

## Gluconeogenesi

Via anabolica che porta alla formazione di glucosio che ha luogo a livello epatico e renale. Viene sintetizzato il glucosio a partir da precursori non glucidici.

Inizia dal piruvato che viene sintetizzato da amminoacidi glucogenetici, acidi grassi o glicerolo (principalmente Amminoacidi). Si verifica quando nel sangue la riserve di glicogeno sono scarse, per mantenere i livelli di glucosio stabili, come in fase di digiuno o stress. La Gluconeogenesi non è la via contrapposta alla glicolisi, ma vi sono 3 trappe che differenziano i due processi, perche vengono utilizzati degli enzimi diversi.

- 1- sintesi del fosfoenolpiruvato;
- 2- sintesi del fruttosio-6-fosfato;
- 3- sintesi del glucosio.

### Processo

1 fase: sintesi del fosfoenolpiruvato

### Matrice mitocondriale

Piruvato + bicarbonato  $\rightarrow$  piruvato carbossilasi  $\rightarrow$  ossalacetato + Pi

La piruvato carbossilasi utilizza ATP per aggiungere un gruppo carbossilico al piruvato.

### Riduzione a PEP nel citosol

Ossalacetato  $\rightarrow$  fosfoenolpiruvato carbossichinasi  $\rightarrow$  fosfoenolpiruvato + CO<sub>2</sub>

Attraverso la GTP, l'ossalacetato viene ridotto perdendo un atomo di carbonio per formare il PEP (decarbossilazione).

2 fase: da PEP a fruttosio-1,6-bisfosfato

Il PEP subisce una serie di reazioni che ripercorrono in modo opposto le reazioni della glicolisi (uguali ma opposte).

PEP  $\rightarrow$  2-fosfoglicerato  $\rightarrow$  3-fosfoglicerato  $\rightarrow$  1,3-bifosfoglicerato (G3P)  
Queste reazioni richiedono il consumo di ATP e NADH.

3 fase: bypass della fruttosio-1,6-bisfosfato

Nella glicolisi questa reazione è irreversibile, il fruttosio-1,6-bisfosfato viene convertito in fruttosio-6-fosfato dall'enzima fruttosio-1,6-bisfosfatasi, enzima specifico per la gluconeogenesi. Fase chiave che differenzia gluconeogenesi dalla glicolisi, perché nella seconda il fruttosio-6-fosfato viene convertito in fruttosio-2,6-bisfosfato, attivatore della glicolisi e inibitore della gluconeogenesi.

Il fruttosio-1,6-bisfosfato, attraverso la fruttosio-1,6-bisfosfatasi, viene trasformato in fruttosio-6-fosfato. Questo enzima è specifico della gluconeogenesi, perché appunto il fruttosio-2,6-bisfosfato blocca completamente la gluconeogenesi, appunto le due solitamente non vanno di pari passo, se avviene una l'altra viene completamente inibita; solamente in un caso questa cosa non accade, ovvero nei soggetti diabetici in situazione di iperglicemia, dove si ha un mancato controllo da parte dell'insulina che porta il fruttosio-2,6-bisfosfato a non essere prodotto. Ne consegue che la glicolisi e la gluconeogenesi saranno attive contemporaneamente e verrà prodotto glucosio anche se non c'è necessità.

Ultima fase: defosforilazione del glucosio-6-fosfato a glucosio

Glucosio-6-fosfato  $\rightarrow$  glucosio-6-fosfatasi  $\rightarrow$  glucosio

Questo enzima è presente esclusivamente nel fegato e reni.

## Via pentosio fosfati

È una via metabolica alternativa alla glicolisi che destina il glucosio-6-fosfato a ruoli differenti dalla produzione di ATP, ovvero per la produzione di NADPH e ribosio-5-fosfato. La via dei pentosio fosfati viene distinta in 2 fasi: fase ossidativa e la fase non ossidativa.

Il NADPH viene utilizzato nelle biosintesi riduttive, in particolare dai tessuti che sintetizzano attivamente acidi grassi (fegato, adipociti...) o colesterolo e ormoni steroidei (fegato, ghiandole surrenali, gonadi...).

Inoltre è utile per le cellule più esposte all'ossigeno e quindi ai radicali liberi, dove viene usato per ridurre il glutatione ossidato.

Il ribosio-5-fosfato viene invece utilizzato per costituire RNA, DNA e i coenzime (ATP, NADH, FADH<sub>2</sub> e CoA) dalle cellule che si dividono rapidamente (midollo osseo, pelle e mucosa intestinale).

Nell'uomo la via dei pentosio fosfati avviene nel citosol della cellula quando è presente una relativa abbondanza dell'accettore di elettroni NADP<sup>+</sup> proveniente dall'ossidazione del NADPH nelle reazioni endoergoniche.

### Fase ossidativa:

Durante la fase ossidativa il glucosio-6-fosfato viene ossidato per produrre NADPH e ribosio-5-fosfato.

1. Il glucosio-6-fosfato viene convertito a 6-fosfoglucono- $\delta$ -lattone dalla glucosio-6-fosfato deidrogenasi.
2. Il 6-fosfoglucono- $\delta$ -lattone viene trasformato in 6-fosfogluconato dalla lattonasi.
3. Il 6-fosfogluconato viene ossidato a ribulosio-5-fosfato dalla 6-fosfogluconato deidrogenasi.
4. Il ribulosio-5-fosfato viene isomerizzato a ribosio-5-fosfato dalla fosfopentoso isomerasi.

### Fase non ossidativa :

La fase ossidativa avviene nei tessuti che richiedono principalmente NADPH, nei quali il ribulosio-5-fosfato prodotto viene riciclato in glucosio-6-fosfato.

1. Il ribulosio-5-fosfato viene epimerizzato in xilulosio-5-fosfato dalla ribulosio-5-fosfato epimerasi.
2. La transchetolasi trasferisce un frammento di due atomi di C dallo xilulosio-5-fosfato al ribosio-5-fosfato, formando il sedoepulosio-7-fosfato e la gliceraldeide-3-fosfato.
3. La transaldolasi trasferisce un frammento di 3 atomi di C dal sedoepulosio-7-fosfato alla gliceraldeide-3-fosfato, formando il fruttosio-6-fosfato ed eritrosio-4-fosfato.
4. La transchetolasi agisce di nuovo trasferendo un frammento di due atomi di C dallo xilulosio-5-fosfato all'eritrosio-4-fosfato formando fruttosio-6-fosfato e gliceraldeide-3-fosfato.

A questo punto abbiamo due prodotti finali, la gliceraldeide-3-fosfato e il fruttosio-6-fosfato; la prima, tramite tappe della gluconeogenesi, viene convertita nel secondo: rimane quindi solo fruttosio-6-fosfato che, tramite l'enzima della glicolisi fosfoesoso isomerasi, viene isomerizzato a glucosio-6-fosfato. Quest'ultimo può ricominciare la via dei pentosi fosfati.

