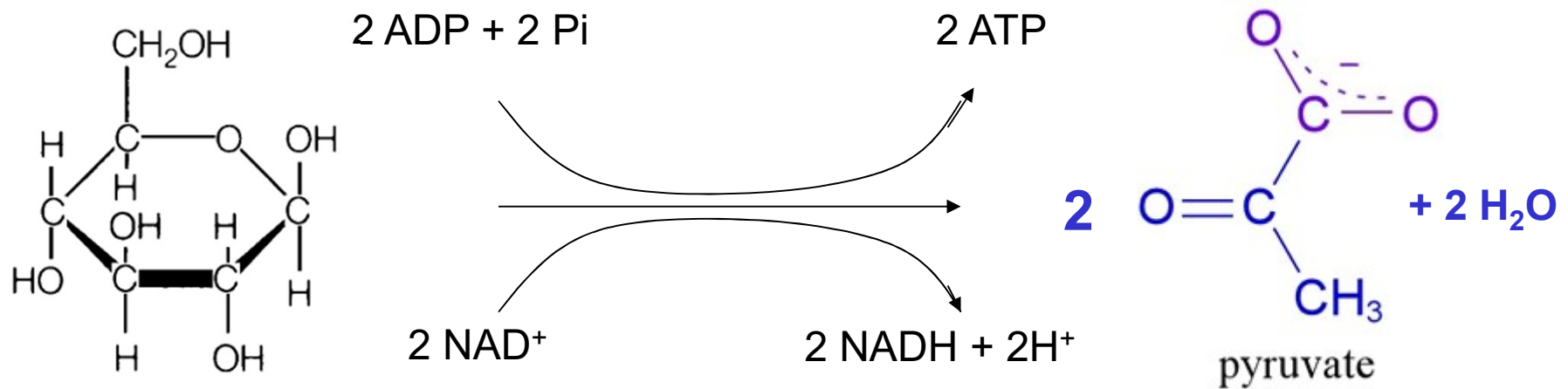


Principali vie di utilizzo del glucosio

Cap.16

GLICOLISI



Via metabolica in 10 tappe (reazioni)

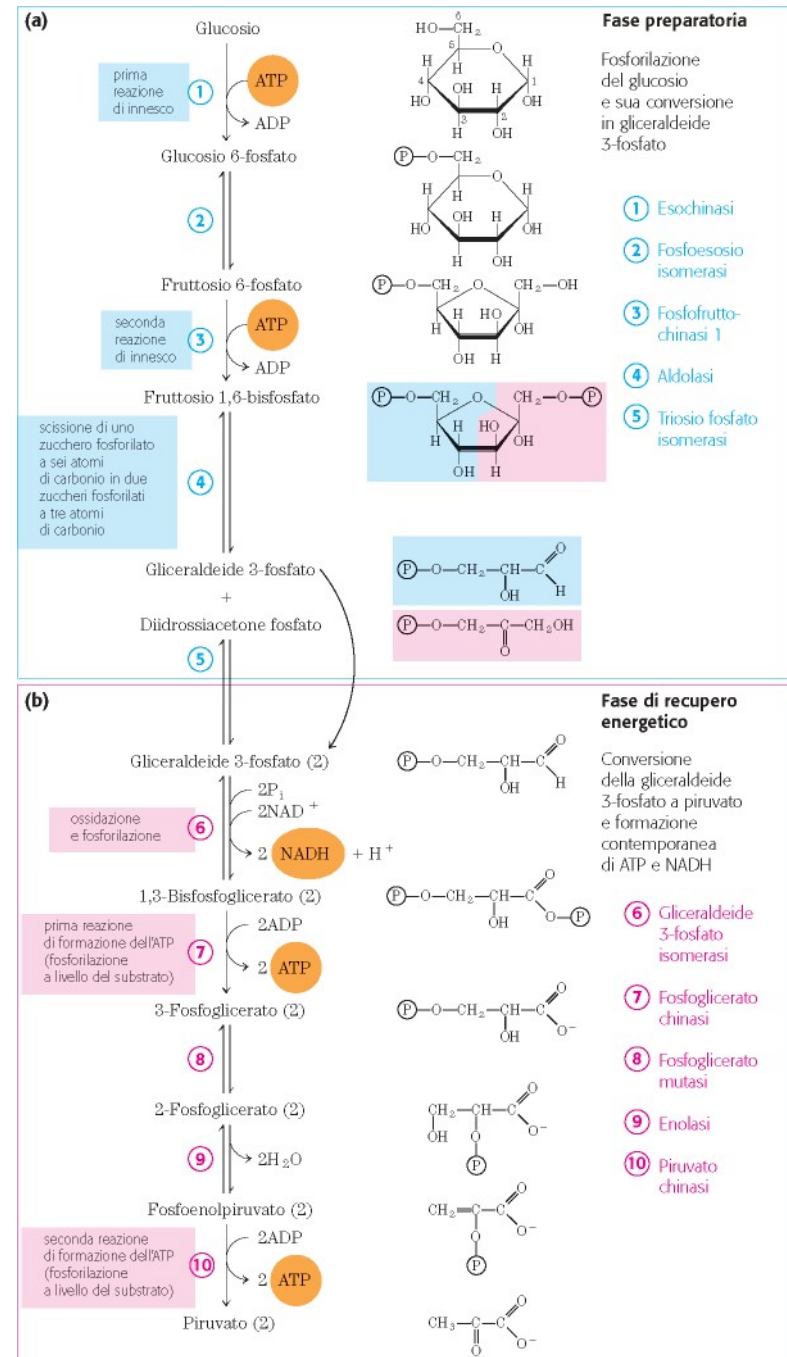
La glicolisi può essere divisa in 2 fasi

Fase preparatoria (5 reazioni)

Vengono "investite" 2 molecole ATP creando Intermedi fosforilati

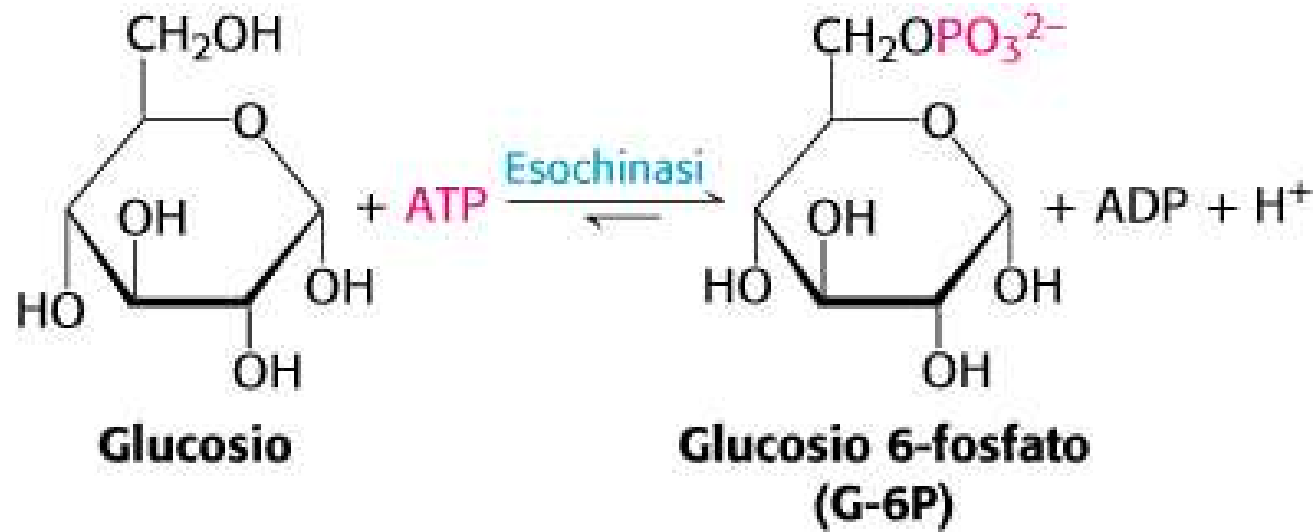
Fase di recupero energetico (5 reazioni)

Vengono prodotte 4 molecole ATP



Prima reazione: attivazione del glucosio

Legame fosfo-estere



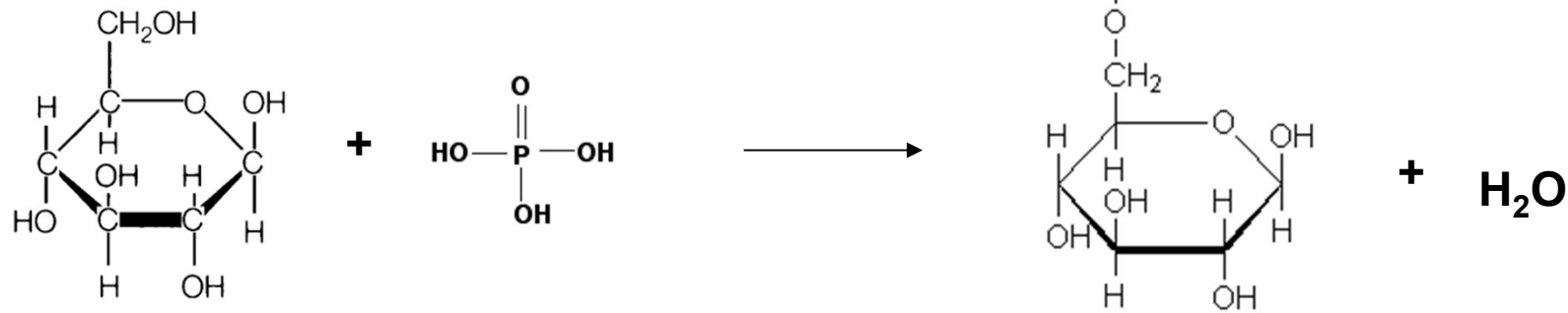
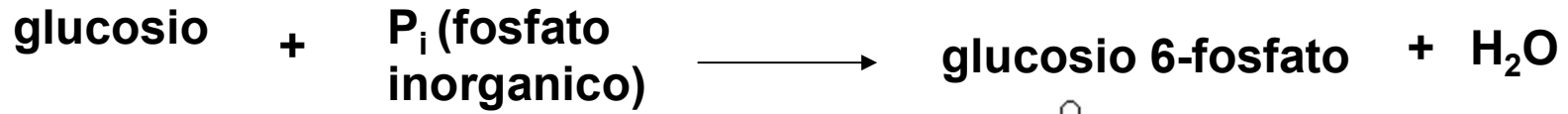
Prima reazione di **investimento**: viene **idrolizzata** una molecola di **ATP**

Chinasi: enzimi che catalizzano reazioni di fosforilazione

Tutti gli **intermedi** della glicolisi sono fosforilati

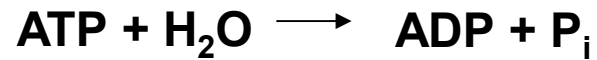
Intermedio metabolico: prodotto di una delle reazioni che diventa substrato per la reazione successiva

Le due semireazioni della fosforilazione del glucosio



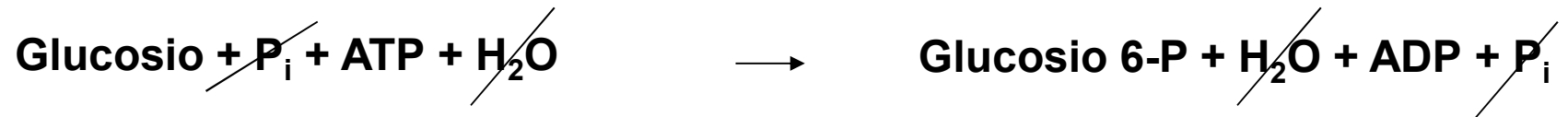
$\Delta G'^{\circ} = 13,8 \text{ kJ/mol}$

IDROLISI dell'ATP



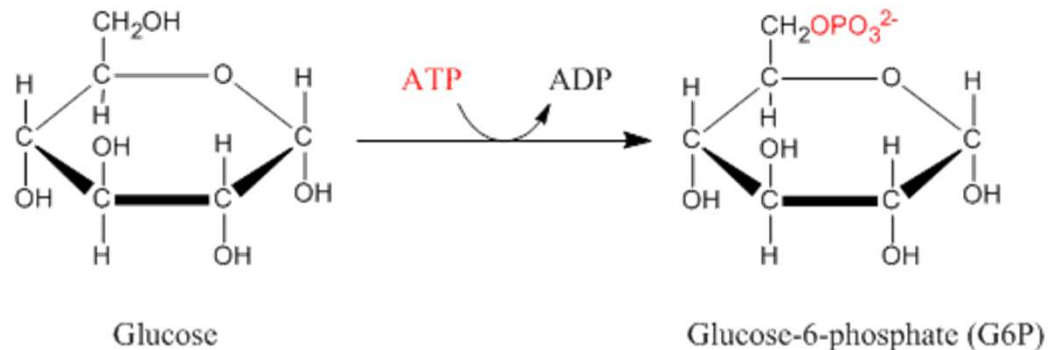
$$\Delta G'^{\circ} = - 30,5 \text{ kJ/mol}$$

Le due reazioni sono ACCOPPIATE, per cui la reazione totale sarà

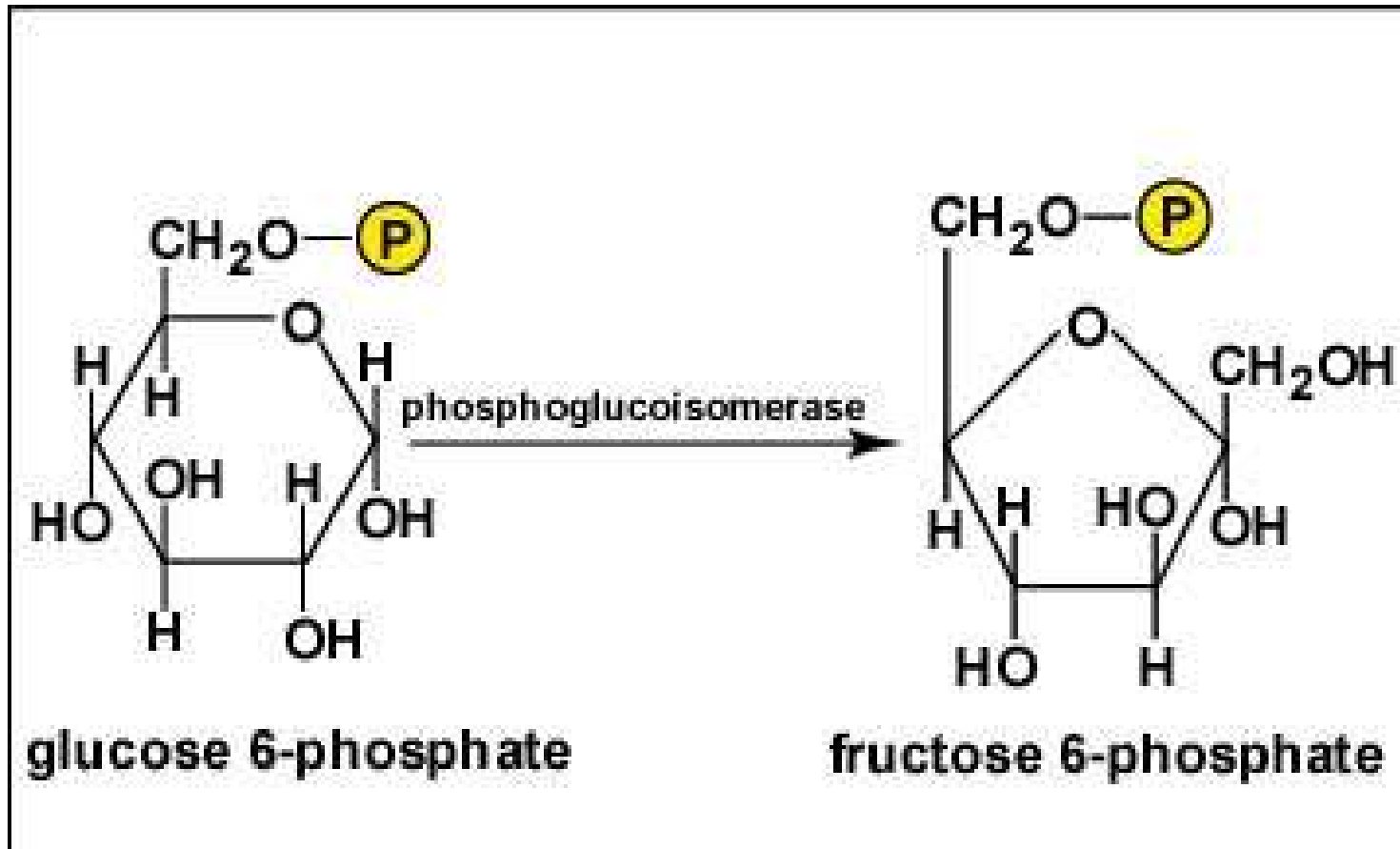


REAZIONE IRREVERSIBILE

$$\Delta G'^{\circ} = [13,8 + (- 30,5)] \text{ kJ/mol} = - 16,7 \text{ kJ/mol}$$



Seconda reazione: isomerizzazione del G-6P a F-6P

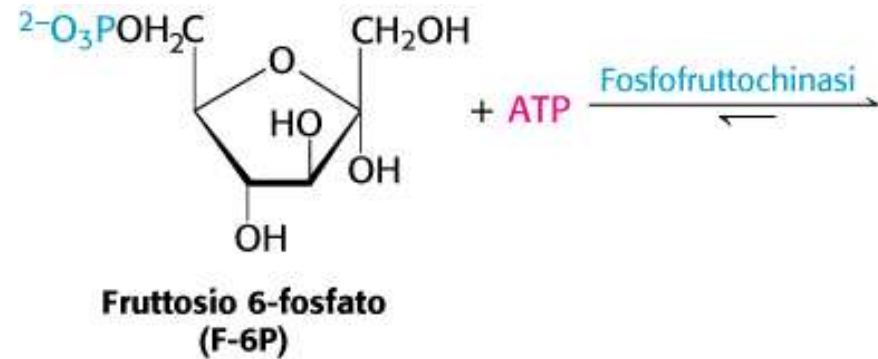


Aldoso

Chetoso
(gruppo chetonico)

Terza reazione: fosforilazione del F-6P a F1,6 BP

Seconda reazione di **investimento**:
viene **idrolizzata** una
molecola di **ATP**



Sia il glucosio 6-fosfato che il fruttosio 6-fosfato possono essere intermedi di altre vie metaboliche.

