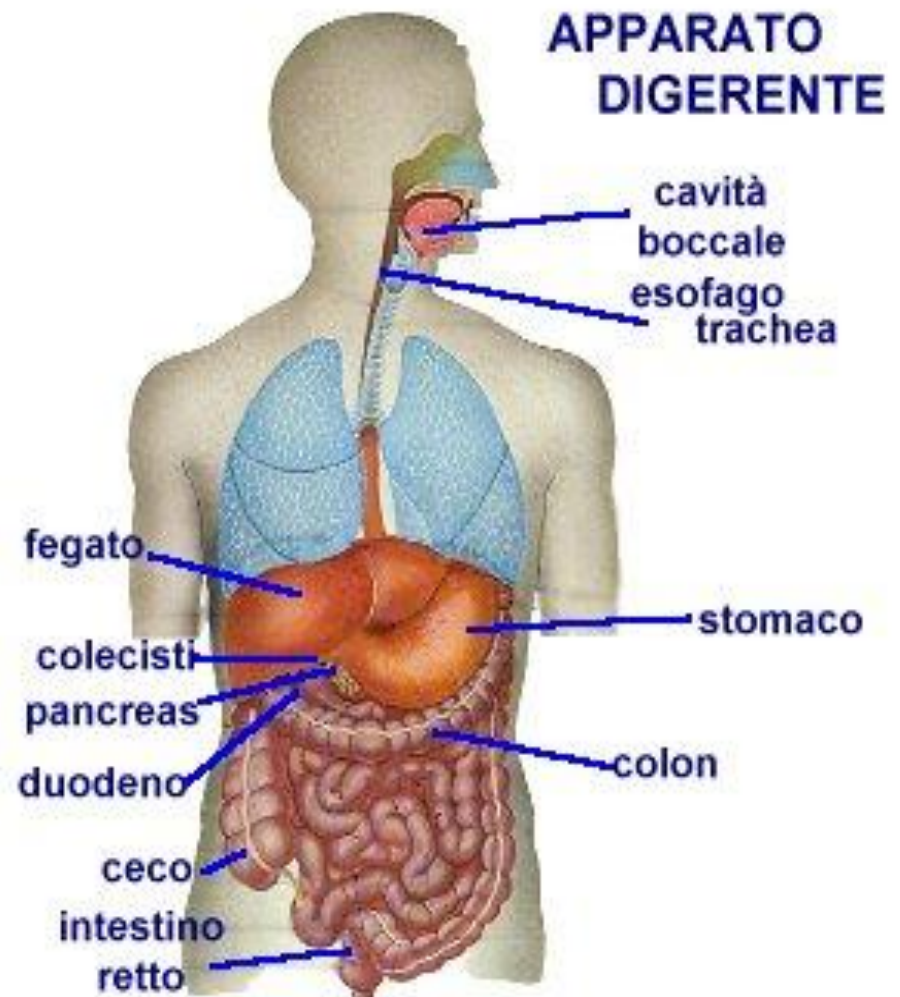
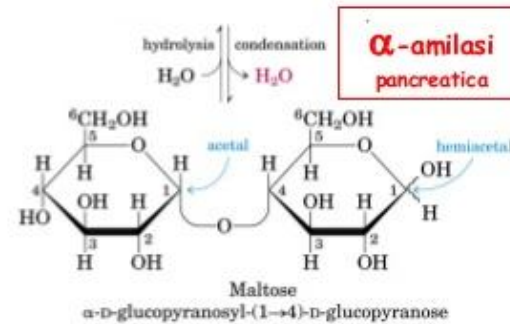
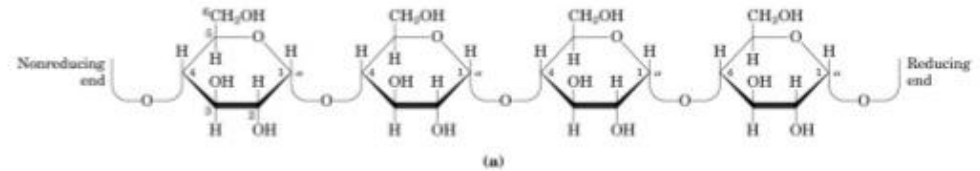
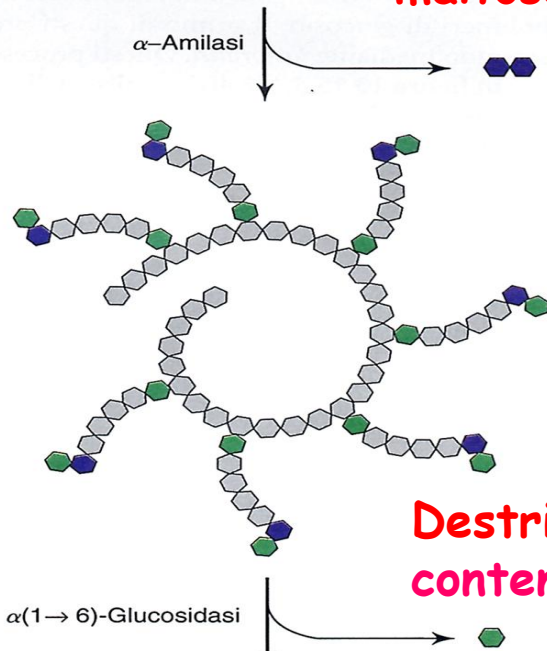
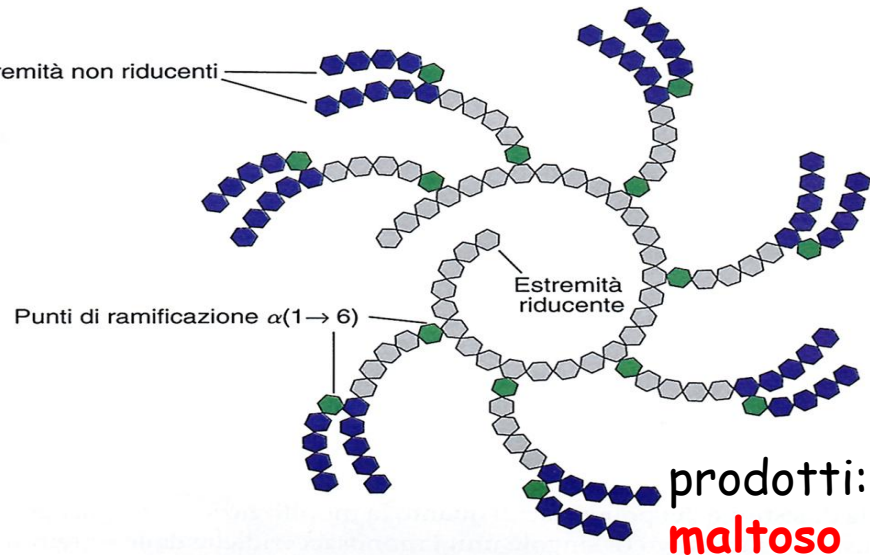


# Digestione ed assorbimento dei glucidi

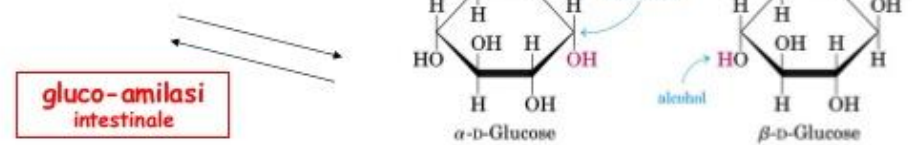
La digestione inizia nella cavità orale, dove l' $\alpha$ -amilasi salivare idrolizza i legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici dell'amido, producendo maltoso e oligosaccaridi. Nello stomaco l' $\alpha$ -amilasi viene inattivata a causa del valore del pH molto basso. Nell'intestino tenue l' $\alpha$ -amilasi pancreatica continua il processo di demolizione, idrolizzando altri legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici



Nell'intestino tenue  
 l' **$\alpha$ -amilasi pancreatica**  
 continua il processo di demolizione,  
 idrolizzando legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici



Si ottengono frammenti  
 polisaccaridici o oligo-  
 saccaridici, soprattutto  
 maltosio e mato-trisio



**Destrine: frammenti di amilopectina  
 contenenti legami  $\alpha(1\rightarrow6)$**

# La digestione viene completata dagli enzimi prodotti dall'orletto a spazzola intestinale

maltoso

maltasi → 2 glucosio

saccaroso

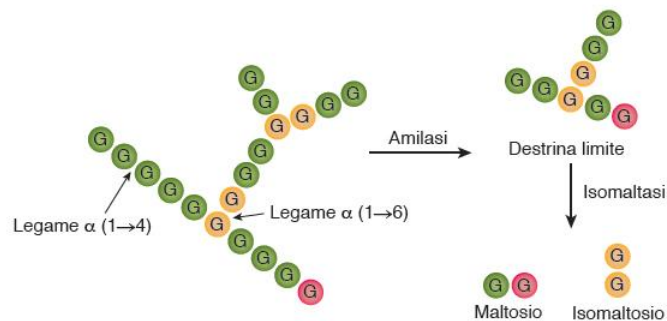
saccarasi → glucosio + fruttosio

lattoso

lattasi → galattosio + glucosio

destrine

$\alpha$  (1→6) glucosidasi o destrinasi o isomaltasi  
→ glucosio + oligosaccaride ramificato

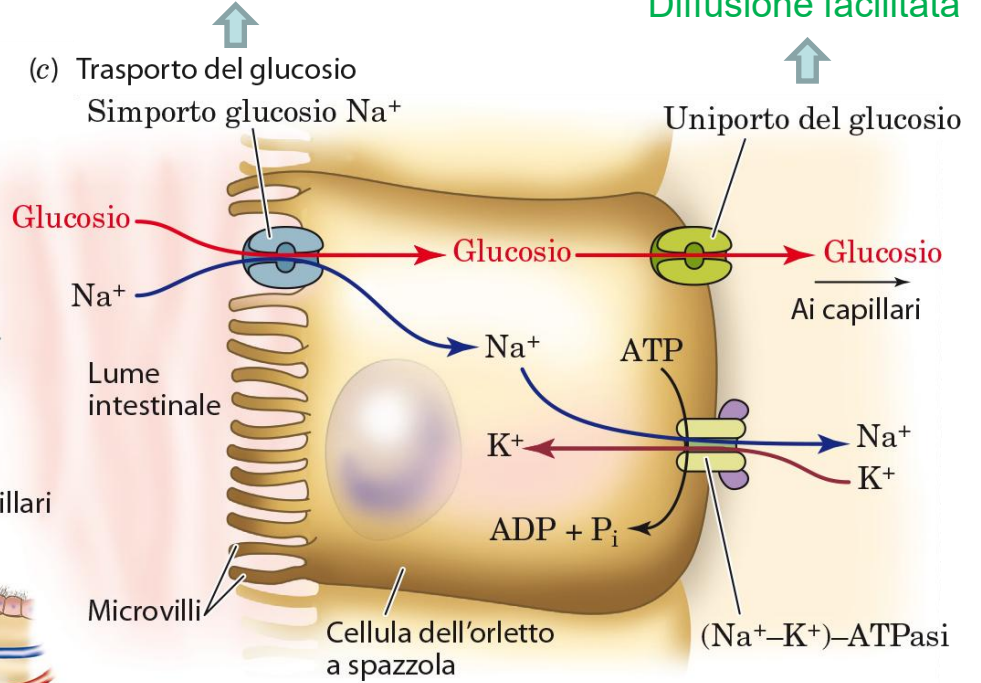
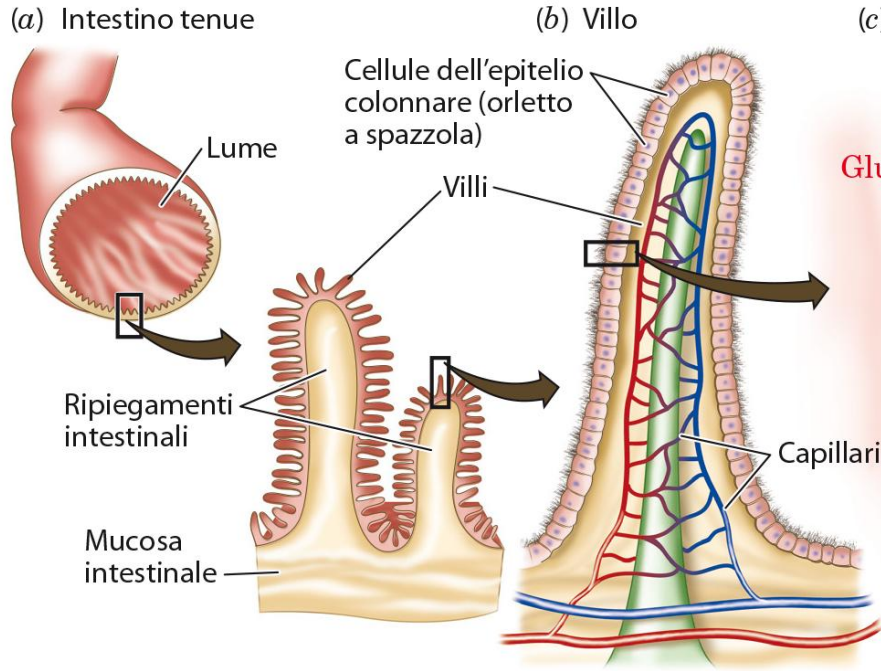


