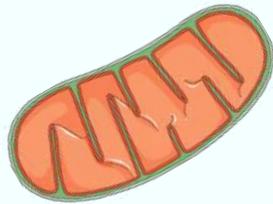


Complexe Pyruvate DésHydrogénase (PDH)

Introduction

La mitochondrie



•••

Note : pour que la mitochondrie, et ses enzymes, fonctionnent, on doit être en milieu **AÉROBIQUE**



La structure de la mitochondrie est caractéristique :

- Une **Membrane Mitochondriale Externe** (MME) : **perméable** et **peu sélective**
- Un **Espace Inter-Membranaires** (EIM)
- Une **Membrane Mitochondriale Interne** (MMI) : **imperméable** et **très sélective**, elle possède des **crêtes** qui vont augmenter sa surface de contact
→ éléments de la *CRM, ATP synthase, acyl-CoA déshydrogénase, succinate déshydrogénase...* mais surtout des **protéines de transport** (car elle est imperméable sinon)
- Une **matrice mitochondriale**
→ la majorité des *enzymes des voies mitochondriales*

Origine de l'acétyl-CoA

L'acétyl-CoA a plusieurs origines :

- Lors de la **β -oxydation** (oxydation des acides gras)
- Lors de la **cétolyse**
- La dégradation des **acides gras cétoènes**
- Lors de la **décarboxylation oxydative du pyruvate** via la PDH

L'acétyl-CoA représente le point de convergence des catabolismes, des **glucides**, des **lipides** et des **protéines**

Entrée du pyruvate dans la mitochondrie

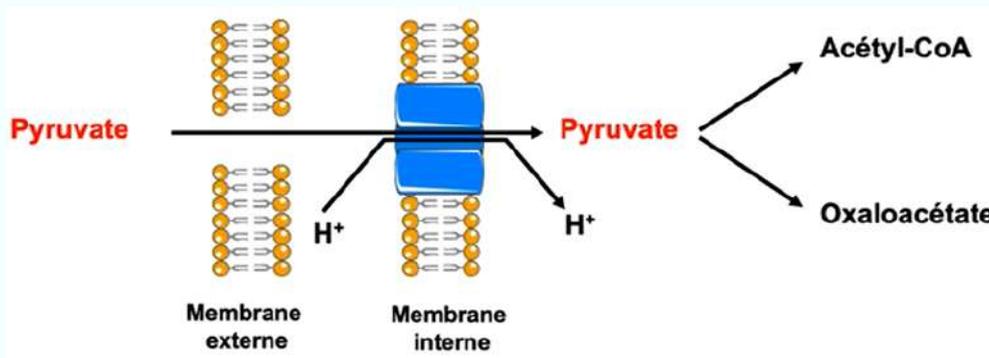
Le pyruvate rentre dans la mitochondrie en 2 étapes :

- Passage de la **MEM** par un système de diffusion passive via une **porine**
- Passage de la **MEI** (*impermeable au pyruvate*) via une protéine de transport actif, la **pyruvate translocase** (*un symport couplé à l'entrée de protons qui viennent de la CRM*)

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

Dans la mitochondrie, le pyruvate peut donner :

- De l'**acétyl-CoA**, dans une situation de **faible potentiel énergétique** (*besoin en ATP*)
→ Cycle de Krebs
- De l'**oxaloacétate**, dans une situation de **fort potentiel énergétique** (*pas de besoin en ATP*)
→ Néoglucogénèse



Fonctionnement de la PDH

Devenir de l'acétyl-CoA

La PDH va catalyser des réactions qui vont former de l'**acétyl-CoA** à partir de pyruvate, qui va :

- Intégrer le **cycle de Krebs**, dans le cas d'un **niveau énergétique faible**
→ Production d'énergie
- Être un donneur d'acétate pour la **lipogénèse** ou la **cétogénèse**, dans le cas d'un **niveau énergétique élevé**
→ Stockage d'énergie

L'acétyl-CoA fonctionne comme un interrupteur moléculaire selon les besoins énergétiques de la cellule (au niveau du foie par exemple)

