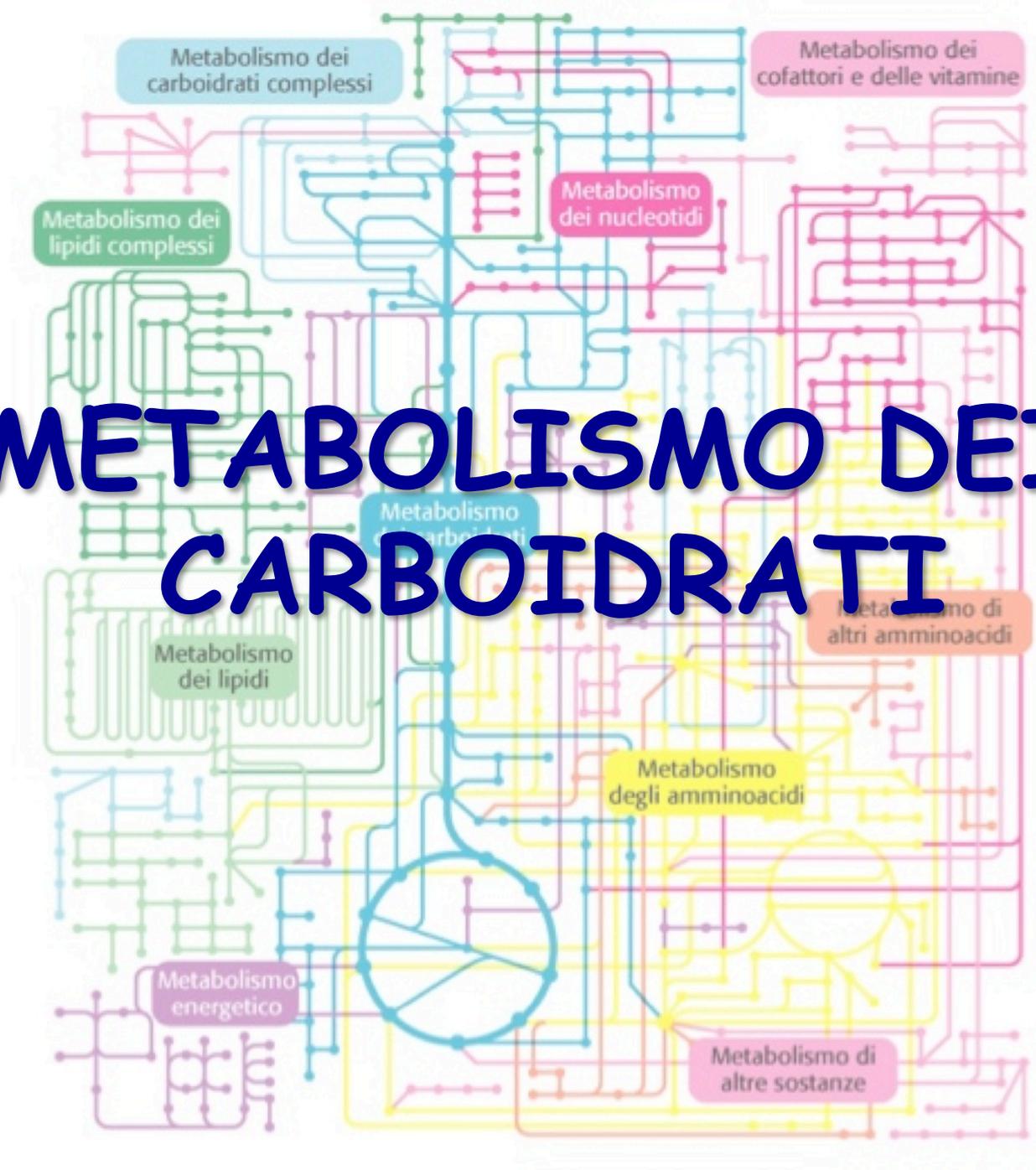


METABOLISMO DEI CARBOIDRATI



The background features a faint, semi-transparent chemical structure of a phosphorylated sugar. It shows a five-membered ring (pyranose) with a phosphate group (P) attached to the 5' carbon via an oxygen atom. The ring has several hydroxyl (OH) groups and hydrogen atoms attached to its carbons. The entire structure is centered behind the main text.

DIGESTIONE E ASSORBIMENTO DEI CARBOIDRATI

LA GLICOLISI

La digestione dei carboidrati inizia nella bocca ad opera della **ptialina** che demolisce i legami α -1-4 glicosidici dell'amido (pH circa 7)

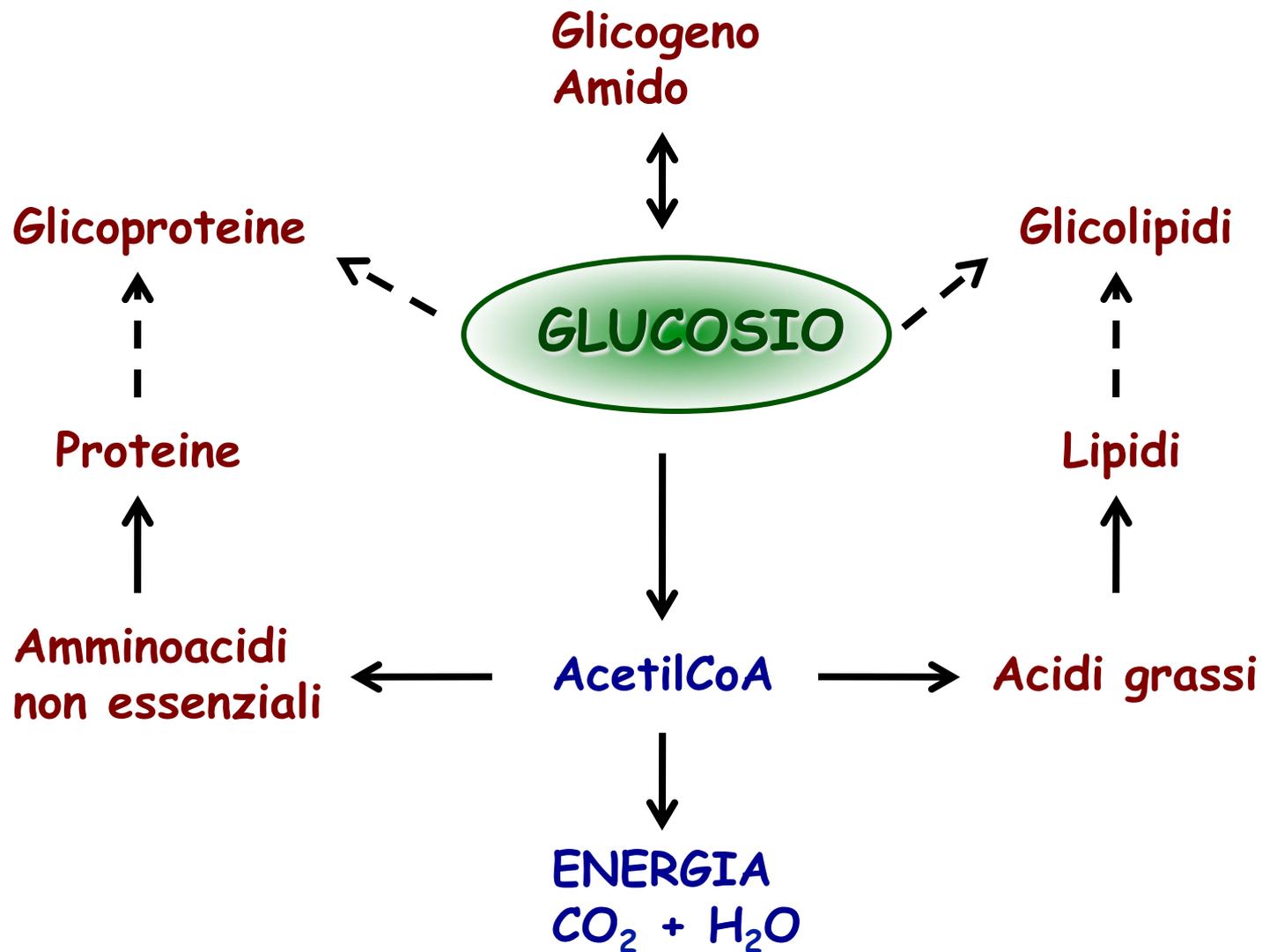
L'idrolisi si interrompe nello stomaco (pH < 2) e riprende nell'intestino tenue ad opera dell' **α -amilasi pancreatica**

La digestione viene completata da **disaccaridasi** legate alla superficie esterna delle cellule epiteliali dell'intestino tenue. Digestione di maltosio, lattosio, trealosio, saccarosio.

