

CATABOLISMO AMMINOACIDI

- DOVE:

Catabolismo amminoacidi ha luogo in due compartimenti sub-cellulari: inizia nel citoplasma e termina nel mitocondrio

- QUANDO:

Avviene in 3 situazioni:

1. Normalmente per utilizzare le proteine alimentari
2. Per utilizzare le proteine endogene (= del muscolo)
3. Nel digiuno prolungato avviene proteolisi del muscolo, in questo caso proteine del muscolo diventano substrati energetici

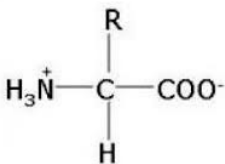
- PERCHE':

gli amminoacidi dopo aver tolto gruppo amminico sono paragonabili a intermedi metabolici che derivano dai carboidrati, quindi lo scheletro carbonio degli amminoacidi è utilizzabile per scopi catabolici.

- COME:

Per prima cosa bisogna togliere gruppo amminico mediante reazioni di transaminazione (gruppo amminico è fortemente tossico e quindi andrà eliminato grazie ciclo urea).

Successivamente scheletro carbonioso verrà convogliato nel ciclo di Krebs per produrre energia.



Ammoniaca estremamente tossica e molto solubile in H₂O (diventa ione ammonio innalzano PH ematico), quindi gruppo amminico deve essere tolto in modo che non rimanga libero nelle cellule.

Il catabolismo degli amminoacidi avviene soprattutto nel fegato.

La prima tappa consiste nella rimozione gruppo amminico mediante specifici enzimi detti *transaminasi*. Questi enzimi trasferiscono gruppo amminico da un amminoacido ad un alfa-cheto-acido (generalmente quello che raccoglie gruppi amminici dei vari amminoacidi è alfa-cheto-glutarato che è un intermedio del Ciclo di Krebs).

L'alfa-cheto-glutarato che ha ricevuto gruppo amminico ed è diventato *glutarato* perderà il gruppo amminico con una reazione di deaminazione ossidativa in presenza di una specifica deidrogenasi.

Queste due reazioni avvengono in successione in un processo che si chiama transdesaminazione all'interno del fegato. (quindi fegato organo deputato al compimento di queste due reazioni + allo smaltimento del gruppo amminico mediante il ciclo dell'urea).

TRANSAMINAZIONE: (= trasferimento gruppo amminico)

Al posto gruppo amminico ormai tolto appare gruppo carbonilico (se al posto di questo gruppo amminico mettiamo gruppo CH₃ otteniamo alanina e successivamente piruvato, quindi privato va diretto nel catabolismo).

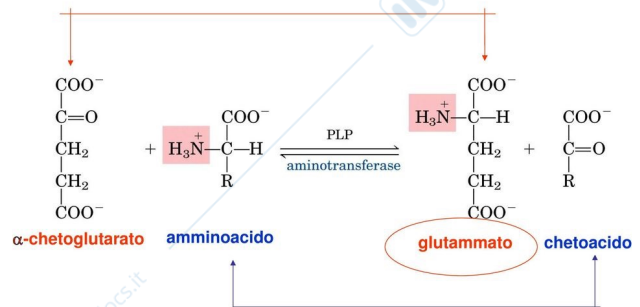
Gli enzimi che catalizzano questa reazione sono le transaminasi che appartengono alla classe delle transferasi; catalizzano quindi il trasferimento del gruppo amminico sull'alfa- cheto-glutarato.

Hanno come coenzima la vitamina B6 e sono enzimi citoplasmatici, quindi lavorano anche nel citoplasma delle cellule .

Inoltre sono enzimi molto importanti in ambito clinico perché permettono di valutare funzionalità e stato di salute del fegato. (in particolare alanina-trasaminasi e l'aspartato-transaminasi) .

Il gruppo amminico che abbiamo. Tolto ad amminoacido va su alfa-cheto-glutarato che diventa glutammato. Il glutammato a sua volta viene ritrasformato in alfa-cheto-glutarato da enzima che si chiama glutammato deidrogenasi che catalizza una deaminazione ossidativa (= toglie gruppo amminico e carbonio viene ossidato) . Questo enzima toglie quindi gruppo amminico sul carbonio alfa e lo ossida a carbonio carbonilico. Questa reazione(glutammato deidrogenasi) avviene nel mitocondrio, infatti enzima deidrogenasi si trova nella matrice mitocondriale e è molto importante. Perché. Chiude processo della teansdesaminazione.

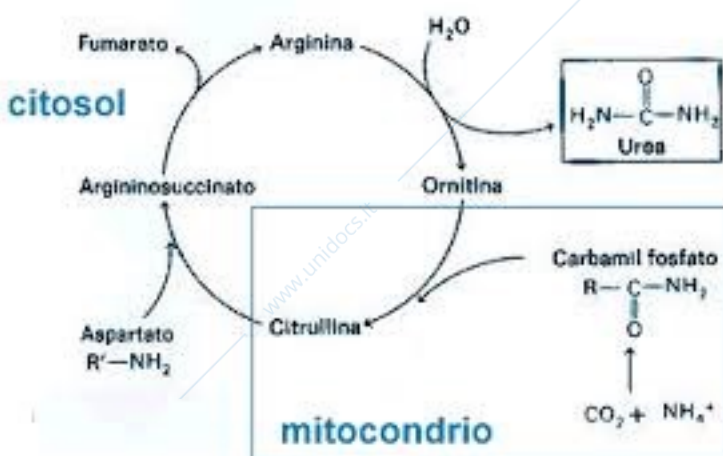
Reazione di **TRANSAMINAZIONE** nel **FEGATO**



L'ammoniaca è molto tossica , aumenta quindi il pH del sangue e non può quindi stare libera in circolo nel oostro organismo ma non è così per tutti gli animali, infatti. Esistono diversi modi per. Eliminare azoto (. Dipendono da ambiente dove vive. Animale)

Alcuni animali acquatici (pesci ossei e larve anfibi) eliminano ammoniaca come ione ammonio attraverso branchie; in altri animali (mammiferi , anfibi e squali) gruppo amminico viene condensato in urea (che contiene due gruppi ammnici) . Negli uccelli e nei rettili ,infine, i gruppi amminici vengono inseriti nella molecola acido urico (struttura base purinica) .

CICLO UREA :



Urea è indice di funzionalità del rene e , dal momento che ha luogo negli epatociti ,è anche indice di funzionalità del fegato .

- COME:

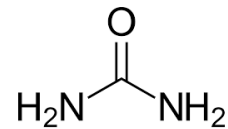
Il ciclo dell'urea lavora un po' nel citoplasma e un po' nel mitocondrio (come beta ossidazione e le reazioni di transdesaminazione).

Inizia a livello mitocondriale (ione ammonio si unisce a CO₂) con formazione di Carbamil- fosfato in presenza di 2 ATP (reazione fortemente endoergonica, quindi la sintesi di questi prodotti di scatto richiede molta energia) .

Il carbamil-fosfato si unisce con prodotto finale di questo ciclo che è l'ornitina , formando la citrullina che esce dal mitocondrio. Nel citoplasma questa molecola si unisce con l' aspartato (= amminoacido) che porta il secondo gruppo amminico utilizzato per formare l'urea. L'unione dell'aspartato con la citrullina forma l'arginino-succinato (reazione fortemente endoergonica e per farla avvenire servono altri due legami altamente energetici : ATP diventa AMP).

Poi l'arginino-succinato perde una molecola di fumarato diventando arginina (= amminoacido basico) . Arginina ha girata all'interno della sua molecola l'urea, basta l'ingresso di una molecola di H₂O e l'enzima arginasi stacca l'urea , si riforma ornitina che entra nel mitocondrio e riprende il ciclo .

Ad ogni ciclo produciamo una molecola di urea e vengono consumati 4 legami altamente energetici (2 per sintesi carbamil-fosfato e 2 per legare aspartato e citrullina).



CICLO DEI PENTOSI (= vie cataboliche carboidrati)

Viene chiamato anche "shunt dell'esoso monofosfato"

- DOVE:

Il ciclo dei pentosi avviene nel citoplasma ed è molto importante nel fegato e negli eritrociti (hanno glicolisi e ciclo di pentosi come vie cataboliche).

