

BCH3520 – Métabolisme Intermédiaire Général

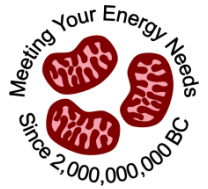
Premier examen de mi-session – Mercredi 3 février 2016

Dr. Céline Aguer

CORRECTION

Question bonus (1 pt) : Qu'est-il dessiné sur le chandail du professeur aujourd'hui (dessin ci-contre)?

Mitochondries

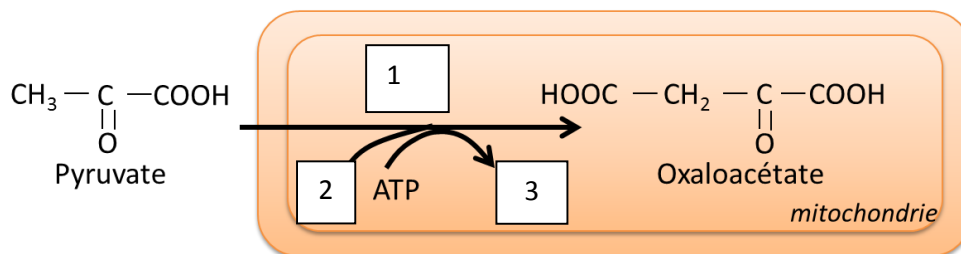


Section 1 : Remplissage de blancs : 1 pt/blanc – **TOTAL :** /30

DONNEZ UNE SEULE REPONSE PAR BLANC !

1. L'intermédiaire commun des 3 grandes voies du catabolisme est l'acétyl-CoA
2. Lorsqu'un groupement phosphate est transféré d'une molécule à une autre, la réaction enzymatique est catalysée par une kinase
3. Lorsqu'un groupement carboxyle est ajouté sur une molécule, la réaction enzymatique est catalysée par une carboxylase
4. Les réactions de la glycolyse qui produisent directement des ATP sont catalysées par la phosphoglycérate kinase et la pyruvate kinase (0.5 point par réponse si seulement KINASE)
5. La pyruvate kinase est inhibée lorsqu'elle est phosphorylée (type de modification covalente). L'hormone connue pour inhiber la pyruvate kinase dans le foie est le glucagon
6. Les réactions limitantes du cycle de Krebs sont catalysées par la citrate synthase, l'isocitrate déshydrogénase, l'alpha-cétoglutarate déshydrogénase
7. Deux métabolites qui n'appartiennent pas au cycle de Krebs peuvent reformer de l'oxaloacétate. Lesquels? le pyruvate et le phosphoénolpyruvate