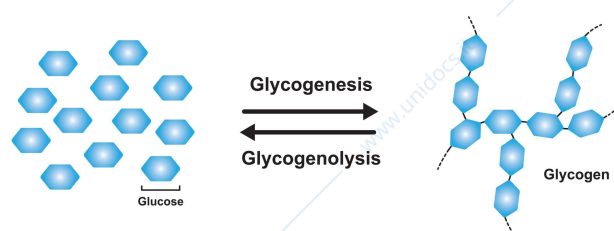
Il glucosio 6-fosfato sceglie la via glicolitica o quella dei pentoso fosfati in base al fabbisogno momentaneo della cellula e alla concentrazione di NADP<sup>+</sup> nel citosol. In assenza di questo composto che funge da accettore di elettroni, la prima reazione della via dei pentosi fosfati non può avvenire. Quando invece avvengono numerose biosintesi riduttive, significa che la cellula converte rapidamente il NADPH in NADP<sup>+</sup> che quindi aumenta e può essere utilizzato nella via dei pentosi fosfati che, pertanto, parte. Nel momento in cui le biosintesi riduttive diminuiscono, il NADPH aumenta e il NADP<sup>+</sup> diminuisce e il glucosio 6-fosfato viene indirizzato verso la glicolisi.

## Glicogeno sintesi

È una via anabolica del metabolismo glucidico che sintetizza e immagazzina il glicogeno a partire dal glucosio. La sintesi del glicogeno consta di cinque o sette tappe a seconda che intervenga o meno la proteina glicogenina.

Il processo biochimico tramite cui viene formato e depositato il glicogeno prende il nome di glicogeno sintesi. Il glicogeno è la forma di deposito di glucosio negli animali ed è presente soprattutto a livello epatico e muscolare.

L'enzima responsabile di questo processo è la glicogeno sintasi che ha il compito di unire tante unità di glucosio per formare la struttura ramificata tipica del glicogeno.



Il punto di partenza della sintesi del glicogeno è il glucosio-6-fosfato proveniente dalla glicolisi o dalla glicogenolisi.

1. Il glucosio-6-fosfato viene convertito in glucosio-1-fosfato dalla fosfoglucomutasi.
2. Il glucosio-1-fosfato reagisce con l'UTP formando l'UDP-glucosio dalla UDP-glucosio pirofosforilasi.
3. La glicogeno sintasi trasferisce il residuo glucosidico dall'UDP-glucosio a un'estremità di una ramificazione del glicogeno.
4. L'enzima ramificante prende 6/7 residui di glucosio da una ramificazione lunga almeno 11 residui e li porta su un residuo di glucosio della stessa catena o di un'altra formando una nuova ramificazione.
5. La glicogeno sintasi può aggiungere altri residui alla nuova ramificazione.

Queste reazioni avvengono nel caso in cui la ramificazione su cui agisce la glicogeno sintasi sia composta da almeno 88 residui di glucosio.

In caso contrario, l'enzima non può dare inizio alla sintesi de novo del glicogeno e richiede un innesco (primer) ovvero una catena preformata. Interviene quindi la glicogenina, una proteina che prende il glucosio dall'UDP-glucosio e forma una catena ad 8 residui. A questo punto la glicogeno sintasi può svolgere la sua attività.

La glicogeno sintesi avviene in condizioni di abbondanza energetica, situazione in cui non è necessario utilizzare l'energia introdotta, che viene quindi conservata per poterla utilizzare successivamente. La glicogeno sintesi è attivata da:

- insulina, ormone secreto dopo un pasto che segnala eccesso energetico e promuove lo stoccaggio di energia.
- Glucosio e glucosio-6-fosfato, precursori del glicogeno.

Il glicogeno ha due funzioni principali:

- glicogeno epatico, che mantiene costante la glicemia;
- Il glicogeno muscolare, che fornisce energia di immediato utilizzo, fondamentale per le attività fisiche intense.

Inoltre è vantaggioso per la cellula conservare il glucosio sotto forma di polimeri sia perché la stessa quantità sotto forma di monomeri determinerebbe una fortissima osmolarità, con conseguente richiamo di H<sub>2</sub>O all'interno della cellula, sia perché il glucosio determinerebbe un gradiente sfavorevole e l'energia richiesta per portare altre molecole dentro la cellula sarebbe troppo elevata.

### Glicogeno lisi

La glicogeno lisi è una via biochimica che scinde il glicogeno in glucosio per poter utilizzare questo zucchero come energia o per regolare la glicemia; questo processo avviene nel citosol delle cellule epatiche e muscolari.

Le unità di glucosio delle ramificazioni del glicogeno vengono rilasciate per azione di 3 enzimi:

1. la glicogeno fosforilasi, che usando un gruppo fosfato, scinde un legame glicosidico tra due residui di glucosio all'estremità di una ramificazione, formando glucosio-1-fosfato. Questa reazione viene ripetuta più volte per i vari residui di glucosio finché l'enzima non raggiunge un punto che dista 4 residui dalla ramificazione;
2. L'enzima deramificante, la glucotransferasi, che prende tre residui di glucosio della ramificazione portandoli sulla catena precedentemente degradata (attività trasferasica) e successivamente la glicosidasi stacca il residuo di glucosio rimasto della ramificazione (attività glicosidica);
3. Il glucosio-1-fosfato prodotto dalla glicogeno fosforilasi viene convertito in glucosio-6-fosfato dalla fosfoglucomutasi.

### Regolazione del metabolismo del glicogeno

Le due vie subiscono una regolazione ormonale ad opera di:

- insulina → favorisce la glicogeno sintesi (defosforilante) legandosi ad un recettore tirosino chinasi che attiva delle MAP-chinasi le quali hanno funzione regolatoria di trascrizione genetica delle fosfatasi. Agisce anche mediante un controllo a livello citosolico che porta alla fosforilazione della GSK3 (proteina che induce il processo di fosforilazione della glicogeno sintasi) rendendola inattiva.
- Glucagone → favorisce la glicogeno lisi (fosforilante)

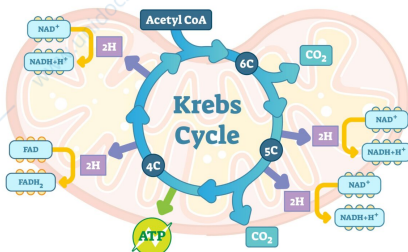
Il glucagone si lega a dei recettori sulla membrana legati alle proteine G. Queste attivano l'attività enzimatica del' Adenilato Ciclasa, il quale porta alla formazione di AMP ciclico (20 molecole).

