

REGOLAZIONE COORDINATA DELLA GLICOLISI E DELLA GLUCONEOGENESI

REGOLAZIONE DEL CATABOLISMO DEI CARBOIDRATI

La velocità della glicolisi varia dipendentemente dalle necessità cellulari per ATP. I prodotti di degradazione del glucosio sono anche precursori o intermedi di altre vie metaboliche. Gli enzimi di regolazione riconoscono e rispondono anche a segnali di altre vie metaboliche.

REGOLAZIONE DELLA GLICOLISI

MUSCOLO E FEGATO

Funzioni del muscolo:

- Contrazione muscolare

Funzioni del fegato:

- Mantenere i livelli ematici di Glc
- Immagazzinare glicogeno
- Rilasciare Glc dal glicogeno
- Via del pentoso fosfato
- Sintesi di intermedi

Gli enzimi regolatori sono:

Esochinasi (glucochinasi)

Fosfofrutto chinasi 1 (PFK1)

Piruvato chinasi

REGOLAZIONE DELLA ESOCINASI

Ci sono 4 isoalimi della esochinasi (I-IV) codificati da 4 geni diversi e con diversa localizzazione.

(ISOZIMI = enzimi leggermente diversi che catalizzano la stessa reazione)

Esocinasi del muscolo isoforme I-III

Esocinasi epatica isoforma IV – glucochinasi

Le diverse forme della esochinasi presenti nel fegato e nel muscolo riflettono il diverso ruolo che questi organi svolgono nel metabolismo dei carboidrati:

-il muscolo utilizza glucosio per produrre energia: ha bisogno di una fonte di glucosio rapidamente utilizzabile durante l'ossidazione anaerobica in seguito a contrazione muscolare. Produzione rapida di ATP

-il fegato mantiene costante la concentrazione di glucosio ematico, producendo ed esportando glucosio ai diversi tessuti sulla base delle singole necessità, rimuovendo e conservando glucosio come glicogeno quando c'è un apporto eccessivo da parte della dieta.

REGOLAZIONE DELLA ESOCHINASI

Le esochinasi I-III hanno una K_M per il glucosio di circa 0.1 mM, più bassa della sua concentrazione nel sangue (circa 4-5 mM).

La **glucochinasi** (esochinasi IV) si trova nelle **cellule epatiche** ed ha una K_M di circa 10 mM.

Le esochinasi I-III sono inibite dal prodotto della reazione, il Glc-6-P.

La glucochinasi NON è inibita dal Glc-6-P.

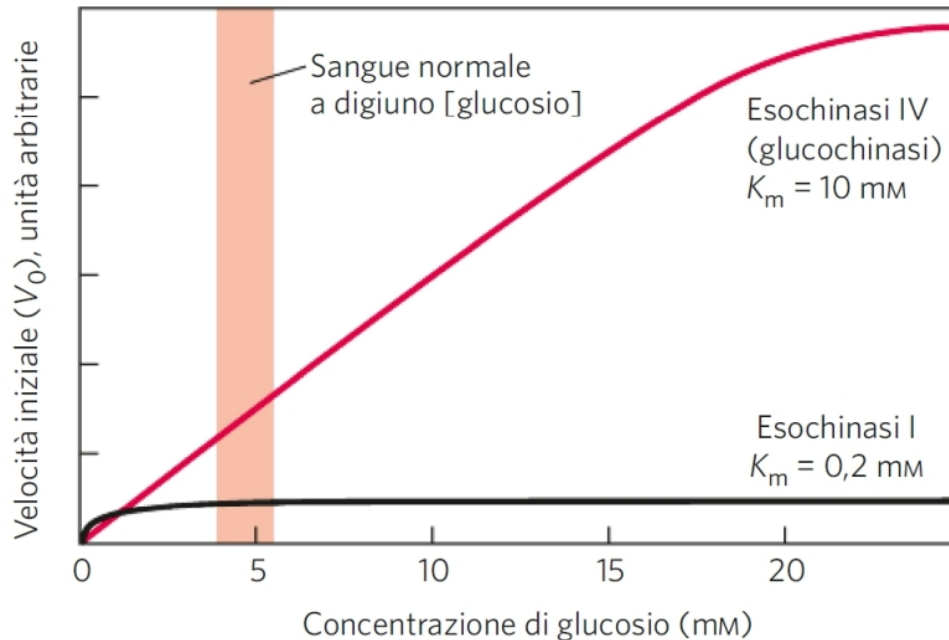
Il trasporto del Glc attraverso la membrana plasmatica delle cellule epatiche è veloce (Trasportatore GLUT2). Quindi la conc. di Glc all'interno delle cellule riflette la sua concentrazione ematica. Qualunque aumento della conc. ematica di Glc porta ad un aumento della fosforilazione del glucosio da parte della glucochinasi (esochinasi IV). Questo vale anche al contrario. Il suo ruolo è fornire Glc-6P per la sintesi di glicogeno e ac. grassi. La glucochinasi è quindi regolata dalla conc. di Glc del sangue.

La glucochinasi è inibita quando si lega a una proteina regolatrice e questo legame è più forte in presenza dell'effettore allosterico Fru-6P. Quando [Glc] ematica è elevata (dopo un pasto) Glc entra negli epatociti, spiazzando il Fru-6P dalla proteina causando anche la dissociazione della proteina regolatrice, e attiva la glucochinasi. Quando [Glc] ematica diminuisce sotto a 5 mM, Fru-6P si associa alla proteina regolatrice inibendo così la glucochinasi. Questo meccanismo di regolazione impedisce che il fegato competi con gli altri organi per il Glc, quando la sua concentrazione è bassa.