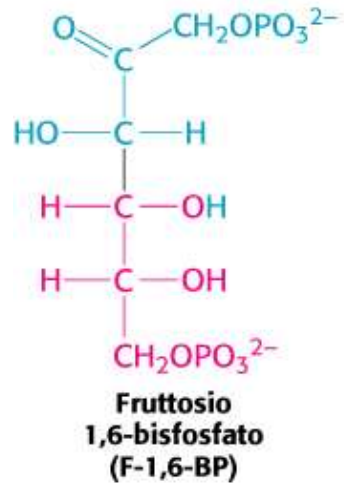
Il fruttosio 1-6-difosfato è solamente intermedio della glicolisi.

Questa reazione **IMPEGNA** lo zucchero nella glicolisi

REAZIONE IRREVERSIBILE

$\Delta G^{\circ} = -14,2 \text{ kJ/mol}$

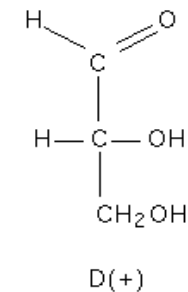
Quarta reazione: scissione del chetoesoso per formare due triosi



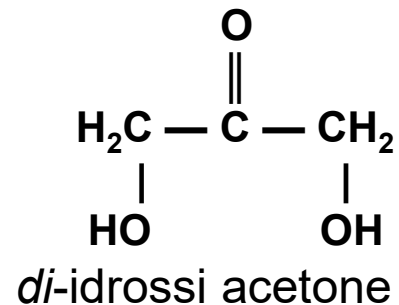
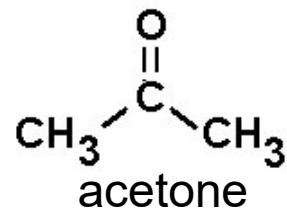
E' una reazione di condensazione aldolica (condensazione di due carbonili) **inversa**



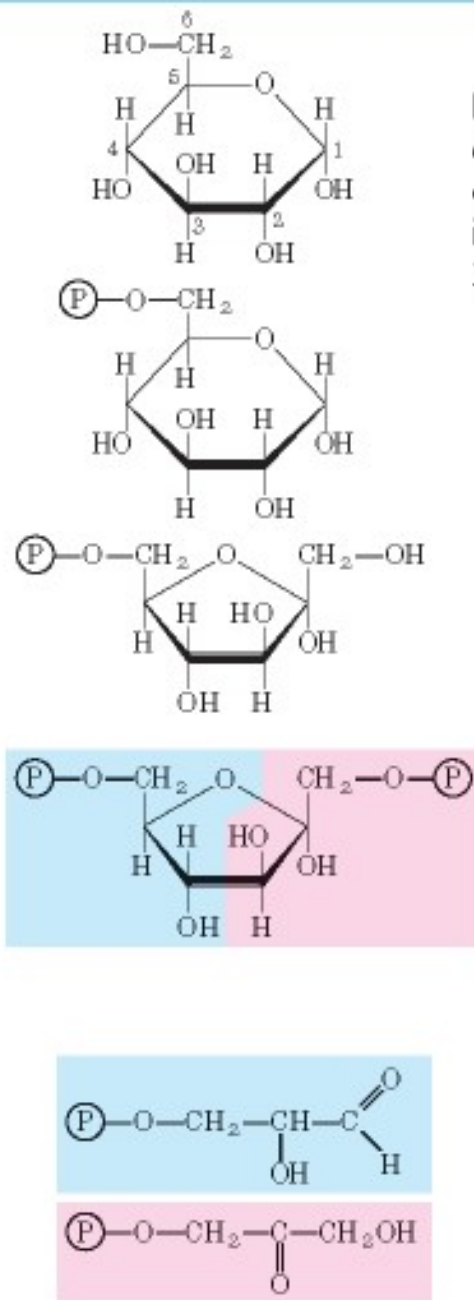
+



gliceraldeide: aldeide glicerica



(a)

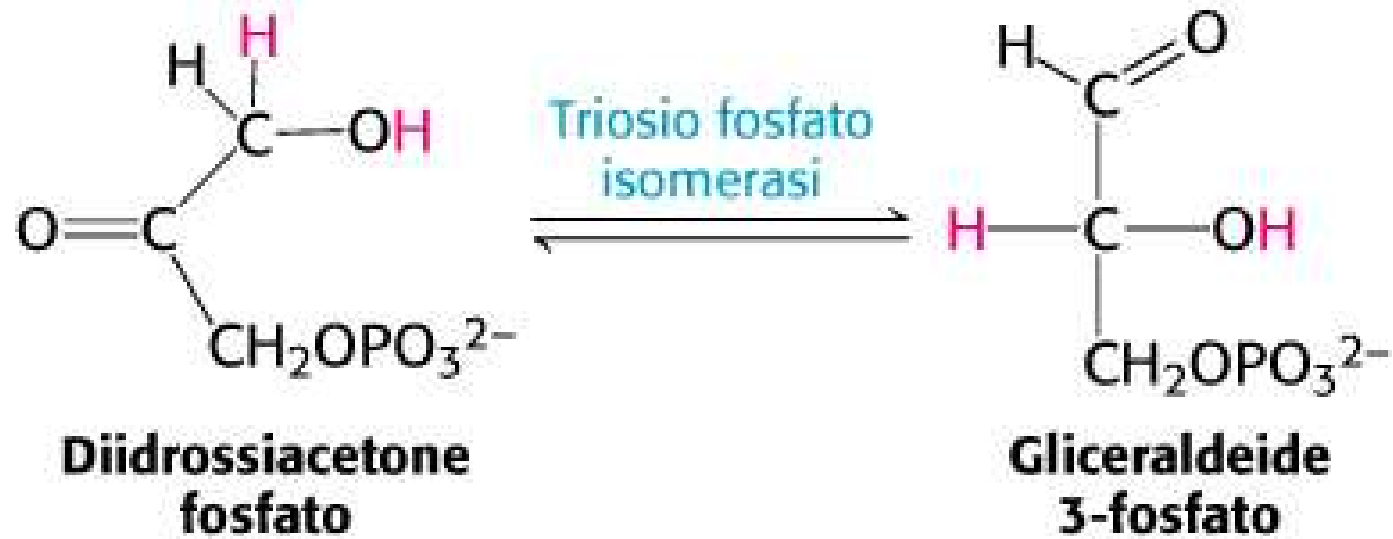


Fase preparatoria

Fosforilazione del glucosio e sua conversione in gliceraldeide 3-fosfato

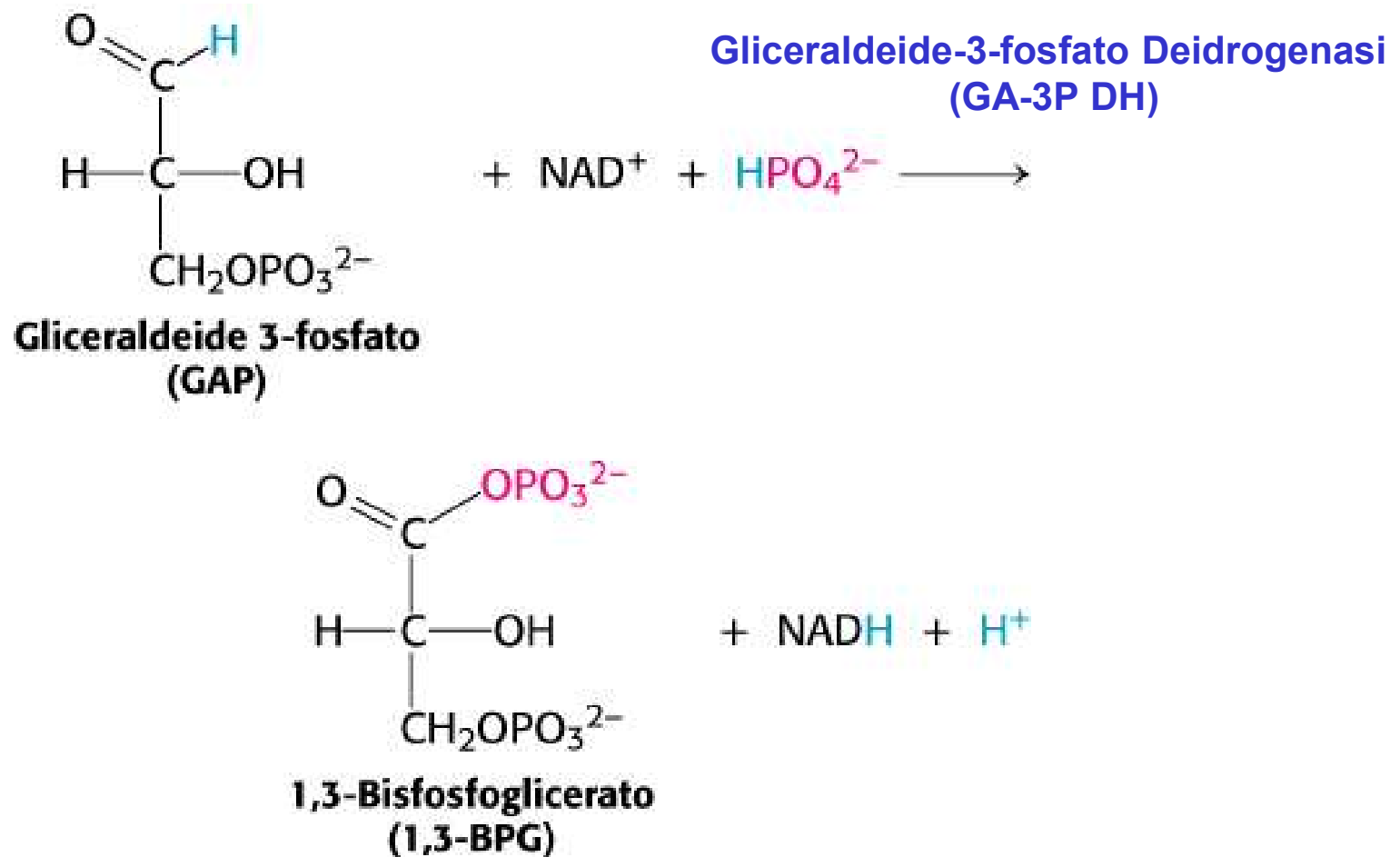
- ① Esocinasasi
- ② Fosfoesosio isomerasi
- ③ Fosfofrutto-chinasi 1
- ④ Aldolasi
- ⑤ Triosio fosfato isomerasi

Quinta reazione: isomerizzazione di DHP a GA3P

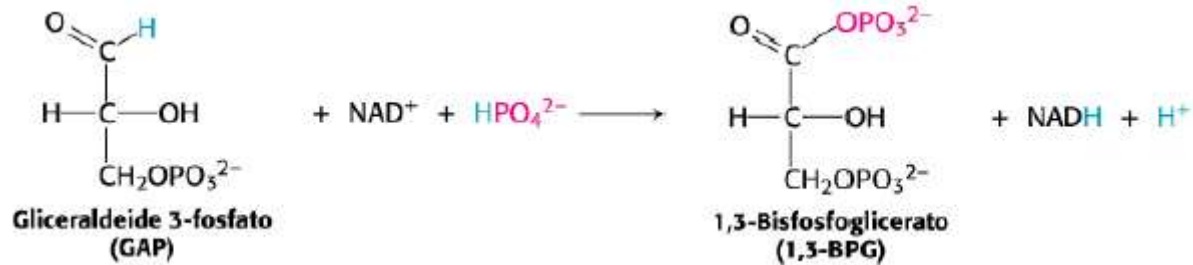


Sesta reazione della glicolisi

reazione di ossidazione



Gliceraldeide-3-fosfato Deidrogenasi (GA-3P DH)



Nel CATABOLISMO la reazione più importante è l'ossidazione.

Qui si ossida un'aldeide ad acido.

La gliceraldeide 3P deidrogenasi è un ossido-reduttasi NAD dipendente.

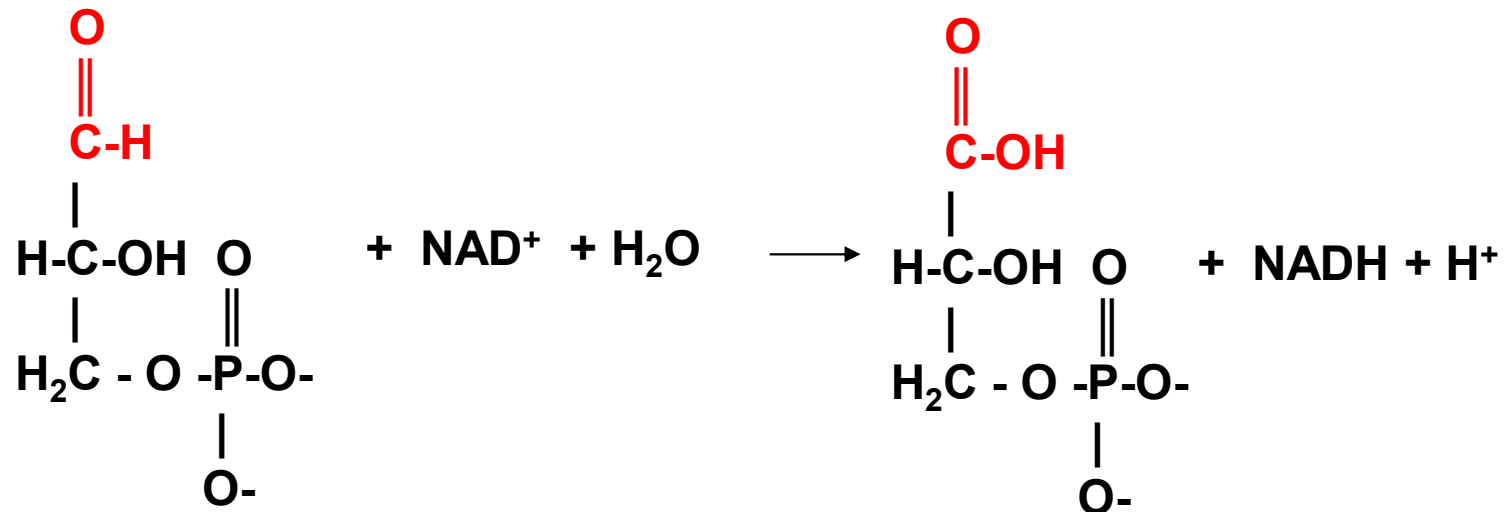
E' una reazione unica nel suo genere. L'accettore di idrogeni è il NAD+.

Si forma un'anidride fosforica, l'1,3-bifosfoglicerato.

