

III. Effecteurs enzymatiques

1/ Introduction

De nombreux composés chimiques, minéraux et organiques sont susceptibles d'affecter l'activité enzymatique en modifiant la vitesse de la réaction enzymatique. Ce sont les effecteurs enzymatiques.

2/ l'Activation enzymatique

A côté des activateurs vrais, on note les antis inhibiteurs, les agents protecteurs ou des activateurs de pro enzymes.

- **Activation par les ions métalliques**, certains ions métalliques se lient par des liaisons fortes à l'O₂ ou N₂ de la structure protéique de l'enzyme.

Exemple : Fe de l'hémoglobine, Co dans Vit B12, ces enzymes deviennent partie intégrante de l'enzyme.

Cas des kinases qui nécessitent Mg²⁺, Zn²⁺

- **Agent protecteurs** : c'est le cas des groupements thiol qui protègent les groupements thiols du site actif pour formation d'un pont disulfure (cysteine).
- **Activation des proenzymes** (ou zymogènes)
Le trypsinogène inactif est activé par l'entérokinase en trypsine active après coupure catalytique.

3/ Inhibition enzymatique

✓ Inhibition enzymatique irréversible

C'est l'inhibition par les ions métalliques en générale les cations des métaux lourds (Pb et Hg), sont inactivant car dénaturants

✓ Inhibition enzymatique réversible

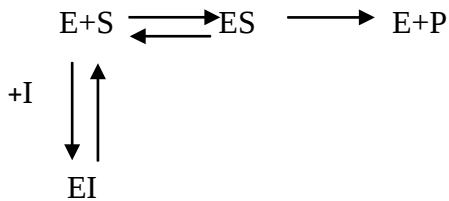
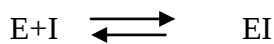
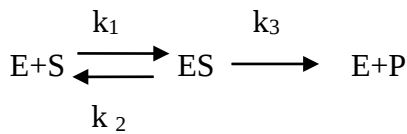
Il y a 3 principaux types d'inhibition enzymatiques réversibles.

- Inhibition compétitive
- Inhibition incompétitive ou mixte
- Inhibition non compétitive

Une substance inhibe une réaction enzymatique lorsque celle-ci est ralentie, l'inhibition se fait par la liaison d'une petite molécule (différente que la dénaturation)

L'étude des inhibiteurs a permis de les classer en plusieurs types. Pour notre cas on prendra le cas des enzymes monomériques à un substrat :

3.1 Inhibition compétitive : Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme a pour effet d'empêcher la liaison enzyme substrat, on parle **d'inhibition compétitive** vis à vis de ce substrat. Concurrément à la liaison enzyme-substrat il y a une liaison enzyme-inhibiteur qui aboutit à un complexe **EI** inactif.



La constante de dissociation du complexe EI est K_i . Elle est définie par rapport aux concentrations de l'enzyme libre, de l'inhibiteur et du complexe EI.

$$K_i = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]}$$

L'équation de la vitesse, qui ne dépend que du complexe ES puisque le complexe EI est inactif, reste inchangée. Les calculs conduisent à une équation de Michaelis dans laquelle le facteur K_M est affecté d'un coefficient qui dépend de la concentration de l'inhibiteur et de l'inverse de la constante K_i c'est à dire **l'affinité** de l'enzyme pour l'inhibiteur.

K'_M : est la constante de Michaelis apparente en présence de l'inhibiteur

D'après le graphe (**Figure. 1**) V_{max} ne change pas et K_M change (il augmente) donc l'affinité diminue

