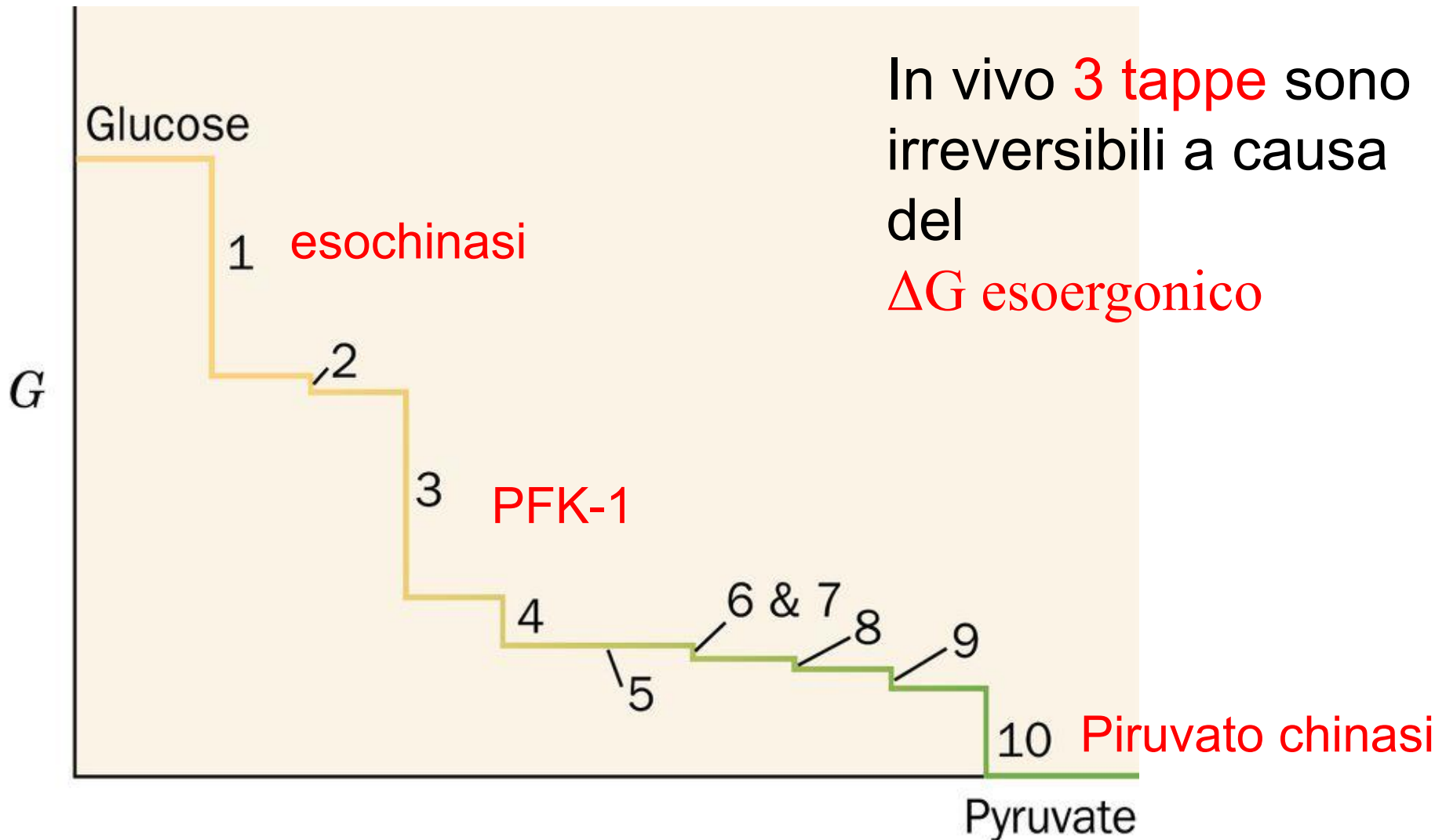


Gluconeogenesis

- The liver and kidney can synthesize glucose from lactate, pyruvate, and amino acids (**PRECURSORI NON SACCARIDICI**)
- Gluconeogenesis is mostly the reverse of glycolysis with the pyruvate kinase reaction bypassed by the pyruvate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase reactions, and the phosphofructokinase and hexokinase reactions bypassed by phosphatase reactions.
- Glycolysis and gluconeogenesis are reciprocally regulated by allosteric effects, phosphorylation, and changes in enzyme synthesis rates.

Diagram of Free Energy Changes



Substrate Cycles in Glucose Metabolism

La glicolisi e la gluconeogenesi si differenziano **per 3 tappe**:

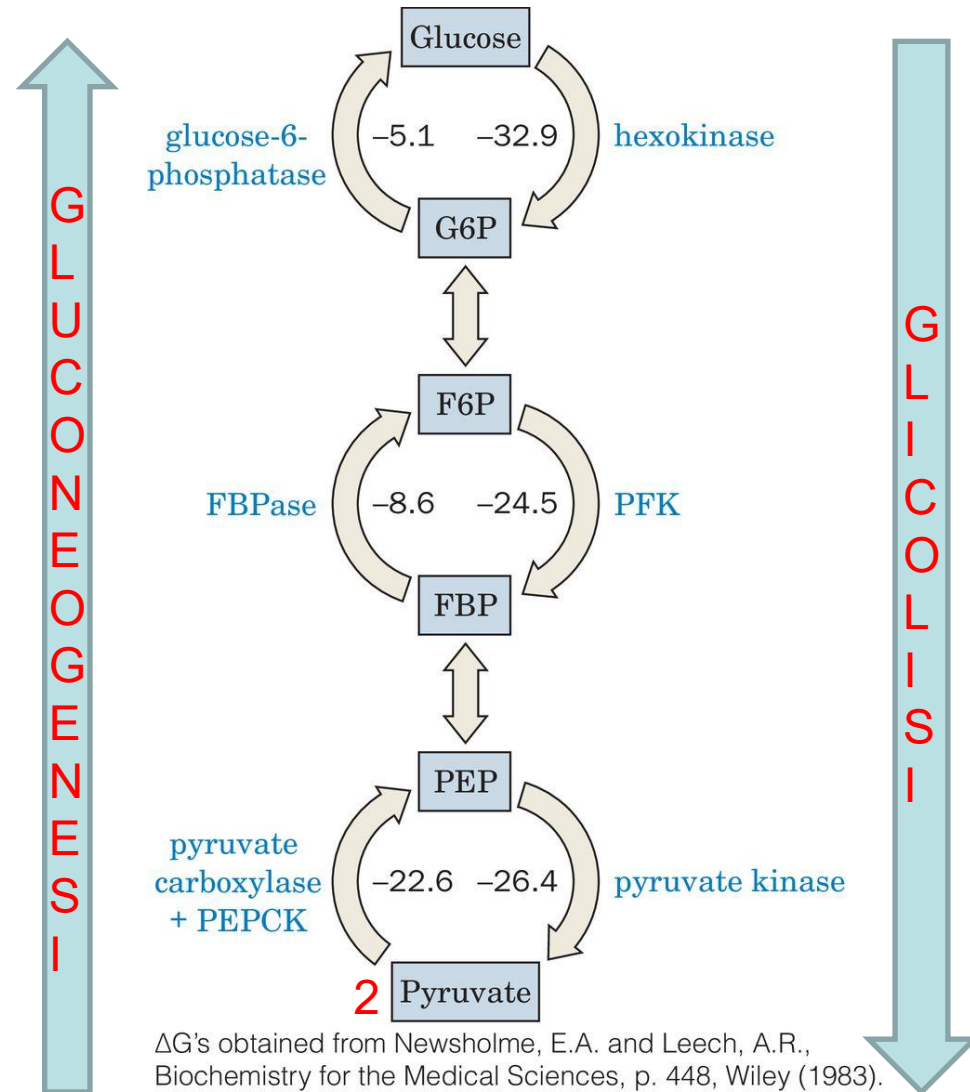
Gli enzimi coinvolti sono regolati in modo che entrambe le vie siano

**ESOERGONICHE e
INDIPENDENTI**

(CICLI DEL SUBSTRATO)



In assenza di meccanismi di regolazione, nei tre punti di deviazione della gluconeogenesi il simultaneo funzionamento di entrambe le vie potrebbe dar luogo ad un cosiddetto **CICLO FUTILE** (reazione che disperde energia derivante dall'idrolisi di ATP senza effettuare nessun lavoro metabolico netto)



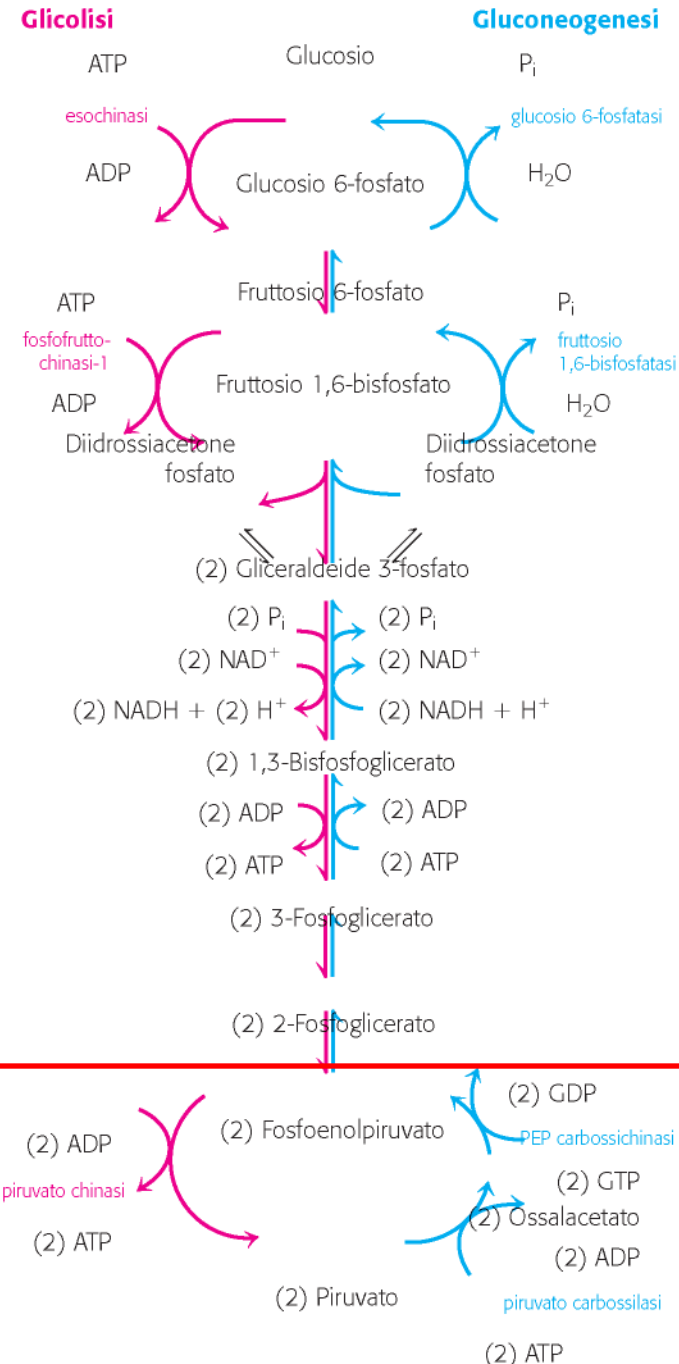
Gluconeogenesi vs Glicolisi

La conversione del
PIRUVATO in PEP richiede
due reazioni distinte

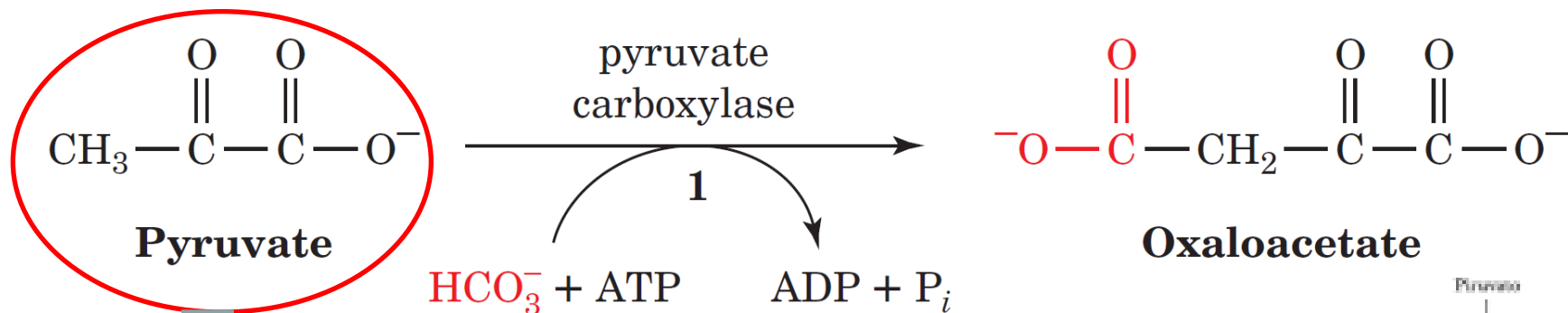
- 1) nel mitocondrio
- 2) nel citosol



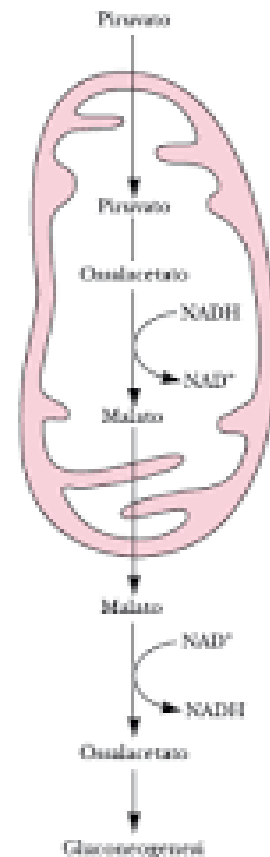
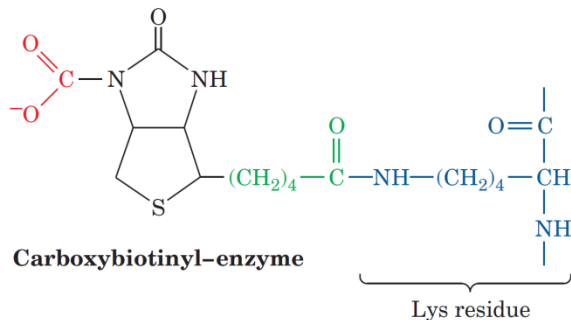
I tappa di regolazione



