

# Modulo 9

## regolazione del metabolismo

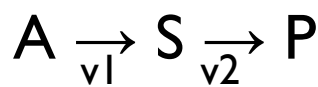
CdS in MCdS in Medicina e chirurgia ,  
Odontoiatria e protesi dentaria 2025-26

# Regolazione del metabolismo: omeostasi molecolare

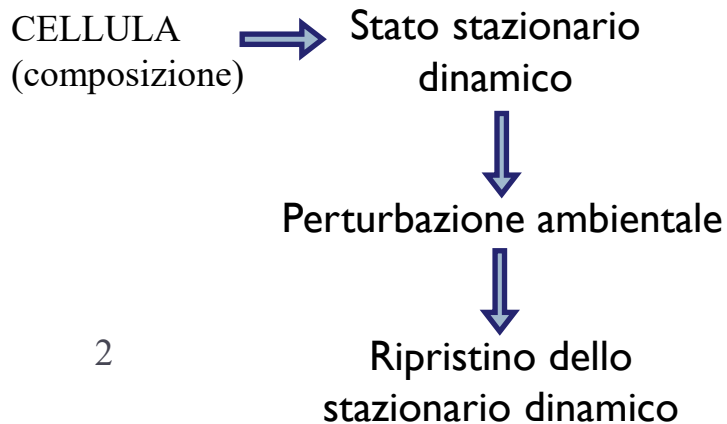
Le cellule e gli organismi possiedono una straordinaria capacità di coordinare migliaia di reazioni simultanee, garantendo l'efficacia metabolica, senza sprechi di energia o di intermedi preziosi, in risposta alle perturbazioni ambientali.



**Stato Stazionario Dinamico:** In un sistema biologico, la concentrazione di un metabolita S rimane costante non perché il sistema sia fermo (equilibrio), ma perché la sua velocità di sintesi ( $V_1$ ) bilancia perfettamente la sua velocità di consumo ( $V_2$ )



(flusso)(J), ovvero la velocità globale della via può variare in base alle richieste, ma se  $v_1 = v_2$  allora  $[S] = \text{costante}$



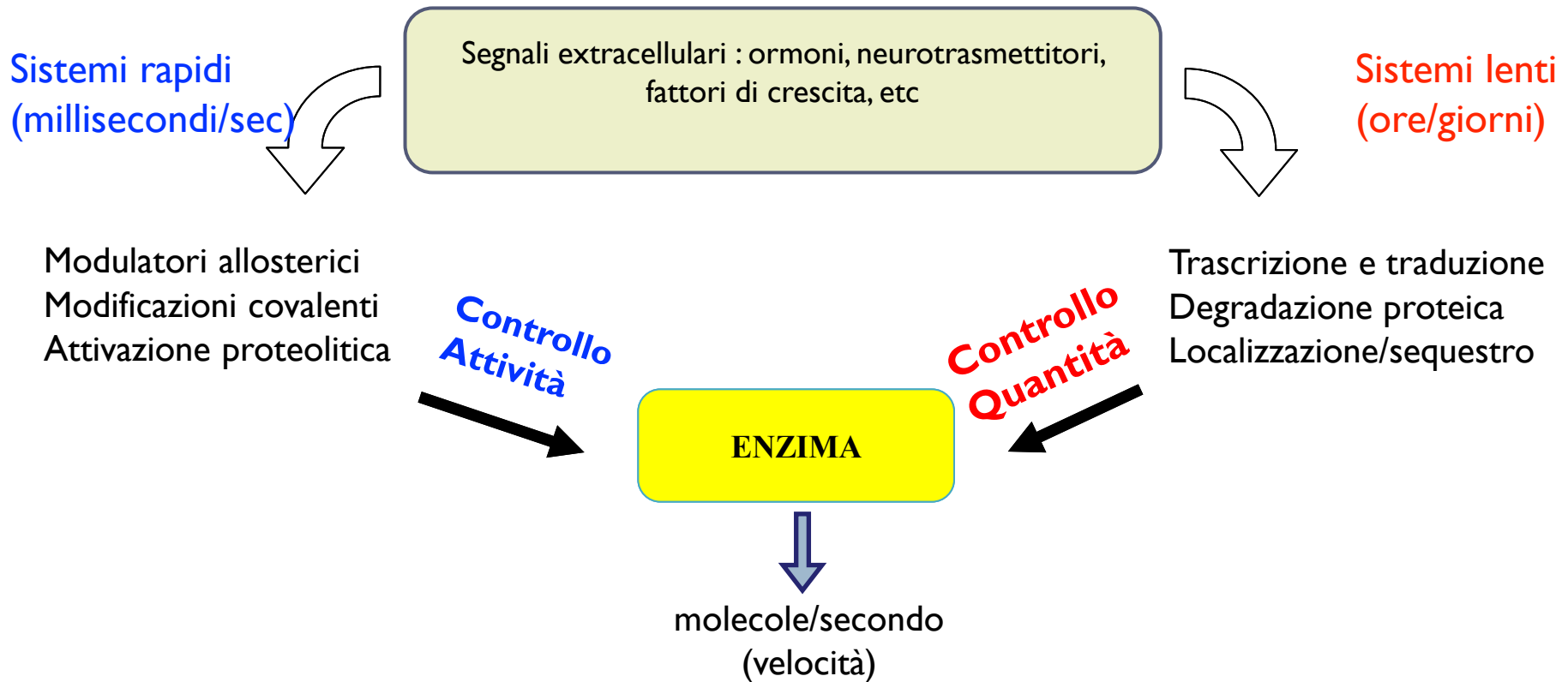
Esempio: glicemia  $\sim 5$  mM: entrata di glucosio ( $v_1$ ) assorbimento intestinale + glicogenolisi = trasporto e consumo nelle cellule ( $v_2$ ).

Esempio: ATP intracellulare  $\sim 5-10$  mM: catabolismo ( $v_1$ ) = lavoro cellulare (biosintesi, trasporto attivo,) ( $v_2$ ).

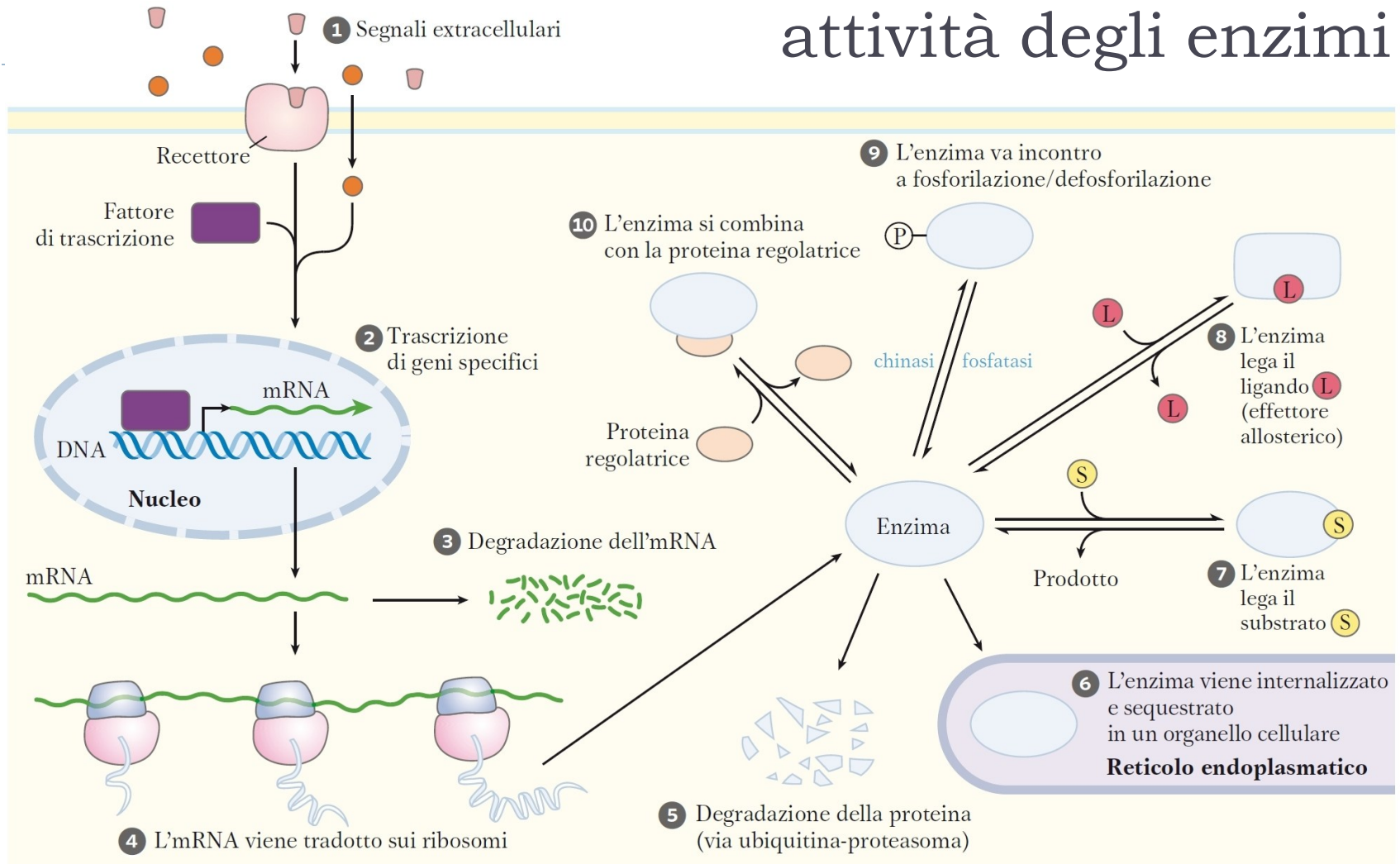


# Regolazione metabolica attraverso gli enzimi

L'omeostasi non è un processo passivo, ma il risultato di un investimento energetico massiccio: circa il 10% del genoma umano codifica per proteine regolatrici (recettori, chinasi, fattori di trascrizione). Es: Il corpo umano possiede circa 800 protein chinasi differenti. Questo "esercito" di enzimi ha il compito di accendere o spegnere altre proteine attraverso la fosforilazione,! L'omeostasi è mantenuta variando la velocità degli enzimi



# Fattori che influiscono sulla quantità e attività degli enzimi



L'insieme di più meccanismi regolatori simultanei sullo stesso enzima rende la regolazione più efficiente in grado di rispondere ad un elevato numero di segnali.