◀ FIGURA 12.18

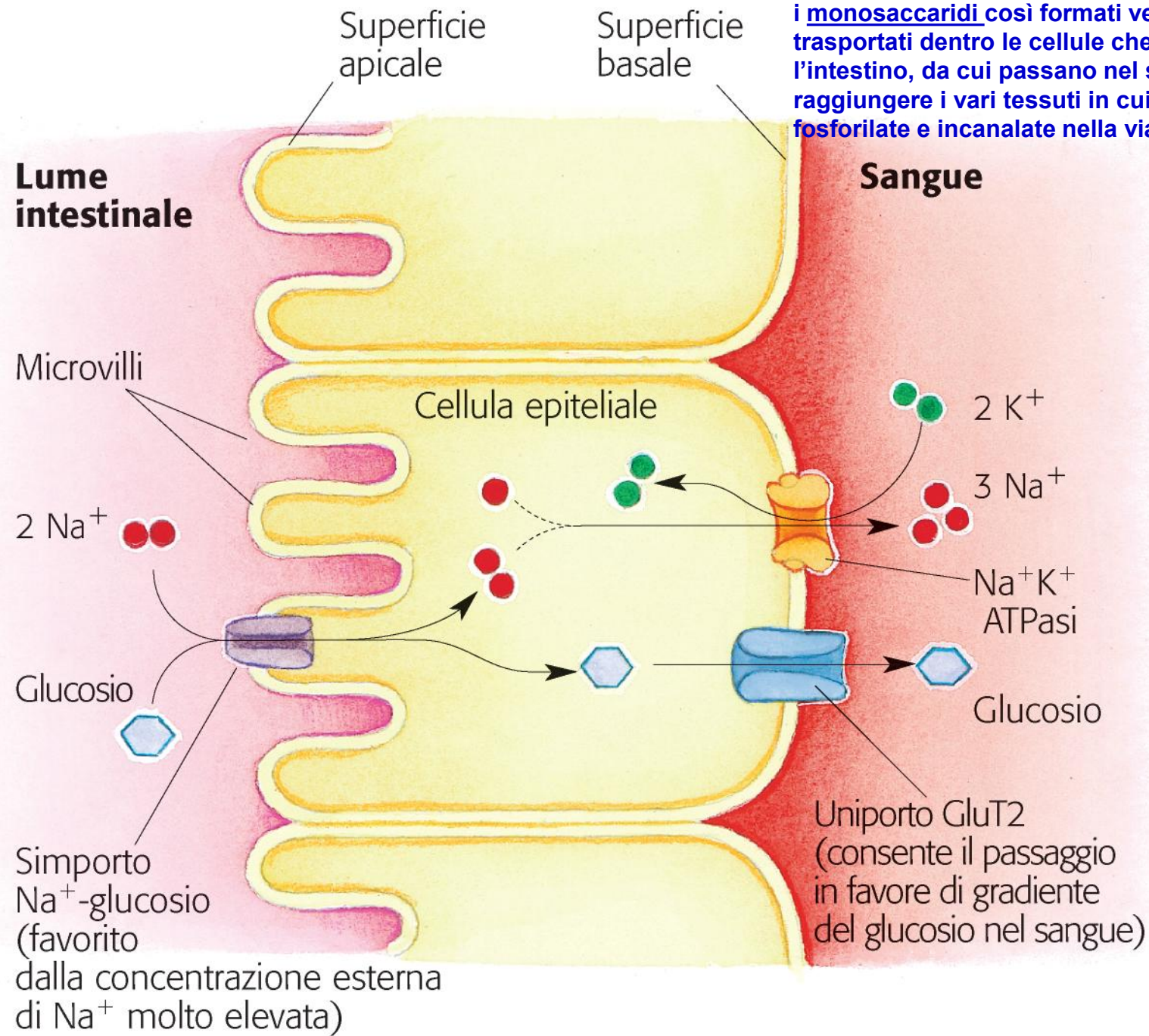
**Azione della  $\alpha$ -amilasi.** L'enzima  $\alpha$ -amilasi idrolizza i legami  $\alpha$  (1→4) glicosidici (subunità verdi) ma non può avvicinarsi alle ramificazioni che contengono legami  $\alpha$  (1→6) glicosidici (subunità arancioni). Il prodotto della sua azione è la destrina limite: questo oligosaccaride viene ulteriormente degradato grazie all'isomaltasi, che è in grado di rompere i legami delle ramificazioni. La direzionalità del polisaccaride è evidenziata dalla subunità rossa che indica l'estremità riducente.

Trasporto attivo  
secondario: accumula  
contro gradiente di  
concentrazione il  
glucosio dentro la cellula

Diffusione facilitata



**i monosaccaridi così formati vengono trasportati dentro le cellule che rivestono l'intestino, da cui passano nel sangue per raggiungere i vari tessuti in cui vengono fosforilate e incanalate nella via glicolitica.**



**Lume intestinale**

**Sangue**

Superficie apicale

Superficie basale

Microvilli

Cellula epiteliale

2 Na<sup>+</sup>

2 K<sup>+</sup>

3 Na<sup>+</sup>

Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup> ATPasi

Glucosio

Glucosio

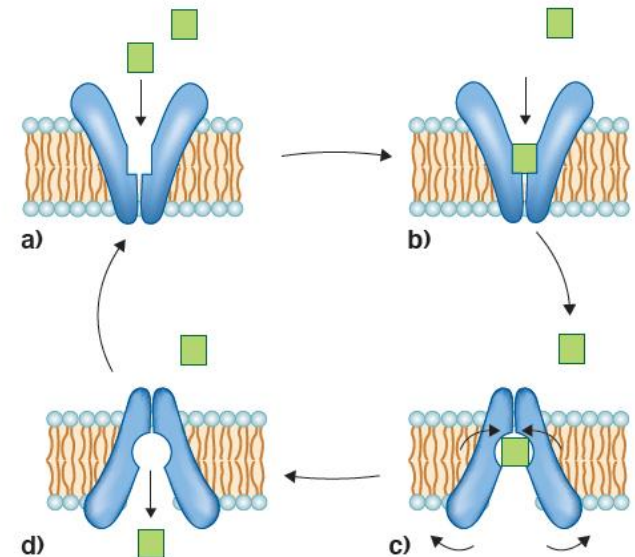
Simporto Na<sup>+</sup>-glucosio (favorito dalla concentrazione esterna di Na<sup>+</sup> molto elevata)

Uniporto GluT2 (consente il passaggio in favore di gradiente del glucosio nel sangue)

## Specificità tissutale dell'espressione dei geni GLUT

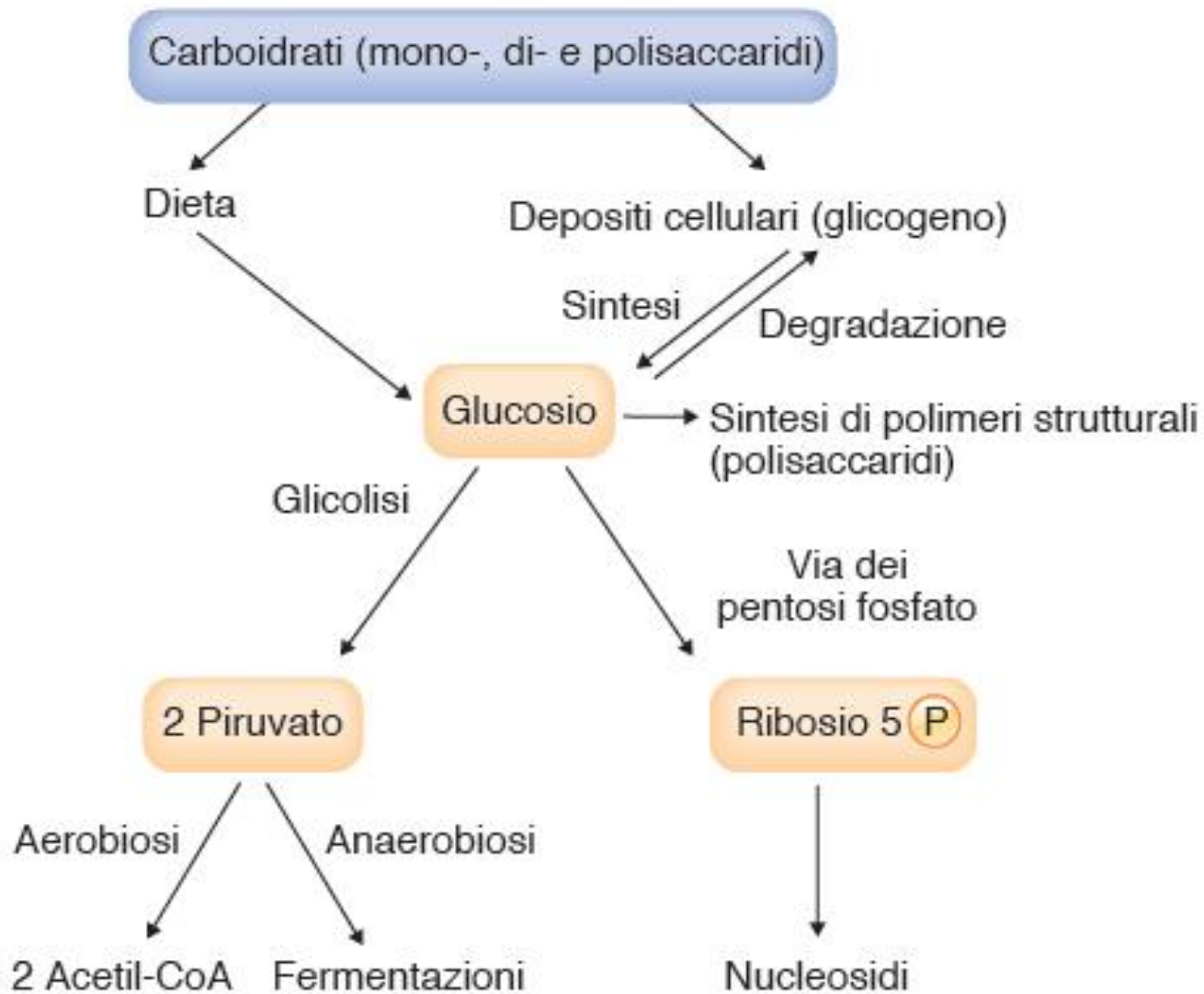
<b>GLUT- 1</b>	Brain, Kidney, placenta, RBC	Uptake of glucose
<b>GLUT- 2</b>	Liver, pancreatic $\beta$ - cell, small intestine, Kidney	Rapid uptake & release of glucose
<b>GLUT- 3</b>	Brain, Kidney, placenta	Uptake of glucose
<b>GLUT- 4</b>	Heart, skeletal muscle, adipose tissue	Insulin stimulated uptake of glucose
<b>GLUT- 5</b>	Small intestine	Absorption of glucose
<b>SGLT-1</b>	Small intestine and kidney	Active uptake & reabsorption of glucose

I trasportatori del glucosio (GLUT) sono un insieme di proteine di membrana che consentono il passaggio del glucosio attraverso la membrana plasmatica mediante diffusione facilitata.



▲ FIGURA 12.3

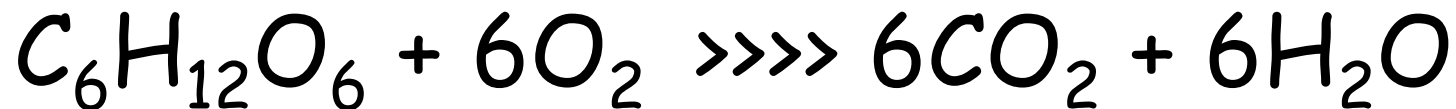
Trasportatori del glucosio (GLUT). Schema di funzionamento di GLUT durante la diffusione facilitata del glucosio (quadrato verde) attraverso la membrana plasmatica. Il modello prevede dei cambiamenti di conformazione reversibili e ciclici del trasportatore (a-d) che permettono il superamento del doppio strato lipidico da parte di una molecola polare come il glucosio.



▲ **FIGURA 12.1**  
 Fonti e destini metabolici dei carboidrati.

La glicolisi è una via metabolica, che avviene nel CITOSOL presente in tutti gli organismi viventi, che converte il glucosio in due molecole di piruvato generando energia metabolica sotto forma di ATP.

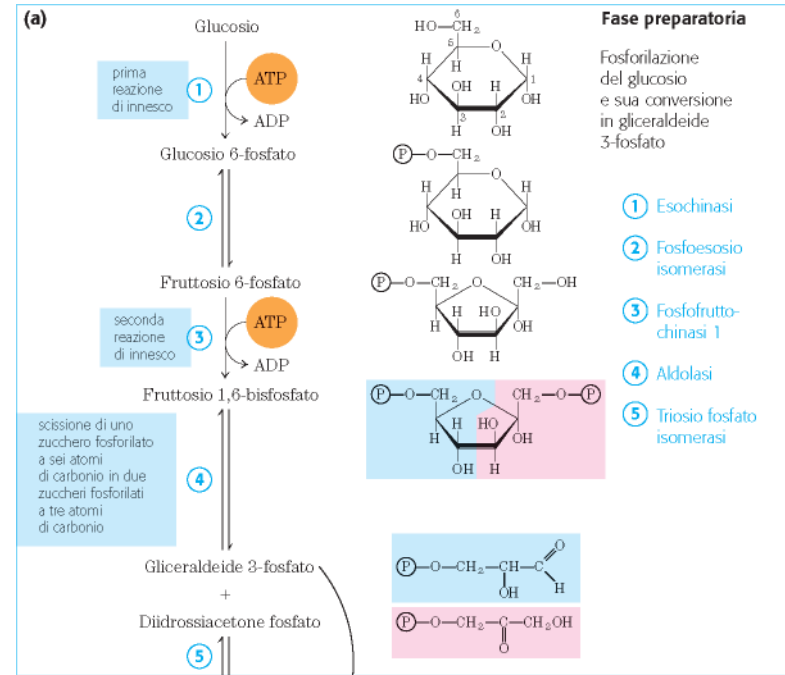
Negli organismi aerobi la glicolisi precede il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni, con cui si completa l'ossidazione del glucosio a  $H_2O$  e  $CO_2$ .



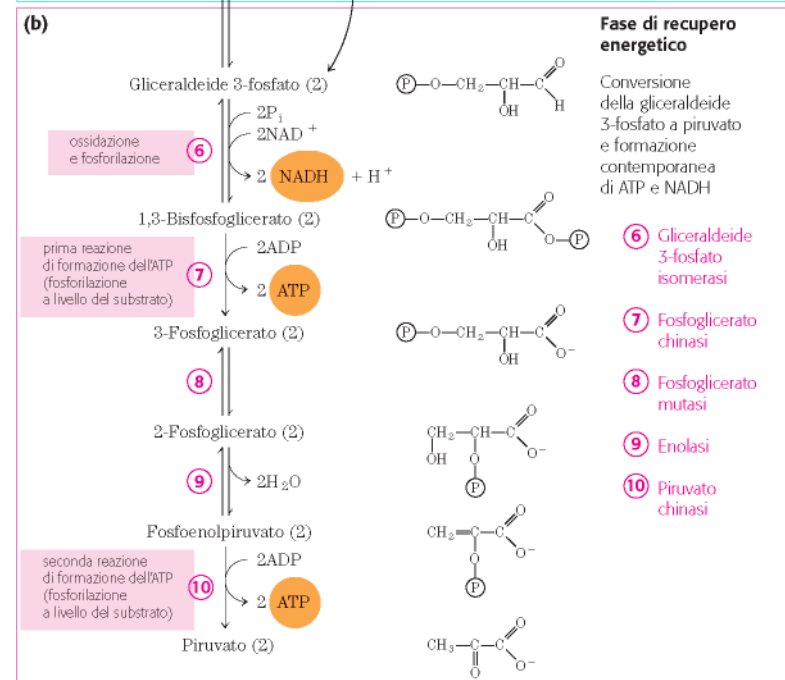
$$\Delta G'^{\circ} = -2840 \text{ kJ/mole (32 molecole di ATP)}$$