Pyruvate Carboxylase Reaction

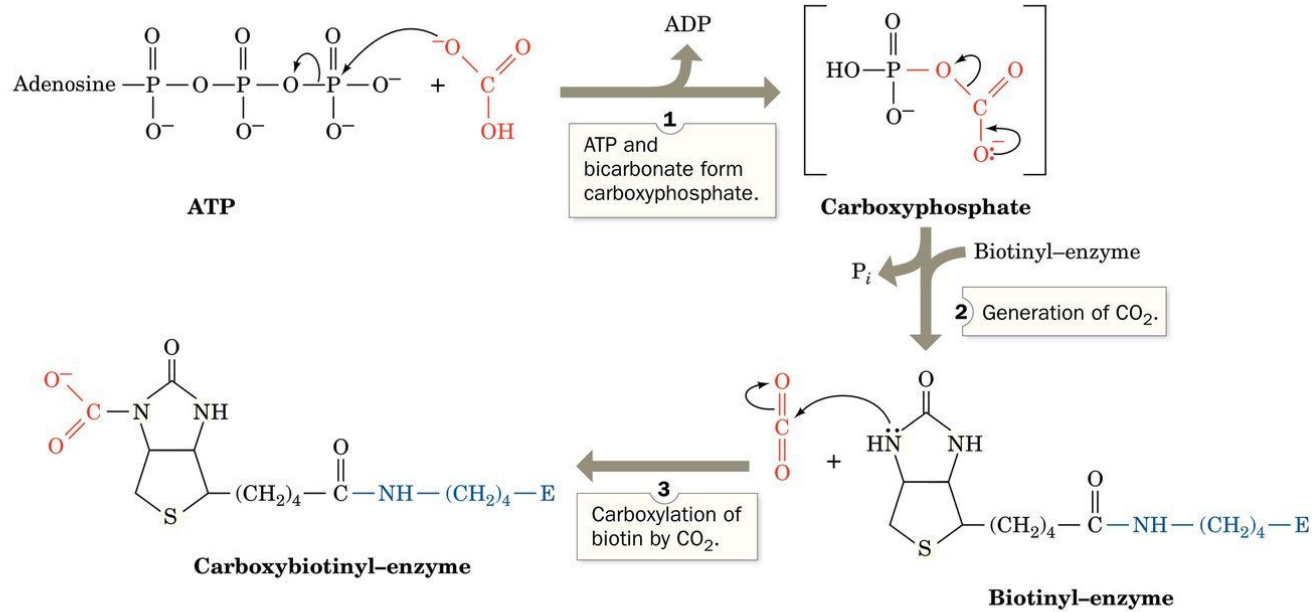


Viene dapprima trasferito dal CITOSOL al MITOCONDRIO dove trova la **PIRUVATO CARBOSSILASI** (un enzima mitocondriale che usa la **BIOTINA** come gruppo prostetico)

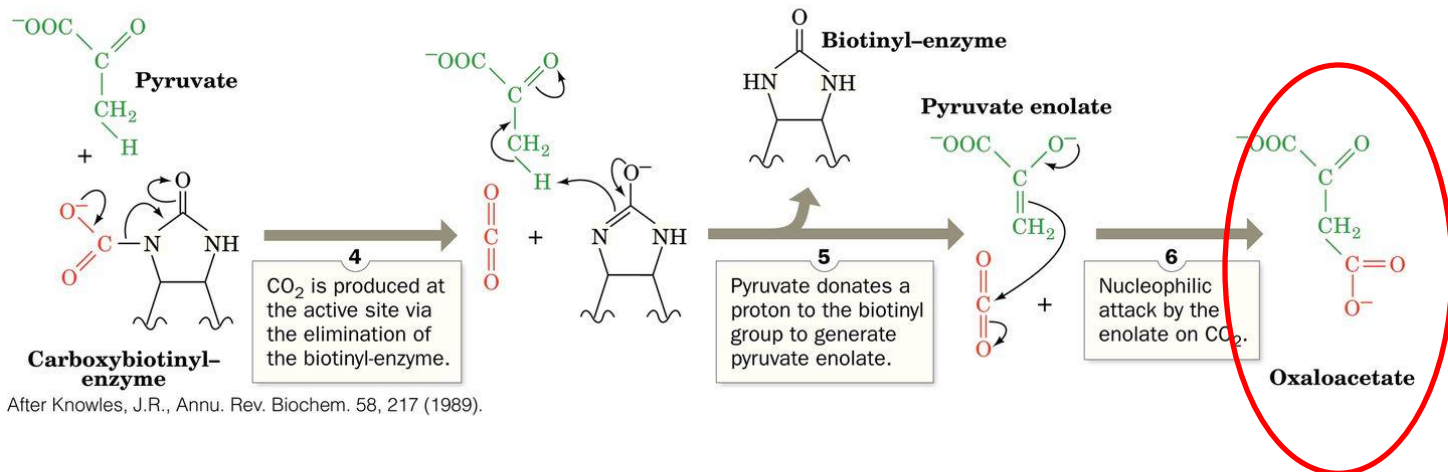


Process Diagram: Pyruvate Carboxylase Mechanism

Phase I

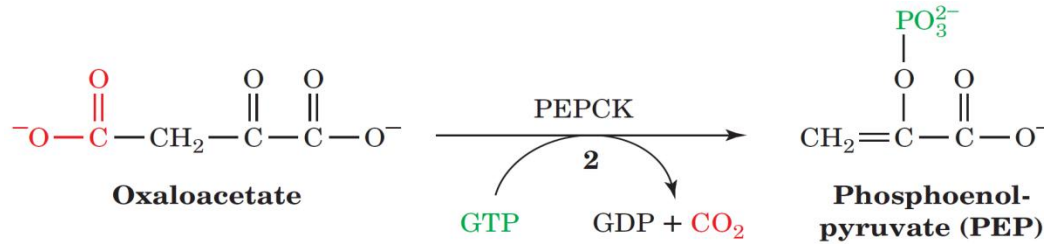


Phase II



After Knowles, J.R., Annu. Rev. Biochem. 58, 217 (1989).

La gluconeogenesi richiede uno spostamento di metaboliti tra citosol e mitocondrio

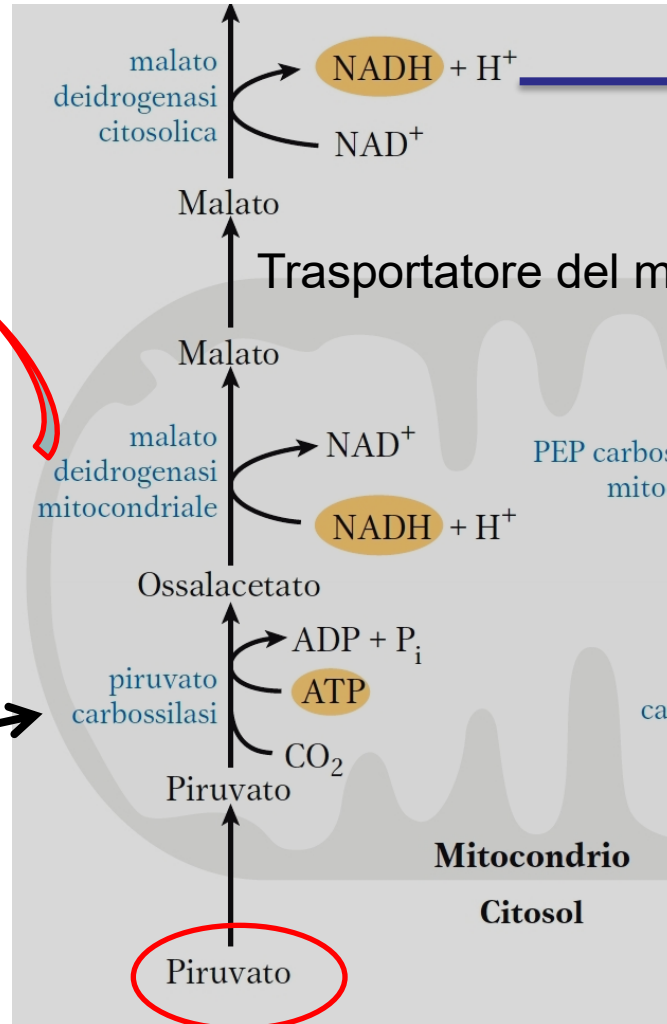


Richiede **GTP** come donatore del gruppo fosforico

Il **NADH** citosolico serve per far andare avanti la gluconeogenesi

La **fosforilazione del piruvato** è accompagnata dall'idrolisi **esoergonica** di una molecola di **ATP** e una di **GTP**

Insieme la **PIRUVATO CARBOSSILASI** e la **PEPCK** eseguono una **carbossilazione-decarbossilazione** utile per attivare il piruvato (PEP) a spese di ATP!



Trasportatore del malato

PEP carbox. mitoc

car

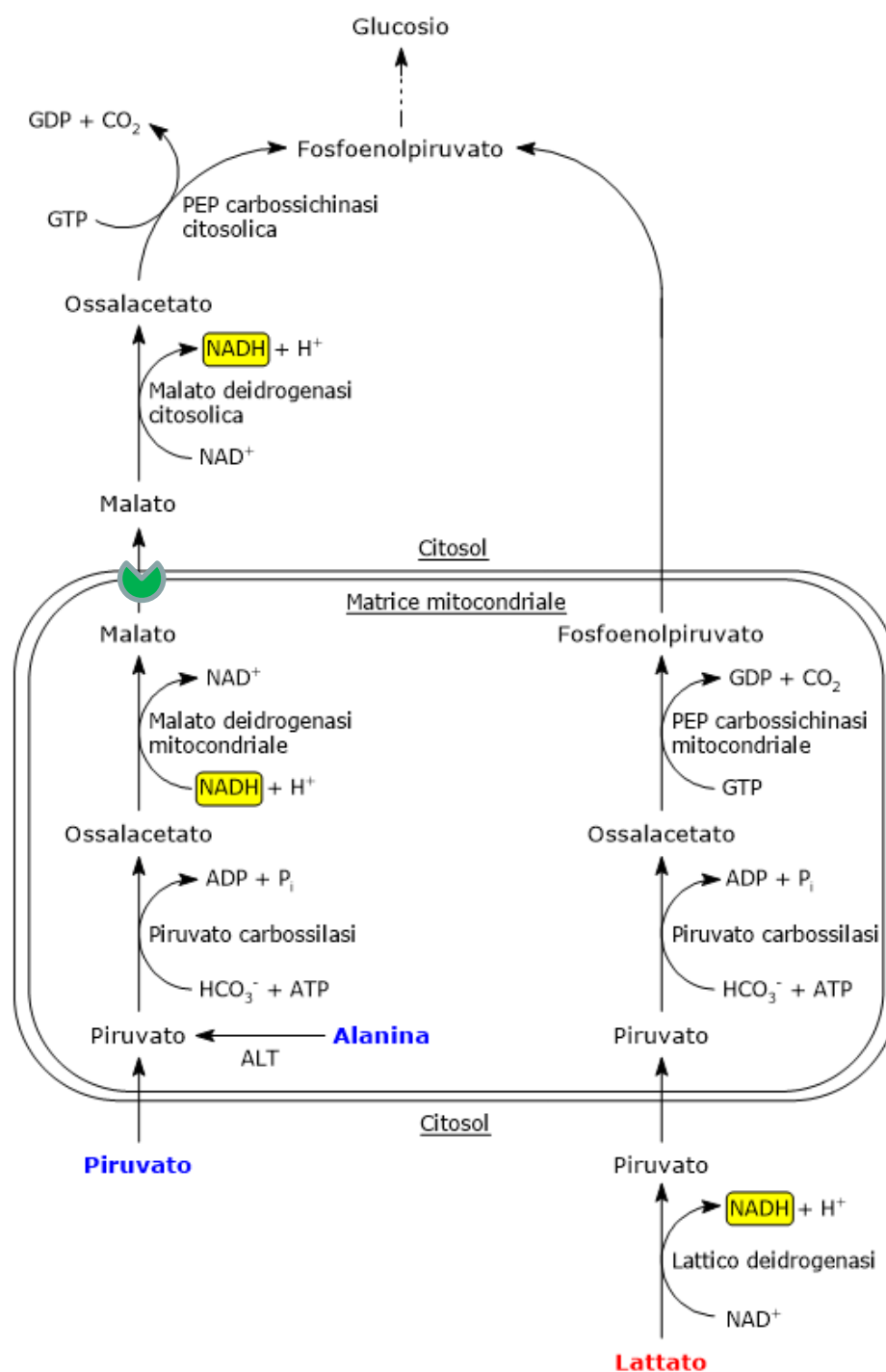
Mitocondrio

Citosol

Piruvato

L'ossalacetato non ha un trasportatore nella membrana mitocondriale

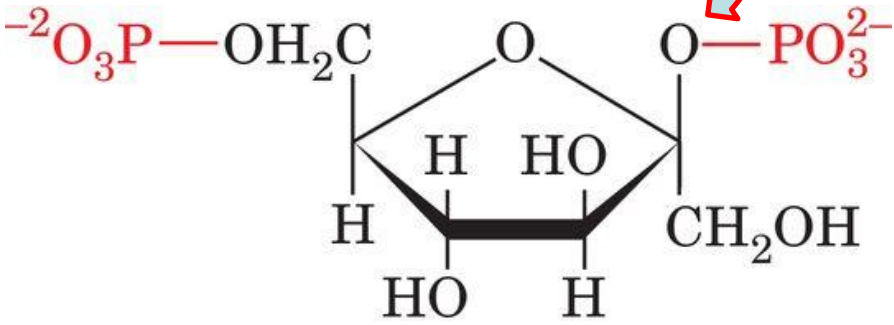
Enzima **SOLO** mitocondriale



Nel **FEGATO** **PFK-1/FBPase-1** sono **RAPIDAMENTE** regolate a **LIVELLO ORMONALE** allo scopo di mantenere l'omeostasi del glucosio ematico



