

Gluconeogenesi

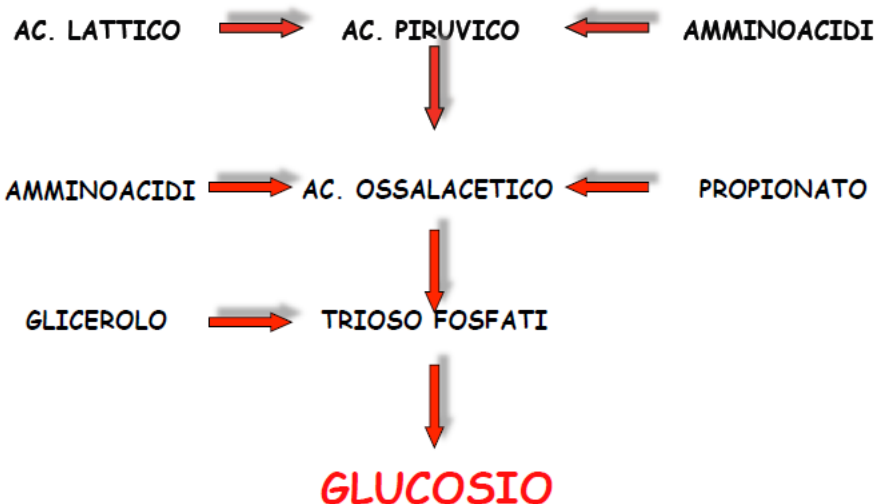
Così come nei catabolismi vi sono delle linee generali, così vale anche per le sintesi:

1. in linea di massima, le vie sintetiche non sono mai esattamente l'ingresso delle vie cataboliche e almeno una tappa sarà regolata da enzimi diversi dal loro catabolismo;
2. Le vie anaboliche e cataboliche corrispondenti sono regolate da enzimi regolatori differenti;
3. Le vie biosintetiche hanno un consumo energetico maggiore di quello che la via di degradazione riesce a recuperare (es. se la glicolisi produce 2ATP, la sintesi di glucosio indubbiamente ne consumerà di più). Tali processi sono, difatti, accoppiati alla demolizione dell'ATP, che li rende irreversibili. La ΔG sarà, pertanto, negativa.

Per gluconeogenesi s'intende una sintesi che non abbia carboidrati come substrati, per esempio la degradazione del glicogeno non si considera sintesi di glucosio.

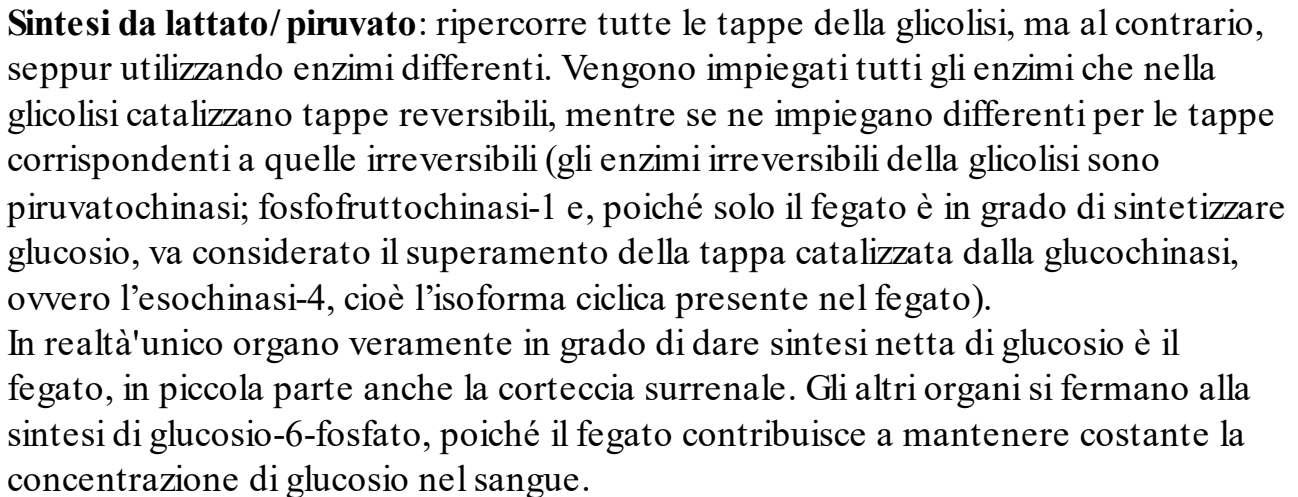
Sono considerati substrati glicogenetici

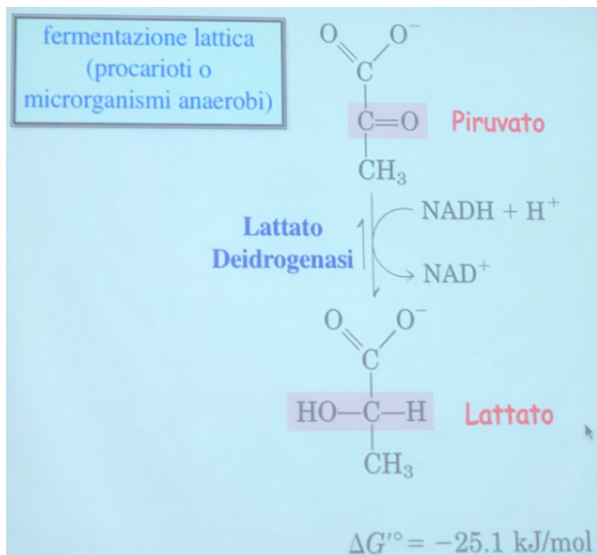
- l'**acido piruvico** (ottenuto da varie fonti);
- l'**ossalacetato** (uno degli intermedi del ciclo di Krebs);
- il propionato (substrato ottenuto dalla degradazione degli acidi grassi a catena dispari);
- i **triossofosfati** (ad es. il fosfoenolpiruvato, un substrato glicogenetico quando la sua sintesi è mitocondriale)
- l'**acido lattico**;
- una serie di amminoacidi (quando degradati, una volta eliminato il gruppo $-NH_2$, posseggono uno scheletro carbonioso, che verrà degradato e diverrà un intermedio per la sintesi del glucosio);
- il **glicerolo** (dalla degradazione dei triacilgliceroli) sarà trasformato dapprima in diidrossiacetonfosfato e poi gliceraldeide-3-fosfato, di modo da entrare nella gluconeogenesi.



Il compartimento cellulare in cui avviene la sintesi è diverso da quello in cui avviene la degradazione (o almeno una parte del metabolismo avverrà in compartimenti

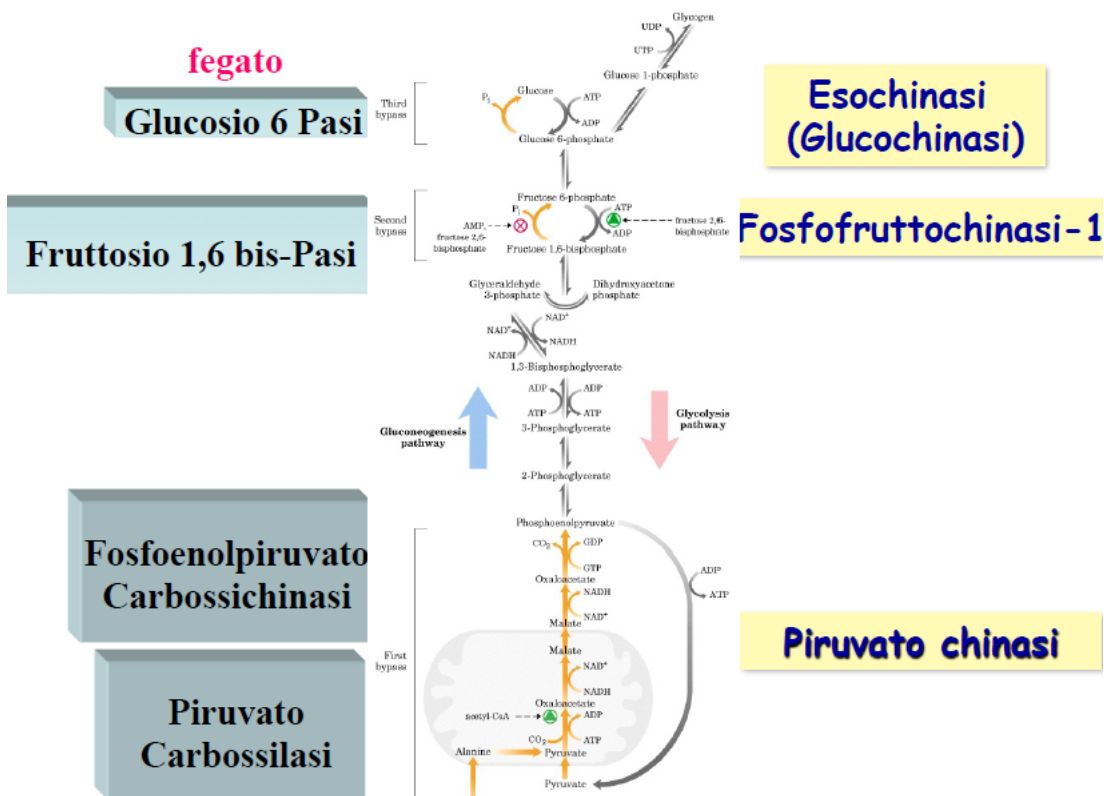
FEGATO
ed in piccola parte nella
CORTECCIA SURRENALE