Proteine chinasi (struttura quaternaria) PKA:

- 2 subunità con funzione regolatoria
- 2 subunità con funzione chinasi

L'AMP ciclico prodotto precedentemente si lega alle 2 subunità regolatorie; in questo modo si attivano le due subunità chinasi. Attraverso queste subunità attivate vengono fosforilate le fosforilasi B chinasi che vengono attivate a loro volta; una volta che accade ciò, l'enzima può fosforilare la Glicogeno fosforilasi, attivando la glicogeno lisi. Ecco perché il glucagone agisce indirettamente sulla fosforilazione della glicogeno fosforilasi e della glicogeno sintasi (attiva quando non fosforila).

Ciclo di Krebs



Il ciclo di Krebs, o ciclo dell'acido citrico, è una via metabolica aerobica che rappresenta il punto di incontro del catabolismo delle macromolecole. Anche detto ciclo degli acidi tricarbossilici, avviene nei mitocondri ed è composto da 8 reazioni. Durante questi passaggi, l'acetile-CoA viene completamente ossidato formando energia, equivalenti riducenti e CO<sub>2</sub>.

Il catabolismo è diviso in 3 parti:

- idrolisi delle macromolecole (proteine, polisaccaridi, lipidi);
- Reazioni che formano acetato a partire da glucosio, acidi grassi e amminoacidi;
- Ossidazione dell'acetato da CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O.

Quest'ultima fase avviene nei mitocondri attraverso un processo ciclico ossidativo chiamato ciclo di Krebs. Questo è definito metabolismo terminale, proprio perché

rappresenta il punto di convergenza dei processi catabolici.

Tramite il ciclo di Krebs, l'acetil-CoA viene trasformato in diversi intermedi formando:

- energia (sotto forma di GTP)
- Equivalenti riducenti (NADH e FADH<sub>2</sub>)
- Anidride carbonica

Il GTP viene convertito in ATP mentre gli equivalenti riducenti vengono utilizzati nella fosforilazione ossidativa per formare altro ATP.

Il ciclo di Krebs consta di 8 tappe:

1. L'acetil CoA e l'ossalacetato si uniscono per formare il citrato attraverso l'enzima citrato sintasi.
2. Il citrato viene trasformato in isocitrato, con produzione di una molecola di CO<sub>2</sub> e una di NADH attraverso l'enzima aconitasi.
3. L'isocitrato viene convertito in  $\alpha$ -chetoglutarato, con produzione di una molecola di CO<sub>2</sub> e una di NADH attraverso la isocitrato deidrogenasi.
4. L' $\alpha$ -chetoglutarato viene trasformato in succinil-CoA grazie alla  $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi.
5. Il succinil-CoA viene convertito in succinato, con produzione di GTP, attraverso la succinil-CoA sintetasi.
6. Il succinato viene trasformato in fumarato, con produzione di FADH<sub>2</sub> grazie alla succinato deidrogenasi.
7. Il fumarato viene convertito in malato dalla fumarasi.
8. Il malato viene convertito in ossalacetato, con produzione di NADH, dalla malato deidrogenasi.

Pertanto, partendo da una molecola di acetil-CoA si formano:

- 3 molecole di NADH
- 1 molecola di FADH<sub>2</sub> e una di GTP
- 2 molecole di CO<sub>2</sub>

Regolazione del ciclo di Krebs

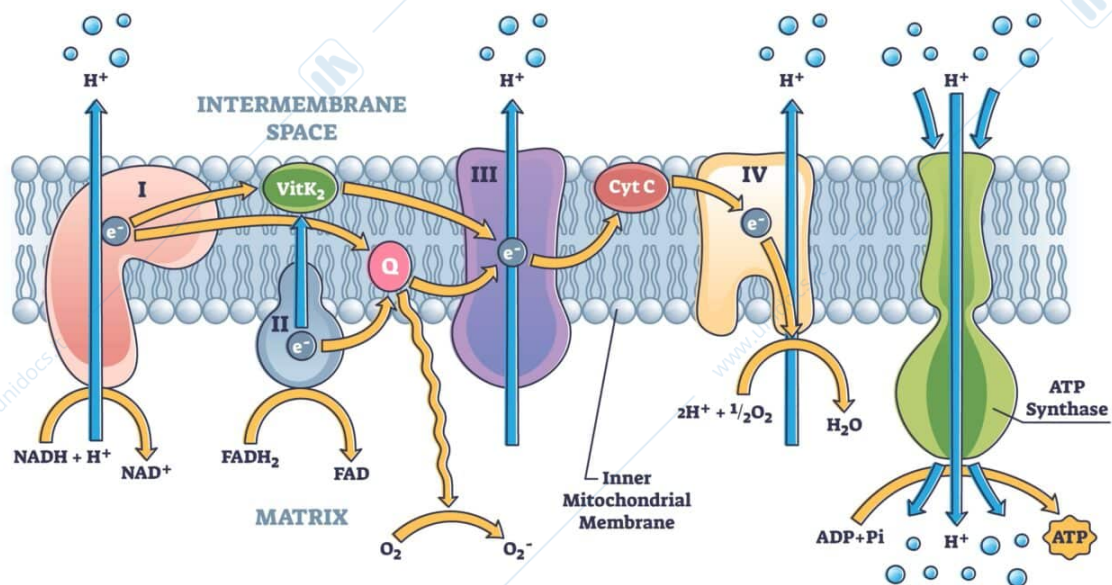
La velocità del flusso del ciclo di Krebs è governata prevalentemente a livello energetico. In condizioni di abbondanza energetica, il ciclo di Krebs viene rallentato perché non c'è bisogno di produrre ulteriore energia. A tal riguardo, modulatori negativi sono:

- ATP e NADH, molecole che esprimono alta energia
- succinil-CoA e citrato, che portano all'inibizione da prodotto, o feedback negativo.

Al contrario, una situazione di carenza energetica aumenta la velocità delle reazioni. In questo caso i modulatori positivi sono:

- ADP e AMP, che stanno a indicare che l'ATP è in utilizzo e quindi bisogna fornire ulteriore energia per mantenere costanti i livelli.
- Ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , indicatori di contrazione muscolare e quindi di richiesta energetica.

### Catena trasporto elettroni



Il mitocondrio ha una doppia membrana separata da uno spazio intermembranale. In corrispondenza della membrana interna sono presenti 4 complessi responsabili del trasporto di elettroni. La membrana mitocondriale esterna è facilmente permeabile agli ioni e alle piccole molecole grazie alle porine mentre la membrana interna è impermeabile; questa struttura determina una separazione netta fra le varie vie metaboliche. Infatti i processi ossidativi avvengono all'interno, dove vi sono gli enzimi necessari.