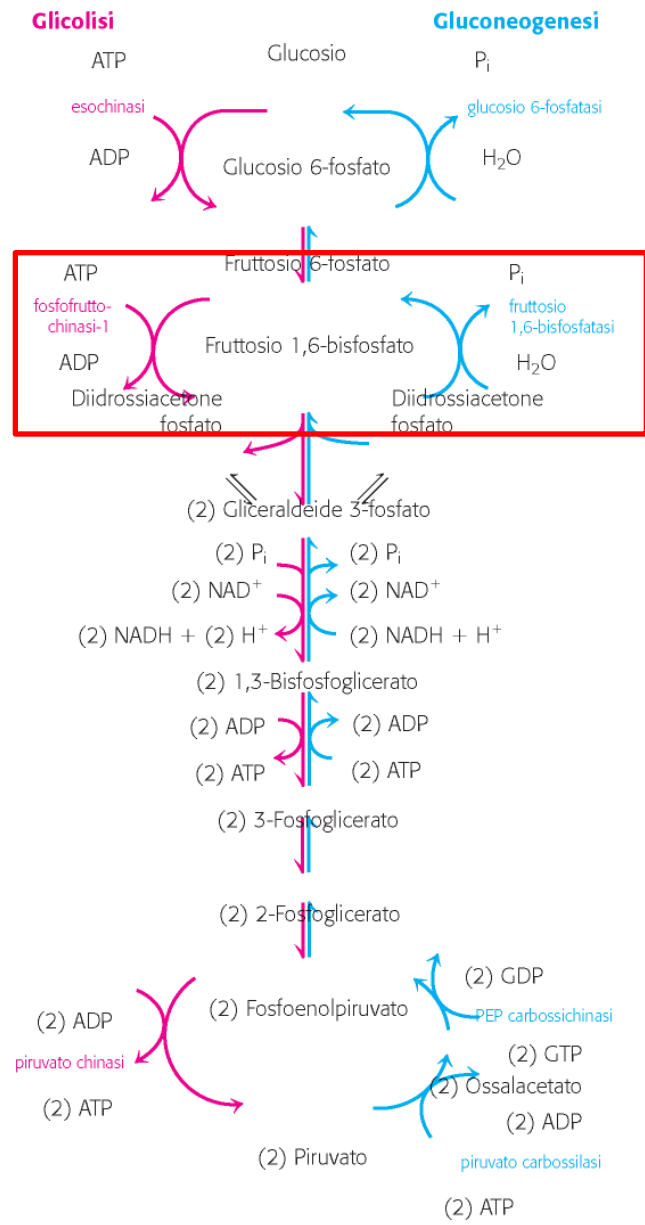
Sono regolate reciprocamente dalla concentrazione di:



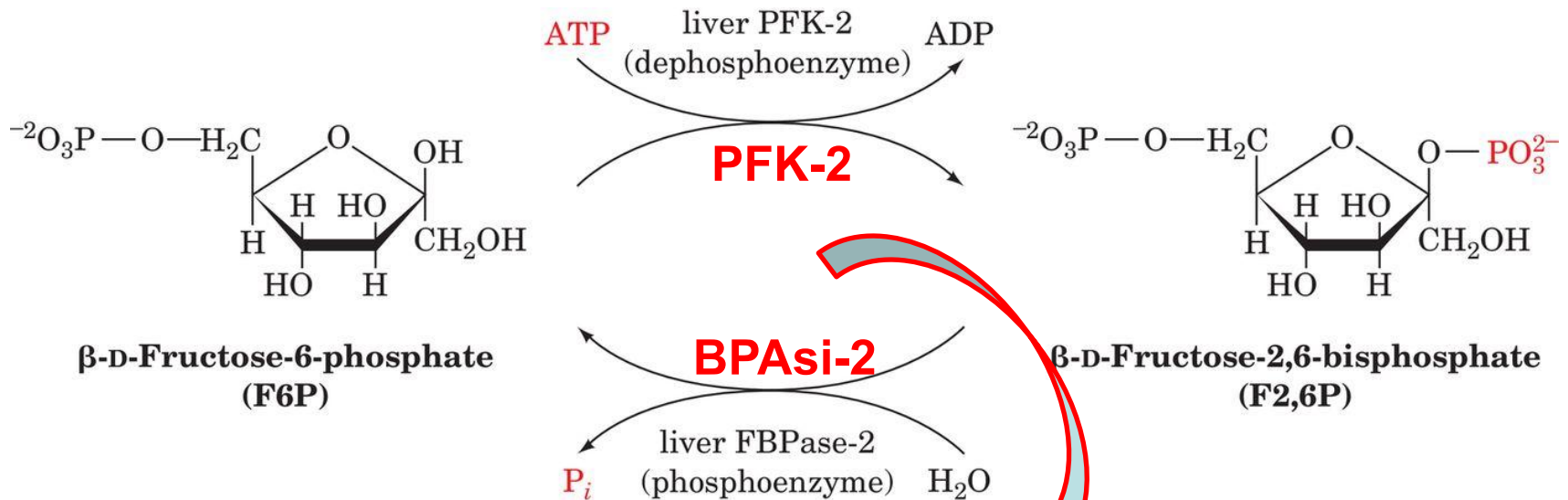
β-D-Fructose-2,6-bisphosphate (F2,6P)



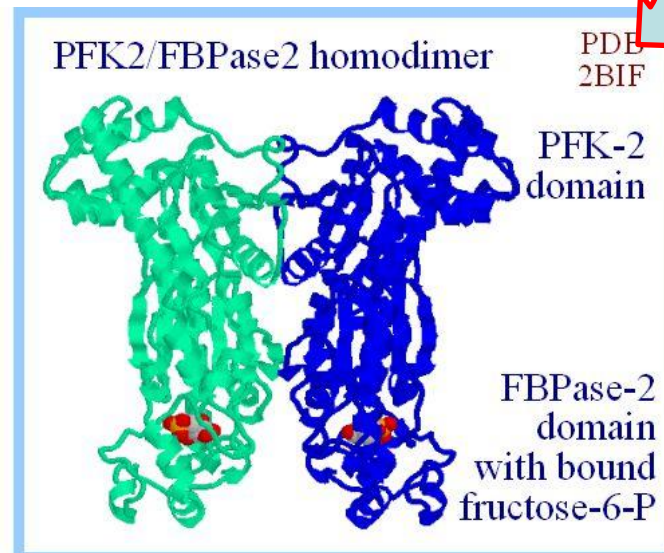
F2,6P Activates PFK-1 & Inhibits FBPase-1



Formation & Degradation of F2,6P



The allosteric regulator **fructose-2,6-bisphosphate** is synthesized & degraded by a **bi-functional enzyme** that includes 2 catalytic domains:



2 attività enzimatiche sulla stessa proteina bifunzionale

Il *pancreas* secreta due importanti ormoni coinvolti nella regolazione del metabolismo del glucosio, dei lipidi e delle proteine:

Insulina

Aumento di glucosio nel sangue

liberazione di insulina

Si lega a recettori di membrana nelle cellule epatiche

Incrementa l'attività della glicogeno-sintetasi

Rimozione del glucosio dal sangue

Deposito come glicogeno

Lega recettori di membrana negli adipociti e nelle cellule muscolari

Esocitosi e attivazione dei trasportatori di glucosio

Incrementa la rimozione del glucosio

Glucagone

Diminuzione di glucosio nel sangue

liberazione di glucagone

Si lega ai recettori di membrana

Attivazione dell'adenilato ciclasi

Aumento di cAMP, attivazione della chinasi cAMP-dipendente

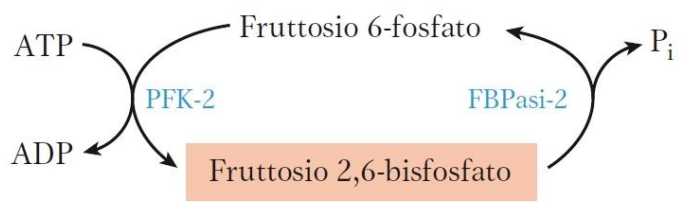
GLUCOSIO EMATICO

Nel FEGATO il F2,6P è RAPIDAMENTE regolato a LIVELLO ORMONALE allo scopo di mantenere l'omeostasi del glucosio ematico

Abbondanza di Glu ↑ Carenza di Glu ↓

NEL FEGATO

NON nel MUSCOLO!!!



F2,6P Activates PFK-1 (GLICOLISI) & Inhibits FBPase-1 (GLUCONEOGENESI)

↑ [F26BP]
Stimola la glicolisi, inibisce la gluconeogenesi

↓ [F26BP]
Inibisce la glicolisi, stimola la gluconeogenesi

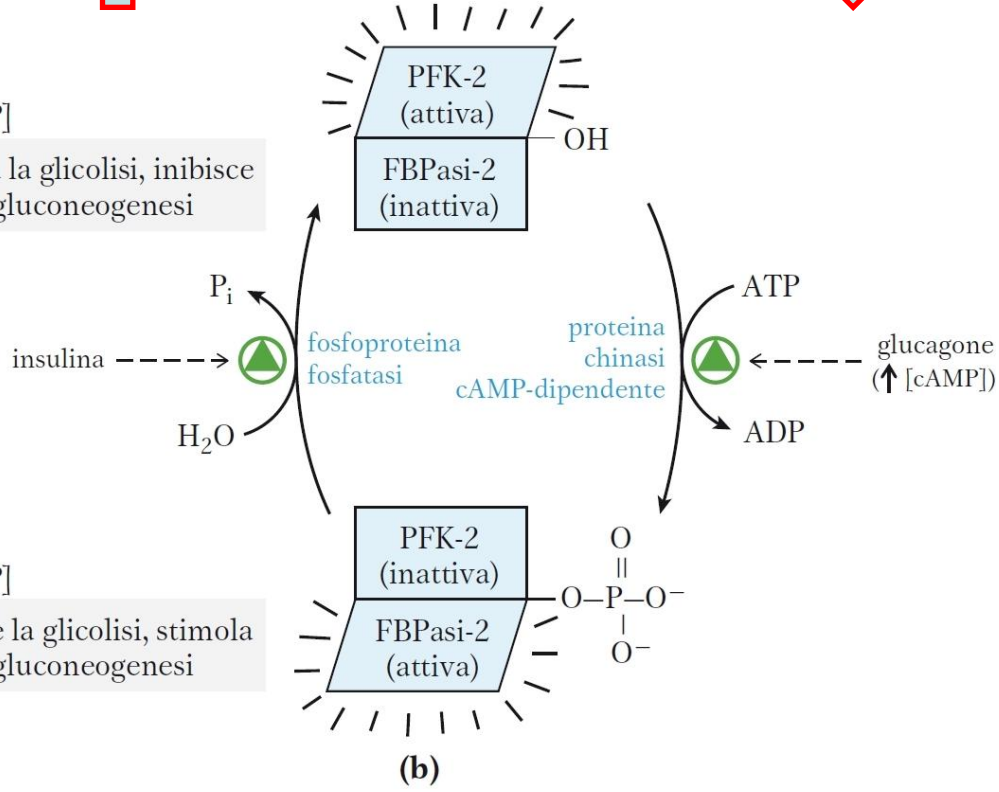


Figura 15.19 Regolazione del livello di fruttosio 2,6-bisfosfato. (a) La concentrazione cellulare del modulatore fruttosio 2,6-bisfosfato (F26BP) è determinata dalla velocità della sua sintesi a opera della fosfofruttochinasi-2 (PFK-2) e

dalla velocità di degradazione catalizzata dalla fruttosio 2,6-bisfosfatasi (FBPasi-2). (b) Le attività di entrambi gli enzimi fanno parte della stessa catena polipeptidica e sono reciprocamente regolate dall'insulina e dal glucagone.

modulazione ALLOSTERICA: l'ATP è sia substrato che inibitore della PFK-1

Nel **MUSCOLO SCHELETRICO** l'enzima bifunzionale PFK-2/ FBPasi-2 non ha un sito di fosforilazione e subisce solo la regolazione allosterica

In presenza di ossigeno nel mitocondrio (fosforilazione ossidativa attiva e elevate concentrazioni di ATP) si producono notevoli quantità di citrato che, spostandosi nel citoplasma, inibiscono l'enzima fosfofruttochinasi e quindi la glicolisi.