# I nucleotidi adenilici: regolatori del flusso metabolico

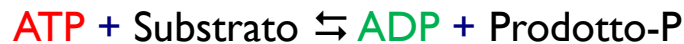
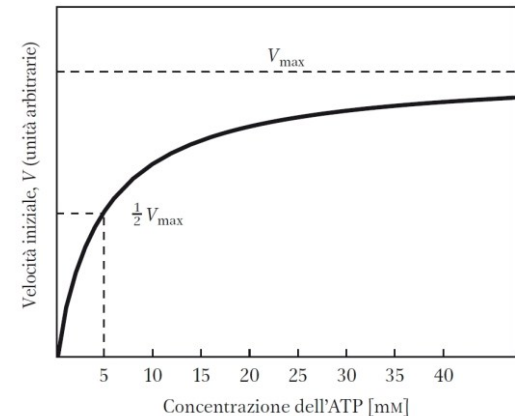
Mantenere una [ATP] costante (5-10 mM) è una priorità assoluta per la cellula. Una piccola fluttuazione può paralizzare il metabolismo per due motivi:

Aspetto cinetico: Enzimi che utilizzano ATP hanno  $K_m \sim 0,1 - 1 \text{ mM}$ . Poiché  $[ATP] \gg K_m$  questi enzimi lavorano a  $V_{max}$ , se [ATP] diminuisse non sarebbero saturati da ATP e la  $V$  diminuirebbe.



Rischio allentamento di moltissime vie metaboliche e di trasporto attivo !!

Aspetto termodinamico: poiché ATP viene «speso» e convertito in ADP o AMP per compiere un lavoro cellulare, più piccolo rimane il rapporto  $[ADP]/[ATP]$ , più elevata è la “spinta” termodinamica che quella reazione riceve



$$\Delta G = \ll 0$$

$$Q = \frac{[ADP] [Prodotto-P]}{[ATP] [Substrato]}$$

Poiché  $\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q$ , una diminuzione di [ATP]  $\Rightarrow$  rende il  $\Delta G$  della reazione meno negativo riducendo la capacità dell'ATP di spingere reazioni endoergoniche.



# L'AMP: in sensore di crisi della cellula

L'indicatore più sensibile nella cellula dello stato energetico ( $[ADP]/[ATP]$ ) non è l'[ADP] ma l'[AMP]. La sua concentrazione nella cellula in condizioni normali è bassa (~ 0,1 mM).

Grazie all'enzima **Adenilato Chinasi**  $2ADP \rightleftharpoons AMP + ATP$   
una piccola riduzione di ATP provoca un aumento percentuale enorme di AMP.

Esempio: ipotizziamo consumo istantaneo di 0.5 mM ATP (10%) e che l'adenilato chinasi operi velocemente mantenendo costanti i livelli di ADP [1 mM]), convertendo tutto l'ADP prodotto in AMP e ATP, il consumo di ATP si traduce in un grande aumento di [AMP].

Concentrazioni

iniziali :  $[AMP]_{intracellulare}: 0.1 \text{ mM}$      $[ATP]_{intracellulare}: 5 \text{ mM}$      $[ADP]: 1 \text{ mM}$

Dopo consumo di ATP del 10% :  $[AMP]_{intracellulare}: 0.6 \text{ mM}$      $[ATP]_{intracellulare}: 4,5 \text{ mM}$      $[ADP]: 1 \text{ mM}$



Variazione relativa : +600%

-10%

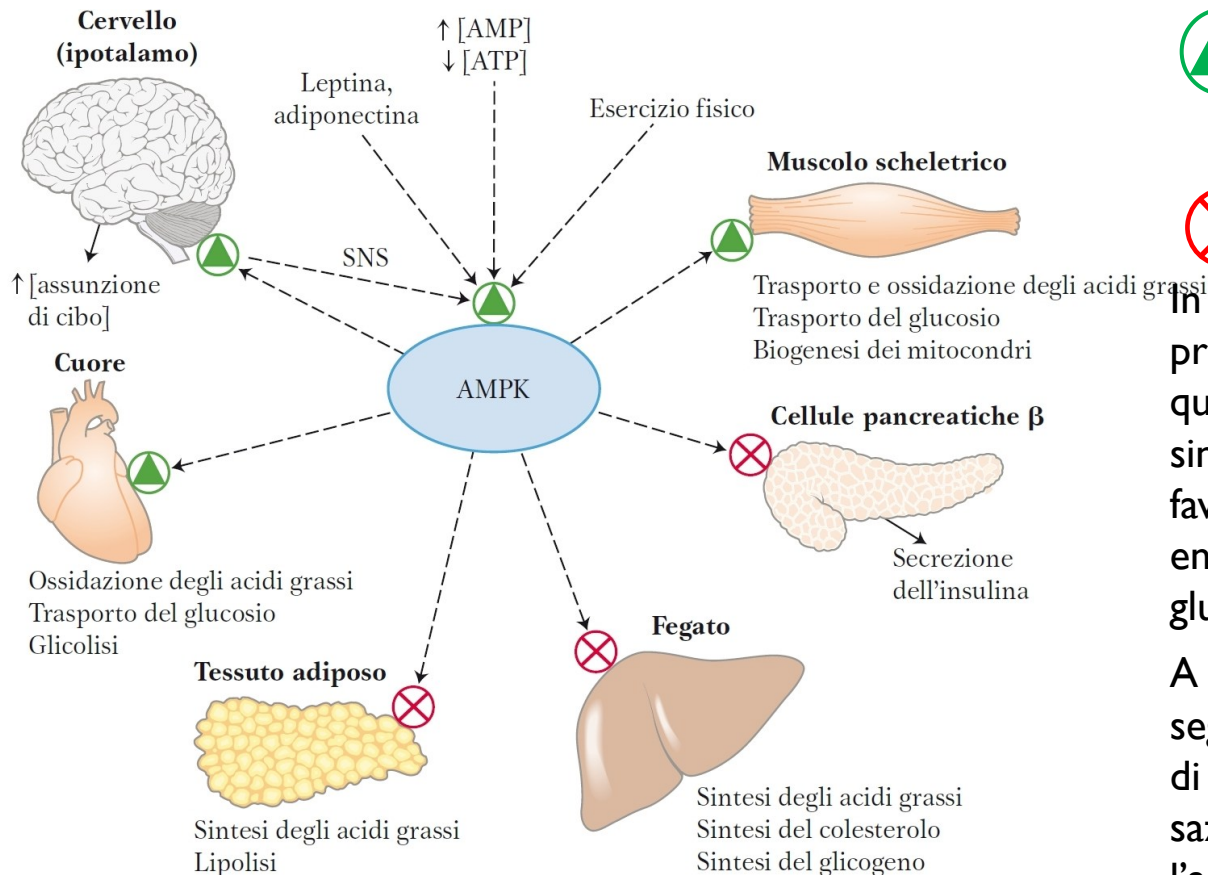
0%

AMP è soggetto a una **enorme variazione (+600%)** rispetto all'ATP (-10%) in termini di concentrazione)

Quindi: [AMP]: Sensore dello stato energetico più sensibile dell' [ATP], molti enzimi sono regolati da [AMP]

# Il sensore AMP agisce tramite la proteina chinasi AMPK

Un aumento di [AMP] attiva allostericamente la AMPK (proteina chinasi attivata dall'AMP). A sua volta la AMPK agisce come un «termostato» energetico: attiva o inibisce per fosforilazione numerosi enzimi modificando il metabolismo per ristabilire i livelli di ATP.