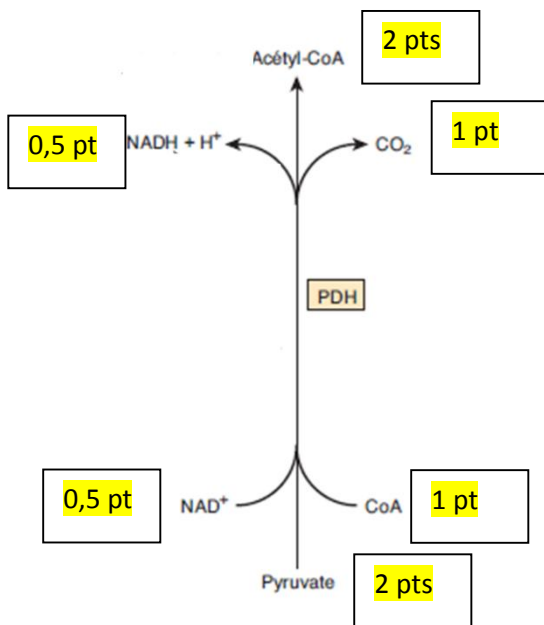
8. Parmi les métabolites suivants, lequel n'est pas un inhibiteur de la citrate synthase : le NADH, l'ADP, le succinyl-CoA ou le citrate? L'ADP
9. Dans la chaîne respiratoire, le complexe I transfère les électrons du NADH vers le co-enzyme Q (ou CoQ, ou ubiquinone), alors que le complexe IV permet le transfert des électrons du cytochrome c vers l'oxygène (ou O, ou O2)
10. La glycogène phosphorylase catalyse la phosphorolyse des liaisons $\alpha 1 \rightarrow 4$ d'une molécule de glycogène (0.5 point si seulement PHOSPHORYLASE)
11. L'enzyme limitante de la glycogénogenèse est la glycogène synthase (0.5 point si seulement SYNTHASE). Cette enzyme est active lorsqu'elle est non phosphorylée (ou déphosphorylée) (type de modification covalente)
12. La néoglucogénèse est coûteuse énergétiquement. Elle consomme 6 ATP (nombre d'ATP) pour reformer une molécule de glucose à partir du pyruvate.
13. Le cycle de Félig permet de reformer du glucose via la néoglucogénèse. Quelle est le substrat initial de ce cycle? Alanine (0.5 point si ACIDES AMINÉS)
14. La voie des pentoses phosphates permet de former des NADPH utilisés lors de réactions de synthèse réductrice et du ribose-5-phosphate nécessaire à la synthèse des nucléotides.
15. Le substrat initial de la voie des pentoses phosphates est le G6P et les produits finaux de cette voie sont le fructose-6-phosphate et le glycéraldéhyde-3-phosphate
16. La réaction suivante est impliquée à la fois dans la formation de l'oxaloacétate pour fournir le cycle de Krebs, et dans la néoglucogénèse. Identifiez les 3 éléments manquants :
- 1 : Pyruvate carboxylase , 2 : Co2 , 3 : ADP



REPONDEZ SEULEMENT A 2 QUESTIONS! 15 points par question**Question 1.**

Le déficit en pyruvate déshydrogénase est une maladie neurologique rare associant des anomalies neurologiques et des anomalies du métabolisme énergétique. **(15 points)**

- A) Résumez la réaction catalysée par la pyruvate déshydrogénase. Il n'est pas demandé de décrire en détail toutes les étapes impliquées dans cette réaction, mais de la résumer (n'oubliez pas de mentionner les co-enzymes nécessaires à cette réaction et tout autre molécules qui entrent dans le bilan métabolique net de cette réaction). Vous pouvez répondre à cette question par un schéma. **(7 pts)**



- B) Les personnes atteintes de cette maladie montrent une augmentation du taux de lactate circulant. A votre avis, pourquoi? Justifiez votre réponse. **(4 pts)**

Le pyruvate issu de la glycolyse peut soit être transformé en acétyl-CoA et entrer dans le cycle de Krebs (catalysée par la PDH) (1 pt) ou être transformé en lactate (1 pt) via la LDH (1 pt). Puisque la PDH est déficiente dans cette pathologie, le pyruvate va forcément être transformé en lactate expliquant l'augmentation des taux de lactate (1 pt).