Può essere divisa in due semi-reazioni

I semireazione: è un'ossidazione

l'**aldeide** è ossidata ad **acido carbossilico**,
il **NAD⁺** è ridotto a **NADH + H⁺**



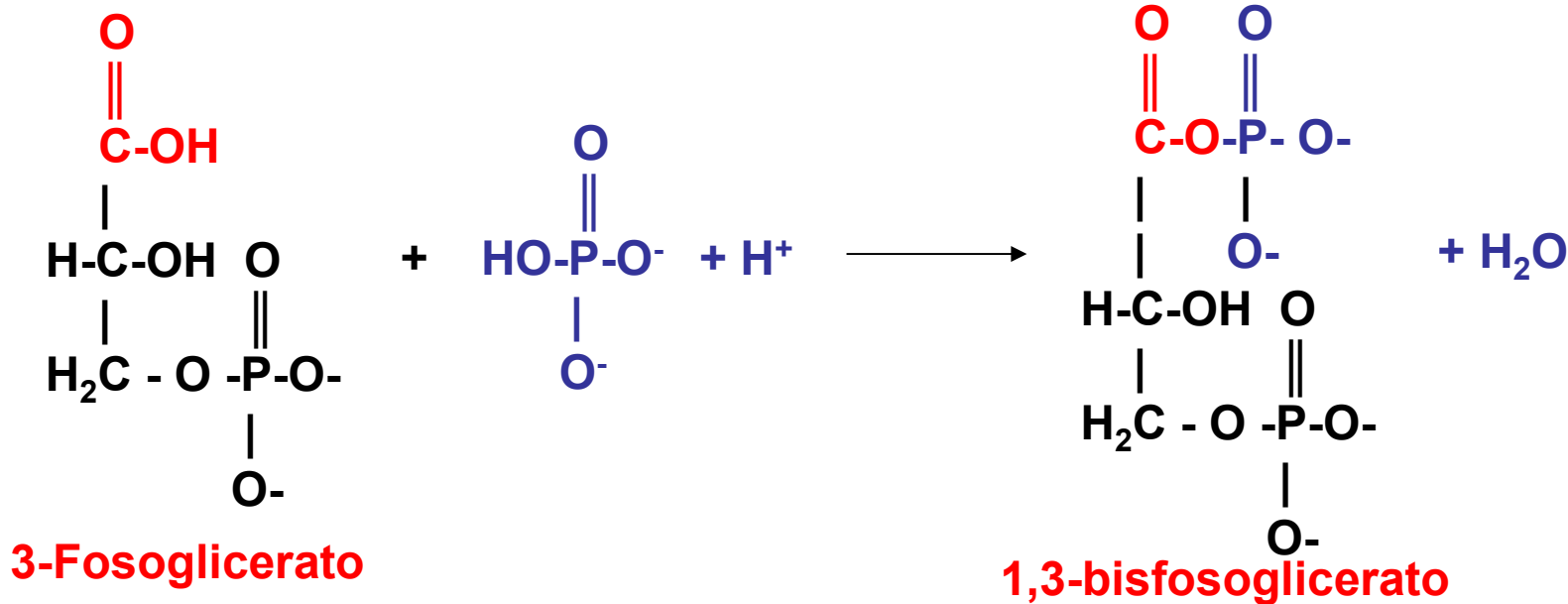
Gliceraldeide 3-fosfato

3-Fosfoglicerato

$\Delta G'^{\circ} = -43,1 \text{kJ/mole} = -10 \text{kcal/mole}$
Esoergonica in condizioni standard

Il semireazione: formazione di **un'anidride mista** tra l' **acido carbossilico** e il **fosfato inorganico**

$\Delta G'^{\circ} = 49,3 \text{ kJ/mole} = 11,8 \text{ kcal/mole}$
Endoergonica in condizioni standard



$$\begin{aligned}\Delta G'^{\circ} \text{ tot} &= \Delta G'^{\circ} \text{ ossidazione} + \Delta G'^{\circ} \text{ fosforilazione} \\ &= -43,1 \text{ kJ/mol} + 49,3 \text{ kJ/mol} \\ &= 6,2 \text{ kJ/mol} = 1,5 \text{ kcal/mol}\end{aligned}$$

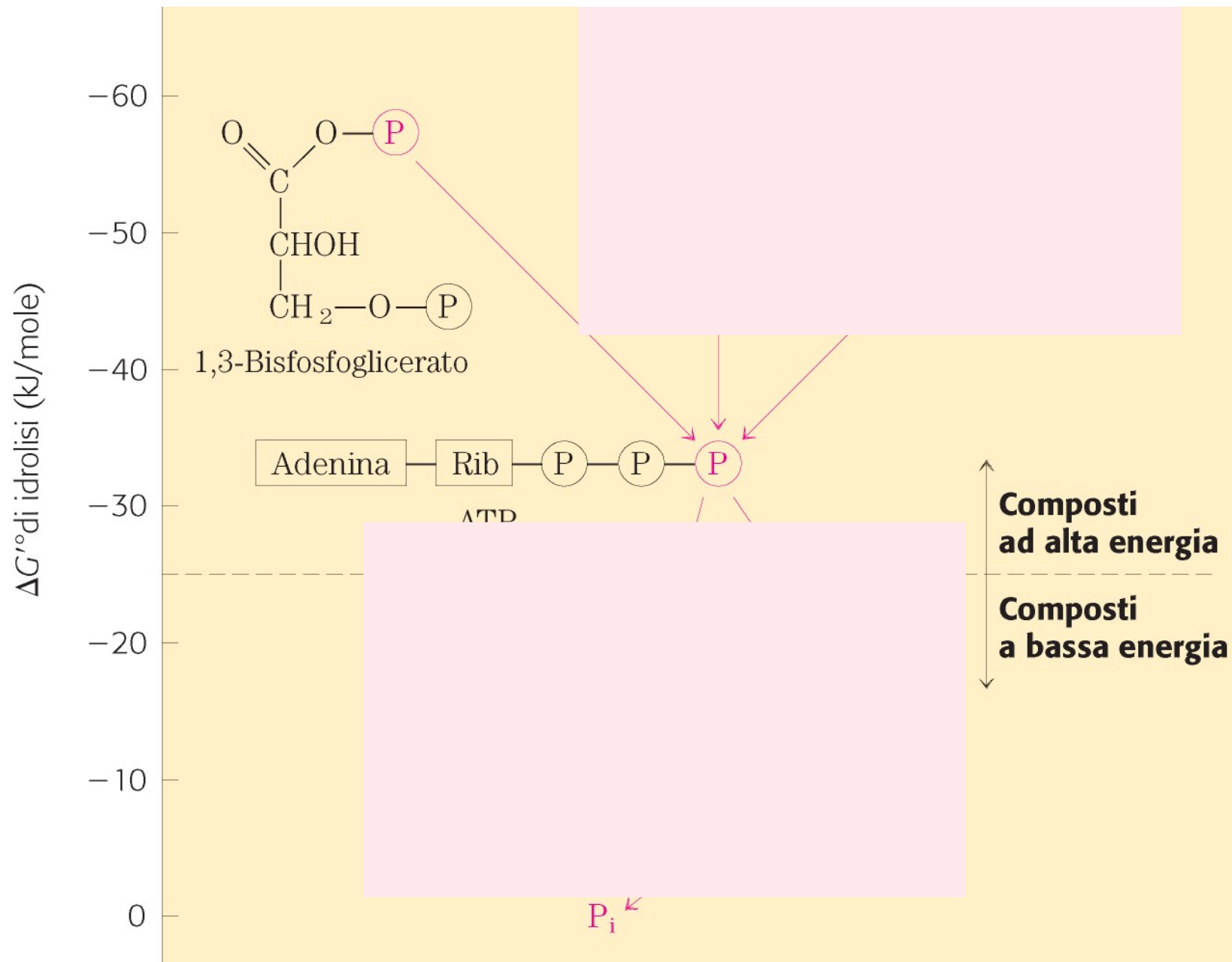
Questi valori di energia libera sono riferiti ad uno stato standard

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

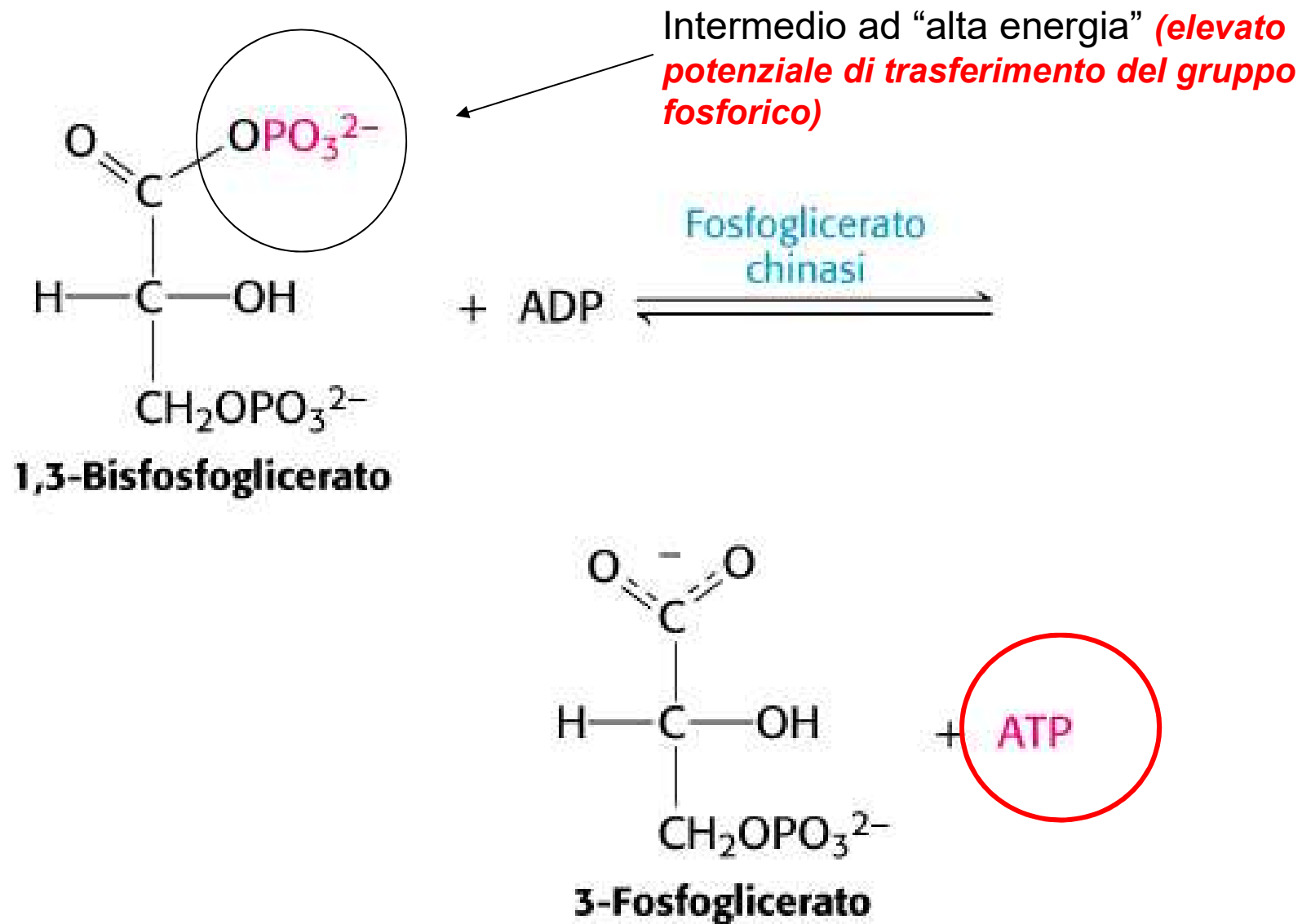
Le concentrazioni intracellulari dei metaboliti non sono allo stato standard.
 $\Delta G = -1,29 \text{ kJ/mol} = -0,31 \text{ kcal/mole}$

Con questa reazione si è formato **1,3-bisfoglicerato**, metabolita fosforilato con un legame ad “alta energia” $\sim P$

$\Delta G'^{\circ} = - 49,3 \text{ kJ/mole}$ è l'energia liberata dall'idrolisi del 1,3- Bisfosfoglicerato

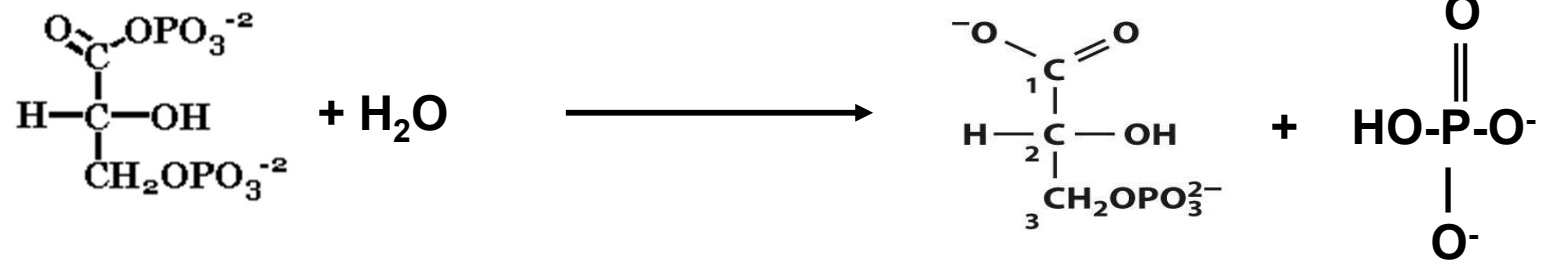


Settima reazione: trasferimento del fosfato all'ADP

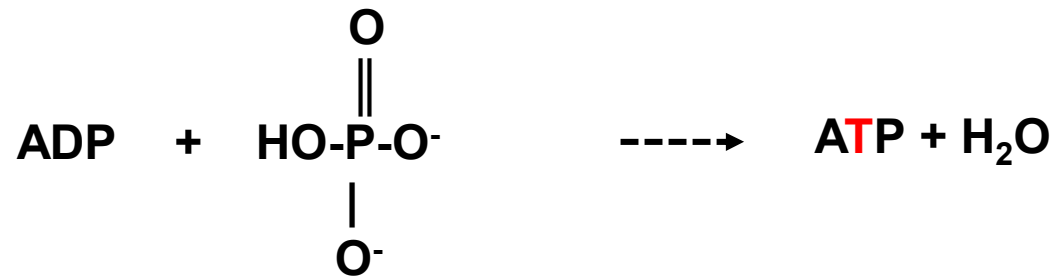


Può essere divisa in due semi-reazioni

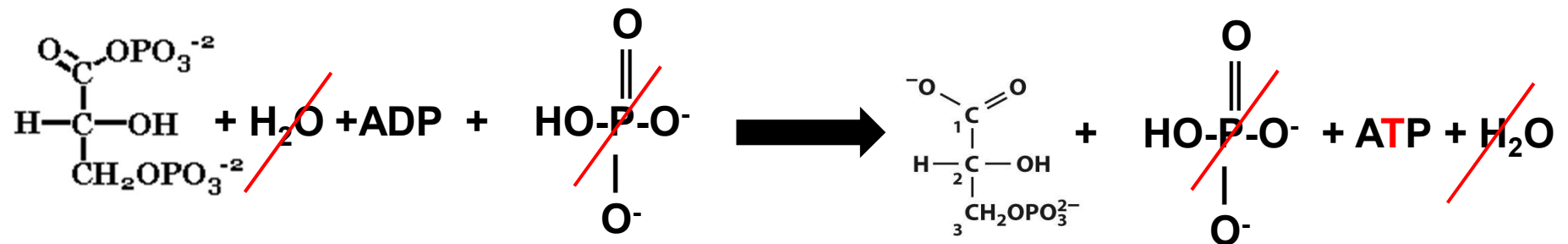
Semireazione esoergonica



Semireazione endoergonica



Sommando le due semireazioni

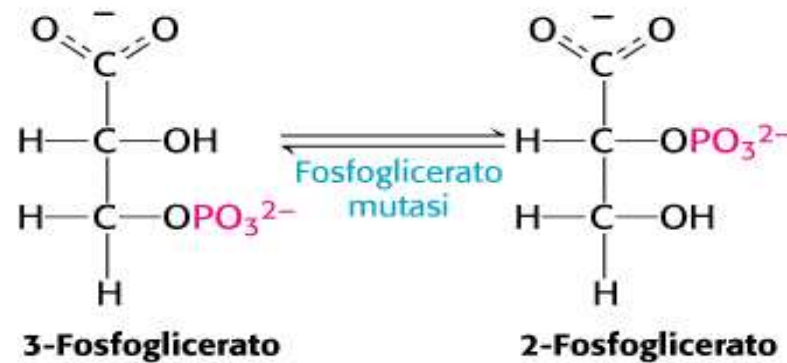




Fosforilazione a livello del substrato

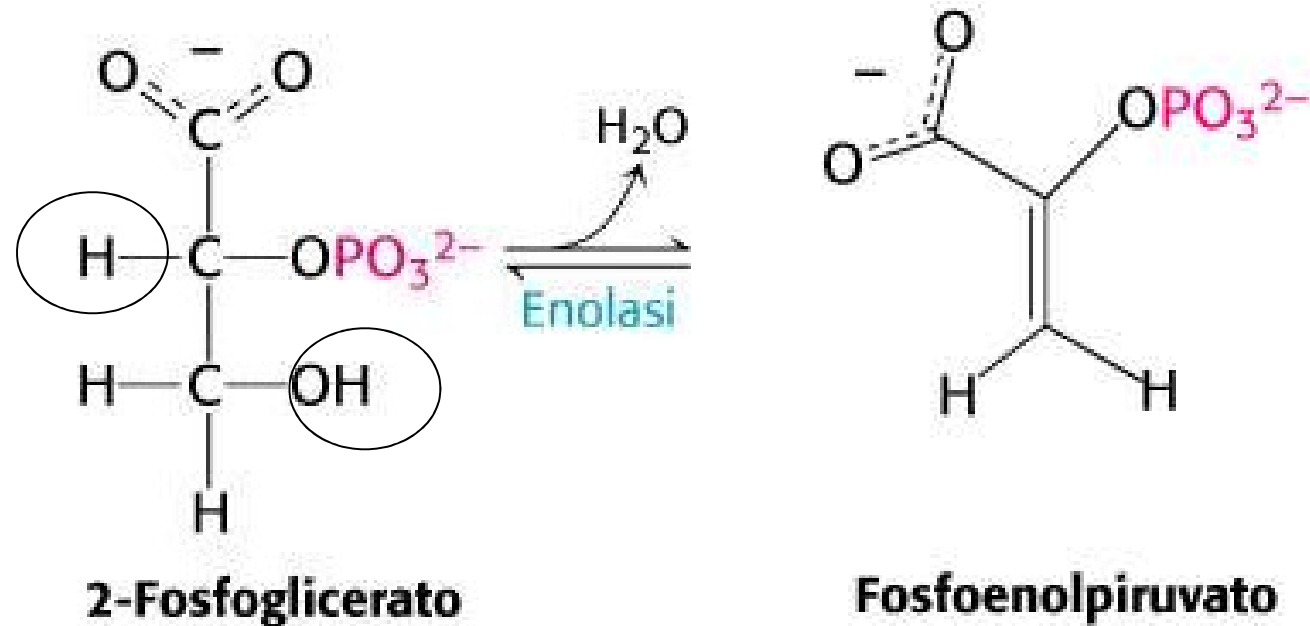
Dal composto 1,3 bifosfoglicerato si recupera, attraverso la sintesi di una molecola di ATP, l'energia precedentemente investita (2x).