La fosforilazione ossidativa ha inizio quando gli elettroni entrano nella catena respiratoria, ovvero la successione dei complessi enzimatici che, essendo disposti con potenziale di riduzione maggiore, creano un gradiente di energia potenziale attraverso cui gli elettroni si

spostano. Gli elettroni sono portati sulla catena grazie ad accettori come NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup> e FAD. Sulla membrana mitocondriale interna, tra un complesso e l'altro, vi sono inoltre altri trasportatori di elettroni quali:

- ubiquinone o coenzima Q;
- Proteine zolfo-ferro (4F-4S);
- I citocromi a, b e c.

**Complesso 1 o NADH-Co Q reduttasi:**

È un complesso enzimatico a forma di L dove un braccio è immerso nella matrice e uno nella membrana mitocondriale interna. Inoltre si comporta anche da pompa protonica grazie all'energia ottenuta dal trasferimento di elettroni.

Il complesso 1 ossida NADH a NAD<sup>+</sup> acquistando 2 elettroni. Vengono nel mentre rilasciati 4 protoni nello spazio intermembranale generando un gradiente protonico.

**Complesso 2 o succinato coenzima Q reduttasi (succinato deidrogenasi):**

Coincide con l'enzima della sesta reazione del ciclo di Krebs. È una proteina di membrana costituita da centri Fe-S. Il succinato viene ossidato a fumarato con l'intervento di FAD che si riduce a FADH<sub>2</sub>; quindi gli elettroni, tramite una serie di centri Fe-S, vengono ceduti una alla volta al coenzima Q che si riduce a ubiquinolo, trasportando gli e<sup>-</sup> dai complessi 1 e 2 al complesso 3. Questo complesso non può fare da pompa protonica.

**Complesso 3 o CoQH<sub>2</sub> citocromo C reduttasi.**

È una proteina trans membrana costituita da centri Fe-S e da più subunità di citocromi di vario tipo; il suo scopo è quello di trasportare elettroni dall'ubichinolo al citocromo C.

Questi però può trasportare un solo elettrone alla volta, quindi si ha che per ogni ubiquinolo che viene ossidato a ubiquinone si devono ridurre due citocromi C.

Il coenzima Q si ri ossida trasferendo gli elettroni su i centri Fe-S. A loro volta questi trasferiscono un e<sup>-</sup> alla volta sul citocromo C<sub>1</sub>, che cede l'elettrone a sua volta al citocromo C il quale, in fine, li trasferisce al complesso 4.

Questo complesso è la seconda pompa protonica della catena, generata dal rilascio di 2 protoni per ogni coenzima Q.

**Complesso 4 o citocromo C ossidasi:**

È una proteina transmembrana composta da due citocromi di tipo A e da atomi di rame. Il suo scopo è trasferire gli elettroni dai citocromi C alle molecole di ossigeno al fine di ridurle ad acqua. Il processo inizia con uno ione rameico (Cu<sup>2+</sup>) che riceve l'elettrone dal citocromo C. Questo successivamente viene trasferito ad un altro ione rameico attraverso i citocromi A e A<sub>3</sub>. Il secondo ione rameico infine trasferisce l'elettrone all'O<sub>2</sub>, il quale viene ridotto a H<sub>2</sub>O utilizzando gli H<sup>+</sup> provenienti dalla matrice.

Attraverso un cambiamento conformazionale si ha il passaggio di 1 protone dalla matrice allo spazio intermembranale.

Centri Fe-S e citocromi

Citocromi: proteine che presentano un gruppo EME contenente ferro. Ne esistono di 3 classi:

- a → gruppo EME legato attraverso legami non covalenti;
- b → gruppo EME legato attraverso le legami non covalenti;
- c → gruppo EME legato covalentemente attraverso residui di cisteina.

Centri Fe-S: proteine che hanno il ferro legato ad atomi di zolfo o inorganico o derivante dalla cisteina.

### Teoria chemiosmotica

La sintesi di ATP viene realizzata con l'energia ottenuta dal gradiente elettronico e dal gradiente chimico instaurati durante la catena di trasporto degli elettroni; questa viene chiamata forza motrice protonica, e quando i protoni fluiscono secondo il loro gradiente elettronico questa energia è resa disponibile.

L'ATP sintasi è costituita da una coppia di unità funzionali, F<sub>0</sub> e F<sub>1</sub>.

Unità F<sub>0</sub>: è una proteina integrale di membrana costituita da una subunità a, due subunità b e un numero variabile di subunità c (a seconda della specie). Funge praticamente da canale protonico che ristabilisce il gradiente nella matrice.

Unità F<sub>1</sub>: presenta l'enzima ATP sintetasi, che viene attivata in seguito al passaggio protonico in F<sub>0</sub>. F<sub>1</sub> è formata da due diverse subunità:

- subunità alpha → lega ATP
- subunità beta → catalizza la formazione di ATP

### Complesso 5:

Il passaggio di protoni in F<sub>0</sub> genera una rotazione in F<sub>1</sub> di 120° per ogni protone. Ogni giro completo giungerà 1 ATP (quindi 3 protoni H<sup>+</sup>).

Infine si ha necessità di dissipare il gradiente proteico, ristabilendolo e riducendo la formazione di ATP. Ciò avviene grazie a due molecole.

- termogenina → genera calore attraverso il controllo degli ormoni tiroidei T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>;
- 2,4-dinitrofenolo → acido debole idrofobo che rilascia un protone attraverso la membrana.

### Lipidi e Membrane fosfolipidiche

I lipidi sono delle macromolecole biologiche che hanno struttura generale costituita da una testa polare idrofila e una coda apolare idrofobica. Le loro funzioni principali sono:

- riserva energetica
- Strutturale
- Ormonale

I lipidi di riserva sono principalmente trigliceridi, grossi lipidi costituiti da una molecola di glicerolo e 3 molecole di acidi grassi. Quest'ultimi possono essere o insaturi (presentano doppi legami nella catena carboniosa: vegetali) o saturi (non presentano doppi legami:Animali).

I lipidi strutturali sono invece principalmente :

- fosfolipidi—> sono coloro che costituiscono la membrana cellulare e sono formati da 1 molecola di glicerolo o sfingosina (rispettivamente glicerolofosfolipide o sfingolipide), 2 molecole di acidi grassi, ovvero la “coda”, e un gruppo fosfato, che invece fa da “testa”.
- Glicolipidi—> sono i principali costituenti della parte esterna della membrana cellulare e sono costituiti da 1 molecola di sfingosina, 1 molecola di acido grasso e 1 o + molecole di zucchero.