Se Glc è presente in eccesso viene convertito in glicogeno. L'insulina secreta dal pancreas nel sangue quando la concentrazione di Glc è alta, aumenta i livelli di glucochinasi promuovendo la trascrizione del gene.

Una bassa K_M dell'esochinasi per il glucosio funziona molto bene in tessuti come quello cerebrale, dal momento che riesce a fosforilare il Glc anche quando la sua conc nel sangue è molto bassa.

DIFFERENZE TRA LE PROPRIETÀ CINETICHE DELL'ESOCHINASI IV (GLUCOCHINASI) E DELL'ESOCHINASI DEL MUSCOLO



Esocinasasi del muscolo:
Alta affinità per il glucosio: poiché il glucosio che entra nei miociti dal sangue è sufficiente per saturare l'enzima, questo lavora sempre a velocità massima.

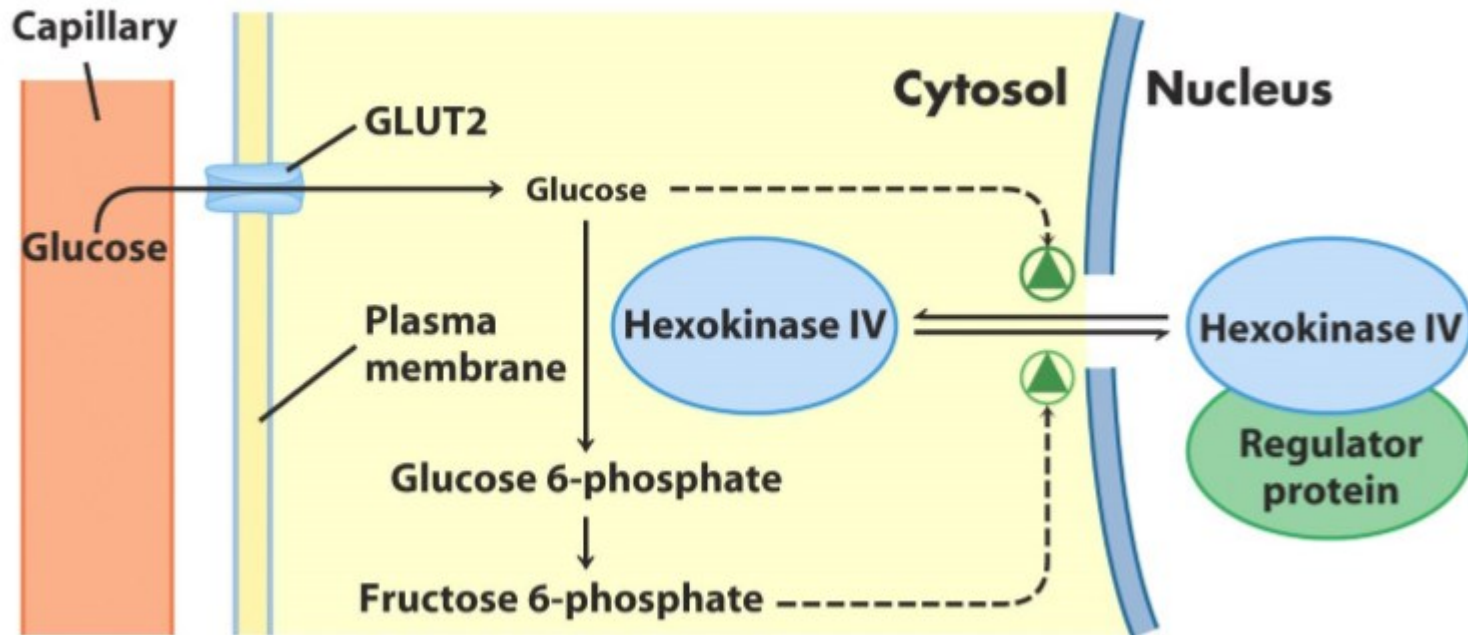
Glucochinasi:

Minore affinità per il glucosio. La concentrazione di glucosio in corrispondenza del quale l'enzima è per metà saturato (K_M) è più elevata della concentrazione normale di glucosio nel sangue. Poiché la concentrazione di glucosio negli epatociti viene mantenuta a un livello simile a quello del sangue, l'attività dell'enzima dipende direttamente dai livelli ematici di glucosio

REGOLAZIONE DELL'ESOCINASI IV (GLUCOCHINASI) E DELL'ESOCINASI DEL MUSCOLO

Esochinasi del muscolo: inibita dal suo prodotto, glucosio-6-fosfato.

Glucochinasi: inibita da una proteina regolatrice specifica del fegato che si lega reversibilmente all'enzima. La formazione del complesso enzima-proteina è regolato allostericamente da fruttosio 6-fosfato (+) e da glucosio (-)

