Krebs qui libère alors se forme d'électrons de haute énergie de taxi cellulaire, ces taxi cellulaires sont des transporteurs d'électrons (CO enzyme oxydant réducteur les plus classiques NADH, H⁺ et FADH₂). Ces deux enzymes sont réduits au niveau de cycle de Krebs et bien sont ré-oxydés au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau de laquelle est transféré progressivement l'énergie potentielle portée par leur électrons de haute énergie.

La libération de cette énergie parmi la synthèse de l'ATP grâce à l'ATP synthase enchâssé dans la membrane interne de la mitochondrie.

Le dioxygène que nous respirons est nécessaire dans ce processus de synthèse de l'ATP il constitue ce qu'on appelle « l'accepter final d'électrons », il se forme alors de molécules d'eau H₂O.

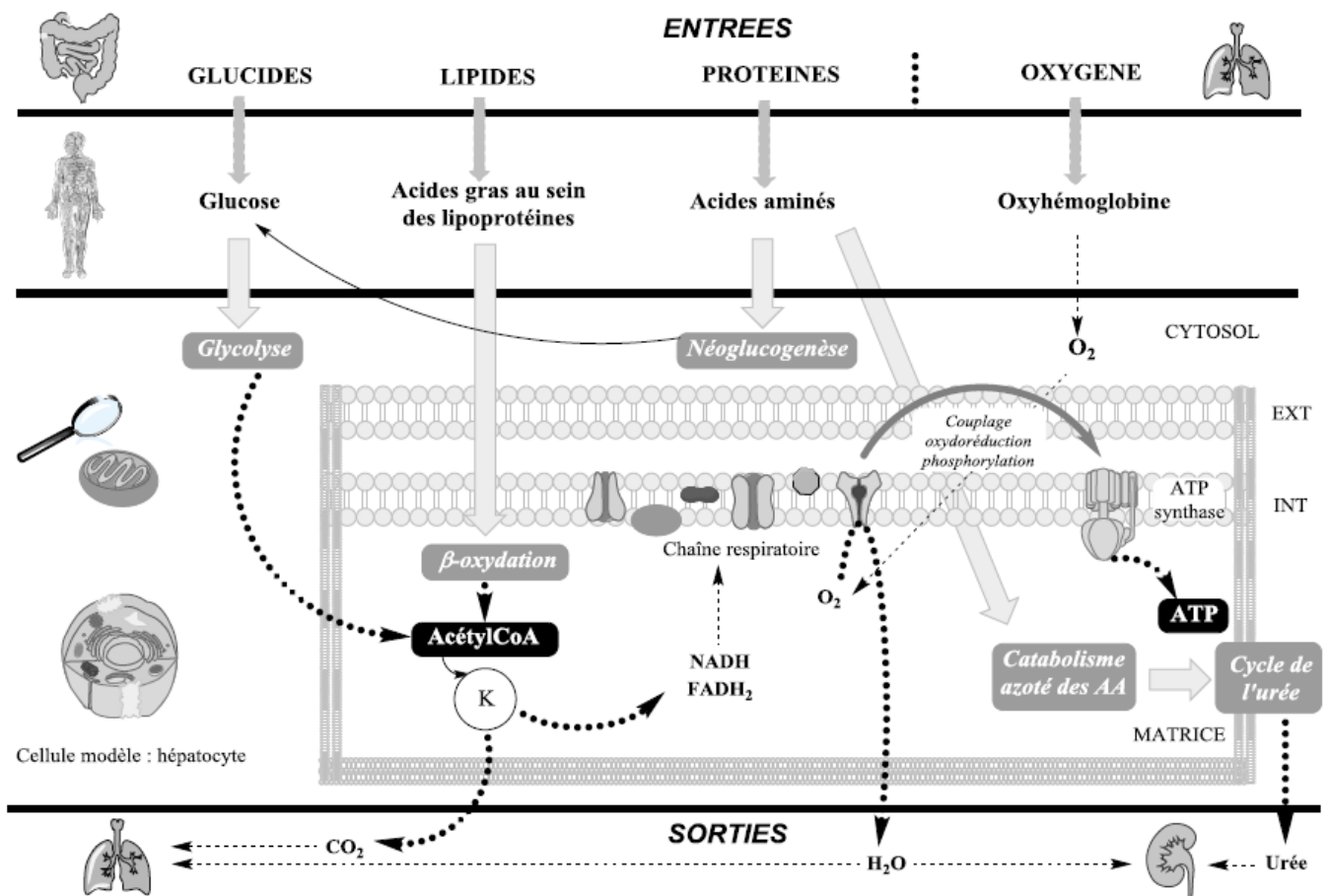


Figure 01 : vue d'ensemble du métabolisme énergétique de la cellule eucaryote.

2. Le métabolisme :

Le métabolisme est essentiellement une série de réactions biochimiques liées entre elles, qui commencent par une molécule particulière pour la convertir en une autre molécule selon un processus parfaitement défini. Ces réactions se produisent au sein d'une cellule et qui permettent la réalisation de multiples travaux cellulaires.

Les voies métaboliques sont réparties en deux grandes classes : (1) celles qui convertissent l'énergie des molécules sources d'énergie en des formes biologiquement utilisables, et (2) celles qui requièrent un apport d'énergie pour pouvoir s'effectuer.

- **L'anabolisme** (voie de synthèse)

L'ensemble de réactions enzymatiques de biosynthèse de macromolécules ou de leurs précurseurs. Ces réactions nécessitent un apport d'énergie libre fournie généralement par l'hydrolyse de l'ATP et/ou par le pouvoir réducteur du NAD(P)H et du FADH₂.

Anabolisme

Énergie utilisable + précurseurs simples → molécules complexes

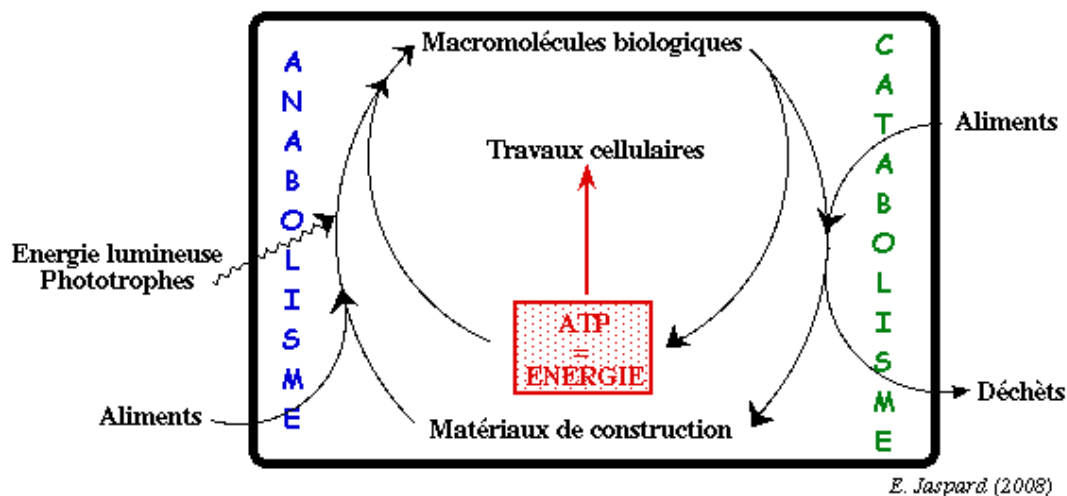
- **Le catabolisme** (voie de dégradation).

L'ensemble de réactions enzymatiques de dégradation de macromolécules en molécules de faible taille. Ces réactions s'effectuent avec une libération d'énergie libre dont une partie est stockée sous forme d'ATP et de transporteurs d'électrons réduits (NAD(P)H et FADH₂).

Catabolisme

Sources d'énergie (glucides, lipides) → CO₂ + H₂O + énergie utilisable

-Certaines voies peuvent être anaboliques ou cataboliques selon l'état énergétique de la cellule. On les appelle **voies amphiboliques**.



E. Jaspard (2008)

Figure 2 : Vue globale du métabolisme

2.1. Métabolisme des glucides

Les glucides ont différents rôles au sein de l'organisme : production énergétique ou mise en réserve, synthèse de glycoprotéines et de macromolécules (GAG, ...), synthèse des nucléotides (ribose et NADPH), épuration des produits insolubles et toxiques, interrelation métabolique.

Le métabolisme des glucides correspond à l'ensemble des processus biochimiques responsables de la formation, la dégradation et de l'interconversion des glucides chez les organismes vivants.

La voie de la glycolyse correspond à une série de réactions catalysées par des enzymes qui dégradent une molécule de glucose (6 carbones) en deux molécules de pyruvate (3 carbones).

Au niveau de l'intestin on trouve du glucose provenant des glucides, des acides-aminés provenant des protéines et des chylomicrons provenant des lipides.

Le glucose passe ensuite dans la circulation pour rejoindre les cellules du foie ou hépatocytes, dans lesquelles il sera stocké. Il pourra également être utilisé directement par les cellules de l'organisme en manque d'énergie. En effet le glucose est dégradé dans le cytosol puis dans la mitochondrie en CO₂, H₂O et ATP.

Dans la lumière intestinale on trouve du glucose, du fructose et du galactose qui iront tous les trois au niveau du foie par le sang où ils seront dégradés. Lors d'une trop grande assimilation de sucres le foie sera saturé obligeant l'organisme à les stockés sous forme de graisse au niveau des tissus adipeux.

Par la suite, lorsque l'organisme en aura à nouveau besoin, le foie sera cette fois-ci responsable de la fabrication de glucose à partir de substances non-glucidiques, on parle de la néoglucogénèse

▪ Transport cellulaire du glucose

Le glucose, petite molécule hydrosoluble, est transporté dans le sang sous forme libre. Le taux sanguin, ou glycémie, est relativement constant entre 0,70 et 1,10 g/l.

- En période alimentaire, le glucose provient de l'intestin. L'augmentation de la glycémie déclenche la sécrétion d'insuline par les cellules B du pancréas. Le foie, premier tissu traversé par le sang portal, capte 30 à 40 % du glucose. Le glucose restant se répartit entre les autres tissus : cerveau, GR, muscles, tissu adipeux...il est dégradé en pyruvate par la voie de la glycolyse et stocké par la voie de la glycogénogénèse dans le foie et les muscles.

-En situation de jeûne, le glucose sanguin provient du foie, à partir de la glycogénolyse et de la néoglucogénèse sous l'influence des taux élevés de glucagon sécrété par les cellules A du pancréas.

Le glucose ne peut pas pénétrer dans la cellule par simple diffusion. Son entrée est assurée par les deux mécanismes suivants :

-Transport facilité : le glucose franchit la membrane phospholipidique et hydrophobe des cellules par un mécanisme de diffusion facilitée, à l'aide de transporteurs passifs. Ces transporteurs, appelés GLUT (glucose transporter) sont codés par des gènes différents, et classés suivant l'ordre chronologique de leur découverte. Ce sont des glycoprotéines transmembranaires. La fixation du glucose sur la face extracellulaire de la membrane provoque un changement de conformation de la protéine ce qui fait passer l'ose sur la face interne où il est libéré. On connaît actuellement 5 transporteurs membranaires de glucose appelés GLUT numérotés de 1 à 5 soit GLUT 1 à GLUT 5. Ce sont des protéines qui ont une certaine ressemblance dans les premières séquences mais présentent ensuite des séquences spécifiques à leurs membranes d'accueil.