# 10 reazioni enzimatiche

## Fase I: Investimento energetico

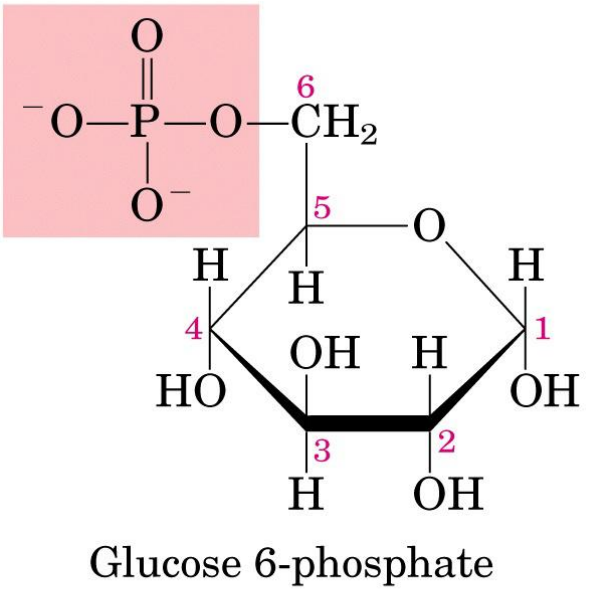
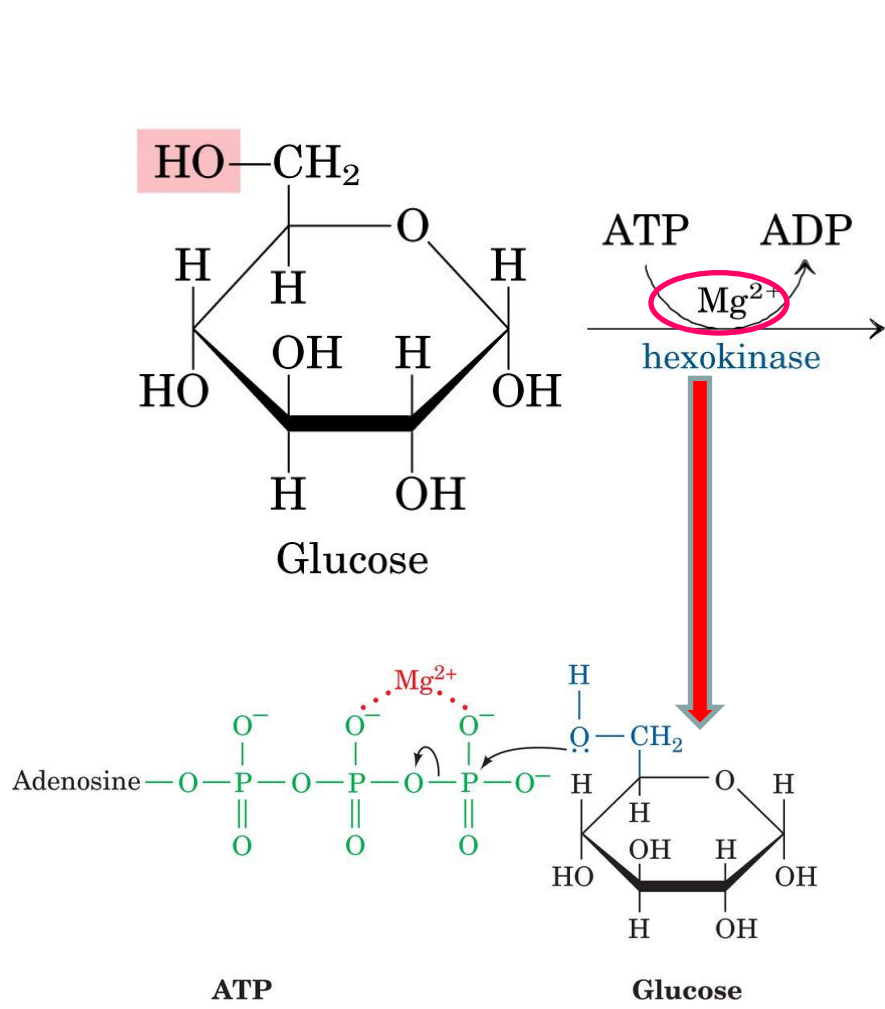


## Fase II: Recupero energetico



1) Il glucosio, entrato nella cellula sotto stimolo ormonale, viene *immediatamente* fosforilato in posizione 6. Questo passaggio catalizzato dalla **glucochinasi** nel fegato e dalla **esochinasi** nel muscolo e nel cervello, consuma una mole di ATP perché le chinasi trasferiscono un gruppo fosfato dall'ATP al substrato.

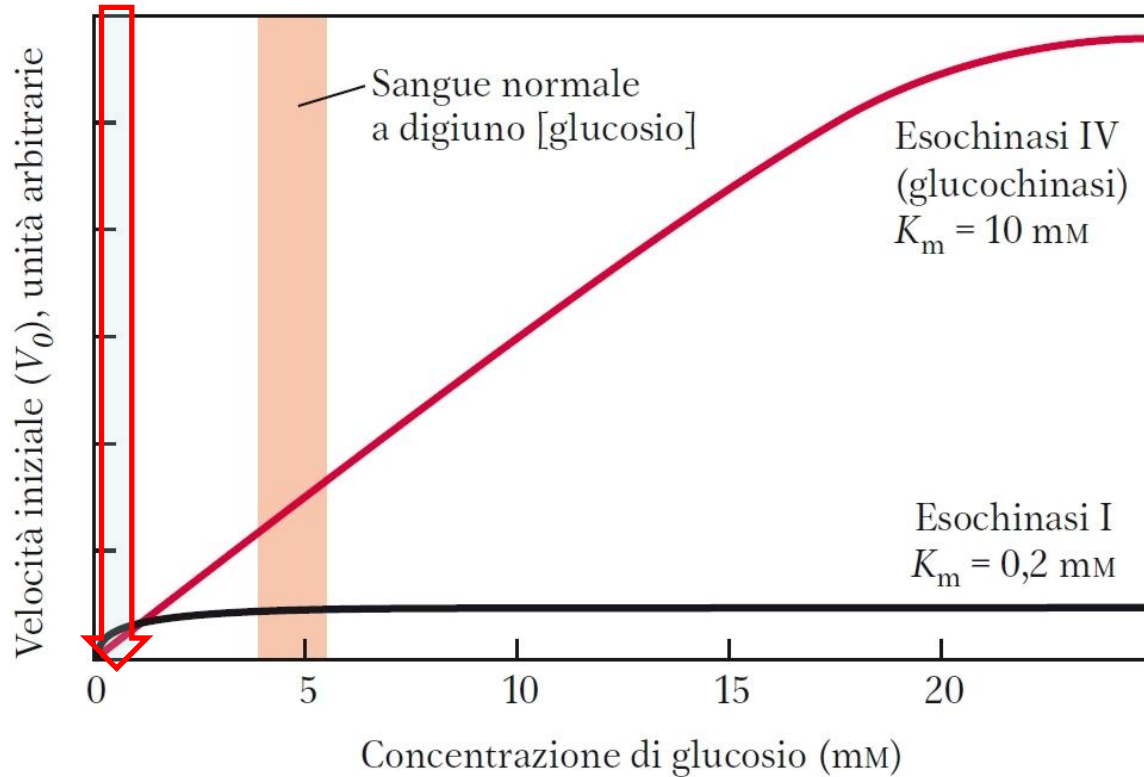
**glucochinasi e esochinasi sono ISOZIMI**



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

Gli ioni **Mg<sup>2+</sup>** schermano le cariche negative del fosfato dell'ATP rendendolo più accessibile per il legame con lo zucchero

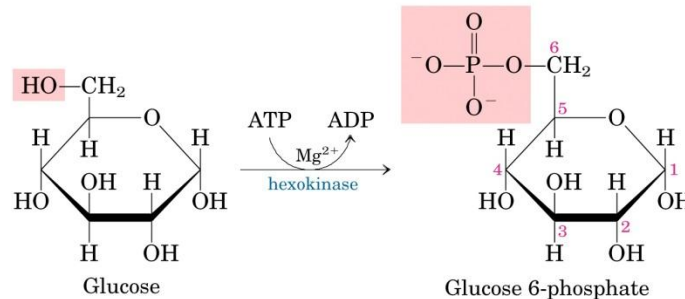
I differenti isoismi dell'esochinasi nel muscolo e nel fegato riflettono il loro diverso ruolo funzionale



Nel **MUSCOLO**: usa Glu per produrre energia!!!  
 Elevata affinità per Glu (piccola KM ~0.1 mM)  
 Arriva dal sangue dove c'è un [Glu] maggiore>>> raggiunge subito la Vmax

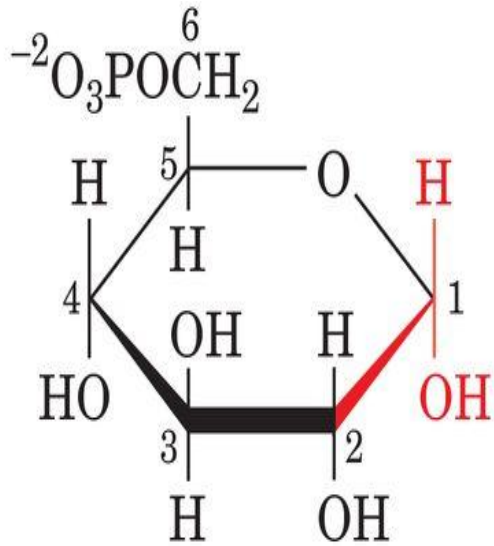
IL RISULTATO è GLICOLISI anche a BASSE [Glu]

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

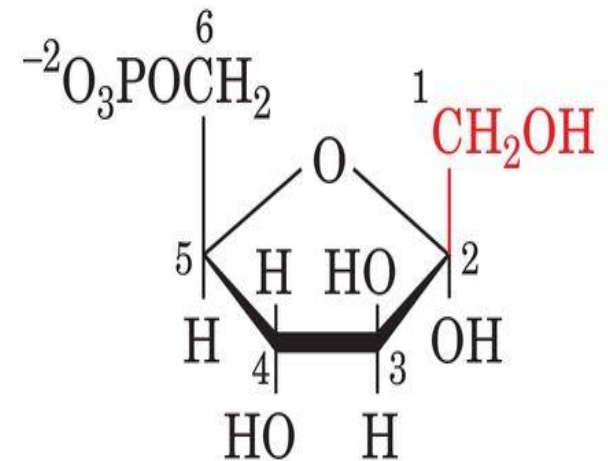
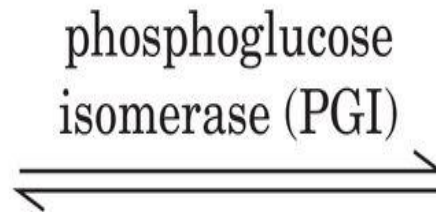


$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$

2) il **glucosio-6-fosfato (G6P)**, viene convertito in **fruttosio-6-fosfato (F6P)**, ad opera della **fosfoesoso isomerasi**, che converte reversibilmente un aldoso (glucosio) in un chetoso (fruttosio)



**Glucose-6-phosphate (G6P)**

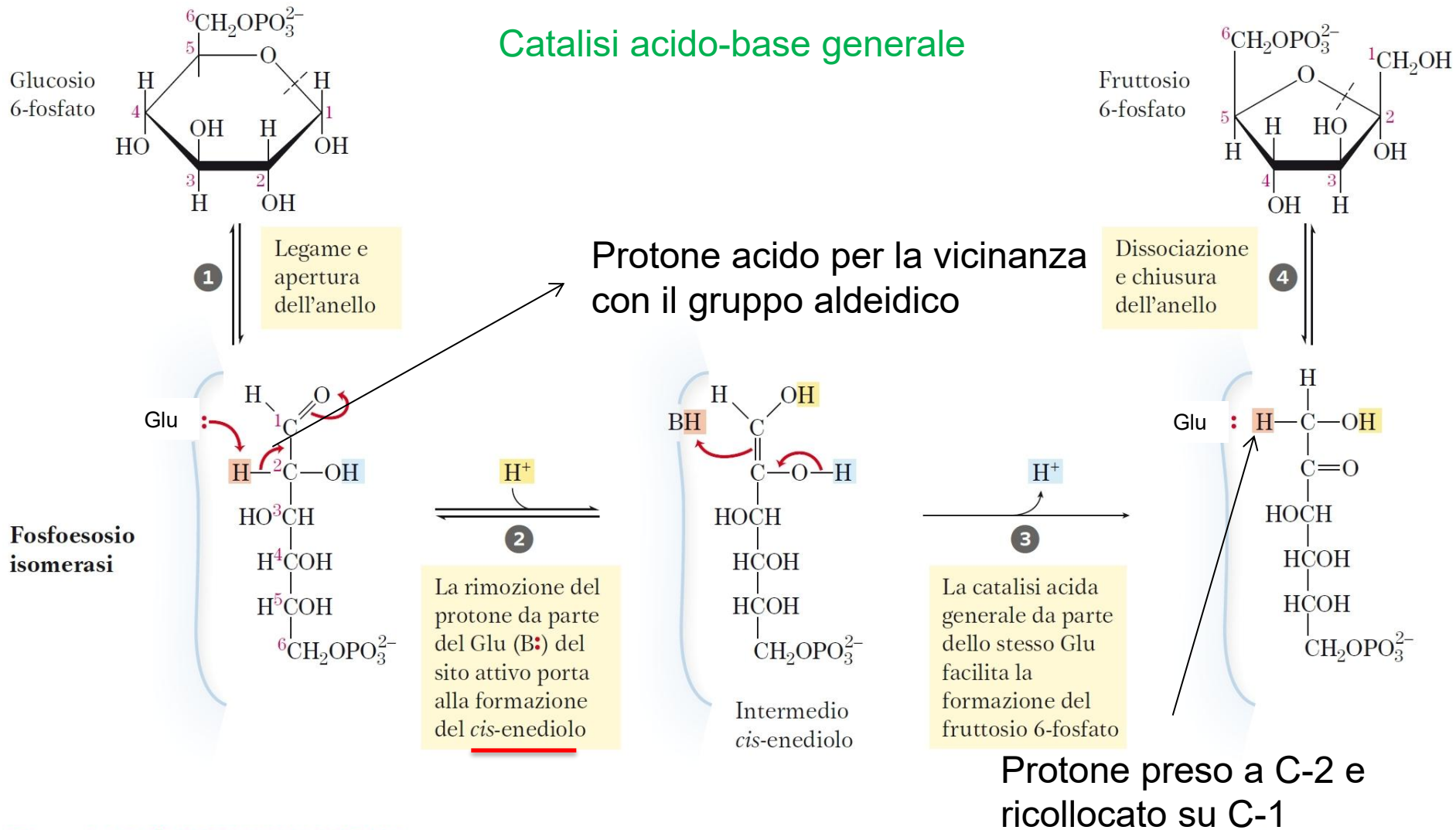


**Fructose-6-phosphate (F6P)**

$$\Delta G'^{\circ} = -1,7 \text{ kJ/mole}$$

Isomerizzazione di un aldoso in un chetoso

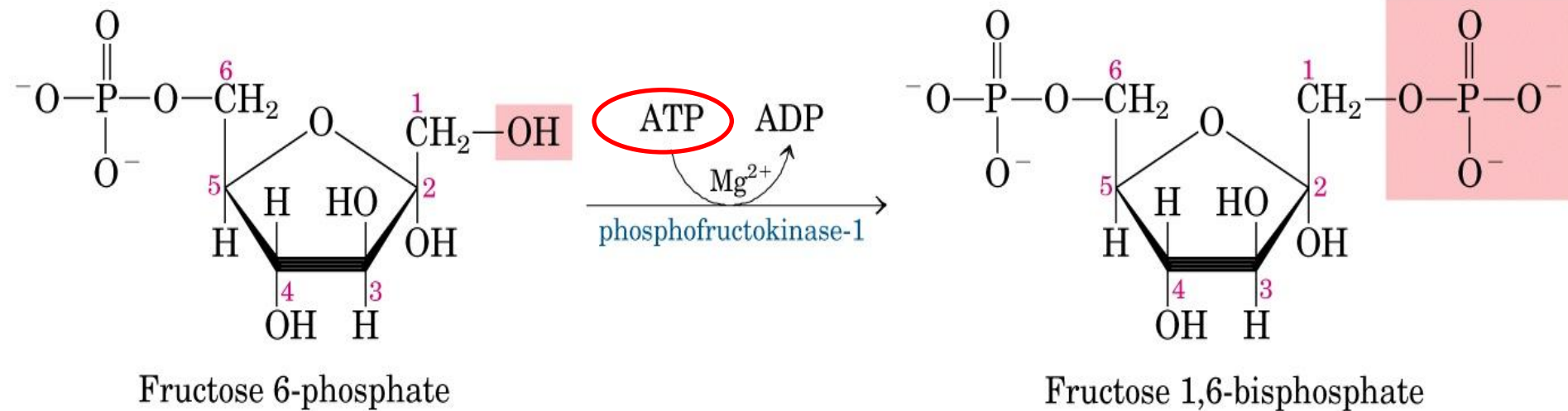
## Catalisi acido-base generale



**Figura 14.5** **MECCANISMO D'AZIONE** La reazione catalizzata dalla fosfoesiosio isomerasi. Le reazioni di apertura e chiusura dell'anello (passaggi da **1** a **4**) sono catalizzate da un residuo di His posto sul sito attivo, tramite meccanismi che sono stati omessi per semplicità. Il protone (in rosa) inizialmente in C-2 è reso più facilmente rimuovibile per la vicinanza del gruppo

carbonilico adiacente e del gruppo ossidrilico. Dopo essere stato trasferito dal C-2 al Glu del sito attivo (un acido debole), il protone si scambia liberamente con la soluzione circostante; pertanto, il protone rimosso dal C-2 nella tappa **2** non è necessariamente lo stesso che viene aggiunto in C-1 nella tappa **3**.