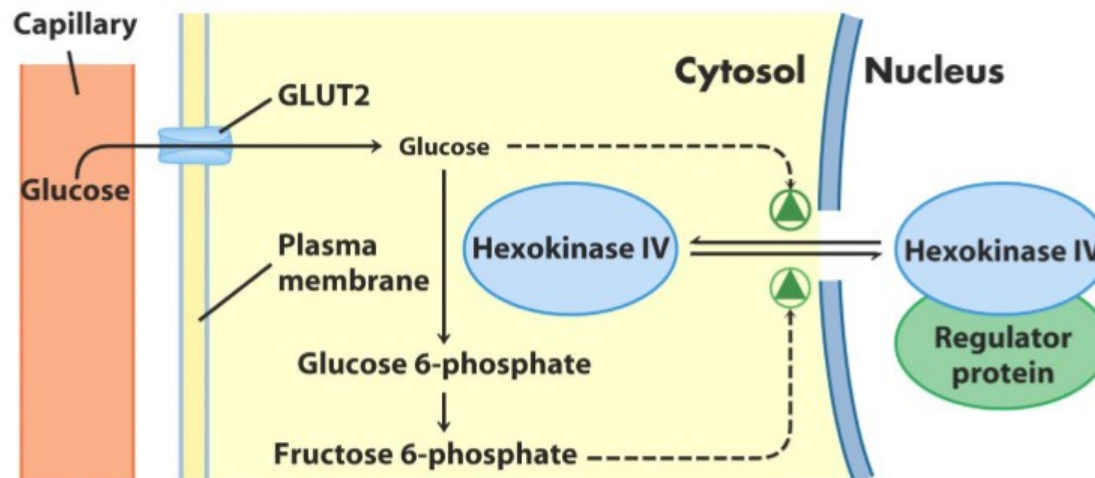


REGOLAZIONE DELL'ESOCINASI IV (GLUCOCHINASI) E DELL'ESOCINASI DEL MUSCOLO

Se la concentrazione ematica di glucosio è alta (es. dopo un pasto ricco di carboidrati): il glucosio entra negli epatociti attraverso il trasportatore GLUT2 e attiva la glucochinasi causando la dissociazione dalla proteina regolatrice

Se la concentrazione ematica di glucosio è bassa (es. durante un periodo di digiuno): il fruttosio 6-fosfato favorisce la formazione del complesso enzima-proteina (in questo modo il fegato non sottrae agli altri organi il poco glucosio disponibile)

Meccanismo della proteina regolatrice: la proteina sequestra l'esochinasi IV nel nucleo separandola dagli enzimi glicolitici



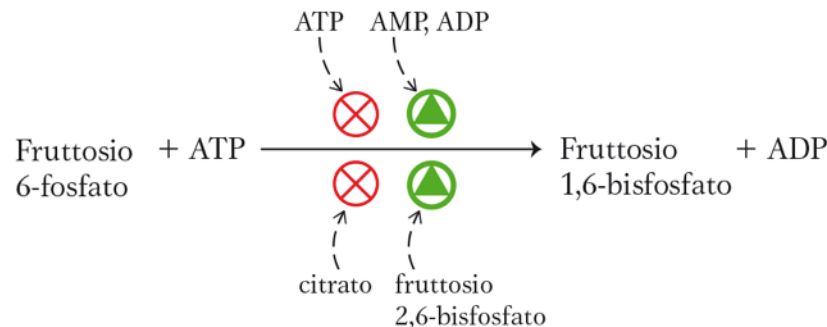
REGOLAZIONE DELLA FOSFOFRUTTOCHINASI (PFK-1)

È il sito di controllo più importante nei mammiferi.

ATP inibitore allosterico; **ADP** e **AMP** modulatori allosterici positivi

ATTIVITA' AUMENTA QUANDO [ATP]/[AMP] DIMINUISCE

Citrato (intermedio del ciclo di Krebs) è un inibitore allosterico. Il citrato si comporta come un messaggero intracellulare: alti livelli intracellulari segnalano che le necessità energetiche sono soddisfatte e rallentano il flusso di glucosio attraverso la glicolisi. Molti tessuti preferiscono ossidare acidi grassi e corpi chetonici al posto di Glc. La loro ossidazione aumenta i livelli citosolici di citrato che inibisce la PFK-1. Questo si traduce in un abbassamento dell'utilizzo di Glc per la produzione di energia quando ac. grassi e corpi chetonici sono presenti.



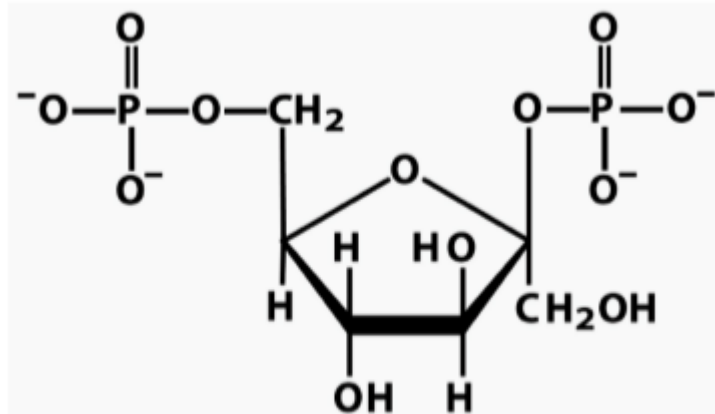
(c)

REGOLAZIONE DELLA FOSFOFRUTTOCHINASI (PFK-1)

Nel **fegato**, il principale regolatore allosterico di PFK-1 è **fruttosio 2,6-bisfosfato** (attiva fortemente l'enzima)