-Transport actif : processus qui consomme de l'énergie. Le glucose est transporté contre un gradient de concentration, c'est-à-dire d'un milieu à concentration faible en glucose vers l'intérieur de la cellule à concentration plus élevée en glucose. Le glucose et le Na^+ sont transportés dans le même sens et en même temps à travers la membrane. Ce type de transport intervient dans les cellules épithéliales, dans l'intestin, dans le rein etc....

2.1.1. Catabolisme glucidique

Le catabolisme glucidique correspond à la dégradation des molécules de glucose permettant la formation de molécules riches en énergie.

2.1.1.1 La glycolyse (ou voie d'Embden-Meyerhof)

La glycolyse est la première chaîne du catabolisme des glucides, elle s'effectue dans le cytosol par des enzymes solubles et en anaérobie (sans apport d'oxygène). La glycolyse permet la dégradation progressive du glucose pour produire l'énergie cellulaire sous forme d'ATP, ainsi que la formation de pyruvate qui aura plusieurs destinées. Elle se divise en deux phases.

❖ Première phase : La phase d'investissement en énergie

Cette phase fait référence à la première moitié de la glycolyse (elle comprend les cinq premières réactions), au cours de laquelle nous investissons deux molécules d'ATP pour diviser le glucose en deux molécules de glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) à 3 carbones.

❖ Deuxième phase : La phase de remboursement de l'énergie

Elle est composée des cinq réactions suivantes qui convertissent les deux molécules de glycéraldéhyde-3-phosphate en deux molécules de pyruvate, le tout en produisant quatre molécules d'ATP.

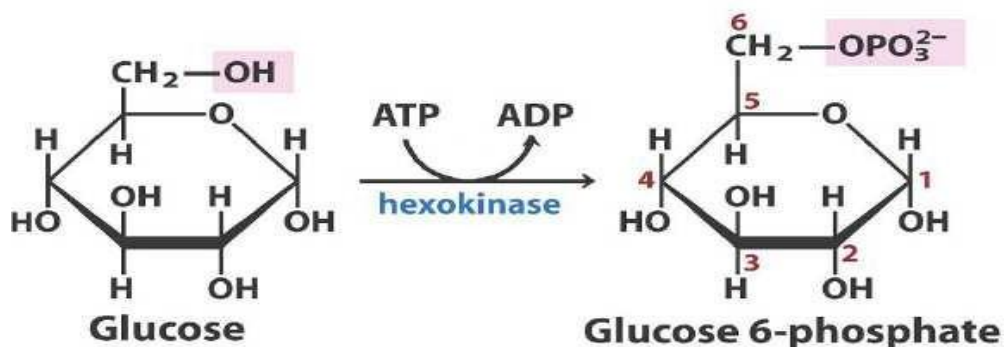
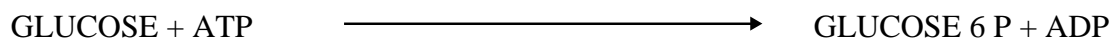
La glycolyse permet une production rapide d'ATP mais en quantité limitée puisque celle-ci ne produit que 2 molécules d'ATP par molécule de glucose.

Au niveau de la glycolyse, il existe des branchements qui redirigent les métabolites intermédiaires vers les voies d'anabolisme. Ainsi, le glucose- 6-phosphate (G6P) alimente la voie des pentoses phosphates (Boren et al., 2001), le 3-Phosphoglycérate (3PG) permet la biosynthèse de sérine, et le dihydroxyacétone phosphate (DHAP) sert à la synthèse d'acides gras. Le pyruvate, produit final de la glycolyse, peut être utilisé par le lactate déshydrogénase (LDH) ou par le pyruvate déshydrogénase (PDH) puis par le cycle de Krebs.

2.1.1.2. Les différentes étapes de la glycolyse

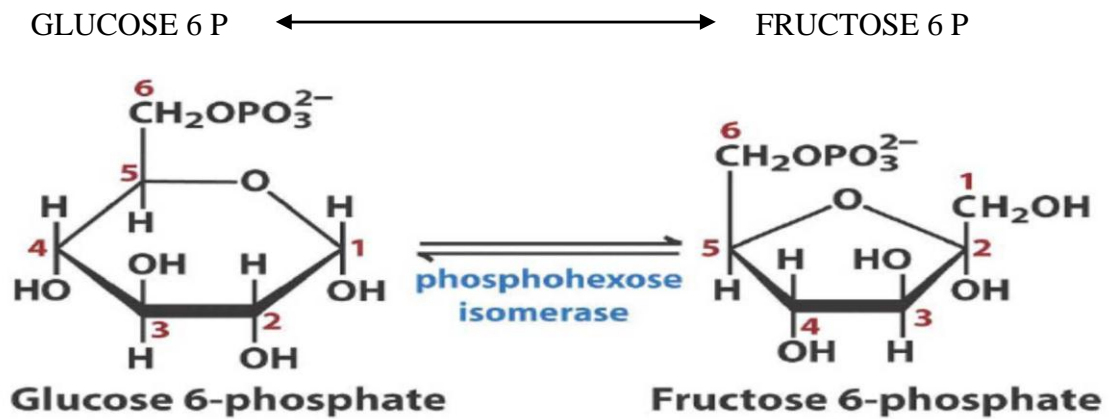
1) Phosphorylation du glucose par l'ATP

Réaction de transphosphorylation du glucose sur son carbone 6 en glucose-6-phosphate sur son carbone 6 en glucose-6-phosphate. Cette réaction est catalysée **la glucokinase** au niveau du foie (les cellules hépatiques) et du pancréas (les cellules des îlots pancréatiques) ou par **l'hexokinase** au niveau des autres organes. Cette réaction consommatrice d'une molécule d'ATP. Comme dans toutes les phosphorylations le Mg^{2+} est indispensable à la réaction. La réaction catalysée est la suivante :



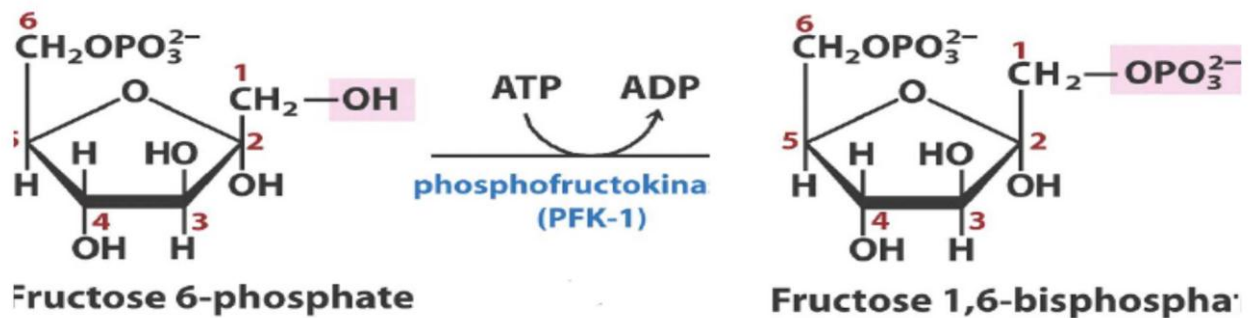
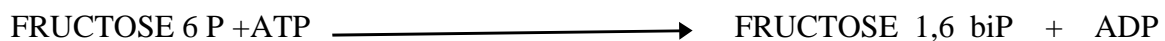
2) Isomérisation du glucose 6P en fructose 6P :

Réaction d'isomérisation du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate catalysée par la **phosphoglucose isomérase (PGI)**. C'est une réaction d'isomérisation, réversible.



3) Phosphorylation du fructose 6P en fructose 1,6 biP

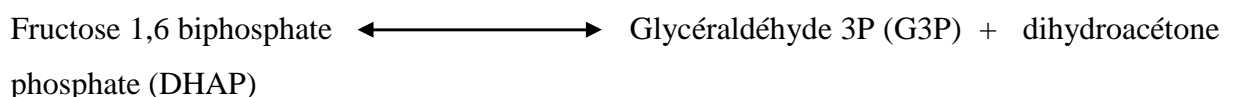
Réaction de transphosphorylation du fructose-6-phosphate en fructose-1,6-biphosphate catalysée par la **6-phosphofructo-kinase**. Cette réaction consomme une molécule d'ATP.

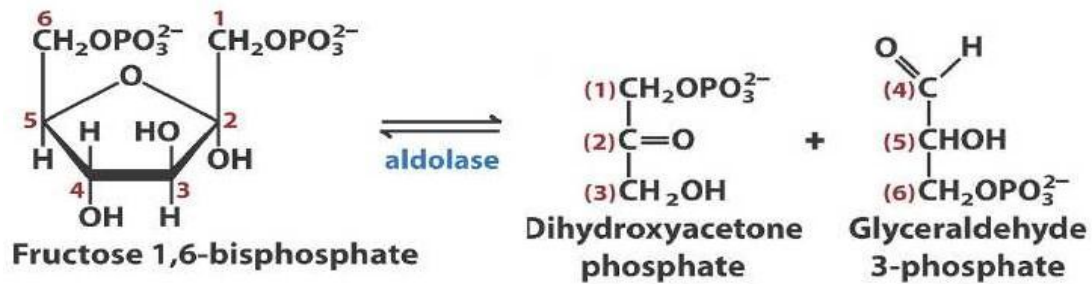


Le Mg^{+} est indispensable à la réaction qui est totalement irréversible. La phosphofruktokina est une enzyme allostérique dont l'activité joue un rôle important dans la régulation du taux de la glycémie.

4) Dégradation du fructose 1,6 biP et interconversion des trioses phosphates :

Réaction de dégradation du fructose-1,6-biphosphate en dihydroacétone-phosphate et en glycéraldéhyde-3-phosphate catalysée par l'**aldolase**.





5) Isomérisation du Dihydroxyacétone phosphate en Glycéraldéhyde 3P

Réaction d'isomérisation du dihydroacétone-phosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate catalysée par la triosephosphate-isomérase.

Dihydroxyacétone phosphate \longleftrightarrow Glycéraldéhyde 3P

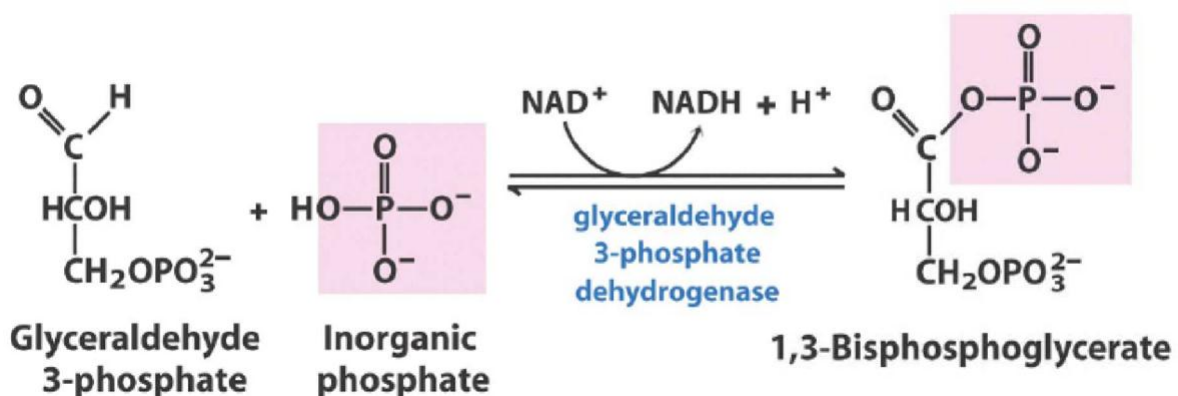


Seul le glycéraldéhyde3P est dégradé dans la suite des réactions de la glycolyse.