3) il **fruttosio-6-fosfato** viene nuovamente fosforilato (a spese di una nuova molecola di ATP) sul C-1 divenendo **fruttosio-1,6-bisfosfato** ad opera della **fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)**.



$$\Delta G'^{\circ} = -14.2 \text{ kJ/mol}$$

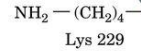
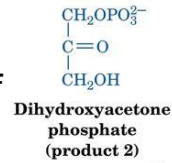
Meccanismo analogo a quello dell' ESOCINASI (tappa 1)



# L'ALDOLASI catalizza una **scissione aldolica** (l'inverso della condensazione aldolica)

## TAPPA 5:

Idrolisi della base di Schiff e liberazione del DHAP

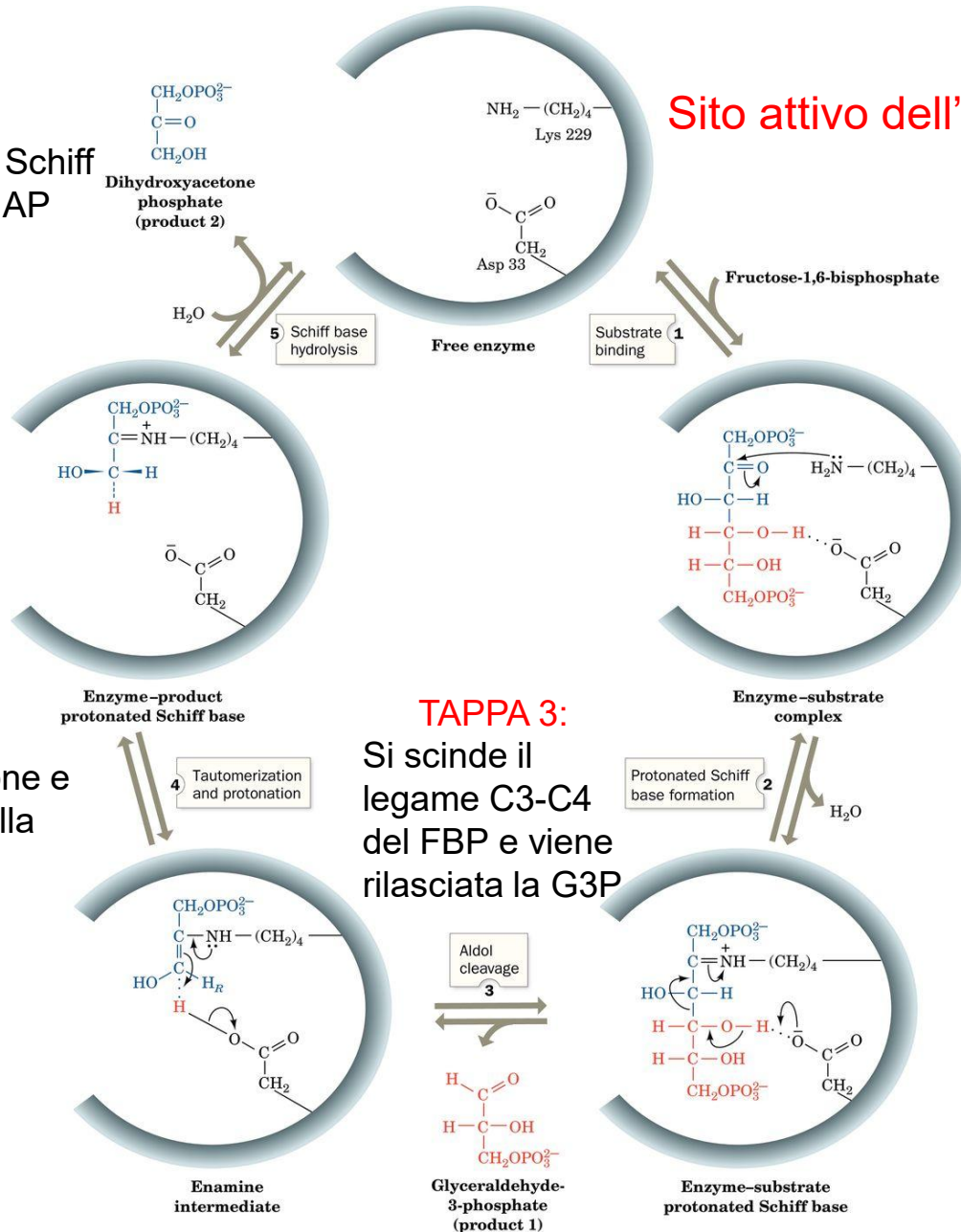


## Sito attivo dell'Aldolasi libera



## TAPPA 1:

Il substrato **FBP** si lega all'enzima



## TAPPA 4:

Avviene la protonazione e tautomerizzazione della base di Schiff

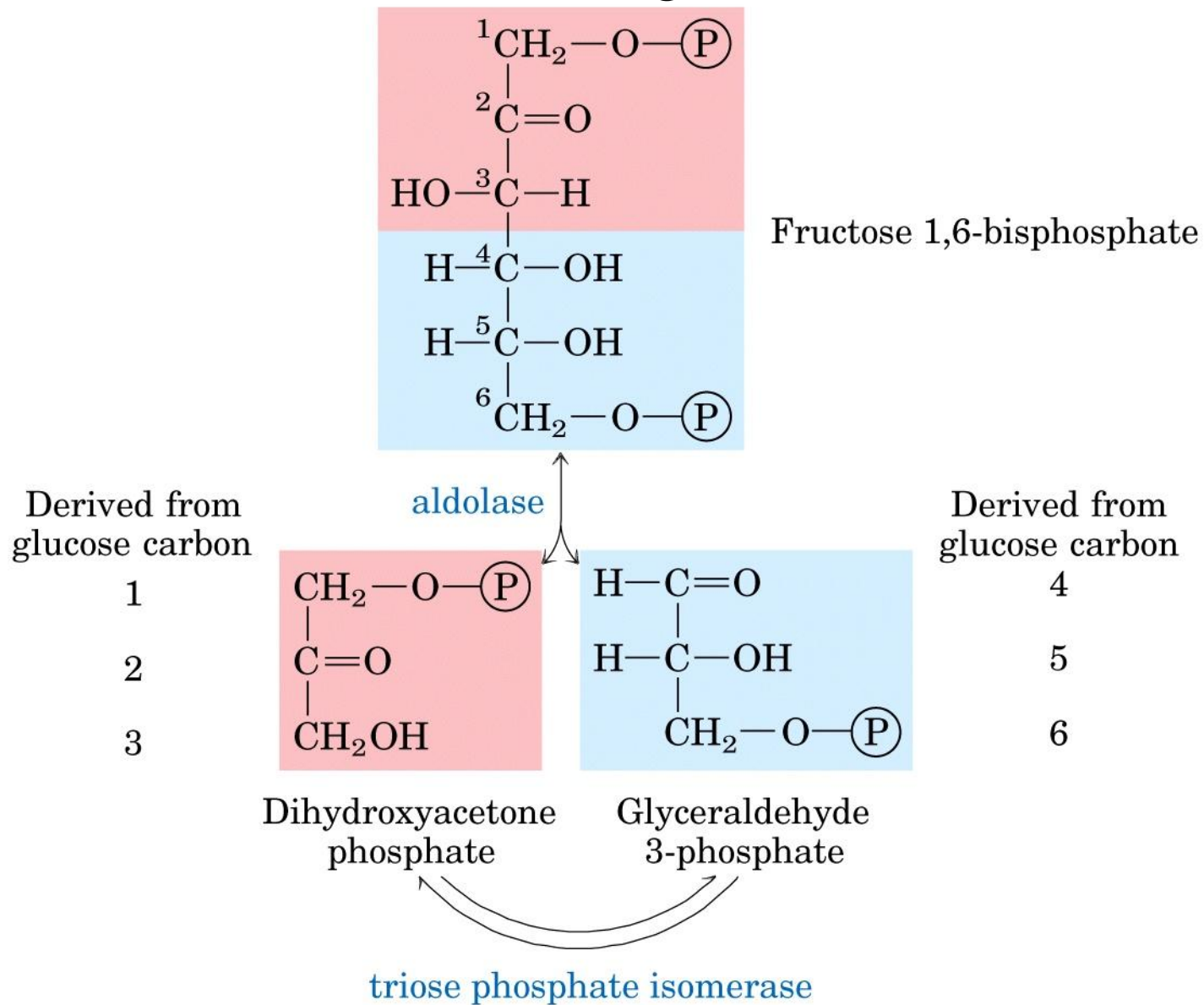
## TAPPA 3:

Si scinde il legame C3-C4 del FBP e viene rilasciata la G3P

## TAPPA 2:

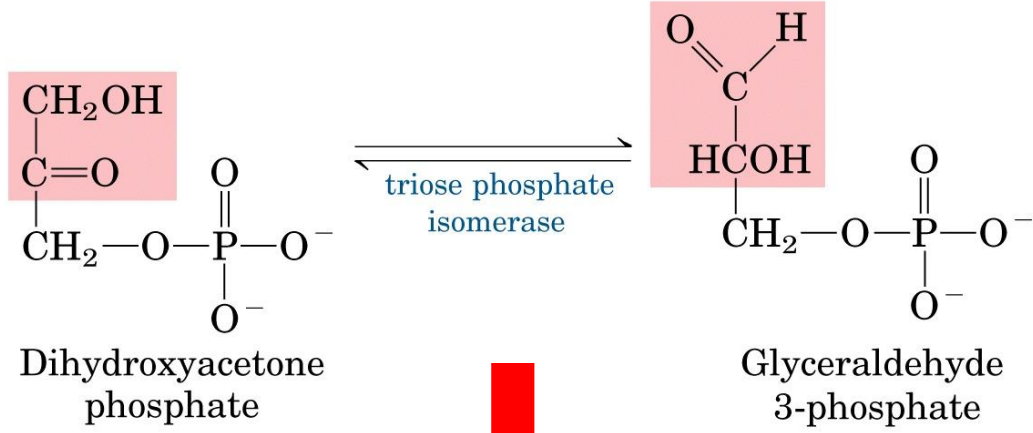
Il gruppo carbonilico del FBP reagisce con una lisina del sito attivo per formare una base di Schiff protonata

# Cambia la numerazione degli atomi i C

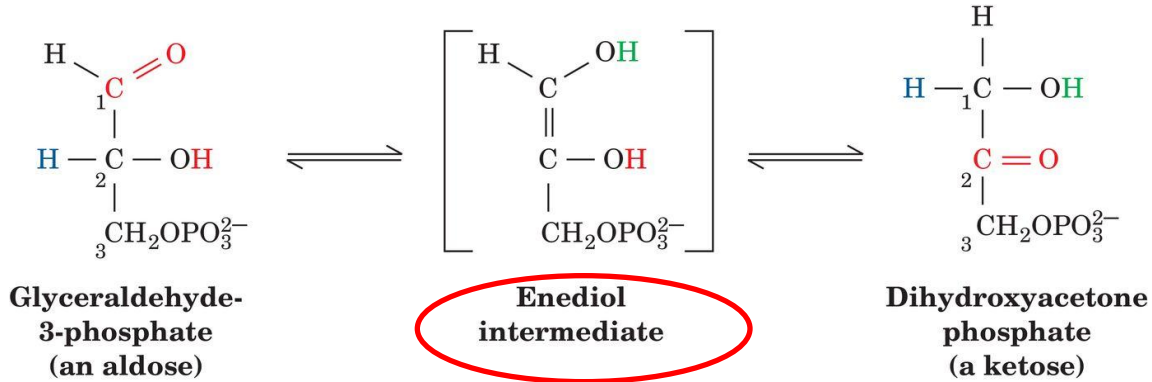


(a)

5) Solo la molecola di gliceraldeide-3-fosfato viene consumata nella reazione successiva. La **trioso fosfato isomerasi (TIM)** trasforma tutto l'altro trioso (il **diidrossiacetone P**) in **gliceraldeide-3-fosfato**