Media la regolazione ormonale di PFK-1

Ruolo chiave nella regolazione coordinata tra glicolisi e gluconeogenesi



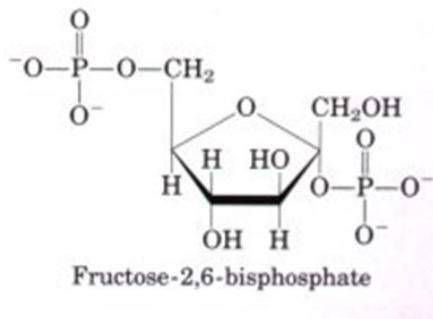
Fructose 2,6-bisphosphate

Fru 2,6-bisfosfato è un potente regolatore allosterico di PFK-1 e FBPasi-1

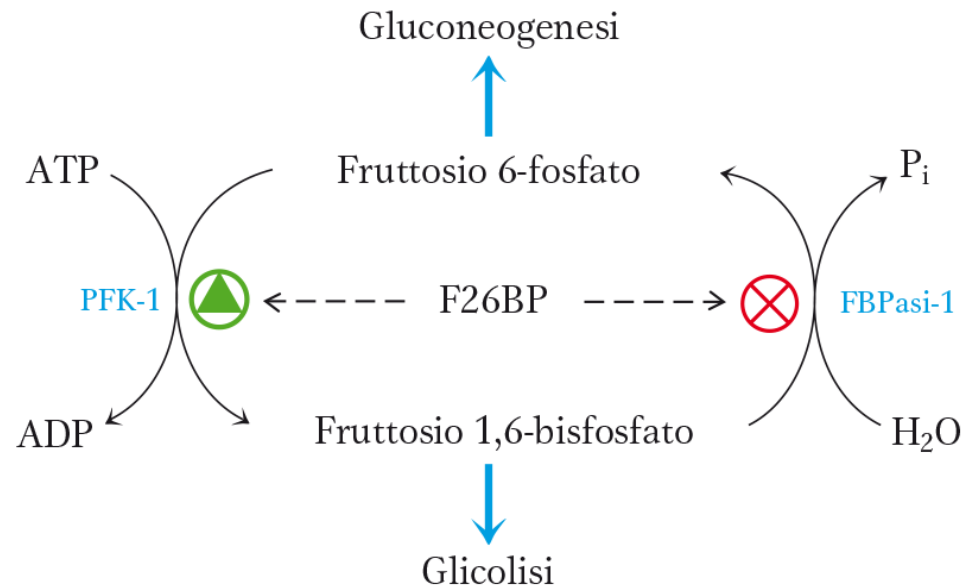
Il **Fegato** ha un ruolo importante nel mantenimento della glicemia che richiede altri meccanismi di regolazione.

La **regolazione ormonale** viene mediata dal **Fru 2,6-bisfosfato**.

Il legame di Fru 2,6BP al suo sito allosterico su PFK-1 aumenta l'affinità dell'enzima per il substrato fruttosio 6-fosfato e diminuisce l'affinità per gli inibitori allosterici ATP e citrato. Alle concentrazioni fisiologiche del substrato e dei diversi modulatori positivi e negativi, PFK-1 è praticamente inattiva se è assente Fru 2,6BP



RUOLO DEL FRU 2,6 BISFOSFATO NELLA REGOLAZIONE DELLA GLICOLISI E DELLA GLUCONEOGENESI

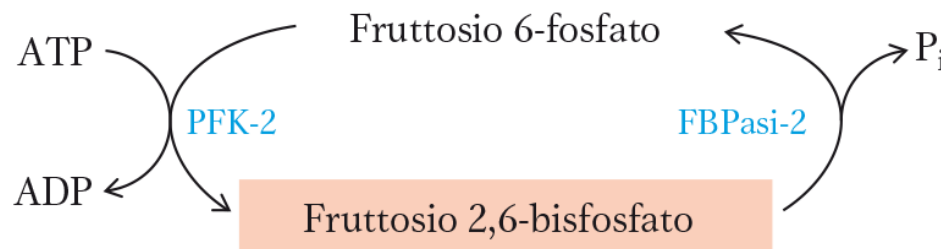


Nel fegato, Fru 2,6BP attiva PFK-1 e stimola la glicolisi. Inibisce FBPasi-1 rallentando la gluconeogenesi.

REGOLAZIONE DEL LIVELLO DI FRUTTOSIO 2,6 BISFOSFATO

Fru 2,6BP non è un intermedio della glicolisi o della gluconeogenesi: è un modulatore il cui livello intracellulare **dipende dalla presenza nel sangue di glucagone**, che viene a sua volta secreto quando i livelli di glucosio sono bassi

La concentrazione intracellulare di Fru 2,6BP dipende dal bilancio tra velocità di formazione e velocità di demolizione