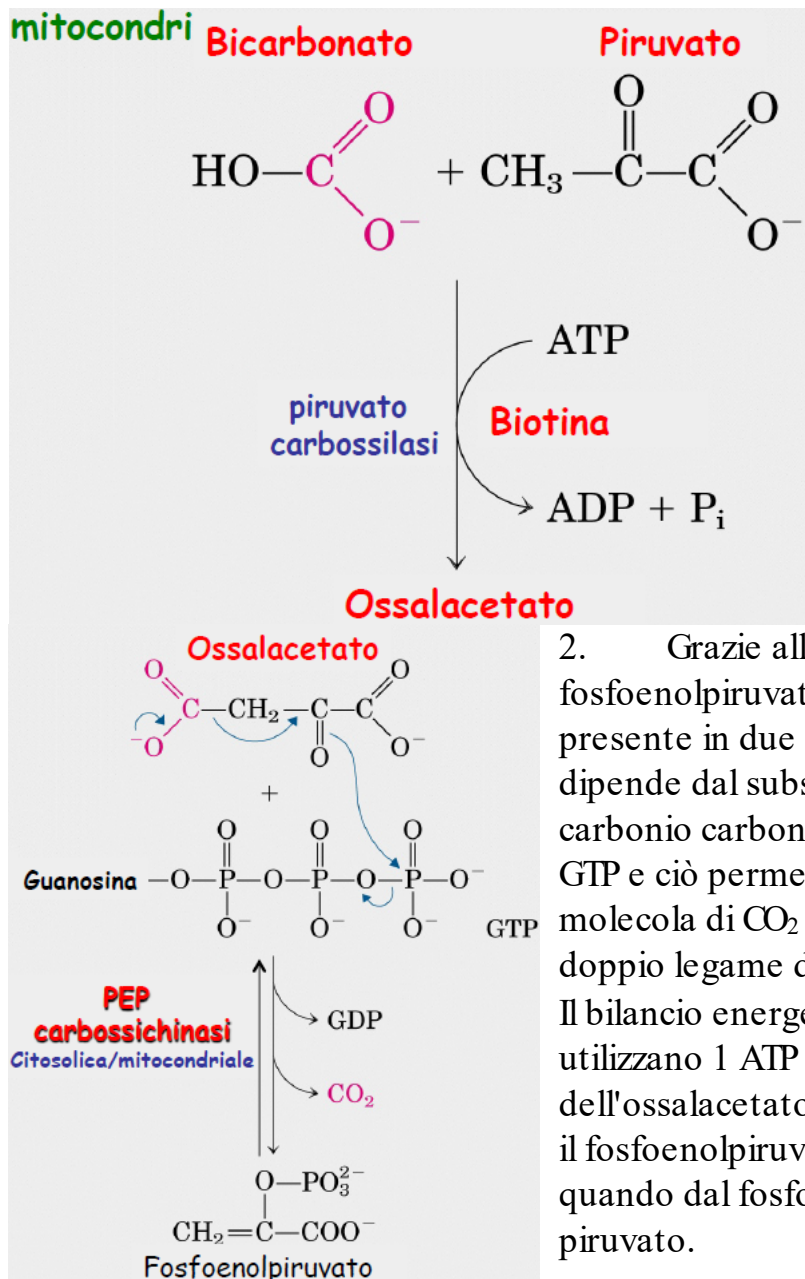


Il piruvato è ottenuto tramite ossidazione del lattato ad opera della **lattatodeidrogenasi**.

La prima tappa porta alla formazione di fosfoenolpiruvato ed è catalizzata da due enzimi, cioè piruvato-carbossilasi (mitocondriale) e la fosfoenolpirvatocarbossichinasi (citoplasmatica). La tappa catalizzata dalla fosfofruttochinasi-1 viene superata utilizzando la fruttosio-1,6 bisfosfatasi. La tappa catalizzata dall'esochinasi-4, nel fegato sarà superata dalla glucosio-6-fosfatasi.



1. Il primo enzima, partendo da piruvato, è la piruvato-carbossilasi, che carbossila (mediante aggiunta di CO_2 e HCO_3^-) una molecola di piruvato formando l'ossalacetato, α -chetoacido dicarbossilico a 4C. Il coenzima delle carbossilazioni è la **biotina**. Questa reazione richiede l'idrolisi di un ATP.

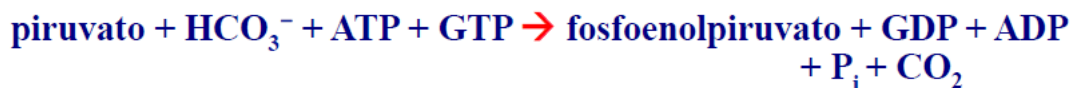


2. Grazie all'azione della fosfoenolpiruvatocarbossichinasi (è presente in due isoforme e l'utilizzo dipende dal substrato di partenza) il C carbonio carbonilico è fosforilato tramite GTP e ciò permette la fuoriuscita di una molecola di CO_2 e la formazione del doppio legame del fosfoenolpiruvato. Il bilancio energetico è negativo, poiché si utilizzano 1 ATP per la sintesi dell'ossalacetato e 1 GTP per sintetizzare il fosfoenolpiruvato. Si guadagna 1 ATP quando dal fosfoenolpiruvato si ottiene il piruvato.