 Attività cataboliche

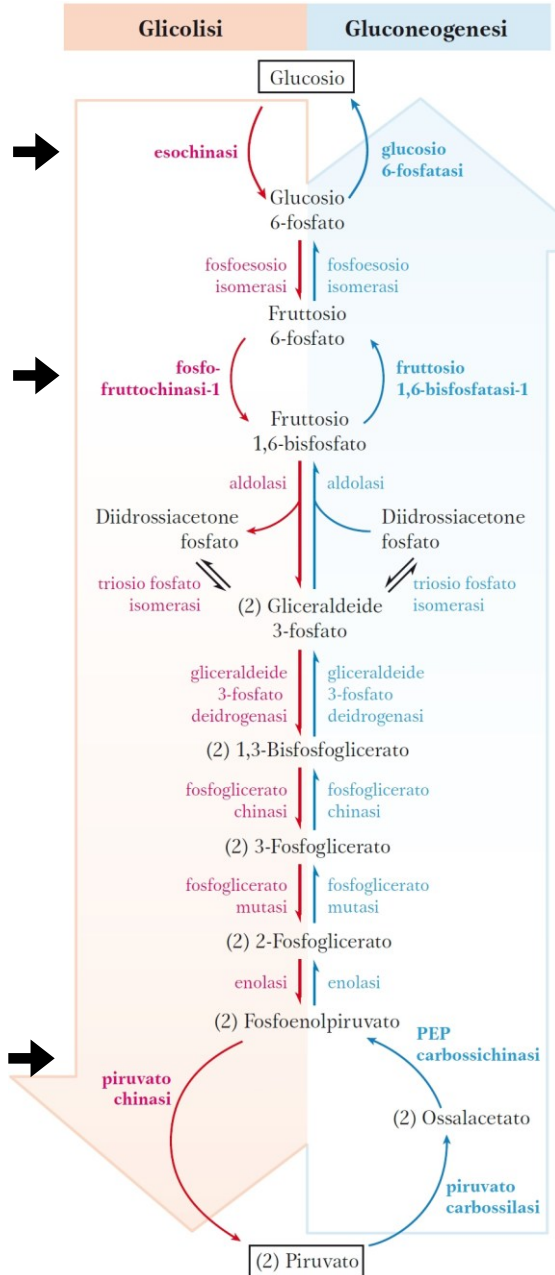
 AMPK

 Attività anaboliche

In generale AMPK inibisce i processi che consumano ATP quali la sintesi di biomolecole la sintesi delle proteine mentre favorisce processi producono energia e che trasportano glucosio.

A livello ipotalamico agisce come segnale di fame e media gli effetti di ormoni: la leptina che segnala sazietà inibisce la AMPK, l'adiponectina ha effetto opposto.

# Regolazione coordinata glicolisi e gluconeogenesi



La cellula deve decidere istante per istante se bruciare glucosio o sintetizzarlo. Una regolazione precisa evita che le due vie operino contemporaneamente. Logica della regolazione :

Disponibilità di glucosio: si attivano i processi per consumarlo e/o immagazzinarlo.

Carenza di glucosio: si attivano i processi di produzione e rilascio

Senza una regolazione coordinata dei 3 enzimi differenti tra le due vie metaboliche (➡) si otterrebbe un **ciclo futile** con conseguenza di avere solo consumo di ATP, con produzione di calore, senza nessun vantaggio metabolico.

La regolazione consiste in un sistema integrato tra tessuti con finalità opposte:

**Fegato:** produce glucosio (gluconeogenesi) per mantenere costante la glicemia ematica. Convertire l'eccesso di glucosio in glicogeno o lo trasforma in acidi grassi per l'esportazione.

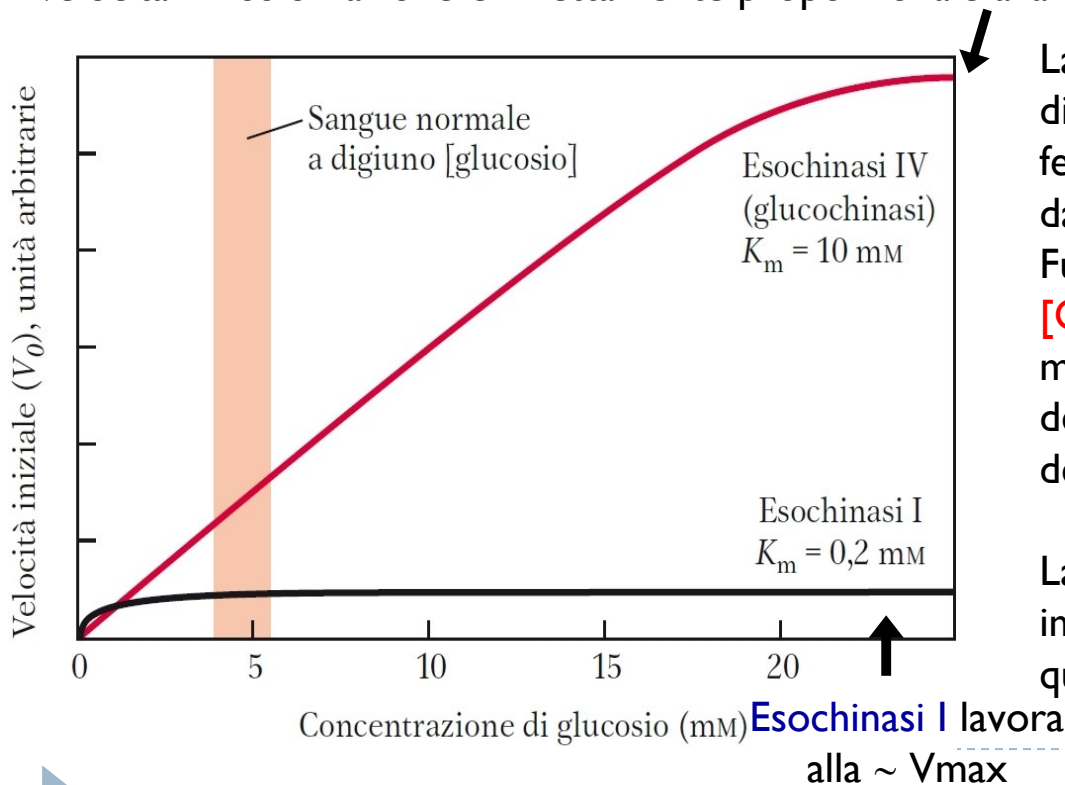
**Muscolo/Cervello:** utilizzano il glucosio (glicolisi) esclusivamente per ottenere energia - consumo

# Ruolo degli isoenzimi dell'esochinasi, I punto di controllo

Il destino del glucosio dipende dall'isoenzima espresso nel tessuto, ognuno con proprietà cinetiche adattate alla funzione dell'organo:

**Muscolo/cervello: esochinasi I e II** -  $K_M$ : 0.1-0.2 mM. Poiché la glicemia è circa 5 mM questi enzimi lavorano a saturazione ( $\sim V_{max}$ ). Sono sensibili all'inibitore allosterico da **Glc6P**.

**Fegato: esochinasi IV (glucochinasi)** -  $K_M$  10 mM – Essendo la  $K_M$  superiore alla glicemia basale, la velocità di fosforilazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio nel sangue.



La glucochinasi non si ferma per accumulo di prodotto (**Glc6P**); questo permette al fegato di continuare a rimuovere glucosio dal sangue per sintetizzare glicogeno.

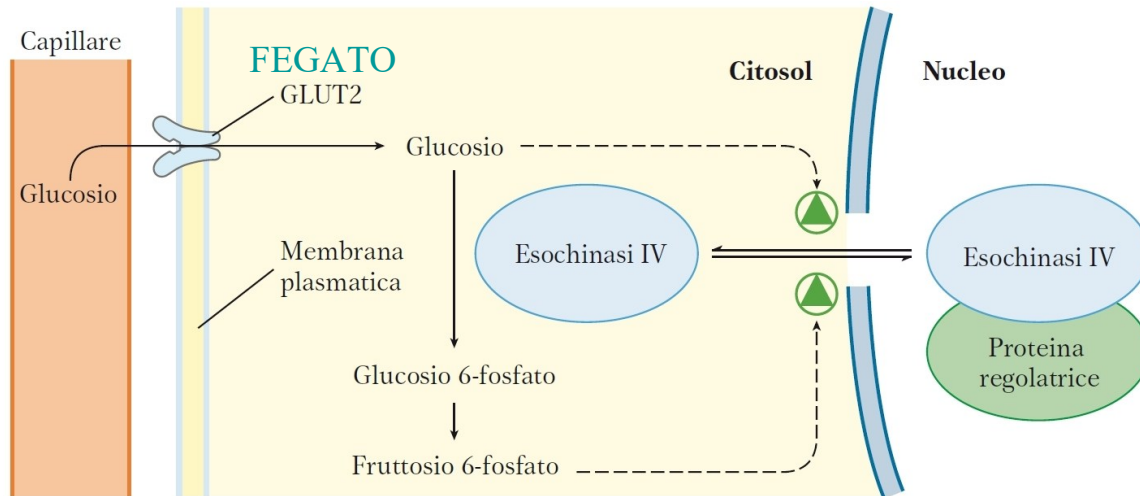
Funzione: permette un rapido equilibrio tra **[Glc]** intra- ed extra-cellulari. In questo modo, la concentrazione all'interno dell'epatocita riflette istantaneamente quella del sangue.

La glucochinasi è inibita a basse **[Glc]** per impedire che sottragga glucosio ai tessuti quando c'è ne poco (vedi slide successiva).

# Regolazione della glucochinasi: il sequestro nucleare.

Il fegato non deve consumare glucosio quando la glicemia è bassa. Per garantire ciò, la cellula utilizza un **meccanismo di compartimentazione** invece di una semplice inibizione allosterica.

Quando la glicemia scende ( $< 5$  mM), la **Glucochinasi (GK)** viene legata dalla **proteina regolatrice GKRP** e trasportata nel nucleo, dove rimane sequestrata in forma inattiva.