PFK-2: fosfofruttochinasi-2

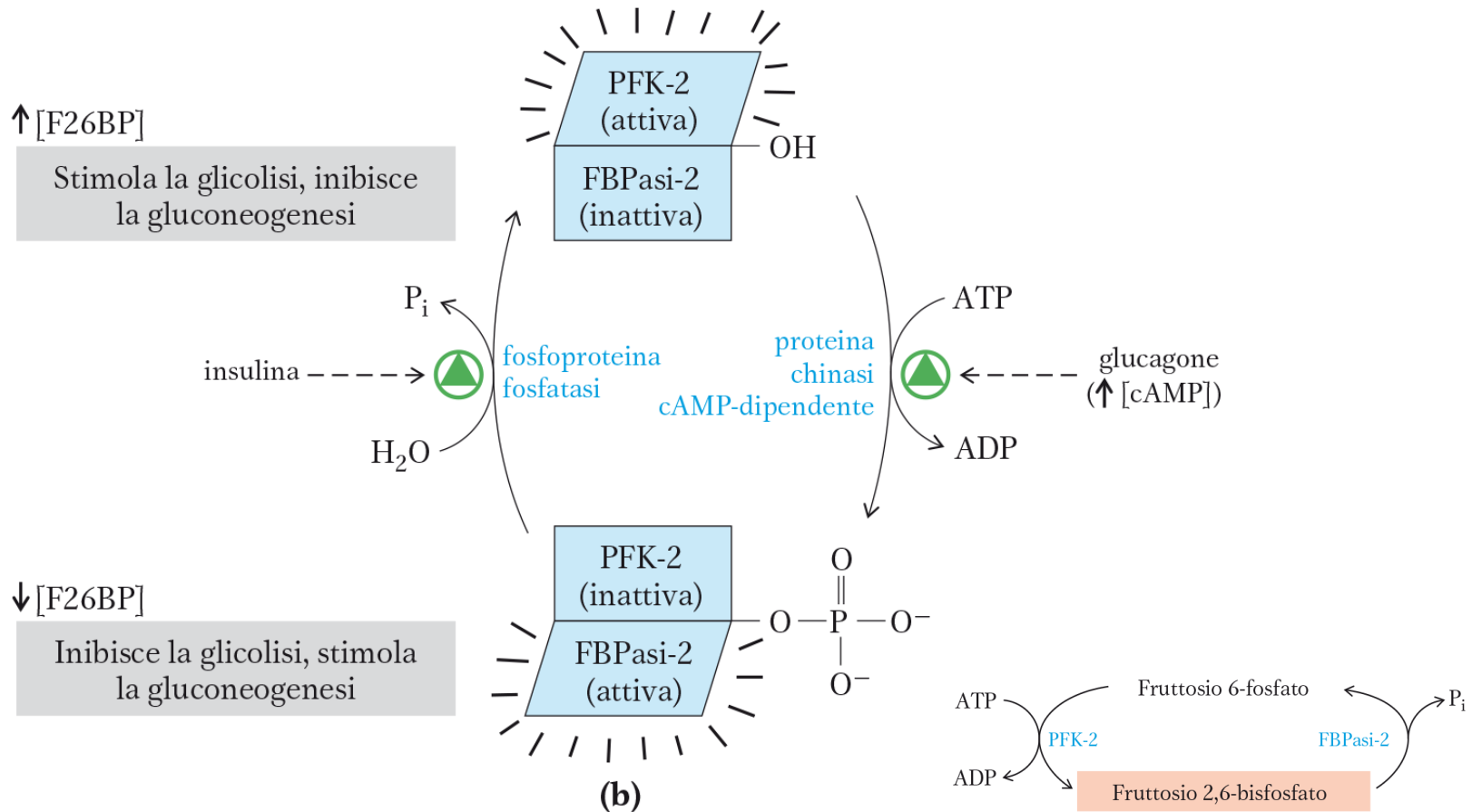
FBPasi-2: fruttosio 2,6 bifosfatasi-2

Enzimi diversi da PFK-1 e FBPasi-1 che catalizzano la formazione e demolizione di fruttosio 1,6-bifosfato

REGOLAZIONE DEL LIVELLO DI FRUTTOSIO 2,6 BISFOSFATO

PFK-2 e FBPasi-2 sono due subunità distinte di una stessa proteina bifunzionale

Il bilancio tra le due attività enzimatiche nel fegato è controllato da glucagone e insulina



CONTROLLO ORMONALE DI PFK-1 E FBPasi-1

fruttosio 2,6 bisfosfato (Fru 2,6BP)

Il più importante regolatore allosterico sia della glicolisi che della gluconeogenesi è il fruttosio 2,6 bisfosfato, che non è un intermedio della glicolisi o della gluconeogenesi.

La sintesi di Fru 2,6BP è catalizzata dall'enzima bifunzionale fosfofrutto chinasi-2/ fruttosio 2,6 bifosfatasi (**PFK-2/F-2,6-BPase**). Nella sua forma non fosforilata (PFK-2) catalizza la sintesi di Fru 2,6BP mediante fosforilazione di Fru-6-P. Il risultato è che l'attività di PFK-1 è stimolata positivamente e l'attività di Fru-1,6-BPase è fortemente inibita.

Quindi nelle condizioni in cui PFK-2 è attiva, il flusso metabolico va verso la produzione di Fru 2,6BP e quindi avviene la glicolisi. Quando l'enzima bifunzionale è fosforilato, non ha più attività chinasi, ma un altro sito attivo idrolizza Fru 2,6BP a F6P + Pi. Il risultato metabolico è la mancanza di stimolazione positiva da parte di Fru 2,6BP, l'eliminazione della inibizione allosterica di Fru-1,6-BPase e tutto porta al processo gluconeogenico.

La conversione dell'enzima bifunzionale è catalizzata da una proteina chinasi c-AMP dipendente (PKA), che a sua volta è soggetta a regolazione ormonale. Quando i livelli di glucosio scendono, la produzione di insulina pancreatica si arresta mentre la secrezione di glucagone è stimolata, aumentando la sua concentrazione in circolo. Esso si lega a recettori sulle cellule epatiche. Attiva l'adenilato ciclasi, portando ad un aumento della concentrazione di cAMP. Esso si lega alla proteina chinasi c-AMP dipendente (PKA) attivandola. A sua volta questo enzima fosforila molte proteine, incluso l'enzima bifunzionale. Quindi in queste condizioni il fegato non consuma più glucosio nella glicolisi, ma il suo metabolismo diventa gluconeogenico, producendo glucosio per ristabilire la glicemia normale.

REGOLAZIONE DELLA PFK-1

Tutti questi modulatori regolano la velocità enzimatica della PFK-1 in risposta a:

- Stato energetico cellulare
- Disponibilità di altri metaboliti (acidi grassi, corpi chetonici)
- Rapporto insulina/glucagone nel sangue

REGOLAZIONE DELLA PIRUVATO CHINASI (3 ISOENZIMI)