mitocondri

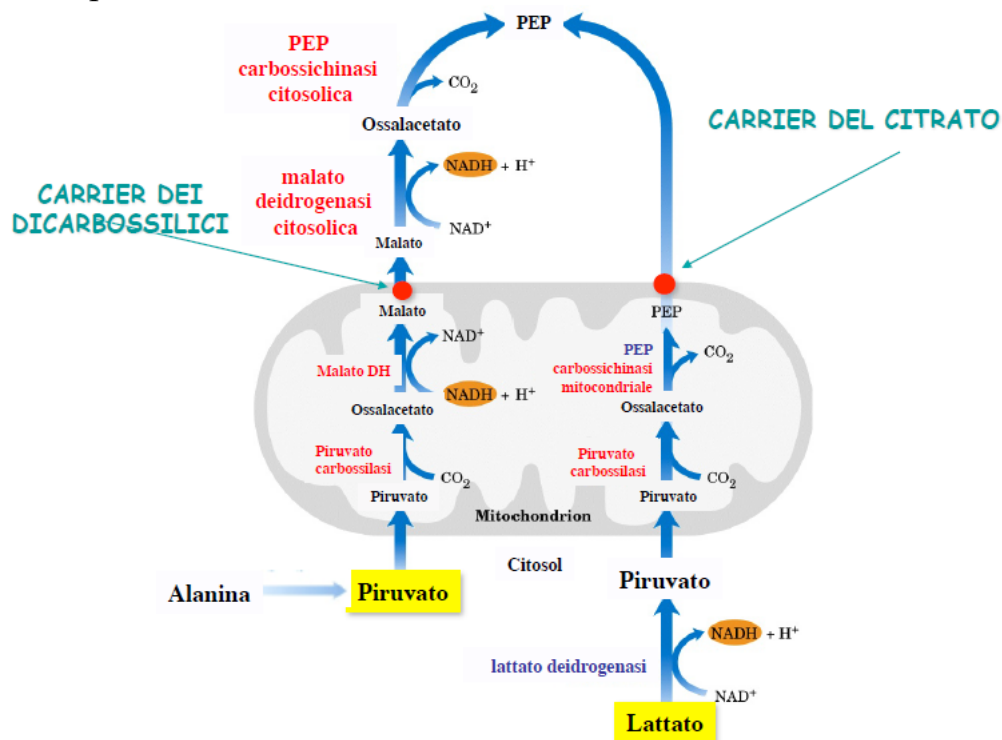


mitocondri/citosol



$$\Delta G^{\circ'} = 0.9 \text{ kJ/mole}$$

3. Fra i tanti substrati, uno dei più comuni, oltre al piruvato, è l'**alanina**, che, attraverso transaminazione, dà facilmente il piruvato, che deve entrare nei mitocondri, dove subisce l'azione della piruvato-carbossilasi, che porta alla sintesi dell'ossalacetato. Questo subisce l'azione della malato-deidrogenasi (mitocondriale e citosolico), enzima reversibile che può catalizzare in entrambe le direzioni. Riducendo l'ossalacetato dà il malato, con corrispondente ossidazione dell'**NADH**.



4. Il malato esce tramite proteine di trasporto nella membrana interna che prende il nome di **carrier degli acidi dicarbossilici** (funziona per differenza di concentrazione, quindi trasporto passivo) e subisce nuovamente l'azione della

malato-deidrogenasi citoplasmatica in direzione opposta: viene ossidato ad ossalacetato e ridotto il NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$;

5. Ottenuto l'ossalacetato, vi agisce la **fosfoenolpiruvatocarbossichinasi citosolica** e si ottiene il fosfoenolpiruvato.

6. **Via alternativa:** il **lattato** viene ossidato a piruvato e, contemporaneamente, 1 NAD^+ viene ridotto a $\text{NADH} + \text{H}^+$. il piruvato entra nei mitocondri e diviene ossalacetato grazie alla **piruvato-carbossilasi**.

L'ossalacetato, grazie alla **fosfoenolpiruvatocarbossichinasi mitocondriale** sintetizza il fosfoenolpiruvato a livello della matrice mitocondriale e fuoriesce dai mitocondri tramite **carrier del citrato** (detta così perché trasporta anche citrato nel ciclo di Krebs) per trasporto passivo.

In un caso il fosfoenolpiruvato si sintetizza a livello citosolico e, in un altro, a livello mitocondriale.

Perché queste vie sono differenti? Il problema è legato al NADH , che dev'essere citosolico. Infatti, nel caso della lattatodeidrogenasi è stato prodotto; se si parte da piruvato, quest'escamotage produce NADH citosolico tramite trasporto del malato.

Perché si necessita di NADH citosolico? La chiave sta nella **gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi** e il problema è insito nella limitatezza della concentrazione di NADH .

La differenza fra le due vie consiste nel fatto che, quando si parte dal lattato, si produce NADH citosolico, che può essere utilizzato dalla reazione della gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi; quando si parte da piruvato non si ha NADH citosolico a meno che non si intraprenda la via dell'ossalacetato.

Potendo il piruvato subire vari destini, perché viene utilizzato per la sintesi del glucosio, ma può anche essere indirizzato verso il ciclo di Krebs, è necessario che queste 2 vie siano regolate coerentemente.

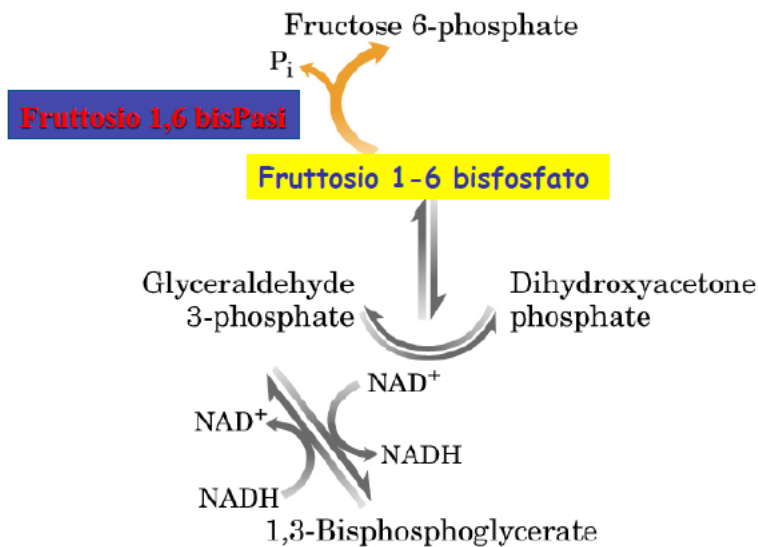
Quando il piruvato entra nel ciclo, si vede la formazione di acetil-CoA, catalizzata dalla piruvatodeidrogenasi, mentre quella per la gluconeogenesi è guidata alla piruvatocarbossilasi. Per regolare la via da intraprendere, l'acetil-CoA da un lato inibisce la sua ulteriore sintesi, mentre dall'altra va ad attivare la sintesi dell'ossalacetato.

L'eccesso di CoA in una cellula, infatti, indica che c'è una grossa quantità di energia. Affinché avvenga sintesi, lo stato energetico della cellula dev'essere alto, altrimenti il metabolismo si sposta verso la degradazione.

TANTO Acetil-CoA = POSSIBILITÀ DI SINTESI DI GLUCOSIO

Una volta sintetizzato il fosfoenolpiruvato, tutte le tappe irreversibili della glicolisi possono essere superate tramite gli enzimi della glicolisi fino ad arrivare al **fruttosio-1,6-bifosfato**, perché la tappa corrispondente della glicolisi è catalizzata dalla fosfofruttochinasi-1, enzima irreversibile. Si utilizza, dunque, un enzima specifico, il **fruttosio-1,6 bisfosfatasi**.

2^a tappa irreversibile



La fosfofruttochinasi-1 nella glicolisi è regolata dalla fosfofruttochinasi2/ fruttosio-2,6-bisfosfatasi, che converte il fruttosio 6-fosfato in fruttosio-2,6-bisfosfato.

La attivazione o meno della glicolisi avviene grazie alla fosfofruttochinasi-1 che viene regolata indirettamente dalla fosfofruttochinasi2/ fruttosio-2,6-bisfosfatasi, sotto il controllo ormonale di insulina e glucagone, poiché, se la glicolisi va mandata avanti, è necessaria la produzione di fruttosio-2,6-bisfosfato, l'attivatore della fosfofruttochinasi-1.

Di conseguenza, nella gluconeogenesi, la **fruttosio-2,6-bisfosfatasi** sarà inibita dalla presenza di fruttosio-2,6-bisfosfato, regolato dalla cascata enzimatica insulina/ glucagone.

IN CASO DI SINTESI NON SI HA DEGRADAZIONE, DUNQUE, SE UN SUBSTRATO ATTIVA UNA SINTESI, SICURAMENTE NON PUÒ ATTIVARE LA SUA DEGRADAZIONE.

La presenza o meno di **fruttosio-2,6-bisfosfato** regola contemporaneamente glicolisi e gluconeogenesi:

- In caso di eccesso si favorisce la glicolisi e va bloccata la gluconeogenesi;
- In caso di assenza si favorisce la gluconeogenesi e va bloccata la glicolisi.