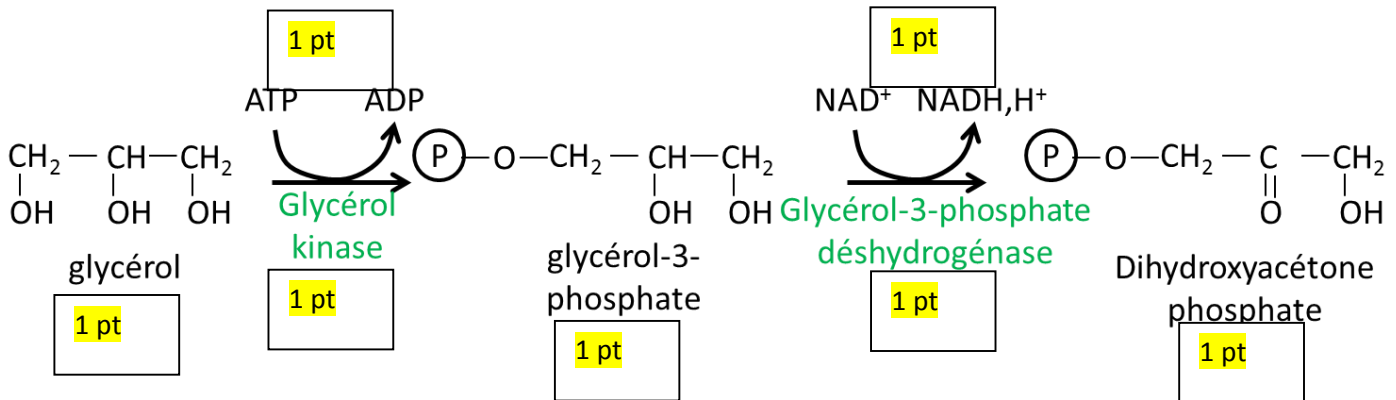
- C) Pourquoi cette maladie atteint-elle principalement le cerveau? Justifiez votre réponse. **(4 pts)**

Le cerveau ne peut pas utiliser les acides gras (1 pt). Si la PDH est absente, le cerveau ne pourra produire de l'énergie via cycle de Krebs et phosphorylations oxydatives (1 pt), il pourra seulement utiliser la glycolyse anaérobie pour produire des ATP (1 pt) ce qui diminue fortement sa capacité à produire de l'énergie puisque la glycolyse produit seulement 2 ATP par glucose, alors que l'oxydation complète du glucose via le cycle de Krebs et chaîne respiratoire en produit 30-32 (1 pt).

(seulement 0.5 point s'il est mentionné que la glycolyse produit moins d'énergie que l'oxydation complète du glucose, sans mentionner le nombre d'ATP produit dans les 2 voies).

Question 2.

En théorie, quel est le bilan énergétique net de la formation d'une molécule de glucose au cours de la néoglucogenèse à partir du glycérol? Justifiez votre réponse en décrivant toutes les réactions impliquées dans ce bilan énergétique (n'oubliez pas que certaines molécules peuvent participer au bilan énergétique puisqu'ultimement, elles permettent la synthèse d'ATP). *Je ne demande pas de décrire toutes les réactions de la voie, mais seulement celles qui participent au bilan énergétique. Pour ces réactions spécifiquement, nommez substrats, produits, enzymes catalysant la réaction et tout autre molécule impliquée dans la réaction (15 points)*