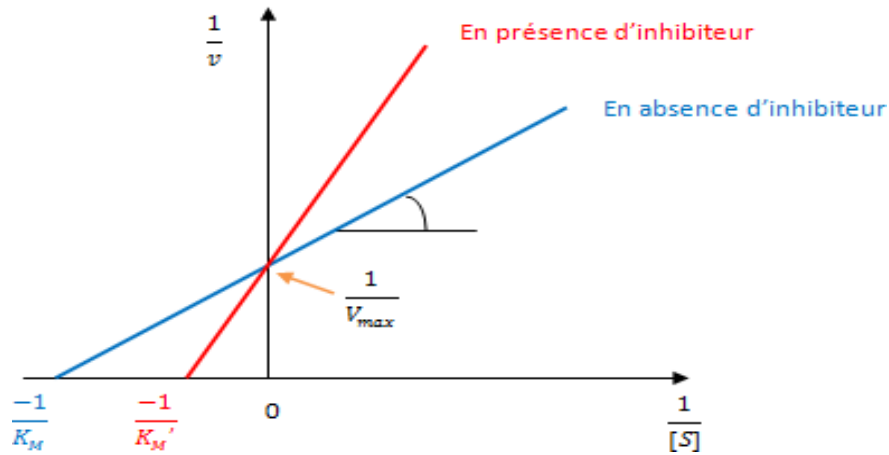
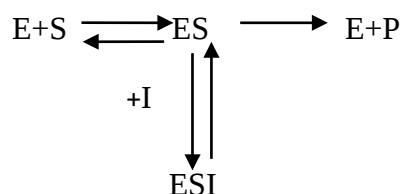


Figure 1. Représentation de la cinétique enzymatique en présence d'un inhibiteur compétitif

Exemple : l'inhibition de la succinate déshydrogénase par l'acide malonique. L'acide malonique agit par analogie structurale avec le substrat normal qui l'acide succinique

L'acide malonique entre en compétition avec l'acide succinique au niveau du site actif du succinate déshydrogénase. La catalyse enzymatique ne peut être poursuivie et le malonate n'est pas déshydrogéné bloquant ainsi le site de Krebs, en modifiant l'ensemble du métabolisme cellulaire

3.2 Inhibition incompétitive : L'inhibiteur incompétitif ne peut se fixer que sur l'enzyme préalablement complexée au substrat (ES) et empêche la formation du produit.



La constante de dissociation de ce complexe ESI, soit K_i est définie par rapport aux concentrations de ES, de l'inhibiteur et du complexe ESI.

$$K_i = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

Ce type d'inhibition est connu cinétiquement par une diminution parallèle de V_{max} et de K_M (augmentation de l'affinité de E pour S). La diminution de K_M s'explique par le fait que le complexe ES est susceptible à l'inhibition; l'équilibre de liaison est donc déplacé vers ES par la diminution de sa concentration lors de la formation du complexe ESI d'où l'augmentation de l'affinité de E pour S (**Figure. 2**).

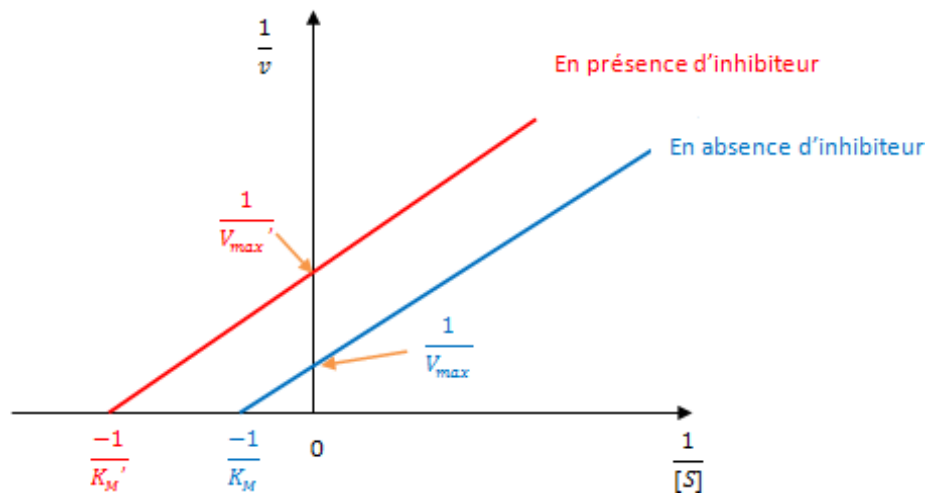
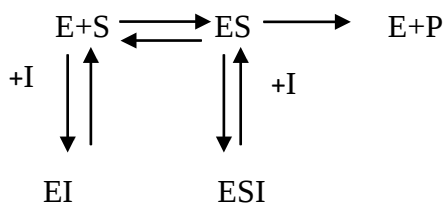