- A COSA SERVE:

Diverse funzioni : - ossida glucosio (lo riduce a CO₂ e H₂O)
 - produce NADP ridotto (potere riducente utilizzato nelle vie biosintetiche e inoltre mantiene ridotto il glutathione)
 - produce ribosio (per sintetizzare nucleotidi)

- COME:

Da un punto di vista didattico questo ciclo è divisibile in fasi:

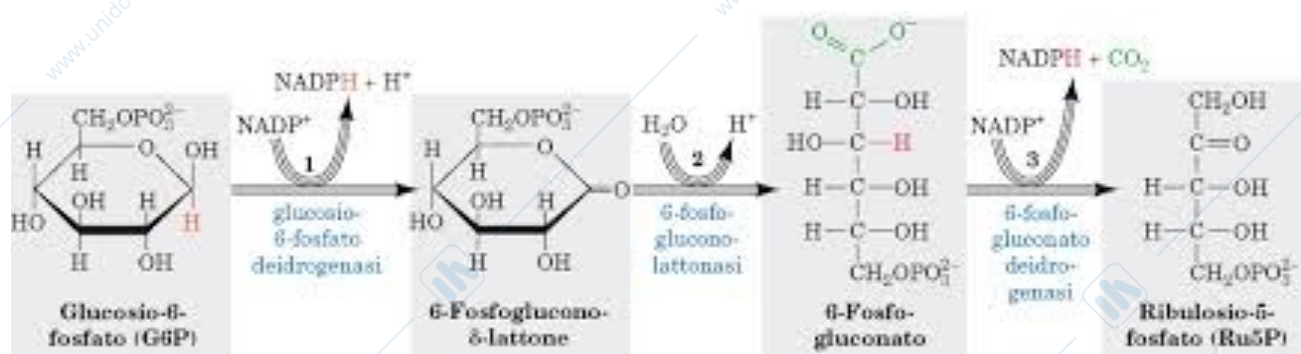
1. Fase ossidativa
2. Fase non ossidativa, complessa e ciclica

FASE OSSIDATIVA :

Il ciclo dei pentosi parte da glucosio-6-fosfato (intermedio glicolisi) che in presenza di glucosio-6- fosfato deidrogenasi viene ossidato sul carbonio 1 a 6-fosfo-gluconato e contemporaneamente si forma un NADP ridotto.

Questa reazione in vivo è irreversibile .

Il 6- fosfo-gluconato nella seconda reazione, in presenza di NADP viene ulteriormente ossidato diventando ribulosio-5-fosfato (perde anche atomo di C e



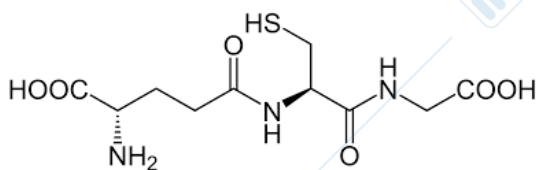
se ne va quindi CO₂), si forma perciò un coenzima ridotto e un composto a 5 atomi di carbonio.

Questa è la prima fase ossidativa irreversibile che porta alla formazione di due NADP ridotti.

A questa fase ossidativa segue poi una fase molto complessa e ciclica in cui si forma ribosio e si formano varie molecole che sono degli intermedi della glicolisi.

I coenzimi ridotti vengono utilizzati nelle vie biosintetiche ma anche per maniere ridotte il glutatione che è la principale molecola ad attività antiossidante enzimatica che possiedono le nostre cellule .

Il glutatione è fatta da 3 amminoacidi, è quindi un tripeptide: glicina+ cisteina + acido glutammico.



Questo gruppo amminico è protonato. Inoltre il gruppo SH della cisteina è la parte attiva della molecola, infatti glutatione abbreviato con sigla G-SH. Il glutammato, inoltre, non è un alfa-amminoacido ma è un gamma-amminoacido (= gamma-glutammico).

Questa molecola ha un notevole potere riducente (attività antiossidante) ed è molto abbondante nelle cellule più colpite da stress ossidativo.

Il glutatione passa dallo stato ridotto allo stato ossidato mediante l'unione di due molecole di glutatione con formazione di ponte di solfuro tra i due gruppi SH e i due atomi di H vengono utilizzati per ridurre delle molecole. Glutatione ossidato viene ridotto nuovamente e questa ricostituzione viene fatta da enzima glutatione reduttasi in presenza di NADP (formato tramite ciclo pentosi) ridotto che fornisce tutto il potere riducente per far tornare glutatione a forma ridotta.

Un esempio è che glutatione perossidasi che in presenza di glutatione viene utilizzato normalmente per riduzione di acqua ossigenata (= è un potente ossidante) ad acqua.

DIFESA DAL DANNO OSSIDATIVO



La glutazione perossidasi è un enzima a selenio: contiene Se-cisteina (Sec)

ROS E DIFESE ANTIOSSIDANTI :

Ossigeno è molecola vitale.

Ossigeno è anche una molecola molto reattiva quando riceve elettroni (viene ridotto). L'acqua è il prodotto finale della catena respiratoria.

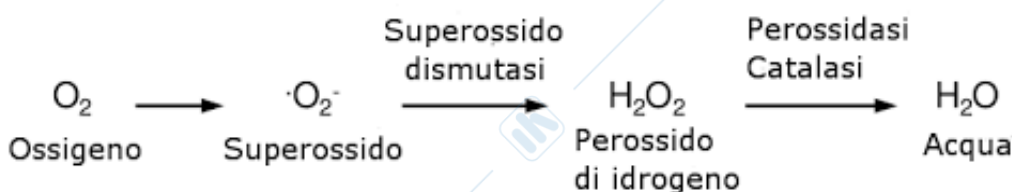
Servono 4 elettroni per ridurre completamente l'ossigeno ad acqua, questi 4 elettroni provengono dal complesso 4.

Ma può capitare che non arrivino in contemporanea ma uno alla volta.

Il primo che arriva sull'ossigeno forma il superossido (prima specie relativa dell'ossigeno). Il superossido è forma radicalizza e quindi cede elettroni alle molecole vicine (Nb: più metabolismo è aerobico, più ossigeno si consuma, più super ossido si consuma).

L'aggiunta, poi, di un altro elettrone porta alla formazione del perossido di idrogeno (H₂O₂) che è un potente ossidante usato come disinfettante grazie alla sua potente attività battericida.

L'aggiunta di un altro elettrone porta a formazione radicale ossidrilico e aggiunta di un altro elettrone porta a formazione di H₂O.



Se questo processo avviene in contemporanea ossigeno diventa direttamente acqua, altrimenti se la riduzione ossigeno è incompleta si formano i ROS (formazioni intermedie).

I ROS (= specie reattive dell'ossigeno) sono molto reattivi e di conseguenza pericolosi per le cellule, per questo abbiamo delle forme antiossidanti che sono:

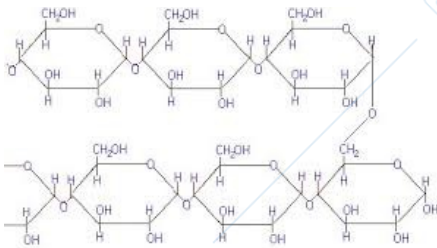
- enzimatiche : superossido dismutasi (che trasforma superossido in perossido e di nuovo in ossigeno) , catalasi (trasforma perossido di idrogeno in acqua) e infine glutazione perossidasi (in presenza di glutazione trasforma perossido di idrogeno in acqua)
- Non enzimatiche : glutazione , vitamina C, vitamina E , selenio e altri metaboliti (metallotioneina)

Il radicale ossidrilico non è metabolizzato da nessun enzima, quindi non abbiamo difese antiossidanti per questo elemento reattivo. Questo radicale dovrebbe non essere prodotto ma può capitare che enzimi non riescano a trasformare tutto perossido in acqua. In questo caso radicale cede suo elettrone a molecole biologiche a lui vicine (lipidi, acidi nucleici) ossidandole; ciò può portare alla morte cellulare o dare origine a cellule tumorali.

METABOLISMO GLICOGENO

Glicogeno è la principale fonte di deposito di glucosio, è un polisaccaride tipico degli animali.

Normalmente sotto forma di granuli che oltre che glicogeno contengono enzimi che lo degradano e costruiscono. Le riserve di glicogeno le troviamo nel fegato e nel muscolo ; queste riserve hanno funzione molto diversa : nel fegato ha funzione omeostatica (mantiene glicemia adeguata , nel cane circa 7-8% del peso del fegato) nel muscolo quantità minore rispetto al peso (glicogeno conservato qui è di più e inoltre serve anche ad alimentare il catabolismo e di conseguenza fornire energia per la contrazione muscolare) .