Si formano i diversi monosaccaridi che passano nel citoplasma delle cellule della mucosa intestinale

Il processo e la velocità di assorbimento dei monosaccaridi non è uguale per tutti. Il glucosio viene assorbito velocemente con un processo di trasporto attivo dipendente da Na^+

Dalle cellule della mucosa intestinale il glucosio e gli altri monosaccaridi passano all'interstizio e poi al sangue e dal torrente circolatorio al fegato. Il fegato svolge un ruolo fondamentale di raccolta e smistamento del glucosio verso i diversi distretti cellulari



- posizione centrale nel metabolismo
- principale nutriente per la maggior parte degli organismi
- fonte di energia facilmente immagazzinabile e facilmente rimovibile
- precursore di molti composti

La parola “**GLICOLISI**” deriva dalla lingua greca

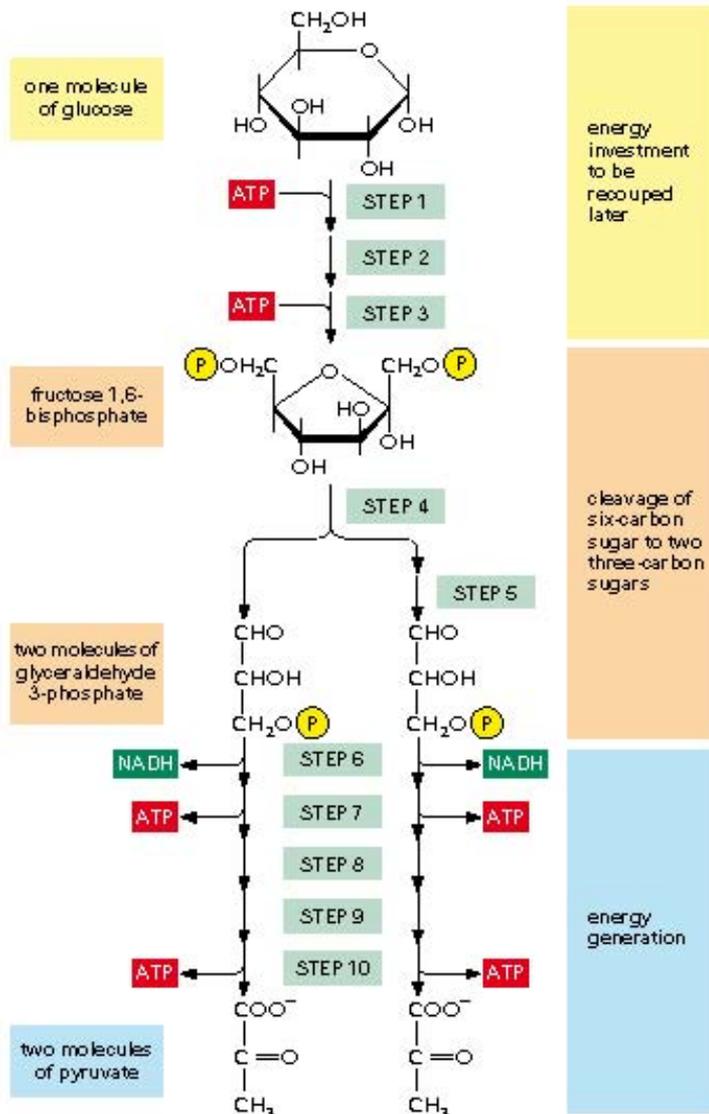
glykús = dolce *lýsis* = scissione

processo di degradazione anaerobia del glucosio
via centrale del catabolismo del glucosio per tutte le cellule

probabilmente il meccanismo biologico più antico sviluppato dai primi organismi viventi per ottenere energia dai composti organici. La sequenza di reazioni è altamente conservata

unica o principale fonte di energia metabolica per eritrociti, midollo renale, cervello, spermatozoi
molti microorganismi anaerobi sono totalmente dipendenti dalla glicolisi

una delle vie metaboliche più studiate e conosciute
riferimento per molte altre reazioni cellulari per i meccanismi di reazione e regolazione