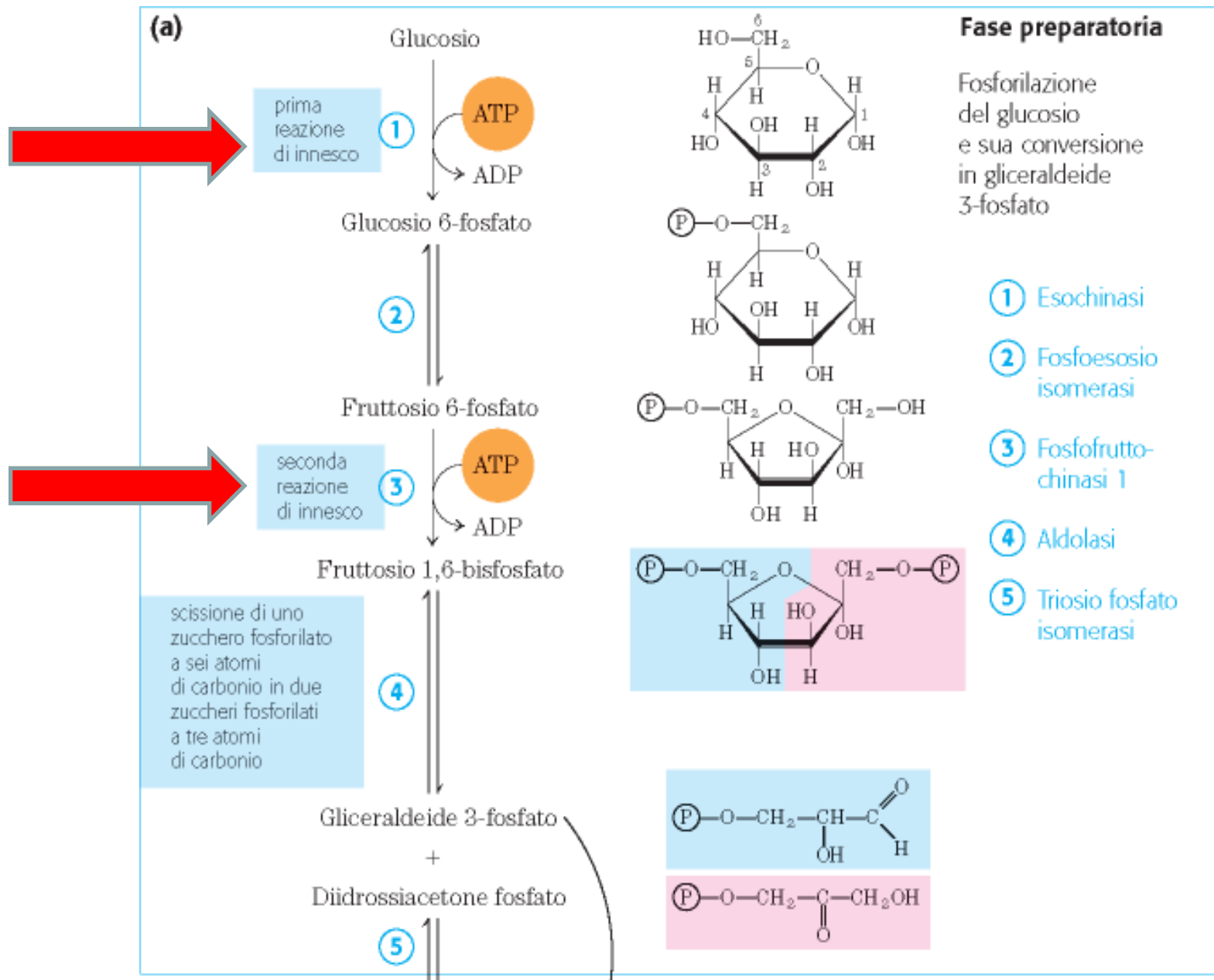


$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$



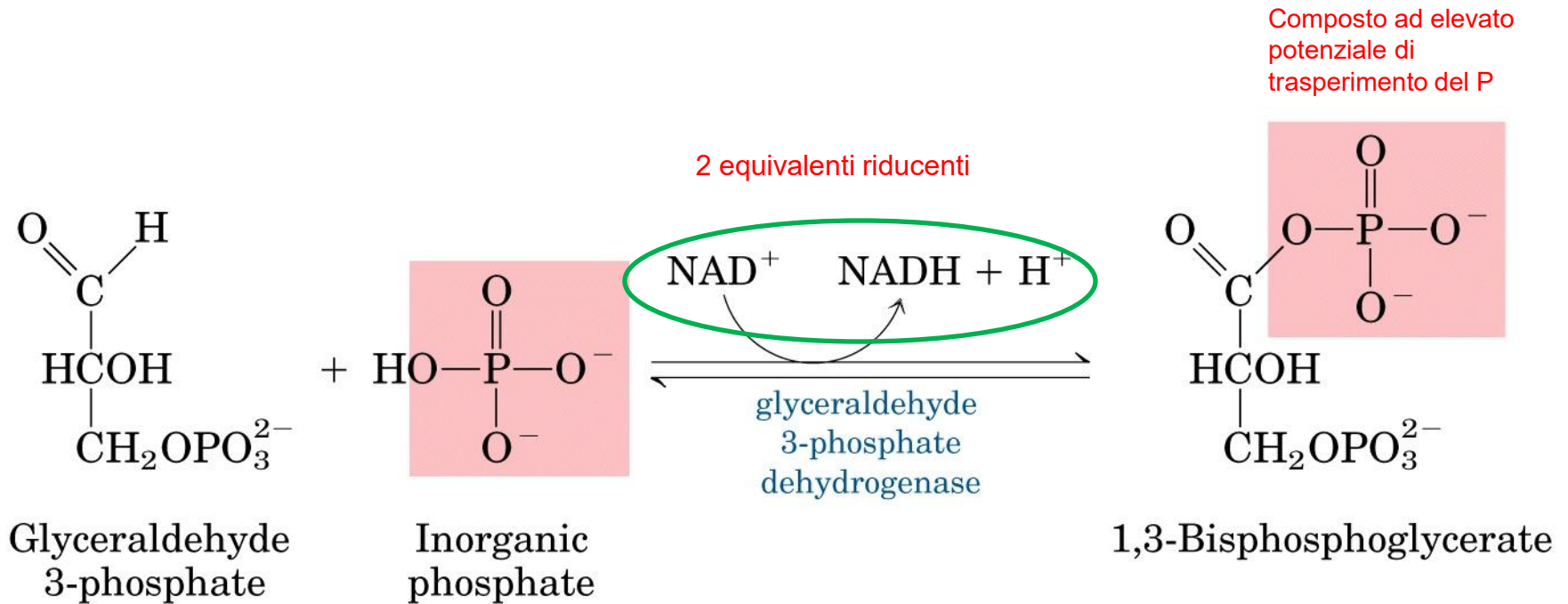
da qui la glicolisi procede con stechiometria raddoppiata

# Fine della fase di investimento energetico



**TAPPA 6: ossidazione e fosforilazione della gliceraldeide-3-fosfato in 1,3-bisfosfoglicerato** questa tappa è la prima delle due reazioni durante le quali avviene la conservazione dell'energia prodotta con la glicolisi.

Il gruppo aldeidico della gliceraldeide viene deidrogenato (ossidato) ad acile formando con il fosfato un'anidride mista.



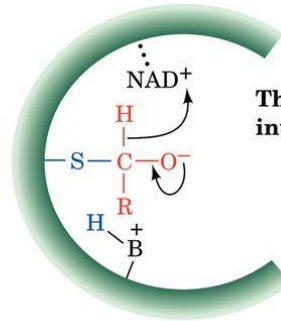
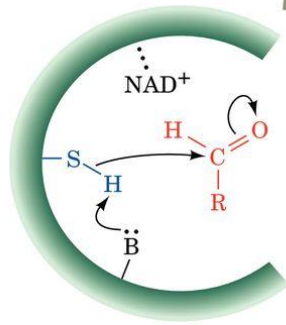
$$\Delta G'^{\circ} = 6.3 \text{ kJ/mol}$$

# Process Diagram: GAPDH Mechanism

## TAPPA 2:

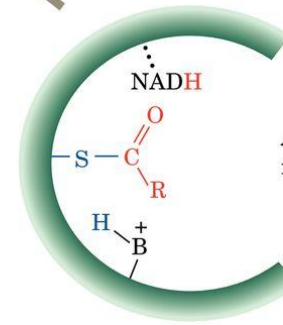
Il gruppo sulfidrilico fa un attacco nucleofilo sull'aldeide formando il **tioemiacetale**

Active site thiol addition **2**



Thiohemiacetal intermediate

**3** Dehydrogenation (oxidation)



Acyl thioester intermediate

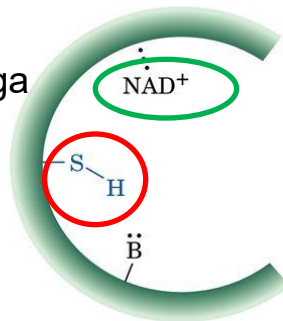
**4** Phosphate binding

Substrate binding **1**

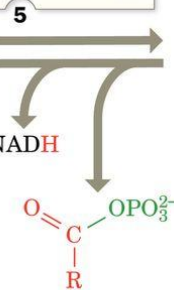
GAP

## TAPPA 1:

Il substrato G3P si lega all'enzima



Product release and NADH/NAD<sup>+</sup> exchange



1,3-Bisphosphoglycerate (1,3-BPG)

## TAPPA 3:

il tioemiacetale viene ossidato ad **acil-tioestere** mediante il trasferimento di uno ione IDRURO al NAD<sup>+</sup> (energia conservata)

## TAPPA 4:

Legame del Pi

## TAPPA 5:

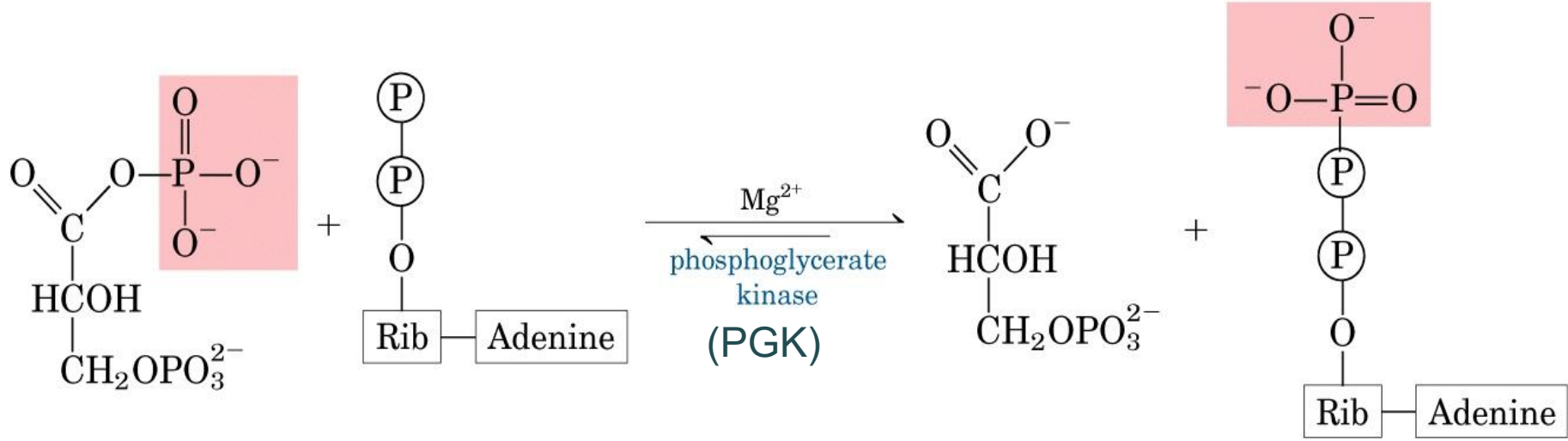
Il NADH viene sostituito dal NAD<sup>+</sup>

## TAPPA 5:

L'intermedio tioestere subisce un attacco nucleofilo da parte del Pi formando l'**anidride mista** 1-3BPG



# TAPPA 7: Fosforilazione a livello del substrato: ADP riceve un fosfato da un intermedio metabolico



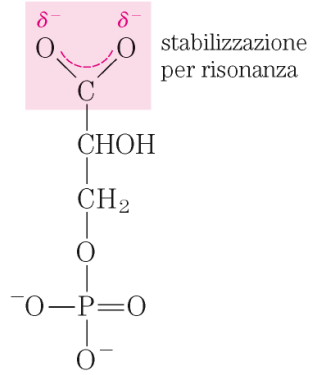
1,3-Bisphosphoglycerate (1,3-BPG)

ADP

3-Phosphoglycerate (3-PG)

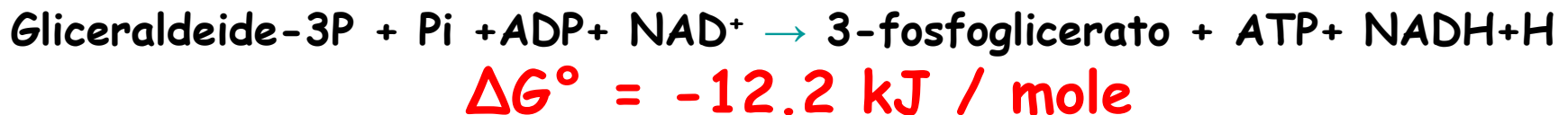
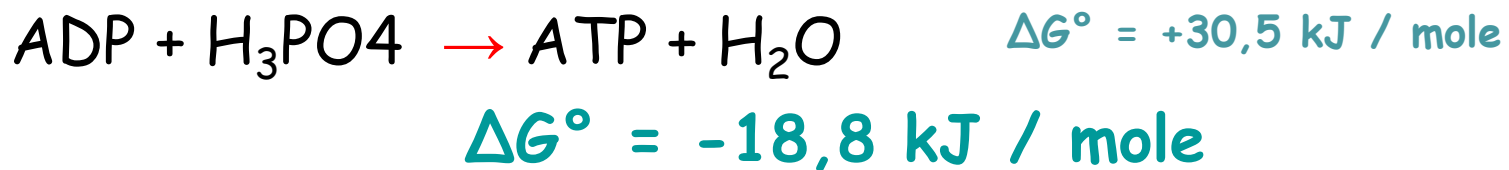
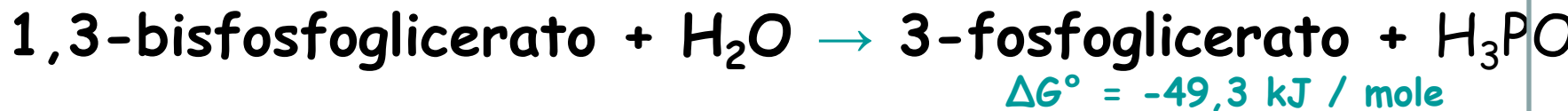
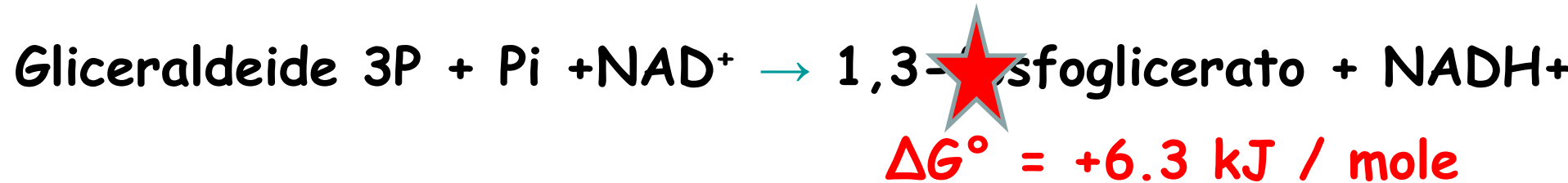
ATP

$\Delta G'^{\circ} = -18.5 \text{ kJ/mol}$

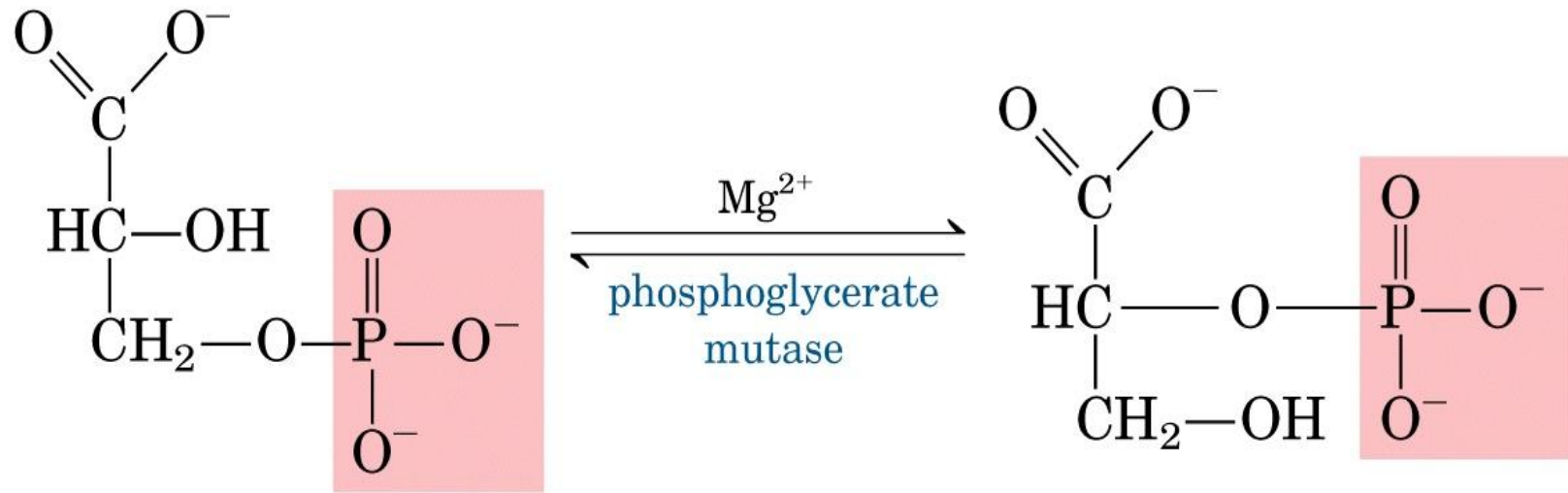


3-Fosfoglicerato

Le reazioni catalizzate dalla gliceraldeide 3-P deidrogenasi e fosfoglicerocinasi sono accoppiate (tappa 6 e 7):