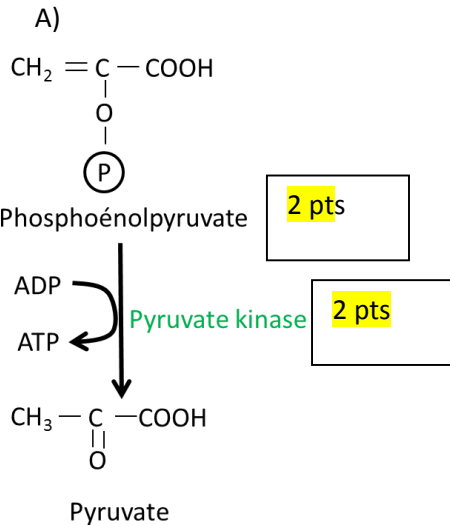


La 1^{ère} étape de la néoglucogenèse à partir du glycérol nécessite l'utilisation d'un ATP. La 2^{ème} étape produit un NADH, H+. Les étapes suivantes ne produisent ou n'utilisent pas de molécules entrant dans le bilan énergétique. Pour former une molécule de glucose à partir du glycérol, on a besoin de 2 glycérols (1 pt = 2 glycérols nécessaires). On va donc utiliser 2 ATP dans la 1^{ère} étape et produire 2 NADH, H+ pour reformer une molécule de glucose à partir du glycérol (1 pt pour dire que tout est multiplié par 2). Les NADH, H+ peuvent être réoxydés dans la chaîne respiratoire. Pour cela il faut que les NADH, H+ cytosoliques soient transférés dans la matrice mitochondriale via la navette malate-aspartate (1 pt), ou que les NADH, H+ cytosoliques soient transférés dans les mitochondries sous forme de FADH₂ via la navette du glycérolphosphate (1 pt). La réoxydation d'un NADH, H+ dans la chaîne respiratoire forme environ 2.5 ATP (1 pt) (donc 2 NADH, H+ * 2,5 ATP = 5 ATP) et celle des FADH₂ produit 1.5 ATP (1 pt) (donc 2 FADH₂ * 1,5 ATP = 3 ATP). On a donc 3-5 ATP produits et 2 ATP utilisés, donc un bilan net de 1- 3 ATP (2 pts) (seulement 1 Pt si bilan net = 3 ATP mais parlent pas des navettes).

Question 3.

A) Décrire la dernière étape de la glycolyse qui permet de former du pyruvate (vous devez décrire cette réaction en détail sans oublier d'indiquer toutes les molécules impliquées dans la réaction). (6 points)

B) Au laboratoire, vous traitez des hépatocytes in vitro avec différentes molécules (chaque molécule ajoutée correspond à une expérience indépendante) : a) de l'ATP, b) de l'alanine, c) du glucagon, d) de l'insuline. Expliquez quel va être la conséquence de ces différents traitements sur la production de pyruvate (justifiez vos réponses). (9 points)



B) a) de l'ATP : l'ATP est un inhibiteur allostérique de la pyruvate kinase (1 pt = inhibiteur allostérique, 0,5 pt si inhibiteur seulement). En présence d'ATP, il y a donc moins de pyruvate produit. (0,5 pt)

b) de l'alanine : l'alanine est aussi un inhibiteur allostérique de la pyruvate kinase (1 pt = inhibiteur allostérique, 0,5 pt si inhibiteur seulement). En présence d'alanine, il y a donc moins de pyruvate produit. (0,5 pt)

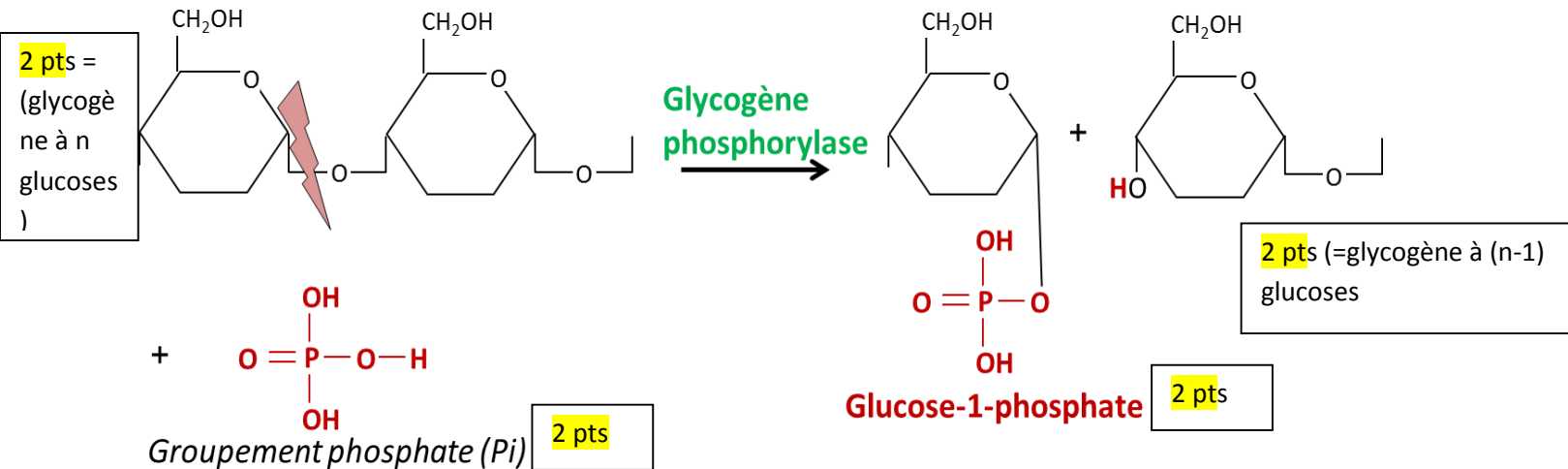
c) du glucagon : le glucagon active la formation d'AMPc (0,5 pt), ce qui active la PKA (0,5 pt) (ou protéine kinase dépendante de l'AMPc). La PKA phosphoryle la pyruvate kinase (0,5 pt), ce qui l'inhibe (1 pt). Il y a donc moins de pyruvate produit en présence de glucagon (0,5 pt)