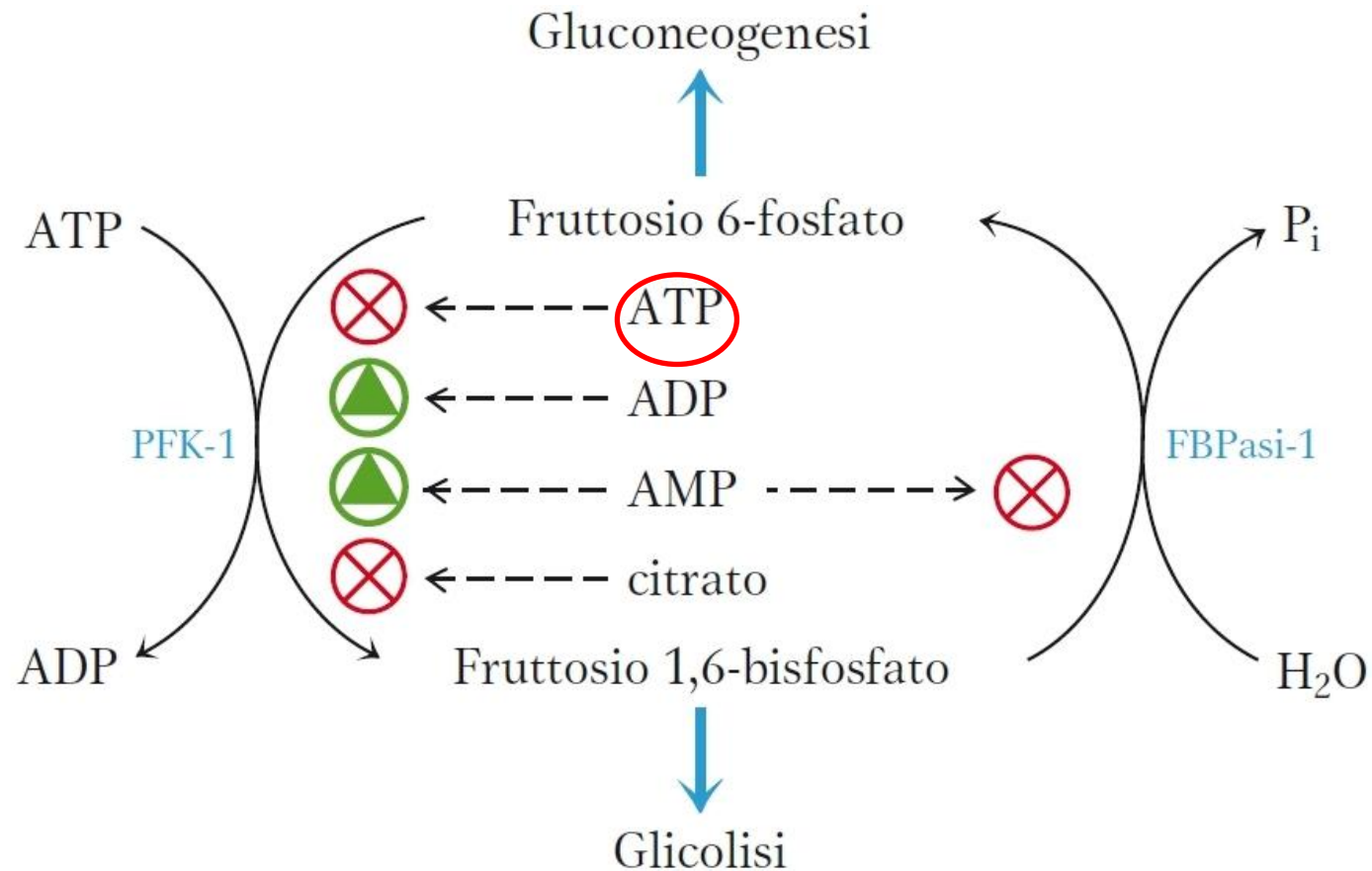
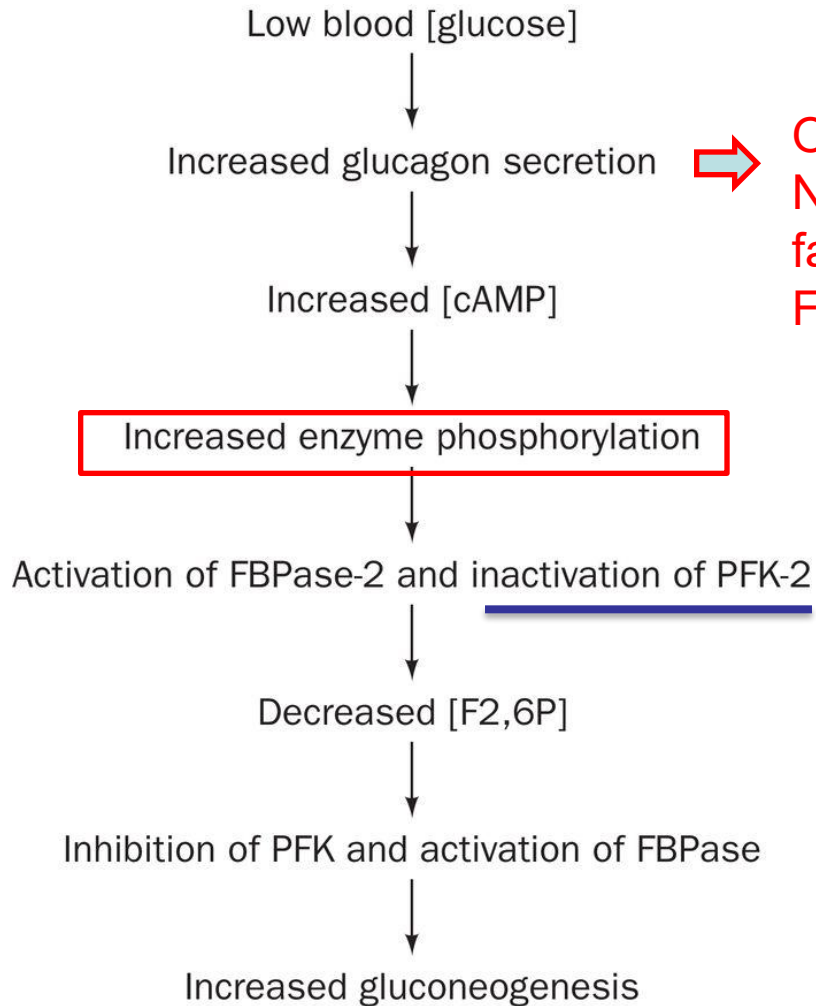


Figura 15.17 Regolazione della fruttosio 1,6-bisfosfatasi (FBPasi-1) e della fosfofruttochinasi-1 (PFK-1). Nelle figure

Metabolic Events Linking Low [Glucose] & Gluconeogenesis in Liver

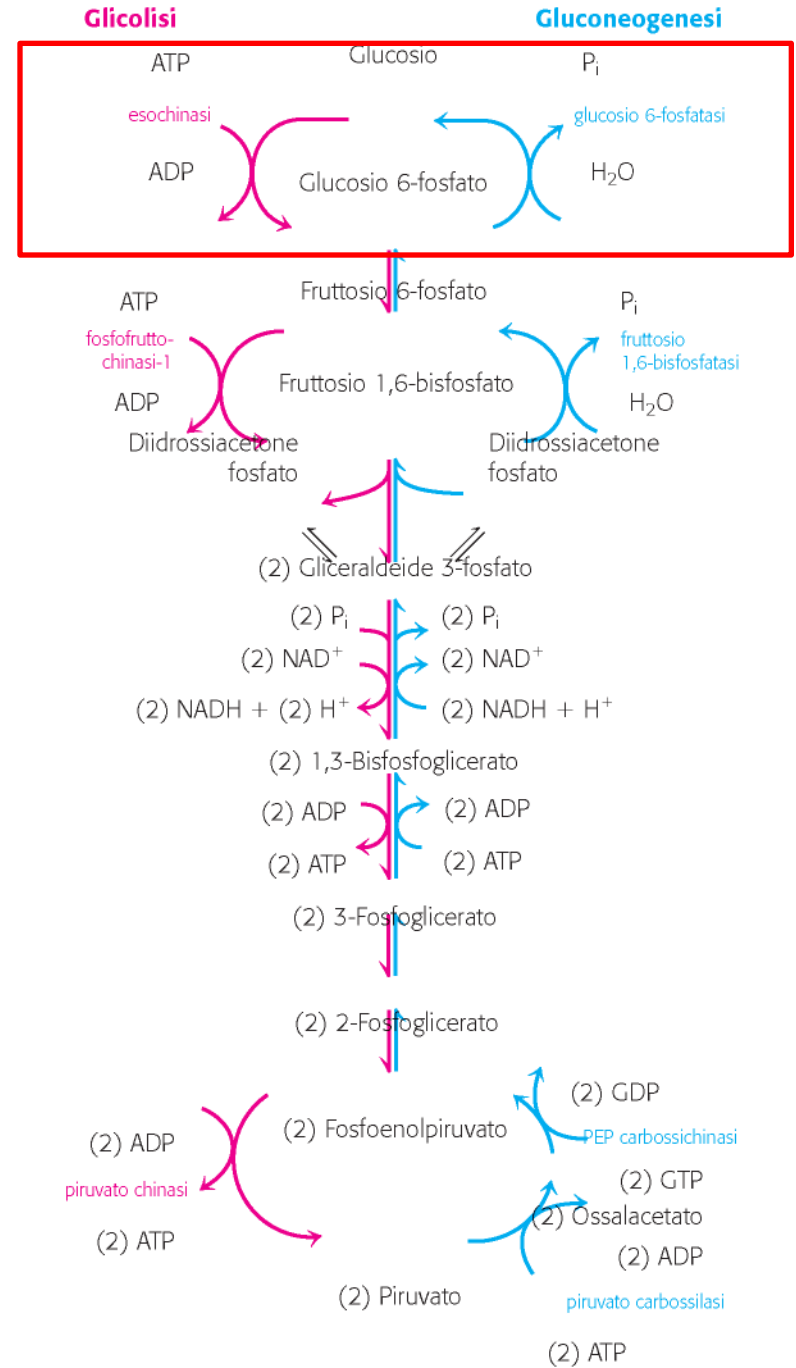


ORMONE IPERGLICEMIZZANTE:
Non consumare Glu per il proprio
fabbisogno , ma rilasciare nel sangue!
FONTI: glicogeno, gluconeogenesi

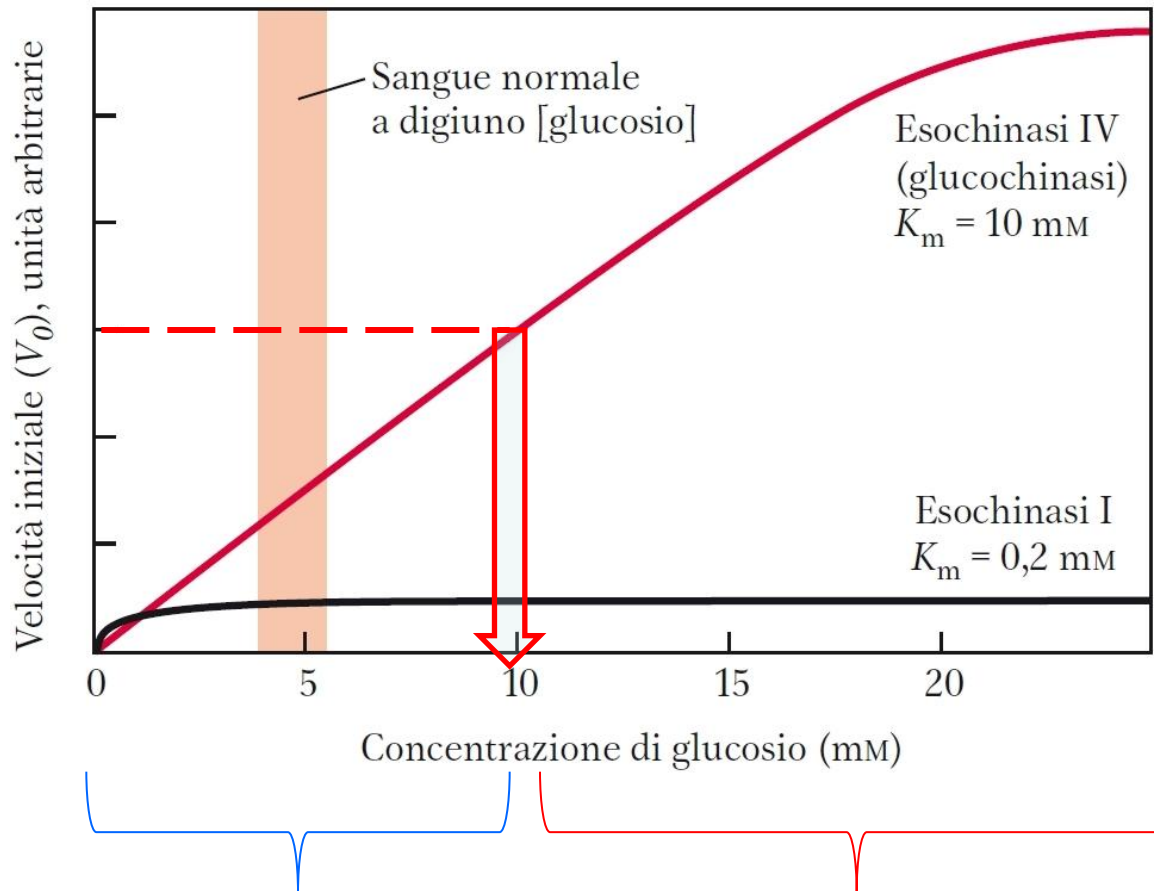
III tappa di regolazione



I mammiferi possiedono diversi isoenzimi della ESOCHINASI che differiscono per la cinetica e le proprietà regolatorie