6) Oxydation du glycéraldéhyde 3P en 1,3-biphosphoglycérate

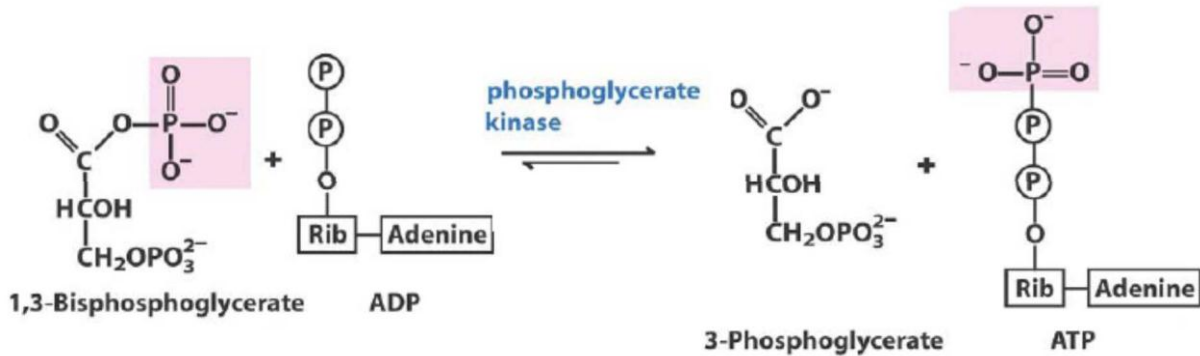
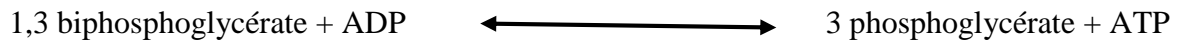
Réaction de phosphorylation du glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3-biphosphoglycérate catalysée par la glycéraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase. Cette réaction nécessite une molécule de phosphate minéral ; elle permet également la formation de NADH, H⁺ à partir de NAD⁺.

Glycéraldéhyde 3P + NAD⁺ + Pi \longleftrightarrow 1,3 biphosphoglycérate + NADH, H⁺



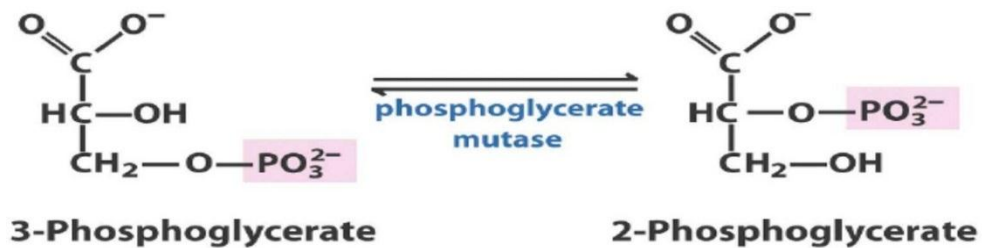
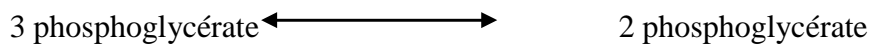
7) Transphosphorilation de 1,3-biphosphoglycérate en 3-phosphoglycérate

Réaction de transphosphorylation du 1,3-biphosphoglycérate en 3-phosphoglycérate catalysée par la **phosphoglycérate-kinase**. Cette réaction est très importante car c'est la première réaction de la régénération de l'ATP à partir d'ADP.



8) Isomérisation du 3 phosphoglycérate en 2 phosphoglycérate

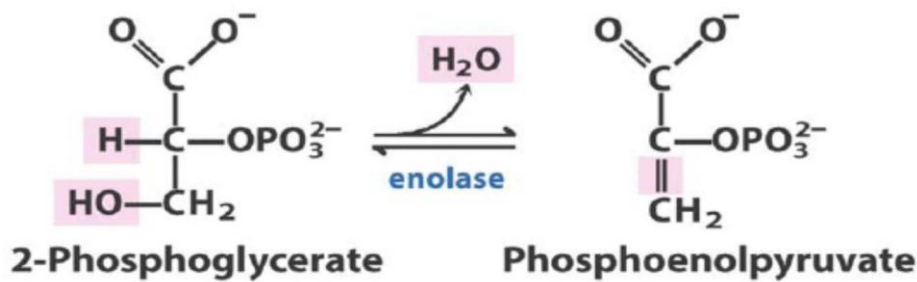
Réaction de mutation du 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate catalysée par la **phosphoglycérate mutase** (le phosphate est déplacé de la position 3 à la position 2), le Mg^{++} est indispensable et la réaction est réversible.



9) Déshydratation du 2 phosphoglycérate en phosphoénolpyruvate

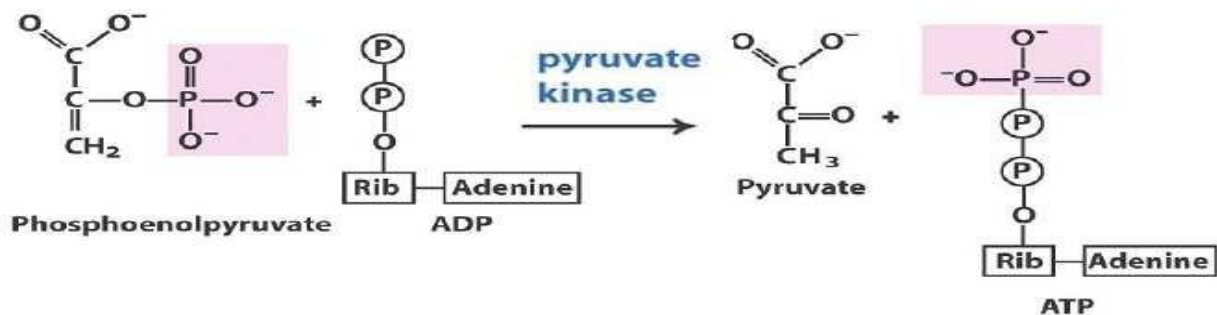
Réaction de déshydratation du 2-phosphoglycérate en phosphoénolpyruvate catalysée par l'**énolase**. Cette réaction régénère une molécule d' H_2O . L'enzyme nécessite aussi la présence de Mg^{++} .





10) Transfert du phosphate du phosphoénolpyruvate sur l'ADP

Réaction de transphosphorylation du phosphoénolpyruvate en pyruvate catalysée par la **pyruvate-kinase**. Cette réaction permet la formation d'ATP à partir d'ADP. C'est une réaction irréversible qui nécessite la présence de Mg^{++} .



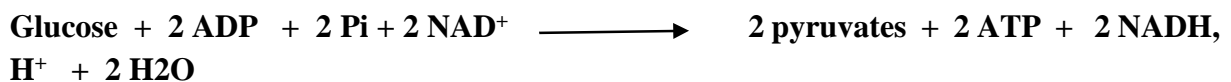
2.1.1. 3. Bilan énergétique de la glycolyse

Pour chaque glucose il y a eu :

-consommation de 2 ATP lors de la formation du G6P et du F1,6 biP.

- chaque molécule de glucose donne 2 glycéraldéhyde 3P. Au niveau de chaque triose phosphate, il y a formation d'un NADH, H^+ , de 2 ATP et d'un pyruvate.

Le bilan final conduit à la formation de 4 ATP et consommation de 2 ATP. La dégradation d'une molécule de glucose dans la glycolyse conduit donc à la synthèse de 2 ATP et à la formation de 2 NADH, H^+ (correspondre au 6 ATP) et de 2 pyruvates, donc au totale la glycolyse permet la formation de **8 molécules d'ATP** d'où la réaction globale :



Dans les cellules aérobies, les hydrogènes et électrons du NADH, H^+ sont transportés dans les mitochondries par des systèmes navettes pour être oxydés par la chaîne respiratoire. Dans les cellules anaérobies, le NADH, H^+ réduit le pyruvate en lactate dans le cytosol.