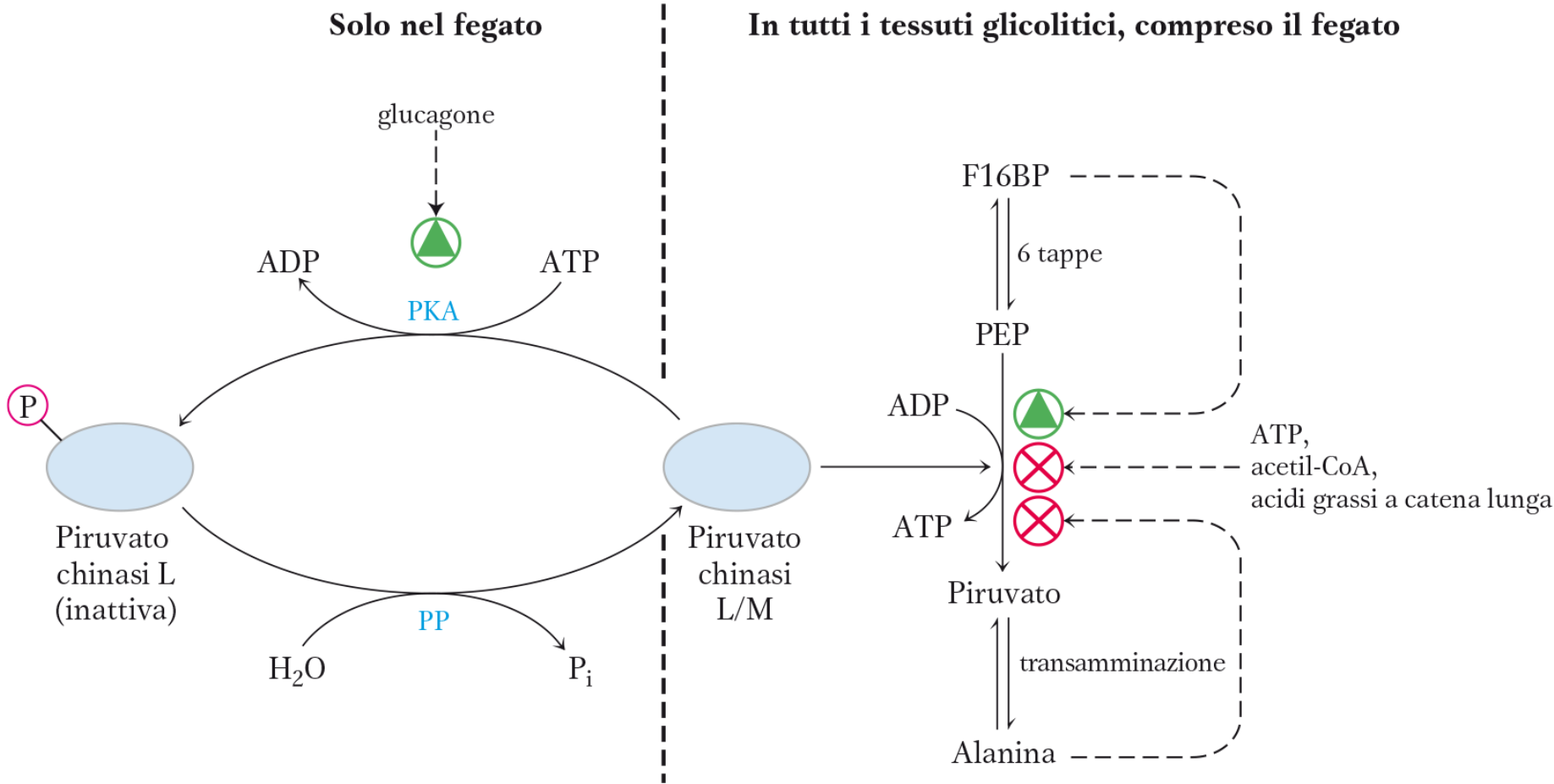
La forma L prevale nel fegato, quella M nel muscolo e nel cervello.

L'isoenzima del fegato (L) ma non quello del muscolo (M) è regolato in modo reversibile mediante fosforilazione. Quando [Glc] ematico è bassa, il **glucagone** porta all'aumento di [cAMP], che conduce alla fosforilazione dell'enzima, che diventa inattivo. Questo meccanismo diminuisce l'utilizzo di Glc come combustibile nel fegato quando la sua conc. è bassa.

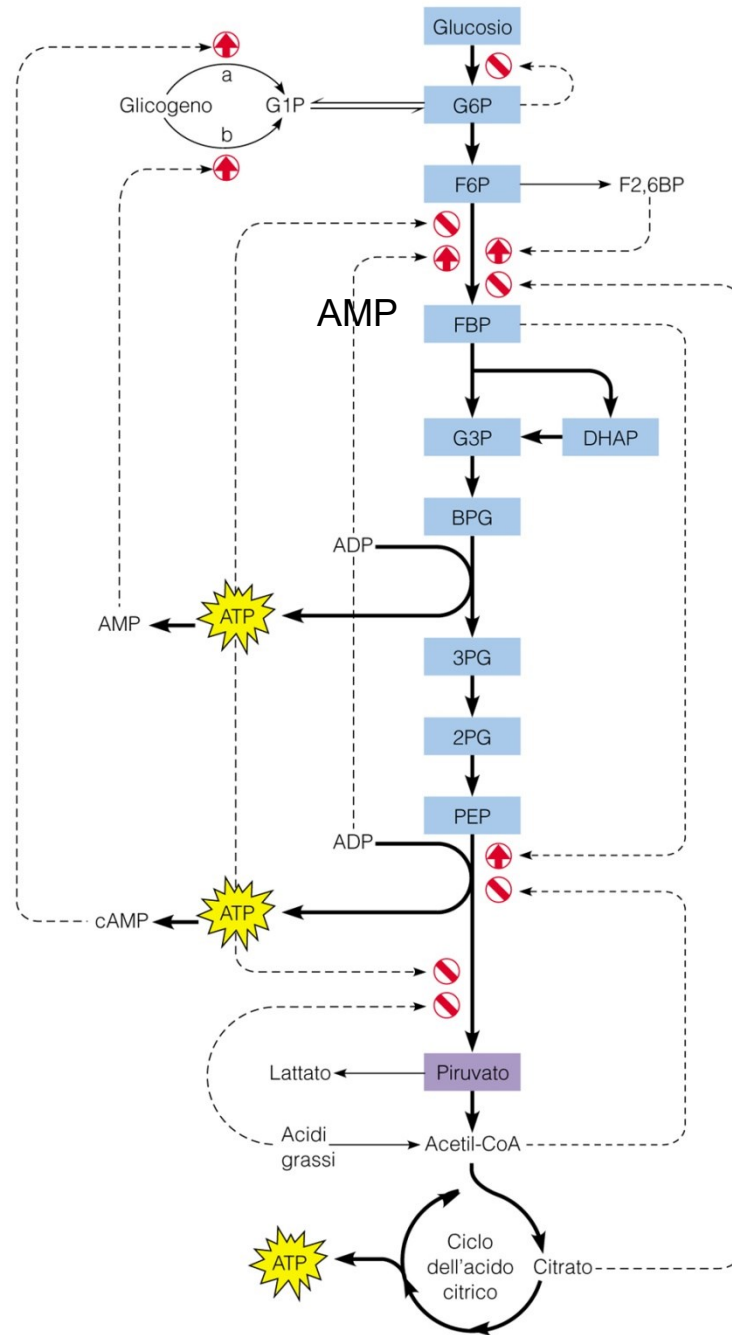
ATP, acetil-CoA e acidi grassi a lunga catena (segnali di abbondante disponibilità di energia) e alanina sono inibitori allosterici di PK.