I differenti isoismi dell'esochinasi nel muscolo e nel fegato riflettono il loro diverso ruolo funzionale



➔ Nel FEGATO : usa Glu per mantenere l'omeostasi del nel sangue!!!
Glu (dalla gluconeogenesi o dalla demolizione del glicogeno) NON Glu,6-P!!!!

bassa affinità per Glu (elevata $KM \sim 10 \text{ mM}$)
Maggiore della [Glu] ematico

BASSA [Glu]
A digiuno la [Glu] è bassa (minore della KM)
e nel fegato il Glu generato dalla gluconeogenesi abbandona il fegato prima di essere fosforilato

ALTA [Glu]
Dopo un pasto aumenta la [Glu] (maggiore della KM)
nel fegato la glucokinasi fosforila il $GLU \gg \gg GLICOLISI$

La **glucochinasi epatica** subisce un controllo basato sull'interazione **proteina-proteina**: è **INIBITA** da una proteina regolatrice Nucleare la quale è regolata allostericamente dal F6P

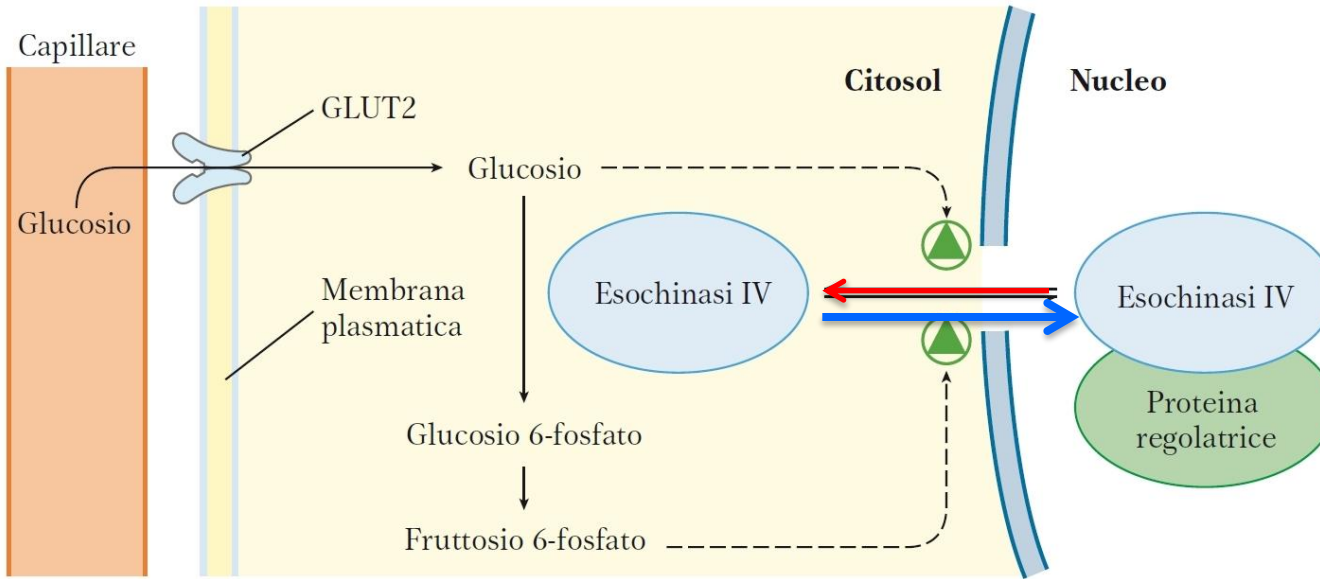
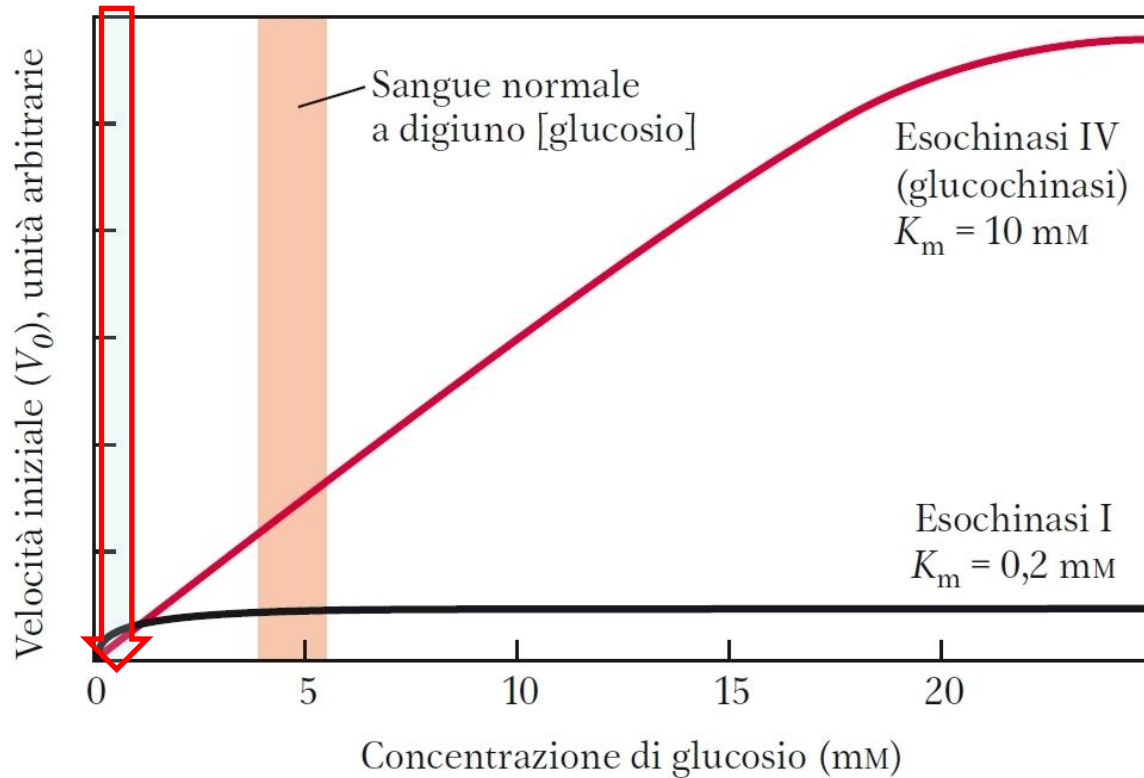


Figura 15.15 Regolazione dell'esochinasi IV (glucochinasi) per segregazione nel nucleo. La proteina inibitrice dell'esochinasi IV è una proteina nucleare di legame che attrae l'esochinasi IV nel nucleo, quando la concentrazione del fruttosio 6-fosfato nel fegato è elevata, e la rilascia nel citosol quando la concentrazione del glucosio è alta.

Dopo i pasti >>> aumenta il Glu ematico che **provoca la dissociazione della proteina regolatrice dalla glucokinasi** >>>> fosforilazione e GLICOLISI

A digiuno >>> diminuisce il Glu ematico (sotto 5 mM) il F6P (che **compete** con il Glu per il legame con la proteina regolatrice) **provoca l'associazione della proteina regolatrice alla glucokinasi** >>>> il fegato **non** può effettuare la glicolisi e mantiene costante il livello ematico di Glu

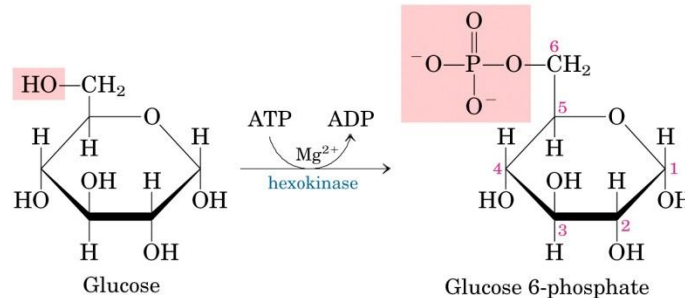
I differenti isoismi dell'esochinasi nel muscolo e nel fegato riflettono il loro diverso ruolo funzionale



Nel **MUSCOLO**: usa Glu per produrre energia!!!
 Elevata affinità per Glu (piccola $K_M \sim 0.1 \text{ mM}$)
 Arriva dal sangue dove c'è un [Glu] maggiore >>> raggiunge subito la V_{max}

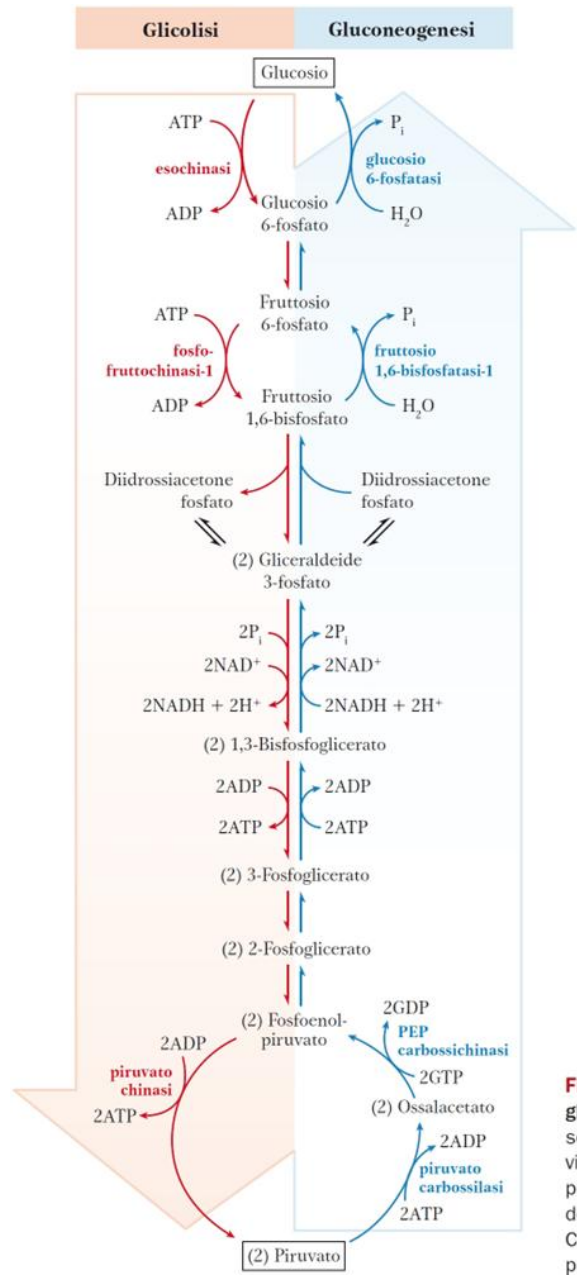
IL RISULTATO è GLICOLISI anche a BASSE [Glu]

La **esochinasi** è **inibita allostericamente** dal suo prodotto **glucoso-6-fosfato**



$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

LA GLUCONEOGENESI È ENERGETICAMENTE DISPENDIOSA, MA ESSENZIALE



Gluconeogenesi:

- 4ATP
- 2GTP
- 2NADH + H⁺

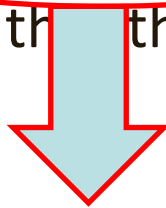
Glicolisi: Prodotti 2 equivalenti ATP

Questo è il prezzo termodinamico necessario per mantenere la regolazione di queste due vie metaboliche indipendente

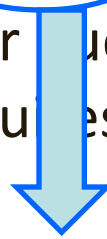
Figura 14.17 Confronto fra le reazioni della glicolisi e della gluconeogenesi nel fegato di ratto. Le reazioni della glicolisi sono illustrate a sinistra in rosso, quelle corrispondenti della via gluconeogenetica a destra in blu. Sono mostrati anche i principali siti di regolazione della gluconeogenesi che verranno descritti più avanti in questo capitolo e dettagliatamente nel Capitolo 15. La Figura 14.20 illustra una via alternativa per la produzione di ossalacetato nei mitocondri.

The Pentose Phosphate Pathway

- The pentose phosphate pathway consists of three stages, in which NADPH is produced, pentoses undergo isomerization, and glycolytic intermediates are recovered.
- The pathway provides **NADPH** for reductive biosynthesis and **ribose-5-phosphate** for nucleotide biosynthesis in the quantities that the cell requires.