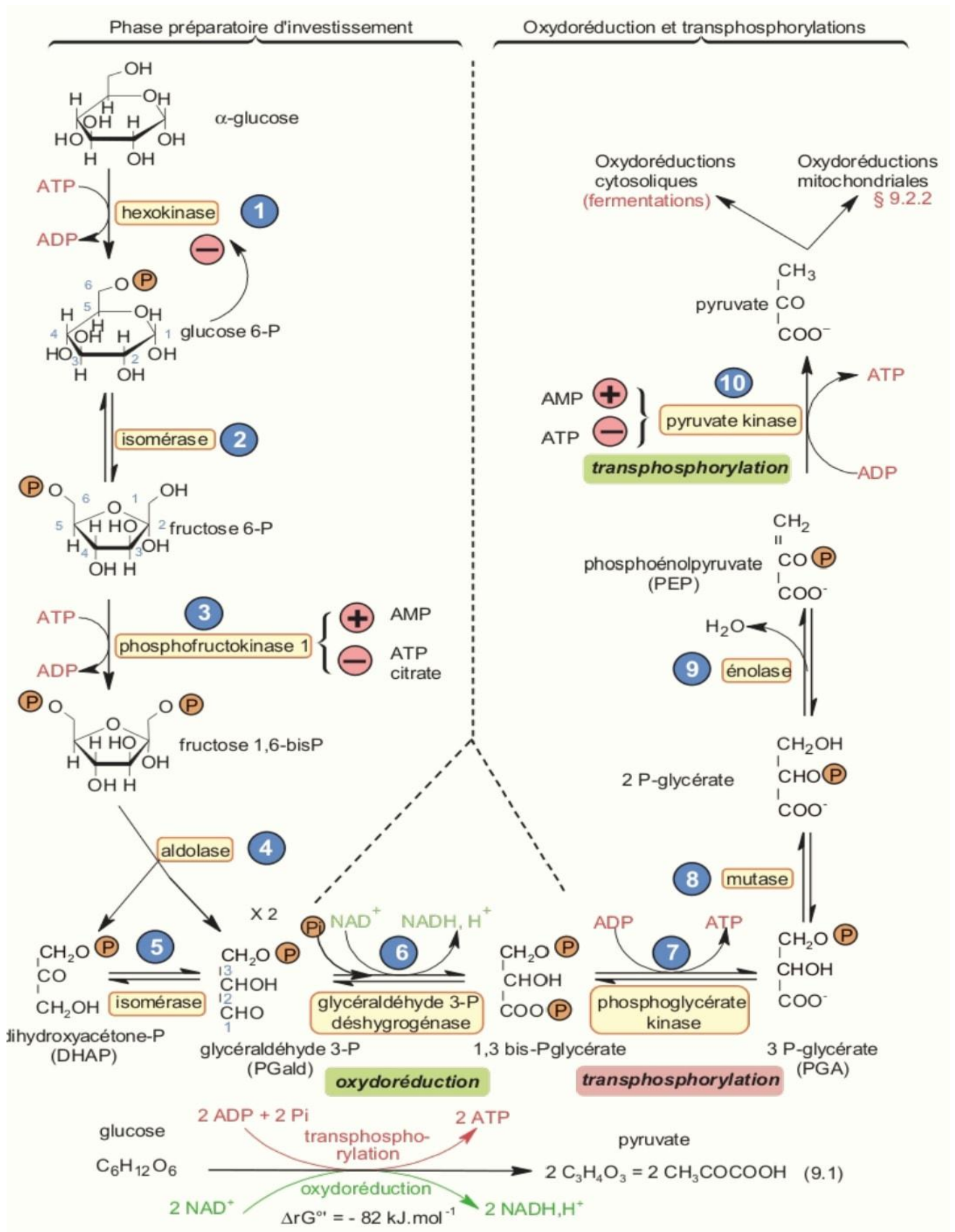


Figure 3 : Schéma récapitulatif les réactions de la glycolyse

2.1.1. 4. Régulation métabolique de la glycolyse

La glycolyse fournit à la fois de l'ATP, essentiel pour couvrir les besoins énergétiques des organismes anaérobies et des précurseurs biosynthétiques. La vitesse de la glycolyse s'établit de manière à satisfaire ces deux besoins. Dans les voies métaboliques les réactions irréversibles sont souvent les lieux de contrôle. Les 3 sites de régulation se situent au niveau des 3 enzymes allostériques catalysant les réactions irréversibles de la glycolyse à savoir : l'hexokinase, la phosphofruktokinase 1 (PFK 1) et la pyruvate kinase.

Dans les voies métaboliques, les enzymes qui catalysent des réactions irréversibles sont des sites potentiels de contrôle. Généralement, les enzymes sont régulés par trois mécanismes :

1. La régulation par modification de l'activité de l'enzyme

- les régulations par des effecteurs allostériques,
- les régulations par phosphorylations/déphosphorylation

2. La régulation par modification de taux de l'enzyme

- l'expression des gènes de ces enzymes.

3. La régulation par modification de la disponibilité du substrat

Au niveau de la glycolyse on met en évidence essentiellement trois réactions irréversibles :

- La réaction de transphosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate catalysée par la glucokinase ou l'hexokinase. L'hexokinase est inhibée par le glucose-6-phosphate.
- La réaction de transphosphorylation du fructose-6-phosphate en fructose-1,6-biphosphate catalysée par la 6-phosphofruktokinase. Cette enzyme est inhibée par l'ATP, le citrate, le glucagon (foie) et l'adrénaline (muscle), et est activé par l'insuline et l'AMP.
- La réaction de transphosphorylation de l'acide phospho-énol-pyruvique en acide éno-pyruvique catalysée par la pyruvate-kinase. Cette enzyme est inhibée par le pyruvate, l'alanine, l'ATP et le NADH, H⁺.

On retiendra globalement qu'il y a :

- Inhibition de la glycolyse lorsque l'organisme est en excès d'énergie et donc par l'excès d'ATP, le citrate dont la concentration cytosolique augmente, le glucagon, l'adrénaline
- Activation de la glycolyse lorsque l'organisme est en déficit d'énergie et donc par l'excès d'ADP et d'AMP, l'insuline.

La glycolyse est donc contrôlée dans toutes les cellules par ces trois enzymes. Si des cellules se trouvent à un niveau énergétique élevé ou si le glucose y est abondant, sous l'action de la glucokinase celui-ci est capturé par le foie où il sera stocké sous forme de glycogène.

2.1.2. Devenir du pyruvate

Suite à la glycolyse les deux pyruvates, formés à partir d'une molécule de glucose, auront plusieurs destinées.

2.1.2.1. Oxydation du pyruvate en CO₂

Elle se fait dans la mitochondrie

Le pyruvate est transporté dans la mitochondrie. Il est d'abord transformé par le complexe multi-enzymatique de la pyruvate déshydrogénase en acétyl-CoA.



L'oxydation complète de l'acétyl-CoA est réalisé dans le cycle de Krebs et s'accompagne de la formation de 3 NADH,H⁺, 1 FADH₂ et de 1 GTP. Nous allons le voir dans le cycle de Krebs.

2.1.2.2. Réduction du pyruvate en lactate (fermentation lactique)

Lorsque la cellule ne dispose pas de mitochondries (cas des hématies), est privée d'oxygène (anaérobiose) ou en conditions hypoxiques (tissu musculaire en contraction rapide), le pyruvate est réduit en lactate par le NADH,H⁺ formé au cours de la glycolyse. La réaction catalysée par **la lactate déshydrogénase** régénère le NAD⁺.



Le lactate est le produit final de la dégradation du glucose. Il diffuse dans le milieu extracellulaire et constitue un déchet. Ce dernier, déversé dans le sang chez le mammifère, peut être retransformé dans le foie en glucose.

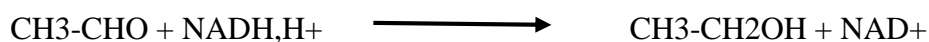
2.1.2.3. Transformation du pyruvate en éthanol (fermentation alcoolique)

Cette transformation du pyruvate en éthanol se rencontre dans les levures qui ne possèdent pas de lactate déshydrogénase mais possèdent à la place une **pyruvate décarboxylase** (lyase).

- Le pyruvate est décarboxylé en acétaldéhyde par **la pyruvate décarboxylase**. Cette réaction est irréversible.



• L'acétaldéhyde est réduit en alcool ou éthanol. La réaction est catalysée par **l'alcool déshydrogénase** avec consommation de NADH,H⁺ formé dans la glycolyse et régénération de NAD⁺.



- La fermentation lactique ou alcoolique est le processus de réduction du pyruvate en en lactate ou en éthanol pour régénérer le NAD⁺ à partir du NADH, H⁺

2.1.2.4. Carboxylation du pyruvate en Oxaloacétate

En condition aérobie, le pyruvate, une fois transporté dans la mitochondrie, peut aussi être transformé en oxaloacétate par **la pyruvate carboxylase**, activée par l'acétyl- CoA, étape importante dans la synthèse du glucose à partir du pyruvate (néoglucogenèse).



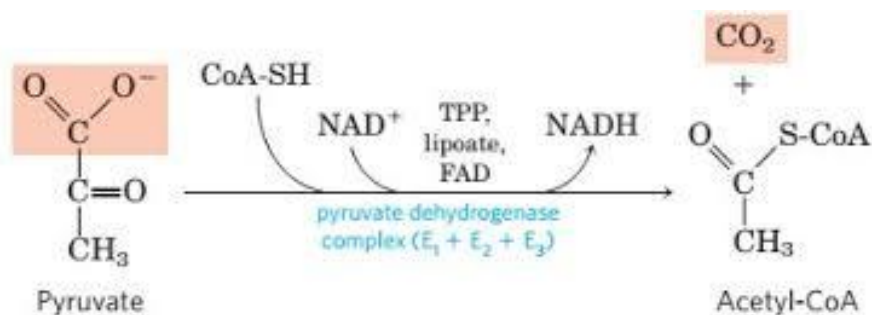
2.1.3. Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs (ou cycle tricarboxylique ou cycle de l'acide citrique) Elle permet l'oxydation de l'Acétyl-CoA qui provient du pyruvate (glycolyse) ou des acides gras (β oxydation) ou de certains acides aminés. Il se réalise dans **la matrice mitochondriale** et se fait exclusivement **en aérobie**. Le cycle à différents rôles

- La dégradation du substrat (ACoA) en CO_2 grâce à l'oxygène,
- La prise en charge d'hydrogène et d'électrons riches en énergie par les FAD et les NAD^+ ,
- La production d'énergie sous forme d'ATP.

2.1.3.1. Décarboxylation oxydative du Pyruvate en Acétyl CoA

C'est la réaction préliminaire du cycle de Krebs. Il se déroule dans la mitochondrie



- **Bilan énergétique** : Formation d'un $\text{NADH}_2 = 3 \text{ ATP}$

2.1.3.2. Les étapes enzymatiques du cycle de Krebs

Le cycle est composé de 9 grandes étapes, faisant intervenir 8 enzymes.

- Réaction de condensation de l'acétylcoenzyme A (ACoA) et de l'oxaloacétate en citrate catalysée par **la citrate-synthase**. Cette réaction nécessite une molécule d' H_2O et élimine une molécule de CoA-SH .
- Réaction d'isomérisation du citrate en isocitrate catalysée par **l'aconitase**.

- Réaction de décarboxylation de l'isocitrate en α -cétoglutarate catalysée par l'isocitrate-déshydrogénase. Cette réaction permet la formation de NADH, H⁺ à partir de NAD⁺ et un dégagement de CO₂.
- Réaction de décarboxylation oxydative de l' α -cétoglutarate en succinyl-CoA catalysée par **l' α -cétoglutarate-déshydrogénase**. Cette réaction nécessite une molécule de CoA-SH et entraîne un dégagement de CO₂ ; elle permet également la formation de NADH, H⁺ à partir de NAD⁺.
- Réaction de transphosphorylation du succinyl-CoA en succinate catalysée par **la succinate-synthétase**. Cette réaction nécessite une molécule de phosphate et élimine une molécule de CoA-SH ; elle permet également la formation de GTP à partir de GDP.
- Réaction de déshydrogénation du succinate en fumarate catalysée par **la succinate-déshydrogénase**. Cette réaction permet la formation de FADH₂ à partir de FAD.
- Réaction d'hydratation du fumarate en malate catalysée par **la fumarase**. Cette réaction nécessite une molécule d'H₂O.
- Réaction de déshydrogénation du malate en oxaloacétate catalysée par **la malate-déshydrogénase**. Cette réaction permet la formation de NADH, H⁺ à partir de NAD⁺.

2.1.3.3. Bilan du cycle de Krebs

- Comme dit précédemment, en aérobie l'acétylcoenzyme A entre dans le cycle de Krebs. Un tour de cycle, c'est-à-dire l'utilisation d'une molécule d'acétylcoenzyme A permet la formation :
- 3 NADH, H⁺ qui permettront la formation de 3 ATP chacun, et donc au total la formation de 9 ATP.
- 1 FADH₂ qui permettra la formation de 2 ATP.
- 1 ATP.
- De cette manière une molécule d'acétylcoenzyme A permet la formation de **12 ATP**.