Figure 2. Représentation de la cinétique enzymatique en présence d'un inhibiteur incompétitif

3.3 Inhibition non-compétitive (l'inhibiteur se fixe à un autre site, que celui où se fixe le substrat) Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme se fait sur un site indépendant du site actif, il n'y a évidemment aucune compétition entre le substrat et l'inhibiteur. L'inhibiteur en se liant rend la molécule d'enzyme incapable de catalyser la réaction on parle alors d'inhibition non compétitive. La constante K_M de l'enzyme vis à vis du substrat représente toujours la constante de dissociation du complexe ES mais aussi celle du complexe ESI en EI et substrat libre. La constante K_i de l'enzyme vis à vis de l'inhibiteur représente toujours la constante de dissociation du complexe EI mais aussi celle du complexe ESI en ES et inhibiteur libre. L'équation de la vitesse, qui ne dépend que du complexe ES puisque les complexes EI et ESI sont inactifs, reste donc inchangée.



Les calculs conduisent à une équation de Michaelis dans laquelle la vitesse maximum est affectée d'un coefficient qui dépend de la concentration de l'inhibiteur et de l'inverse de la constante K_i . La constante K_M , au contraire reste la même que dans le cas général (**Figure. 3**).

$$Ki = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$Ki = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

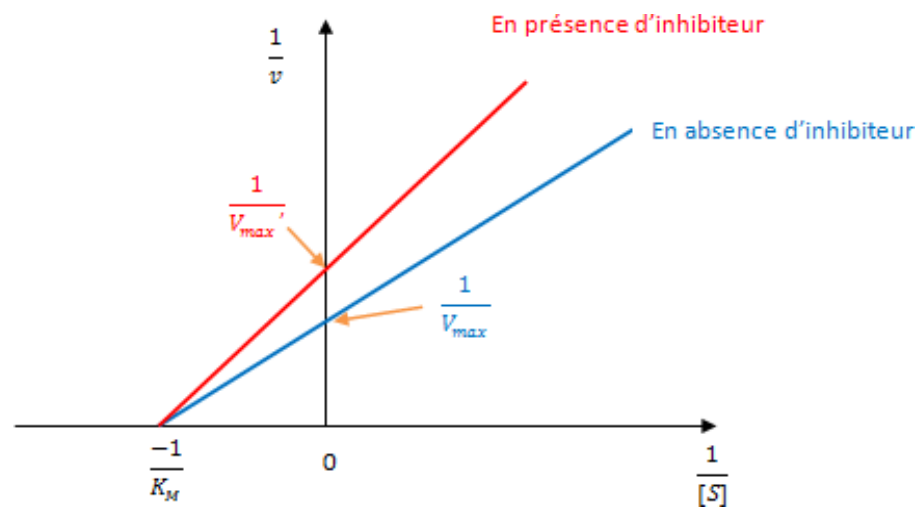


Figure 3. Représentation de la cinétique enzymatique en présence d'un inhibiteur non compétitif

Le **tableau1** regroupe les différents paramètres cinétiques dans les différents cas d'inhibitions.

Tableau1 : récapitulation des paramètres cinétiques en présence d'inhibiteurs

Type d'inhibition	K_m apparente	V_m apparente
Sans inhibiteur	$-1/K_m$	$1/V_{max}$
Compétitive	$-\frac{1}{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}$	$1/V_{max}$
Incompétitive	$-\frac{(1 + \frac{[I]}{K_i})}{K_m}$	$1/V_{max}(1 + \frac{[I]}{K_i})$
Non compétitive	$-1/K_m$	$1/V_{max}(1 + \frac{[I]}{K_i})$