Sintesi di nucleotidi nelle cellule ad elevata velocità di divisione

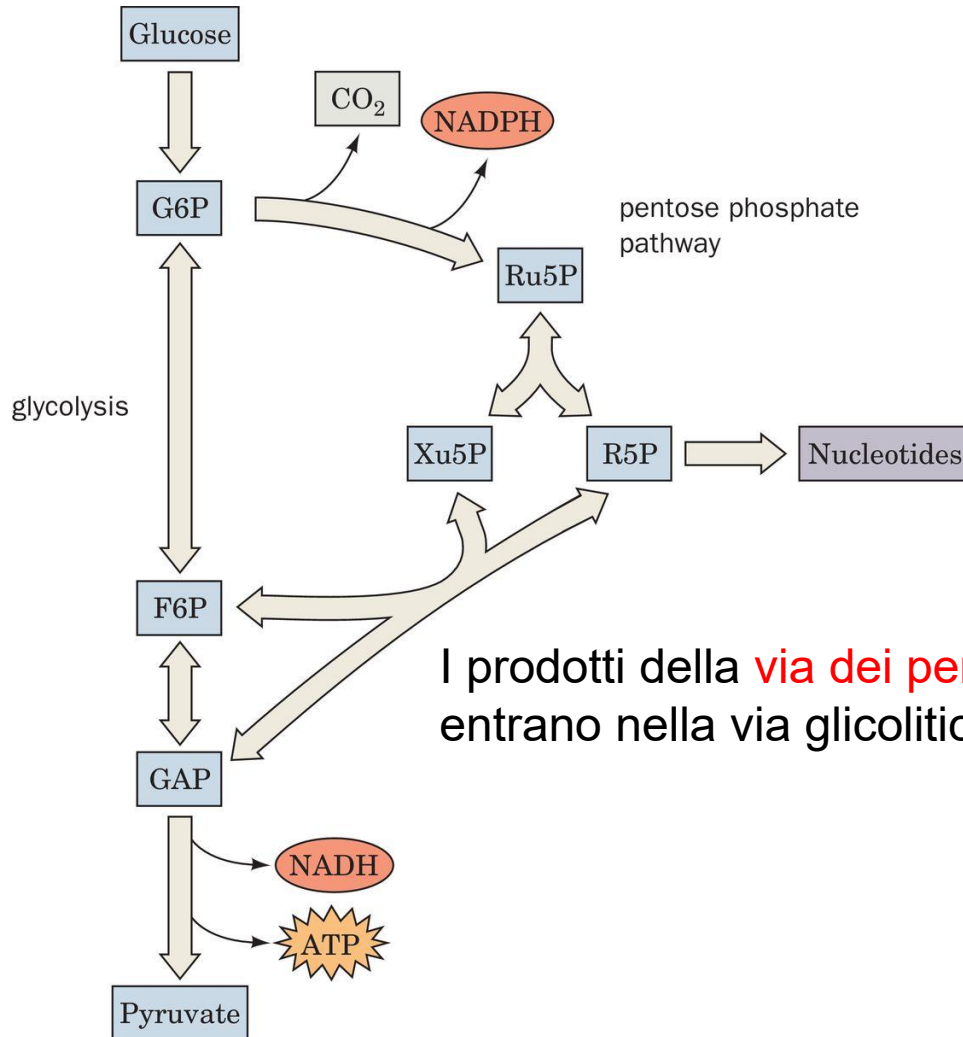


Potere riducente usato per le biosintesi riduttive (acidi grassi, colesterolo, ormoni steroidei) e per contrastare i danni ossidativi (eritrociti, cristallino, cornea)

NADH: sintesi di ATP

NADPH: biosintesi riduttive (biosintesi lipidica: fegato, gh. mammaria, surrene, adipociti)

Relationship Between Glycolysis & Pentose Phosphate Pathway



VIA dei pentosio-fosfato (via del fosfogluconato o shunt dell'esosio monofosfato)

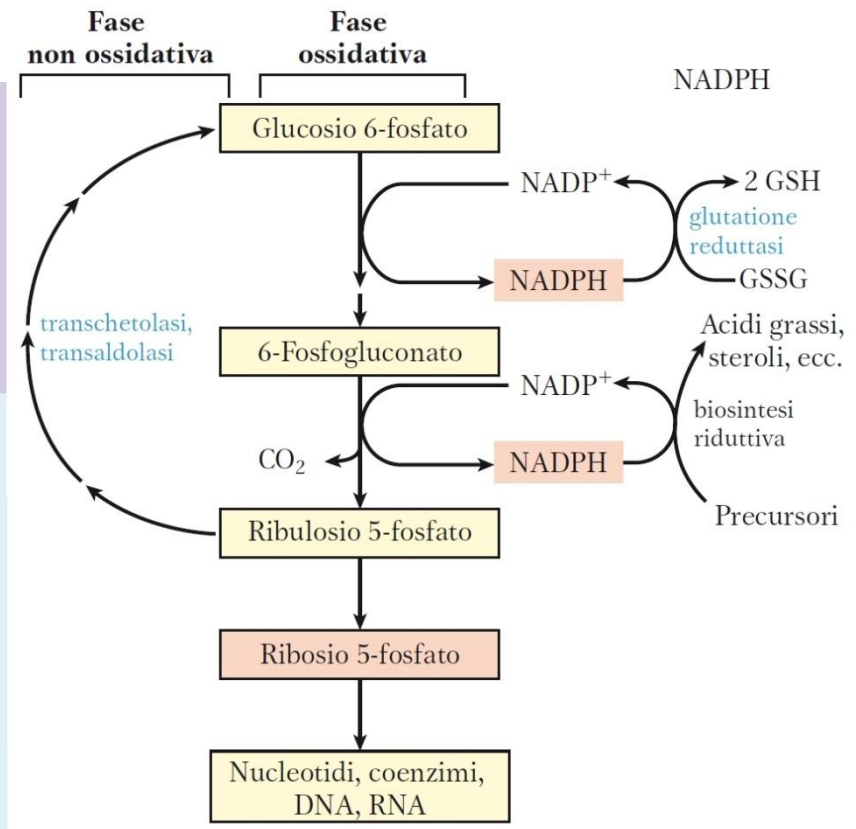
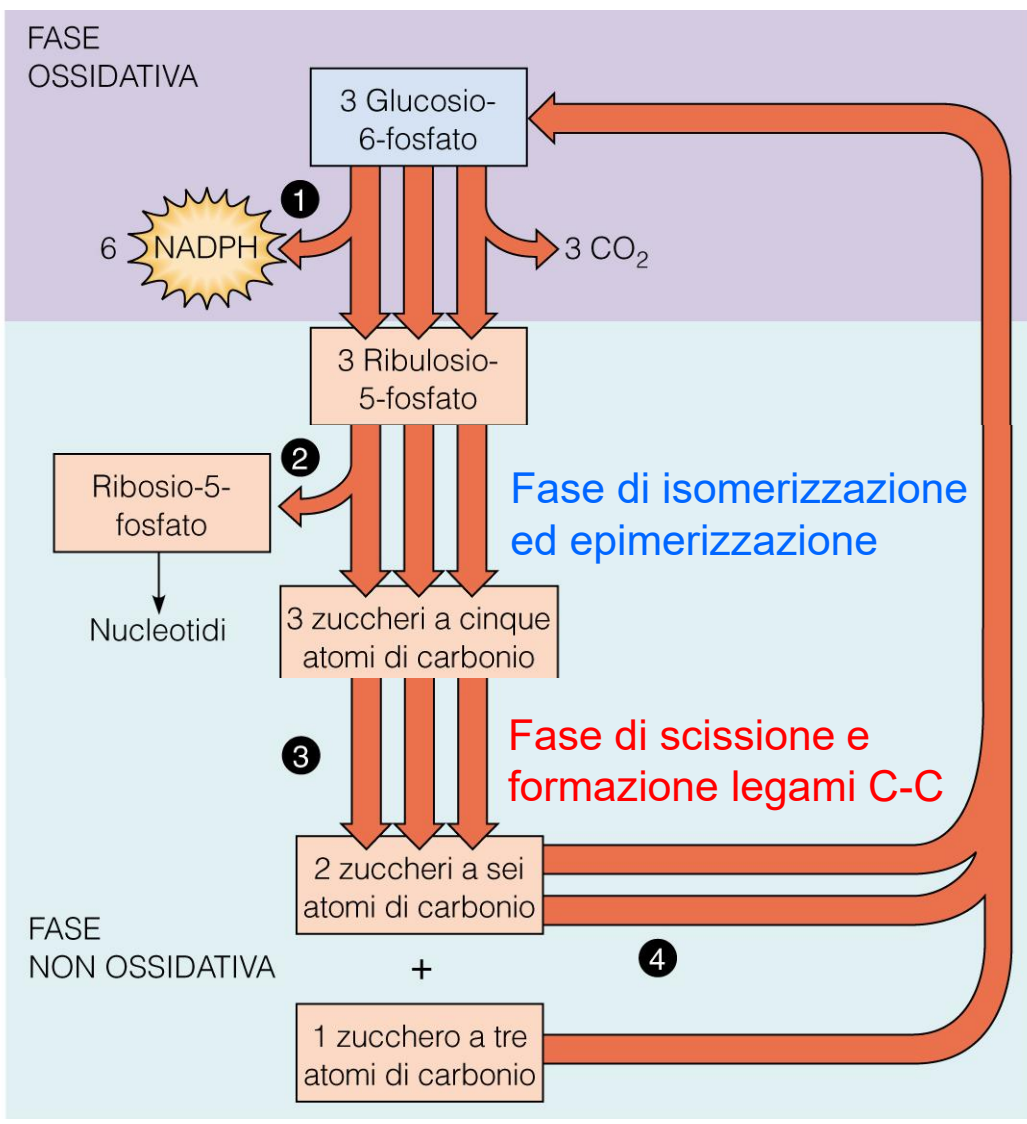
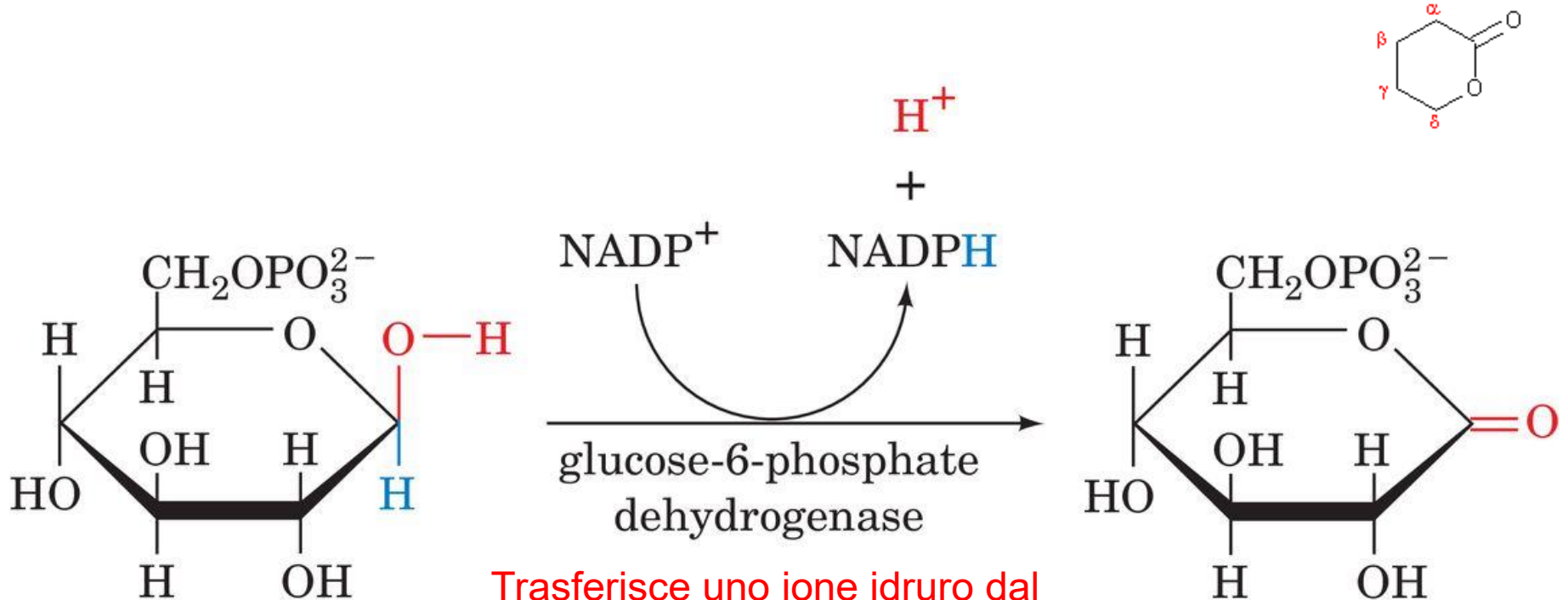


Figura 14.21 Schema generale della via del pentosio fosfato. Il NADPH che si forma nella fase ossidativa viene utilizzato per ridurre il glutatione, GSSG (vedi il Box 14.4) e per supportare le reazioni della biosintesi riduttiva. L'altro prodotto della fase ossidativa è il ribosio 5-fosfato, che serve come precursore di nucleotidi, coenzimi e acidi nucleici. Nelle cellule che non utilizzano il ribosio 5-fosfato per le reazioni di biosintesi, la fase non ossidativa ricicla sei molecole di pentosio in cinque di glucosio 6-fosfato, consentendo la produzione continua di NADPH e convertendo una molecola di glucosio 6-fosfato (in sei cicli) in CO₂.