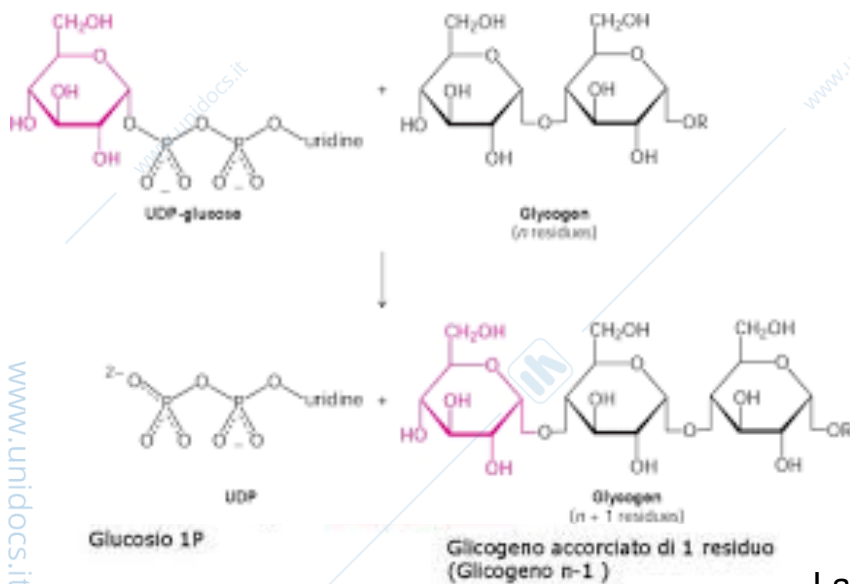


GLICOGENO LISI:

Mediante enzima **glicogeno fosforilasi** (sotto stretto controllo ormonale) in presenza di P inorganico stacca un'unità di glucosio sotto forma di glucosio-1,6-fosfato (forma fosforilata , quindi molecola attivata).

Rimane quindi glicogeno con unità in meno.

Glucosio -1,6-fosfato trasformato da **fosfoglucomutasi** in glucosio -6-fosfato (entra in glicolisi e segue la via catabolica e a seconda del tessuto il suo destino sarà diverso: nel fegato enzima glucosio-6-fosfatasi stacca il fosfato che è sul carbonio 6 del glucosio formando glucosio libero che in gran parte andrà immesso in circolo per regolare la glicemia .Nei muscoli il glucosio 6 fosfato entra in glicolisi) .



Questo processo di degradazione glicogeno procede staccando unità di glucosio fino a quando non si incontra ramificazione, a questo punto entra in azione il terzo enzima : **enzima deramificante** che scinde il legame glicosidico 1,6 che forma ramificazione.

GLICOGENO SINTESI :

La sintesi del glicogeno avviene quando c'è ricchezza di glucosio.

Glucosio viene fosforilato a glucosio-6-fosfato, con mutasi il glucosio-6 fosfato diventa glucosio-1-fosfato e viene attivato con modalità particolare: viene attivato attaccandogli un nucleotide uridilico (UDP). Con questa modalità glucosio viene ulteriormente attivato a UDP-glucosio; questa attivazione che partirà dall'UTP consumerà un legame altamente energetico. Successivamente UDP-glucosio viene attaccato al glicogeno grazie a glicogeno sintasi e UDP si stacca. Sintesi è molto costosa dal punto di vista energetico, viene messa in atto infatti solo quando vi è ricchezza di substrati ed energia.

11 maggio

Gluconeogenesi

La gluconeogenesi è una **via per ottenere glucosio quando si è in condizioni di carenza di glucosio**.

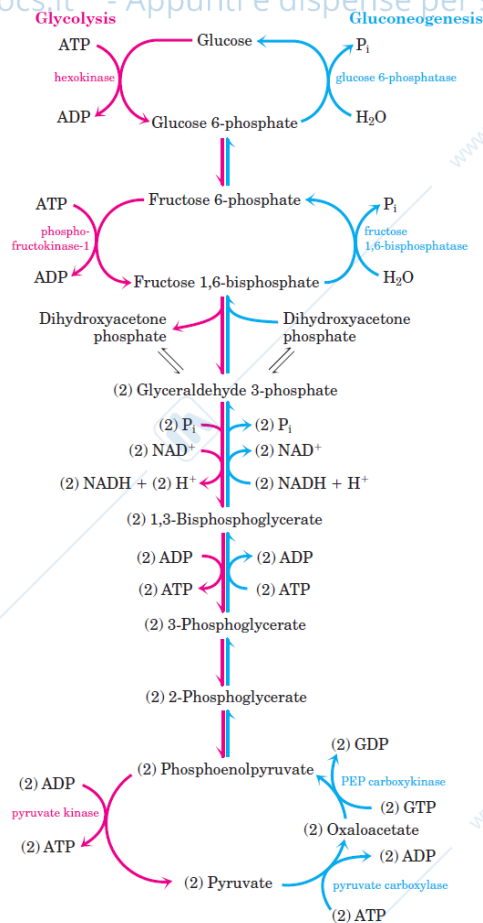
Il glucosio non deve mai mancare nelle nostre cellule, neanche in condizioni di digiuno. Quando il glucosio non arriva attraverso gli alimenti dobbiamo essere in grado di costruirlo a partire da substrati endogeni che troviamo all'interno del nostro organismo.

Le **fonti di glucosio** quindi sono essenzialmente 3:

1. **Glucosio da fonte alimentare.**
2. Le **riserve endogene di glicogeno**, (lo abbiamo visto con il metabolismo del glicogeno, che viene costruito in abbondanza di glucosio e degradato in scarsità di glucosio. Le principali riserve di glicogeno sono nel fegato e nei muscoli, con funzioni diverse: nei muscoli ha funzione prettamente catabolica/energetica mentre nel fegato la principale funzione delle riserve di glicogeno è di mantenere costante la glicemia. Il fegato è l'unico organo che possiede l'**enzima glucosio-6-fosfatasi** in grado di trasformare glucosio-6-fosfato in glucosio. Questo enzima lo ritroveremo nella tappa finale della gluconeogenesi nel fegato.
3. Quando le due fonti sovraccitate non sono disponibili l'organismo deve fare affidamento all'ultima fonte di glucosio, cioè la **sintesi ex-novo di glucosio a partire da dei precursori: la via della gluconeogenesi**.

Dove avviene:

La gluconeogenesi avviene fondamentalmente in due organi: **fegato** (soprattutto) e **rene**. E' una via metabolica che, benchè partendo dal piruvato e tornando al glucosio, sfrutta buona parte delle reazioni della glicolisi, ma non è esattamente l'inverso della glicolisi per motivi termodinamici. Infatti l'inizio della gluconeogenesi avviene nel **mitocondrio**, e nel fegato in parte anche nel



reticolo endoplasmatico. Quindi ha doppia localizzazione: **inizia nel mitocondrio e prosegue nel citoplasma.**

A cosa serve:

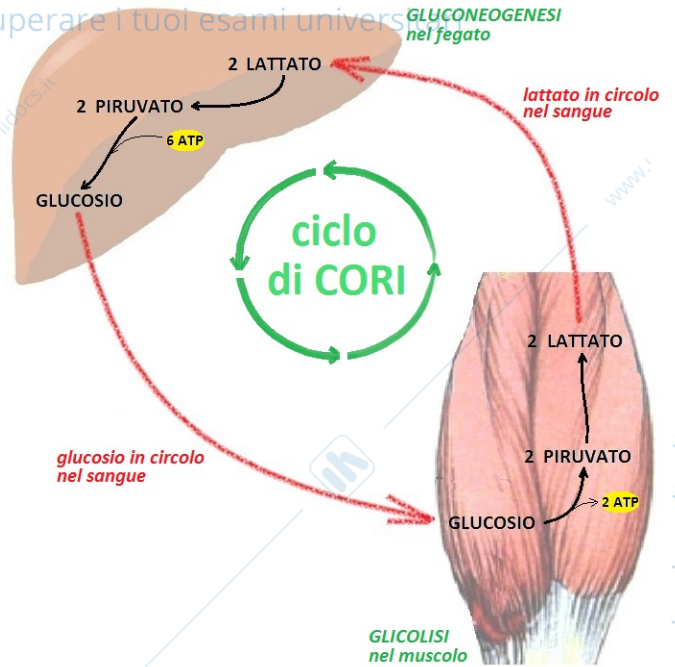
E' la **sintesi ex-novo di glucosio** a partire da specifici **precursori** che sono **piruvato, lattato**, alcuni **aa** e **glicerolo**.

Quando serve:

E' importante in due situazioni, indipendenti tra di loro: **da un punto di vista metabolico** la gluconeogenesi è importante durante il digiuno, poichè serve a mantenere la glicemia costante, soprattutto per le cellule che hanno costante bisogno di glucosio. Quindi è fondamentale **nel digiuno prolungato**, che si protrae per giorni. Inoltre è importante **dal punto di vista funzionale dopo un intenso esercizio fisico, per riutilizzare prodotti di scarto del catabolismo muscolare**, in particolare lattato: il **lattato** è uno scarto che diventa substrato energetico mediante il ciclo di Cori.