**FASE PREPARATORIA
(o di investimento energetico)**

FASE LITICA

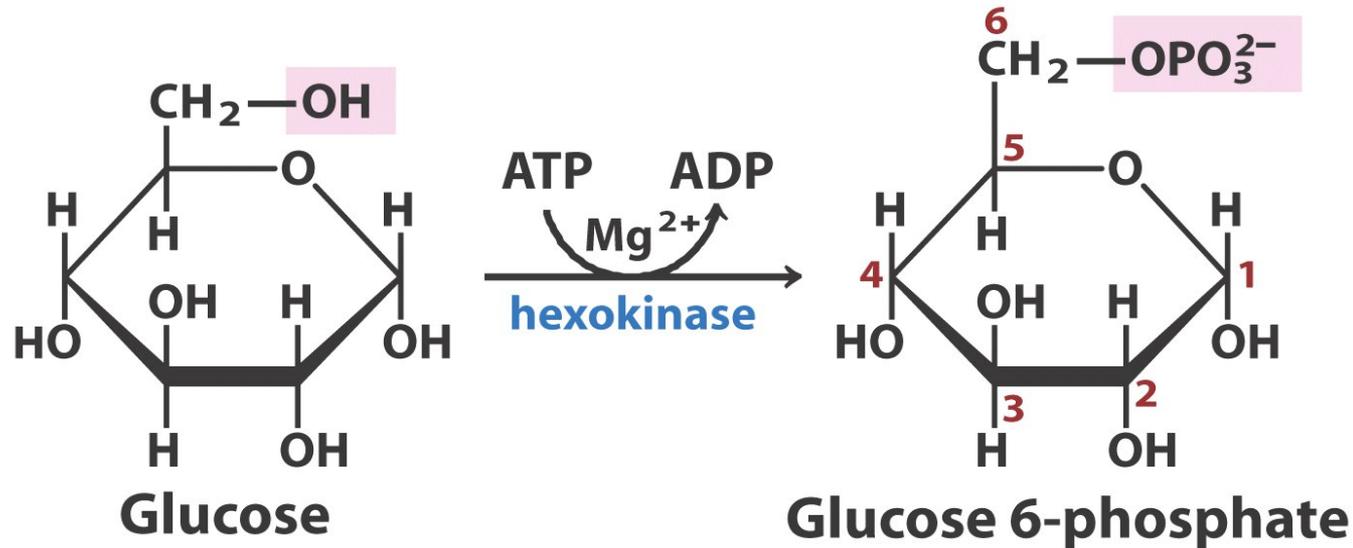
FASE DI RECUPERO ENERGETICO

Tutti gli enzimi glicolitici hanno localizzazione citosolica

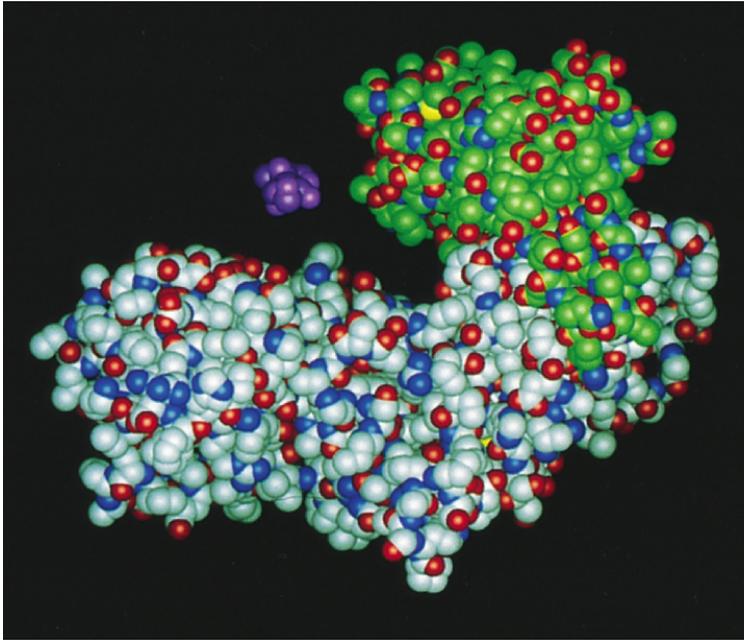
FASE PREPARATORIA

viene consumato ATP

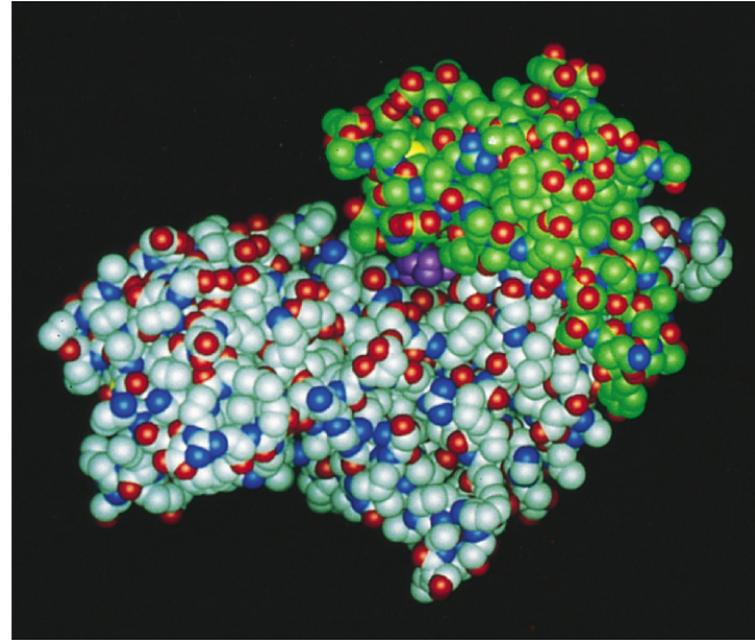
(1) FOSFORILAZIONE DEL GLUCOSIO



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

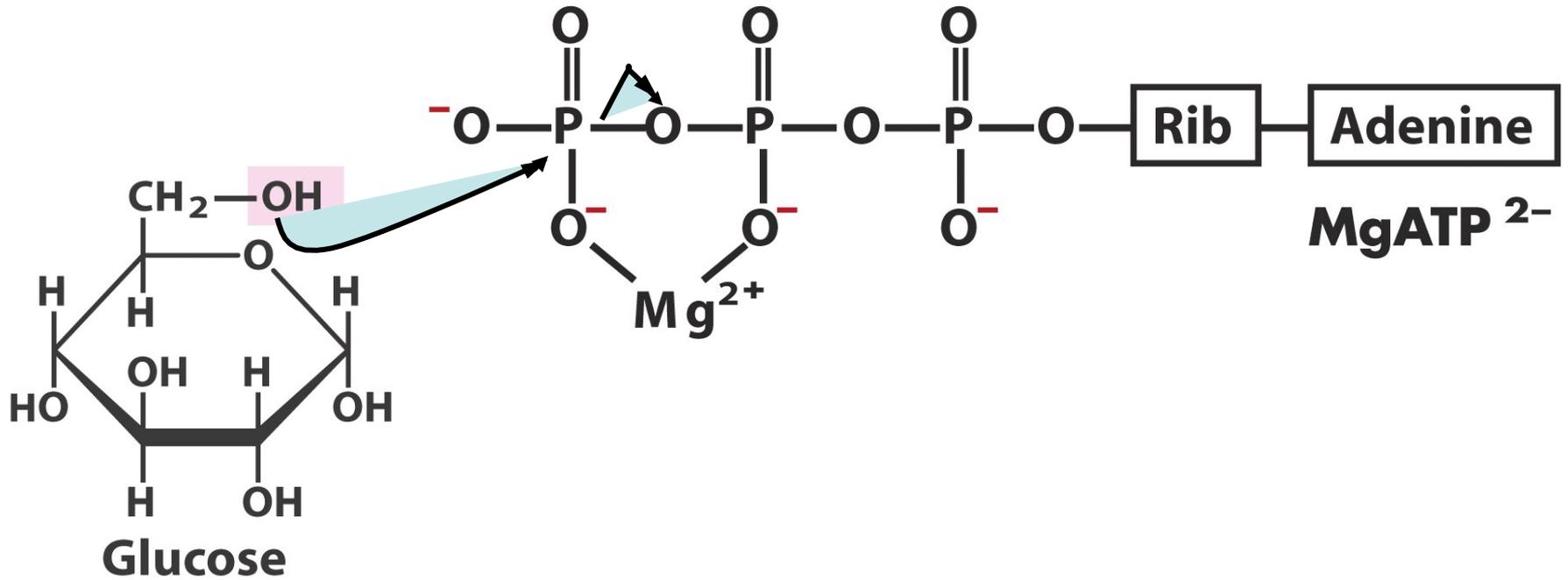


(a)



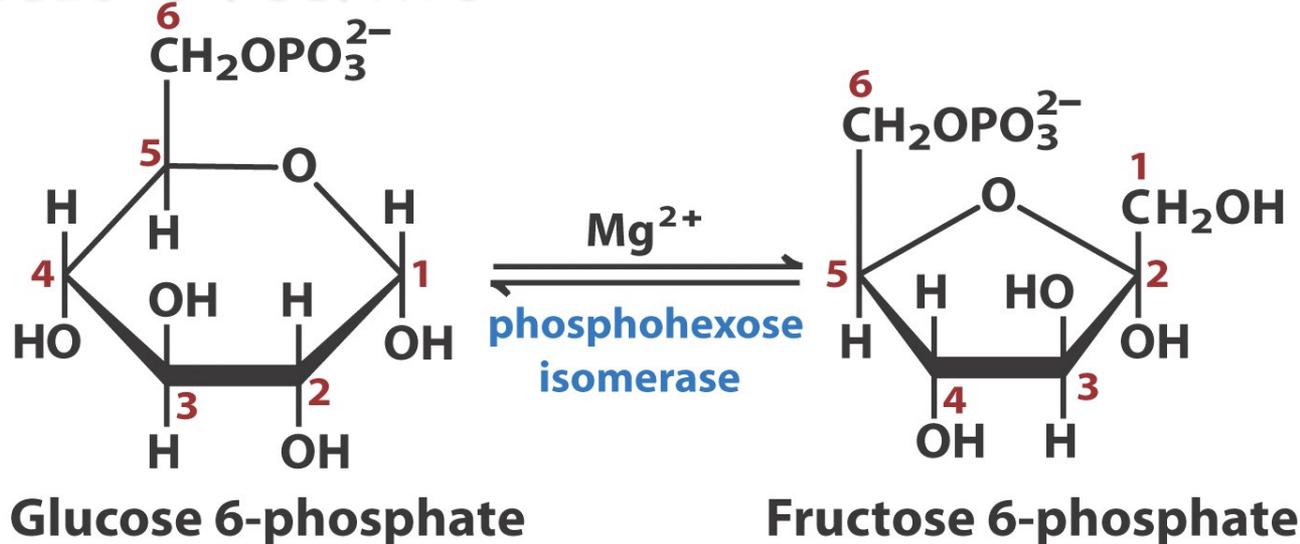
(b)

La molecola di glucosio induce un notevole cambiamento conformazionale nell'enzima: i due lobi che formano il sito attivo si avvicinano in modo da avvolgere il glucosio. Sembra che questo movimento porti ATP molto vicino al gruppo C6-OH del glucosio ed esclude l'acqua dal sito attivo. L'acqua favorirebbe l'idrolisi di ATP, termodinamicamente più favorita.



Come per le altre chinasi, il secondo substrato per esochinasi è Mg-ATP. Gli ioni Mg^{2+} schermano le cariche negative di due O^- rendendo P in γ più suscettibile all'attacco nucleofilo di C6-OH del glucosio
 ATP non complessato è un potente inibitore competitivo dell'esochinasi

(2) CONVERSIONE DI GLUCOSIO-6-FOSFATO A FRUTTOSIO-6-FOSFATO



$$\Delta G'^{\circ} = 1.7 \text{ kJ/mol}$$

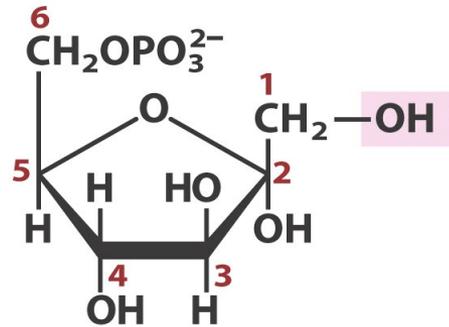
Isomerizzazione reversibile da aldoso a chetoso, che passa attraverso apertura e chiusura dell'anello

Il riarrangiamento dei gruppi carbonilici e ossidrilici tra C1 e C2 è una premessa necessaria alle due tappe successive:

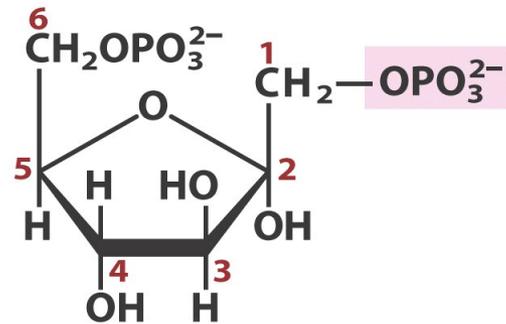
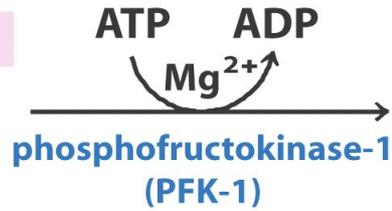
la fosforilazione in C1 richiede una conversione da gruppo carbonilico a ossidrilico