G6PD Generates 1st NADPH

FASE 1 OSSIDATIVA: Le reazioni ossidative producono **NADPH**



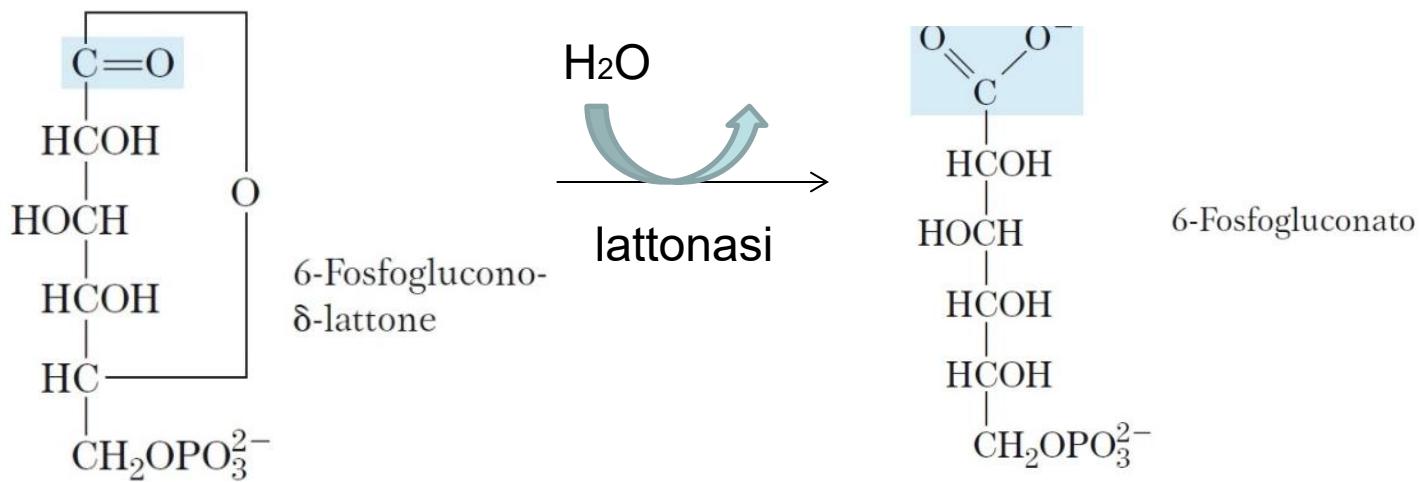
G6P



Dalla glicolisi per azione della esochinasi
o dalla glicogenolisi

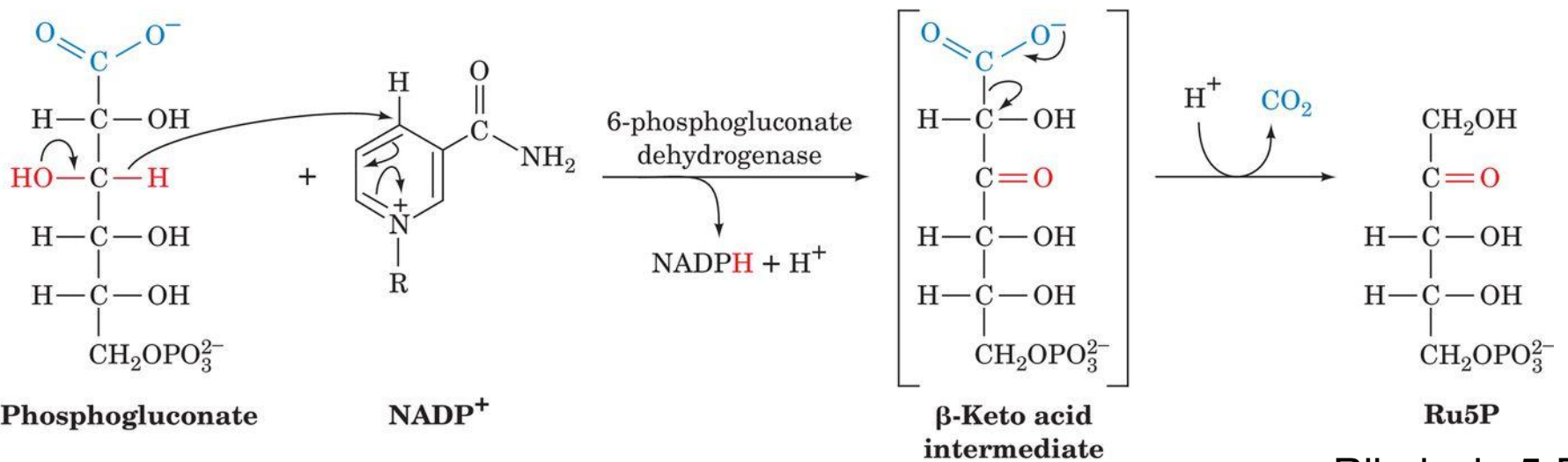
6-Phosphoglucono- δ -lactone

(estere ciclico)



6-Phosphogluconate Dehydrogenase Generates 2nd NADPH

Decarbossilazione ossidativa



Beta idrossi acido

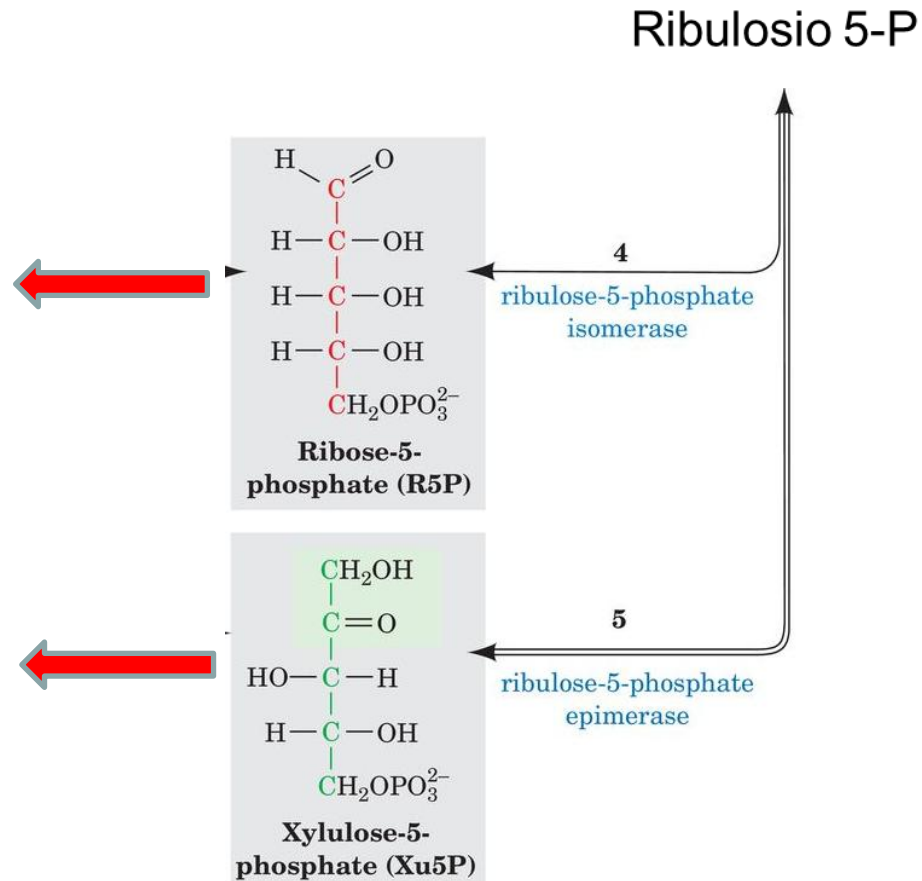
Ribulosio 5-P

Fase 2 di isomerizzazione ed epimerizzazione

I principali prodotti di questa via sono il **NADPH** e il **R5P**

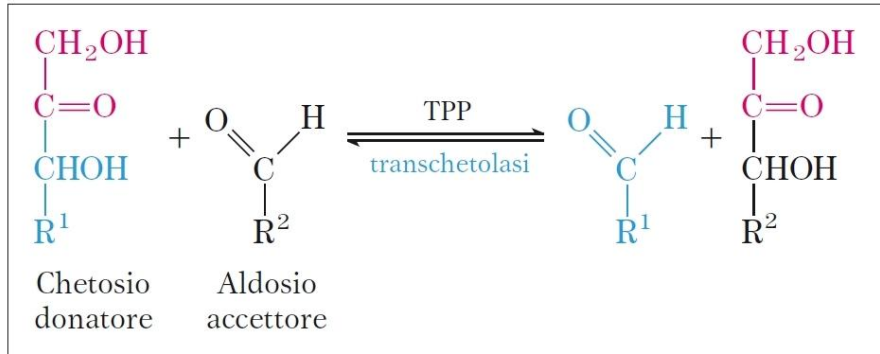
3 R5P se la cellula in attiva divisione: aumenta la sintesi del DNA e quindi dei nucleotidi

1 R5P e **2 Xu5P** se la via è attivata solo per produrre **NADPH**



Fase 3 di scissione e formazione legami C-C:

le **transchetolasi** e **transaldolasi** vengono attivate per produrre intermedi metabolici della glicolisi (GAP)



(a)

I Reazione della TRANSCHEVOLASI:
 trasferimento di un gruppo a due atomi di C

Figura 14.24 La prima reazione catalizzata dalla transchetolasi.

(a) La reazione generale catalizzata dalla transchetolasi è il trasferimento di un gruppo a due atomi di carbonio, che si lega transitoriamente alla TPP legata all'enzima, da un chetoso donatore a un aldoso accettore.

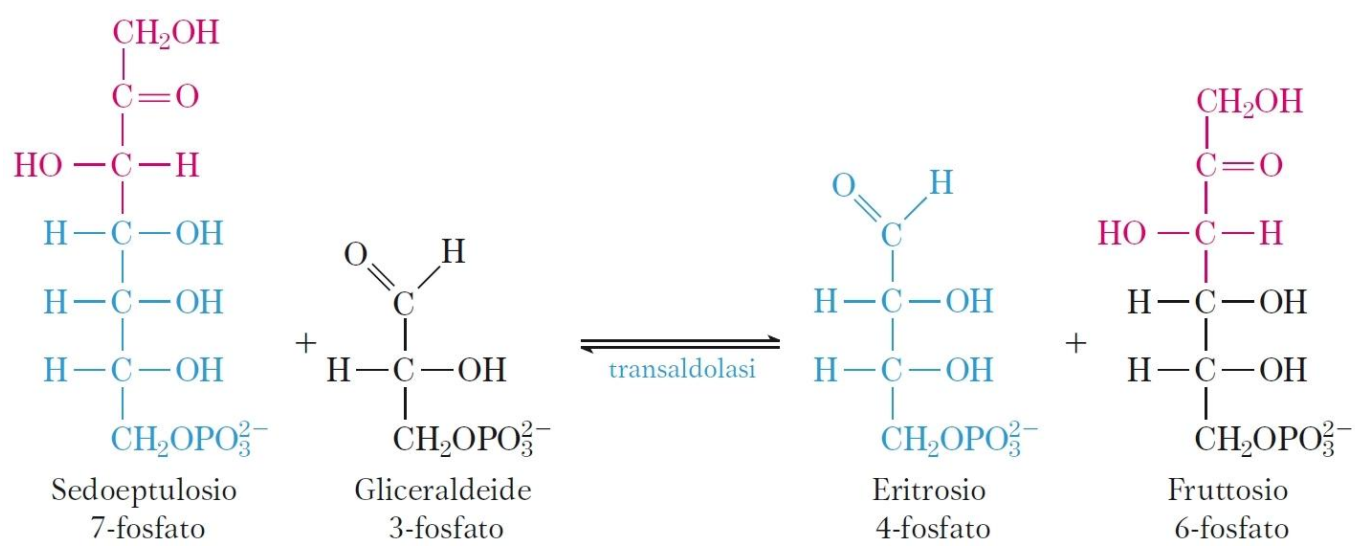
(b) Conversione di due pentosi fosfato in un triosio fosfato e in uno zucchero fosforilato a sette atomi di carbonio, il sedoepulosio 7-fosfato.



(b)

transchetolasi
C5 + C5 = C7 + C3

Reazione della TRANSALDOLASI: trasferimento di un gruppo a tre atomi di C
 (un residuo di lisina attacca il gruppo carbonilico della S7P e facilita la scissione aldolica)



Scissione aldolica

Figura 14.25 La reazione catalizzata dalla transaldolasi.

transaldolasi consentono le ricombinazioni:
C7 + C3 = C4 + C6

SECONDA Reazione della TRANSCHEVOLASI: trasferimento di un gruppo a due atomi di C