Come avviene:

Non è l'inverso della glicolisi! La glicolisi ha **3 reazioni irreversibili** in vivo: la **1a**, dell'**esochinasi**, la **3a** della **fosfo-frutto-chinasi** e la **10a** della **piruvato-chinasi**. Queste tre reazioni sono reazioni che coinvolgono ATP e hanno deltaG in vivo talmente elevato da non poter spostare la reazione all'indietro. Devono essere bypassate utilizzando enzimi e reazioni diverse. Tutte le altre reazioni della glicolisi intermedie invece possono essere percorse in senso opposto, anabolico. Per la gluconeogenesi ci focalizzeremo su queste 3 reazioni alternative, le altre saranno esattamente quelle della glicolisi ma percorse in senso anabolico.



Substrati gluconeogenesi:

-**Lattato**: prodotto della glicolisi anaerobica che avviene nei muscoli dopo esercizio fisico. Il lattato prodotto a livello muscolare rappresenta uno scarto metabolico, che viene utilizzato per ricostruire il glucosio.

-**Alanina**: uno degli aa più abbondanti nelle proteine. Durante il normale turn-over/degradazione delle proteine può essere utilizzata per risintetizzare glucosio. Non solo: durante il digiuno prolungato si ha catabolismo delle proteine del muscolo, che serve proprio a fornire alanina e altri aa chiamati aa glucogenici poiché in grado di ricostituire glucosio. Queste proteine vengono degradati per fornire aa glucogenici al fegato per formare glucosio.

Ovviamente si avrà perdita di massa muscolare.

-**Glicerolo**: deriva dal catabolismo dei trigliceridi del tessuto adiposo durante il digiuno: gli acidi grassi vengono utilizzati per produrre energia, mentre il glicerolo può entrare in gluconeogenesi tramite alcune reazioni che lo trasformano in triosi (3C).

-**Propionato**: importante soprattutto nei ruminanti. E' uno dei prodotti delle fermentazioni del rumine. Questo ha in particolare scopi anabolici, ed è infatti utilizzato per riformare glucosio. Vedremo come viene utilizzato quando parleremo del ruolo anfibolico del ciclo di krebs, alla fine del corso.

-**Acidi grassi con n dispari di C**: non possono essere pari poiché solo con i dispari nell'ultimo ciclo di beta-ossidazione avremo 5C e otterremo 1Acetil-coA e 1propionil-CoA. Il propionil-CoA è in grado di entrare in un punto chiave del ciclo di krebs da cui si può riformare il glucosio.

Lattato - Ciclo di Cori:

Il **lattato** viene prodotto dal **catabolismo muscolare**. E' un acido, che quindi si ionizza, e i protoni liberati abbassano il pH delle cellule muscolari, fino a che non è più compatibile con la funzionalità cellulare, e verrà così escreto in circolo. Il lattato verrà assunto dal **fegato** dove **entrerà in gluconeogenesi**, con la quale si forma glucosio che viene immesso in circolo e che **torna al muscolo**, dove verrà o utilizzato per la **contrazione muscolare**, oppure **depositato nel glicogeno** nel caso non servisse. Questo ciclo è un esempio di quello che in economia è chiamato "**economia circolare**", un sistema economico pianificato per riutilizzare i materiali in successivi cicli, riducendo al massimo gli sprechi. Il ciclo di Cori è infatti a spreco zero, poiché lo scarto metabolico di un tessuto viene riutilizzato da un altro tessuto (epatico), e il prodotto diventa di nuovo substrato per il ciclo produttivo successivo del muscolo. Servirà comunque energia. Un ciclo analogo riguarda l'alanina che deriva dal catabolismo del muscolo.

Prima reazione gluconeogenesi:

conversione piruvato a fosfoenolpiruvato

Reazione molto **endoergonica**, perchè la sua reazione inversa è l'ultima della glicolisi che invece è molto **esoergonica**.

Necessita 2 reazioni:

Reazione 1.1:

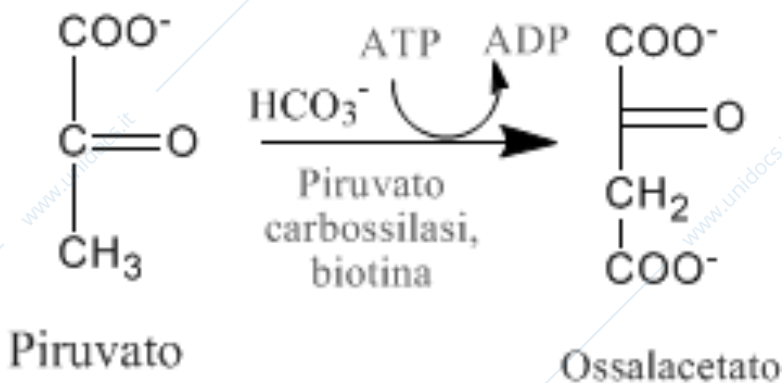
La gluconeogenesi parte dal **piruvato**. E' sul piruvato che convergono i principali substrati (lattato, alanina e altri aa).

Siamo nel **mitocondrio (matrice mitocondriale)**. Il piruvato ha un trasportatore sulla membrana mitocondriale interna. Il piruvato (che deriva da lattato tramite lattico-deidrogenasi e da alanina tramite alanina transaminasi) entra nel mitocondrio. Nel mitocondrio avrà luogo la prima reazione: **carbossilazione** catalizzata dall'**enzima piruvato-carbossilasi**, che richiede sia **ATP** (è molto

endoergonica in vivo), che un'unità **monocarboniosa** sotto forma di **acido carbonico H₂CO₃**. Si produce **ossalacetato**. Questa reazione avviene all'interno del mitocondrio, mentre tutte le altre avverranno nel citoplasma.

L'ossalacetato quindi deve uscire dal mitocondrio, però non ha trasportatori a livello della membrana mitocondriale interna per uscire. Per uscire dal mitocondrio deve essere trasformato in **malato**, utilizzando una delle reazioni del ciclo di krebs con l'**enzima malato-deidrogenasi**. Quindi il piruvato diventa ossalacetato, che diventa malato per uscire dal mitocondrio e proseguire la gluconeogenesi.

La piruvato-carbossilasi, che catalizza questa reazione di carbossilazione, è un enzima allosterico, regolato e che contiene come coenzima la **biotina**, coenzima delle carbossilasi, ovvero gli enzimi che uniscono unità monocarboniose sotto forma di gruppo carbossilico.



La prima tappa/reazione, che deve convertire piruvato in fosfoenolpiruvato, (l'ultima della glicolisi), in vivo ha DeltaG molto positivo, molto endoergonica, perchè la reazione inversa glicolitica è molto esoergonica. Per questo la conversione del piruvato a fosfoenolpiruvato è complessa e divisa in due reazioni distinte che coinvolgono due compartimenti cellulari. Quindi il piruvato entra nel mitocondrio tramite trasportatore e carbossilato da piruvato-carbossilasi che richiede atp. Il piruvato viene trasformato in ossalacetato, utilizzando come coenzima la biotina. L'ossalacetato, una volta trasformato in malato esce dal mitocondrio.

Il **malato** esce nel citoplasma e deve ritornare a essere convertito in **ossalacetato** (è un sistema di trasporto indiretto dell'ossalacetato). Gli enzimi che catalizzano questa **reazione ossalacetato-malato** sono due isoforme della **malato-deidrogenasi**, una **citoplasmatica** e una **mitocondriale**. Quindi il malato torna ossalacetato. (penso sia sempre reazione 1?)

Reazione 1.2:

Ora l'**ossalacetato** deve essere **trasformato in fosfoenolpiruvato**. L'**enzima fosfoenolpiruvato-carbossichinasi**, con consumo di **GTP** (si consuma un legame altamente energetico), svolge questa reazione. Questa reazione avviene nel **citoplasma**.

Tutte le prossime reazioni, **dal fosfoenolpiruvato fino al fruttosio1-6difosfato** saranno più semplici, poichè saranno reazioni **reversibili** e percorse a ritroso fino ad arrivare al glucosio. Si utilizzeranno gli stessi enzimi della glicolisi.