Fru 1,6 bisfosfato è un attivatore. Adegua la velocità catalitica dell'enzima alla produzione di intermedi della glicolisi

REGOLAZIONE DELLA PIRUVATO CHINASI



PKA: proteina chinasi cAMP dipendente
 PP: proteina fosfatasi



REGOLAZIONE DELLA GLUCONEOGENESI

La carica energetica determina se sarà più attiva la glicolisi o la gluconeogenesi.

Disponibilità di substrati influenza in modo significativo la velocità della sintesi epatica di Glc

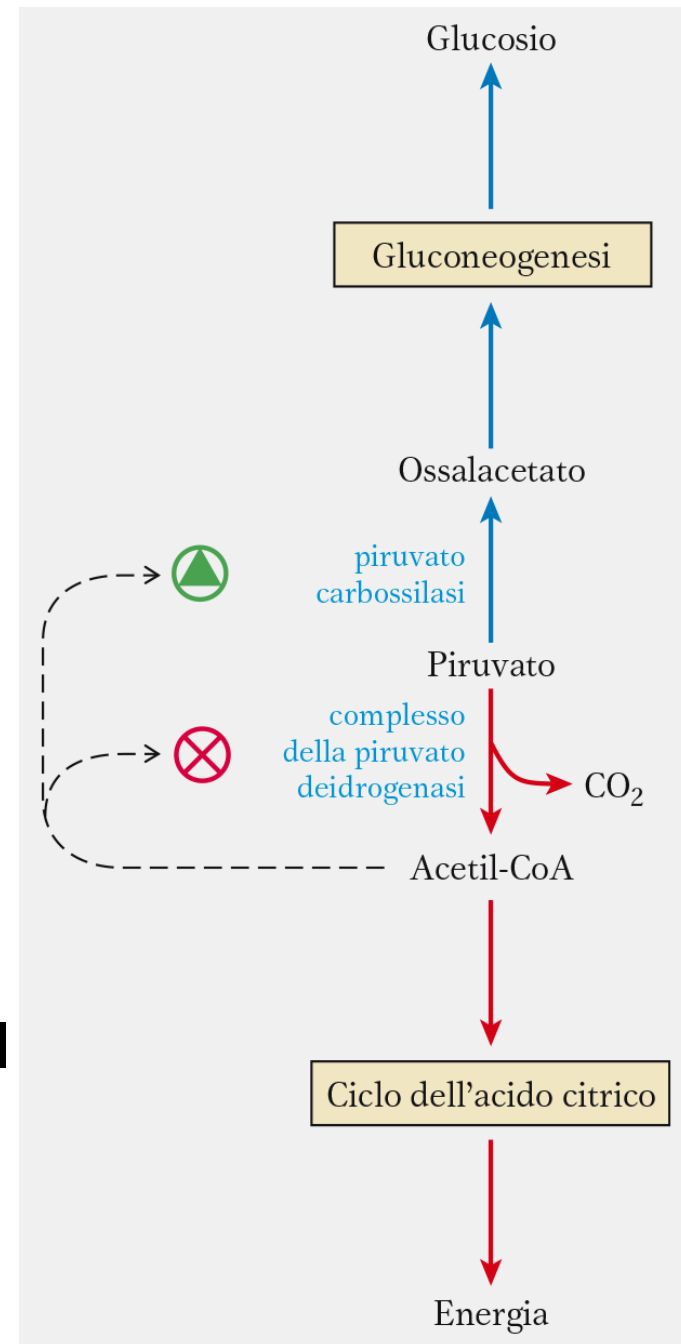
Regolazione di **PIR carbossilasi**, **PEP carbossi chinasi**, **FBPasi-1**, **Glc-6-fosfatasi**.

REGOLAZIONE DELLA PIRUVATO CARBOSSILASI

Il primo punto di controllo determina il destino del piruvato nel mitocondrio

Acetil-CoA è un modulatore allosterico positivo per la piruvato carbossilasi e negativo per la piruvato deidrogenasi

DUE DESTINI ALTERNATIVI DEL PIRUVATO



REGOLAZIONE ENZIMATICA DELLA PIRUVATO CARBOSSILASI

acetil-CoA: modulatore + in sua assenza l'enzima è praticamente inattivo.