Structure de la PDH

La PDH est un complexe d'un poids moléculaire de 10 millions de dalton, situé à la face interne de la MIM

La PDH est un **complexe multienzymatique**

composé de **3 apoenzymes**



- La **pyruvate déshydrogénase** (E1) /
- La **dihydrolipoyl transférase** (E2) /
- La **dihydrolipoyl déshydrogénase** (E3) /

et impliquant **5 coenzymes** :

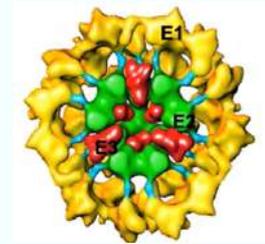


Thyamine PyroPhosphate (TPP)
acide lipoïque & **CoA-SH**
NAD⁺ - NADH + H⁺ & FAD - FADH₂

Alors oui, la pyruvate déshydrogénase désigne en réalité la 1ère apoenzyme du COMPLEXE pyruvate déshydrogénase, mais par abus de langage on parlera de pyruvate déshydrogénase, pour désigner le complexe entier

Les différentes sous unités de la PDH sont localisés de manière précise :

- À l'extérieur = **E1**
- Plus à l'intérieur = **E2** et son **domaine lipoyl** (au contact de l'E1).
- Au centre = **E3**



Cette coopération est essentielle pour cette réaction qui libère beaucoup d'énergie (une seule enzyme ne pourrait pas catalyser à elle seule cette réaction) afin de se dérouler plus rapidement, et pour avoir une meilleure coordination de la régulation, notamment

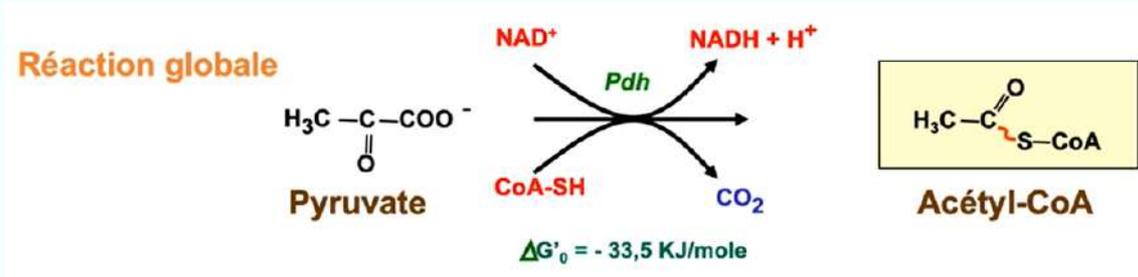
Plusieurs caractéristiques de ce complexe :

- Les **bras de l'E2** peuvent **flotter pour prendre les électrons de l'E1** pour les **céder à l'E3**
- On retrouve **plusieurs copie de chaque enzyme** (dans 1 complexe PDH)
- Les enzymes sont **très serrés** afin d'**empêcher que certains produits puissent quitter le complexe** = canalisation des intermédiaires réactionnels
- Il permet la formation d'une **liaison à haut potentiel énergétique** (thioester) **SANS UTILISATION D'ATP** (dans l'acétyl-CoA)

Étapes du complexe PDH

La décarboxylation oxydative du pyruvate constitue la passerelle entre la glycolyse et le cycle de Krebs

Ainsi, la PDH régule l'entrée des unités acétyl dans le cycle de Krebs, dans cette réaction globale qui permet le passage d'une molécule à **3 carbones** (pyruvate) vers une molécule à **2 carbones** (acétyl-CoA), on parle de **décarboxylation oxydative** :



Décarboxylation **irréversible chez les mammifère** ($\Delta G = -33,5 \text{ KJ/mol}$)