Reazione 2:

Arrivati al **fruttosio1-6difosfato** troviamo un altro ostacolo energetico, poichè dovremo utilizzare una reazione alternativa, che ci permette di passare dal fruttosio1-6difosfato a **fruttosio6fosfato**

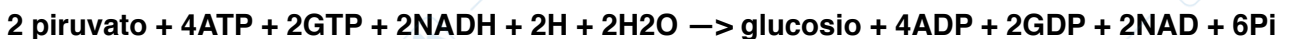
con perdita del **gruppo fosfato** sul **C1**. L'**enzima** è una semplice **fosfatasi**, cioè una idrolasi che stacca questo legame inserendo una molecola di **H₂O**. Il gruppo fosfato che viene staccato si stacca come fosfato inorganico. E' una semplice **idrolisi**, dove il fosfato staccato non viene utilizzato per sintetizzare ATP, non è una fosforilazione di ATP. Abbiamo formato fruttosio6fosfato, che verrà trasformato in glucosio6fosfato.

Reazione 3:

Arriviamo ora all'ultimo ostacolo energetico, dell'ultima reazione della gluconeogenesi che corrisponde alla prima della glicolisi. In questo caso interviene una seconda **idrolasi**, che stacca il **gruppo fosfato** sul **C6** del glucosio, formando da **glucosio6fosfato** il **glucosio**. Di nuovo il fosfato viene staccato come fosfato inorganico. L'**enzima glucosio6fosfatasi** che svolge questa reazione è un enzima espresso unicamente nel **fegato**, in quanto unico organo deputato a regolare la glicemia, che si trova sulla membrana del reticolo endoplasmatico. Il glucosio libero ora può uscire dagli epatociti del fegato tramite i trasportatori **GLUT** che fanno passare glucosio secondo gradiente: quando in circolo la glicemia è bassa e dentro gli epatociti la concentrazione di glucosio è alta il glucosio esce e va in circolo per innalzare la glicemia e ristabilire equilibrio. Solo il fegato esercita questo controllo in quanto è l'unico che possiede questo enzima glucosio6fosfatasi.

Bilancio energetico:

Entrano: 2 piruvato entrano, 4 ATP (2 per carbossilazione piruvato + 2 per passare da 3fosfoglicerato a 1-3difosfoglicerato nella glicolisi), 2GTP per la reazione della fosfoenolpiruvato-carbossichinasi, 2NADH per la reazione della gliceraldeide3fosfato-deidrogenasi e 2H⁺, e 2H₂O per le due idrolasi nelle reazioni 2 e 3. Servono 6 legami altamente energetici (4ATP+2GTP).
Prodotti: glucosio, i nucleotidi scarichi di energia e il trasportatore di potere riducente ossidato. Quindi per riformare il glucosio serve energia e potere riducente.



Regolazione

Quando si condivide in toto una serie di reazioni, in senso catabolico o anabolico, le due vie metaboliche non possono essere contemporaneamente attive, se no verrebbe consumata inutilmente energia. Ci vuole una **regolazione coordinata**: quando una via è attiva l'altra deve essere bloccata. Per questo motivo il controllo sarà molto complesso.

La **glicolisi** fondamentale era regolata dalla **carica energetica cellulare**, lo stato energetico, quindi dall'**ATP** che **blocca** gli enzimi principali fosfofruttochinasi e piruvato-chinasi, mentre le **forme scariche** come l'**AMP** tende ad **attivare** la glicolisi. E' regolata anche da un **sistema a feed-forward** dal **fruttosio1-6difosfato** che **attiva** la piruvato-chinasi, e rallentata dal potere riducente all'interno della cellula.

La **gluconeogenesi** viene regolata in modo opposto: **inibita** da uno **stato energetico basso** (quando c'è **poca energia** bisogna produrla), quindi gli inibitori sono **ADP** e **AMP**. Viene invece **attivata** da **abbondanza di substrati energetici**, **Acetil-CoA** e **citrato** (perchè vuol dire che non vengono più consumati in quanto c'è troppa ricchezza di energia). Inoltre c'è una molecola della quale non abbiamo mai parlato: fruttosio2-6difosfato.

Quindi: **stato energetico cellula** (quando alto favorita gluconeogenesi, quando basso favorita la glicolisi), **potere riducente** (quando è molto favorita la gluconeosigenesi, quando scarico favorita la glicolisi), **substrati energetici** (quando ricchezza di substrati favorita la gluconeogenesi, quando scarsità favorita la glicolisi).

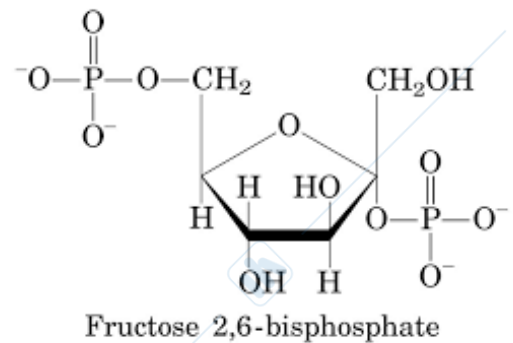
C'è inoltre una molecola in grado di inibire una via e attivare l'altra, che da un segnale unico:

fruttosio2-6difosfato. Il **fosfato** si trova sul **C2**. Questa molecola è il principale regolatore che controlla il metabolismo dei carboidrati (glicolisi-gluconeogenesi), oltre allo stato energetico della cellula. Questo metabolita non entra nelle vie metaboliche.

Il fruttosio2-6difosfato è un **attivatore** della **fosfo-frutto-chinasi1**, enzima chiave che regola la glicolisi. Attiva la fosfo-frutto-chinasi1, quindi è un segnale di abbondanza di glucosio, e **inibisce**

l'enzima della reazione alternativa, la **fruttosio-difosfatasi** inibendo la gluconeogenesi. Fa sì che le due vie non vadano in contemporanea: **attiva la glicolisi e inibisce la gluconeogenesi**.

Chi sintetizza il fruttosio 2,6-difosfato? L'enzima **fosfofrutto-chinasi2 (PFK2)** e **fruttosio 2,6-difosfatasi** (enzima a due nomi). Ha due nomi perché è **bifunzionale**, formato da due domini, un dominio che fa da chinasi e uno che fa da fosfatasi, più un piccolo dominio regolatorio all'inizio. Il **dominio della chinasi** trasforma il fruttosio 6-fosfato in fruttosio 2,6-difosfato in presenza di ATP, mentre il dominio della **fosfatasi** idrolizza il gruppo fosfato del fruttosio 2,6-difosfato e riforma il fruttosio 6-fosfato. Enzima bifunzionale: catalizza entrambe le reazioni.



I due domini non possono funzionare insieme. Quando un dominio è attivo l'altro deve essere inibito. Serve un **sistema di regolazione on-off** dell'enzima: la **fosforilazione**. Quando fosforiliamo l'enzima inibiamo un dominio e attiviamo l'altro, quando defosforiliamo facciamo l'inverso.

-Quando l'enzima è **defosforilato** è **attivo il dominio della chinasi**, quindi l'enzima funziona da chinasi e **forma il fruttosio 2,6-difosfato** e si **attiva la glicolisi, inibendo la gluconeogenesi**.
 -Quando l'enzima viene **fosforilato**, in presenza di ATP, viene **attivato il dominio della fosfatasi**, **cala** la concentrazione di **fruttosio 2,6-difosfato** e viene **inibita la glicolisi**. Il fruttosio 2,6-difosfato, essendo il principale attivatore della glicolisi, quando cala la glicolisi è inibita e viene **attivata la gluconeogenesi**.

Questo meccanismo è in sintonia con la regolazione dovuta alla carica energetica: quando la carica energetica è alta c'è molto ATP e l'enzima viene fosforilato e si inibisce la glicolisi, e viceversa.

14 maggio

Trasduzione del segnale, proteina G e secondi messaggeri

Sistema di trasmissione di vitale importanza. Vedremo come i messaggi vengono propagati a livello delle membrane. La trasduzione del segnale verrà fatta tramite degli effettori, e vedremo come le cellule ricevono i segnali e li trasmettono dentro la cellula mediante quelli che si chiamano secondi messaggeri.

Solamente le vie principali del metabolismo sono estremamente complesse. Ci sono poi tante altre vie a seconda degli organismi. Ad es i vegetali hanno metabolismo ancora più complesso degli animali poiché hanno anche il metabolismo dei metaboliti secondari, che non hanno funzione metabolica vera e propria, ad es l'oleandrina. L'oleandrina ha funzione di difesa nella pianta.

Questa complessità deve essere regolata da segnali che arrivano dall'esterno delle cellule.

Contenuti che vedremo:

- Recettori di membrana** (antenne che ricevono i segnali)
- Proteine G** (proteine associate alle membrane e ai recettori)
- AMPc** (principale secondo messaggero), formato da enzima **adenilato ciclasi**
- Alcuni esempi** di vie di trasduzione del segnale.