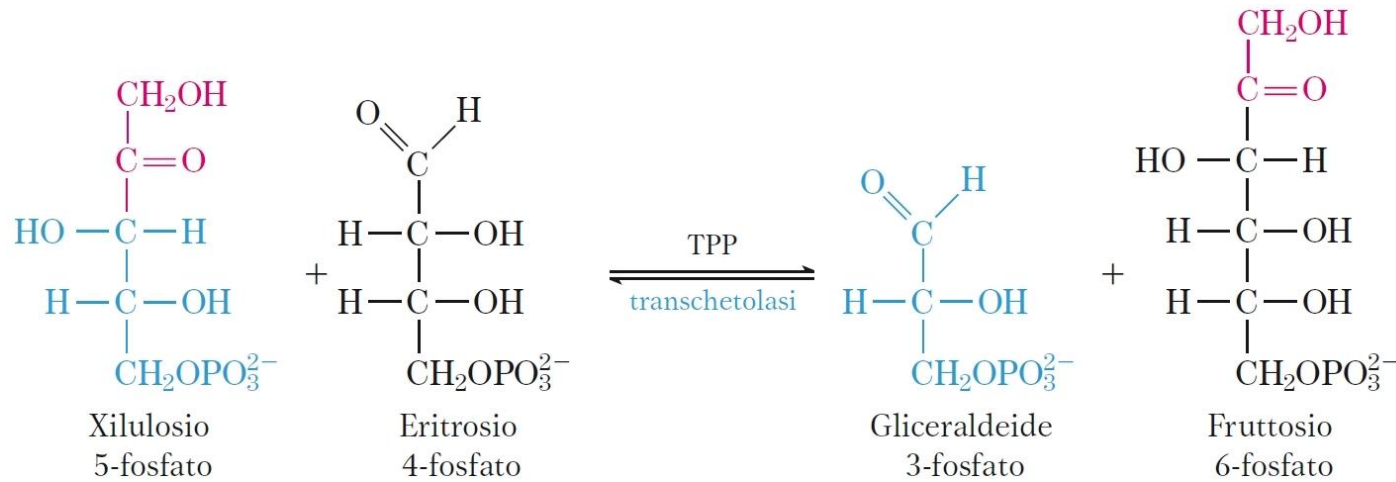
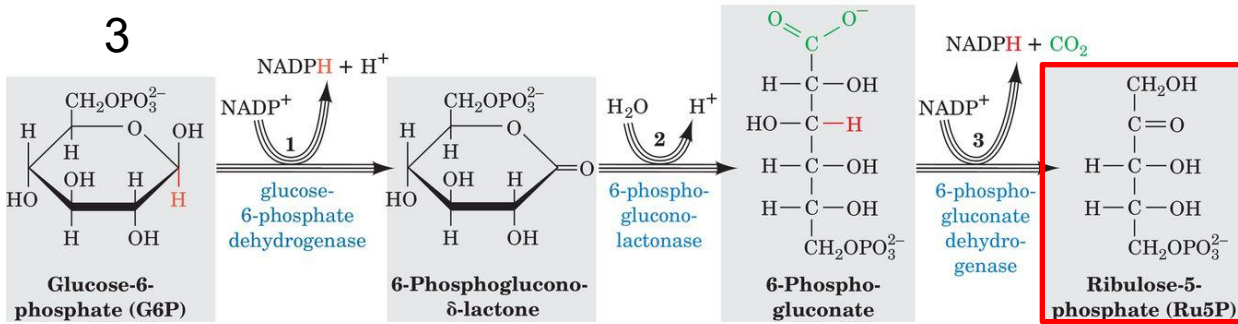
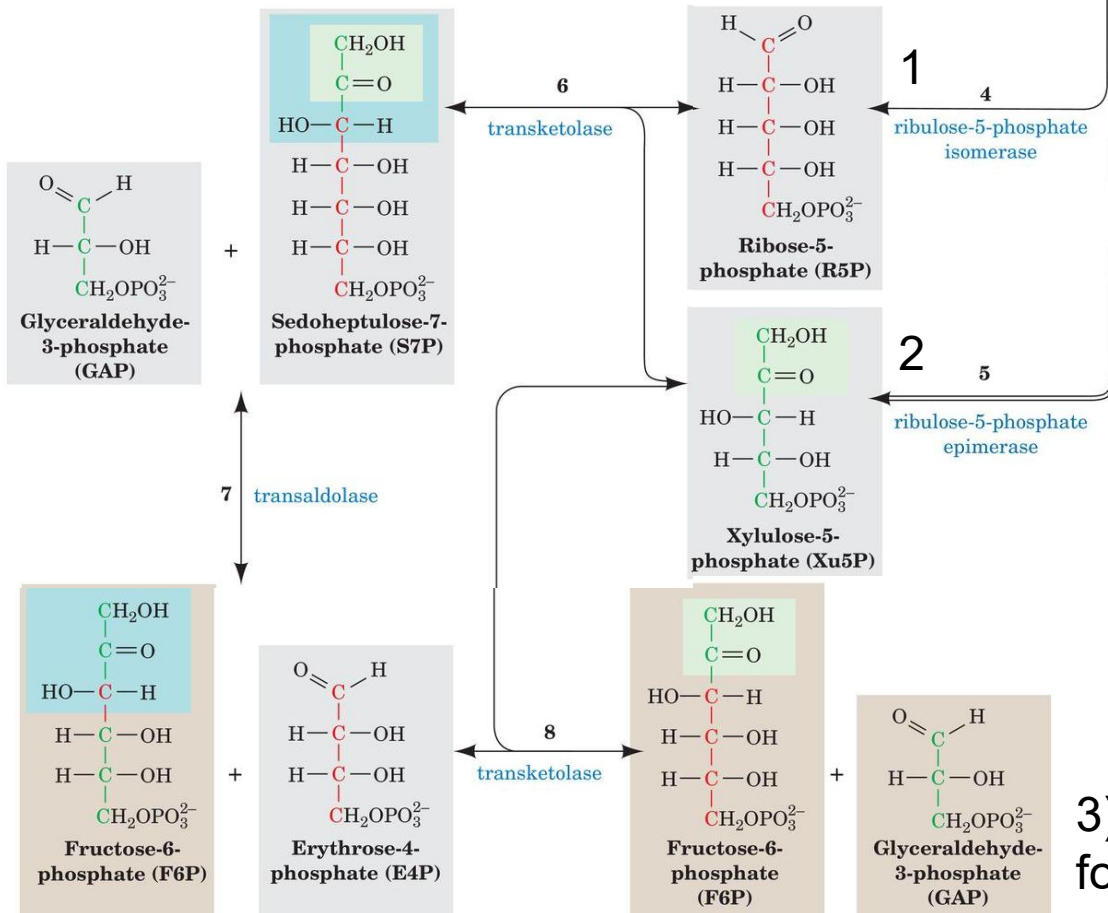


Figura 14.26 La seconda reazione catalizzata dalla transchetolasi.

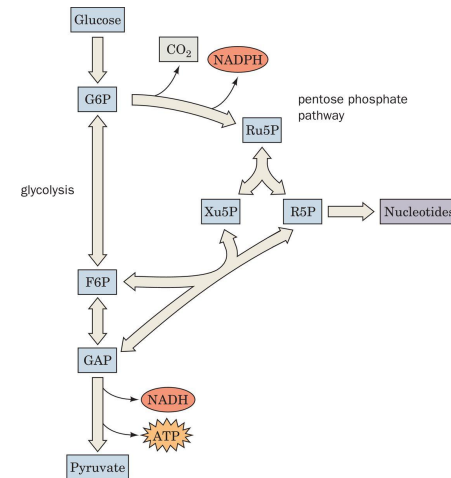
Pentose Phosphate Pathway



1) Fase di ossidazione



2) Fase di isomerizzazione ed epimerizzazione



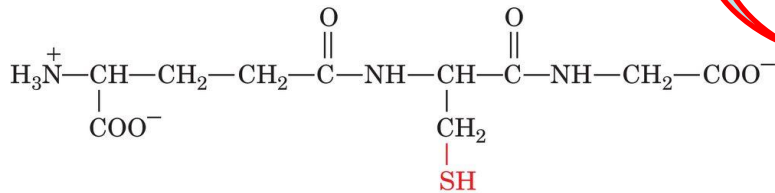
3) Fase di scissione e formazione legami C-C

Danni ossidativi, G6PD Deficiency e ruolo del NADPH

La carenza di G6PD colpisce principalmente gli ERITROCITI perché non hanno il nucleo per sintetizzare l'enzima mutato



EMOLISI



Glutathione (GSH)
(γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine)

GSH (TRIPETIDE ANTIOSSIDANTE):
Eliminare mediante processo di riduzione del perossido di idrogeno i metaboliti reattivi dell'ossigeno che provocano perossidazione lipidica e lisi

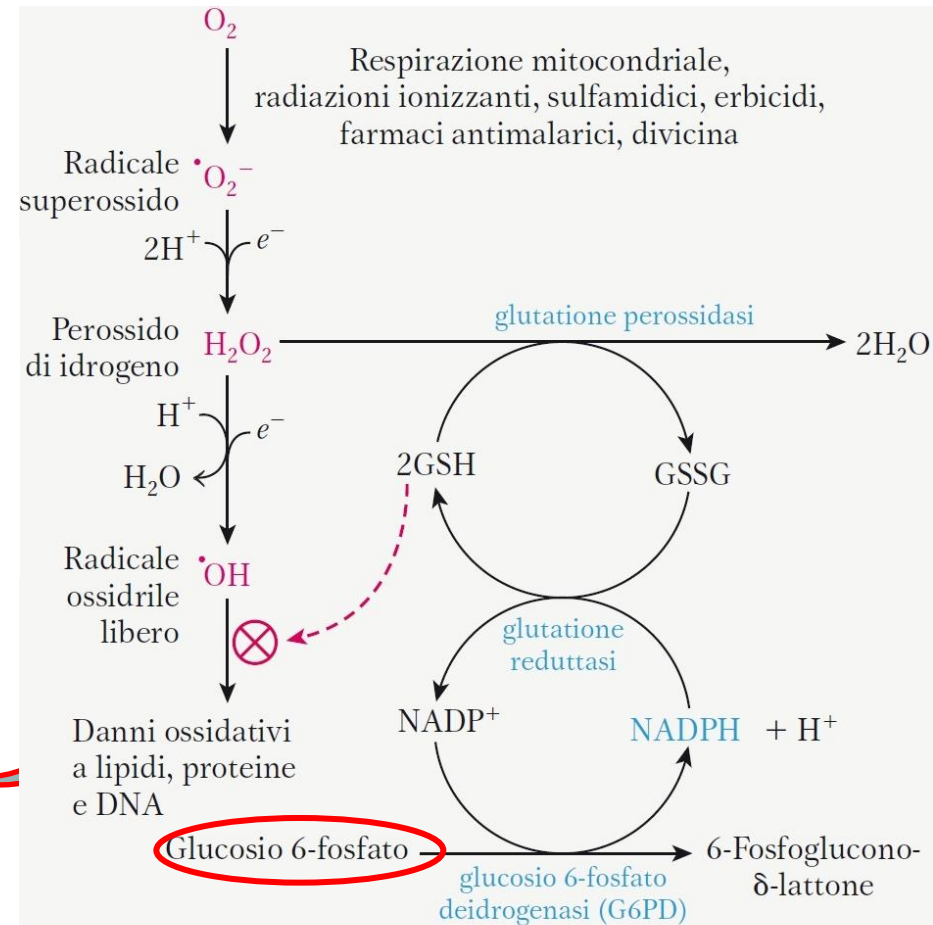
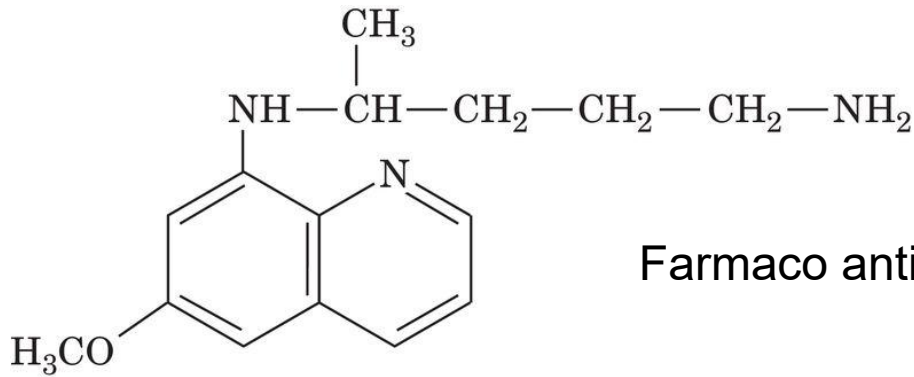


Figura 1 Ruolo del NADPH e del glutathione nella protezione delle cellule contro i derivati reattivi dell'ossigeno. Il glutathione ridotto (GSH) protegge la cellula degradando il perossido di idrogeno e i radicali ossidrilici liberi. La rigenerazione di GSH dalla sua forma ossidata (GSSG) richiede il NADPH prodotto nella reazione catalizzata dalla glucosio 6-fosfato deidrogenasi.

G6PD Deficiency



Primaquine

Farmaco antimalarico

La carezza di glucosio-6-fosfato

deidrogenasi (G6PD) è il più comune deficit enzimatico umano, presente in oltre 500 milioni di persone nel mondo e 400 mila in Italia.

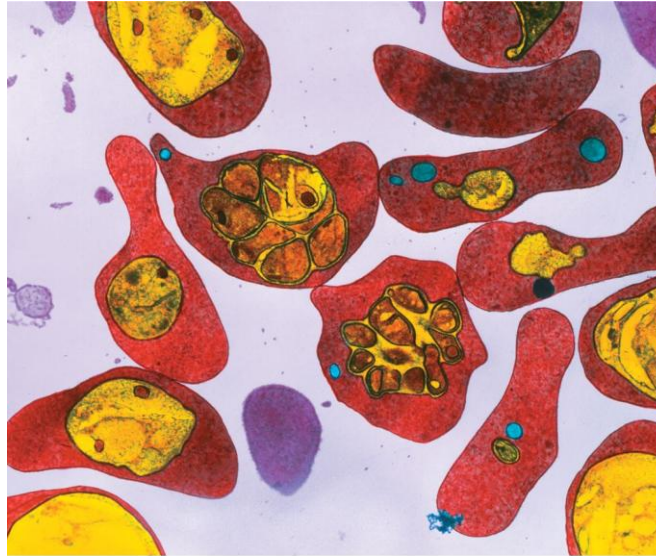
In Sardegna 15%



FAVISMO : glucosidi tossici
(vicina e convicina...SOLO nelle FAVE!)

Stimolano la formazione di perossidi, aumentando il fabbisogno di NADPH che non viene prodotto a sufficienza nelle cellule G6PD carenti

L'elevata prevalenza di individui carenti G6PD nelle aree malariche suggerisce che questa mutazione dia resistenza al parassita che causa la malaria: il *Plasmodium phalciparum*



Dr. Gopal Murti/Photo Researchers