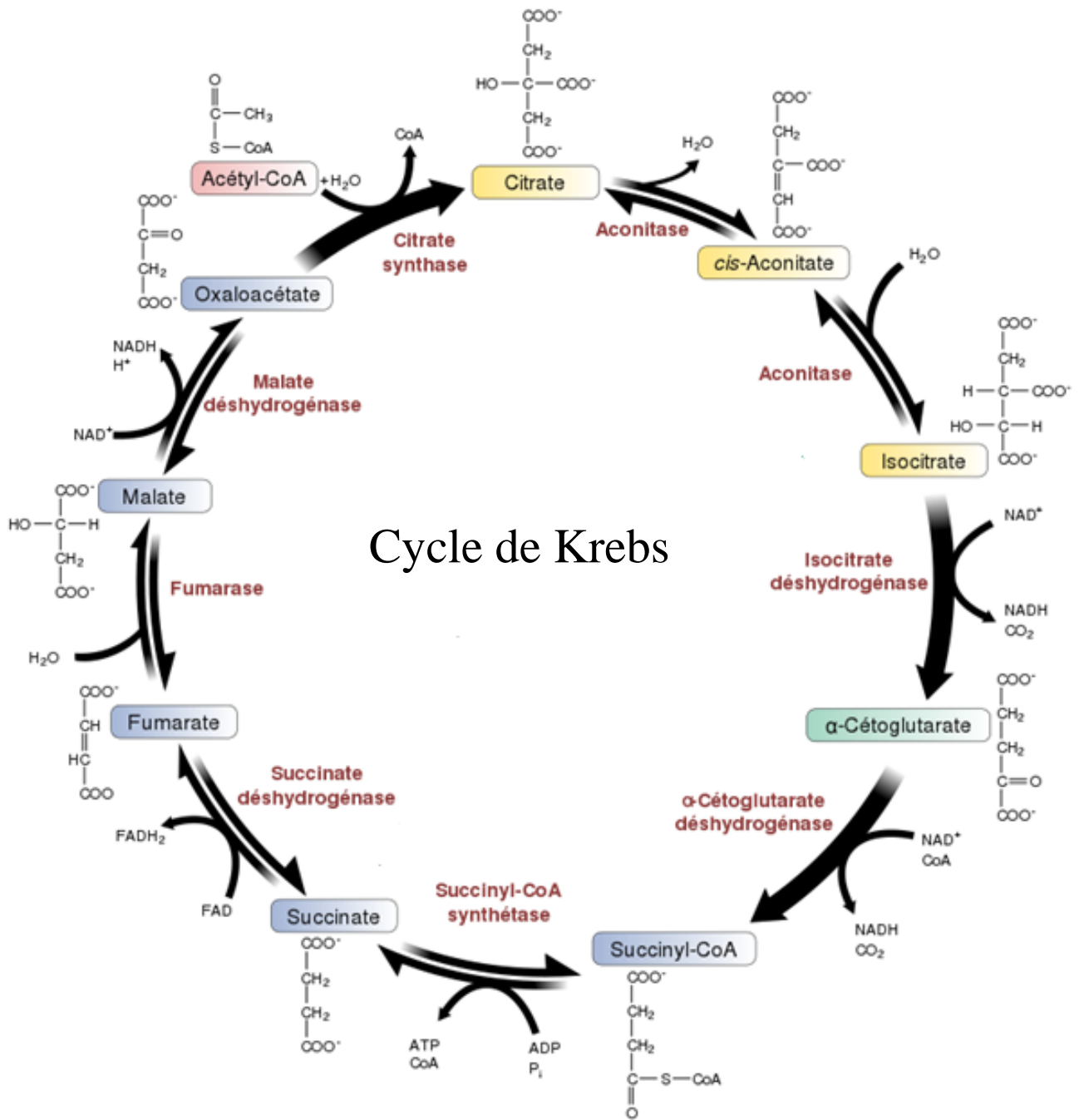


Figure 3 : Schéma récapitulatif les réactions de cycle de Citrate.

2.1.3.4. Régulation du cycle de Krebs

- Disponibilité en substrats énergétiques (glucose, pyruvate, acetyl-CoA)
- Inhibition par les produits accumulés : régulation allostérique

▪ Disponibilité en substrat

En ce qui concerne la disponibilité en substrats, le cycle de Krebs et la glycolyse fonctionnent de façon coordonnée de telle sorte que la vitesse de déroulement de la glycolyse lui permette de fournir les substrats (pyruvate et acétyl-CoA) qui alimentent le Cycle de Krebs. En outre certains produits de réaction leur sont communs (ATP et NADH, H⁺) et contribuent à leur régulation. L'activité de la citrate synthase peut être limitée par la disponibilité de l'oxaloacétate et l'acétyl-CoA. Dans ce cas la synthèse du citrate devient un facteur limitant du cycle.

▪ Régulation allostérique interne au cycle

Dans les conditions où les besoins énergétiques de la cellule sont satisfaits :

- Le NADH, H⁺ s'accumule entraînant l'élévation du rapport NADH, H⁺/NAD⁺. Il bloque à la fois l'isocitrate DH et l' α -cétoglutarate DH.
- Le citrate s'accumule et rétro-inhibe la citrate synthase.
- Le succinyl-CoA s'accumule et devient un effecteur négatif de l' α -cétoglutarate DH.
- L'ATP, le produit terminal du processus de la production de l'énergie inhibe la citrate synthase et l' α -cétoglutarate DH. L'inhibition du citrate synthase par l'ATP est levée par l'ADP.

2.1.4. Bilan énergétique du catabolisme glucidique

- On considérera ici la dégradation d'une molécule de glucose par la glycolyse et le cycle de Krebs, sans prendre en compte les voies annexes.

❖ En anaérobie

- Bilan de la glycolyse : formation de 2 ATP et de 2 NADH, H⁺ (qui seront utilisés dans la formation du lactate ; cf. suite du cours).
- Bilan du catabolisme du pyruvate : catabolisme impossible en anaérobie !
- Bilan du cycle de Krebs : en anaérobie le cycle de Krebs ne fonctionne pas !
- Bilan de la formation de lactate : les deux molécules de pyruvate formées par la glycolyse sont dégradées en lactate, nécessitant chacune un NADH, H⁺ (ceux formés lors de la glycolyse).
- Le bilan global de la dégradation d'une molécule de glucose en anaérobie est donc de **2 ATP**.

❖ En aérobie

- Bilan de la glycolyse : formation théorique de 8 ATP.
- Bilan du catabolisme du pyruvate : formation de 3 ATP par molécule de pyruvate et donc de 6 ATP pour une molécule de glucose.
- Bilan du cycle de Krebs : 12 ATP par molécule d'acétylcoenzyme A et donc 24 ATP pour une molécule de glucose.
- Le bilan global théorique de la dégradation d'une molécule de glucose en aérobie est donc de 38 ATP qui ne sont pas immédiatement mobilisable car la majorité des ATP formés proviennent de la phosphorylation oxydative.
- Il est important de préciser ici que certains ouvrages parlent d'un bilan global de 36 ATP ; cette différence est explicable par le type de navette utilisée.

2.2. Anabolisme glucidique : néoglucogénèse (ou gluconéogénèse)

La gluconéogénèse est une voie métabolique anabolique qui permet la biosynthèse du glucose à partir de précurseurs non glucidiques. Il inclut l'utilisation de plusieurs acides aminés, lactate, pyruvate, glycérol et l'un des intermédiaires du cycle de l'acide tricarboxylique (ou cycle de Krebs) en tant que sources de carbone pour la voie métabolique. Tous les acides aminés, à l'exception de la leucine et de la lysine, peuvent fournir du carbone pour la synthèse du glucose.

- La néoglucogénèse est l'inverse de la glycolyse, Elle est réalisée au niveau du cytosol, majoritairement au niveau du foie mais également au niveau du rein à un moindre degré chez les animaux supérieurs.
- La néoglucogénèse est activée lors d'une période de jeûne prolongé, lorsque les nutriments apportés par la nutrition ainsi que les stocks de glycogène ne permettent plus de satisfaire les besoins énergétiques de l'organisme mais également lors de contraction musculaire (effort physique). On observe dans cette situation un manque d'ATP ainsi que excès d'AMP.

2.2.1. Les précurseurs

Les précurseurs non glucidiques sont de différents types :

- Les acides-aminés glucoformateurs provenant de l'alimentation et de la dégradation des protéines des muscles squelettique. Parmi eux on compte l'alanine, la sérine, la cystéine, la thréonine, la glycine, la tyrosine, la phénylalanine et l'isoleucine.
- Le lactate formé au niveau des muscles et transformé en pyruvate par l'action de la lactate-déshydrogénase.
- Le glycérol provenant de la dégradation des triglycérides au niveau des cellules adipeuses.

Ces précurseurs sont tout d'abord convertis en des intermédiaires de la glycolyse : le pyruvate pour le lactate et les acides aminés ; le dihydroacétone phosphate pour le glycérol.

2.2.2. Mécanisme d'action et enzymes clés

La néoglucogénèse n'est en fait pas exactement l'inverse de la glycolyse dans le sens où certaines réactions de la glycolyse sont irréversibles. Afin que la néoglucogénèse fonctionne des alternatives ont dues être trouvées. Dans ce sens il a été mis en place trois mécanismes nécessitant trois enzymes caractéristiques. Autrement dit que, les enzymes qui participent à la voie glycolytique participent également à la gluconéogénèse ; Les deux voies se différencient par trois réactions irréversibles utilisant des enzymes spécifiques à ce processus et les deux détours métaboliques de cette voie. Ces réactions sont :

- Du glucose-6-phosphate au glucose.
- Du fructose-1,6-bisphosphate au fructose-6-phosphate.
- Du pyruvate au phosphoénolpyruvate

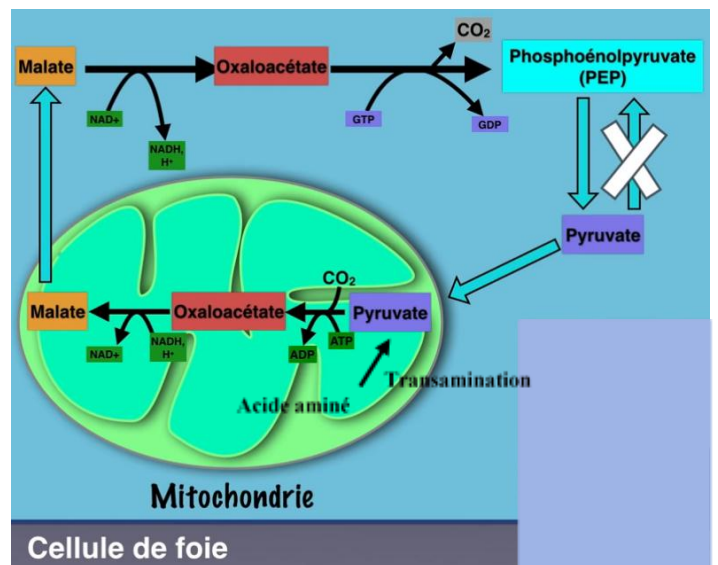
2.2.1.1. La néoglucogénèse à partir des acides aminés glucoformateurs

❖ Phase mitochondriale

Les acides aminés sont transférés au niveau de la mitochondrie puis convertir en pyruvate via des réactions de type transamination ou désamination.

Le passage du pyruvate au phosphoénolpyruvate catalysé par la phosphoénolpyruvate carboxykinase se fait indirectement en suivant les étapes suivantes.

Le pyruvate est ensuite carboxylé par une enzyme **la pyruvate carboxylase** et forme de l'Oxaloacétate cette réaction est coûteuse en énergie elle nécessite l'utilisation de l'ATP.