L'affinità tra **GK** e **GKRP** è regolata da 2 metaboliti che agiscono in modo opposto:

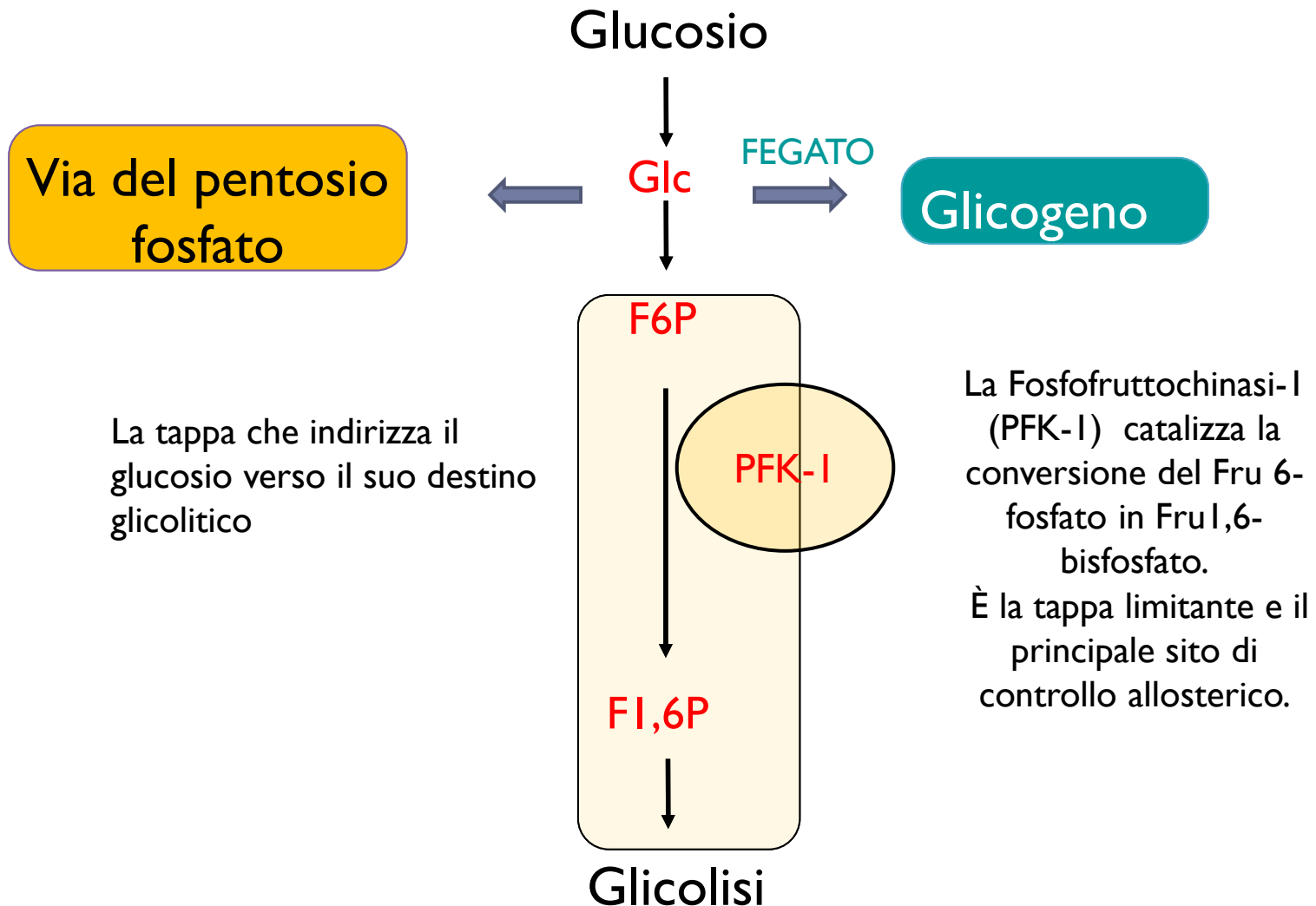
Il **[F6P]**, intermedio a valle, è un segnale di inibizione: aumenta l'affinità del GK per la proteina regolatrice promuovendo il sequestro. Logica: se c'è elevato **[F6P]**, vuol dire che la via è saturata o che è attiva la gluconeogenesi.

Al contrario, **[Glc]** è un segnale di attivazione. Diminuisce l'affinità tra GK e GKRP favorendo il ritorno di GK nel citoplasma e la sua attività.

Dinamica del processo:

- ✓ Glicemia bassa: **F6P** prevale su **Glc** → sequestro nucleare
- ✓ Glicemia alta: **Glc** prevale su **F6P** → traslocazione nel citoplasma e attivazione di GK

# Il glucosio 6P ha vari destini metabolici

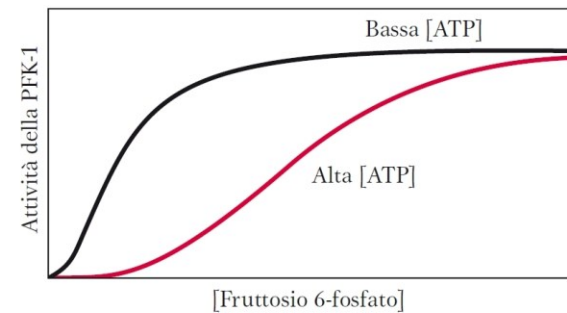
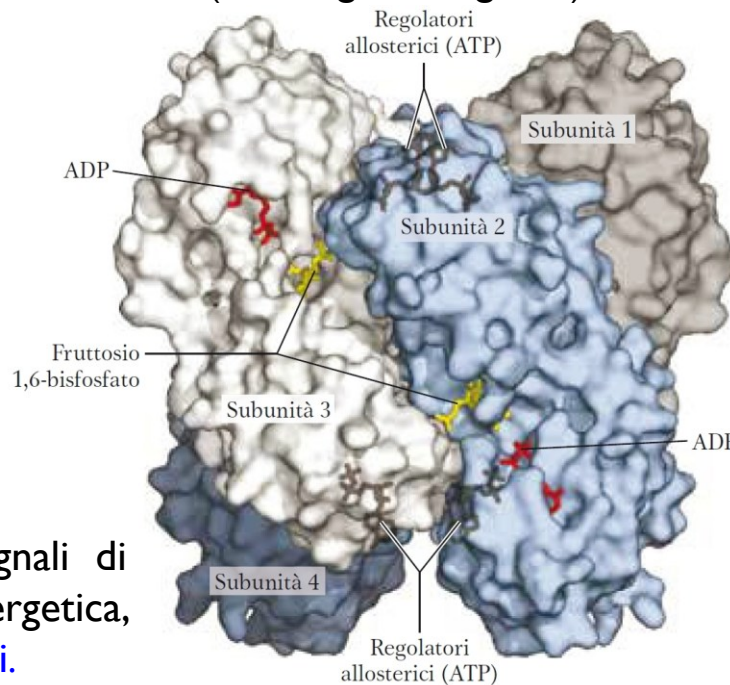


# Il punto di controllo: La fosfofruttochinasi1 (PFK-1) è il direttore d'orchestra della glicolisi

Segnali di Abbondanza Energetica, sono inibitori:

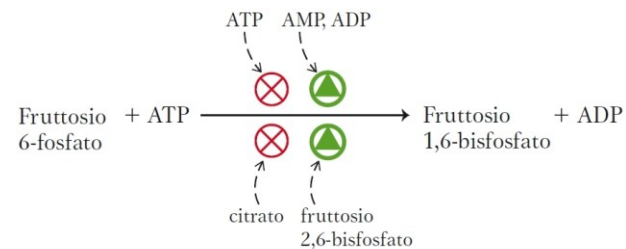
**ATP:** agisce come inibitore allosterico legandosi a un sito a bassa affinità. Aumenta la  $K_m$  per il **F6P**.

**Citrato:** prodotto nel ciclo di Krebs. Se il citrato si accumula, significa che il ciclo è saturo e l'ossidazione dei nutrienti (inclusi gli acidi grassi) è sufficiente.



(b)

Attivatori: Segnali di Carenza Energetica, sono attivatori.



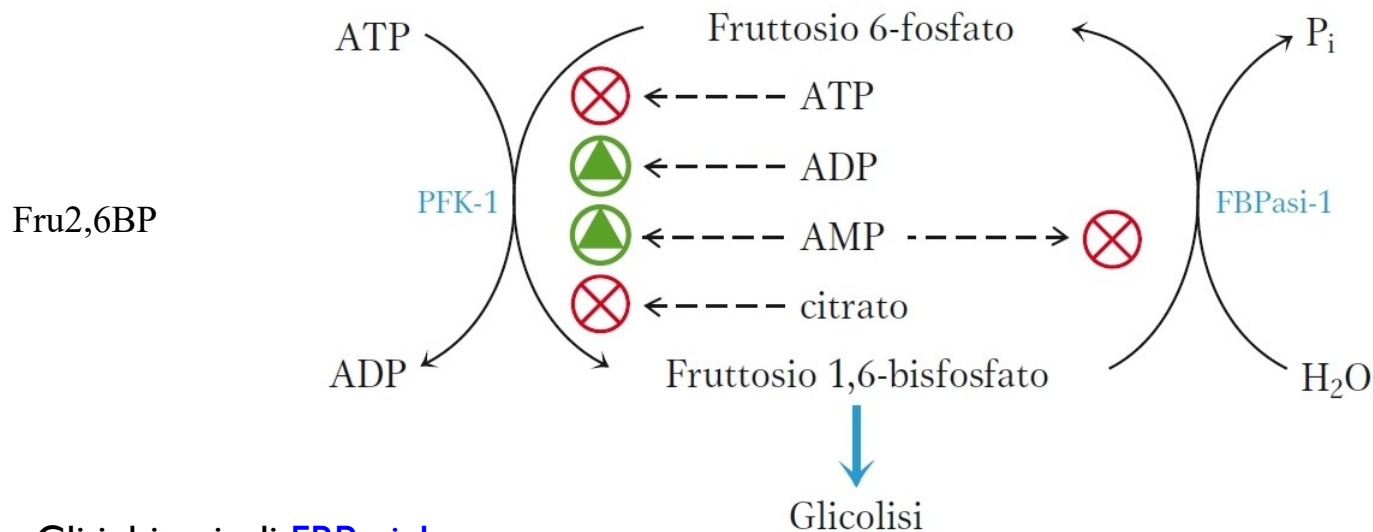
**AMP e ADP:** rimuovono l'inibizione dell'ATP, riportando l'enzima alla sua massima efficienza.