la scissione dell'anello tra C3 e C4 richiede un gruppo carbonilico in C2

(3) FOSFORILAZIONE DI FRUTTOSIO-6-FOSFATO A FRUTTOSIO-1,6-BIFOSFATO



Fructose 6-phosphate

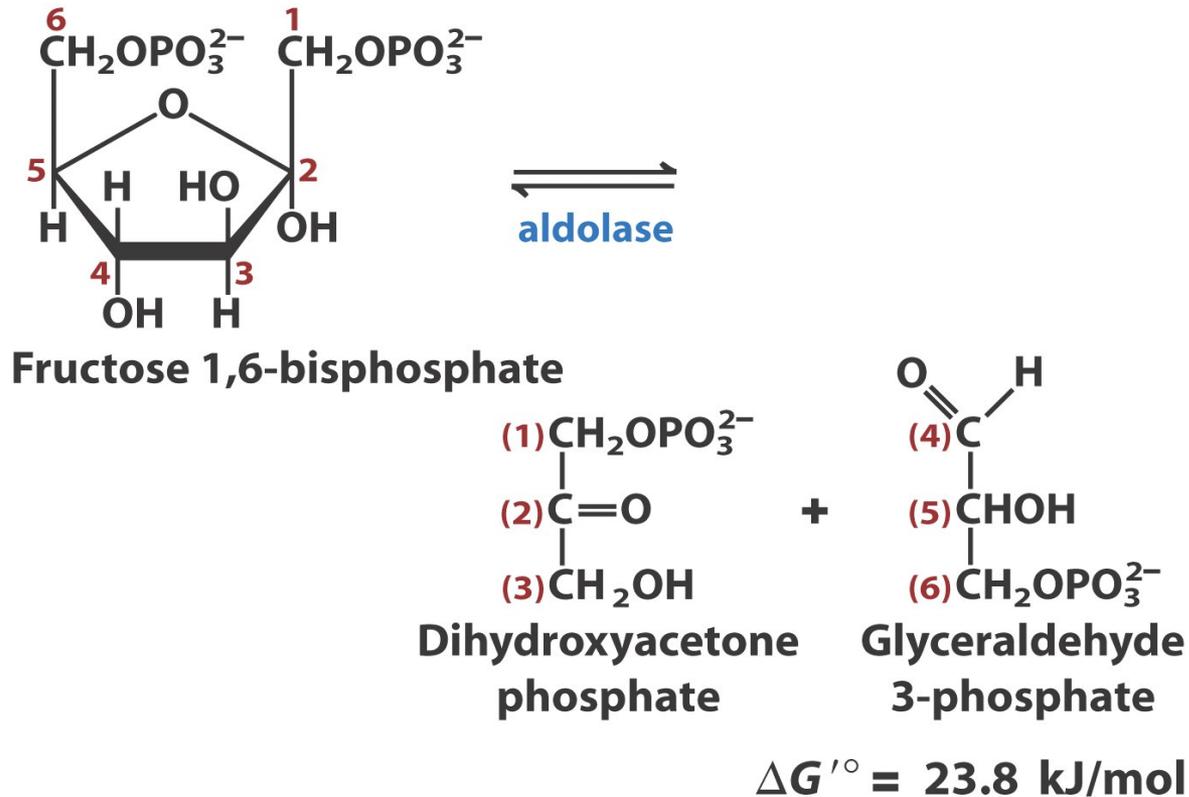


Fructose 1,6-bisphosphate

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

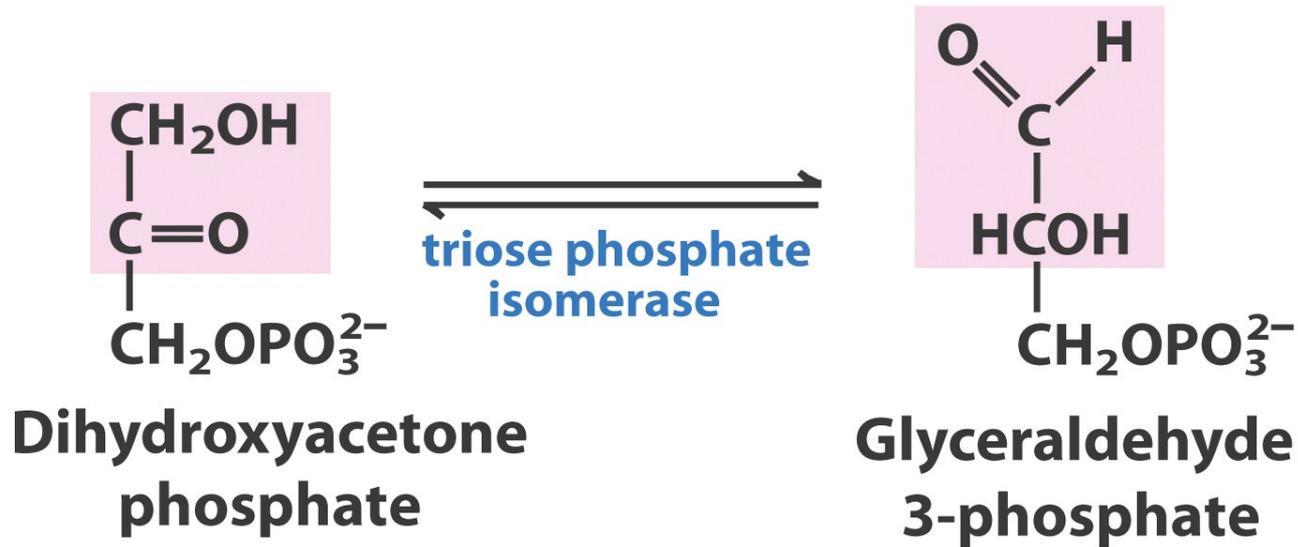
FASE LITICA

(4) ROTTURA DEL FRUTTOSIO-1,6-BIFOSFATO

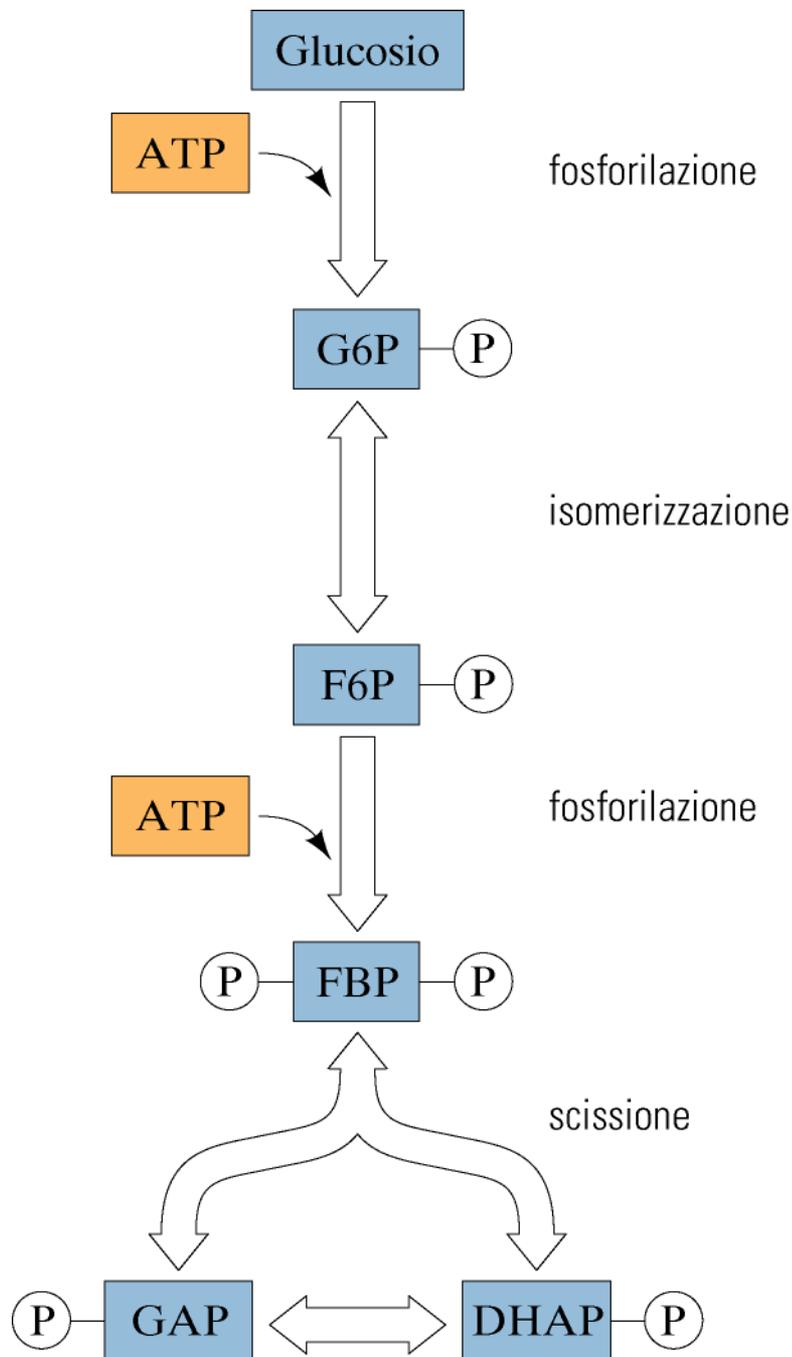


Nonostante il valore elevato di $\Delta G'^{\circ}$ la reazione procede verso destra perché i prodotti sono rimossi rapidamente dalle reazioni successive
L'aldolasi catalizza la reazione inversa durante la gluconeogenesi

(5) INTERCONVERSIONE DEI TRIOSI FOSFATO



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



Alla fine della fase preparatoria (+fase litica):

- 1 molecola di glucosio è stata trasformata in due molecole di **GAP**
- 2 molecole di **ATP** sono state consumate per sintetizzare intermedi fosforilati

Importanza degli intermedi fosforilati

I composti fosforilati non escono dalla cellula

A causa della presenza del gruppo fosforico, a pH 7 tutti gli intermedi della glicolisi sono ionizzati. Quindi, poiché la membrana è impermeabile alle molecole cariche, non possono uscire dalla cellula.