d) de l'insuline : l'insuline diminue les taux AMPc (0,5 pt), ce qui va en retour inhiber la PKA (0,5 pt) et donc permettre à la pyruvate kinase d'être non-phosphorylée (0,5 pt), donc active (1 pt). Il y a donc plus de pyruvate produit en présence d'insuline (0,5 pt)

REPONDEZ SEULEMENT A 1 QUESTION! (40 pts)**Question 1**

La glycogénose de type VIII est un déficit en glycogène phosphorylase hépatique en raison d'un fonctionnement anormal de la glycogène phosphorylase kinase du foie.

- A) Quelle est la réaction catalysée par la glycogène phosphorylase? Décrire très précisément cette réaction en mentionnant toutes les molécules impliquées dans cette réaction. (8 points)



- B) Quelle est la réaction catalysée par la glycogène phosphorylase kinase? (2 points)

Catalyse la phosphorylation de la glycogène phosphorylase (2 pts).

- C) Si on injecte de l'adrénaline chez une personne saine et chez une personne atteinte de cette pathologie, à votre avis, quelles vont être les conséquences sur la quantité de glycogène dans le foie de ces 2 personnes? Justifiez votre réponse en décrivant avec précision les voies impliquées. Ayez une vision globale et intégrée de l'action de l'adrénaline sur le métabolisme du glycogène (14 points)

- a) Sujet sain : l'adrénaline active l'adénylate cyclase (1 pt), ce qui active la formation d'AMPc (1 pt). L'AMPc va à son tour activer la protéine kinase dépendante de l'AMPc (ou PKA) (1 pt) qui phosphoryle la glycogène phosphorylase kinase (1 pt) et la rend active (1 pt). Ainsi, en présence d'adrénaline, la glycogène phosphorylase va être phosphorylée et active (1 pt, si ils disent dans la question B qu'elle est active lorsque phosphorylée, mais qu'ils ne le disent pas ici, mets leur tout de même le point), donc l'adrénaline active la glycogénolyse (=dégradation du glycogène) (1 pt). De plus, en activant la protéine kinase dépendante de l'AMPc, l'adrénaline va aussi inactiver la glycogène synthase (1 pt) par phosphorylation (1 pt), donc diminuer la synthèse de glycogène (1 pt). En présence d'adrénaline il y a donc une diminution de la quantité de glycogène dans le foie chez une personne saine (2 pts).
- b) Patient : Comme la glycogène phosphorylase kinase a une activité anormale, l'augmentation des taux d'AMPc en présence d'adrénaline ne va pas permettre d'activer la glycogène phosphorylase (1 pt). Par

contre, la glycogène synthase sera bien inhibée (0.5 pt). Il va donc certainement y avoir une petite diminution de glycogène mais bien moins importante que chez la personne saine (0.5 pt).