**Fruttosio 2,6-bisfosfato (F2,6BP):** non è un intermedio metabolico, ma un potente "messaggero" intracellulare che regola il traffico del glucosio (controllo ormonale).



# La Regolazione di FBPasi-1 è opposta a quella di PFK-1

**PFK-1** e **FBPasi-1** (fruttosio 1,6 bisfosfatasi), principale punto di controllo della gluconeogenesi, sono regolati in maniera opposta: Impedisce l'instaurarsi di un ciclo futile.



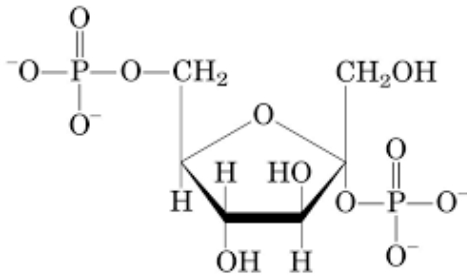
Gli inibitori di **FBPasi-1** sono:

**AMP:** Segnala bassa energia. Se la cellula è "scarica", non deve consumare ATP per fabbricare glucosio ( o comunque per consumare **F1,6BP** e produrre **F6P**.)

**F2,6BP:** La sua presenza segnala che la glicolisi deve andare alla massima velocità, quindi la via inversa deve essere sbarrata, inibendo la **FBPasi-1**.

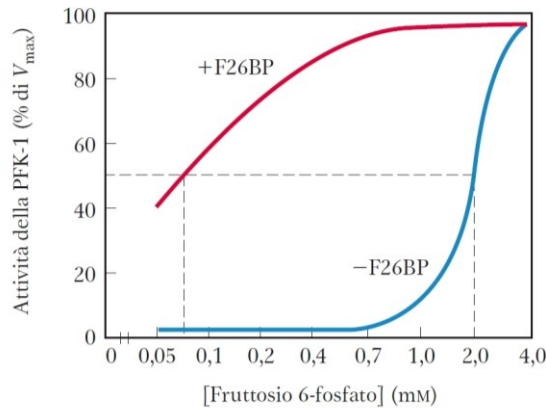
# il 2,6-bisfosfato regola i rapporti tra glicolisi e gluconeogenesi

Nel fegato il fruttosio 2,6 bisfosfato (F2,6BP) è il più importante regolatore della glicolisi e della gluconeogenesi ed è il terminale di una regolazione sistemica (globale) dettata dai livelli plasmatici di glucagone e insulina.



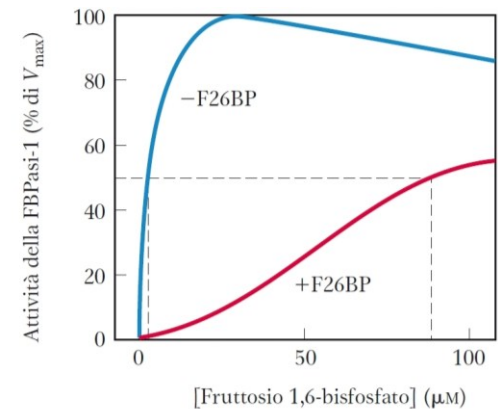
Fruttosio 2,6 bisfosfato

Attività della PFK-1



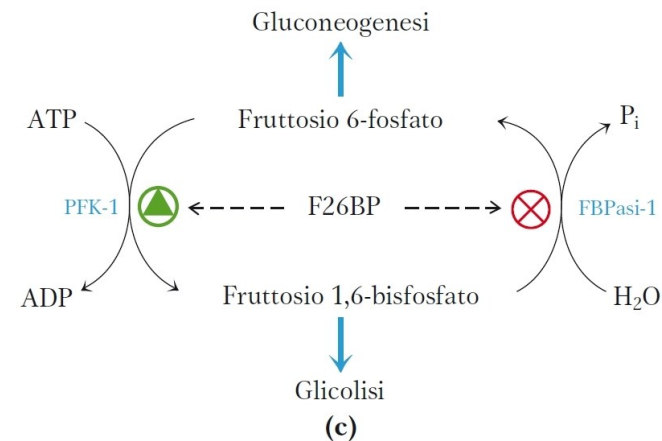
(a)

Attività della FBPasi-1



(a) **F2,6BP**, potentissimo attivatore allosterico della PFK-1, esempio di **stimolazione anterograda**.

(b) **F2,6BP** ed è anche inibitore della **fruttosio 1,6 bisfosfatasi**. (FBPasi-1). La sua assenza stimola la gluconeogenesi.



# Il fruttosio 2,6-bisfosfato è un segnale regolato dall'enzima bifunzionale PFK-2/FBPasi-2

Glucosio



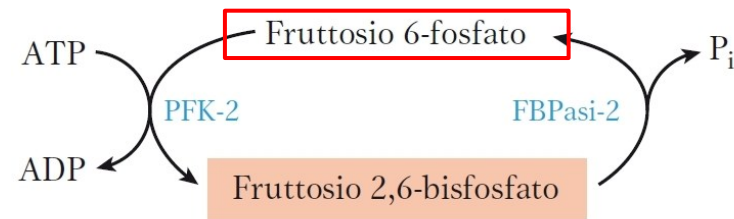
F-6P

PFK-2

Il livello del **F2,6BP** è controllato da un unico **enzima bifunzionale**: un solo polipeptide con due domini catalitici con attività opposte: una chinasi ed una fosfatasi.

L'F-2,6-BP  
attiva la PFK

PFK



PFK-1



F-1,6-BP

Attività Chinasi (PFK-2): Sintetizza il **F2,6BP** a partire dal Fruttosio 6-P.

Attività Fosfatasi (FBPasi-2): Degrada il **F2,6BP** riconvertendolo in Fruttosio 6-P.



Avere le due attività sullo stesso enzima garantisce una **regolazione reciproca** perfetta: Quando un dominio è acceso, l'altro è spento. Questo evita che la cellula sprechi energia cercando di creare e distruggere il regolatore nello stesso momento.

**Funzione:** PFK-2 Attiva: **↑ F2,6BP** → Accelera la Glicolisi e blocca la Gluconeogenesi (se c'è).

FBPasi-2 Attiva: **↓ F2,6BP** → Blocca la Glicolisi e permette la Gluconeogenesi.

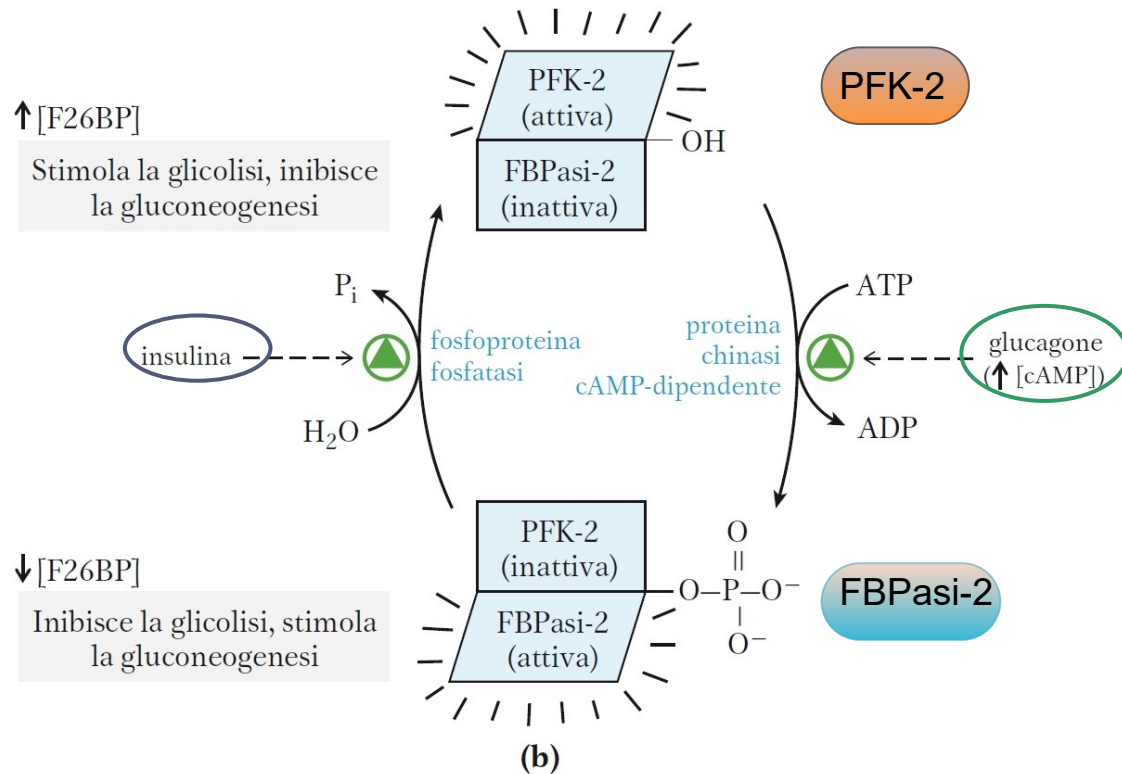


# L'attività della PFK-2/FBPasi-2 + sotto il controllo ormonale di insulina e glucagone

Nel fegato, il rapporto tra **Glicolisi** e **Gluconeogenesi** è governato dalla fosforilazione dell'enzima bifunzionale **PFK-2/FBPasi-2**, che funge da sensore della glicemia e che è sotto il controllo dagli ormoni **insulina** e **glucagone**.