### Membrana fosfolipidica

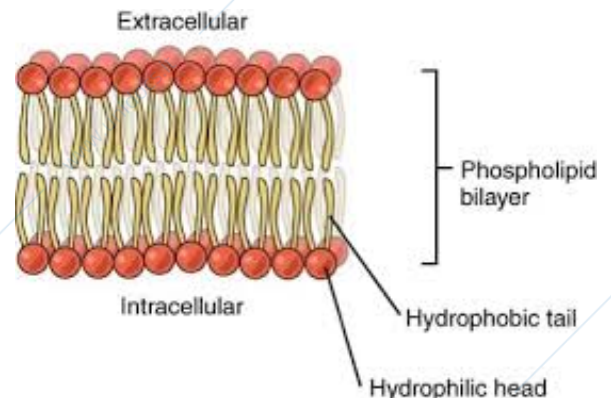
Sono costituite da un doppio strato di fosfolipidi eterogenei tra loro, posizionati con le teste idrofile all'esterno e le code idrofobi che all'interno. Per permettere il passaggio di sostanze polari all'interno della cellula, sulla membrana sono presenti le proteine integrali di membrana, costituite da aminoacidi polari (all'esterno e all'interno della cellula) e apolari (a contatto con le code idrofobiche).

Esistono anche proteine che non attraversano completamente il doppio strato di membrana, ma che sono ancorate ad una porzione mono strato di fosfolipidi, e sono chiamate proteine periferiche.

### Composizione del doppio strato

Le membrane fosfolipidiche si differiscono per composizione, tra membrane di organi diversi ma. Anche tra strato interno ed esterno della stessa membrana. Inoltre, un fattore che può determinare la presenza di specifici fosfolipidi è la temperatura.

### Fosfolipidi



- Sono la componente fondamentale della membrana
- Sono costituiti da una testa idrofila e due code idrofobe
- Le teste sono rivolte verso l'esterno, mentre le code sono rivolte all'interno

#### Colesterolo

- È intercalato tra i fosfolipidi
- Permette di mantenere la fluidità della membrana a varie temperature

#### Proteine

- Sono fondamentali per le funzioni della membrana
- Sono distribuite in tutto il doppio strato
- La loro quantità e il loro tipo riflettono la funzione della membrana

#### Carboidrati

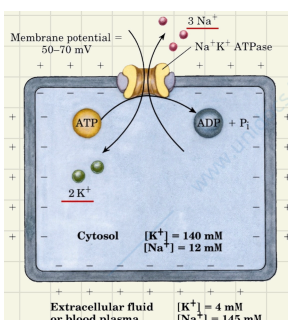
- Sono la componente meno rappresentata
- Si trovano associati ai lipidi e alle proteine, formando dei composti che prendono il nome di glico-lipidi e glico-proteine

I fosfolipidi possono muoversi all'interno della membrana sia lateralmente che trasversalmente; il primo è veloce e non comporta nessun cambiamento nella struttura della membrana, il secondo invece è lento e porta alla morte della cellula.

#### Trasporto di membrana

- Trasporto passivo → avviene in base alle concentrazioni. Solo poche molecole possono passare la membrana, basandosi sulla differenza di concentrazione tra l'interno e l'esterno (trasporto secondo gradiente)
- Trasporto facilitato → attraverso canali e trasportatori, avviene quando il trasporto passivo non è sufficiente. Vengono impiegate delle proteine che possono appunto sia creare dei veri e propri canali che attraversano la membrana, sia trasportare le molecole dall'esterno all'interno (o viceversa) agganciandosi alla molecola in questione. Svolgono comunque la loro funzione secondo gradiente, quindi non vi è consumo di energia.
- Trasporto attivo → avviene contro gradiente di concentrazione, spendendo energia sotto forma di ATP; esistono due tipi di trasporto attivo: primario, utilizza direttamente ATP per spostare le molecole (es. Pompa sodio-potassio), e secondari, noto come contro trasporto e utilizza l'energia immagazzinata in un gradiente di concentrazione di un'altra molecola per trasportare un'altra sostanza. Il trasporto attivo ha inoltre tre modalità di trasporto basate sulla direzione e il numero di molecole trasportate: uniporto (trasporto di una molecola in una direzione attraverso la membrana), simporto (movimento simultaneo di due diverse sostanze nella stessa direzione attraverso la membrana) e antiporto (movimento di due sostanze in direzioni opposte attraverso la membrana).

#### Trasporto attivo sodio-potassio



È una proteina di membrana che aiuta a mantenere l'equilibrio ionico nelle cellule trasferendo 3 ioni sodio fuori dalla cellula e 2 di potassio all'interno, utilizzando energia derivata dall'idrolisi di ATP.

1) legame sodio intracellulare, la pompa si lega con i 3 Na all'interno

della cellula

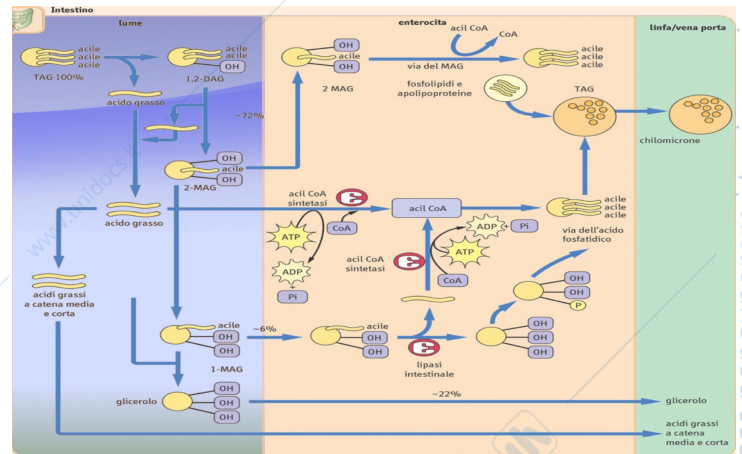
- 2) Fosforilazione, utilizza ATP per fosforilasi provocando un cambiamento nella forma della pompa
- 3) Rilascio sodio, cambia conformazione rilasciando i 3 ioni di Na all'esterno della cellula
- 4) Legame potassio extra cellulare, i due ioni potassio si legano alla proteina
- 5) Defosforilazione, con la perdita del gruppo fosfato la pompa ritorna alla sua conformazione originale e gli ioni di potassio vengono rilasciati all'interno della cellula.

## Assorbimento dei lipidi

### Digestione dei lipidi

Si suddivide in 7 fasi principali:

1. Emulsione dei trigliceridi dalla bile epatica
2. Formazione di fosfolipidi, sali biliari e colesterolo
3. Idrolisi ad opera delle lipasi pancreatiche
4. Assorbimento nell'enterocita
5. Risintesi dei trigliceridi
6. Formazione di chilomicroni
7. Esocitosi dei chilomicroni ed emissione nella linfa



Il glicerolo viene messo direttamente in circolo e viene fosforilato a glicerolo-3-fosfato dalla glicerolo chinasi. Questo poi, attraverso la glicerolo-3-fosfato deidrogenasi, portando alla formazione di un intermedio di reazione, ovvero il diidrossi acetone fosfato.

Successivamente viene convertito in gliceraldeide-3-fosfato che andrà poi a formare piruvato o glucosio.