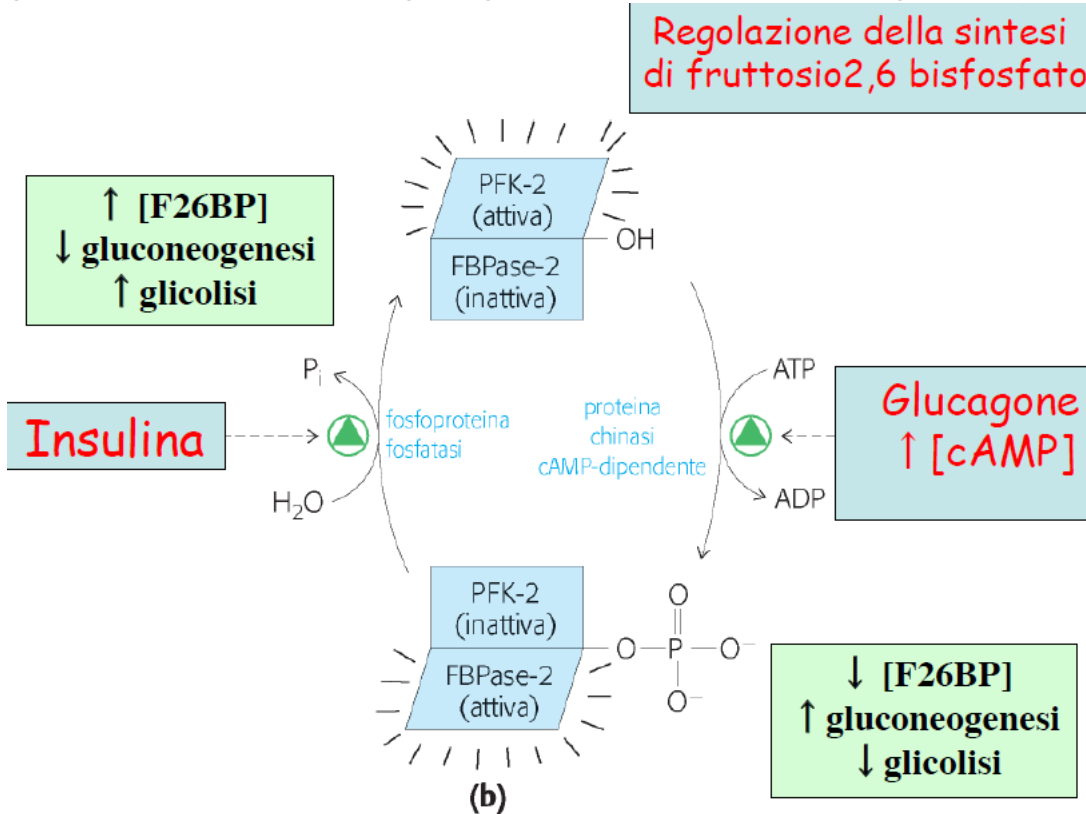
Altro inibitore della fruttosio-2,6-bisfosfatasi è l'**AMP**, che denota scarsa presenza di energia in cellula e, logicamente, senza energia non si può cominciare la sintesi.

La fosfofruttochinasi2/ fruttosio-2,6-bisfosfatasi è regolata dalla cascata enzimatica insulina/ glucagone. **(Va ricordato che è un enzima bifunzionale, in quanto capace di fosforilare il fruttosio-6-fosfato a fruttosio-2,6-bisfosfato o defosforilarlo).**

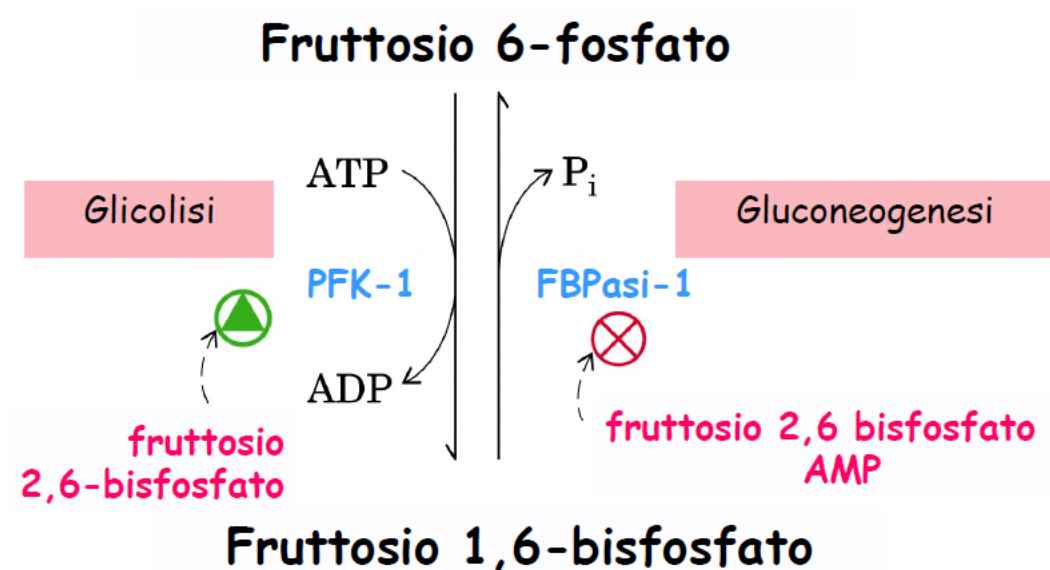
Quando si è sotto la cascata enzimatica dell'**insulina**, dev'essere attiva la parte chinasi dell'enzima e, quindi, esso dev'essere defosforilato per attivare la sintesi di fruttosio-2,6-bisfosfato e proseguire nella glicolisi (ricordiamo che l'insulina abbassa i livelli ematici di glucosio).

Quando si è sotto la cascata enzimatica del **glucagone**, l'enzima viene fosforilato e attiva la sua parte fosfatasi, diminuendo la concentrazione di fruttosio-2,6-

bisfosfato, perché viene inibita la porzione chinasi dell'enzima e diminuisce la glicolisi (ricordiamo che il glucagone alza i livelli ematici di glucosio).

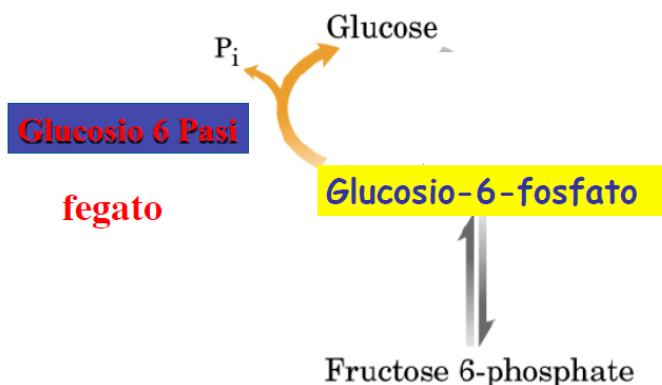


La diminuzione del fruttosio-2,6-bisfosfato permette l'attività della fruttosio-1,6-bisfosfatasi.



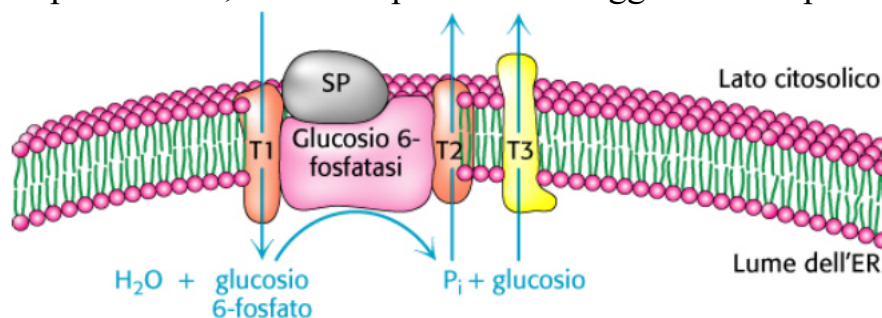
3^a tappa irreversibile

Una volta formato il fruttosio-6-fosfato, per isomerizzazione si può ottenere il glucosio-6-fosfato. Questa è l'ultima tappa da superare per ottenere glucosio. La **glucosio-6-fosfatasi** è presente solo nel fegato, unico a riversare glucosio nel sangue e non per suo utilizzo.