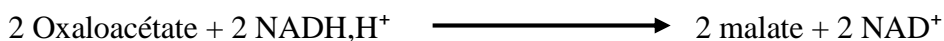


Pyruvate carboxylase



L'oxaloacétate ne peut pas traverser la membrane mitochondriale pour cela une étape intermédiaire est nécessaire, l'oxaloacétate est réduit en malate via le NADH,H⁺ qui a la possibilité de sortir de la mitochondrie par la navette malate.

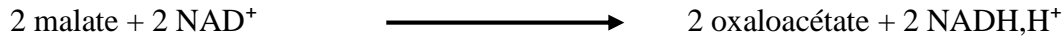
Malate déshydrogénase mitochondriale



❖ Phase cytosolique

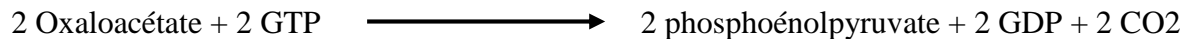
Le malate au niveau de cytosol sera rapidement oxydée en Oxaloacétate.

Malate déshydrogénase cytosolique



L'oxaloacétate sera lui-même transformé en phosphoénolpyruvate par la **phosphoénolpyruvate-carboxykinase**.

phosphoénolpyruvate-carboxykinase



Toutes les étapes formées de phosphoénolpyruvate jusqu'au fructose-1,6-biphosphate sont les étapes inverse de celle de la glycolyse ils sont des réactions réversibles.

Le passage du fructose-1,6-biphosphate au fructose-6-phosphate catalysé par **la fructose-1,6-biphosphatase** se fait directement.

Fructose 1,6 biphosphatase



Le fructose-6-phosphate convertit facilement en glucose-6-phosphate et dans la plupart des tissus la néoglucogenèse se termine dans cette étape, là on ne produit pas du glucose libre

Le glucose-6-phosphate peut être métabolisé directement dans les cellules pour ses propres besoins. L'avantage de former le glucose-6-phosphate c'est qu'il ne peut pas transporter hors de la cellule.

Par contre, dans foie et le rein (les seuls organes capables de libérer le glucose libre dans le sang), il existe une enzyme **la glucose-6-phosphatase**, elle est impliquée dans une réaction qui ne se déroule pas dans le cytoplasme mais dans la lumière de réticulum endoplasmique et cette réaction correspond à l'hydrolyse du glucose-6-phosphate en glucose.

Fructose 1,6 biphosphatase



2.2.1.2. La néoglucogenèse à partir du lactate

Le lactate est transformé en pyruvate à l'aide d'une **lactate déshydrogénase**, puis ce pyruvate suivra les mêmes voies que celles décrites par les acides aminés.

Lactate déshydrogénase



2.2.1.3. La néoglucogenèse à partir du Glycérol

Le glycérol qui provient de la dégradation des triglycérides TG (TG=glycérol +3 acides gras) alimentaire (lipase pancréatique) et tissulaire, tissu adipeux (lipase plasmatique), peut rejoindre la néoglucogénèse (foie ou rein) par l'intermédiaire de la Dihydroxyacétone phosphate DHAP en phosphorylant le glycérol en glycérol-3-phosphate par la glycérol kinase. Le glycérol-3-phosphate est oxydé par la suite en dihydroxyacétone phosphate par la glycérol-3-phosphate déshydrogénase.

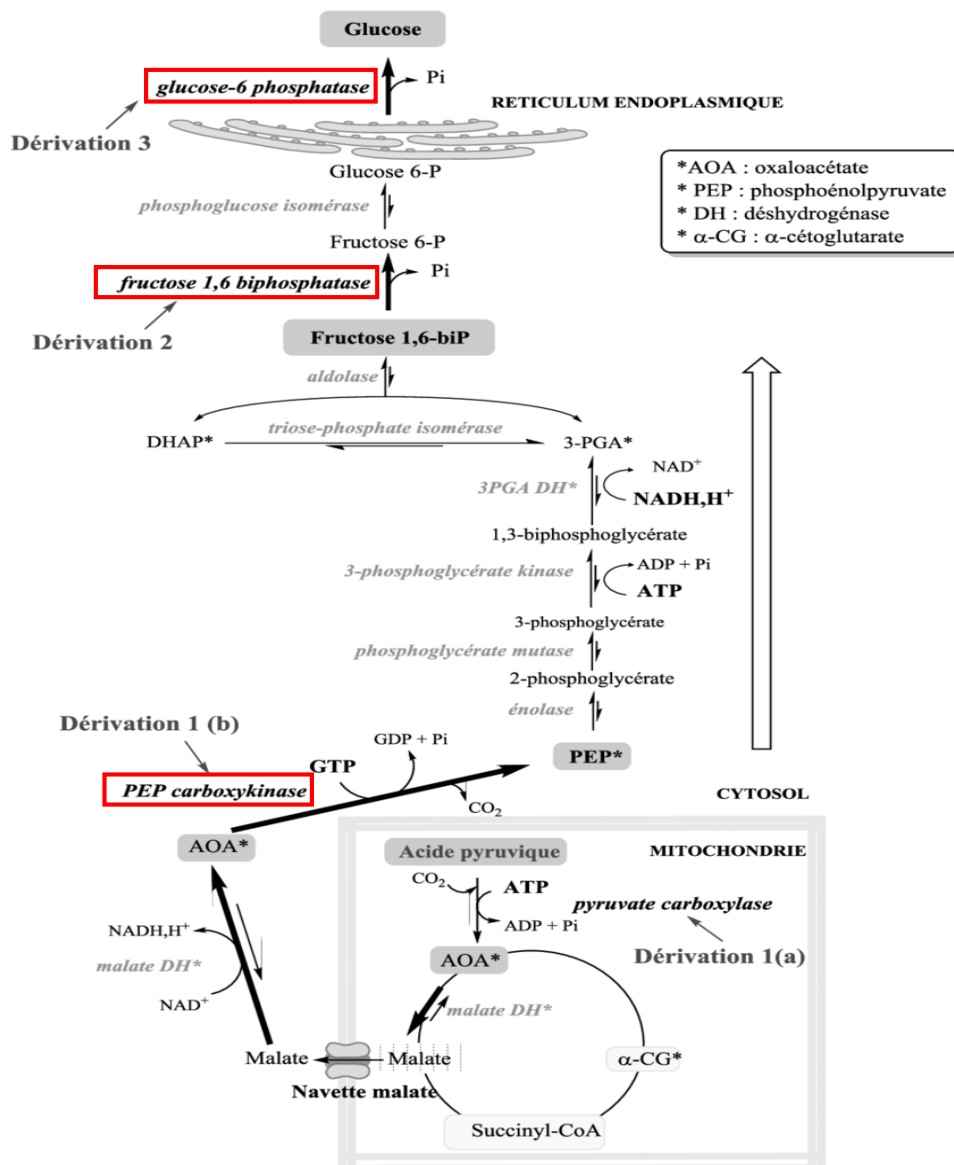
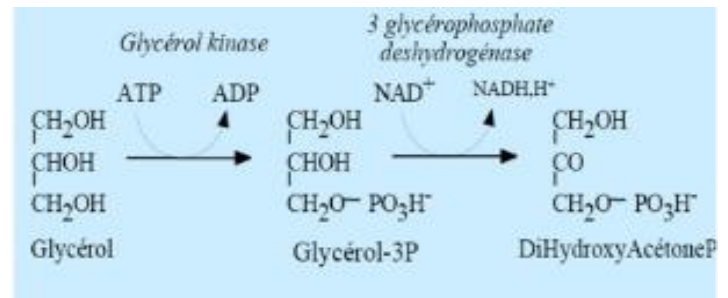


Figure 05 : représentation schématique de la néoglucogénèse

2.2.2. Bilan énergétique

La néoglucogénèse est énergétiquement coûteuse. 4ATP et 2GTP sont consommés donc six molécules d'ATP sont nécessaires pour synthétiser une molécule de glucose à partir du

pyruvate.

Réaction globale de la néoglucogenèse à partir du pyruvate



2.2.3. Régulation allostérique

La gluconéogenèse et la glycolyse sont régulées réciproquement, de sorte qu'une voie est relativement inactive lorsque l'autre est active. Lorsqu'il y a un besoin d'énergie, la glycolyse va prédominer tandis qu'il y a un excès d'énergie, la gluconéogenèse va prendre le relais. Il y a les étapes suivantes dans la régulation de la gluconéogenèse :

La pyruvate carboxylase (catalyse la 1ère réaction irréversible de la gluconéogenèse) est une enzyme allostérique. Il nécessite de l'acétyl-CoA comme activateur allostérique. Un niveau plus élevé d'acétyl CoA favorisera l'activité de la pyruvate carboxylase qui, à son tour, favorise la production d'oxaloacétate.

De même, le citrate est un activateur tandis que le fructose-2,6-bisphosphate et l'AMP sont des inhibiteurs de la fructose-1,6-bisphosphatase. L'acétyl CoA et le citrate activent les enzymes de la gluconéogenèse tout en inhibant l'enzyme de glycolyse, la pyruvate kinase.

Enzymes clés de la néoglucogenèse

- **Pyruvate carboxylase**: Activateur: acétyl CoA.

- **Fructose-1, 6 bisphosphatase**: Activateurs: ATP, Citrate ; Inhibiteur: AMP, fructose 2,6 biphosphate

2.1.4. La voie des pentoses phosphates (VPP)

Dans la plupart des tissus, 80 % ou plus du catabolisme du glucose suit d'abord la glycolyse. Le reste entre dans une voie alternative dite voie des pentoses phosphates. Cette voie appelée également voie du phosphogluconate ou Shunt des hexoses mono phosphate est une autre voie métabolique (catabolique) du glucose dont le substrat est le glucose 6 phosphate (G6P).

Contrairement à la glycolyse, cette voie n'a pas des fins énergétiques (ne produit ni ATP ni NADH) mais à des fins métaboliques permet de générer du :

- **Générer du nicotinamide adénine dinucléotide nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADPH)** : un coenzyme indispensable aux réactions réductrices de la biosynthèse des acides gras, de cholestérol et des hormones stéroïdes.

- **Produire des pentose phosphate (Ribose 5-P)** : précurseur de la synthèse des nucléotides, des acides nucléiques et de coenzymes.

La VPP est **ubiquitaire** de localisation cytoplasmique. Elle se déroule au niveau de toutes les cellules aboutissant à la formation du NADPH₂ et des pentoses phosphates.

Elle est très active au niveau des tissus où la biosynthèse des lipides est importante à l'instar des glandes mammaires au cours de la lactation, la corticosurrénale et le foie. En effet, dans ces tissus le NADPH est indispensable pour la synthèse des acides gras, le cholestérol, les hormones stéroïdes et les sels biliaires.

Elle est également active d'une façon particulière dans les globules rouges où elle est surtout utile pour la fabrication du NADPH. Ce dernier permet la réduction du glutathion oxydé : un tri peptide ayant un rôle antioxydant.

2.1.4.1. Les étapes réactionnelles de la VPP :

La voie du pentose phosphate implique une série de réactions étroitement liées à la glycolyse, car les deux processus ont des intermédiaires communs. Elle peut être divisée en deux phases. Dans la première, le G-6-P subit deux oxydations, décarboxylation, et il est transformé en un pentose phosphate, le ribulose-5-phosphate (il y a libération de CO₂). Ces trois réactions constituent **la phase oxydative qui est irréversible**.