Gli acidi grassi liberi vengono trasportati ai tessuti tramite l'albumina.

## Sintesi delle lipoproteine

All'interno dell'enterocita i trigliceridi possono essere risintetizzati con consumo di ATP a partire da monoacilgliceroli e acidi grassi liberi. A questo punto, dato che i trigliceridi hanno caratteristiche idrofobiche, l'enterocita sintetizza le lipoproteine; queste hanno funzione di trasportare i lipidi all'interno del circolo sanguigno e linfatico.

### Classificazione lipoproteine:

- chilomicroni → 95 g/dL. Si legano a vari enzimi sulle membrane cellulari (lipasi) che determinano il rilascio di trigliceridi, acidi grassi, fosfolipidi etc. Quando iniziano a perdere la parte lipidica, la loro densità inizia ad aumentare.
- VLDL → 95 g/dL - 100,6 g/dL
- IDL → 100,6 g/dL - 101,9 g/dL
- LDL → 101,9 g/dL - 106,3 g/dL
- HDL → 106,3 g/dL - 121 g/dL

La parte lipidica che non viene rilasciata è principalmente costituita da colesterolo. Le HDL hanno il compito di assorbire il colesterolo in eccesso e di trasportarlo al fegato per smaltirlo, formando bile, e per sintetizzare le VLDL, sostituendo la proteina B48 con la B100. Nel tessuto adiposo i lipidi nelle lipoproteine vengono depositati negli adipociti.

## Ossidazione degli acidi grassi

La funzione energetica dei lipidi si esplica nell'ossidazione degli acidi grassi, ottenuti principalmente dall'idrolisi dei trigliceridi negli adipociti.

L'ossidazione degli acidi grassi può essere di tipo:

- alpha → perossisomi
- Omega → reticolo endoplasmatico
- Beta → perossisomi e mitocondri (accoppiata con la fosforilazione ossidativa).

## Beta-ossidazione mitocondriale

Può avvenire per acidi grassi sia a catena pari che dispari; nei perossisomi avviene la scissione degli acidi grassi in unità più corte e più facilmente degradabili nella matrice mitocondriale.

La beta-ossidazione fornirà ATP necessari alla gluconeogenesi.

- 1) formazione Acil-CoA nel citosol: l'acido grasso viene trasformato in acil adenilato grazie alla acil-CoA sintetasi. Dopodiché reagisce con una molecola di coenzima A, sempre sotto la acil-CoA sintetasi, portando alla formazione dell'Acil-CoA.
- 2) Formazione Acil-carnitina nello spazio intermembrana del mitocondrio: Acil-CoA perde la molecola di coenzima A, che poi verrà sostituito da una molecola di carnitina, portando alla formazione di Acil-carnitina dalla Carnitina Acil-transferasi.
- 3) Passaggio nella matrice mitocondriale: l'Acil-carnitina esce dalla membrana mitocondriale attraverso un translocatore.
- 4) Formazione di Acil-CoA mitocondriale: a questo punto l'acil-carnitina viene riportata ad Acil-CoA, trasferendo la molecola di CoA al posto della molecola di carnitina dall'enzima carnitina Acil-transferasi 2
- 5) Formazione di Enoil-CoA: L'Acil-CoA a questo punto subisce una deidrogenazione dalla Acil-CoA deidrogenasi, portando alla formazione di trans-enoil-CoA.
- 6) Idratazione enoil-CoA: a questo punto il trans-Enoil-CoA verrà idratato dalla enoil-CoA idratasi portando alla formazione di L-beta-idrossi-acil-CoA.
- 7) Beta-ossidazione NAD<sup>+</sup> dipendente: l'L-beta-idrossi-acil-CoA, a questo punto, subisce una deidrogenazione, sfruttando la riduzione di NAD<sup>+</sup> a NADH, attraverso la beta-idrossi-acil-CoA deidrogenasi, ossidandosi e portando alla formazione di beta-cheto Acil-CoA.
- 8) Formazione Acetil-CoA: come ultimo passaggio il beta-cheto Acil-CoA reagisce con la tiolasi, portando alla formazione di un Acetil-CoA.

## Acidi grassi con insaturazioni in configurazione cis

Nel caso di insaturazioni cis interviene un Enoil-CoA isomerasi, che cambia la conformazione della catena portandola ad una conformazione cis.

Nel caso in cui invece c'è un'insaturazione sfalzata si può ridurre il doppio legame attraverso una reductasi.

## Ossidazione acidi grassi a catena dispari

Si ottiene un acido grasso a 3 atomi di C chiamato propionil-CoA; questo viene poi fatto reagire con bicarbonato, e, grazie all'intervento della propionil-CoA carbossilasi e all'utilizzo di ATP, si otterrà una molecola di Metilmalonil-CoA.

Questo può essere successivamente convertito in succinil-CoA per carbossilazione, il quale può entrare nella gluconeogenesi sotto forma di ossalacetato.

## Regolazione beta-ossidazione

La regolazione avviene sulla carnitina aciltransferasi che determina il passaggio dell'acido-CoA nella matrice mitocondriale. Il composto che ne regola il passaggio è il malonil-CoA, intermedio metabolico che favorisce la biosintesi degli acidi grassi.

## Corpi chetonici

Nel caso in cui abbiamo un'alta concentrazione di coenzimi ridotti l'acetil-CoA può essere indirizzato nel fegato per la produzione di corpi chetonici.

Esistono tre diversi corpi chetonici derivanti dall'acetil-CoA:

- 1- aceto acetato
- 2- beta-idrossibutirrato
- 3- acetone

## Sintesi dei corpi chetonici

1. due molecole di acetil-CoA reagiscono tra di loro con l'aiuto dell'enzima tiolasi, portando alla formazione dell'aceto-acetil-CoA
2. L'aceto-acetil-CoA entra in contatto con l'idrossi-metilglutaril sintetasi, portando alla formazione di beta-idrossidi-beta-metilglutaril-CoA
3. Questo poi, reagendo con l'enzima liasi, può prendere due strade:
  - tornare a acetil-CoA
  - trasformarsi in aceto acetato
4. L'aceto acetato a questo punto può subire due reazioni differenti che mi portano alla formazione degli altri due corpi chetonici:
  - attraverso una decarbossilizzazione si ha perdita di una molecola di CO<sub>2</sub> e la formazione di acetone
  - attraverso una riduzione, con ossidazione dell' NADH → NAD<sup>+</sup>, si ha la formazione del beta-idrossi-butirrato

Questi corpi chetonici non vengono utilizzati dal fegato dato che in questo non è presente l'enzima succinil-CoA transferasi, che permetterebbe all'aceto acetato di tornare ad aceto-acetil-CoA.