Quindi, dopo la fosforilazione iniziale, la cellula non deve spendere altra energia per tenere all'interno i composti fosforilati nonostante l'elevata differenza di concentrazione tra l'interno e l'esterno

I gruppi fosforici sono componenti essenziali nei processi di conservazione dell'energia metabolica

L'energia rilasciata dalla rottura dei fosfoanidridici (ATP) viene conservata nella formazione dei legami fosfoesterei che porteranno alla formazione di composti fosforilati ad alta energia di idrolisi nella fase di recupero

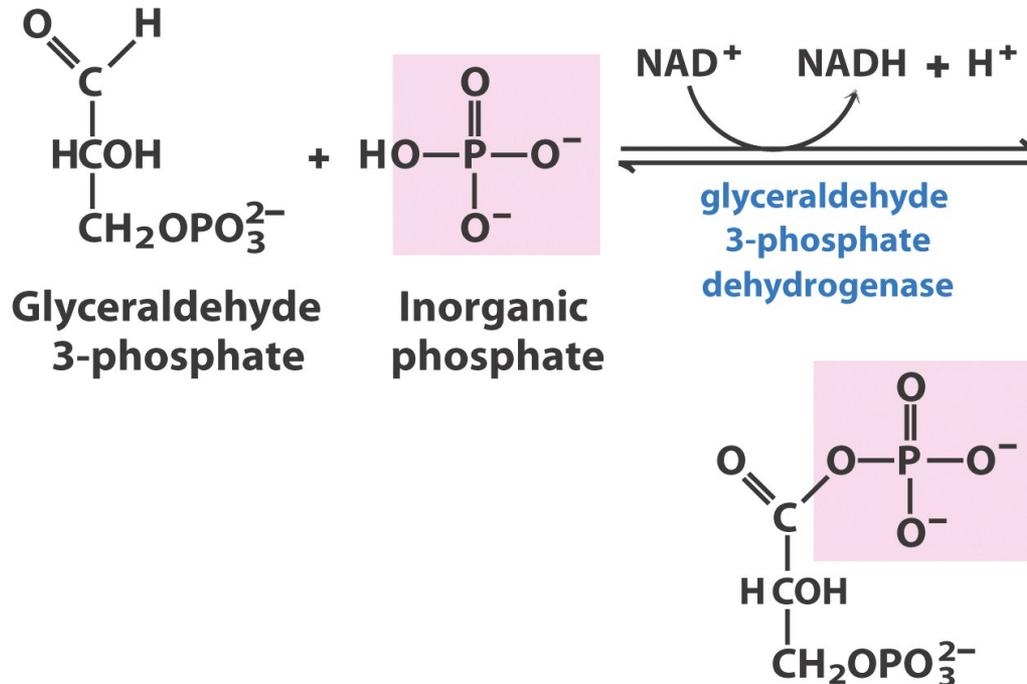
Il legame del gruppo fosforico al sito attivo di un enzima contribuisce ad abbassare l'energia di attivazione e ad aumentare la specificità della reazione enzimatica

I gruppi fosforici di ATP, ADP e degli intermedi glicolitici formano complessi con Mg^{++} e sotto tale forma si legano al sito attivo dell'enzima

FASE DI RECUPERO ENERGETICO

viene prodotto ATP

(6) OSSIDAZIONE DI GLICERALDEIDE-3-FOSFATO A 1,3-BIFOSFOGLICERATO

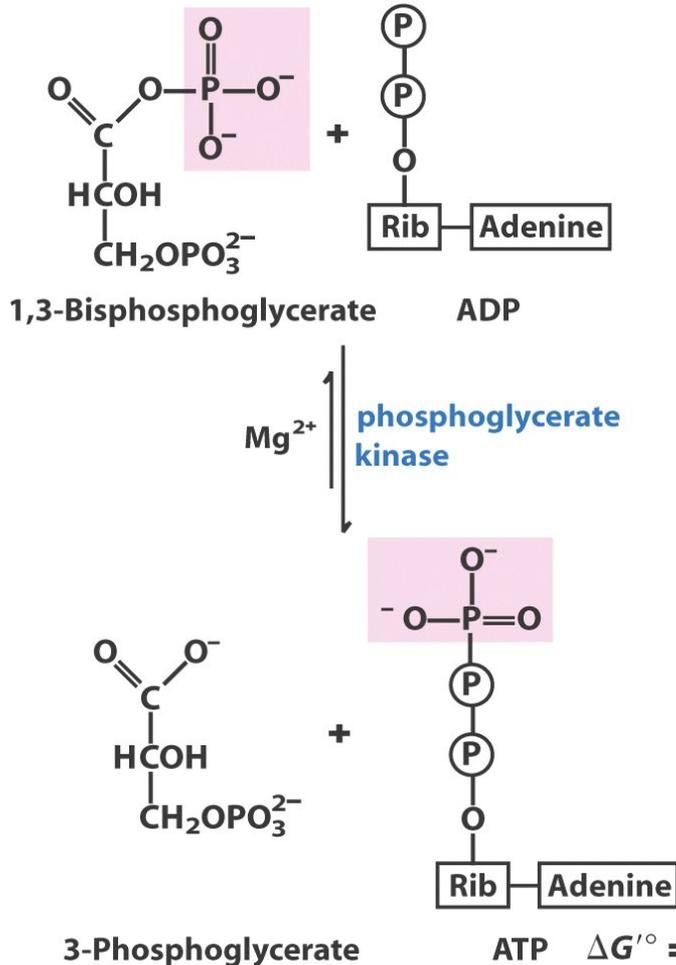


$$\Delta G'^{\circ} = 6.3 \text{ kJ/mol}$$

1,3-Bisphosphoglycerate

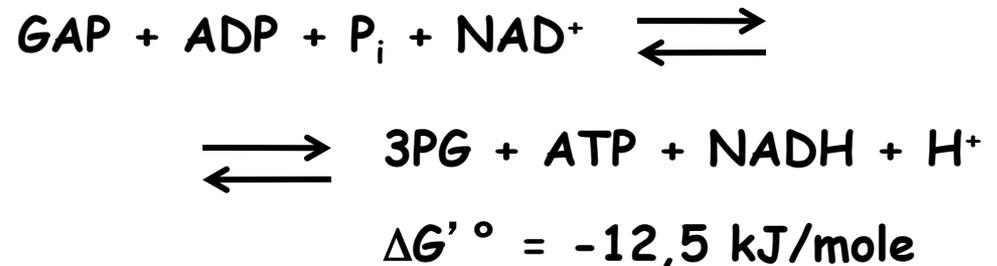
“Espediente chimico” per trasformare un composto a bassa energia (GAP) in un composto ad alta energia di idrolisi (1,3-BPG, anidride mista, $\Delta G'^{\circ} = -49\text{kJ/mole}$)

(7) TRASFERIMENTO DEL GRUPPO FOSFORICO DA 1,3-BIFOSFOGLICERATO AD ADP (PRIMA FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO)



(6) e (7) sono un esempio di **ACCOPPIAMENTO ENERGETICO** in cui 1,3-bisfosfoglicerato è l'intermedio comune: si forma nella I reazione (ENDOERGONICA) e il suo gruppo fosforico (come acilfosfato) viene trasferito ad ADP nella II reazione (ESOERGONICA).

La somma delle due reazioni sequenziali è:



La reazione complessiva è quindi **ESOERGONICA**

FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO:

Formazione di ATP mediante il trasferimento di gruppi fosforici da un substrato ad ADP.

Sono coinvolti enzimi solubili e intermedi chimici.

Non implica utilizzo di O_2 .

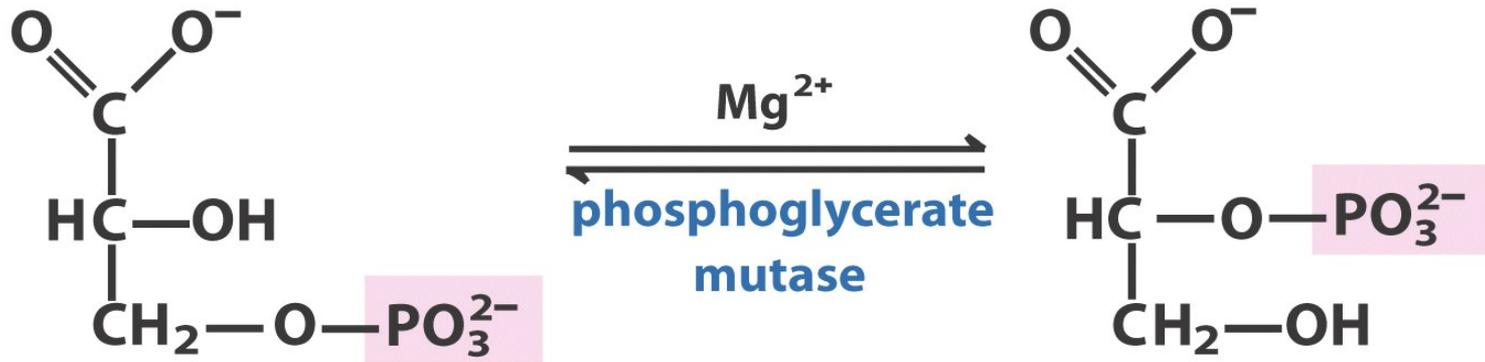
FOSFORILAZIONE LEGATA ALLA RESPIRAZIONE:

Sintesi di ATP accoppiata alla catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri.

Sono coinvolti enzimi di membrana e gradienti protonici transmembrana.

L'ossidazione di NADH da parte di O_2 è accoppiata a sintesi di ATP.