La deuxième phase est **non oxydative** et comprend une série de réactions **réversibles**, au cours desquelles se forment des aldoses et cétooses de 3 à 7 carbones. Le ribulose-5-phosphate donne deux isomères : le ribose- 5-phosphate et le xylulose-5-phosphate. Ces deux isomères se combinent et produisent un triose-phosphate, qui, à leur tour, génèrent de l'hexosephosphate et du tétrasephosphate, qui se combinent et produisent un triose phosphate et un heptose-phosphate qui, à leur tour, génèrent de l'hexose phosphate et du tétra-phosphate.

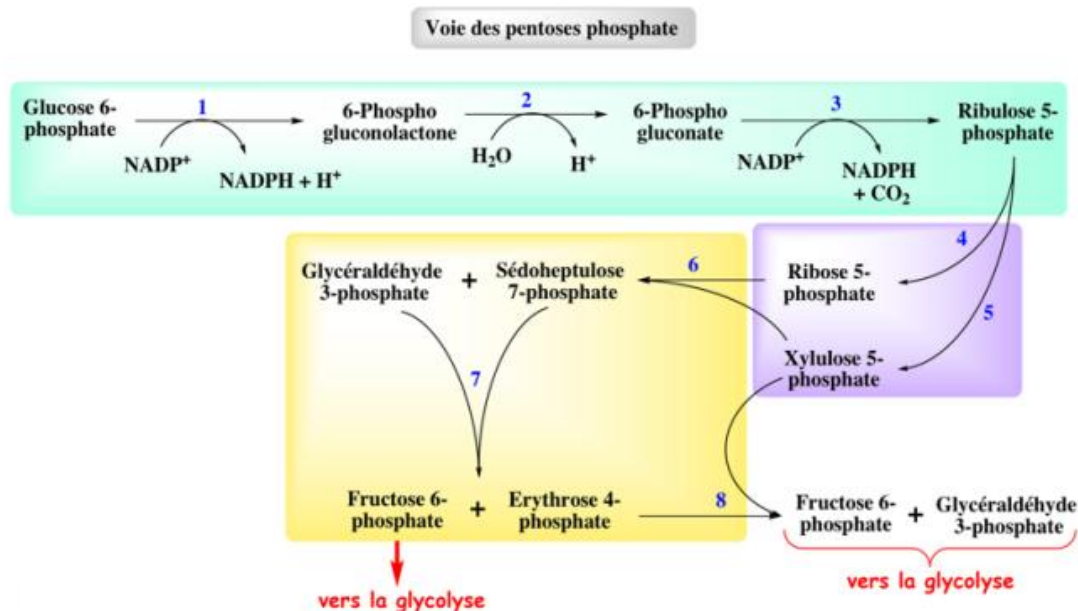


Figure 06 : Les réactions de la voie des pentoses phosphates.

❖ La phase oxydative

Cette phase comporte trois réactions durant lesquelles, le G6P est transformé en ribulose 5-

phosphate avec production de deux NADPH et d'un CO₂.

▪ **Réaction 1:** est une réaction de déshydrogénation du G6P catalysée par la **glucose 6 phosphate déshydrogénase** aboutissant à la formation du 6 phospho-gluconolactone avec production de NADPH.

▪ **Réaction 2:** est une réaction d'hydrolyse catalysée par une **6 phosphogluconolactonase** aboutissant à la formation du 6-phosphogluconate.

▪ **Réaction 3:** est une réaction de décarboxylation et de déshydrogénation catalysée par **6-phosphogluconate déshydrogénase** aboutissant au ribulose 5 phosphates et de NADPH et de CO₂.

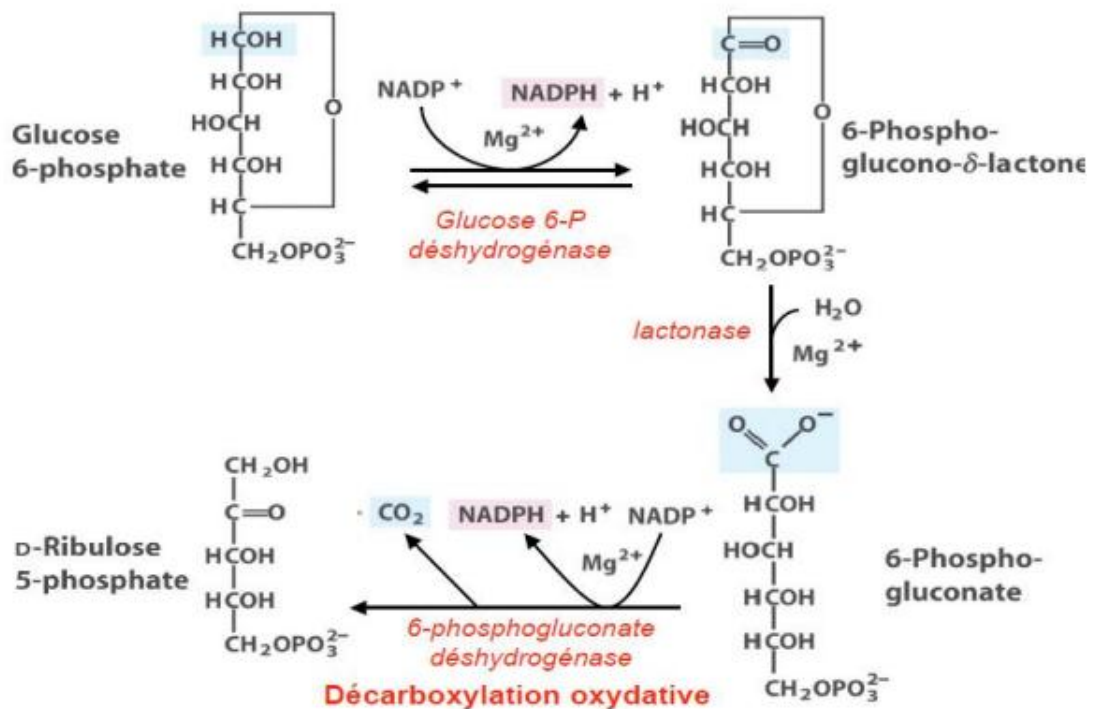


Figure 07 : les voies de la phase oxydative

❖ La phase non oxydative

Comporte deux parties avec des réactions différentes :

▪ Une partie non oxydative comportant des réactions réversibles **d'interconversion** des pentoses phosphates : réactions d'isomérisation et **d'épimérisation** (réactions 4 et 5).

- Une partie non oxydative comportant des réactions de **transcétolisation** et de **transaldolisation** (réactions 6, 7 et 8).

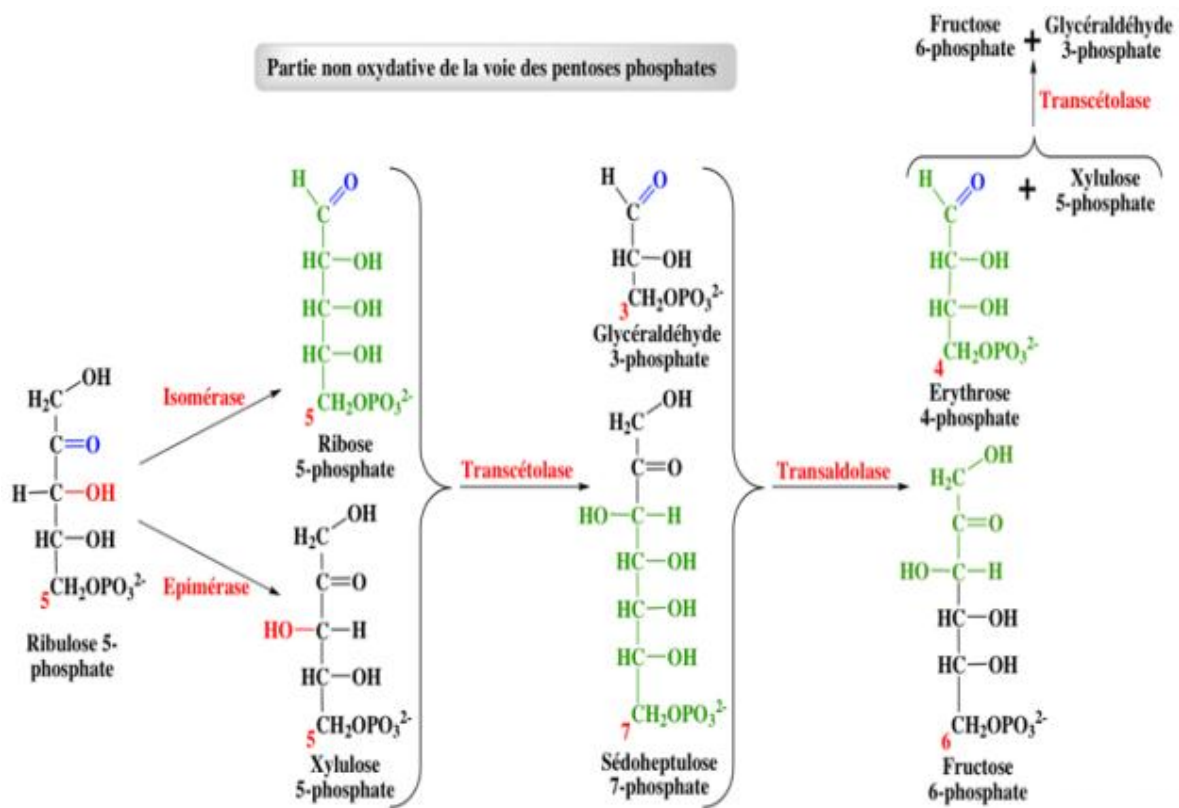


Figure 08 : les voies de la phase non oxydative

2.1.4.2. Bilan moléculaire de la VPP

Inter conversion de trois pentoses phosphates en deux fructose 6-phosphate et un Glycéraldéhyde 3-phosphate. Ceux-ci peuvent rejoindre la glycolyse et/ou la néoglucogénèse en fonction des besoins cellulaires.

2.1.4.3. Régulation de VPP

- Le G6P est à la fois le substrat de la voie des pentoses phosphates et de la glycolyse ; le choix relatif entre ces deux voies dépend des exigences cellulaires ponctuelles en énergie métabolique (ATP) et en précurseurs biosynthétiques (NADPH et ribose 5-phosphate).

- La glycolyse est ralentie lorsque la charge énergétique est élevée, la **glucose 6- phosphate déshydrogénase** (l'enzyme clé de la régulation de VPP) est inhibée par une concentration

élevée de NADPH et par les intermédiaires de la biosynthèse des acides gras. Est activée par l'accumulation de NADP⁺.

- Le déficit atteignant l'enzyme limitante de la voie des pentoses phosphate « la glucose phosphate déshydrogénase est l'une des maladies héréditaires les plus fréquentes. En cas de déficit enzymatique en G6PDH, le NADPH/H⁺ manque pour la régénération du glutathion. Consécutivement, les peroxydes et les radicaux oxygénés endommagent la membrane érythrocytaire, ce qui provoque une destruction des globules rouges pouvant entraîner une anémie hémolytique sévère.