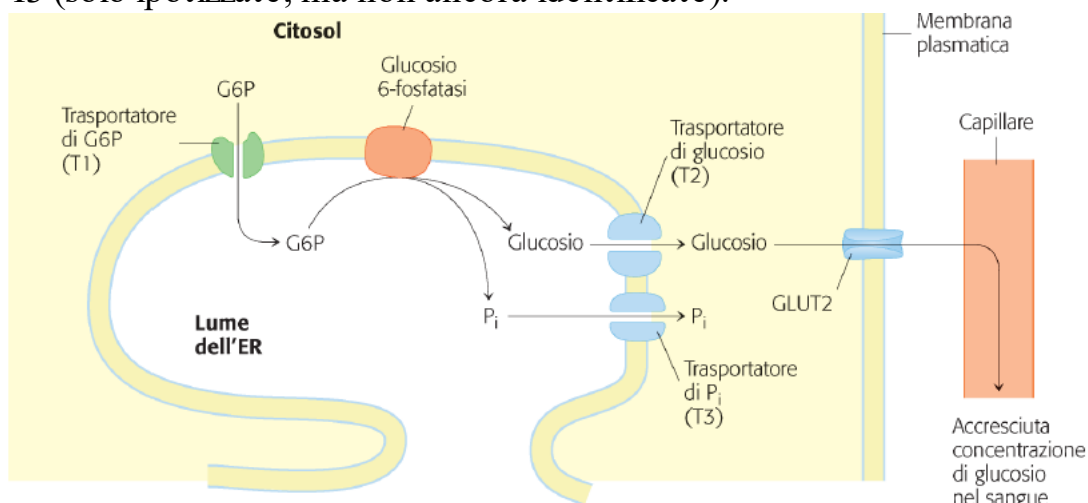


Quest'enzima del fegato è un complesso enzimatico ed è localizzato nel RE. È composto da più subunità:

- Glucosio-6-fosfatasi, nella membrana del RE;
- Sulla membrana del RE sono presenti 3 proteine (T1, T2 e T3);
- La proteina SP, che serve per l'assemblaggio del complesso.



La T1 è un trasportatore di glucosio-6-fosfato, che entra nel lume del RE e viene scisso in glucosio + fosfato, che tornano al citoplasma grazie a 2 proteine dette T2 e T3 (solo ipotizzate, ma non ancora identificate).



Perché l'epatocita è l'unico a dare sintesi di glucosio? Grazie al potere tampone del fegato nei confronti della concentrazione di glucosio ematico. A livello della

membrana plasmatica la GLUT2 è un trasportatore di glucosio (con K_m molto elevata) verso il sangue quando i livelli ematici sono bassi e di richiamarlo verso gli epatociti quando i livelli ematici sono alti.

GLUT2, glucosio-6-fosfatasi e glicochinasi contribuiscono a mantenere costante il livello di glucosio nel sangue.

- La glicochinasi, una volta che il glucosio entra nell'epatocita, lo trasforma in glucosio-6-fosfato impedendone il ritorno nel sangue;
- La glucosio-6-fosfatasi, quando nel sangue si ha bassa concentrazione di glucosio, lo sintetizza e permette, tramite GLUT2, di riversarlo nel sangue.

La regolazione della gluconeogenesi passa anche attraverso la **regolazione di alcuni trascritti**:

- il glucagone stabilizza l'mRNA necessario alla sintesi del fosfoenolpiruvatocarbossichinasi;
- l'insulina rallenta la sintesi della fosfoenolpiruvatocarbossichinasi e della glucosio-6-fosfatasi.

Confronto tra gluconeogenesi e glicolisi:

1. Glicolisi (2 ATP + 2 NADH che potrebbero essere trasformate in ATP);
2. Gluconeogenesi (-6 ATP ed ox di 2 NADH).

Glicolisi:



Gluconeogenesi:

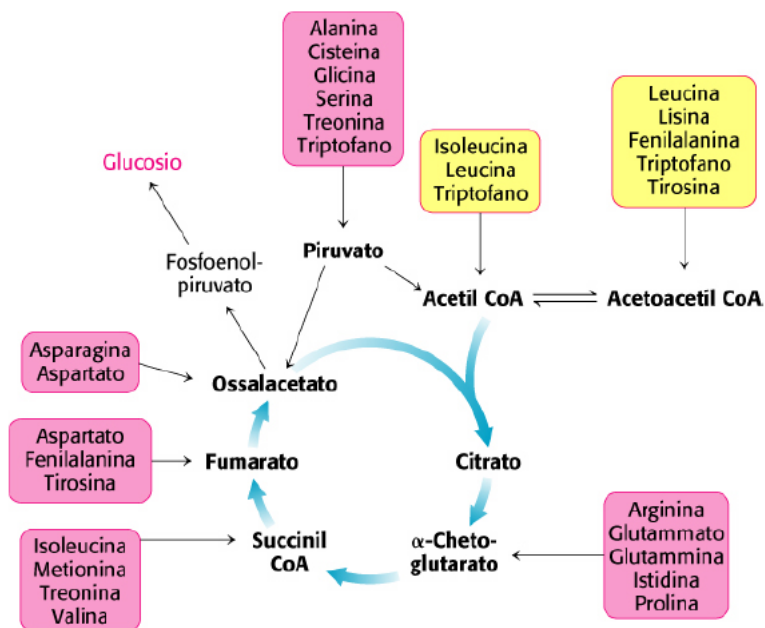


Sono fonti di glucosio anche gli amminoacidi, il cui scheletro carbonioso, se scisso, può condurre a vari substrati. In base al prodotto, questi vengono suddivisi in due classi:

- Glucogenetici, che daranno origine o al piruvato o a degli intermedi del ciclo di Krebs, in cui l'ossalacetato non viene né consumato né sintetizzato; di conseguenza qualunque intermedio diverrà ossalacetato;
- Chetogenetici, che libereranno come substrato o AcetilCoA o acetoacetilCoA, substrati dei corpi chetonici.

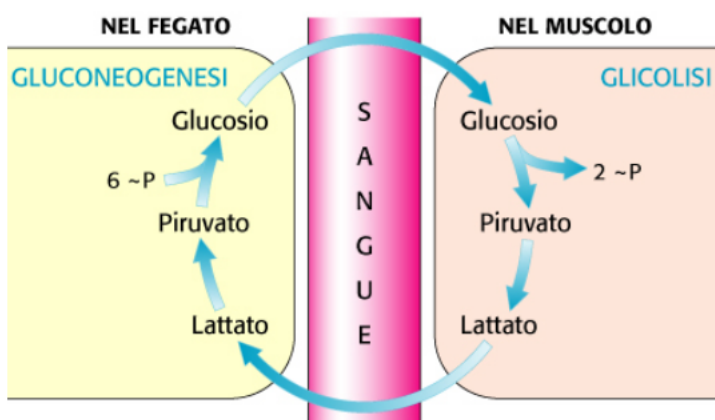
In realtà, questa suddivisione così rigorosa vale solo per alcuni amminoacidi (es., l'alanina è solo glucogenetico, perché dà origine al piruvato).

Alcuni sono sia glucogenetici che chetogenetici, perché, quando lo scheletro carbonioso viene rotto, può portare alla sintesi di glucosio o dare acetilCoA.



Ciclo di Cori: nel muscolo e negli eritrociti si produce lattato. Questo ciclo consente il recupero del lattato tramite circolo sanguigno; verrà poi riportato nel fegato e, attraverso la gluconeogenesi, esso sintetizza glucosio.

CICLO DI CORI



Partendo dal glucosio-1,6-difosfato, si possono avere tutti i metabolismi dei carboidrati, fra cui vi è un metabolismo ossidativo (di “degradazione del glucosio”), la cosiddetta via del pentoso fosfato.

Via del pentoso fosfato: particolare, perché produce

1. NADPH (gruppo fosfato sul ribosio), utilizzato nelle sintesi e mantenente lo stato redox nelle cellule;
2. Ribosio-5-fosfato, zucchero dei nucleotidi, nonché di una serie di enzimi.

Questa via può metabolizzare zuccheri dalla dieta a 5/7 o vari atomi di C e può anche essere utilizzata per produrre ATP.