I messaggi devono essere recepiti a livello di membrana e trasmessi all'interno, affinché le cellule rispondano in modo adeguato. Nel momento in cui i diversi tipi di messaggi (ormoni, molecole

odorose, segnali visivi...) si legano a specifici recettori di membrana viene attivata una cascata di reazioni chimiche che determinano il risultato, affinché le cellule diano una specifica risposta.

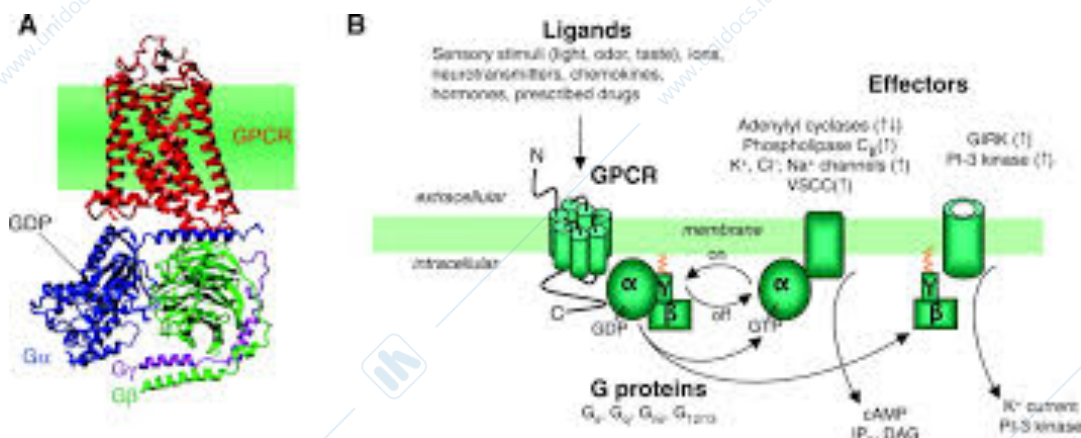
Recettore di membrana:

Localizzato sulla membrana plasmatica.

Struttura del recettore di membrana: tipica struttura ad alfa elica transmembrana (7 segmenti ad alfa-elica); ha una faccia esterna, che si affaccia all'esterno della cellula, che contiene il sito di legame dove avviene il legame con la molecola segnale; zona transmembrana; una parte interna che si affaccia sul citoplasma, ed è in stretto contatto con la proteina G.

Proteina G:

G sta per GDP. Proteina che lega GDP, costituita da 3 subunità: alfa che lega fisicamente il GDP, gamma, molto piccola, e beta. A parte beta, tutti gli altri componenti di questo sistema sono ricchissimi di zone ad alfa-elica. Si tratta di molecole (sia recettore che proteina G) in grado di cambiare conformazione in seguito al legame con una molecola a messaggio specifico.



Il recettore e la proteina G accoppiati costituiscono il sistema "antenna" per captare i messaggi molecolari.

Sistema di ricezione e formazione del secondo messaggero amp-ciclico (AMPC):

Il recettore si lega a un segnale extracellulare (generalmente una molecola). Il legame determina un cambiamento conformazionale del recettore che viene trasmesso alla proteina G. La proteina G si attiva e scambia il GDP (che aveva legato nella forma inattiva) con il GTP. La subunità alfa si stacca dalle altre due, e questa, con legato il GTP, va ad interagire con un'altra proteina di membrana: l'adenilato ciclasi. L'adenilato ciclasi è un enzima che trasforma ATP in amp-ciclico (amp3'-5'ciclico). Si forma un ponte fosfodiesterico all'interno della molecola e si libera pirofosfato. Amp-ciclico è il secondo messaggero intracellulare che medierà il segnale della molecola che si è legata al recettore. Questa molecola (ormone o molecola odorosa) rappresentava invece il primo messaggero. Il secondo messaggero amp-ciclico andrà a scatenare una serie di reazioni che determinano la risposta al messaggio.

A sua volta amp-ciclico viene degradato dall'enzima fosfodiesterasi, che in presenza di H₂O scinde il legame fosfodiesterico formando amp, quindi interrompendo la trasmissione del segnale. Uno degli inibitori più noti di questo enzima è la caffeina. La caffeina, derivato delle basi puriniche, ha effetto inibitore sulla fosfodiesterasi, e quindi prolunga l'azione dell'amp-ciclico, ne mantiene i livelli più elevati. Inoltre, la subunità alfa della proteina G non interagisce solo con l'adenilato ciclasi, ma anche con altre proteine come la fosfolipasiC, i canali del sodio, cloro e potassio, e i canali di membrana a potenziale dipendente.

Vediamo alcuni casi particolari:

Epinefrina (o adrenalina):

Epinefrina deriva dall'amminoacido tirosina, aa aromatico. L'epinefrina si lega al suo recettore, si attiva la proteina G e la subunità alfa porta alla formazione dell'amp-ciclico. Amp-ciclico va ad attivare l'enzima proteina chinasi. Le chinasi, in presenza di ATP fosforilano dei substrati. Ci sono chinasi che hanno come substrato delle proteine, e per questo sono chiamate proteine chinasi. Questa proteina chinasi in particolare è attivata da AMPc. Normalmente la chinasi è un tetramero inattivo, costituito da 2 tipi di subunità: 2 subunità catalitiche e 2 subunità regolatorie. AMPc attiva le subunità catalitiche staccandole da quelle regolatorie. In questo modo AMPc attiva la proteina chinasi, che in questo caso si chiama proteina chinasi AMPc-dipendente. La proteina chinasi andrà a fosforilare molte proteine citoplasmatiche, e si avrà così una molteplicità di risposte cellulari.

Effetto epinefrina nel fegato:

L'epinefrina è l'ormone che da la risposta basale di reattività "scappa o muori" o "attacca o muori". In queste situazioni si ha un picco di epinefrina/adrenalina. L'epinefrina si lega ai recettori di membrana, si forma AMPc che attiva la proteina chinasi. Nel fegato l'effetto dell'epinefrina è attivare la glicogenolisi, poichè la glicogenolisi nel fegato aumenta la glicemia. Classica reazione da epinefrina infatti è quella del picco glicemico.

Come viene stimolata la glicogenolisi? Tramite una cascata di reazioni. La proteina chinasi va a fosforilare la proteina fosforilasi chinasi, in presenza di ATP, e la rende attiva. Questa nuova seconda chinasi entrata ora in azione va a fosforilare la glicogeno-fosforilasi (che normalmente è inattiva, e in presenza di ATP viene fosforilata) la quale si attiva e può partire la glicogenolisi. Si formerà glucosio libero che verrà immesso in circolo.

Effetto epinefrina nel muscolo:

Nel muscolo la situazione è ancora più complessa, poichè entra in azione anche il calcio. Nel muscolo l'epinefrina si lega al recettore, solita risposta: AMPc, attivazione della proteina chinasi, attivazione della fosforilasi chinasi, attivazione della glicogeno fosforilasi. Nel muscolo però la risposta è potenziata dall'azione del calcio. In seguito dell'impulso nervoso, il calcio esce dal reticolo sarcoplasmatico e va ad attivare la contrazione. Ma il calcio si lega alla proteina calmodulina, la attiva e la calmodulina attivata, con legato il calcio, va a legarsi alla fosforilasi chinasi e ne potenzia l'attivazione. Quindi nel muscolo abbiamo anche il calcio come secondo messaggero: calcio e AMPc agiscono insieme potenziando il segnale di lotta o fuga. Vi è un aumento delle prestazioni del tessuti muscolare.

Glucagone e il suo **effetto sulla gluconeogenesi nel fegato:**

Vediamo il segnale ormonale e come agisce attivando la gluconeogenesi.

Solito sistema: il glucagone si lega al recettore, AMPc, e attivazione della proteina chinasi. La proteina chinasi, tra i tanti suoi bersagli ha anche fosfo-frutto-chinasi₂, enzima bifunzionale con attività che porta alla sintesi del fruttosio₂-6-difosfato ma anche dominio fosfatasico che idrolizza il fruttosio₂-6-difosfato. La proteina chinasi fosforila fosfo-frutto-chinasi₂, e la fosforilazione inibisce il dominio chinasi e attiva il dominio fosfatasico: non si forma fruttosio₂-6-difosfato, si rallenta la glicolisi e si attiva la gluconeogenesi. Quindi il glucagone, nel fegato e solo nel fegato, ha come effetto aumentare glicemia, poichè aumenta la produzione di glucosio nel fegato (unico organo che può immettere glucosio in circolo) e di conseguenza aumenta la glicemia.

Il glucagone è il primo messaggero, AMPc è il secondo messaggero intracellulare, e la proteina chinasi è l'effettore che mette in atto il messaggio andando a fosforilare il suo bersaglio specifico che è la fosfo-frutto-chinasi₂.