## Regolazione della cheto genesi

Durante la gluconeogenesi, se non introduciamo carboidrati con la dieta, il ciclo di krebs è bloccato. Questo comporterà un accumulo di acetil-CoA che entrerà quindi a far parte della chetogenesi. I livelli ematici di corpi chetonici tendono infatti ad aumentare in caso di digiuno e attività fisica prolungati.

I corpi chetonici quindi verranno utilizzati dal cervello come fonti energetiche per compensare la mancanza di glucosio.

Un eccesso di corpi chetonici porta a riscontrare la patologia dell'acidosi ematica, spesso presente nei pazienti diabetici.

## Utilizzo corpi chetonici

I muscoli, il cervello, il cuore etc.. utilizzano i corpi chetonici come fonte di energia attraverso la loro ossidazione, riottenendo così aceto-acetil-CoA attraverso il quale è possibile ricavare ben due molecole di acetil-CoA.

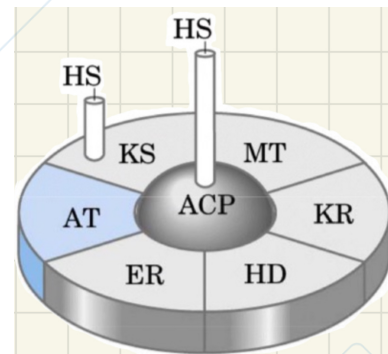
Questo processo prevede la rimozione di un CoA da una molecola di succinil-CoA (che torna a succinato) che verrà riposizionato sull'aceto acetato dalla succinil-CoA transferasi, portando così alla formazione di aceto-acetil-CoA. Questo entra poi in contatto con la tiolasi (stesso enzima della prima fase della sintesi), permettendo così di liberare due acetil-CoA.

In condizioni normali il cervello utilizza principalmente glucosio con una  $k_M = 4 \text{ mM}$ . Anche i corpi chetonici hanno una  $k_M = 4 \text{ mM}$  ma la loro concentrazione ematica non è abbastanza alta, quindi sarà favorito l'utilizzo di glucosio. Aumentando però la concentrazione dei corpi chetonici in rapporto al digiuno (bassa conc di glucosio), saranno anche essi utilizzati come fonte energetica.

## Biosintesi degli acidi grassi

La biosintesi degli acidi grassi procede tramite condensazione di unità di carbonio, l'inverso della beta-ossidazione; inoltre un'altra differenza sta nel luogo dove si svolgono queste reazioni, dato che la biosintesi avviene nel citosol.

La biosintesi avviene attraverso un complesso costituito da 7 enzimi chiamato complesso dell'acido grasso sintetasi (FAS).



### 1) trasferimento del gruppo acile su KS:

La biosintesi inizia con il trasferimento del gruppo acile da una molecola di acetil-CoA alla sezione KS del complesso enzimatico, attraverso l'enzima acetil-CoA-ACP transacetilasi.

### 2) Condensazione del gruppo malonile con il gruppo acile:

Il malonil-CoA si condensa all'acile appena trasferito sul KS, grazie all'aiuto dell'enzima malonil-CoA-ACP sintetasi. C'è da ricordare che il malonil-CoA è un intermedio di reazione generato dall'enzima acetil-CoA carbossilasi, attivatore della biosintesi e inibitore della beta-ossidazione.

### 3) Trasferimento del malonile su ACP (acil carrier protein):

In questo passaggio la parte di malonil che è stata appena legata al KS viene trasferita su un'altra sezione del complesso, ovvero ACP, dalla beta-chetotransferasi (con liberazione di  $\text{CO}_2$ ) portando alla formazione del beta-chetobutiril-ACP.

### 4) Riduzione del gruppo chetonici in posizione beta:

A questo punto il beta-chetobutiril-ACP si riduce a beta-cheto-idrossibutiril-ACP, grazie all'enzima beta-chetobutiril-ACP reduttasi e conseguente ossidazione dell' $\text{NADPH}$  a  $\text{NADP}^+$ .

### 5) Formazione di un'insaturazione per disidratazione:

Il beta-cheto-idrossibutiril-ACP perde una molecola di acqua portando alla formazione di un doppio legame nella catena carboniosa; questa molecola prende il nome di trans-butenoil-ACP e si crea grazie all'enzima beta-idrossiacil-ACP deidrogenasi.

### 6) Riduzione del doppi legame:

A questo punto il trans-butenoil-ACP viene ridotto dall'enoil-ACP reduttasi (si ossida  $\text{NADPH}$  ad  $\text{NADP}^+$ ) formando il butiril-ACP.

### 7) Trasferimento del gruppo butirile su KS:

Infine il butiril-ACP viene riportato sulla sezione KS dalla acetil-CoA-ACP transacetilasi, permettendo così all'acido grasso di ripetere il processo e allungare ulteriormente la catena.

### Prodotti della biosintesi

Un maloni-CoA determina l'aggiunta di 2 C all'acido grasso; la sintesi si ferma una volta raggiunti i 16 C (acido palmitico).

Perciò, partendo da 2 C provenienti dall'acetil-CoA avremo bisogno di:

- 1 acetil-CoA → 2 C iniziali
- 7 malonil-CoA → 14 C
- 7 ATP → per la formazione del malonil-CoA
- 14 NADPH → 2 per ogni malonil-CoA

### Metabolismo delle proteine

Le proteine possono subire vari processi di catalisi:

- proteasi
- Turnover

La prima avviene in caso di digiuno prolungato e quindi non si introducono gli aminoacidi essenziali, portando l'organismo a ricavare l'energia necessaria demolendo le sue proteine. Si dividono in proteasi gastriche (pepsina, attivata da HCl, gruppo carbossilico a.a aromatici) e in proteasi pancreatiche (tripsina e chimotripsina)

Le proteasi vengono sintetizzate sotto forma di zimogeni e attivate da enteropeptidasi (es. passaggio da tripsinogeno, ovvero un zimogeno, a tripsina).

Gli aminoacidi che si vengono a formare vengono assorbiti dall'intestino mediante trasporto attivo grazie a specifici trasportatori.

Il turnover avviene attraverso ubiquitina, e necessari di ben 3 attività enzimatiche:

- E1, si lega all'ubiquitina con un legame sulfidrilico
- E2, transferasi che si lega all'ubiquitina liberando E1
- E3, predispone la proteina target nel legarsi con l'ubiquitina.

A questo punto interviene un proteasoma 26S che degrada le proteine legate all'ubiquitina.

### Rimozione del gruppo amminico

Per poter essere utilizzati gli aminoacidi devono essere deamminati nel fegato, liberando  $\text{NH}_4^+$  e scheletri carboniosi che danno alpha-cheto-acidi.