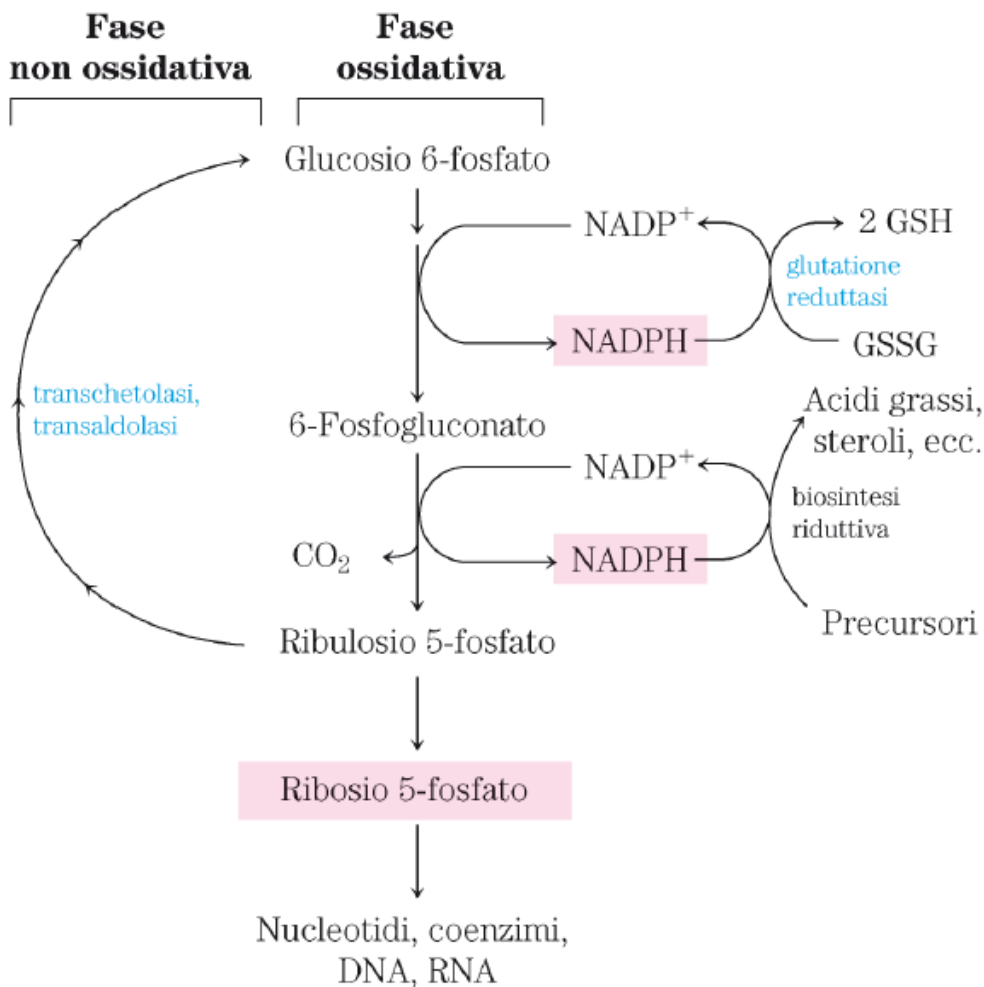
I tessuti che richiedono NADPH sono

- la ghiandola surrenale, il testicolo e l'ovaio, che sintetizzano steroidi;

- il tessuto nervoso e ghiandola mammaria per la sintesi di acidi grassi;
- nel fegato è presente per la sintesi di acidi grassi e del colesterolo;
- nella cellula serve per mantenere lo stato redox controllando che il glutathione venga mantenuto ridotto.

Il NADPH prodotto in questo ciclo ha funzione riducente nelle vie metaboliche di sintesi (es. la sintesi di acidi grassi), mentre il NAD ha funzione di accettore di elettroni nei catabolismi.

Mentre il NAD, se riossidato, può dare ATP, il NADPH non entra nella fosforilazione ossidativa.

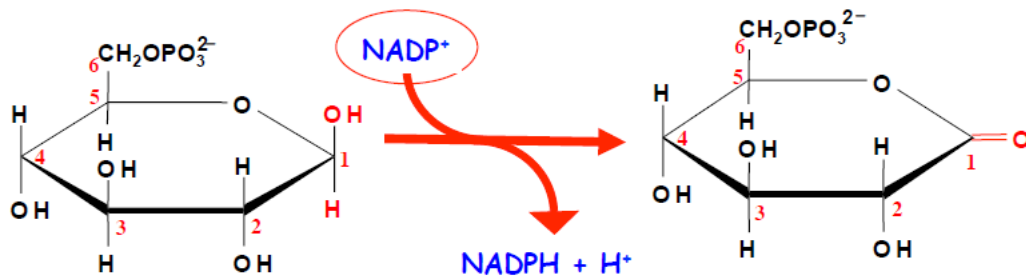


La via del pentoso fosfato si divide in due diverse fasi che, non necessariamente, devono coesistere all'interno della stessa cellula:

- **Fase ossidativa**, partendo dal glucosio-6-fosfato produce NADPH e ribosio-5-fosfato. Si produce, come intermedio, il ribulosio-5-fosfato (zucchero a 5 atomi di C), che, a seconda delle condizioni cellulari, può portare a fase ossidativa o non ossidativa.

Questa via parte da glucosio-6-fosfato e utilizza il **glucosio-6-fosfato deidrogenasi**, che porta al 6-fosfoglucono- δ -lattone e ossida il NADP a NADPH+H.

Fase ossidativa

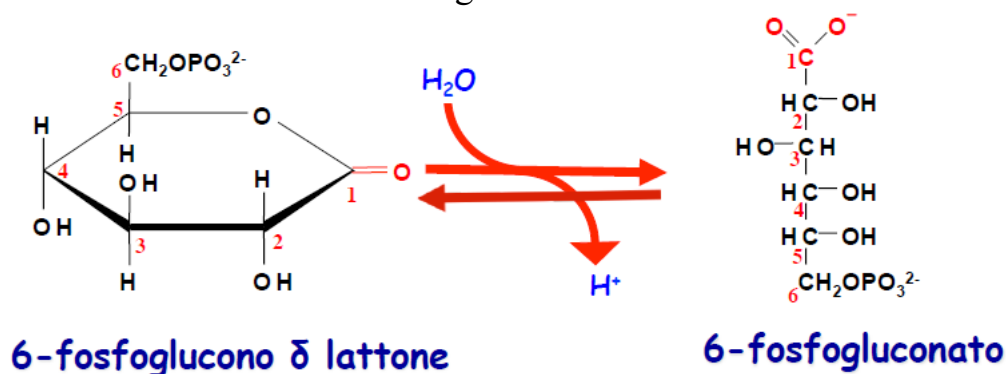


Glucosio-6-fosfato

6-fosfoglucono δ lattone

Glucosio-6-fosfato deidrogenasi

La struttura del 6-fosfoglucono- δ -lattone viene aperta grazie all'aggiunta di 1 H_2O e viene ossidato a 6-fosfogluconato.