**TAPPA 8: La fosfoglicerato mutasi catalizza lo scambio reversibile del gruppo fosfato tra C-2 e C-3 del glicerato...**



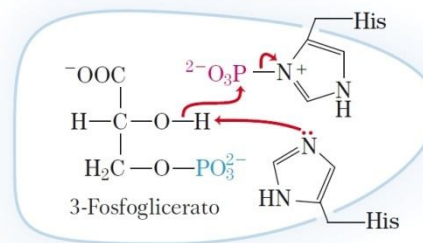
3-Phosphoglycerate

2-Phosphoglycerate

$$\Delta G'^{\circ} = 4.4 \text{ kJ/mol}$$

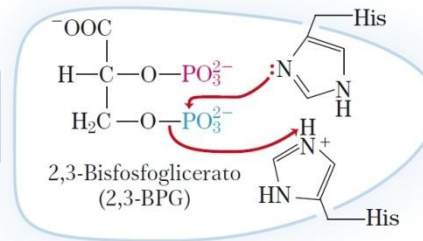
...attraverso una reazione a due tappe

Fosfoglicerato mutasi



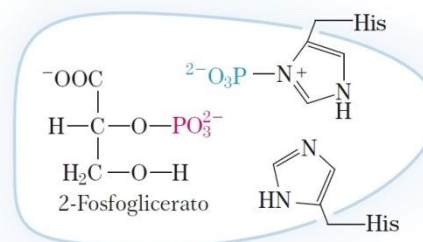
L'enzima ha nel sito attivo due His di cui una **His fosforilata**

**1** Il gruppo fosforico è trasferito da un residuo di His del sito attivo al C-2 (OH) del substrato. Un secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore basico generale.



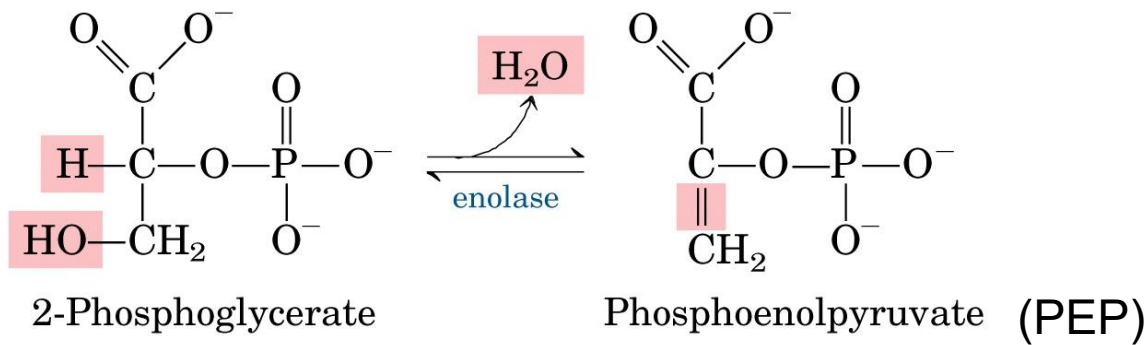
Intermedio bisfosforilato

**2** Il gruppo fosforico è trasferito dal C-3 del substrato al primo residuo di His del sito attivo. Il secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore acido generale.



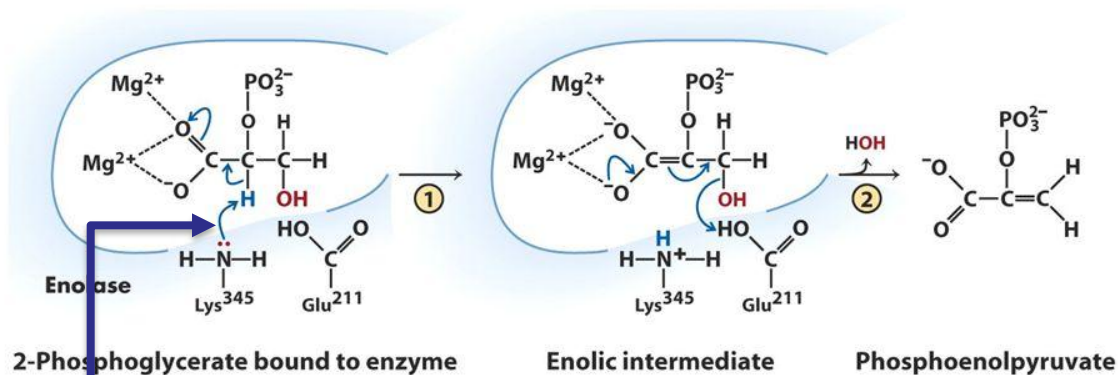
**Figura 14.9** **MECCANISMO D'AZIONE** La reazione della fosfoglicerato mutasi.

# TAPPA 9: L'ENOLASI forma il secondo intermedio ad ALTA ENERGIA

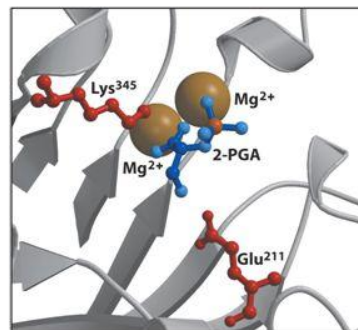


7.5 kJ/mol

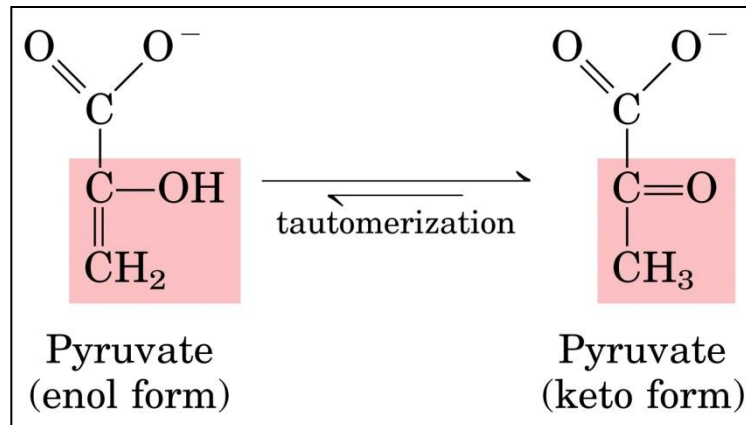
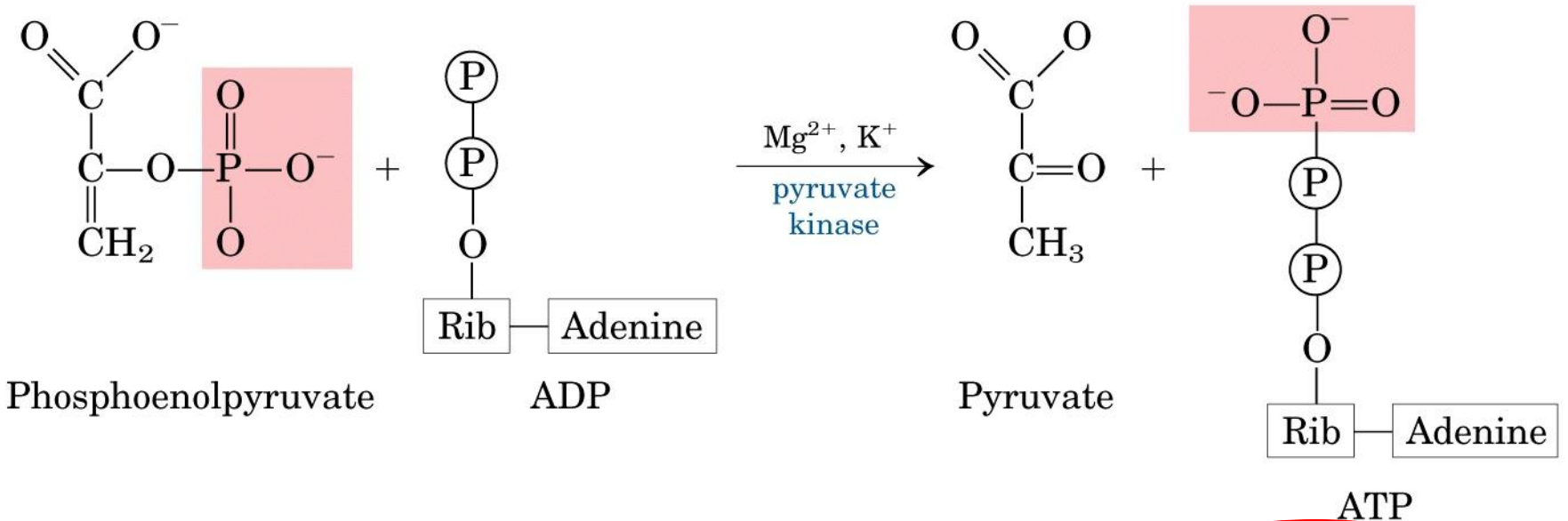
## Enolase Mechanism



L'enolasi richiede 2 ioni Mg che abbassano il pKa del protone in C-2 rendendolo più facile l'eliminazione



# TAPPA 10: Seconda Fosforilazione a livello del substrato: ADP riceve un fosfato da un intermedio metabolico



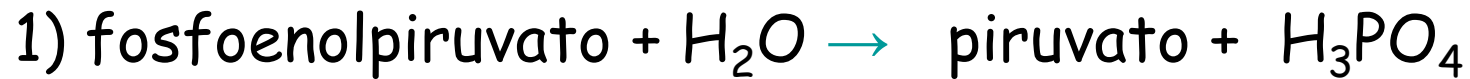
$$\Delta G'^{\circ} = -31.4 \text{ kJ/mol}$$