Ottava reazione: isomerizzazione del 3PG



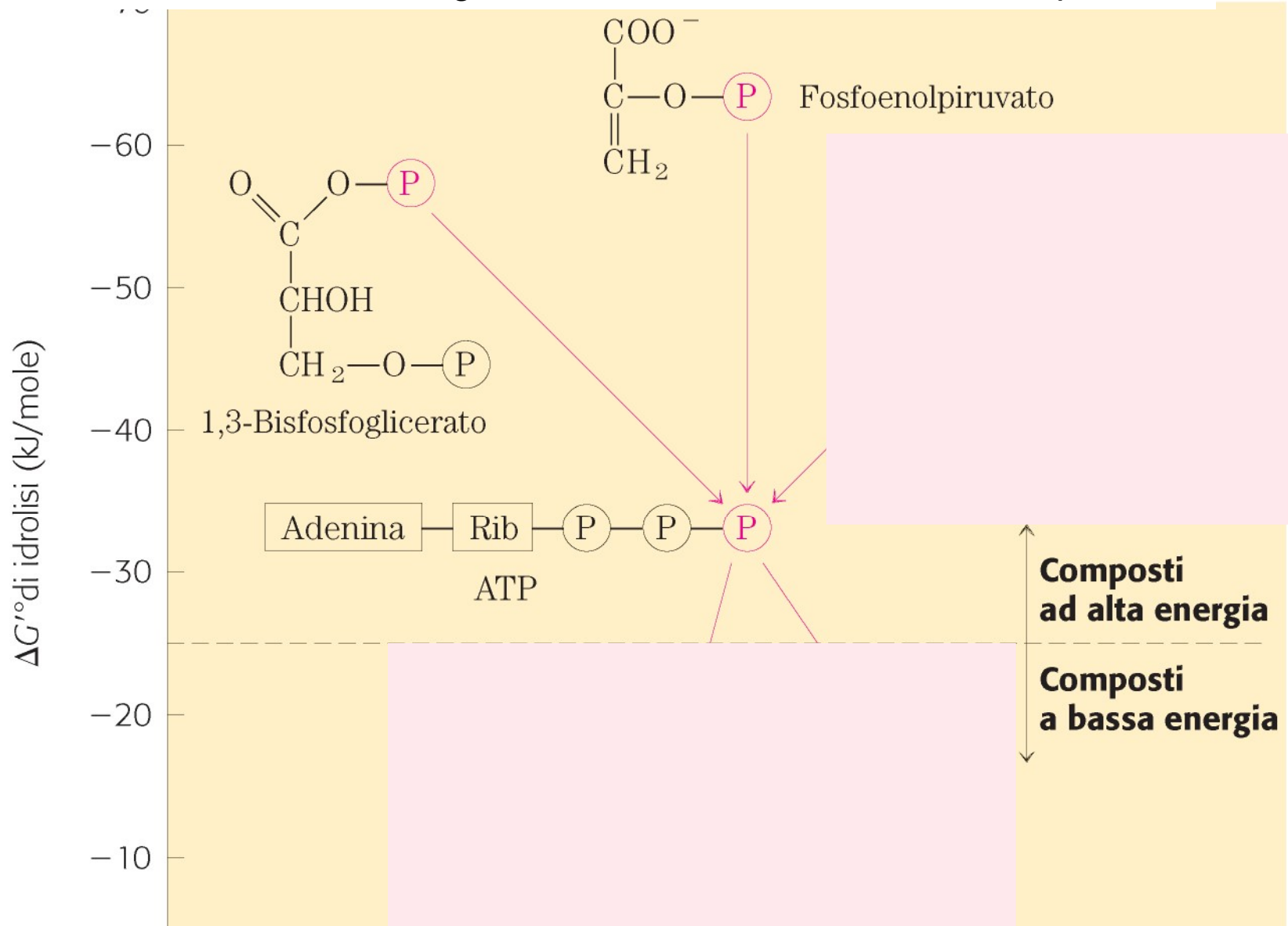
La **fosfoglicero mutasi** è una **fosfotransferasi** intramolecolare: sposta il fosforile dalla posizione 3 alla posizione 2. E' ancora un legame fosfo-estere.

Nona reazione: deidratazione del 2PG



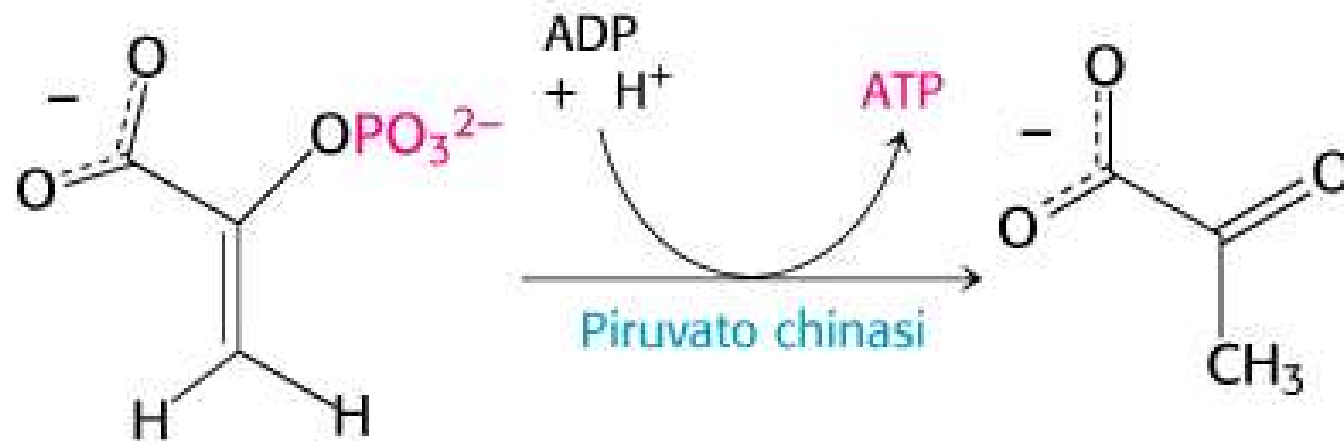
Con una **deidratazione** (\neq da deidrogenazione), catalizzata **dall'enolasi**, si ottiene un doppio legame nel fosfoenolpiruvato (legame di enol-estere, cioè un OH legato ad un C con doppio legame).

$\Delta G'^{\circ} = -61,9 \text{ kJ/mole}$ è l'energia liberata dall'idrolisi del Fosfoenolpiruvato



L'energia liberata dall'idrolisi del Fosfoenolpiruvato è sufficiente per la sintesi di una molecola di ATP

Decima reazione: trasferimento del fosfato da PEP a ADP



Fosfoenolpiruvato

Piruvato

Seconda fosforilazione dell'ADP a livello del substrato

1a fase

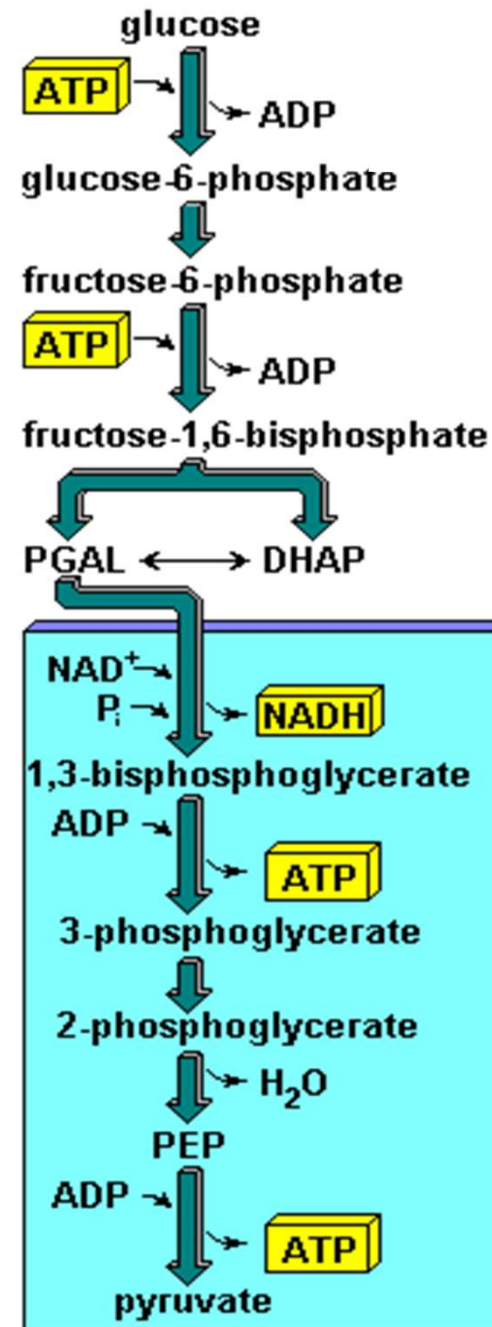
-2 molecole di ATP sono idrolizzate per innescare la catena di reazioni

- 5 reazioni: **glucosio** (6C) → → 2 x **GA-3P** (3C)

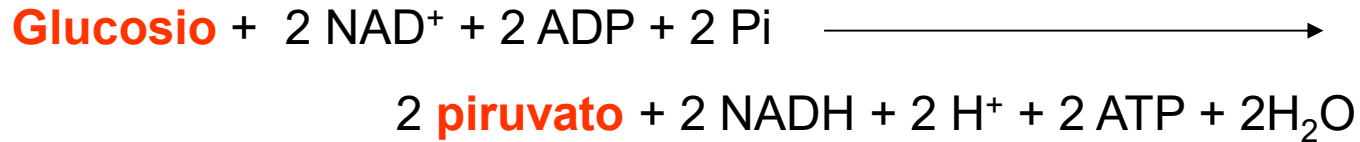
2a fase

-5 reazioni: 2 x **GA-3P** → → 2 x **piruvato**.

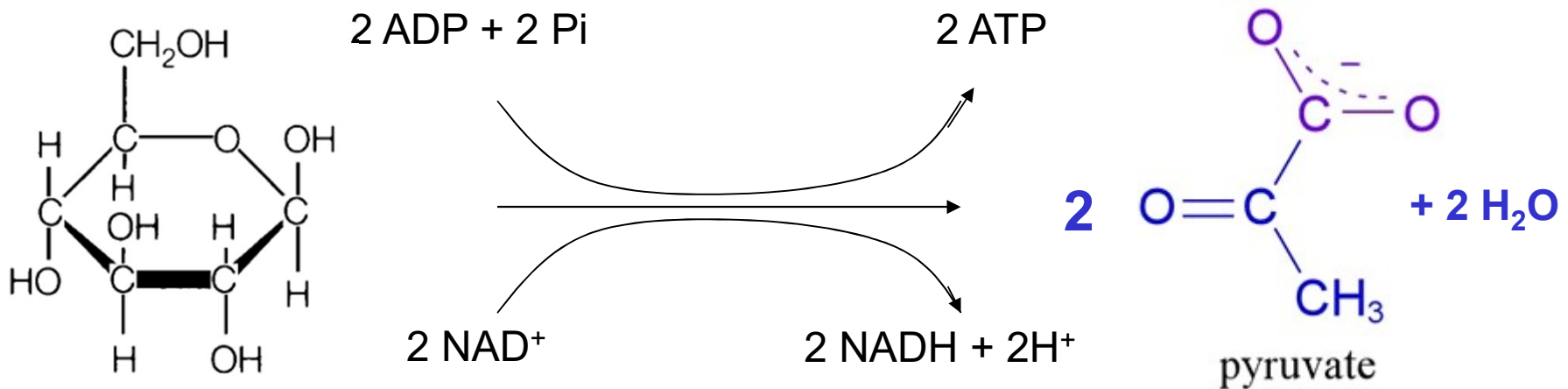
- sono prodotte quattro molecole di ATP e due di NADH



Stechiometria e bilancio energetico della glicolisi



I reagenti della glicolisi sono **NAD⁺**, **ADP**, **Glucosio** e **P_i**.
I prodotti della glicolisi sono **NADH**, **ATP** e **Piruvato**.



Variazioni di energia libera nella glicolisi

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Table 14-1. $\Delta G^{\circ'}$ and ΔG for the Reactions of Glycolysis in Heart Muscle^a

Reaction	Enzyme	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ · mol ⁻¹)	ΔG (kJ · mol ⁻¹)
1	Hexokinase	-20.9	-27.2
2	PGI	+2.2	-1.4
3	PFK	-17.2	-25.9
4	Aldolase	+22.8	-5.9
5	TIM	+7.9	+4.4
6+7	GAPDH + PGK	-16.7	-1.1
8	PGM	+4.7	-0.6
9	Enolase	-3.2	-2.4
10	PK	-23.0	-13.9

^aCalculated from data in Newsholme, E.A. and Start, C., *Regulation in Metabolism*, p. 97, Wiley (1973).

$$\Sigma = -74 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Energia derivante dal glucosio nella glicolisi

$$\Sigma \Delta G^{\circ} = -74 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Energia derivante dal glucosio nell'ossidazione completa (fosforilazione ossidativa)



$$-2850 \text{ kJ mol}^{-1}$$

La trasformazione di glucosio in piruvato permette di estrarre solo il 2% dell'energia ottenibile con l'ossidazione completa del glucosio

Regolazione della glicolisi

- Regolazione delle reazioni irreversibili

Nelle vie metaboliche gli enzimi che catalizzano le reazioni irreversibili sono i siti di controllo della via stessa.

Reazione irreversibile:

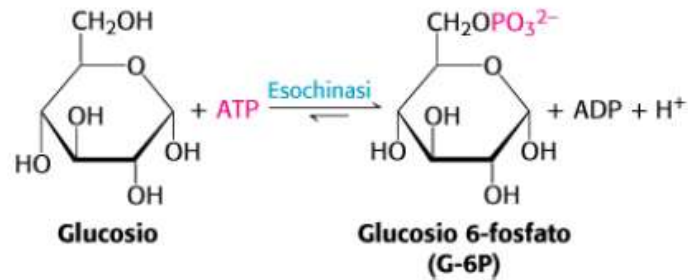
☞ ΔG fortemente negativo

Table 14-1. ΔG° and ΔG for the Reactions of Glycolysis in Heart Muscle^a

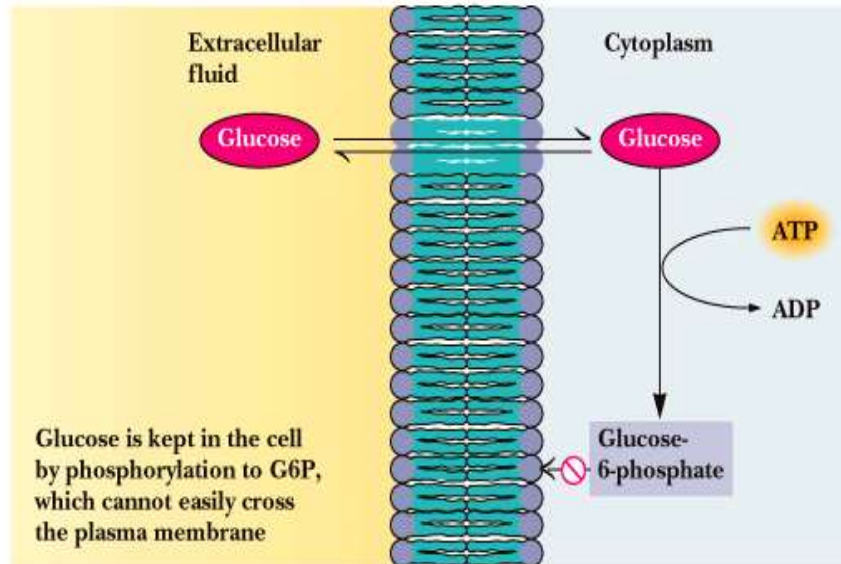
Reaction	Enzyme	ΔG° (kJ · mol ⁻¹)	ΔG (kJ · mol ⁻¹)
1	Hexokinase	-20.9	-27.2
2	PGI	+2.2	-1.4
3	PFK	-17.2	-25.9
4	Aldolase	+22.8	-5.9
5	TIM	+7.9	+4.4
6 + 7	GAPDH + PGK	-16.7	-1.1
8	PGM	+4.7	-0.6
9	Enolase	-3.2	-2.4
10	PK	-23.0	-13.9

^aCalculated from data in Newsholme, E.A. and Start, C., *Regulation in Metabolism*, p. 97, Wiley (1973).