D) Si on injecte maintenant de l'insuline chez ces deux personnes, quelles vont être les conséquences sur la quantité de glycogène du foie? Justifier votre réponse en décrivant avec précision les voies impliquées. Ayez une vision globale et intégrée de l'action de l'insuline sur le métabolisme du glycogène (11 points)

- a) Sujet sain : L'insuline active la formation de G6P (1 pt). Or, le G6P est un inhibiteur allostérique de la glycogène phosphorylase kinase (1 pt, 0.5 pt si inhibiteur seulement). Cette enzyme va donc être inactivée, ce qui va inhiber la glycogène phosphorylase et la glycolgénolyse (1 pt). De plus l'insuline en augmentant les taux de G6P va activer la protéine phosphatase (1 pt) qui déphosphoryle (1 pt) et active la glycogène synthase (1 pt), donc la synthèse de glycogène (glycogénogenèse) (1 pt). Il y a de grandes chances qu'il y ait une augmentation de la quantité de glycogène dans cette situation (2 pts).
- b) Patient : Comme la glycogène phosphorylase kinase a une activité anormale, l'insuline ne va pas changer grand-chose à l'activité de cette enzyme (1 pt). Par contre, tout comme expliqué pour la personne saine, l'action de l'insuline sur la protéine phosphatase qui active la glycogène synthase va certainement augmenter la quantité de glycogène (1 pt).

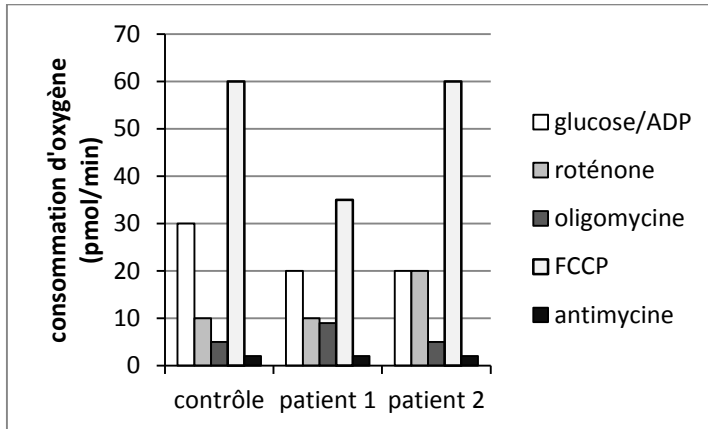
E) Ces deux personnes courent un 400 m. Considérez que dans cette situation, la principale source d'énergie du muscle provient de la dégradation du glycogène musculaire et de la dégradation du glycogène hépatique qui apporte du glucose au muscle via la circulation sanguine. Si on considère que la performance lors de cette course dépend seulement de la capacité de la personne à produire des ATP via ces 2 voies métaboliques, à votre avis, qui va gagner la course? Justifier votre réponse. (5 points)

Comme la maladie atteint seulement le foie, il ne devrait pas y avoir de problème de dégradation du glycogène au niveau musculaire (2 pts). Cependant, comme le foie est atteint, il va certainement moins produire de glucose via la glycolgénolyse donc le muscle aura moins de glucose provenant de la circulation chez la personne malade (2 pts). Il y a donc de grandes chances que la personne saine gagne la course (1 pt).

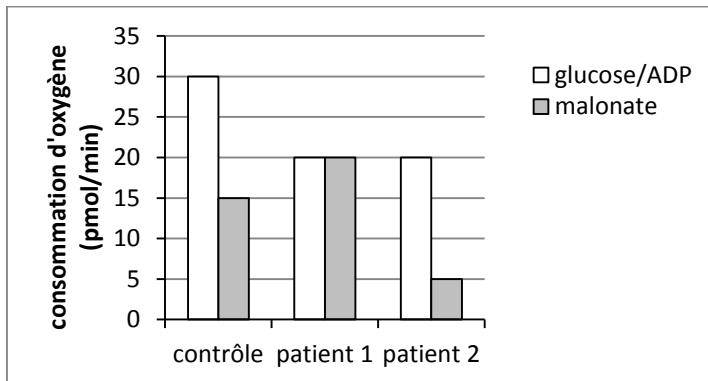
Question 2

Pendant votre projet honorifique en laboratoire, vous devez étudier le cas de 3 sujets. L'un d'entre eux est un sujet sain (contrôle), les 2 autres (patients 1 et 2) sont des personnes ayant un problème de fonction mitochondriale.