Il presenza di **glucagone** (segnale di digiuno) gli epatociti attivano **PKA** che fosforila l'enzima bifunzionale attivando la funzione **FBPasi-2** (e si inibisce la **PFK-2**), determinando  $\downarrow$  **F2,6BP**. Di conseguenza: attivazione di **FBPasi-1** e della gluconeogenesi.

La presenza di **insulina** (segnale di abbondanza) attiva la **fosfoproteina fosfatasi (PP2A)** che defosforila l'enzima bifunzionale (**PFK-2/FBPasi-2**) attivando la funzione chinasi (**PFK-2**) con conseguente  $\uparrow$  di **F2,6BP**. Risultato: attivazione della **PFK-1** e della glicolisi



# Ruolo di insulina e glucagone nella regolazione della glicolisi/neoglucogenesi

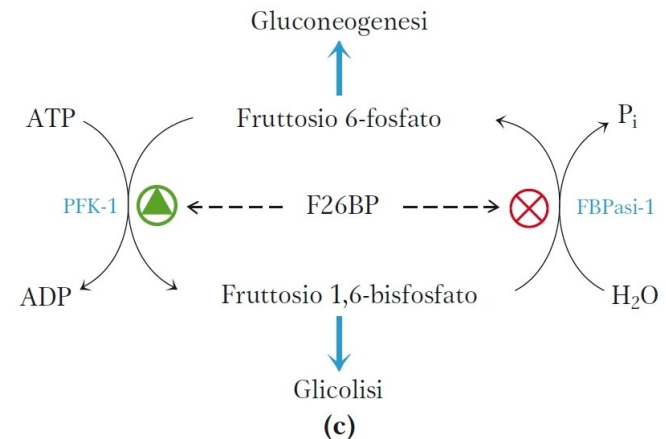
**Glucagone:** segnala un abbassamento della glicemia, stimola nel fegato la neosinesi di **glucosio** per riportare la glicemia a livelli normali.

**Insulina:** segnala l'innalzamento della glicemia, stimola la glicolisi per aumentare il consumo di glucosio e riportare la glicemia a valori normali

Agiscono entrambi e in senso opposto sull'enzima bifunzionale **PFK-2/FBPasi-2** che regola i livelli di **F-2,6-BP**

**Glucagone:** ↓ **F-2,6-BP** → attiva la gluconeogenesi

**Insulina:** ↑ **F-2,6-BP** → attiva la glicolisi



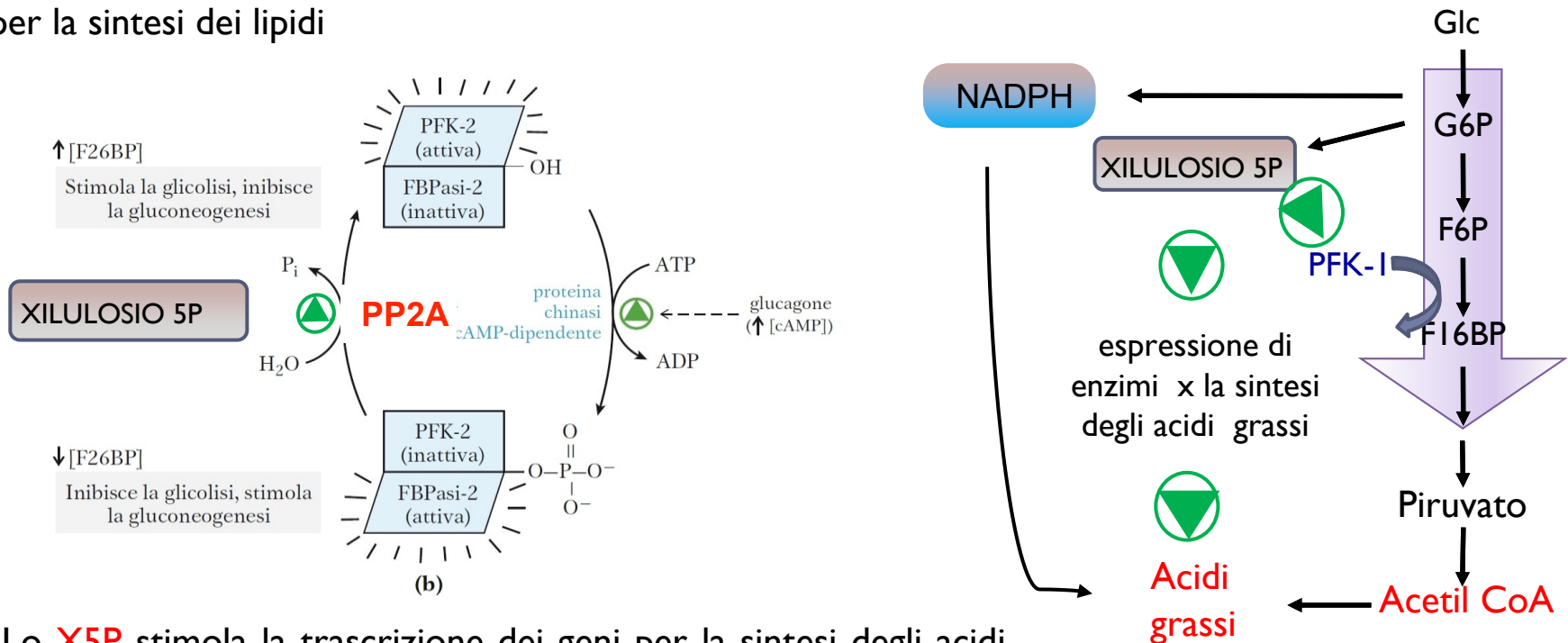
Negli altri tessuti (esempio muscolo scheletrico):

Il muscolo **non riceve ordini dal glucagone**. La sua FBPasi-I risponde solo allo **stato energetico interno**. Se AMP ↑ → inibizione della FBP-I, attivazione della PFK-I e la glicolisi corre

# Lo xilulosio-5P, regolatore nel fegato del metabolismo dei carboidrati e dei lipidi agisce sulla PFK-2/FBPasi-2

Nel fegato, lo **xilulosio 5P (X5P)** funge da coordinatore metabolico: segnala che la cellula ha abbondanza di glucosio e di potere riducente (NADPH) e può quindi iniziare la **sintesi dei grassi**.

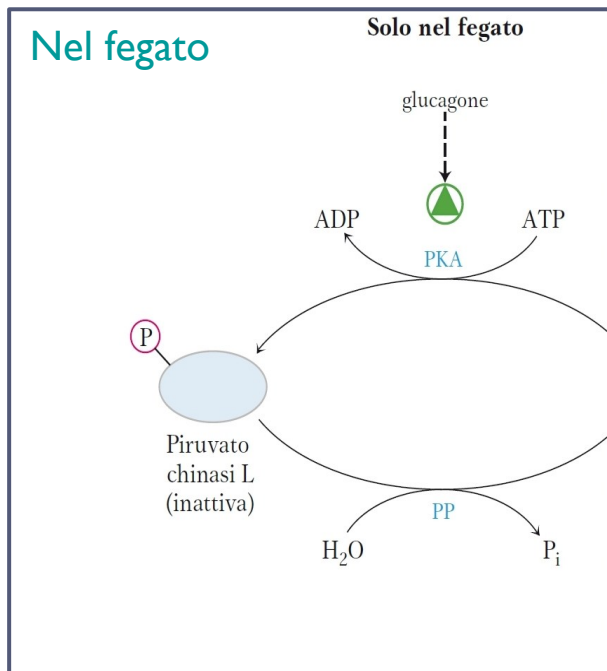
**Xilulosio 5P** è un attivatore allosterico della **protein fosfatasi 2A (PP2A)**, defosforila la **PFK-2/FBPasi-2** inducendo la **PFK-1** e quindi stimolando la glicolisi per produrre **acetil-Coa**, il precursore per la sintesi dei lipidi



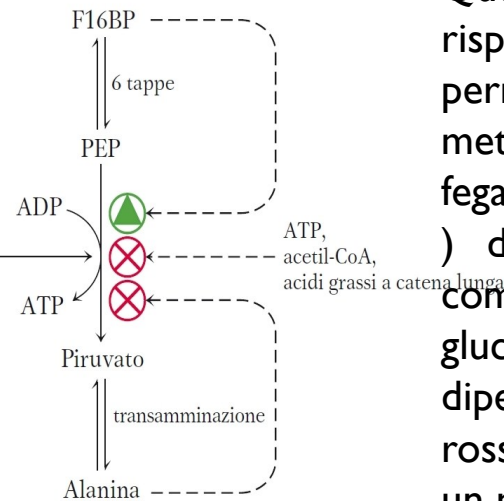
Lo **X5P** stimola la trascrizione dei geni per la sintesi degli acidi grassi. La PP2A defosforila e attiva anche la **Acetil-CoA Carbossilasi (ACC)**, l'enzima chiave della sintesi lipidica.

# III punto di controllo: piruvato chinasi (PK)

La **Piruvato Chinasi (PK)** catalizza l'ultima tappa della glicolisi. La sua regolazione serve a decidere se completare l'ossidazione del glucosio o interromperla. In **tutti i tessuti** è presente la isoforma **M** soggetta a **regolazione allosterica** basata sulle necessità energetiche della cellula.