I reazione irreversibile della glicolisi : FOSFORILAZIONE DEL GLUCOSIO



Alle concentrazioni cellulari il ΔG della reazione è molto negativo
☞ **la reazione è irreversibile**



Il glucosio viene trasportato attraverso la membrana plasmatica da una proteina che **NON** riconosce il glucosio 6-fosfato (né altre forme fosforilate)

In conseguenza della fosforilazione il glucosio è INTRAPPOLATO all'interno della cellula

Il reazione irreversibile della glicolisi :

FOSFORILAZIONE DEL FRUTTOSIO 6-FOSFATO

PFK: Fosfofruttochinasi



Il tasso di glicolisi nei mammiferi è controllato principalmente a livello della PFK.

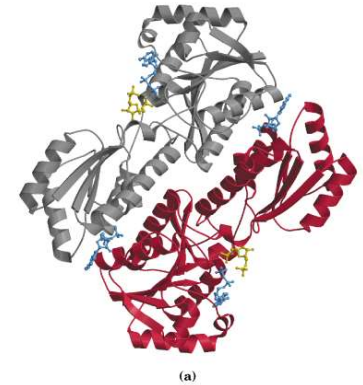
Mentre il glucosio 6-fosfato e il fruttosio 6-fosfato possono essere intermedi di altre vie metaboliche, il fruttosio 1-6-difosfato è solamente intermedio della glicolisi. Questa reazione IMPEGNA lo zucchero nella glicolisi

PFK è importantissimo in quanto catalizza una reazione esoergonica irreversibile che permette al glucosio di entrare nella via glicolitica (escludendolo da altre vie)

Fosfofruttochinasi (PFK)

Enzima tetramerico con diversi modulatori allosterici

Tra questi, l'ATP, importante **INIBITORE ALLOSTERICO**

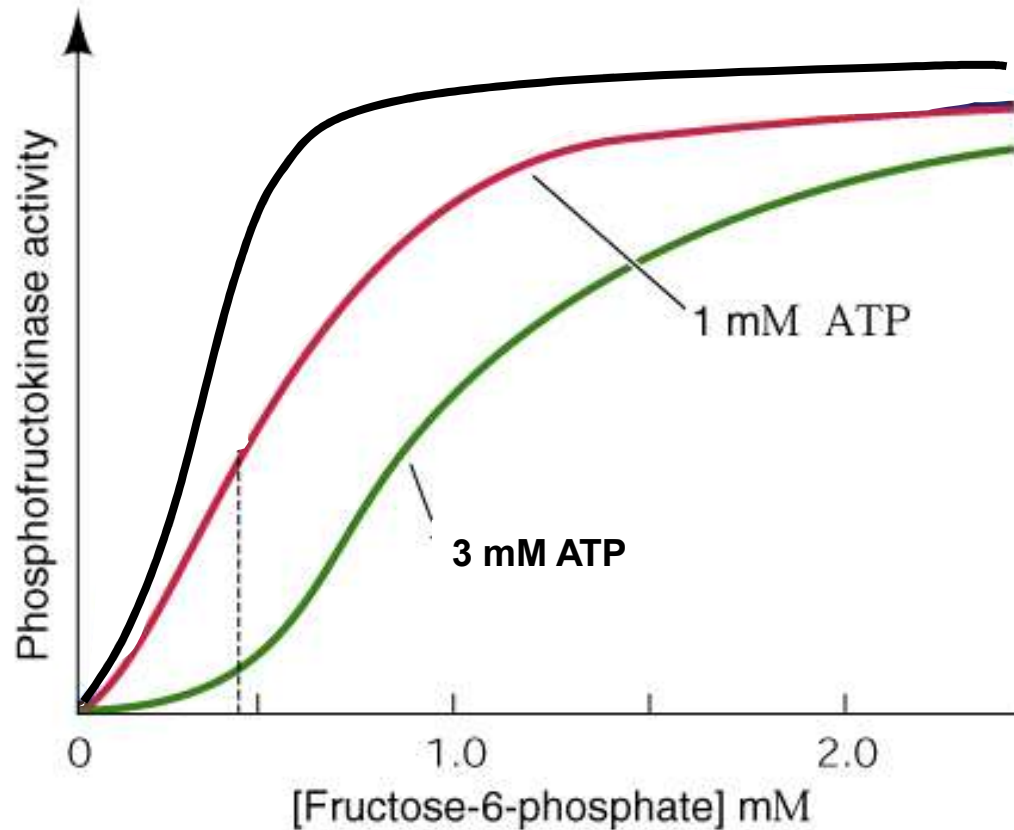


- *PFK aumenta l'attività quando lo stato energetico è basso*
- *PFK diminuisce l'attività quando lo stato energetico è alto*

La cinetica dell'attività in funzione della concentrazione di substrato è sigmoide

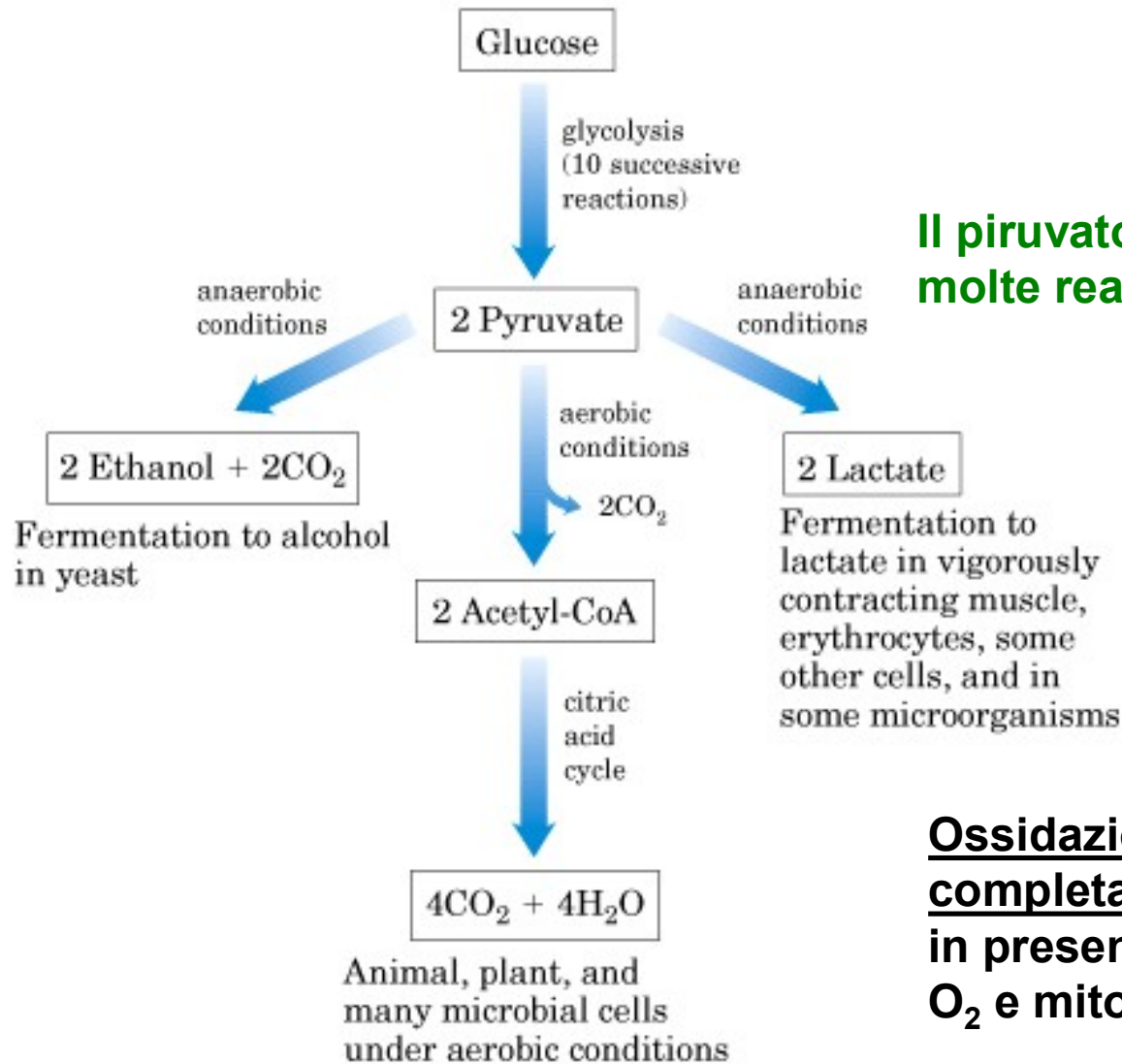


Enzima allosterico



all'aumentare di [ATP]
aumenta la K_m

Il destino del piruvato...

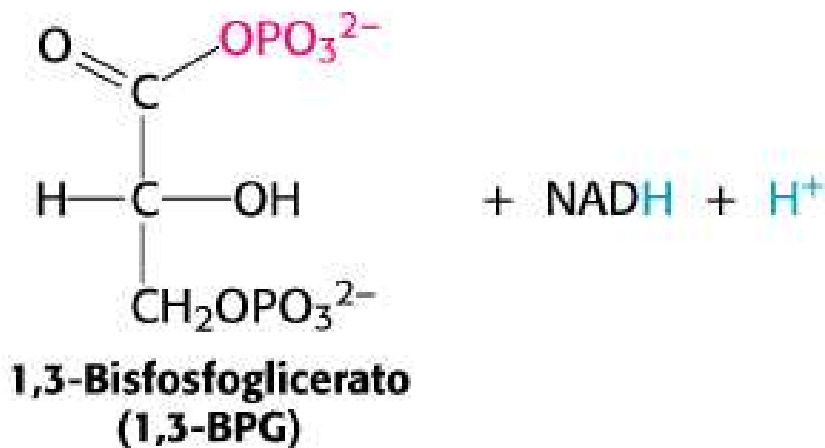


Il piruvato è anche un precursore in molte reazioni anaboliche (biosintetiche).

Fermentazione: il piruvato è RIDOTTO ad acido lattico o etanolo in condizioni anaerobiche o in assenza di mitocondri

Ossidazione completa in presenza di O₂ e mitocondri

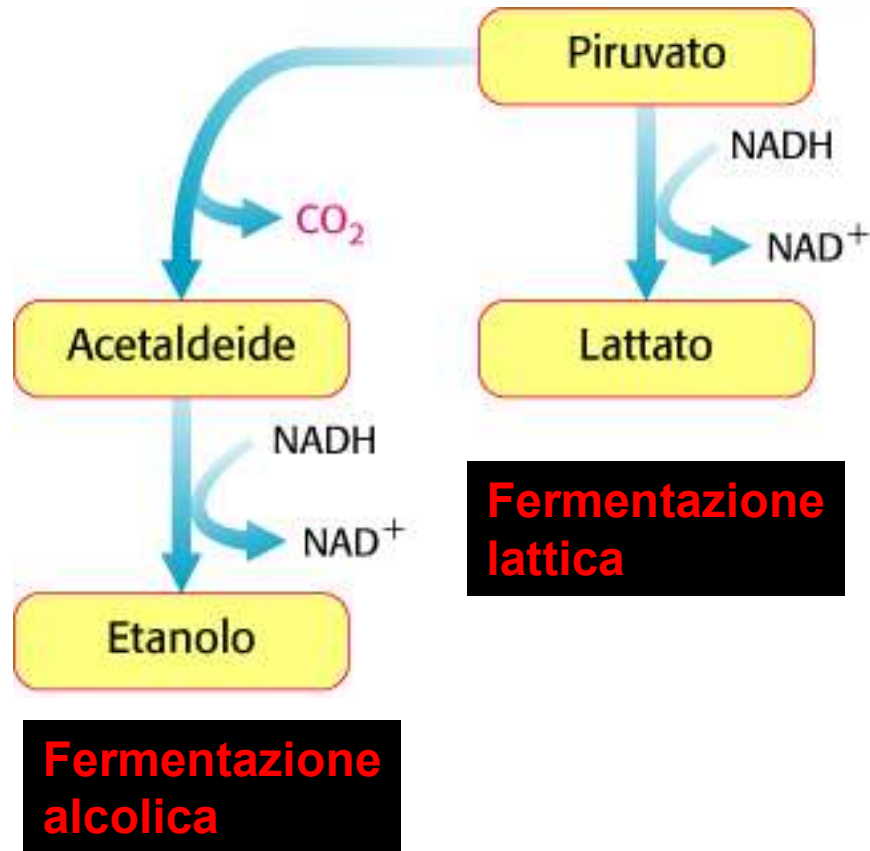
Che funzione hanno le fermentazioni?



La conversione di glucosio in piruvato ha consumato 2 molecole di NAD⁺ (reazione catalizzata dalla G 3-P DH)

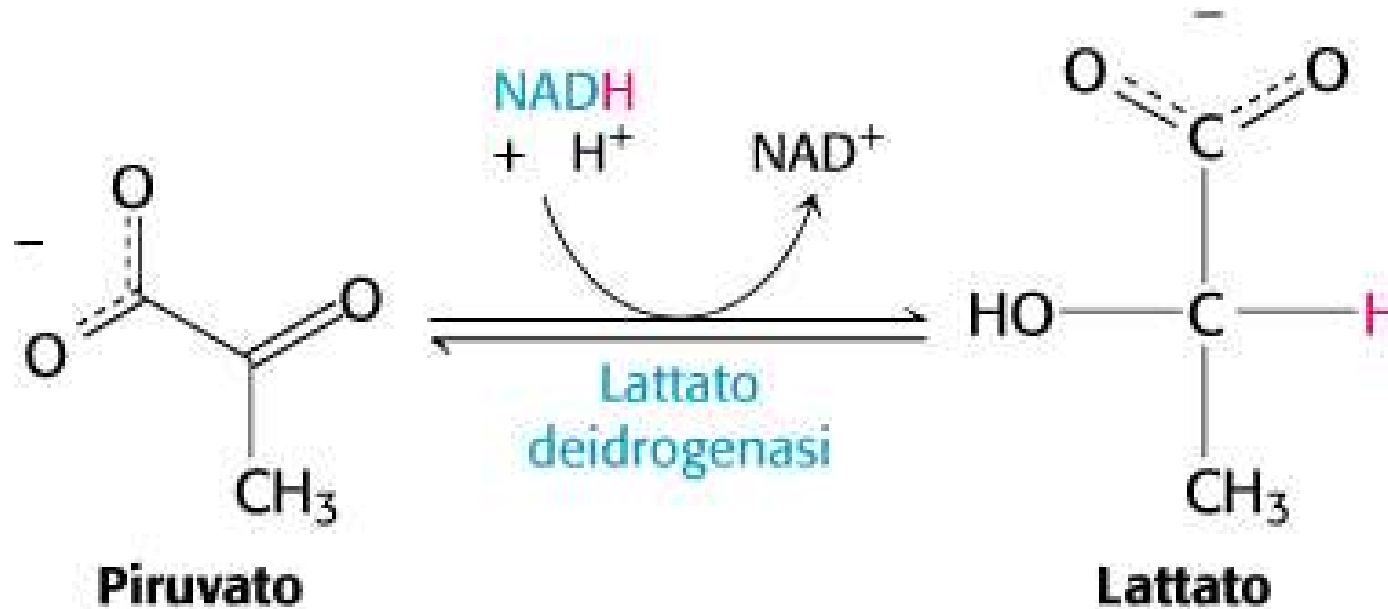
Se il coenzima non venisse nuovamente ossidato, la glicolisi si arresterebbe.

Fermentazioni



In assenza di mitocondri e negli organismi anaerobi le fermentazioni sono **INDISPENSABILI** per rigenerare il NAD⁺.