(8) CONVERSIONE DI 3-FOSFOGLICERATO A 2-FOSFOGLICERATO

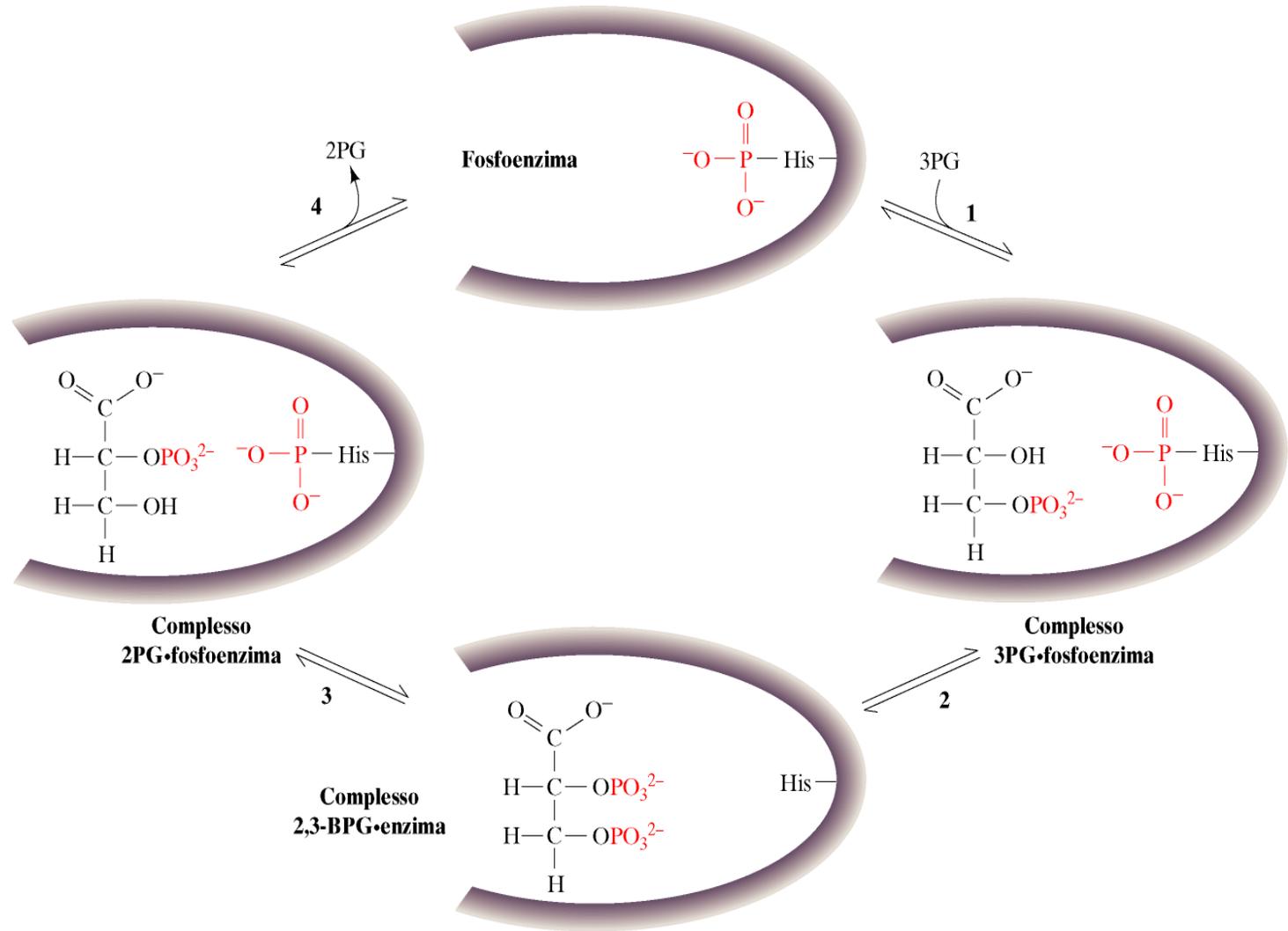


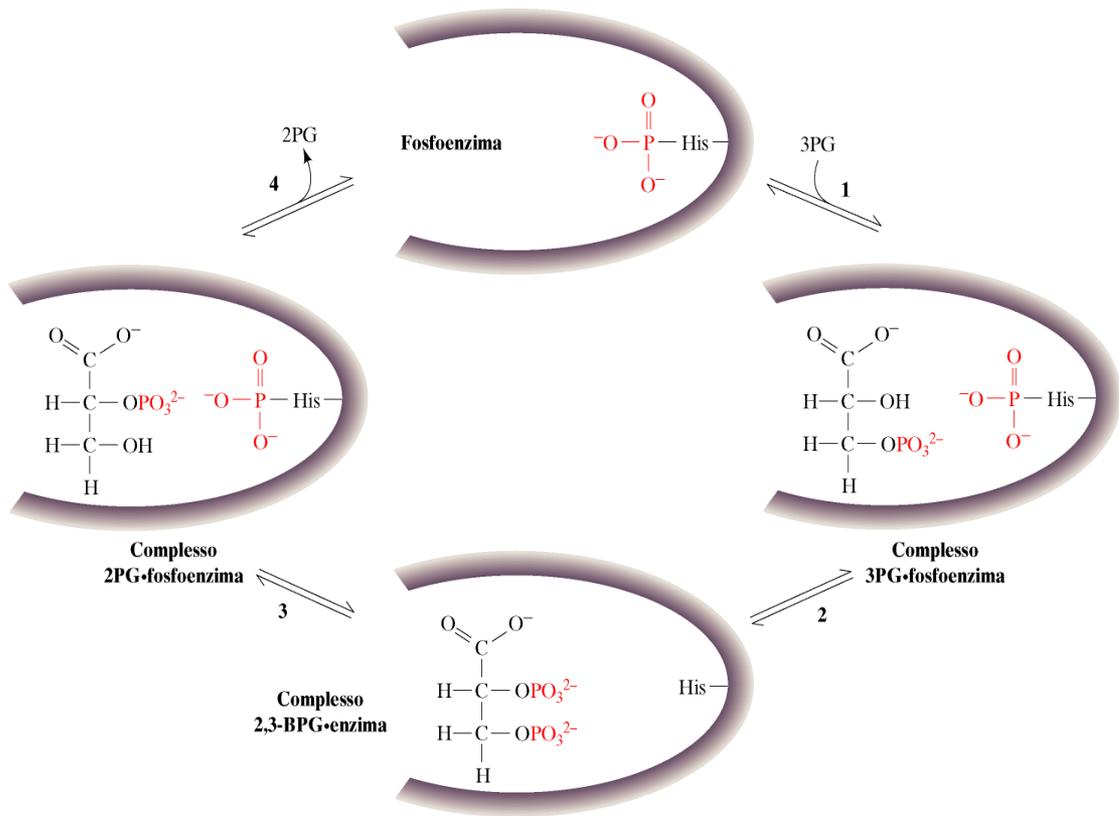
3-Phosphoglycerate

2-Phosphoglycerate

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

Meccanismo di reazione della fosfoglicerato mutasi





L'enzima è inizialmente attivato per trasferimento di un gruppo fosforico da 2,3 bifosfoglicerato.

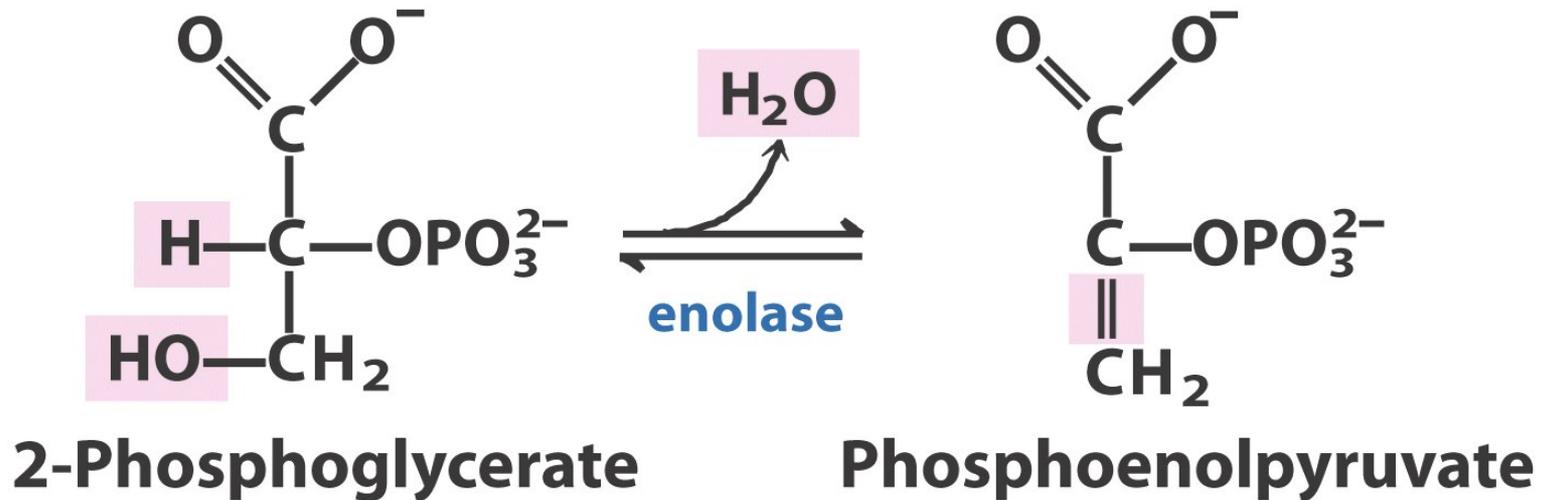
2,3 BPG si comporta come cofattore, quindi è necessaria una piccola quantità per iniziare il ciclo, dopo di che 2,3 BPG viene rigenerato dal ciclo stesso

Le quantità basali di 2,3 BPG sono garantite dalla reazione chinasi ATP-dipendente



2,3 BPG è presente in tracce nella maggior parte delle cellule, mentre è uno dei maggiori componenti degli eritrociti (regolazione dell'affinità di Hb per O_2)

(8) DEIDRATAZIONE DI 2-FOSFOGLICERATO A FOSFOENOLPIRUVATO



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

La perdita di H_2O provoca una redistribuzione dell'energia all'interno della molecola tale che la variazione di energia libera standard che accompagna l'idrolisi di fosfoenolpiruvato (*) è molto maggiore di quella di 2-fosfoglicerato (**)