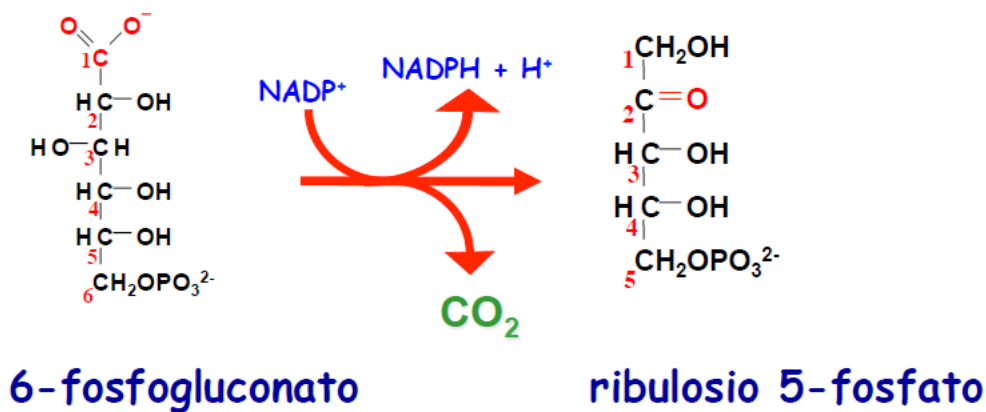


6-fosfoglucono δ lattone

6-fosfogluconato

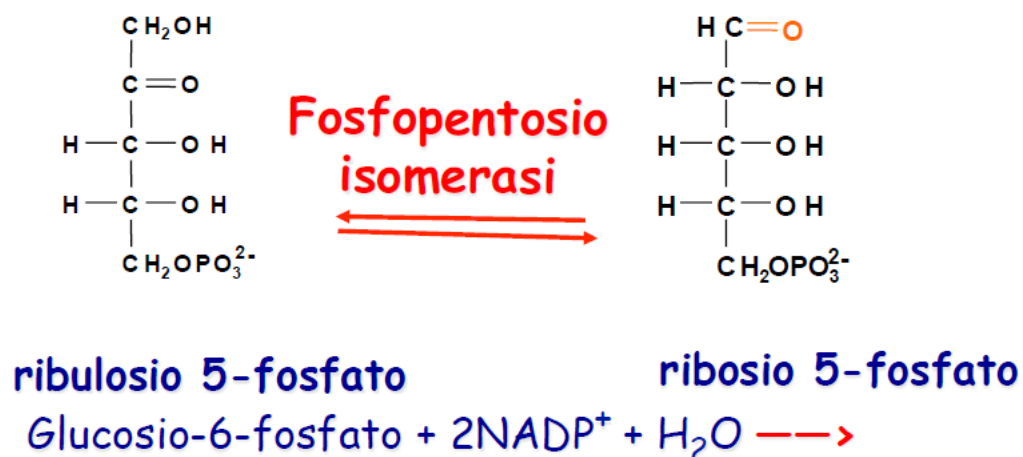
Lattonasi

Il 6-fosfogluconato verrà, poi, decarbossilato a ribulosio-5-fosfato e contemporaneamente ossidato, con produzione di una seconda molecola di NADPH.



6-fosfogluconato deidrogenasi

Il ribulosio-5-fosfato può essere facilmente isomerizzato a ribosio-5-fosfato.



In alcuni tessuti, questa via termina qui (con produzione di ribosio-5-fosfato e 2 NADPH), ma ci sono tessuti che richiedono maggiore NADPH rispetto al ribosio e, quindi, il ribulosio formato nella fase ossidativa va incontro alla fase non ossidativa;

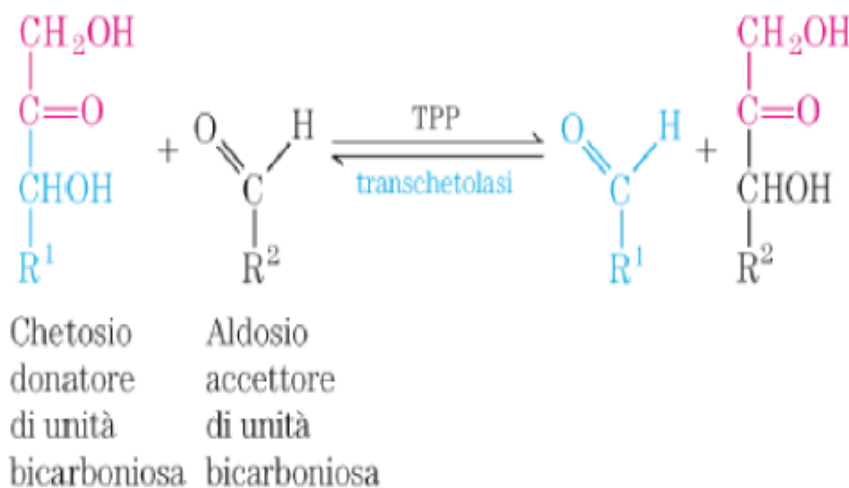
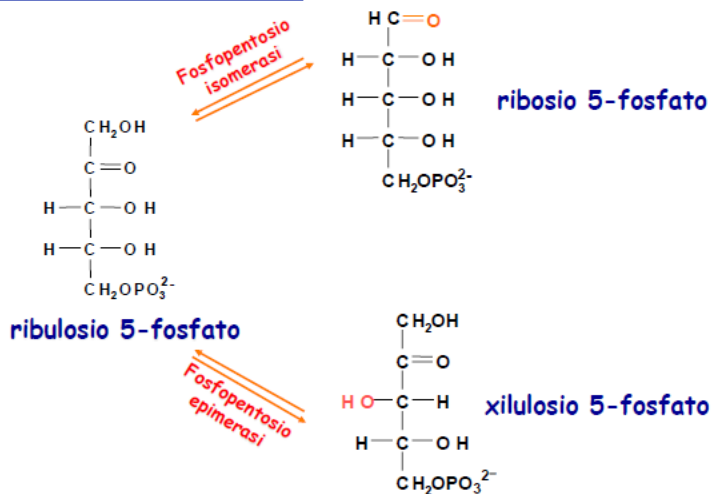
- **Fase non ossidativa**, qui il ribulosio si utilizza per risintetizzare glucosio. È data da tre reazioni enzimatiche e catalizzata da **transchetolasi** e **transaldolasi**. Tutte le reazioni catalizzate da tali enzimi si considerano reversibili. Per potervi dare avvio bisogna avere uno zucchero aldeidico più uno zucchero chetonico.

Due molecole di ribulosio vengono trasformate in

1. **ribosio-5-fosfato** (zucchero aldeidico) tramite l'isomerasi;

2. **xilulosio-5-fosfato** (zucchero chetonico) tramite epimerasi.

Fase non ossidativa



L'azione delle due classi di enzimi è simile e sono entrambi reversibili: si differenziano per il frammento di carbonio che trasferiscono (frammenti a 2 o 3 atomi di C), ma bisogna avere sempre uno zucchero chetonico donatore (che si trasformerà nel suo

corrispondente aldeidico) e uno aldeidico che accetti il trasferimento (e si trasformerà in uno zucchero chetonico).

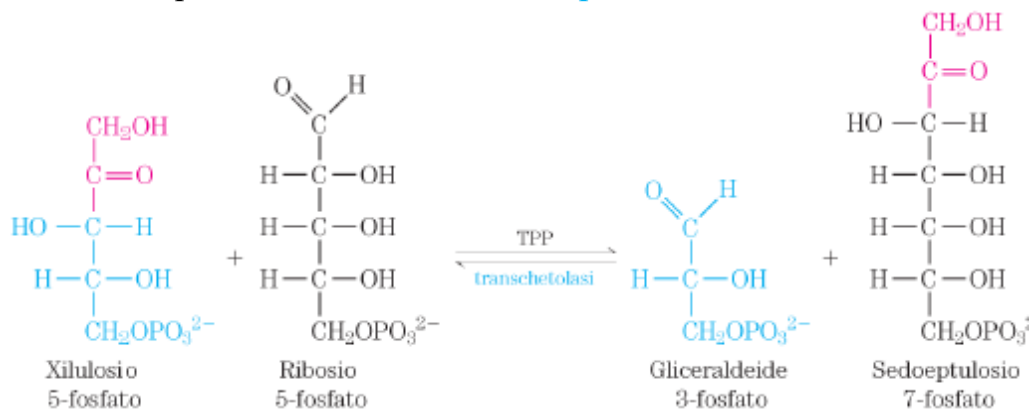
Le transchetolasi utilizzano la **tianinapirofosfato** per il trasferimento, visto anche nella fermentazione alcolica.