2.1.2. Réserve glucidique et métabolisme du glycogène

Le glycogène est la forme de stockage du glucose dans les cellules animales. C'est un homopolysaccharide (polymère de glucose), fortement ramifié, dont les unités α glucose sont unies par des liaisons O-glycosidiques intra-chaînes (α 1,4) et inter-chaînes (α 1,6).

Le métabolisme du glycogène comprend :

-Sa synthèse à partir du glucose : **glycogénogenèse**.

-Son catabolisme en glucose : **glycogénolyse**.

2.1.2.1. Glycogénogenèse

La synthèse du glycogène à partir du glucose a lieu dans de nombreux tissus, mais elle est particulièrement importante dans le foie et les muscles, où son ampleur et son importance et sa pertinence fonctionnelle sont plus significatives. Chez l'homme, environ 8 % du poids du foie est constitué de glycogène, surtout après un régime riche en carbohydrates.

Cette quantité est considérablement réduite après le jeûne. Dans le muscle squelettique, le glycogène contient environ 2 % de son poids.

NB : le stock hépatique du glucose est faible et rapidement épuisable (24h) : 150g (le 1/3 du stock total

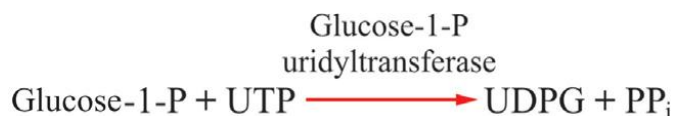
de l'organisme).

La glycogénogenèse est un processus anabolique qui nécessite de l'énergie. Elle se déroule dans le cytosol et consiste l'addition de molécules de glucose, sur un résidu glucose d'une extrémité non réductrice d'une chaîne de glycogène préexistante. Elle comprend les étapes suivantes

1. La phosphorylation du glucose est la première étape de la synthèse du glycogène est la conversion du glucose en G-6-P. Cette réaction, catalysée par les par les hexokinases (dont la glucokinase), a été décrite dans une section précédente.

2. La formation de glucose-1-phosphate est la deuxième étape, la phosphoglucomutase catalyse la formation du glucose-1-phosphate en transférant le groupement phosphate du carbone 6 au carbone 1 de la molécule de glucose. Cette convention nécessitant le Mg^{+} et de glucose-1,6-bisphosphate comme cofacteurs.

3. L'activation du glucose, le glucose-1-phosphate réagit avec le nucléotide à haute énergie l'uridine triphosphate (UTP) à haute énergie pour donner du l'uridine diphosphate glucose (UDPG) et le pyrophosphate (PP_i). La réaction est catalysée par **l'uridine diphosphate-glucose pyrophosphorylase**.



4. Elongation de la chaîne de glycogène, elle consiste en un transfert de la fraction glucidique de l'UDP-glucose à une extrémité non réductrice d'une amorce de glycogène ou d'une chaîne en cours d'élongation. Elle permet la formation d'une liaison osidique ($\alpha 1,4$) avec libération de l'UDP grâce à **la glycogène synthase**.

5. Ramification du glycogène, consiste à la mise en place des branchements $\alpha(1,6)$ lorsqu'une chaîne $\alpha(1,4)$ s'est allongée d'une dizaine d'unités glucose, les 6 premières à l'extrémité non réductrice sont détachées, puis transférés, avec formation d'une liaison Oglycosidique $\alpha(1,6)$, sur une unité de glucose de la même chaîne ou d'une autre chaîne, l'enzyme responsable est l'enzyme branchante.

- **Synthèse d'un primer pour initier la synthèse du glycogène**

La glycogène synthase qui assure la formation de la liaison a (1-4) est une enzyme d'élongation et ne peut initier de novo la synthèse du glycogène à partir du glucose. Il faut un primer (ou une amorce). En l'absence de ce fragment, intervention d'une protéine spécifique : **la glycogénine**. Elle possède une chaîne latérale de tyrosine qui sert d'accepteur, grâce à sa fonction -OH, au premier résidu glucosyle provenant de l'UDPglucose.

La formation de la première liaison osidique est catalysée par une glycogène synthase initiatrice. La glycogénine, elle-même, peut rajouter quelques unités glucose liées par des liaisons $\alpha(1-4)$ pour terminer le primer (8 unités de glucose).

2.1.2. 2. Glycogénolyse

Est le processus de dégradation du glycogène en glucose (voie catabolique) lorsque l'organisme est en besoin énergétique ou en besoin de glucose. Elle intervient dans presque tous les tissus, mais surtout dans le foie et les muscles en raison de la plus grande importance du glycogène en tant que carburant de réserve dans ces tissus.

▪ Etapes de la glycogénolyse

La glycogénolyse se réalise en trois étapes principales : Une glycogène phosphorylase forme du glucose-1-phosphate, qui est transformé en glucose-6-phosphate par une phosphoglucomutase et celui-ci en glucose par une glucose-6-phosphatase.

En raison de la structure hautement ramifiée du glycogène, il est possible d'obtenir les molécules de glucose au moment voulu. L'enzyme glycogène phosphorylase élimine le glucose d'une branche du glycogène jusqu'à laisser 4 molécules de glucose dans la branche, la glucantransférase prend trois de ces glucoses et les transfère à la branche principale et, enfin, l'enzyme de débranchement élimine la molécule de glucose restante.

Ce n'est pas simplement le processus inverse de la glycogénèse (glycogénogenèse et néoglycogénogenèse). Comme il existe des étapes irréversibles dans cette dernière voie, la dégradation du glycogène doit être effectuée en utilisant, dans ces étapes, des enzymes différentes de celles de la voie anabolique.

1. Tout d'abord, le glycogène est lesté d'une unité par **la glycogène-phosphorylase**, qui catalyse la phosphorolyse ou le clivage phosphorolytique des liaisons alpha (1–4) glycosidiques, qui consiste en la séparation séquentielle des résidus de glucose de l'extrémité non réductrice. Cette réaction est très avantageuse pour la cellule, en comparaison avec une hydrolyse. ce qui entraîne la formation de glucose-1-phosphate.

2. Le glucose-1-phosphate est ensuite isomérisé en glucose-6-phosphate, réaction catalysé par **la phospho-glucomutase**. Cette étape se fera également dans le cytosol.

3. Et finalement le glucose-6-phosphate est transformé en glucose par **la glucose-6-**

phosphatase, et ceci au niveau du réticulum endoplasmique des cellules hépatiques, les seules à posséder cette enzyme.

4. La glycogénolyse permet donc la formation de glucose-6-phosphate sans consommation d'ATP.

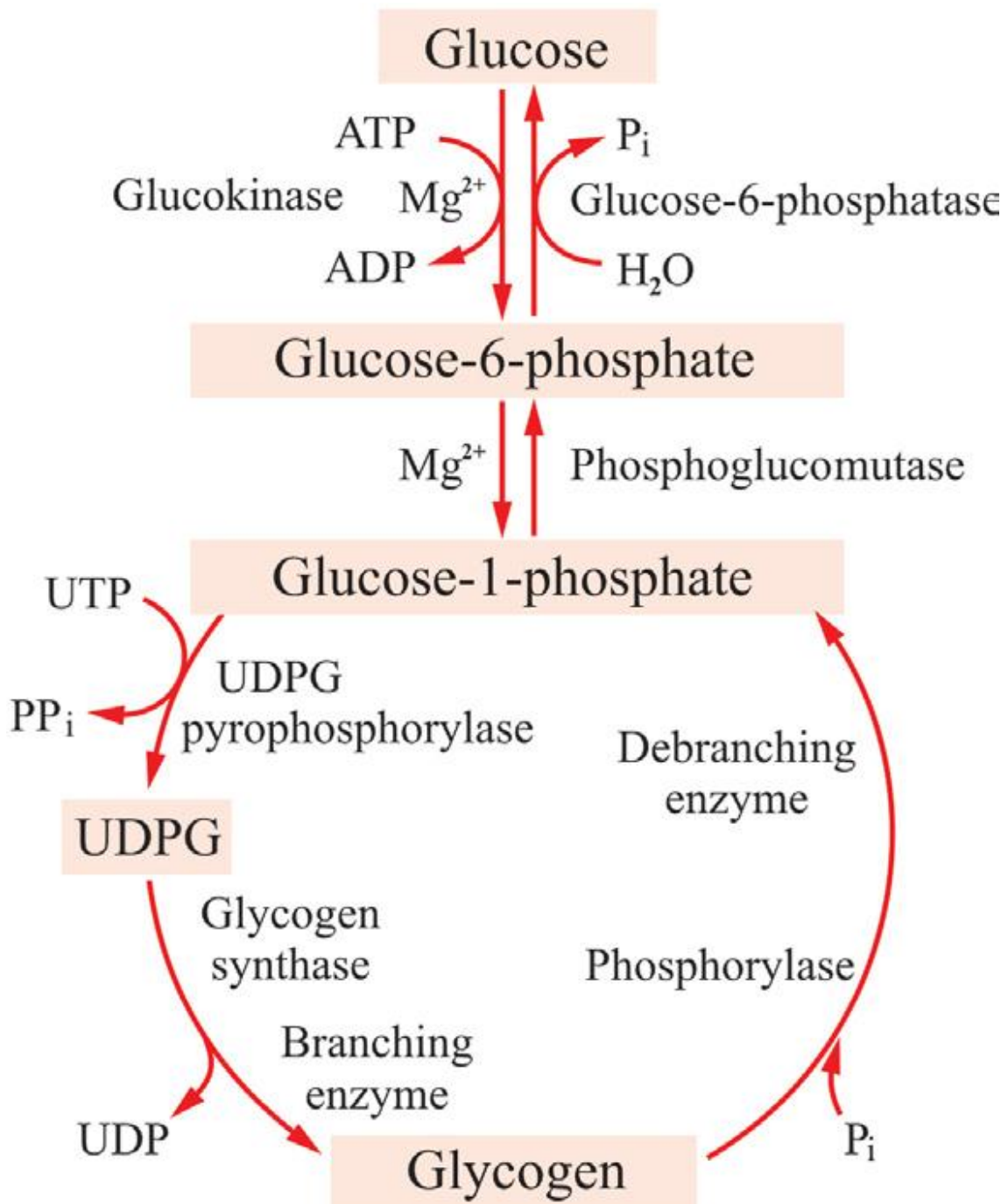


Figure 09 : Voies de synthèse et dégradation du glycogène.

2.1.2.3. Régulation des réserves de glycogène

La glycogénolyse et la glycogénogenèse sont des mécanismes inverses et alternatifs qui sont dirigés par des signaux régulateurs importants qui lorsqu'ils activent l'un, ils inhibent l'autre. La glycogénolyse et la glycogénogenèse ne peuvent donc pas avoir lieu en même temps.

La régulation par des effecteurs allostériques (AMP, ATP, G6P) en fonction de l'état énergétique de la cellule.

Par exemple la régulation de la synthèse du glycogène est assurée par la possibilité pour la **glycogène synthase** d'exister sous deux formes : forme active (déphosphorylée) et forme inactive (phosphorylée). La forme phosphorylée montre une activité uniquement en présence de concentrations saturantes de G-6-P, qui agit comme effecteur allostérique positif. La forme déphosphorylée est active, quelle que soit l'existence du G-6-P. comme mécanisme de régulation de la glycogène synthase et la voie du glycogène.