In tutti i tessuti glicolitici, compreso il fegato



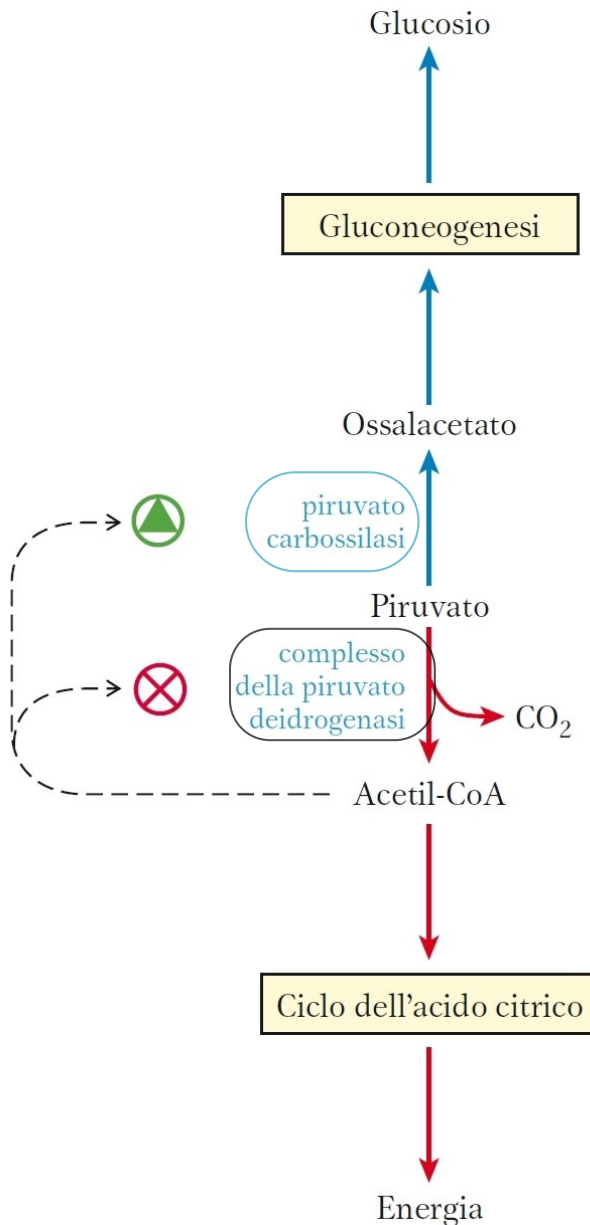
L'attività è inibita da **ATP**, **acetil-Coa** e **acidi grassi**.

Questo è un meccanismo di risparmio del glucosio che permette ai tessuti metabolicamente flessibili (come fegato e muscolo a riposo, cuore) di preferire gli acidi grassi come carburante, preservando il glucosio per i tessuti che ne dipendono (cervello e globuli rossi). L'attivazione da **F1,6BP** è un meccanismo di feed-forward.

**Nel fegato: regolazione sistemica ormonale:** Il **glucagone** stimola la **PKA** che inibisce l'isoforma **L** della **PK** per fosforilazione (forma L inattiva). Il fegato "spegne" la propria glicolisi per non consumare il glucosio che sta faticosamente producendo tramite la gluconeogenesi



# Regolazione della gluconeogenesi da Acetil-Coa



L'**Acetil-CoA** è il segnale molecolare che indica l'abbondanza di acidi grassi. Agisce come un "vigile urbano" che devia il piruvato lontano dal ciclo di Krebs e verso la produzione di glucosio.

Quando i livelli di **Acetil-coa** aumentano (degradazione degli acidi grassi) **nel fegato l'acetil-Coa:**

- stimola la **piruvato carbossilasi** ad utilizzare piruvato per sintetizzare glucosio e
- inibisce la **piruvato deidrogenasi** (vedi capitolo ciclo di Krebs) che consuma piruvato per produrre Acetil-Coa.

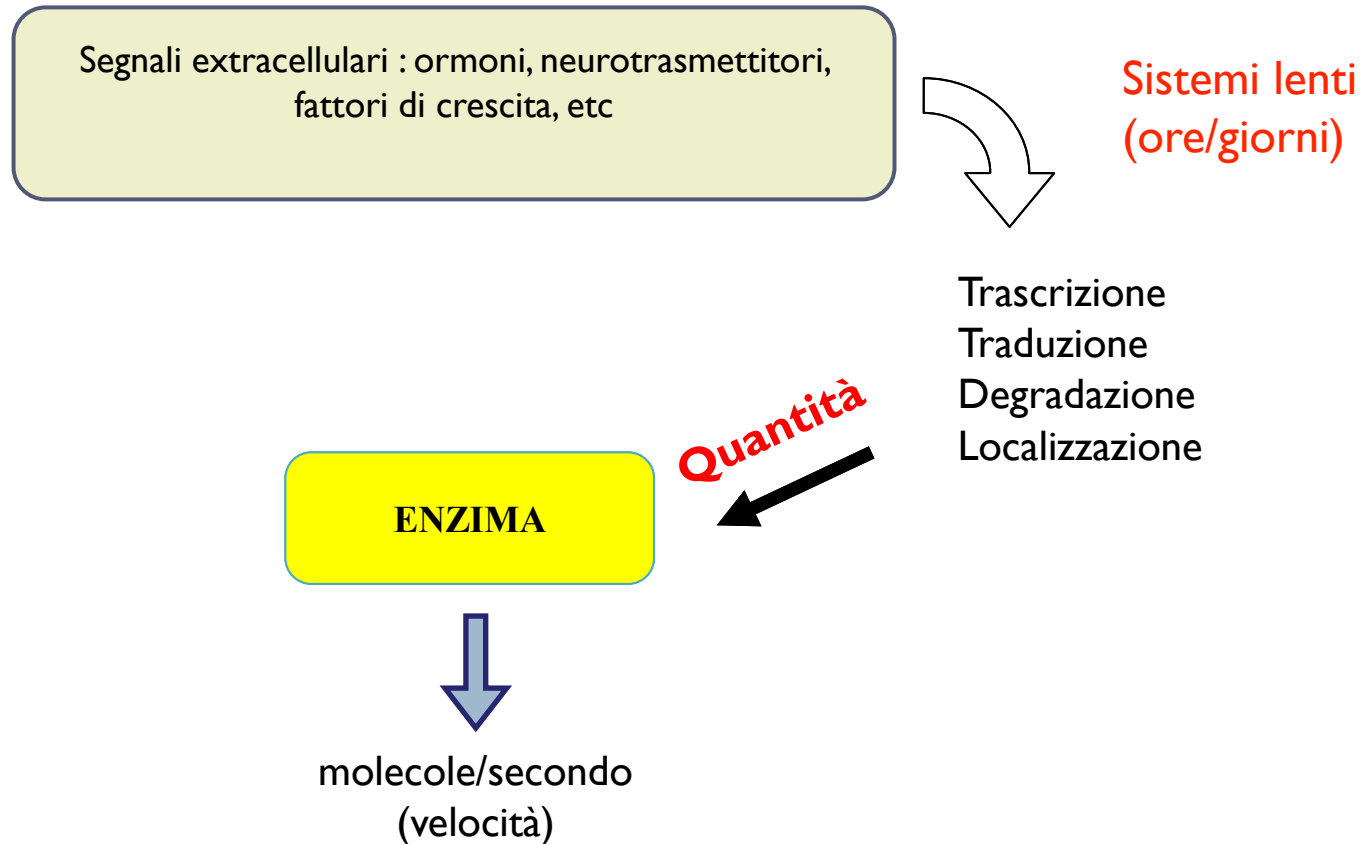
Significato metabolico: Se l'organismo sta bruciando grassi (es. durante il digiuno), il fegato smette di ossidare il piruvato e inizia a trasformarlo in nuovo glucosio da inviare al sangue.

Quando il fabbisogno energetico è soddisfatto, il ciclo di Krebs rallenta; l'accumulo di Acetil-CoA garantisce che il piruvato residuo venga "riciclato" in glucosio.

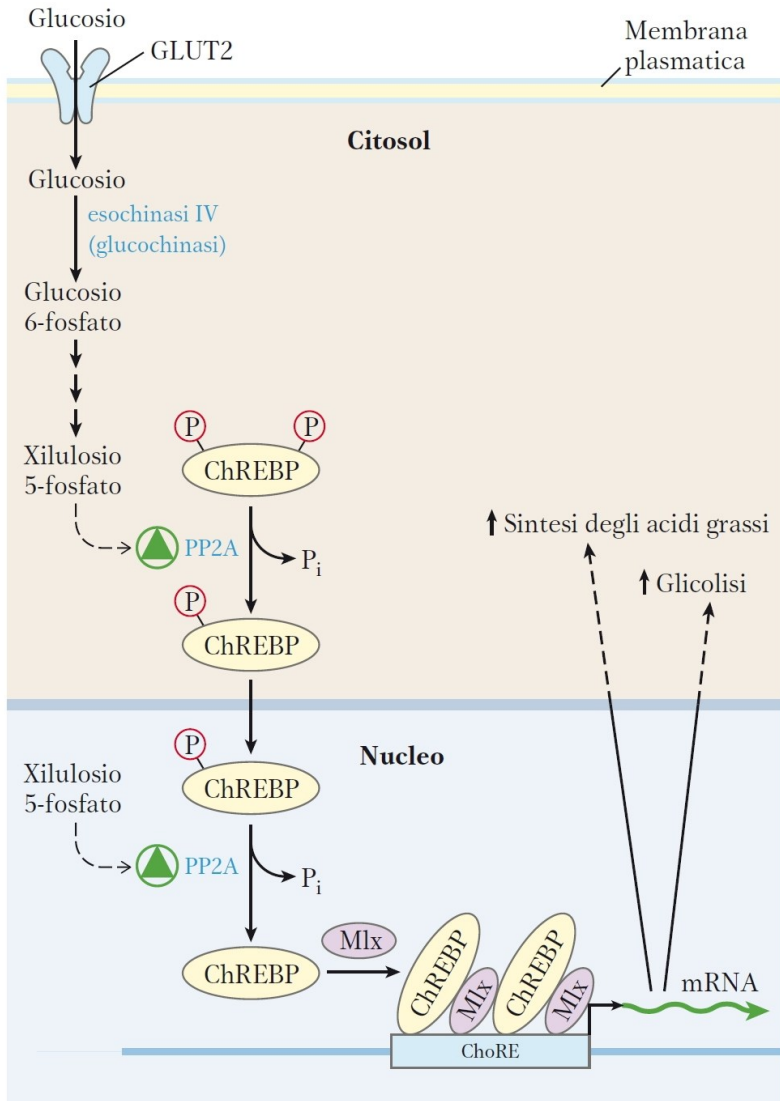
# Regolazione metabolica attraverso la quantità degli enzimi