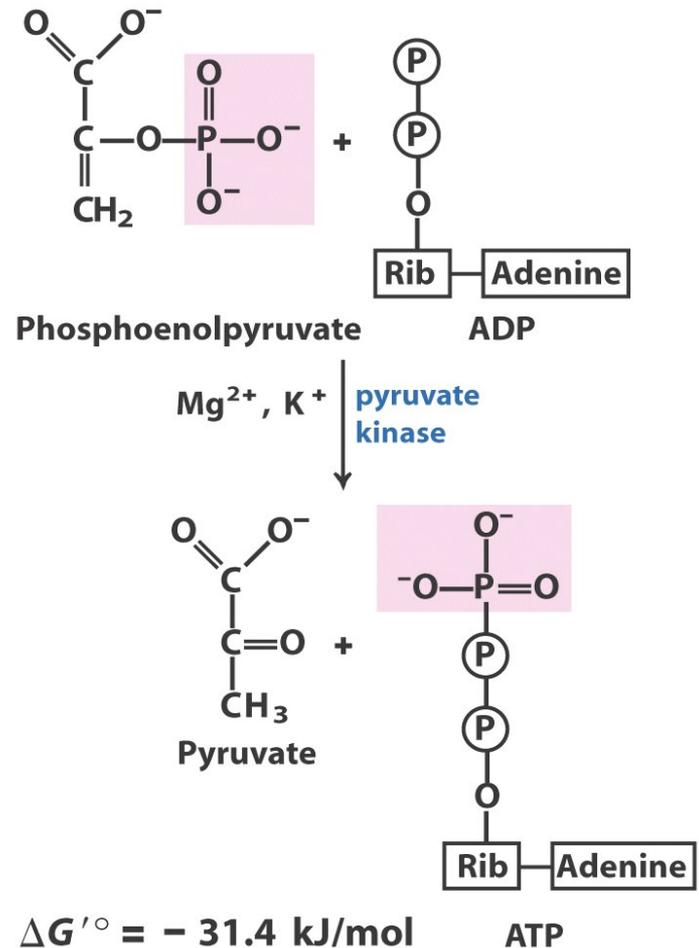
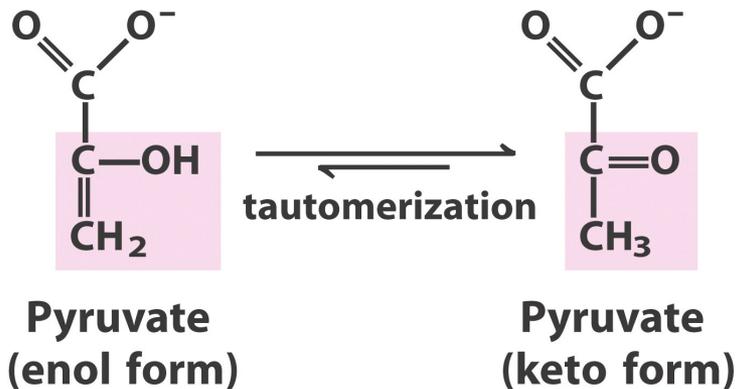
(*) $\Delta G'^{\circ} = -61,9 \text{ kJ/mole}$

(**) $\Delta G'^{\circ} = -17,6 \text{ kJ/mole}$

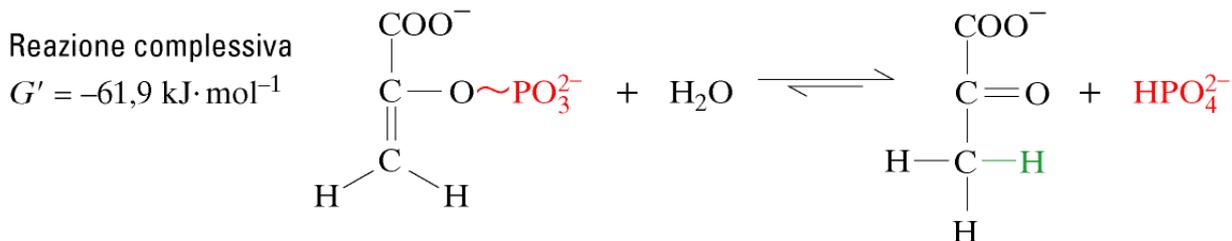
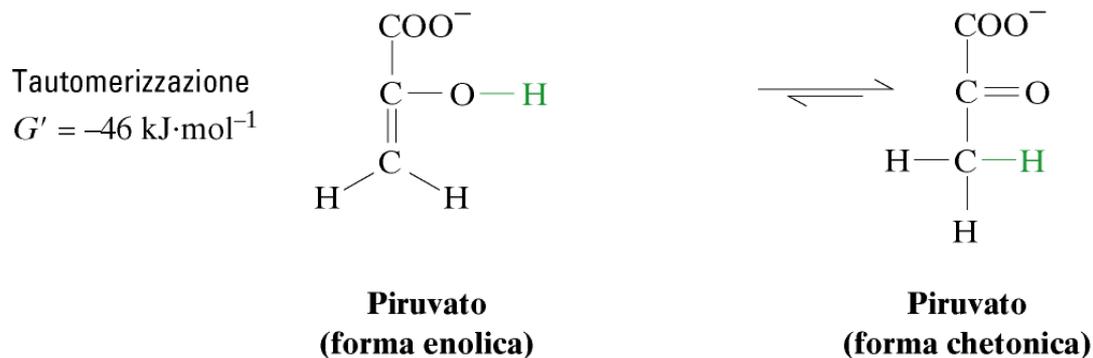
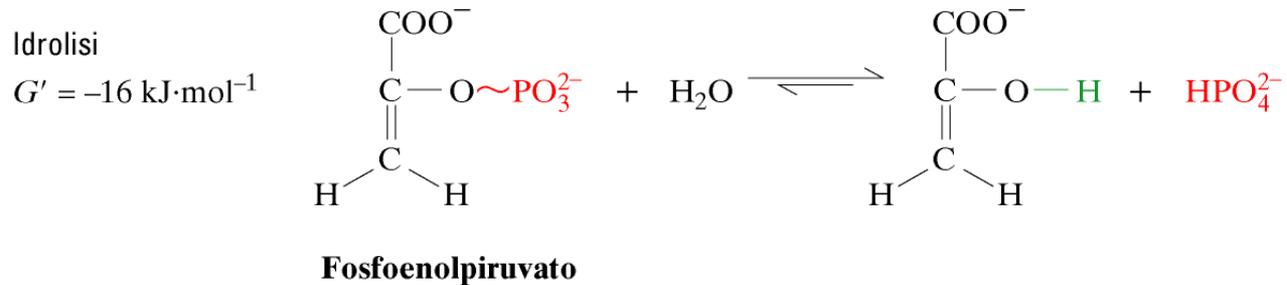
(9) TRASFERIMENTO DEL GRUPPO FOSFORICO DEL FOSFOENOLPIRUVATO AD ADP (SECONDA FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO)

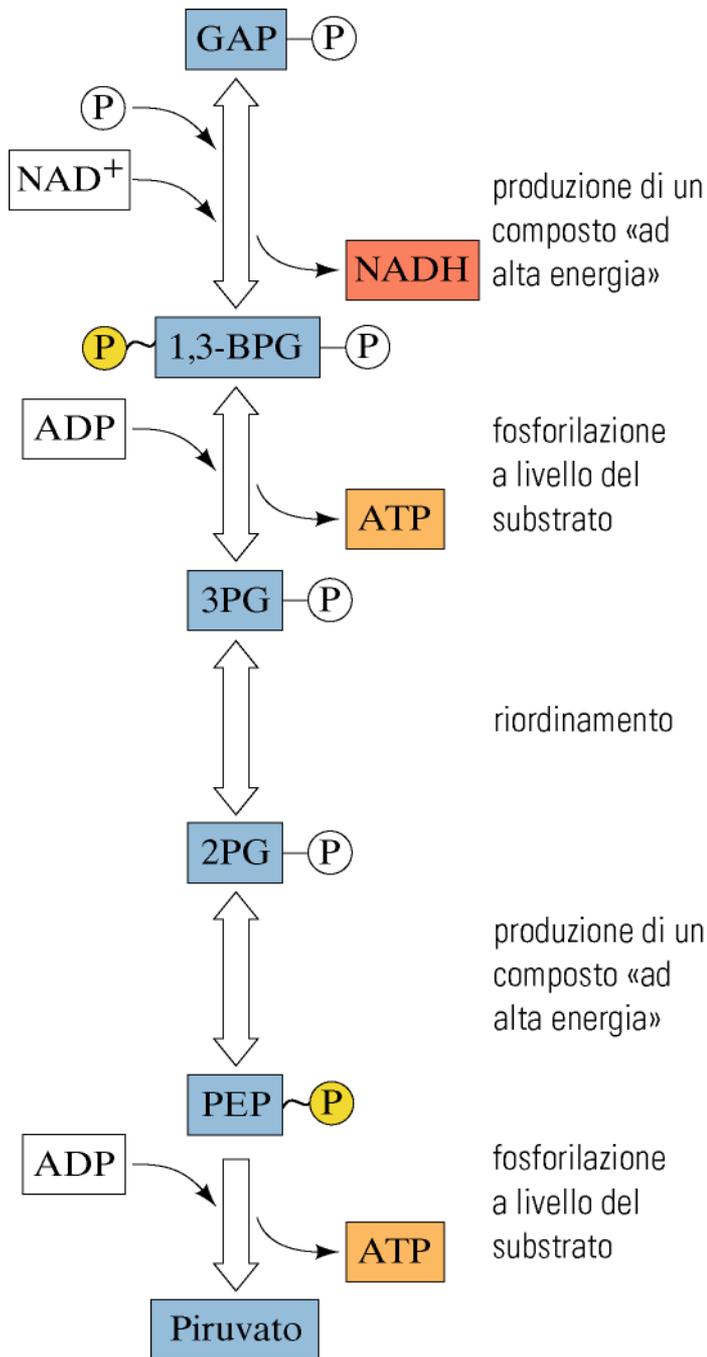
Il piruvato compare prima nella forma enolica che poi tautomerizza rapidamente (e non enzimaticamente) nella forma chetonica, prevalente a pH 7.0.