Vous obtenez des fibroblastes provenant de ces 3 sujets que vous faites respirer. Lors d'une 1^{ère} expérience vous mesurez la consommation d'oxygène en présence de glucose et d'ADP, puis vous inhibez le complexe I avec de la roténone, ensuite vous inhibez l'ATP synthase avec de l'oligomycine, vous ajoutez du FCCP qui est un découpleur chimique et enfin vous inhibez le complexe III avec de l'antimycine. Vous obtenez les résultats suivants :



Lors d'une 2^{ème} expérience, vous mesurez la consommation d'oxygène en présence de glucose et d'ADP, puis vous inhibez le complexe II avec du malonate. Vous obtenez les résultats suivants :



A) Dans un 1^{er} temps, expliquez ce que vous mesurez :

- Lorsque vous mesurez la consommation d'oxygène en présence de glucose et ADP. Résumez toutes les réactions impliquées dans la consommation d'oxygène dans cette situation à partir de l'entrée du glucose dans les cellules jusqu'à la consommation ultime de l'oxygène. *Pour ces réactions, donnez le substrat et le produit de la réaction. N'oubliez pas aussi d'expliquer où et comment est consommé l'O₂ dans les cellules. (15 points)*
- Lorsque vous inhibez le complexe I avec la roténone. **(2 pts)**
- Lorsque vous inhibez le complexe II avec le malonate. **(2 pts)**
- Lorsque vous inhibez l'ATP synthase avec de l'oligomycine. **(3 pts)**
- Lorsque vous traitez les cellules avec le FCCP. **(2 pts)**
- Lorsque vous inhibez le complexe III avec de l'antimycine. **(2 pts)**

Justifiez chacune de vos réponses en décrivant avec précision les réactions impliquées dans chaque situation.

a. La consommation d'O₂ en présence de glucose et d'ADP est le résultat de la ré-oxydation des co-enzymes réduits par la chaîne respiratoire (2 pts), résultant ultimement à la réduction de l'O₂ en 2 H₂O au niveau du complexe IV (2pts (un seul point s'il n'est pas dit que cela se fait au niveau du complexe IV)). En présence de glucose comme substrat, ces co-enzymes réduits sont formés au cours de la glycolyse (glycéraldéhyde-3-P → 1,3-bisphosphoglycérate = 2 NADH, H⁺ par glucose), puis : pyruvate → acétyl-CoA (1 NADH, H⁺), et dans le cycle de Krebs : isocitrate → alpha-cétoglutarate (NADH, H⁺), alpha-cétoglutarate → succinyl-CoA (NADH, H⁺), succinate → fumarate (FADH₂) et malate → oxaloacétate (NADH, H⁺) (6 pts (=1 chaque)). Dans la chaîne respiratoire, les NADH transfèrent leurs e⁻ au complexe I et les FADH₂ au complexe II (1 pt = 0.5 pt pour chacun)). Ces électrons sont ensuite transférés via la CoQ (ubiquinone) au complexe III, puis via le cytochrome C au complexe IV (1 pt). L'énergie produite grâce au transfert des e⁻ à travers ces différents complexes permet de pomper des protons (complexe I, III, IV). (1 pt – moins 0.5 pt s'il est dit que le complexe II pompe des protons!). Le retour des protons (H⁺) de l'espace intermembranaire à la matrice mitochondriale permet d'activer l'ATP synthase (1 pt) et de produire de l'ATP (1 pt).