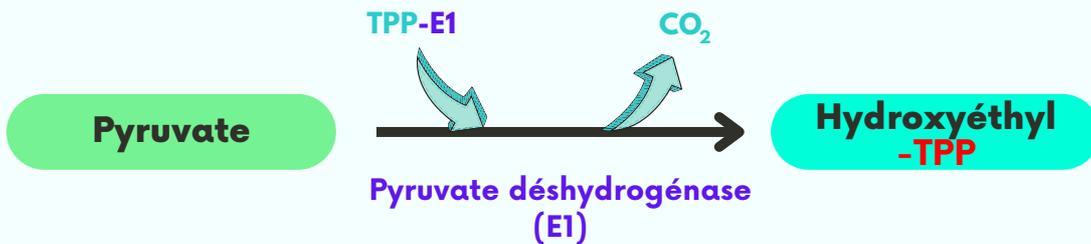
C'est la **seule voie de synthèse d'acétyl-CoA à partir du pyruvate**

Maintenant on regarde ça plus en détail :

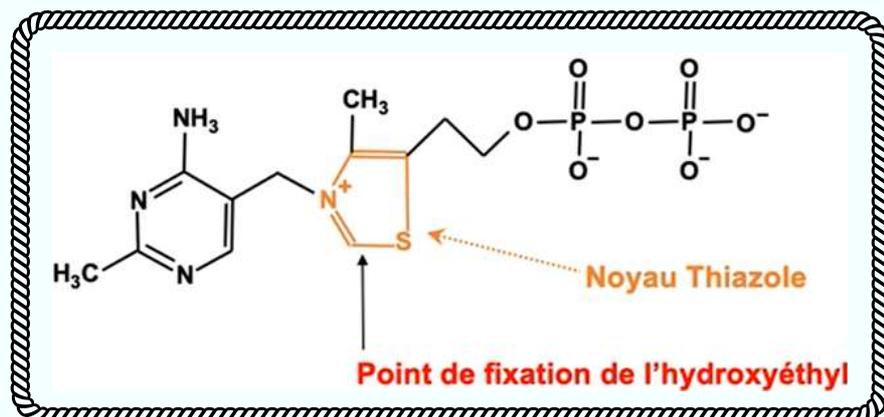
1. Décarboxylation

- La **pyruvate déshydrogénase (E1)** permet la décarboxylation sous forme de CO_2 du **pyruvate** pour donner un dérivé **hydroxyéthyl lié au TPP**, qui a un rôle de coenzyme dans cette étape (un acétylaldéhyde)

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

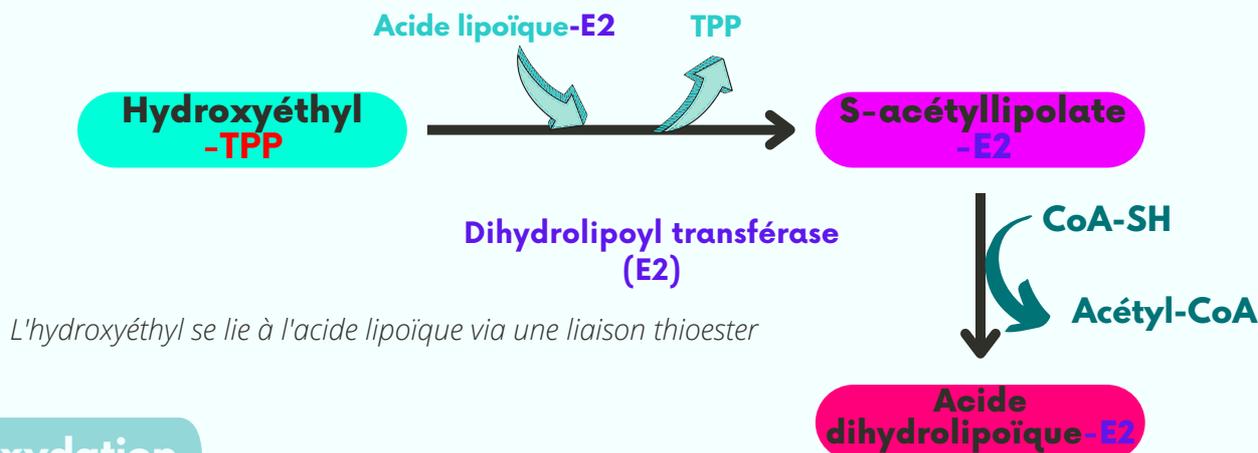


Formule du TPP :