21 maggio

Abbiamo visto, nelle cellule del muscolo, come l'epinefrina associata all'impulso nervoso porta all'attivazione della glicogeno-fosforilasi: mediante la convergenza di due vie di segnalazione, ovvero quella dell'AMPc che è collegata alla proteina chinasi, e la via del calcio, che è un secondo messaggero. In questo caso il calcio porta il messaggio dell'impulso nervoso, e legandosi alla

proteina calmodulina va ad attivare la fosforilasi-chinasi. Quindi la fosforilasi-chinasi nel muscolo viene attivata da due segnali extracellulari. C'è un potenziamento dell'attivazione della fosforilasi-chinasi e di conseguenza della glicogenolisi.

Trasduzione del segnale olfattivo:

Un cane da caccia percepisce molecole odorose di un fagiano nascosto in mezzo alla vegetazione. Il fagiano non è visibile, ma il cane lo visualizza a livello cerebrale grazie all'interazione delle molecole odorose che vengono emesse dal fagiano, soprattutto se questo prova paura. Le molecole odorose colpiscono la mucosa olfattiva del cane che presenta neuroni specializzati che contengono nella loro membrana dei recettori specifici per le molecole odorose. La mucosa è sensibile a odori di diverso tipo. C'è una grande varietà di questi recettori specie-specifici localizzati sulla membrana dei neuroni olfattivi. Il legame delle molecole odorose che spesso presentano l'anello aromatico. Sono molecole planari che si inseriscono nel sito attivo dei recettori, che sono collegati con la proteina G. Il legame molecola odorosa-recettore attiva la proteina G col meccanismo solito, la proteina G scambia GDP con GTP, si stacca dalle altre due subunità, attiva l'adenilato ciclasi, l'adenilato ciclasi sintetizza AMPc. Questa volta cambia il bersaglio dell'AMPc: il bersaglio è il canale ionico transmembrana del sodio, canale ad apertura molecolare che si apre quando AMPc si lega. Il sodio viene continuamente pompato fuori dalle cellule dalle ATP-asi di membrana, per cui c'è un gradiente transmembrana di sodio. Il sodio in questo caso entra all'interno delle cellule e si ha depolarizzazione della membrana plasmatica della cellula del neurone olfattivo. In condizioni di riposo il potenziale di membrana è negativo verso l'interno, con l'attivazione del segnale olfattivo si ha inversione della polarizzazione che diventa positiva all'interno della cellula. Si avrà quindi la trasmissione dell'impulso nervoso e la visualizzazione a livello cerebrale del fagiano nascosto.

Una cosa analoga avviene con la percezione della visione. In questo caso lo stimolo sono i fotoni. L'AMPc fa sempre da mediatore.

Gli elefanti hanno più del doppio dei geni per i recettori dell'olfatto rispetto al cane. Hanno un olfatto sviluppatissimo. Anche i piccoli roditori hanno molti recettori dell'olfatto: i nostri progenitori come la tupaia erano animali notturni con vista e olfatto molto sviluppati per sopravvivere in condizioni di scarsità di luce.

BIOSINTESI ACIDI GRASSI

- DOVE :

La lipogenesi è una via citoplasmatica che avviene in moltissimi tessuti, ma i più importanti sono fegato, tessuto adiposo e ghiandola mammaria.

- PERCHE':

Fatta per produrre nuove molecole di acidi grassi saturi (il più importante è acido palmitico).

NB: non è l'inverso della beta ossidazione

- COME:

Procede aggiungendo unità bicarboniose in forma attivata ,che vengono via via ridotte , non usando NAD ridotto ma NADP ridotto.

Il substrato è l'acetil-coA ,che deriva dal glucosio. Quando nella nostra dieta c'è abbondanza glucosio acetil-coA non viene completamente ossidato nel ciclo di

PRIMA TAPPA:

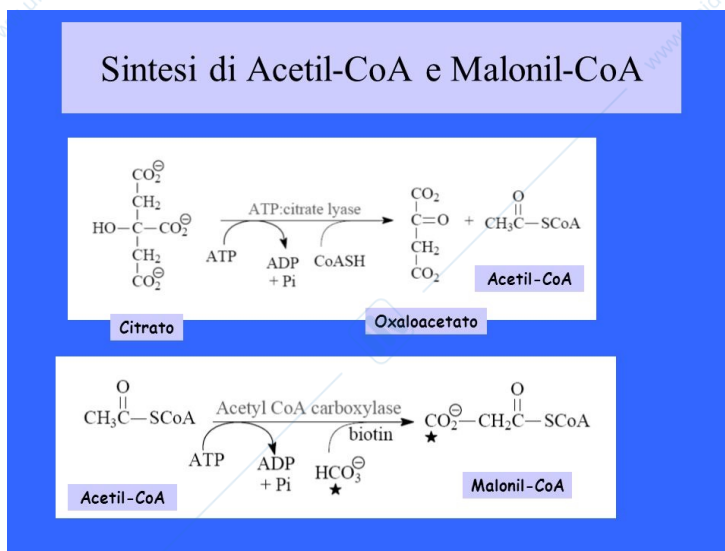
Attivazione acetil-coA a malonil comporta energia ed è una reazione di carbossilazione catalizzata da enzima acetil-coA carbossilasi biotina dipendente . Questa reazione è la reazione chiave di tutta la via, è irreversibile in vivo ed è regolata.

Tre tipi di regolazione : 1. Regolazione che si basa sullo stato di aggregazione, quando enzima è in forma inattiva

2. Regolazione allosterica , polimerizza e rende attivo enzima grazie a citrato (più c'è acetil-coA , più enzima diventa attivo)

3. Regolazione per fosforilazione e defosforilazione (enzima fosforilato è inattivo, mentre l'enzima defosforilato è attivo)

Il principale inibitore invece è il prodotto , parliamo quindi di regolazione a feedback (il prodotto inibisce il primo enzima della via) .



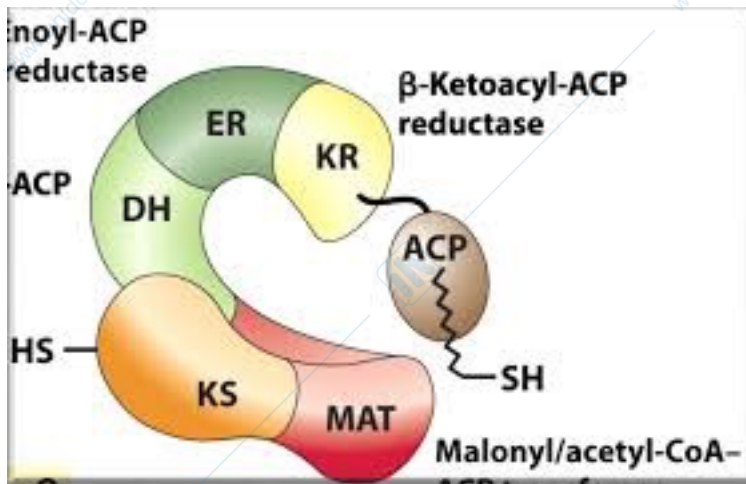
Questa prima reazione è la fotocopia esatta della prima reazione della gluconeogenesi !!

SECONDA TAPPA:

Malonil entra nell'acido grasso sintasi (grosso gruppo enzimatico che non usa ATP perché malonile già attivato prima).

Complesso formato da due subunità che contengono nel loro interno diverse attività enzimatiche, hanno quindi diversi siti attivi . E' una molecola molto grande con multidominio (6 domini) . Ogni subunità contiene ACP (= proteina trasportatore di acili) che svolge ruolo chiave nel complesso: ACP ha braccio mobile che è la fosfo-panteteina (= breve catena che contiene acido pantotenico + catena con gruppo SH alla fine) . Inoltre ACP sposterà acido grasso su tutti i siti attivi dell'acido grasso sintasi.

Su questo complesso è presente un secondo gruppo SH coinvolto nei meccanismi di catalisi.



REAZIONI DI CATALISI:

aggiungendo unità carbonio alla volta costruirà acido grasso.

1. Attacco acetil-coA su cisteina con gruppo SH (coA se ne va)
2. Malonil -coA (sintetizzato mediante carbossilasi) si lega all'ACP mediante gruppo SH
3. **Condensazione** di queste due molecole. Qui acetile legato a cisteina viene unito al malonile legato ad ACP, se ne va CO₂ e si forma il primo acetile legato

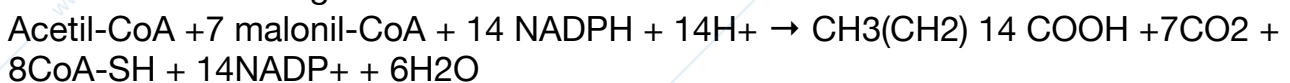
ad ACP (si forma il primo scheletro). Molecola di CO₂ che se ne va è la stessa usata nella prima tappa per carbossile coA.