La via dei pentosi-fosfato consta di tre reazioni:

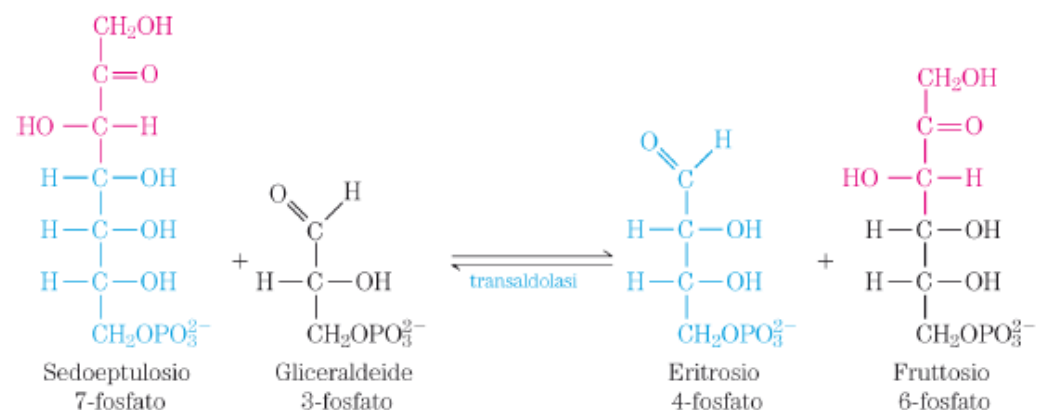
1. una catalizzata da una transchetolasi;
2. una catalizzata da una transaldolasi;
3. la terza catalizzata da una transchetolasi.

I primi due zuccheri a reagire sono xilulosio e ribosio, formati a partire dal ribulosio.

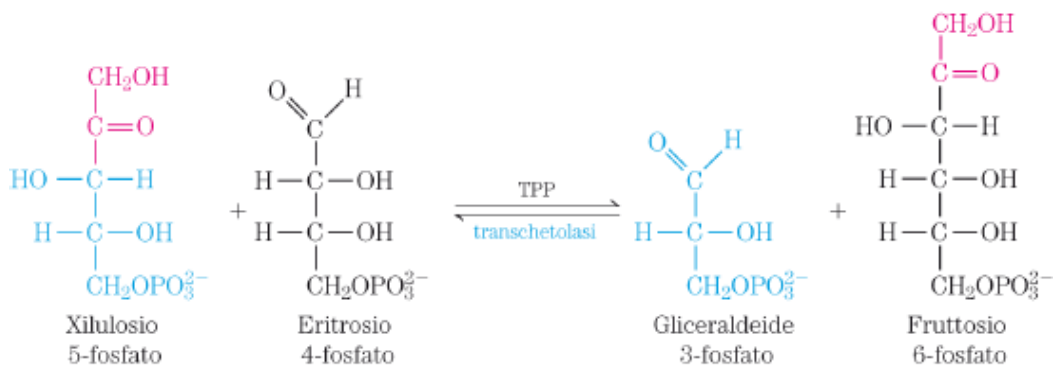
Lo xilulosio trasferisce un frammento a 2 C sul ribosio, trasformandosi in uno zucchero aldeidico a 3 C che prende il nome di **gliceraldeide-3-fosfato**, mentre il ribosio, acquisendo 2 C diviene **sedoepulosio-7-fosfato**.

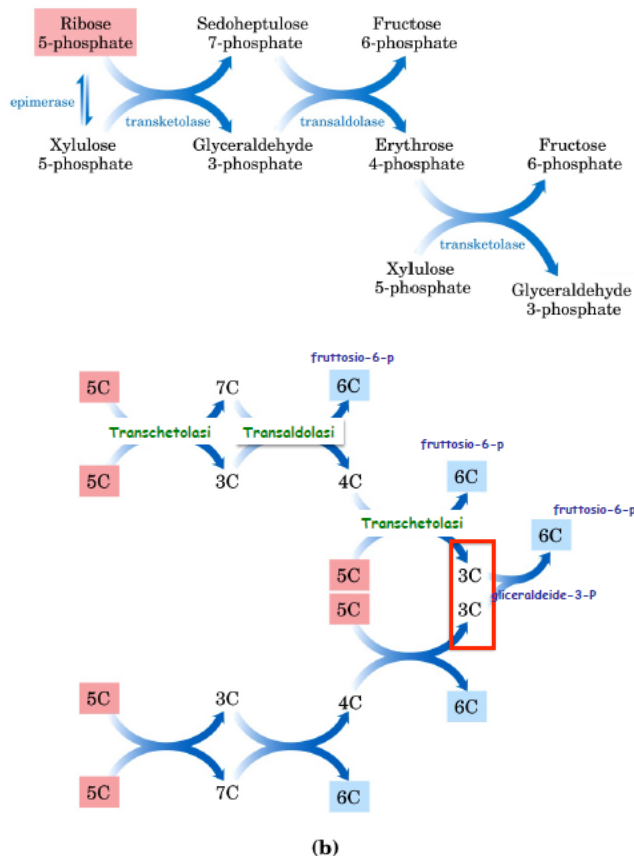


Di fatto si hanno di nuovo un aldeide e un chetone che possono reagire fra loro, ma, questa volta, l'enzima che interviene è una transaldolasi e si ha un trasferimento di 3 C. Il sedoeptulosio trasferisce sulla gliceraldeide-3-fosfato 3 C e questa diviene uno zucchero chetonico, il fruttosio-6-fosfato divenendo **eritrosio-4-fosfato**.



Per l'ultima reazione è necessario utilizzare un'altra molecola di ribulosio, sempre fornita dalla fase ossidativa della via dei pentosi-fosfato, che viene trasformata in **xilulosio-5-fosfato**, perché l'eritrosio è un'aldeide e necessita di un chetone.





Se il meccanismo viene ripetuto due volte, alla fine si ottengono 2 gliceraldeide-3-fosfato e 4 fruttosio-6-fosfato, facilmente isomerizzabili a glucosio-6-fosfato.

Per quanto concerne le due molecole di gliceraldeide-3-fosfato, invece

- da una molecola si ottiene **idrossiacetolfosfato**;
- l'altra rimane tale.

Grazie all'**aldolasi**, si ottiene il fruttosio-6-fosfato e, successivamente, il glucosio.

Questa via è particolarmente modulata dalle esigenze dell'organismo e può essere utilizzata in vari modi:

- Serve sia ribosio che NADPH: solo fase ossidativa e si ottiene e2NADPH e ribosio-5-fosfato;
- Serve più NADPH: sia fase ossidativa che non ossidativa, perché va recuperato il glucosio e mandato nella fase ossidativa;
- Sia ATP che NADPH: con la fase ossidativa si forma il NADPH, con la fase non ossidativa si riciclano fruttosio-6-fosfato e gliceraldeide-3-fosfato, substrati della glicolisi. In tal modo si estrae ATP;
- Più ribosio che NADPH: solo fase non ossidativa, utilizzando solo i suoi enzimi, essendo essa una via reversibile, si può sintetizzare ribosio.

Si può produrre fruttosio per la reversibilità delle due vie.

Il glucosio-6-fosfato è l'intermedio che smista i metabolismi dei carboidrati; dunque, va o verso la glicolisi o verso la via dei pentosi-fosfato. La regolazione, quindi lo smistamento del glucosio-6-fosfato, avviene tramite il primo enzima della fase non ossidativa, ovvero la glucosio-6-fosfatodeidrogenasi.

L'eccesso di NADPH inibisce questo enzima, che provoca, dunque, accumulo di glucosio-6-fosfato, che va incontro alla glicolisi.

Come viene incanalato il glucosio-6-P?

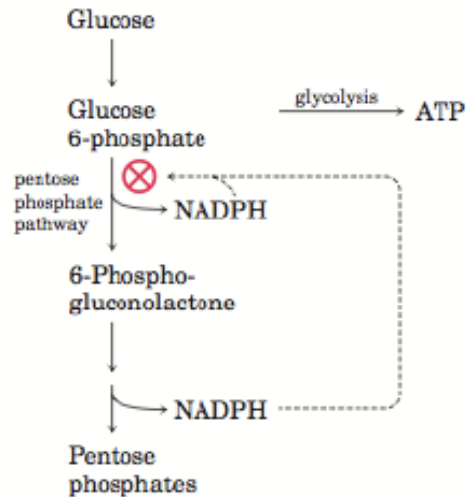


FIGURE 14-27 Role of NADPH in regulating the partitioning of glucose 6-phosphate between glycolysis and the pentose phosphate pathway. When NADPH is forming faster than it is being used for biosynthesis and glutathione reduction (see Fig. 14-20), [NADPH] rises and inhibits the first enzyme in the pentose phosphate pathway. As a result, more glucose 6-phosphate is available for glycolysis.