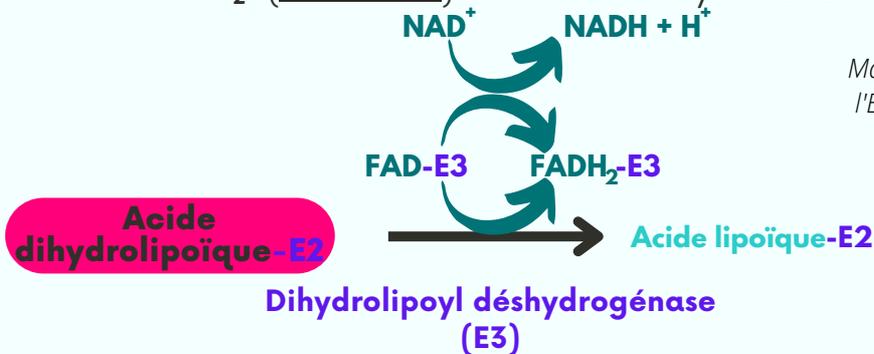
2. Oxydation

- La dihydrolipoyl transférase (E2) permet la transformation de l'hydroxyacétyl en **acide dihydrolipoïque**, en passant par le **S-acétyllipolate**, et en utilisant l'**acide lipoïque** (lié à l'E2) et la **CoA-SH** comme coenzymes, permettant in fine la production d'**acétyl-CoA**



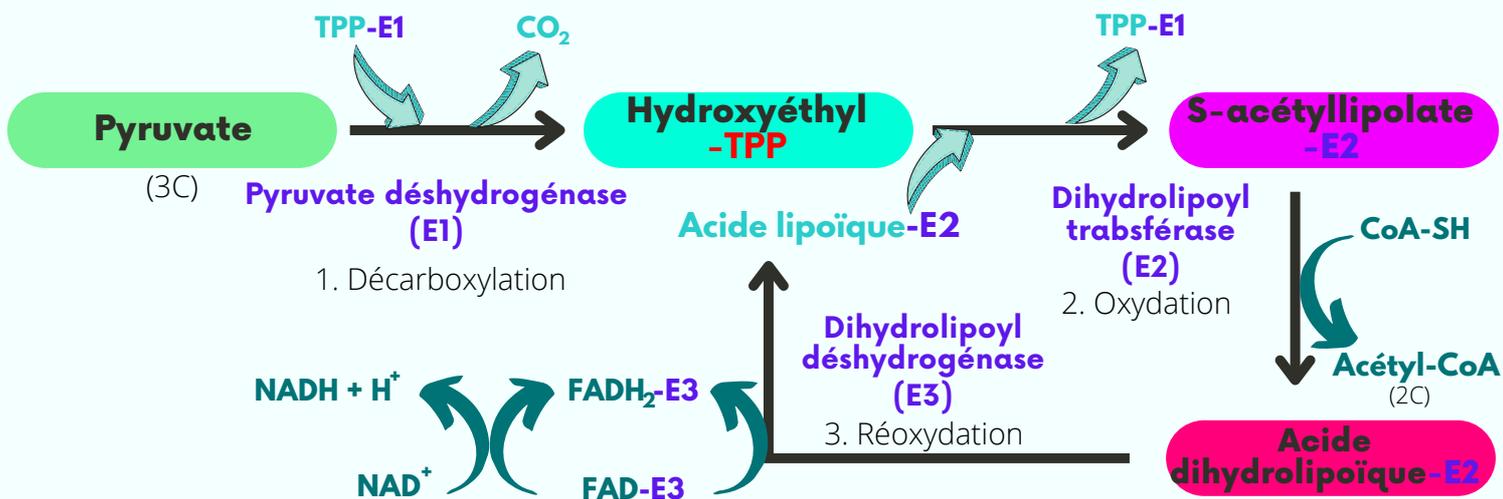
3. Réoxydation

- La dihydrolipoyl déshydrogénase (E3) permet la réoxydation de l'**acide lipoïque** (retrouvant ces liaisons disulfures), avec utilisation de $\text{NAD}^+ / \text{NADH} + \text{H}^+$ et de $\text{FAD} / \text{FADH}_2$ (liée à l'E3) comme coenzymes