Fortemente esoergonica

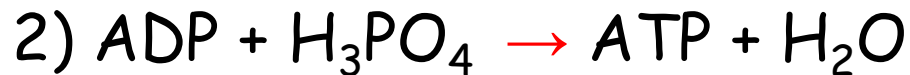
## PIRUVATO CHINASI



$$\Delta G^\circ = -31,4 \text{ kJ / mole}$$

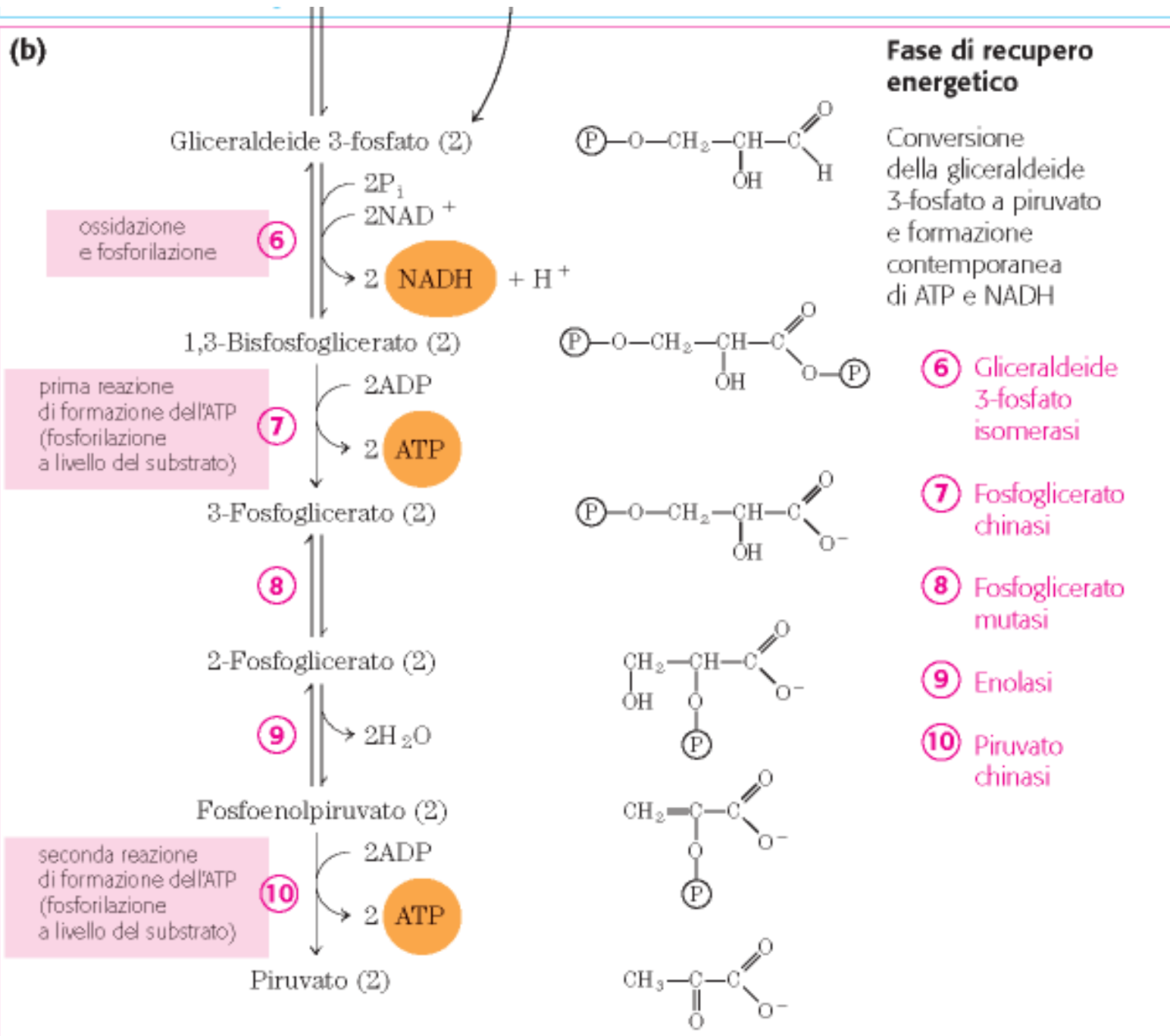


$$\Delta G^\circ = -61,9 \text{ kJ / mole}$$

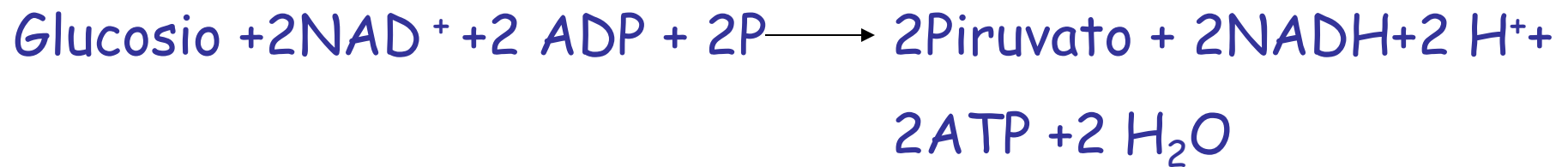
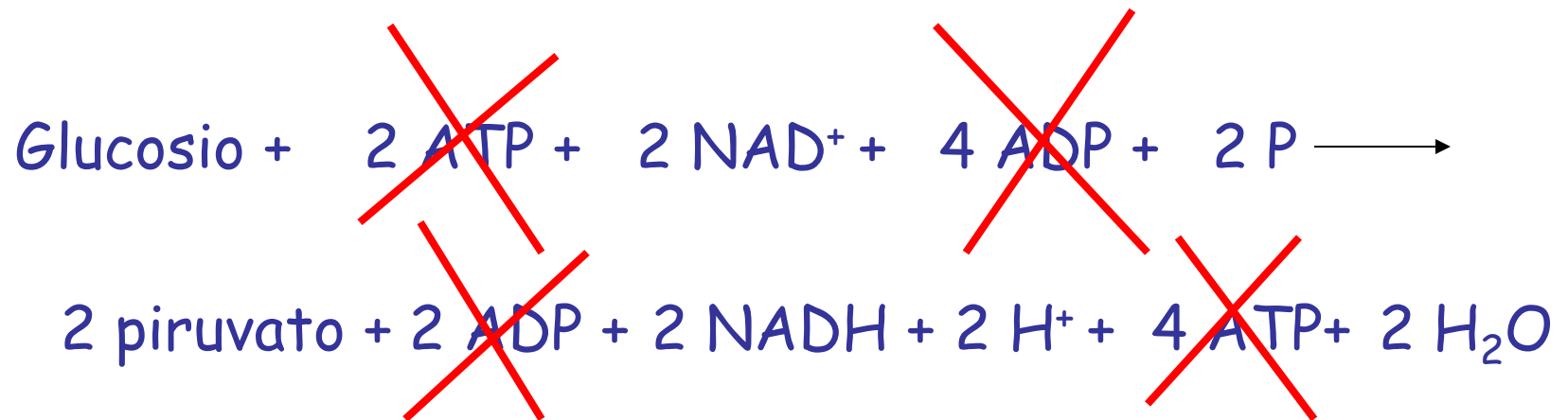


$$\Delta G^\circ = +30,5 \text{ kJ / mole}$$

(b)



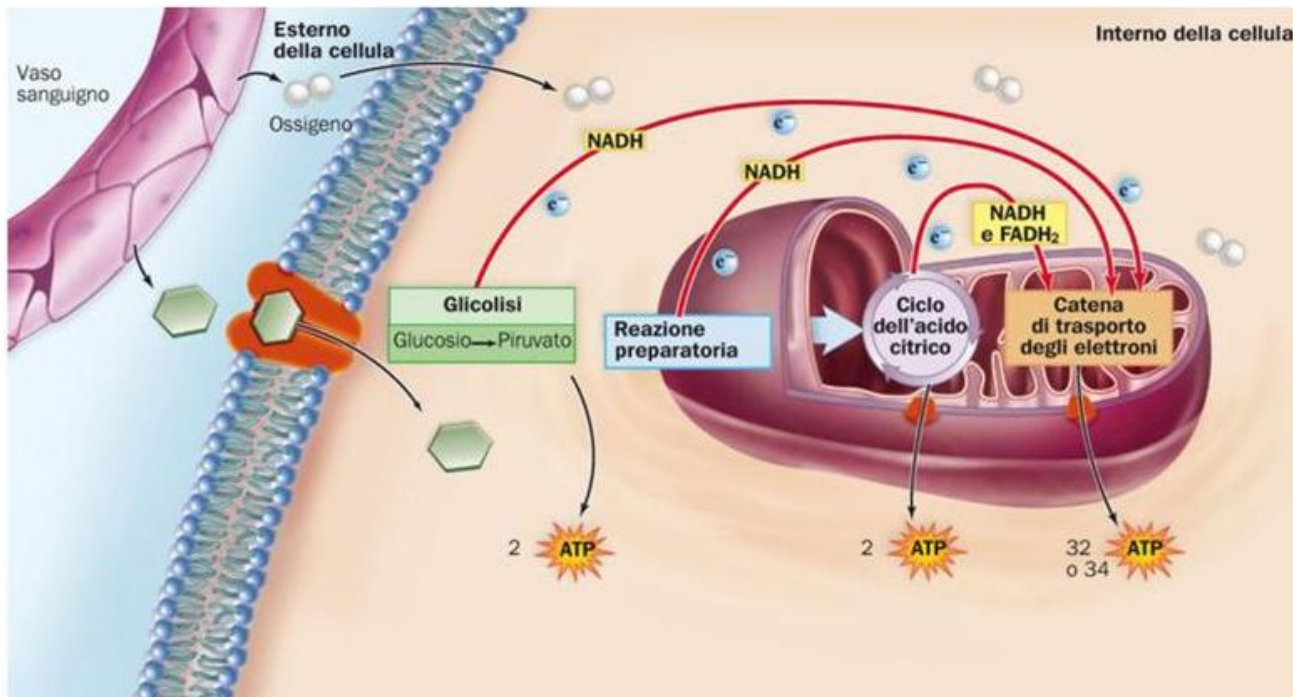
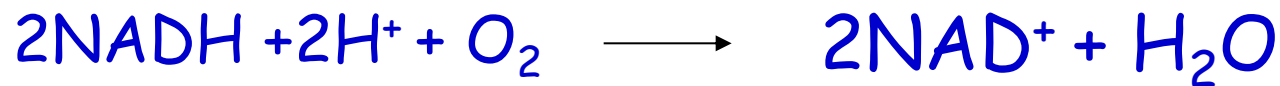
# Bilancio della glicolisi

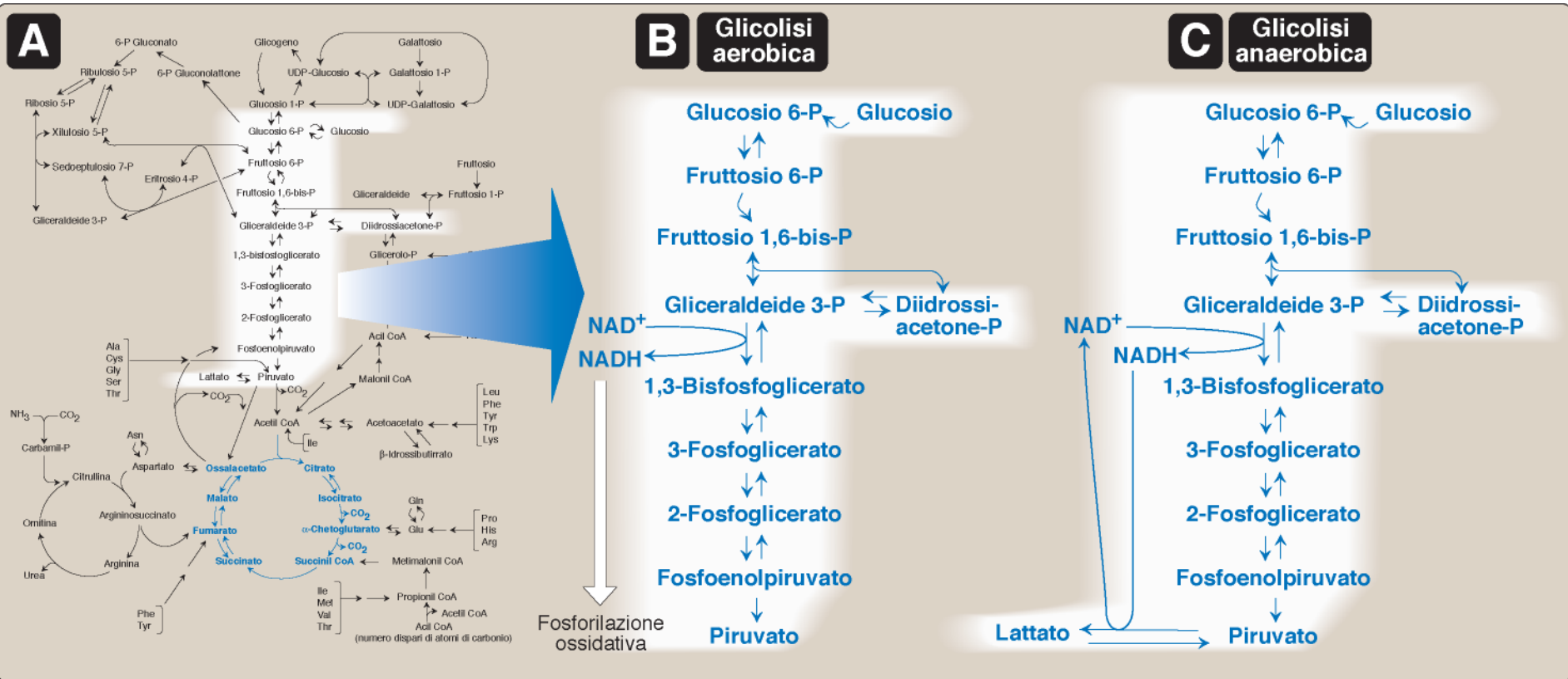


**-85kJ/mole**

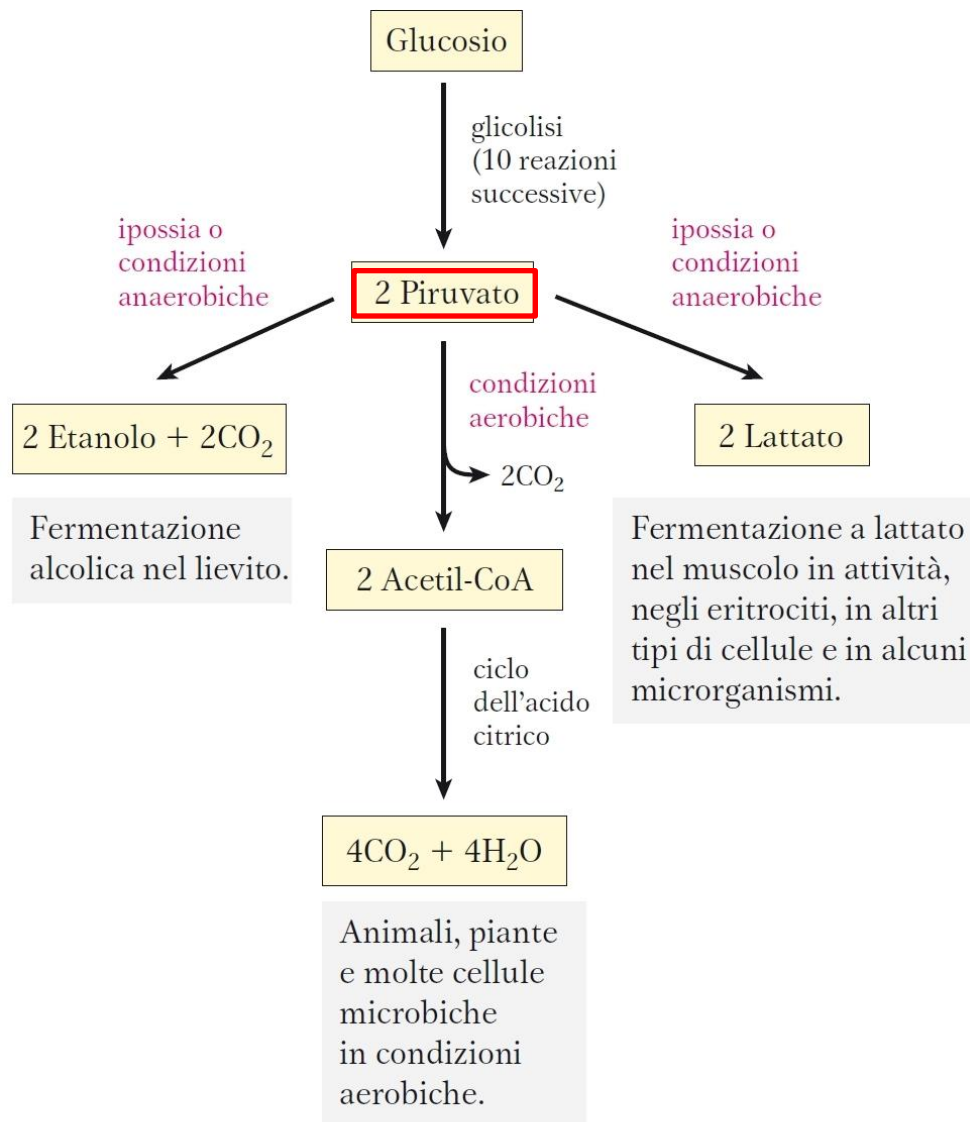
Le 2 molecole di **NADH** che si formano nel citosol durante la glicolisi sono **riossidate** in **condizioni aerobiche** mediante il trasferimento dei loro elettroni alla **catena respiratoria** che è localizzata nei mitocondri.

L'accettore ultimo degli elettroni è l'ossigeno:





P. Champe, R. Harvey, D. R. Ferrier, LE BASI DELLA BIOCHIMICA, Zanichelli Editore S.p.A. Copyright © 2006



**Figura 14.4** I tre possibili destini catabolici del piruvato formato nella glicolisi. Il piruvato serve anche come precursore in molte reazioni anaboliche, non riportate nella figura.