4. Obiettivo è formare acido grasso, bisogna per forza quindi ridurre in 2 il gruppo carbonilico mediante reazioni di riduzioni (con potere riducente portato da NADPH) che sono l'opposto della beta ossidazione. La prima *riduzione* è una *reduttasi NADPH-dipendente*, poi avviene una *deidratazione* che forma doppio legame tra C alfa e C beta. Su questo doppio legame avviene un'ulteriore *riduzione* operata da *reduttasi NADPH-dipendente*: si forma così il primo acido grasso che è un butirile.
5. A questo punto si riprende il ciclo, come nella beta ossidazione.

Il butirile viene spostato su gruppo SH della cisteina, quindi ACP può ricevere un nuovo malonile che riprenderà il ciclo a partire dalla condensazione, (quindi il butirile andrà a legarsi a malonile con uscita di CO₂ e si formerà su ACP un composto a 6 atomi di carbonio). Questo processo continua fino a costituzione di acido palmitico a 16 C

BILANCIO ENERGETICO:

Per costruire acido grasso a 16 C servono 7 cicli:



Questo processo costa molta energia: 8 ATP per formare 8 acetil-CoA da citrato (vedi reazione della citrato liasi) + 7 ATP per legare CO₂ all'acetil-CoA e produrre 7 malonil-CoA. In totale sono stati usati 15 ATP + il potere riducente.

(CHETOGENESI PDF)

3 giugno

Regolazione enzimatica

Regolazione enzimatica:

- **Quantità** (lento = minuti/ore/giorni)
 - regolazione a livello della traslocazione
 - silenziamento genico
 - regolazione a livello della traduzione
- **Attività** (veloce = anche meno di un secondo)

Abbiamo accennato al metabolismo di fegato, muscolo, eritrociti e tessuto adiposo, che sono argomenti trasversali. Altri argomenti trasversali sono la regolazione degli enzimi che può avvenire regolando la quantità dell'enzima, tramite regolazioni a monte della reazione, quindi regolazione a livello della trascrizione. Ad es molti enzimi via glicolitica contengono nel loro promotore delle sequenze di consenso che rispondono alla quantità di glucosio, glucose-responsive-element, se aumenta la quantità di glucosio aumenta l'espressione di questi geni. L'rna trascritto può essere silenziato col meccanismo di silenziamento genico (un gene espresso può non venire tradotto e non dare origine alla proteina). Poi ci sono meccanismi di regolazione a livello della traduzione, ad es la ferritina e altre proteine-enzimi che sono collegate al metabolismo del ferro.

L'attività enzimatica può essere regolata andando ad agire proprio sull'enzima, andando a regolare l'attività dell'enzima. Questi due meccanismi di regolazione si differenziano tra loro per la velocità della messa in atto. Per regolare la quantità di un enzima ci vogliono tempi più lunghi, da alcuni minuti ad alcuni giorni (nello sviluppo dell'organismo). La regolazione dell'attività enzimatica invece è un processo veloce, che può avvenire anche in meno di un secondo.

Andiamo a vedere quali sono questi meccanismi.

Meccanismi di regolazione attività enzimatica:

- **Basici:** [S], T, pH, [E] velocità della reazione. Regolano la velocità della reazione chimica.
- **Cinetica cooperativa:** piruvato chinasi, fosfofruttochinasi. Enzimi cooperativi in grado di regolare la velocità della reazione in funzione della concentrazione del substrato.
- **Regolazione allosterica:** piruvato chinasi, fosfofruttochinasi, piruvato deidrogenasi.
- **Rilascio allosterico della subunità catalitica:** proteina chinasi AMP-c-dipendente. In questo enzima in particolare, quando le 4 subunità sono insieme l'enzima è inattivo, mentre in seguito al legame con AMPc si staccano le 2 subunità regolatorie e le 2 subunità catalitiche vengono attivate.
- **Fosforilazione-defosforilazione:** piruvato chinasi, fosfofruttochinasi 2, piruvato deidrogenasi
- **Variazioni stato di aggregazione:** acetil-CoA carbossilasi. Nella biosintesi degli acidi grassi l'acetil-CoA carbossilasi in presenza di citrato tende a formare aggregati attivi.
- **Isozimi:** esochinasi, piruvato chinasi, fosfofruttochinasi, lattato deidrogenasi
- **Compartimentalizzazione:** glucochinasi. La glucochinasi viene legata da una proteina e portata nel nucleo quando non serve, e rilasciata dal nucleo quando c'è bisogno di utilizzare glucosio.
- **Enzimi bifunzionali:** fosfofruttochinasi 2. Sono due enzimi antagonisti, quando è attivo uno non è attivo l'altro. Qui la regolazione avviene tramite fosfo-defosforilazione.
- **Proteolisi controllata:** zimogeni. Ad es l'attivazione degli enzimi digestivi, gli zimogeni.
- **Formazione di complessi multienzimatici:** piruvato deidrogenasi e alfa-chetoglutarato deidrogenasi, acido grasso sintasi. Metodo di regolazione dell'attività enzimatica che rende più funzionale l'attività di questi enzimi mettendoli insieme e permettendo così il passaggio dei prodotti da un enzima all'altro per aumentare l'efficienza catalitica.

Regolazione di una via metabolica:

(livello superiore di regolazione rispetto alla regolazione dell'attività enzimatica)

- **Regolazione genica** (quantità di enzima)
- **Regolazione della velocità della reazione** ([S], [P], pH, [cofattori])
- **Regolazione attività enzimatica feed-back e feed-forward:** (sono le regolazioni più fini).
Feed-back è il prodotto finale che inibisce il primo o uno dei primi enzimi della via metabolica. Nel caso della glicolisi il vero prodotto finale è l'ATP, che infatti inibisce gli enzimi chiave fosfofruttochinasi e piruvatochinasi. Un altro es di feed-back è nelle vie biosintetiche degli amminoacidi, dove il prodotto finale ovvero l'aa va ad inibire il primo enzima della via metabolica. L'attivazione feed-forward (attivazione in avanti) la troviamo, sempre nella glicolisi, con l'attivazione della piruvatochinasi ad opera del fruttosio1-6difosfato che è il prodotto della reazione della fosfofruttochinasi1. Il feed-forward serve ad armonizzare il flusso lungo tutta la via metabolica, ad uniformare la velocità dei diversi enzimi.

Questi meccanismi di regolazione sono focalizzati sugli enzimi chiave delle reazioni "fuori dall'equilibrio", fortemente esoergoniche e irreversibile in vivo: è su queste che si investe per il controllo dell'intera via metabolica.

Molecole in dettaglio:

- DNA
- Istoni
- DNA polimerasi
- Acquaporine
- Telomerasi
- RNA
- RNA polimerasi
- SnRPs
- Metallotioneina
- Ferritina
- Zinc finger domain
- Piruvato chinasi
- Fosfofruttochinasi e Fosfofruttochinasi 2
- Complesso piruvato deidrogenasi
- Aconitasi-IRP
- Complessi CR
- ATP-asi CR
- Citocromo C
- Glutazione
- Recettore e proteina G
- Complesso acido grasso sintasi

Meccanismo d'azione di farmaci/veleni:

- **Chinoloni e girasi batteriche:** i chinoloni inibiscono le girasi batteriche.
- **Cisplatino e legame con G del DNA:** abbiamo visto il cisplatino e il suo legame con le guanine che determinano una distorsione del DNA rendendo difficile la duplicazione delle cellule tumorali (infatti il cisplatino è un anti-tumorale)
- **Antibiotici e sintesi proteica:** eritromicina (traslocasi), cloramfenicolo (peptidil transferasi), tetracicline e streptomina e subunità 30S. Interagiscono con le varie tappe della sintesi proteica.
- **Fluoroacetato e citrato sintasi/aconitasi:** esercitano inibizione su alcuni enzimi del ciclo di krebs.
- **Cianuro e complesso IV CR:** il cianuro avvelena il complesso 4 della catena respiratoria.
- **Oleandrina e Na/K-ATP-asi:** l'oleandrina inibisce le sodio-potassio ATP-asi di membrana dei cardiomiociti delle cellule nervose/neuroni dando problemi di aritmie e problemi neurologici.

Abbiamo accennato anche ad alcune molecole con significato clinico come la **bilirubina** e l'**urea**, che vengono usati in ambito clinico come importanti marcatori dello stato di salute dell'organismo.