FERMENTAZIONE LATTICA

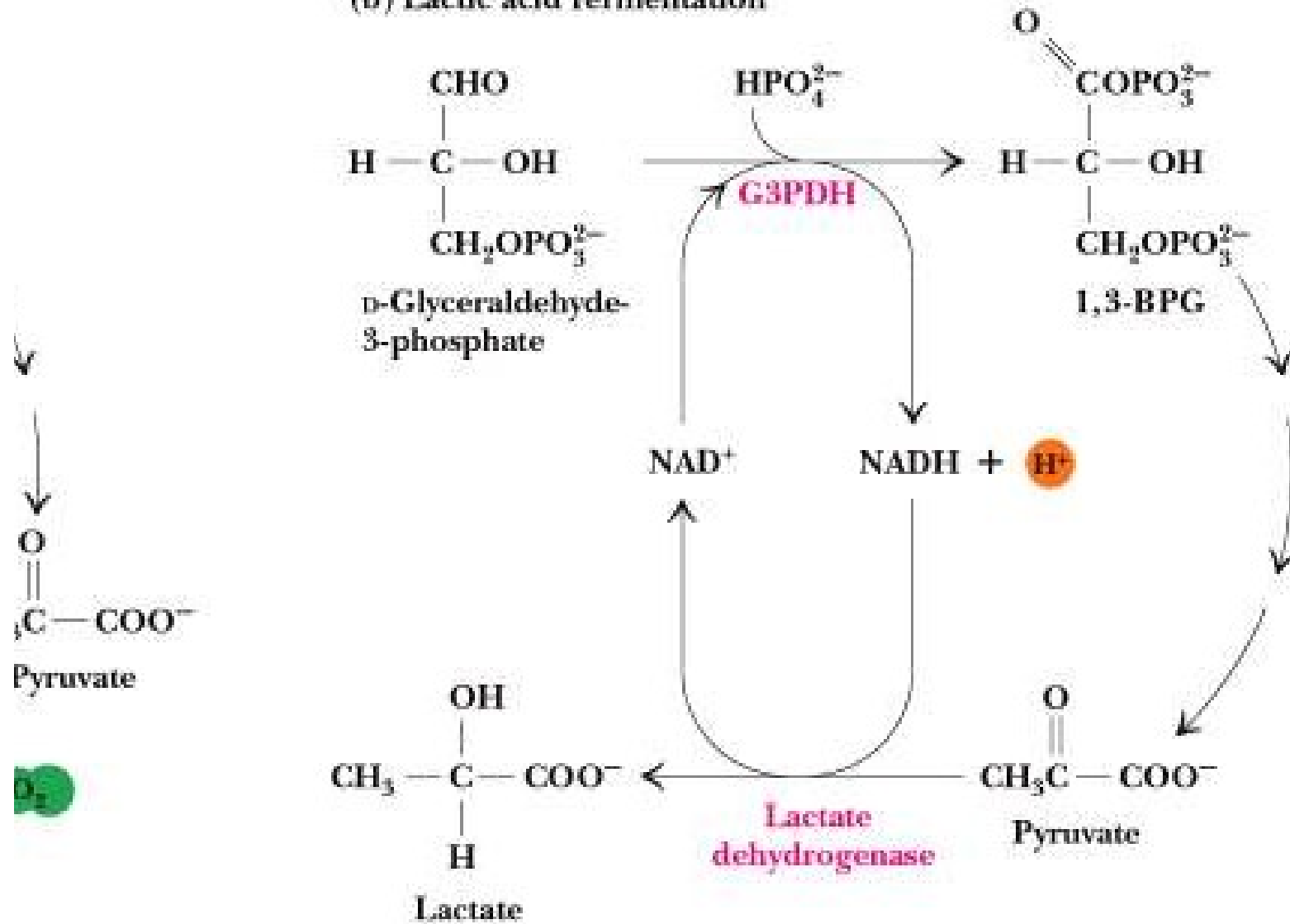


- il piruvato è ridotto a lattato.
- L'ossidazione di NADH a NAD⁺ permette di continuare produzione di ATP nella 2a fase della glicolisi (via anaerobica).

Nei mammiferi è la via caratteristica dei globuli rossi e del muscolo a contrazione veloce.

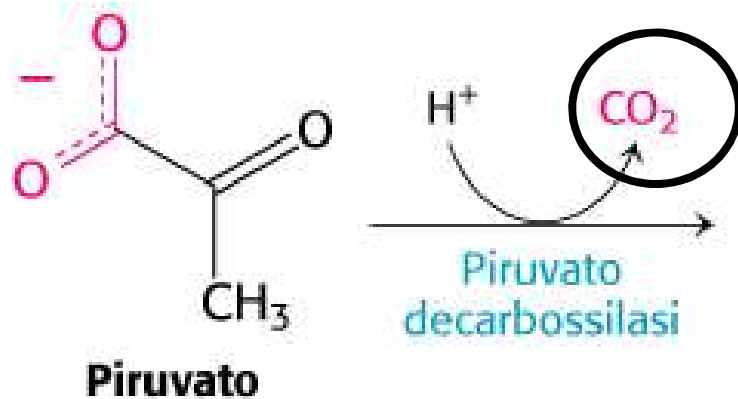
Tipica dei microrganismi ANAEROBI come alcuni LIEVITI e alcuni BATTERI (Lattobacilli intestinali, orali (carie dentale)...))

(b) Lactic acid fermentation



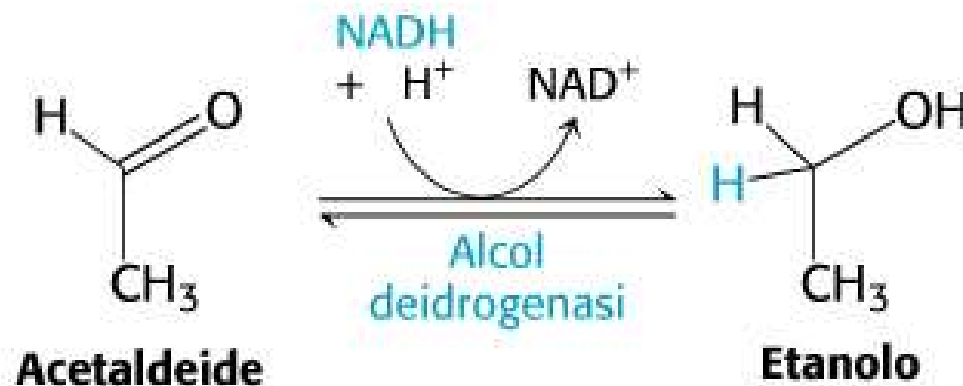
Fermentazione alcolica

La fermentazione alcolica è la trasformazione degli zuccheri del mosto in alcol etilico, anidride carbonica ed altri componenti secondari ad opera di funghi unicellulari appartenenti per lo più al genere *Saccharomyces*.

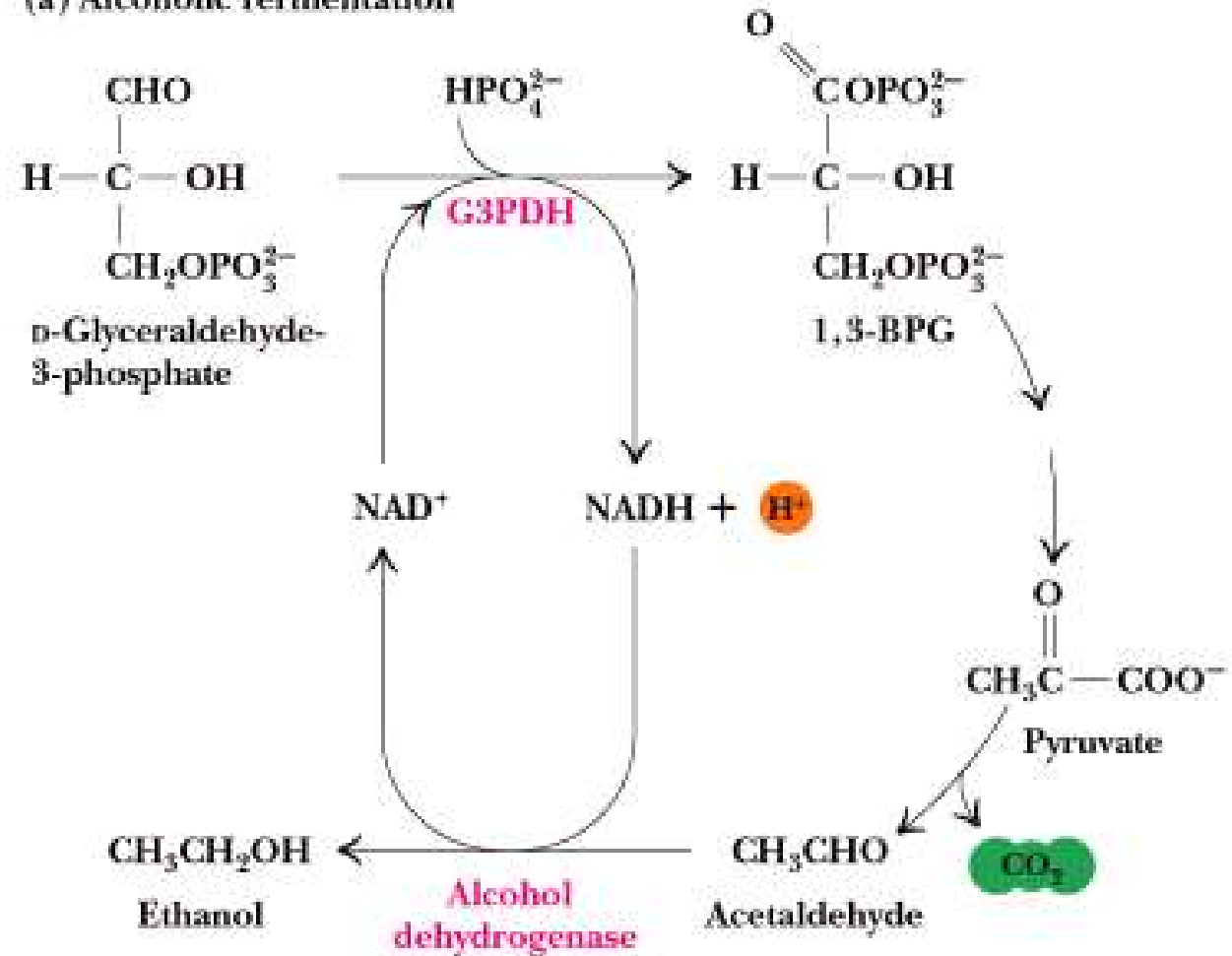


Responsabile delle bollicine nel mosto e nel vino.

Responsabile della lievitazione



(a) Alcoholic fermentation



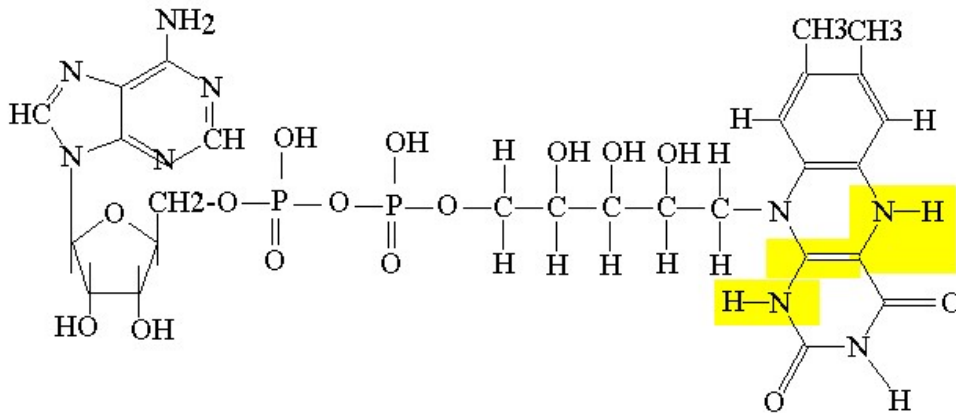
Funzioni tessuto-specifiche della glicolisi negli animali

- **Globuli rossi**
 - Esclusivamente per energia
- **Muscoli scheletrici**
 - Fonte di energia, soprattutto durante lo sforzo intenso
- **Tessuto adiposo**
 - Fonte di glicerolo-P per la sintesi di trigliceridi
 - Fonte di acetil-CoA per la sintesi di acidi grassi
- **Fegato**
 - Fonte di energia
 - Fonte di glicerolo-P per la sintesi di trigliceridi
 - Fonte di acetil-CoA per la sintesi di acidi grassi

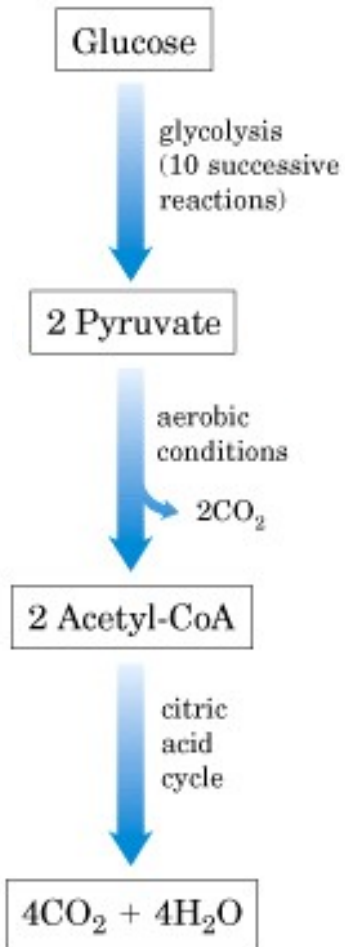
Ossidazione completa del piruvato

In condizioni aerobie (presenza di mitocondri):

☞ Il piruvato è decarbossilato ad Acetil-CoA, che entra nel ciclo di Krebs dove è ulteriormente ossidato fino a CO₂, con ulteriore produzione di NADH e FADH₂



Forma ridotta – idrochinone – FADH₂



Animal, plant, and many microbial cells under aerobic conditions

GLUCOSIO

GLICOLISI

Sistema rapido, reversibile,
avviene anche in assenza di
ossigeno. **Estrae poca energia**

PIRUVATO

LATTATO

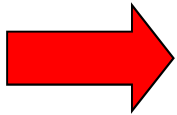
OSSIDAZIONE

Acetil-CoA

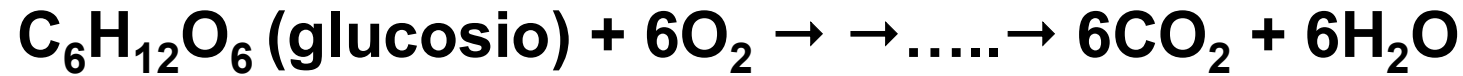
**CICLO DI KREBS E
OSSIDAZIONI
MITOCONDRIALI**

Sistema lento, irreversibile,
Richiede la presenza di
ossigeno **Estrae molta energia**

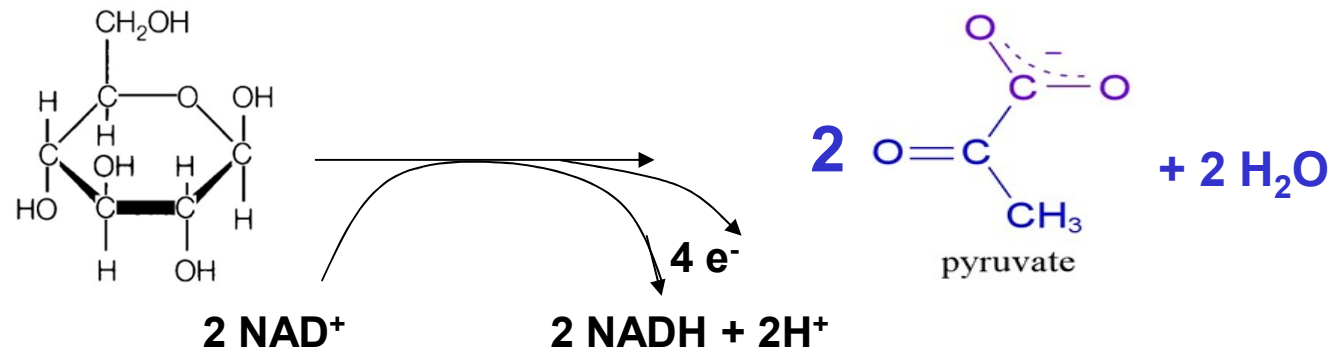
ANIDRIDE CARBONICA ED ACQUA



OSSIDAZIONE DEL GLUCOSIO

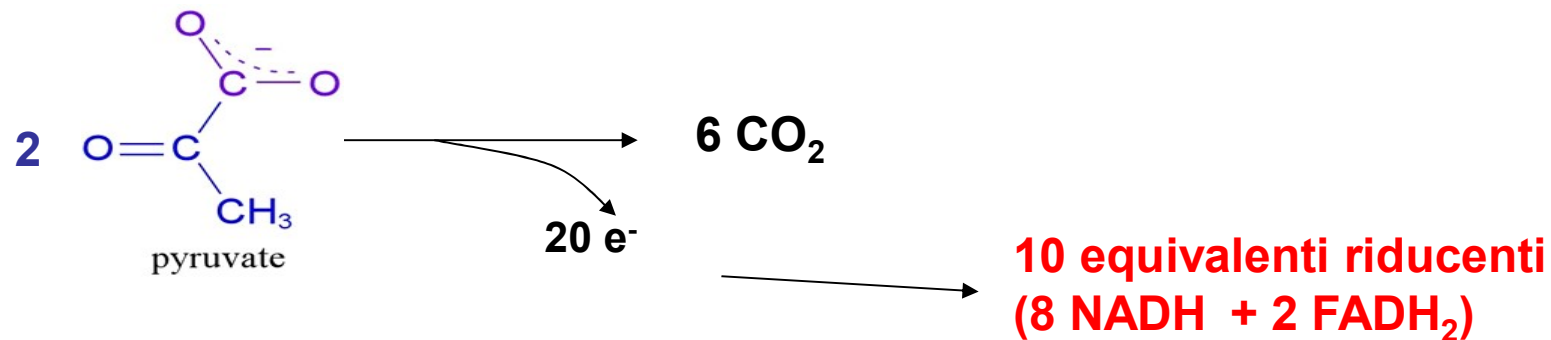


I tappa: GLICOLISI



2 equivalenti riducenti

II e III tappa:

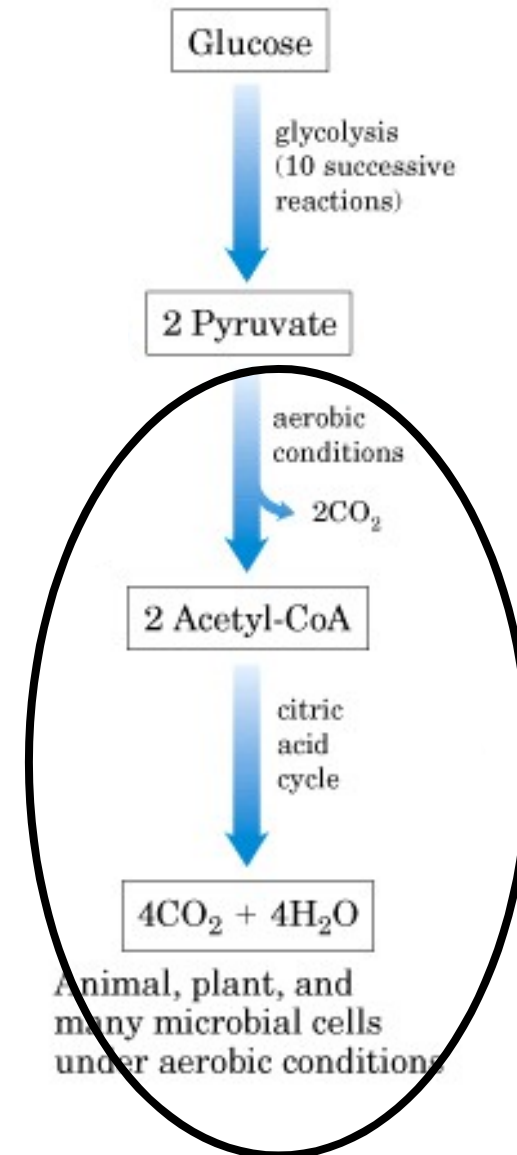


Ossidazione completa del piruvato

In condizioni aerobie, in presenza di mitocondri:

☞ Il piruvato è ossidato ad Acetil-CoA, che entra nel **ciclo di Krebs** dove è ulteriormente ossidato fino a CO_2 , con produzione di NADH e FADH_2

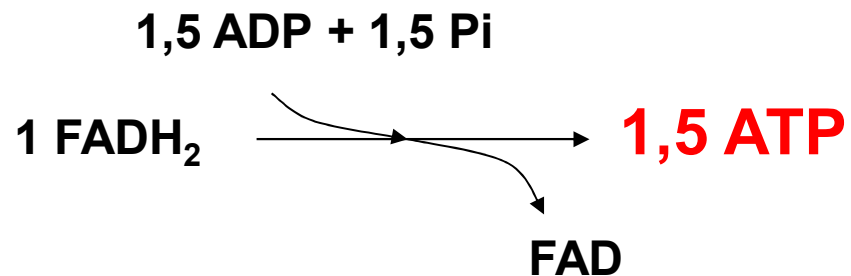
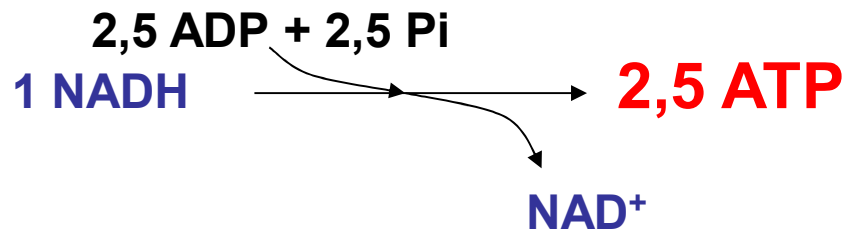
☞ il NADH e il FADH_2 passano gli elettroni ad un sistema di trasporto che termina con ossigeno molecolare (**catena respiratoria mitocondriale**)

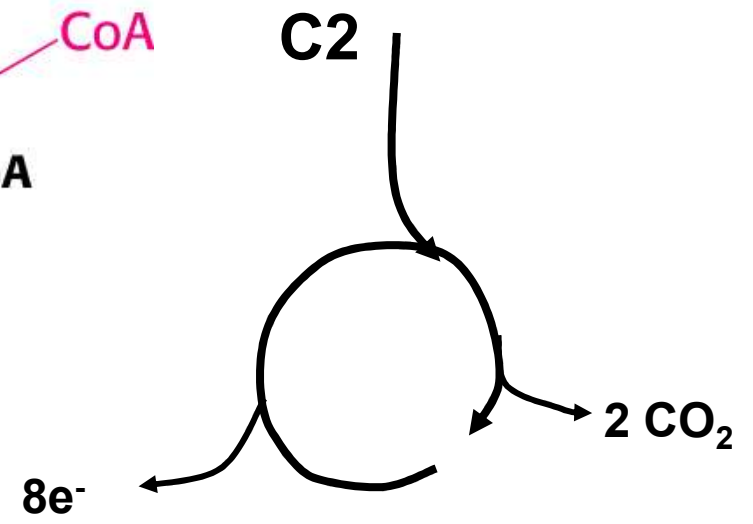
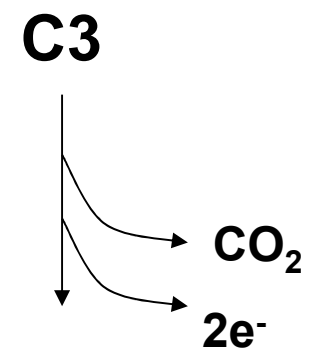
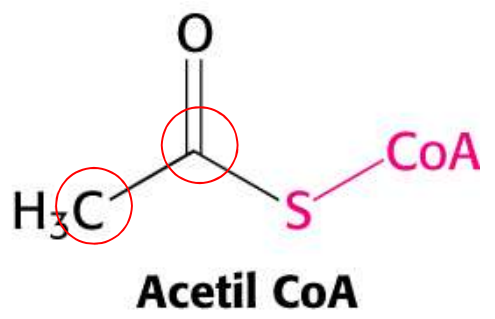
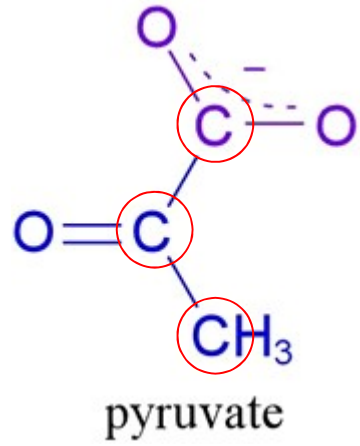
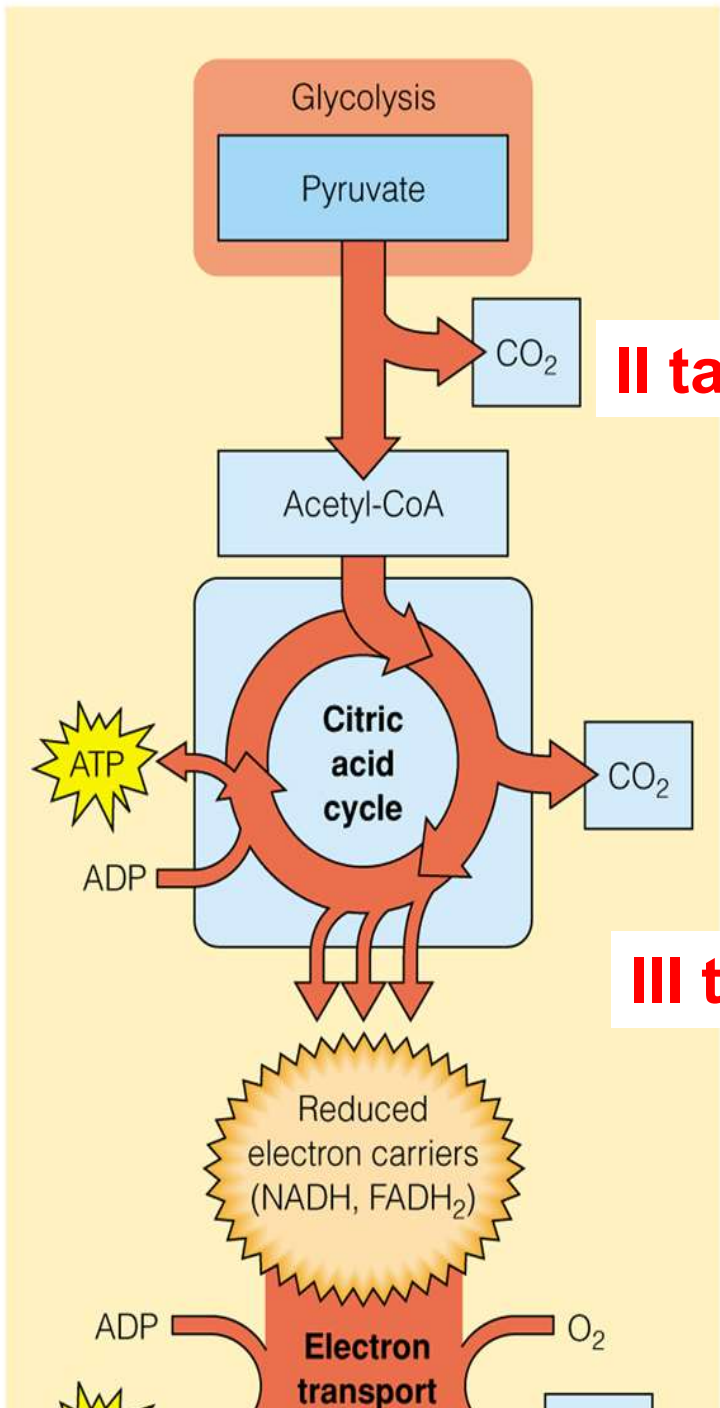


Gli elettroni immagazzinati nei coenzimi NADH e FADH₂ fluiscono attraverso la CATENA DI TRASPORTO degli ELETTRONI.

L'acceptore finale degli elettroni è O₂, che viene ridotto ad H₂O

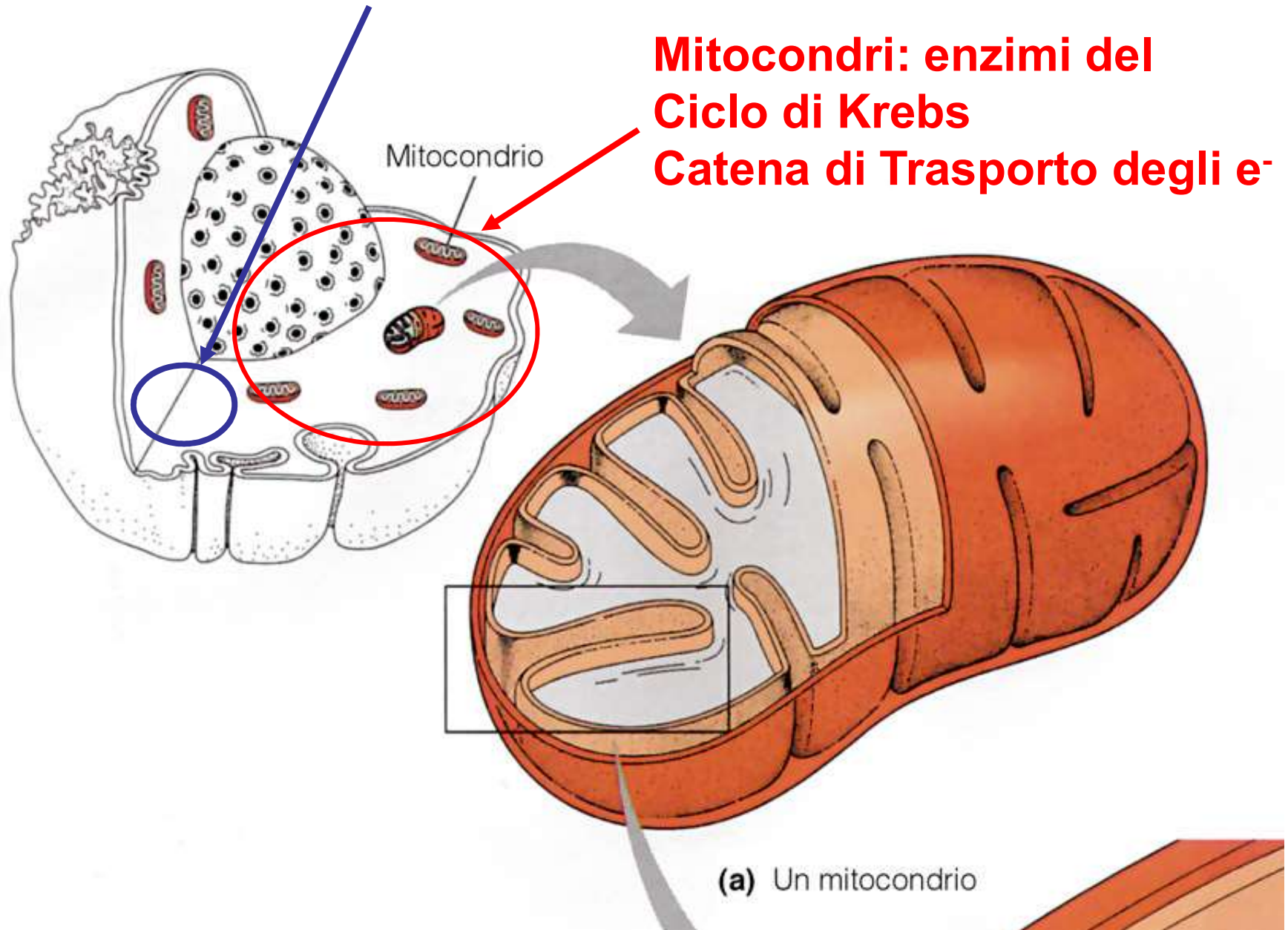
- l'energia viene rilasciata lungo la catena per formare ATP