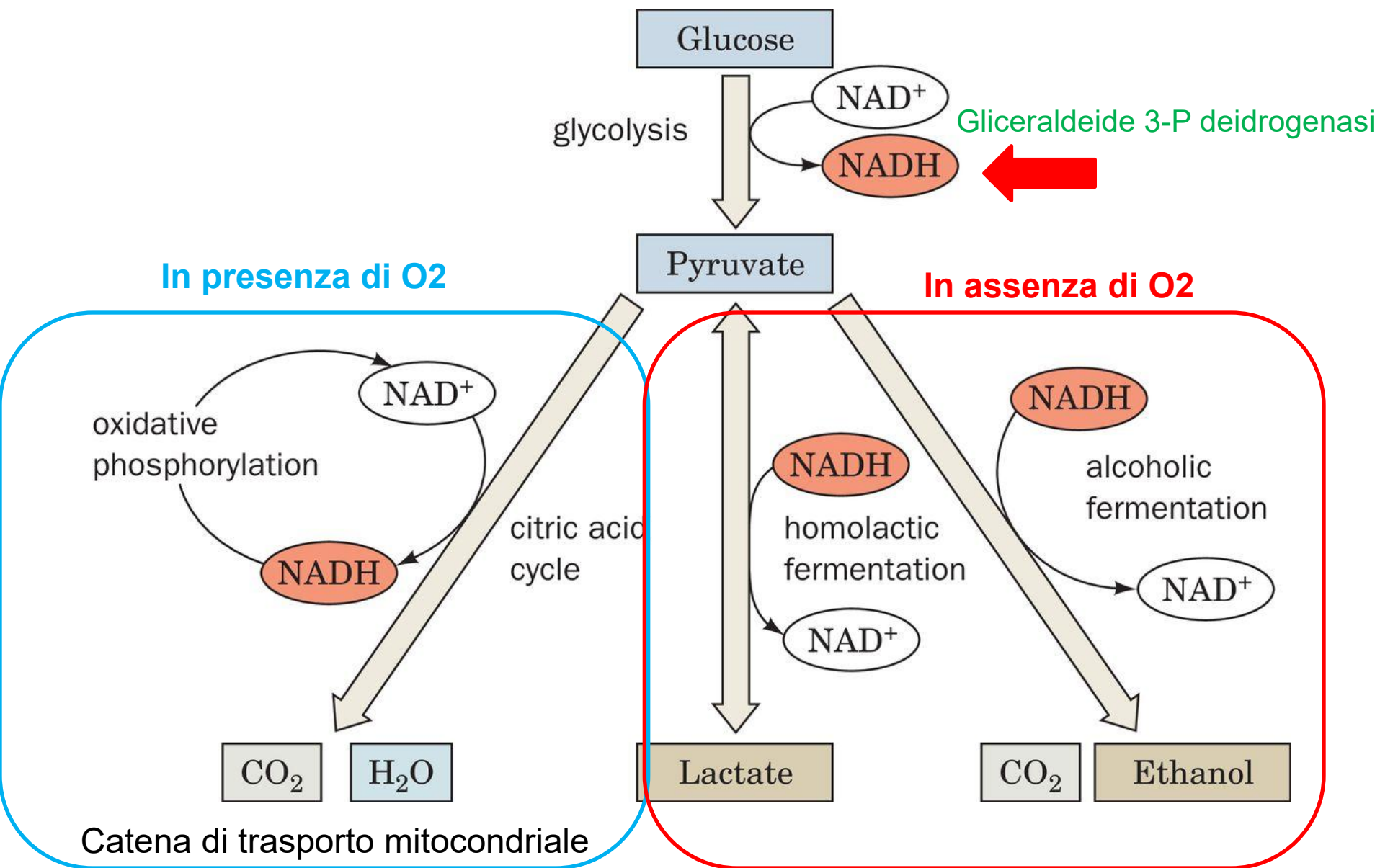
# Chapter 15

## Fermentation: The Anaerobic Fate of Pyruvate

### Key Concepts 15.3

- NADH, a substrate for the GAPDH reaction, must be reoxidized for glycolysis to continue.
- In muscle, pyruvate is reduced to lactate to regenerate  $\text{NAD}^+$ .
- Yeast decarboxylates pyruvate to produce  $\text{CO}_2$  and ethanol, in a process that requires the cofactor TPP.

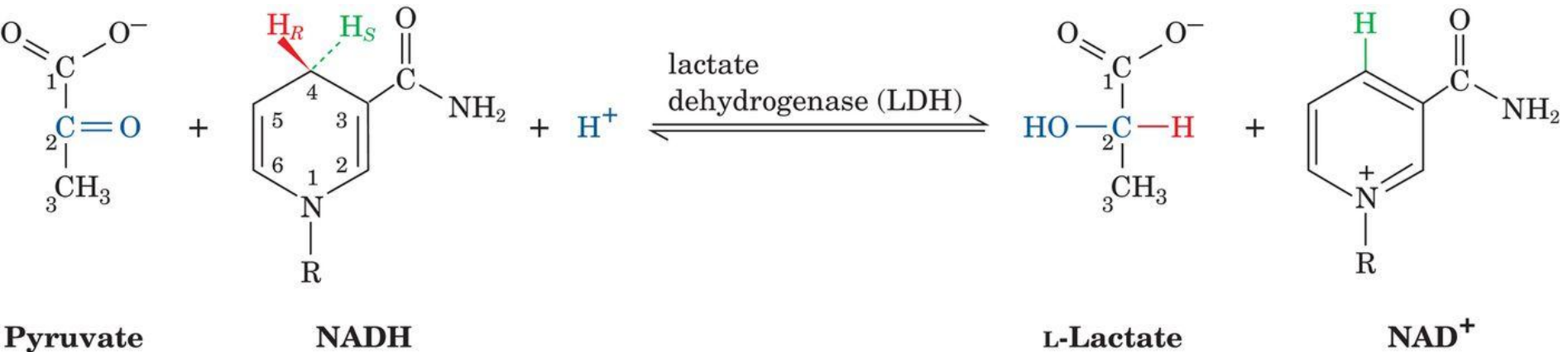
# Metabolic Fate of Pyruvate



# Homolactic Fermentation

Nei MUSCOLI in attività, o nelle cellule con pochi mitocondri come ERITROCITI, quando la domanda di ATP è elevata e l'ossigeno scarseggia, l'ATP è ottenuto tramite la glicolisi anaerobia-

La **LATTATO DEIDROGENASI** catalizza l'ossidazione del NADH producendo NAD<sup>+</sup> e lattato-



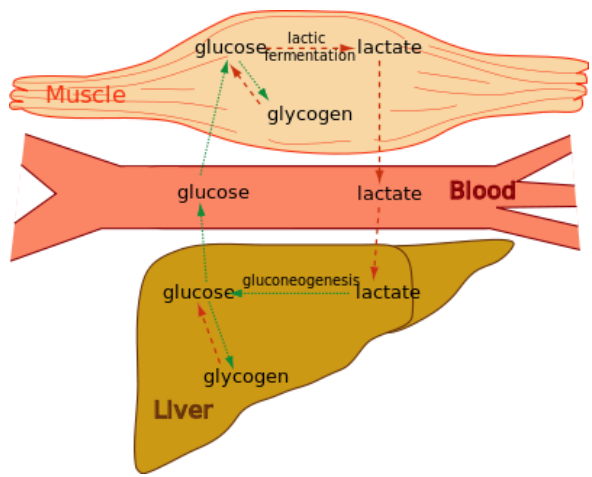
Il lattato può essere trasferito fuori alla cellula  
Portato al fegato e convertito in glucosio

Isoenzimi della Lattato deidrogenasi

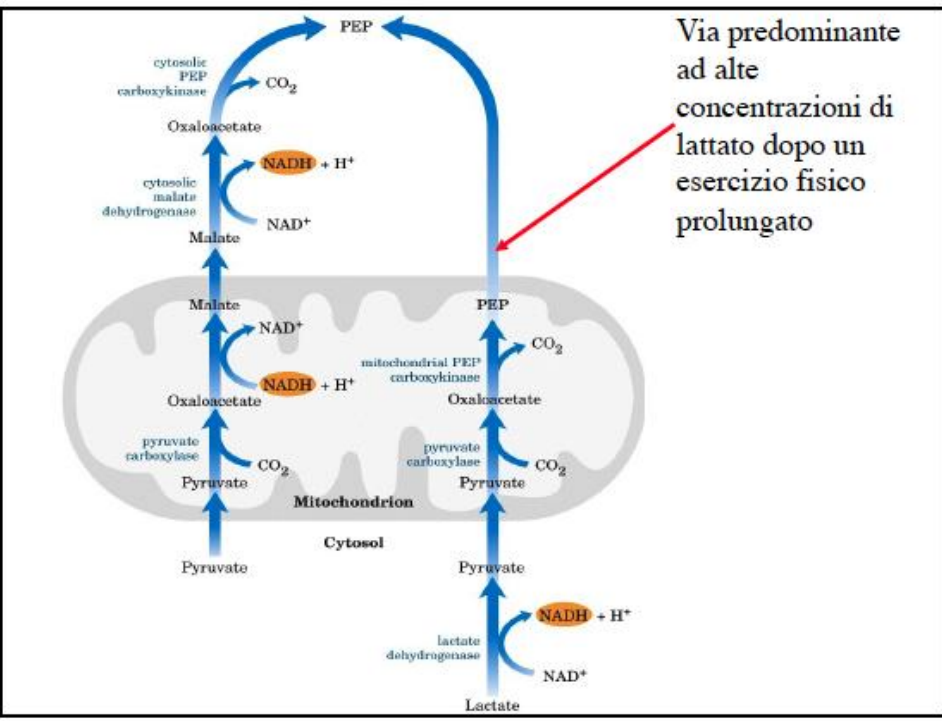
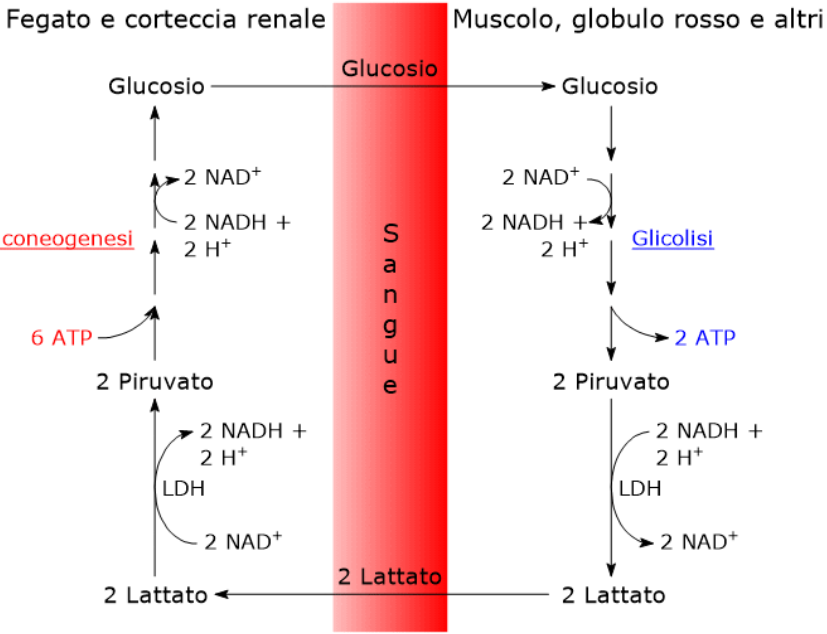
Tipo	Composizione	Tessuto in cui la forma è prevalente
LDH <sub>1</sub>	HHHH	Cuore
LDH <sub>2</sub>	HHHM	Cervello, globulo rosso
LDH <sub>3</sub>	HHMM	Cervello
LDH <sub>4</sub>	HMMM	
LDH <sub>5</sub>	MMMM	Muscolo, fegato

# Ciclo di Cori

Il lattato viene trasportato al di fuori della cellula muscolare per essere immesso nel circolo sanguigno e quindi essere inviato al fegato. Nel fegato il lattato viene riossidato dalla L-lattato deidrogenasi a piruvato, che, a sua volta, viene convertito, mediante gluconeogenesi, in glucosio.



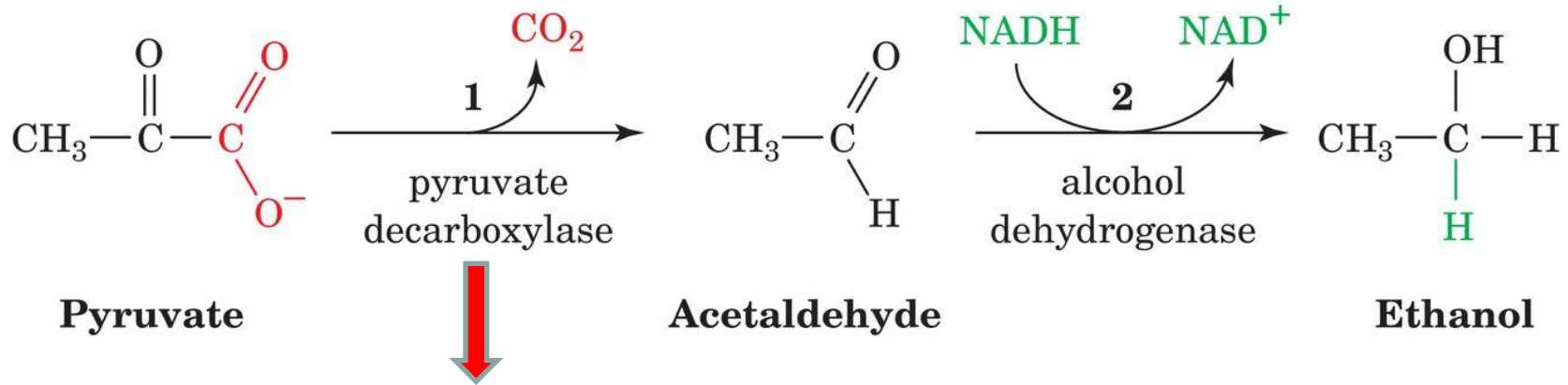
Lo svantaggio è dato dal fatto che lo ione lattato è un catabolita tossico per la cellula perché la sua produzione porta all'acidosi lattica nei muscoli. Ciò può diminuire l'efficienza dei sistemi tampone nel sangue e affaticamento fisico poiché l'aumento dell'acidità nei tessuti inibisce parzialmente le reazioni di energetica muscolare causando appunto la sensazione di fatica che porta a una riduzione fino alla cessazione dell'attività motoria. La risposta immediata è l'iperventilazione che fa diminuire l'acidità dell'organismo provocando però un 'debito di ossigeno'.



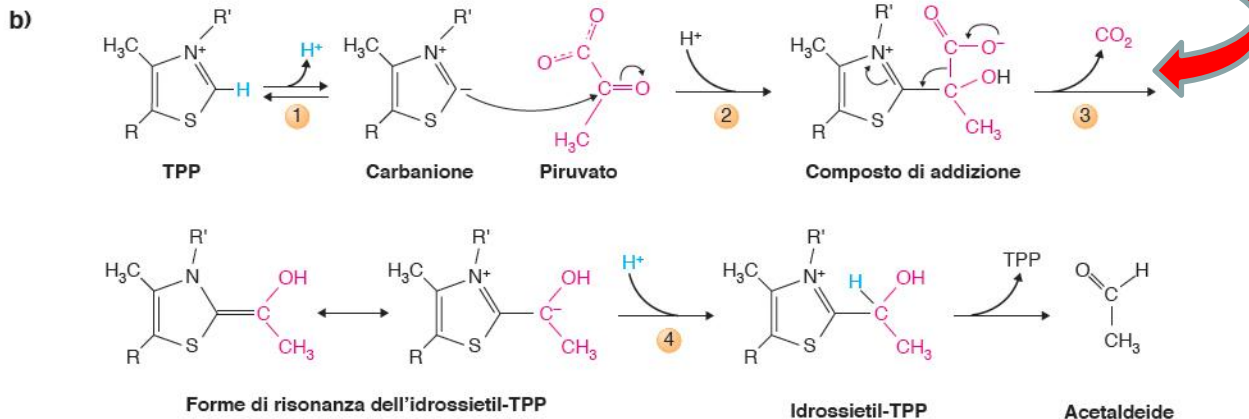


# Reactions of Alcoholic Fermentation

Nei LIEVITI >> VINI e PANE



Usa come coenzima la TPP (anello tiazolico reattivo)



▲ FIGURA 12.12

Tiamina pirofosfato (TPP). (a) Struttura del cofattore e (b) sua azione nella reazione di decarbossilazione ad opera della piruvato decarbossilasi. La TPP fa un attacco nucleofilo sul C-2 del piruvato formando un composto di addizione (1 e 2). La presenza di un doppio legame e di un azoto quaternario nell'anello del cofattore favorisce la decarbossilazione (3) con produzione di forme stabilizzate per risonanza dell'idrossietil-TPP. L'ingresso di un protone (4) porta all'idrossietil-TPP che sarà liberato come acetaldeide concludendo il ciclo catalitico.



Per ogni glucosio con la fermentazione si formano 2 molecole di ATP  
con la fosforilazione ossidativa si formano 32 molecole di ATP