Quindi la biosintesi di Glc viene attivata solo quando nei mitocondri c'è un eccesso di acetil-CoA (che può verificarsi durante il digiuno in seguito ad eccessiva lipolisi).

acetil-CoA: modulatore - di piruvato deidrogenasi

Disponibilità di ac. grassi come combustibili, generazione di acetil-CoA, che segnala che ox di Glc non è necessaria.

Fabbisogno energetico cellulare soddisfatto: fosforilazione ox rallenta, aumenta [NADH], ciclo di Krebs viene inibito e acetil-CoA si accumula. Viene stimolata la gluconeogenesi.

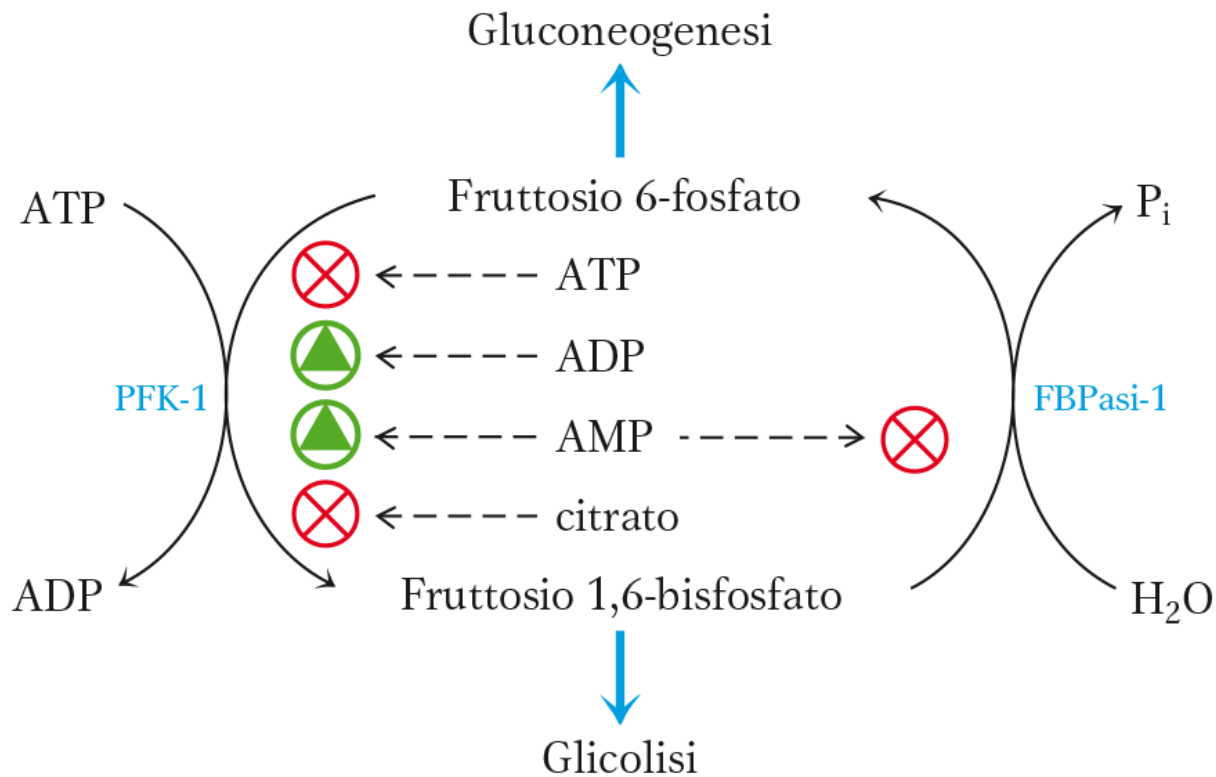
REGOLAZIONE ORMONALE DELLA PEP CARBOSSICHINASI

GLUCAGONE: aumenta la velocità di trascrizione del suo mRNA

INSULINA: ha un effetto opposto

REGOLAZIONE DELLA FOSFOFRUTTOCHINASI-1 (PFK-1) E DELLA FRUTTOSIO 1,6 BISFOSFATASI 1 (FBPASI-1)

Secondo punto di controllo: reazione catalizzata dalla fruttosio 1,6-bisfosfatasi (FBPasi-1). Fortemente inibito da AMP, che stimola PFK-1



Le due tappe opposte sono regolate in maniera reciproca e coordinata

REGOLAZIONE DELLA GLUCOSIO-6-FOSFATASI

La Glc-6-fosfatasi viene **regolata a livello trascrizionale** da fattori che inducono una maggior produzione di glucosio: bassa glicemia, segnalazione da parte del glucagone.

L'esochinasi (catalizza la reazione inversa nella glicolisi) è regolata a livello di sintesi proteica da condizioni che richiedono produzione di energia (bassa [ATP], alta [AMP], intensa contrazione muscolare) o un elevato consumo di glucosio (es: glicemia elevata).

REGOLAZIONE DA PARTE DELL'INSULINA

L'insulina stimola la trascrizione dei geni per:

- esochinasi II e IV, PFK-1, Piruvato K, PFK-2/FBPasi-2
- Glc-6-P DH e 6-fosfogluconato DH (via del pentoso P)

L'insulina rallenta la trascrizione dei geni per:

- PEP carbossiK e Glc-6-fosfatasi

EFFETTO:

- 1) Conservare energia come glicogeno e triacilgliceroli
- 2) Inibire la produzione e il rilascio di Glc dal fegato nel sangue

GLICOLISI

GLUCONEOGENESI