Circa la metà dell'energia di idrolisi di PEP (-61.9 kJ/mole) viene conservata nella formazione del legame fosfoanidridico di ATP; il resto (-31.4 kJ/mole) costituisce la forza trainante che porta a compimento la reazione di sintesi di ATP



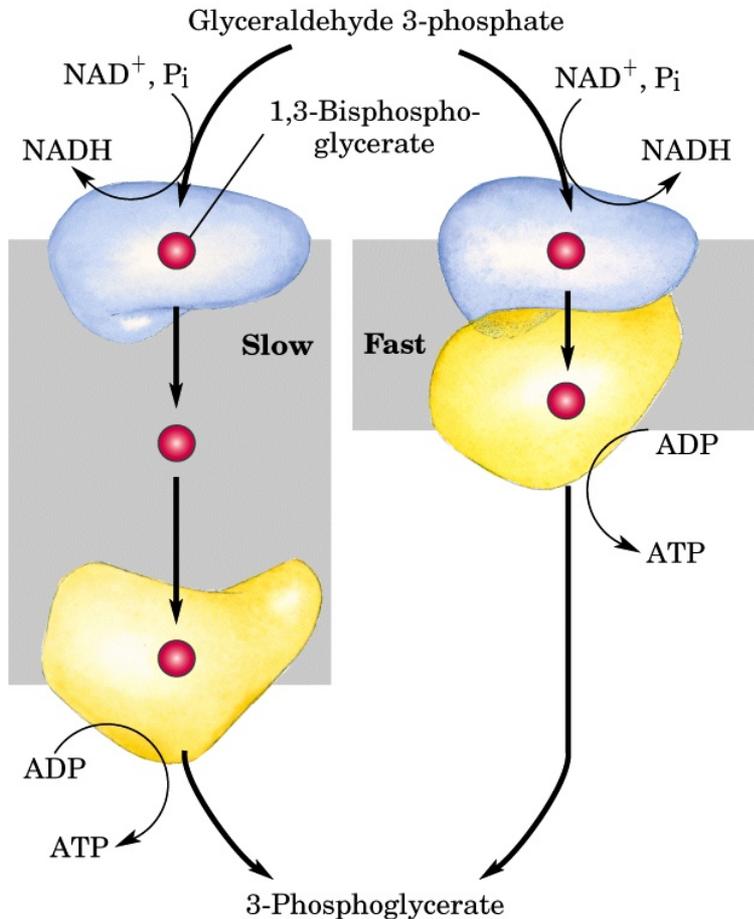
La conversione spontanea della forma enolica nella forma chetonica contribuisce prevalentemente al valore elevato di $\Delta G'^{\circ}$ dell'idrolisi di PEP





Alla fine della fase di recupero: GAP subisce una ossidazione e una fosforilazione seguite da alcuni riarrangiamenti molecolari: un “espediente chimico” per convertire GAP a bassa energia in composti ad alta energia la cui energia libera di idrolisi sia sufficiente per produrre ATP

Per ogni molecola di glucosio che entra nella fase 1 due molecole di GAP vengono convertite in piruvato nella fase 3



Sequential action of two separate enzymes: the product of the first enzyme (1,3-bisphosphoglycerate) diffuses to the second enzyme.

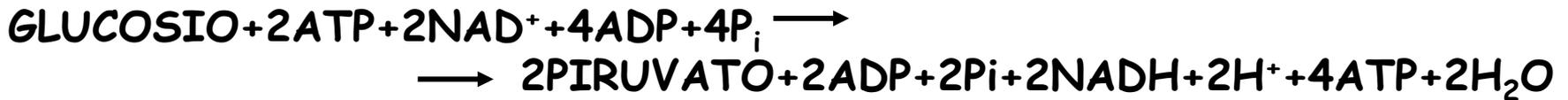
Substrate channeling through a functional complex of two enzymes: the intermediate (1,3-bisphosphoglycerate) is never released to the solvent.

Gli intermedi glicolitici sono incanalati fra i siti attivi degli enzimi

Evidenze sperimentali suggeriscono che gli enzimi glicolitici esistono nelle cellule come complessi multienzimatici:

- Studi di cinetica confermati da esperimenti fisici che provano associazione non covalente dei due enzimi
- Gli enzimi glicolitici purificati formano *in vitro* aggregati funzionali che possono riflettere il loro stato reale all'interno della cellula

IL BILANCIO ENERGETICO COMPLESSIVO DELLA GLICOLISI INDICA UN GUADAGNO NETTO DI ATP



Le due molecole di NADH che si formano nel citosol durante la glicolisi sono riossimate in condizioni aerobiche mediante il trasferimento dei loro elettroni alla catena respiratoria (mitocondri)

Dividendo l'equazione



in due processi:

1) La conversione esoergonica del glucosio in piruvato:



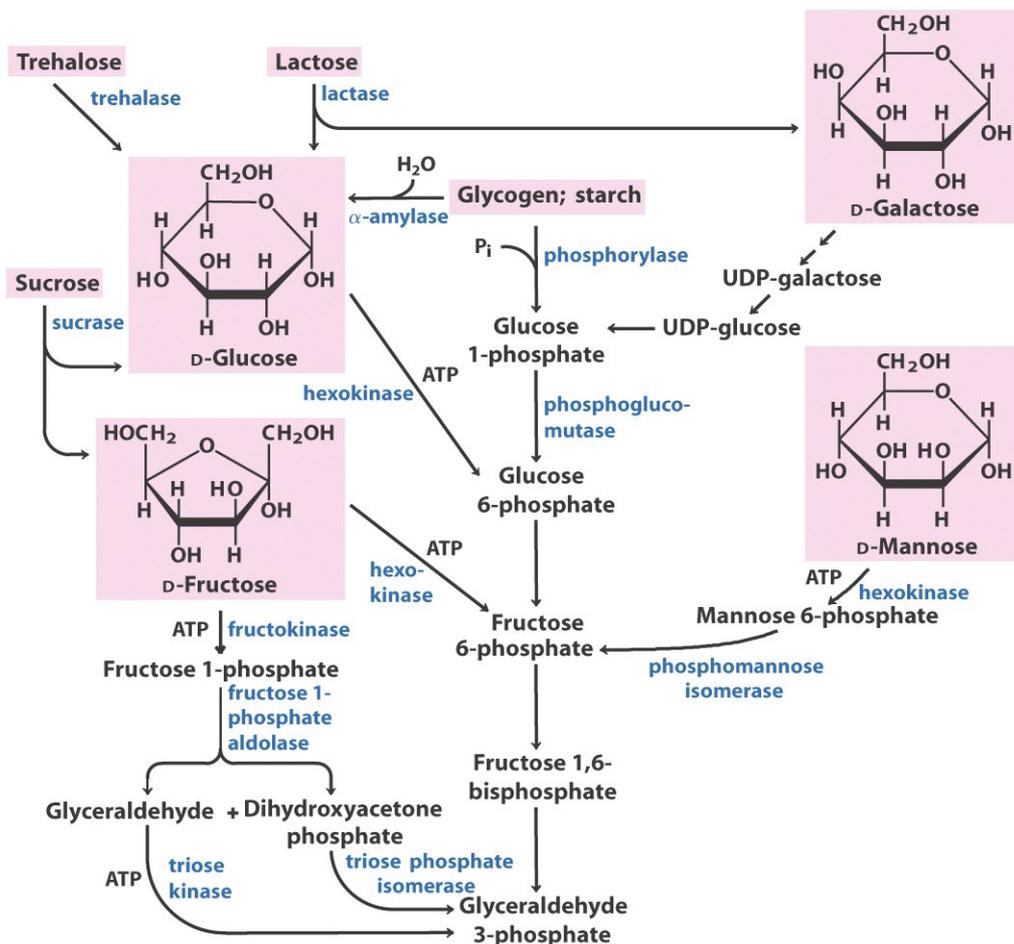
2) La formazione endoergonica di ATP da ADP e Pi:



$$\Delta G_s^{\circ'} = \Delta G_1^{\circ'} + \Delta G_2^{\circ'} = -85 \text{kJ/mole}$$

La glicolisi è un processo irreversibile ed in condizioni standard è portato a completamento.

VIE DI ALIMENTAZIONE DELLA GLICOLISI



Polisaccaridi:
 glicogeno (dalle riserve)
 amido (dagli alimenti)

Disaccaridi:
 maltosio
 lattosio
 trealosio
 saccarosio
 assorbiti previa idrolisi a
 monosaccaridi

Monosaccaridi:
 fruttosio
 mannosio
 galattosio
 trasformati nelle cellule epatiche
 per essere incanalati nella via
 glicolitica