---

L'omeostasi molecolare è mantenuta anche variando la quantità degli enzimi



# ChREBP e la Risposta Coordinata ai Carboidrati



► ChoRE: Carbohydrate Response Element

Il fattore trascrizionale **ChREBP**: (**CarboHydrate Response Element Binding Protein**) è un coordinatore della sintesi di enzimi glicolitici e lipogenici (sintesi di acidi grassi) ed espresso principalmente nel **fegato** (in figura) nel **tessuto adiposo** e nel **rene**.

Nel citosol, ChREBP è mantenuto inattivo da una doppia fosforilazione.

Attivazione: l'aumento di glucosio aumenta i livelli di **Xu5P** (via pentosio fosfato) che attiva la **PP2A**, questa de-fosforila **ChREBP**, permettendone l'ingresso nel nucleo. ChREBP si lega a specifiche sequenze (ChoRE) sui promotori di specifici geni.



Attiva una risposta coordinata: sintesi di enzimi per gestire l'eccesso di zuccheri attraverso un aumento della glicolisi e della sintesi degli acidi grassi.

# Dal Glucosio ai Grassi: L'effetto a lungo termine

L'attivazione cronica di ChREBP (dieta ricca di zuccheri) innesca un adattamento enzimatico che favorisce la **lipogenesi de novo**. Effetti della sua attivazione:

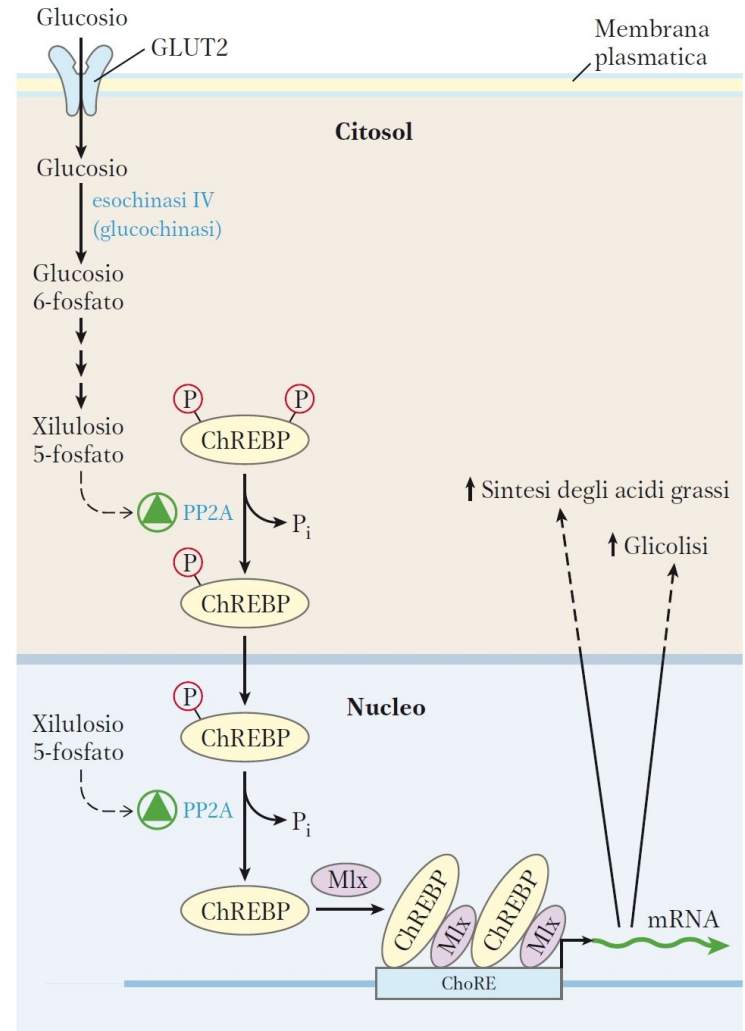
Aumenta la sintesi di enzimi come la **Piruvato Chinasi (PK)**, producendo un eccesso di **Acetil-CoA**. L'Acetil-CoA non viene bruciato per energia, ma usato come mattone per gli acidi grassi e, successivamente, per i **triacilgliceroli (TAG)**.

Destino dei lipidi

nel **fegato**: i TAG sono impacchettati nelle VLDL ed esportati.

nel **tessuto adiposo**: aumento delle riserve di lipidi

Significato: Questo meccanismo garantisce che l'energia in eccesso non resti nel sangue (iperglicemia tossica), ma venga stoccata in modo efficiente.

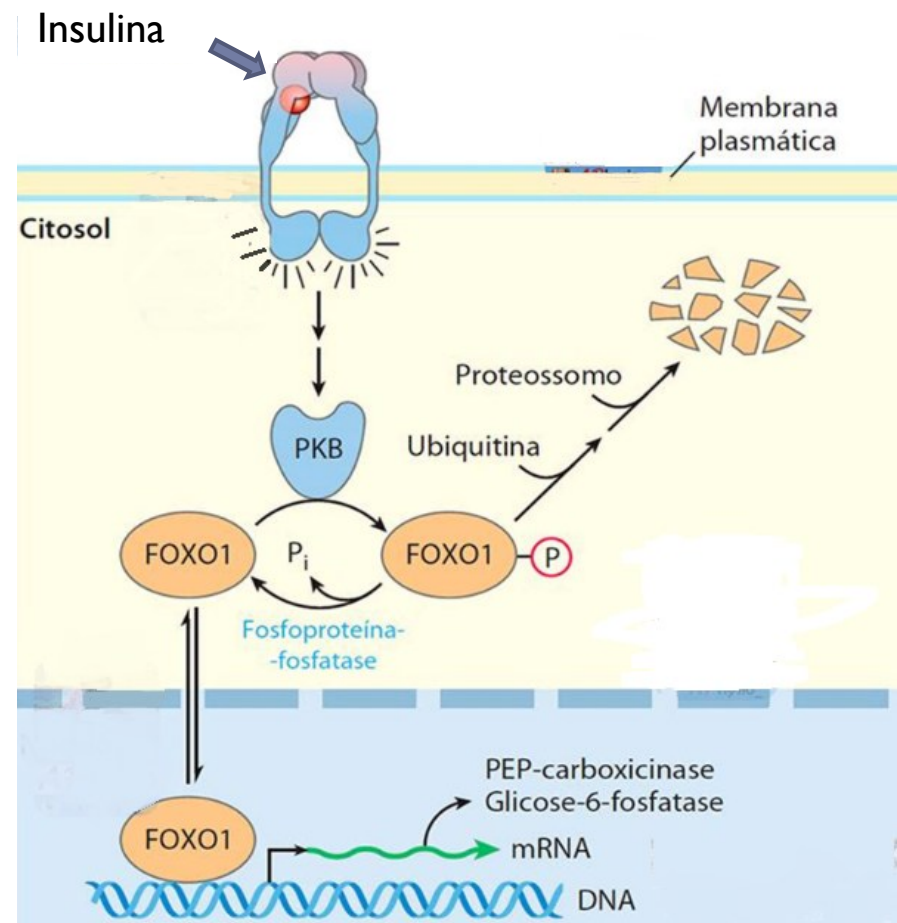


# Controllo Genico della Gluconeogenesi (FOXO1 e CREB)

L'insulina e il glucagone regolano la sintesi degli enzimi gluconeogenetici tramite FOXO1 e CREB. In assenza di **insulina**, i fattori di trascrizione FOXO1 e CREB agiscono in sinergia nel nucleo, inducendo l'espressione nel **fegato** di **Glucosio 6 fosfatasi**, **PEP carbossichinasi**. Potenziano le capacità di sintetizzare glucosio.

L'insulina attiva la **protein chinasi B (PKB)** che fosforilando **FOXO1** ne promuove la degradazione.

Su CREB: L'insulina ne contrasta l'attivazione (mediata dal cAMP), spegnendo il segnale del glucagone (non mostrato). L'assenza di **FOXO1** e **CREB** determina la regolazione negativa dei geni necessari alla gluconeogenesi.



Significato: l'**insulina** blocca la gluconeogenesi non solo tramite F2,6BP (rapido) ma anche riducendo la sintesi stessa enzimi gluconeogenetici.