b. Inhibition complexe I (roténone) : il n'y a plus de consommation d'O₂ due à la réoxydation des NADH, H⁺ par le complexe I (1 pt). La conso d'O₂ résultante est due à la réoxydation des FADH₂ par le complexe II. (1 pt)

c. Inhibition complexe II par malonate : il n'y a plus de consommation d'O₂ due à la réoxydation des FADH₂ par le complexe II (1 pt). La conso d'O₂ résultante est due à la réoxydation des NADH, H⁺ par le complexe I. (1 pt)

d. Inhibition ATP synthase (oligomycine) : la conso d'O₂ n'est plus due à la synthèse d'ATP (1 pt). La conso d'O₂ résultante est due au fait que des protons retournent dans la matrice par les protéines découplantes (ou fuite de protons) (1pt). On peut aussi en déduire l'activité de l'ATP synthase (1pt)

e. FCCP : le FCCP va découpler les mitochondries. Pour maintenir le potentiel de membrane, les mitochondries vont augmenter leur consommation d'O₂ (1 pt). On mesure ici la capacité maximale des mitochondries . (1 pt)

f. Inhibition complexe III (antimycine) : si le complexe III est inhibé, le transfert des e⁻ ne peut pas se faire jusqu'au complexe IV, donc il n'y a plus de conso d'O₂ par le complexe IV (1 pt). La conso d'O₂ résultante est due à des réactions extra-mitochondriales. (1 pt)

B) Décrire les résultats obtenus et **interprétez** ces résultats. *Vous devez déterminer quels sont les défauts de la chaîne respiratoire présents chez nos 2 patients. N'oubliez pas de justifier votre réponse. (14 points)*

Patient 1 :

1ère expérience : Sa consommation d'O₂ basale est diminuée en comparaison au sujet contrôle. (0,5 pt)

Lorsque le complexe I est inhibé par la roténone, il y a diminution de la conso d'O₂, ce qui veut dire que le complexe I est fonctionnel. (1 pt)

Quand on inhibe l'ATP synthase avec l'oligomycine, il y a très peu de diminution de la conso d'O₂. Il y a donc une importante consommation d'O₂ qui est due à la fuite de protons. (1 pt) Ce patient a peut-être plus de protéines découplantes (ou augmentation de l'activité des UCP). (1 pt). L'activité de l'ATP synthase est aussi très faible chez ce patient puisque lorsqu'on inhibe l'ATP synthase, on inhibe très peu la consommation d'O₂. Donc peu d'O₂ est utilisé dans la chaîne respiratoire pour ultimement synthétiser de l'ATP (1 pt).

La capacité maximale des mitochondries est diminuée puisque le FCCP n'augmente pas autant la conso d'O₂ chez ce patient en comparaison au sujet sain. (1 pt)

Enfin, il ne semble pas y avoir de différence concernant la conso d'O₂ extra-mito. (0,5 pt)

2^{ème} expérience : Lorsqu'on inhibe le complexe II, il n'y a pas de diminution de consommation d'O₂. (1 pt) Ceci montre que seul le complexe I fonctionne chez ce patient. Il a donc un problème de complexe II. (1 pt)

Patient 2 :

1^{ère} expérience : Sa consommation d'O₂ basale est diminuée en comparaison au sujet contrôle. . (0,5 pt)

Lorsque le complexe I est inhibé par la roténone, il n'y a pas de diminution de la conso d'O₂, ce qui veut dire que seul le complexe II utilise l'O₂ (1 pt). Il y a donc un problème de complexe I chez ce patient. (1 pt)

Quand on inhibe l'ATP synthase avec l'oligomycine, il y a une diminution de la conso d'O₂ similaire au sujet sain. Il n'y a donc pas de problème de fuite de protons ou d'ATP synthase chez ce patient. (1 pt)

La capacité maximale des mitochondries est similaire au sujet sain puisque le FCCP augmente normalement la conso d'O₂. (1 pt)

Enfin, il ne semble pas y avoir de différence concernant la conso d'O₂ extra-mito. (0,5 pt)

2^{ème} expérience : Lorsqu'on inhibe le complexe II, il y a une diminution normale de consommation d'O₂. Ceci montre que le complexe II fonctionne normalement chez ce patient. (1 pt)