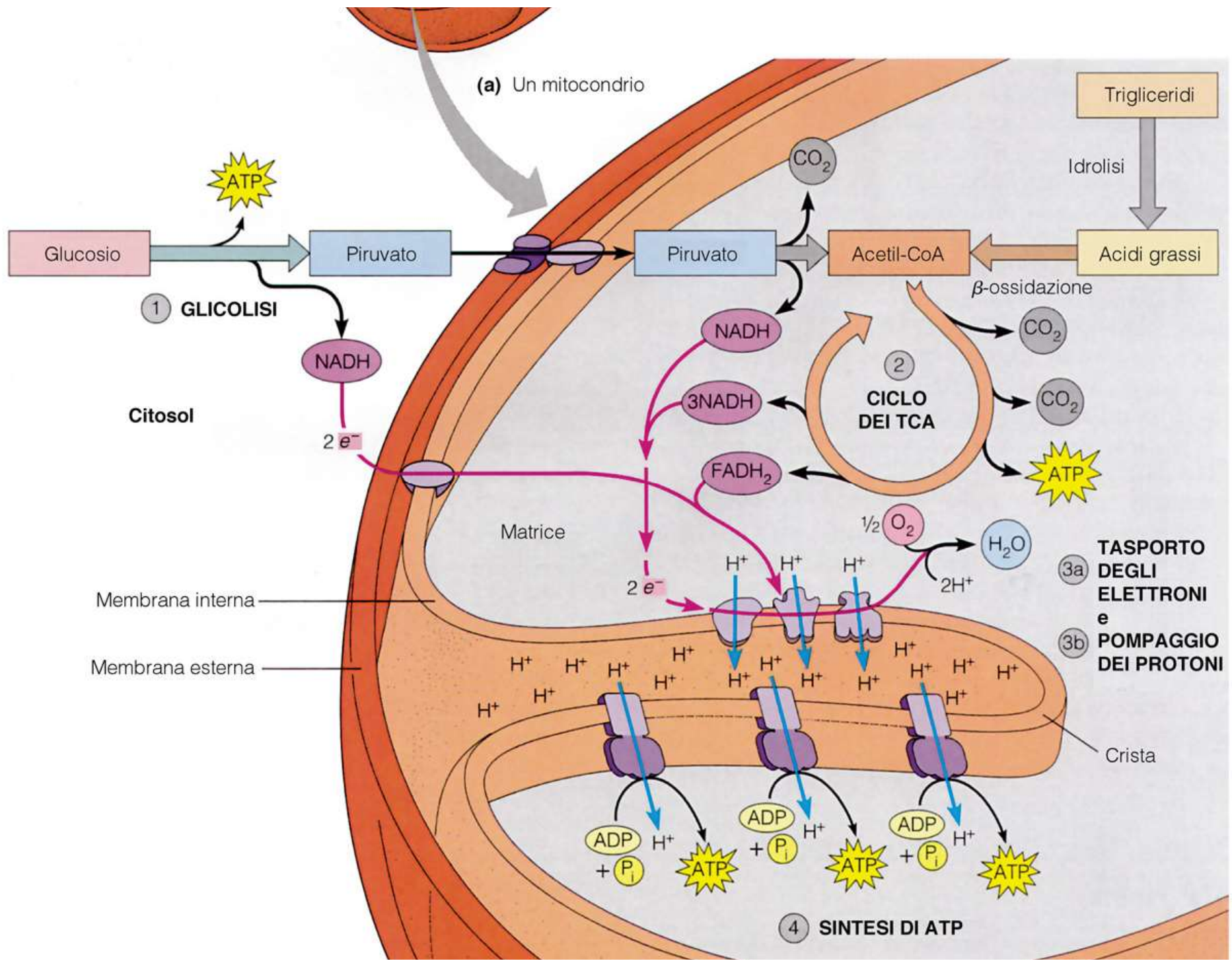




Citosol: enzimi della GLICOLISI

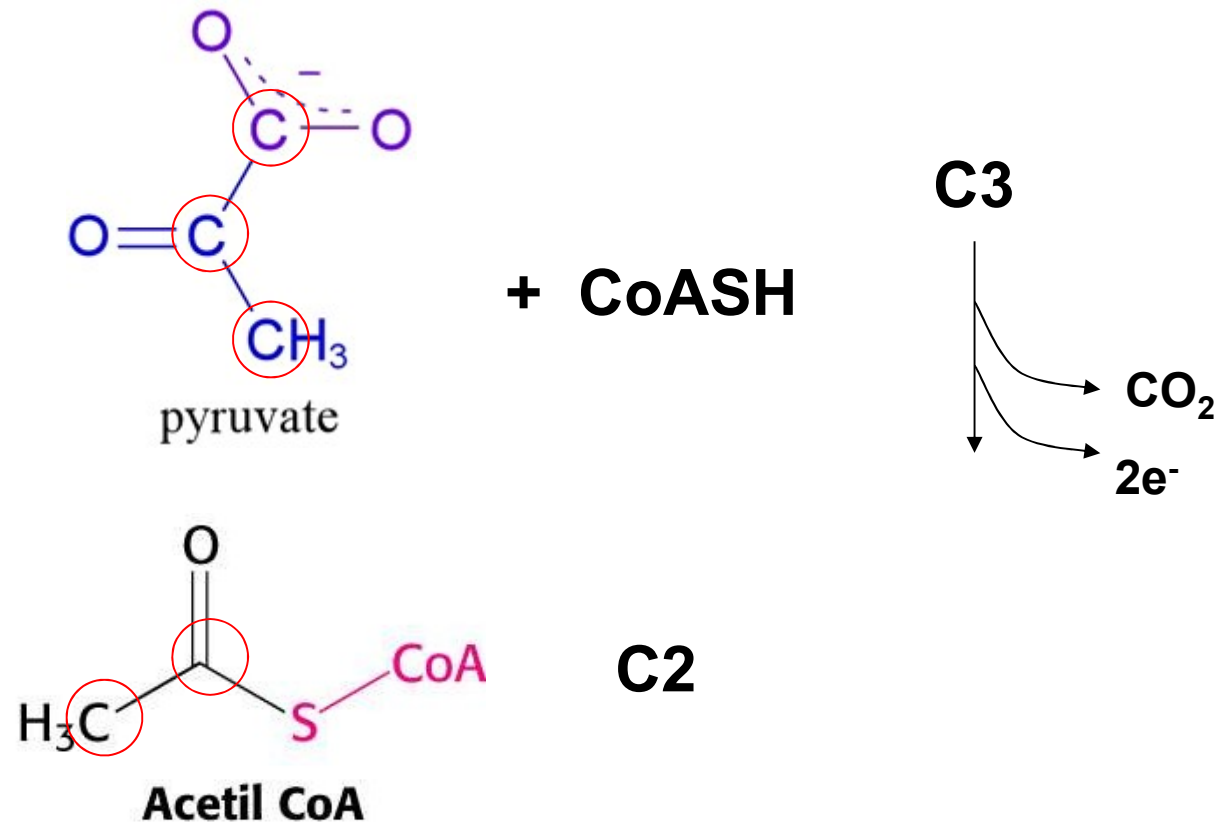
**Mitocondri: enzimi del
Ciclo di Krebs
Catena di Trasporto degli e⁻**



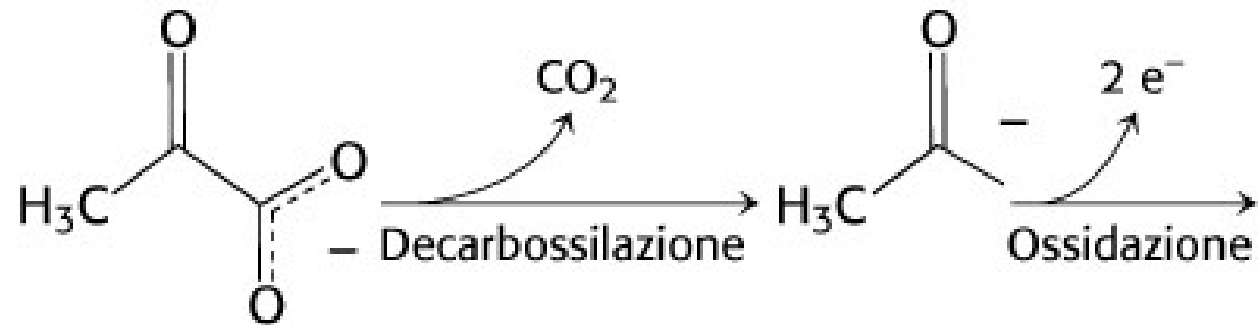


La decarbossilazione ossidativa del piruvato per formare AcetilCoA è il legame tra glicolisi e ciclo di Krebs

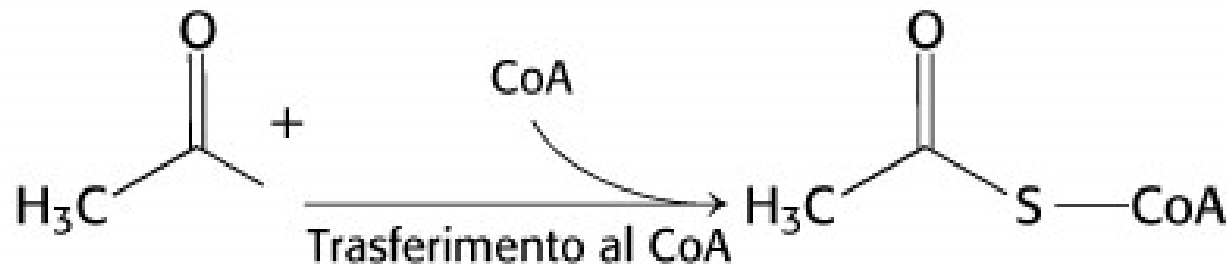
II tappa



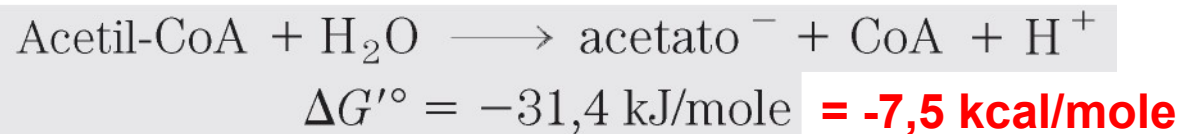
Decarbossilazione ossidativa del piruvato



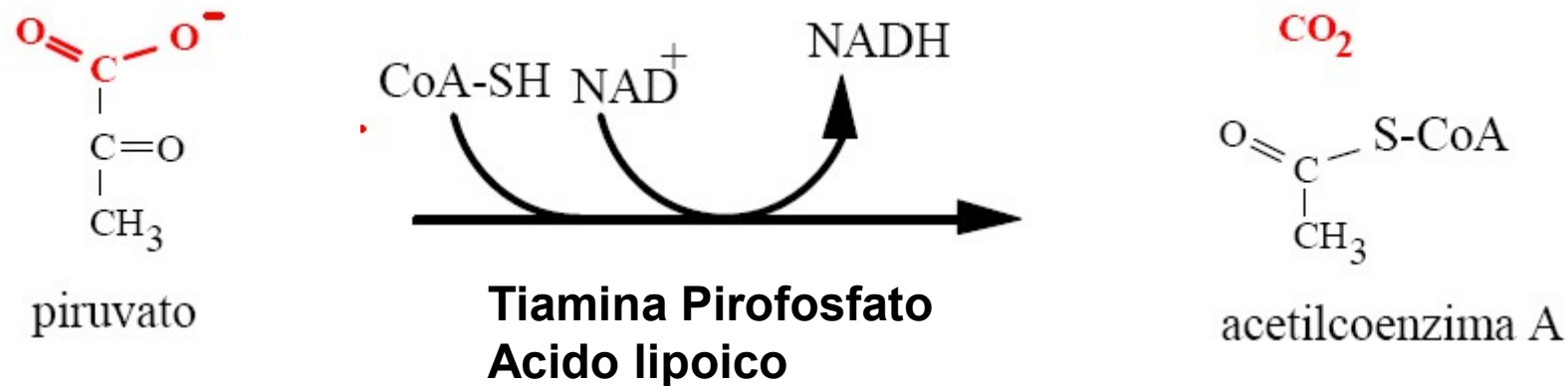
Piruvato



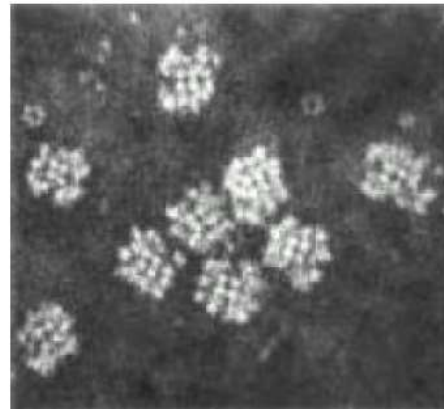
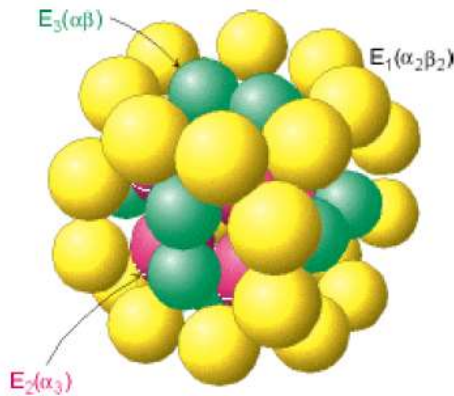
Acetil CoA



Decarbossilazione ossidativa del piruvato: la PIRUVATO DEIDROGENASI



PIRUVATO DEIDROGENASI: enzima MULTIMERICO



Subunità con funzioni diverse:

- a.) ossidazione
- b.) decarbossilazione
- c.) condensazione dell'acetile con il CoASH

PIRUVATO DEIDROGENASI:

Coenzimi essenziali

a) NAD⁺

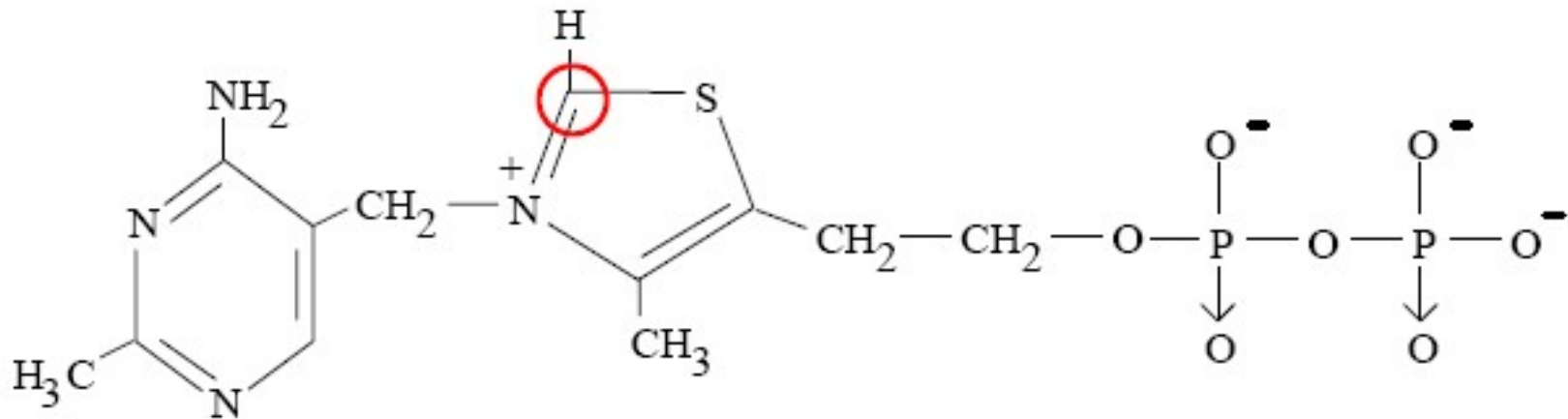
b) CoASH

c) Tiamina Pirofosfato (derivato della Tiamina, Vit.B1)

d) Acido Lipoico

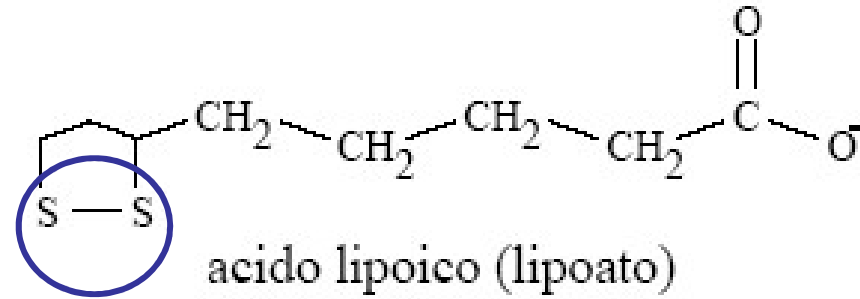
Coenzima: tiamina pirofosfato

è il coenzima delle reazioni di DECARBOSSILAZIONE

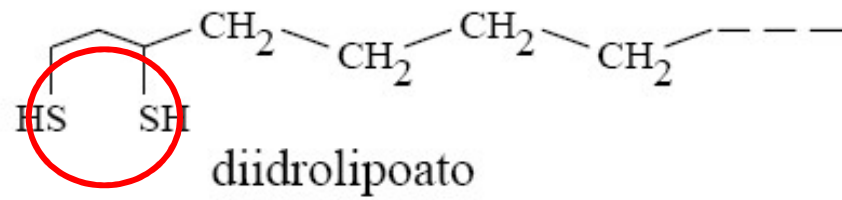


ACIDO LIPOICO

Forma ossidata

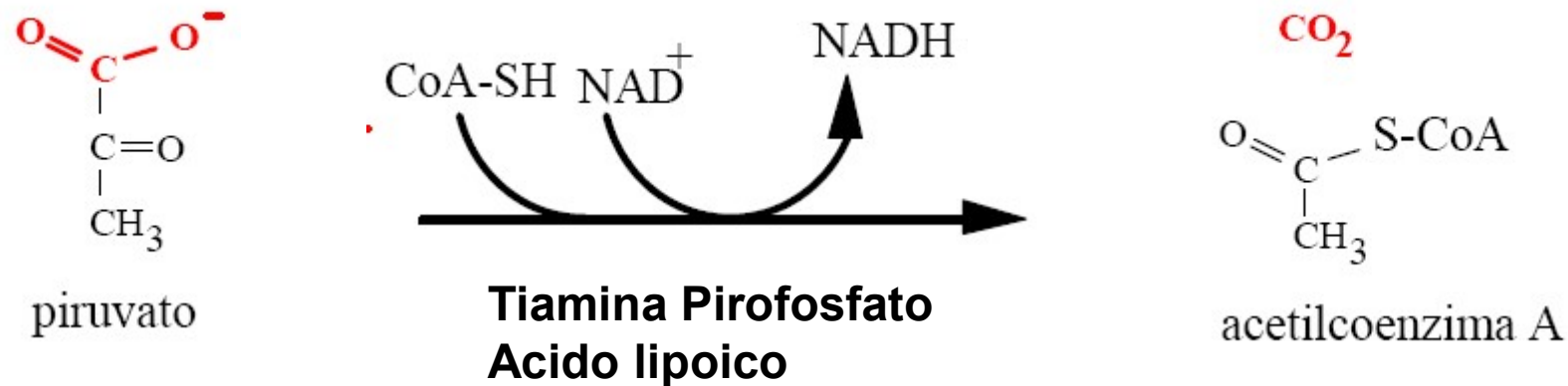


Forma ridotta

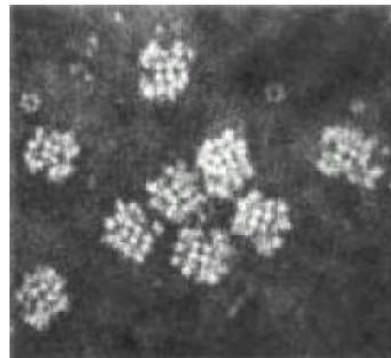
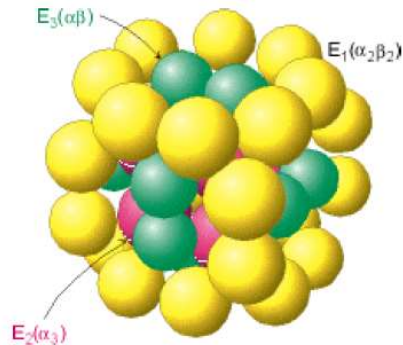


Formazione di legami TIOESTERE

Decarbossilazione ossidativa del piruvato



PIRUVATO DEIDROGENASI: vantaggi di un enzima MULTIMERICO



La geometria compatta garantisce

- la stretta vicinanza di enzimi e substrati nelle varie fasi della reazione
- Meccanismi di controllo più efficienti