Maintenant que l'acétyl-CoA est formé, l'E3 permet que toutes les coenzymes retrouvent leur forme d'origine

Schéma récap :



Régulation de la PDH

Régulation covalente

Au repos

En période de repos, on a pas de demande de production en énergie, donc on pas besoin que le complexe PDH soit actif, on va donc l'inhiber (puisqu'il produit de l'acétyl-CoA, qui va essentiellement servir à la production d'énergie, via le cycle de Krebs)

- Les ratios élevés d'ATP, de NADH et d'acétyl-CoA vont venir stimuler l'activité de la **PDH kinase**, qui phosphoryle le résidu Ser de l'E1 (donc inactivation du complexe) (enzyme allostérique)

Note : la **concentration d'ADP est le reflet de la consommation d'ATP** et la **concentration de pyruvate témoigne de l'activité de la glycolyse**

En activité

En période d'activité, on a la de demande de production en énergie, donc il faut que le complexe PDH soit actif, on va donc l'activer (puisqu'il produit de l'acétyl-CoA, qui va essentiellement servir à la production d'énergie, via le cycle de Krebs)

- Les ratios élevés d'ADP et de **pyruvate** vont venir inhiber l'activité de la **PDH kinase**, qui phosphoryle le résidu Ser de l'E1 (du coup ici il le laisse déphosphorylé, donc activation du complexe)
- Une augmentation de la concentration de **Ca²⁺ intracellulaire** lors de la contraction musculaire (donc spécifique au muscle), va venir stimuler l'activité de la **PDH phosphatase**, qui déphosphoryle le résidu Ser de l'E1 (donc activation du complexe) 

Voici les situations où la PDH est active ou inactive :

C'est que de la logique, du coup je me permet de juste vous laisse le diapo de la prof

ACTIVE	INACTIVE
- [glucose] élevée / après un repas	- Déficit en glucose / jeûne
- insuline	- Faible demande en ATP
- Demande importante en ATP	- Excédent en substrats énergétiques alternatifs (AG, CC)
- Déficit en substrat énergétique de remplacement (AG, CC)	
- Lipogenèse	

Régulation allostérique

- L'**acétyl-CoA** va inhiber l'E2
- Le **NADH + H⁺** va inhiber l'E3

Régulation allostérique = régulation par les produits de la réaction

Logique puisqu'ils révèlent un niveau énergétique élevé

Instant QCMs

Fait par la prof +++

QCM 1 : Concernant le complexe enzymatique de la pyruvate déshydrogénase (PDH), indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- L'étape de décarboxylation du pyruvate catalysée par la sous-unité E1 est l'étape limitante de la réaction de conversion du pyruvate en acétyl-CoA
- La PDH est active dans sa forme phosphorylée
- L'acide lipoïque est associé à la sous-unité E3
- Un rapport acétyl-CoA / CoA-SH cytosolique élevé inhibe la PDH kinase
- Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Concernant les régulations du complexe enzymatique de la pyruvate déshydrogénase (PDH), indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- La PDH est active après un repas
- L'acétyl-CoA inhibe la sous-unité E3 de la PDH
- Le pyruvate inhibe la PDH phosphatase
- Dans le muscle, le calcium active la PDH phosphatase
- Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :

QCM 2 : AD
QCM 1 : A

Finis, c'est un petit cours qui introduit le cours sur le cycle de Krebs, donc je vous conseille de les réviser ensemble

Pas de dédis ici (pas le temps mdr) mais je me rattraperai sur la fiche du cycle de Krebs

Juste dédié à Camilya qui s'est tapée une insomnie avec moi, pendant que je vous faisais cette fiche (et elle des QRUs de K-LI-T, allez faire son DM !!!)