Esistono 3 tipi di alpha-cheto-acidi che possono subire transamminazione ad opera di una transamminasi che ha come cofattore il pirifossalfosfato (PLP):

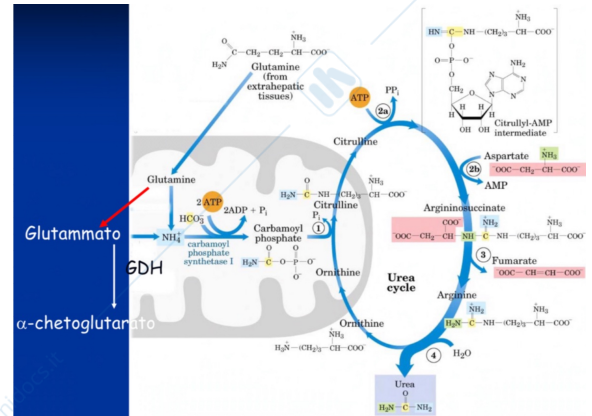
- piruvato  $\rightleftharpoons$  alanina — da piruvato ad alanina nel muscolo e reazione inversa nel fegato)
- Ossalacetato  $\rightleftharpoons$  acido aspartico — l'acido aspartico può essere deamminato, ma cederà il suo gruppo amminico con l'intera struttura diventando fumarato; questo può poi accettare un altro gruppo amminico diventando asparagina, sostanza irritante per i reni)
- Alpha-cheto-glutarato  $\rightleftharpoons$  acido glutammico — l'acido glutammico può subire una deamminazione ossidativa ad opera della glutammico deidrogenasi con l'intervento del  $\text{NAD}^+$  per tornare alpha-cheto-glutarato. L'acido glutammico può inoltre accettare un altro gruppo amminico diventando glutamina (glutamina sintetasi), più apolare e quindi più facile da trasportare nel fegato.

### Ciclo dell' urea

I gruppi amminici derivanti dalla catalisi degli aminoacidi saranno smaltiti nel fegato con il ciclo dell' urea. Il ciclo è composto da 5 reazioni.

L'area è formata da due gruppi amminici, uno derivante dallo ione ammonio ricavato dal glutammato, e l'altro deriva dall'aspartato che viene inserito durante il ciclo. Le prime due tappe avvengono nel mitocondrio, mentre il resto avvengono nel citoplasma.

- 1) formazione del carbamil-fosfato: il glutammato viene deaminato grazie all'aiuto del carbamil-fosfato sintetasi, portando quindi alla formazione del carbamil fosfato.
- 2) Formazione citrullina: il carbamil-fosfato trasferisce il suo gruppo carbammilico su una molecola di ornitina, tutto catalizzato dall'enzima ornitina-trans-carbamilasi. Questo porta alla formazione di una molecola di citrullina.
- 3) Formazione arginino-succinato: la citrullina a questo punto viene condensata ad una molecola di aspartato, che dona il secondo gruppo amminico che poi ritroveremo nell'urea, dall'enzima arginino-succinato sintetasi, portando alla formazione di arginin-succinato. Questa reazione comporta un dispendio energetico, facendo utilizzo di ATP.
- 4) Scissione dell'Arginin-succinato: in questo passaggio l'arginin-succinato viene scisso dalla arginin-succinasi, portando alla formazione di arginina e fumarato; quest'ultimo entrerà successivamente nel ciclo di krebs.
- 5) Formazione dell'urea: l'arginina, che continua il suo ciclo, viene scissa in urea e ornitina dall'enzima arginasi, che letteralmente rimuove la molecola di urea dalla molecola di partenza; dopodiché l'ornitina verrà trasportata nel mitocondrio, dove può riniziare il ciclo, mentre l'urea viene allontanata per secrezione.



In totale abbiamo un consumo di 4 ATP.

Un eccesso di urea provoca iperammonemia.

Il ciclo è regolato da N-acetil-glutammato

### Metabolismo dei nucleotidi purinici

Il metabolismo dei nucleotidi purinici coinvolge una serie di processi complessi necessari per la sintesi, il degradamento e il riciclo di questi componenti cellulari.

I nucleotidi purinici vengono sintetizzati a partire da precursori semplici, processo che richiede energia e avviene nel fegato. Le reazioni coinvolte sono 10:

- 1) attivazione ribosio-5-fosfato → il ribosio-5-fosfato entra in contatto con l'enzima ribosio- fosfato-pirofosfochinasi e, utilizzando energia sotto forma di ATP, otteniamo come prodotto il fosforibosil-pirofosfato (PRPP), che ci fornirà lo scheletro a cui si attaccheranno altri gruppo per andare a formare l'anello purinico.
- 2) Scissione del pirofosfato inorganico (PPi) → a questo punto il PRPP viene idratato con H<sub>2</sub>O, reagisce con la glutammina, catalizzata dall' amido-fosforibosil-transferasi, ottenendo come prodotti glutammato, PPi e infine la beta-5-fosforibosilammina.
- 3) Modifiche alla beta-5-fosforibosilammina → l' intermedio beta-5-fosfoibosilammina subisce, in diversi step, diverse modifiche che prevedono l'aggiunta di una glicina sul C4 (glicina amminotransferasi), un gruppo formil o al C2 (formiltetraidrofolato sintetasi) e infine un gruppo amminico da glutammina, formando inosina mono-fosfato (IMP) sotto l' enzima IMP sintetasi.

#### 4) Conversione dell'IMP a AMP e GMP

- IMP reagisce con aspartato, che fornisce un gruppo amminico, sotto la catalisi dell'enzima adenil-fosforibosil transferasi. Da questa reazione si ottengono fumarato e adenil-succinato, che se nutra in contatto con la liasi, mi può formare AMP, ADP e ATP.
- IMP viene ossidato a xantina-monofosfato dall'enzima IMP-deidrogenasi. Dopodiché questo reagisce con la glutammina, sotto la catalisi della GMP sintasi, portando alla formazione di glutammato, ma soprattutto di GMP, GDP e GTP.

#### Degradazione delle purine:

- AMP + deamminasi -> IMP (deamminazione) -> inosina (fosforilasi) -> ipoxantina
  - GMP + nucleotidasi -> guanosina -> guaina -> xantina -> acido urico
- Ipoxantina può diventare xantina grazie all'enzima xantina ossidasi

#### Metabolismo nucleotidi pirimidinici

Il metabolismo dei nucleotidi pirimidinici è un processo fondamentale per la sintesi e la degradazione di nucleotidi essenziali per la costruzione di acidi nucleici e per altre funzioni cellulari. Il processo consiste in i:

- 1) la sintesi inizia con la formazione one di carbamilfosfato; la reazione è catalizzata dalla carbamilfosfato sintetasi 2 e parto da una molecola di glutammina che viene carbossilata da una molecola di bicarbonato (consumo di ATP)
- 2) Successivamente il carbamilfosfato reagisce con una molecola di acido aspartico sotto l'influenza dell' enzima asportato transcarbamilasi, portando alla formazione di carbamilfosfato-aspartato.
- 3) A questo punto il carbamilfosfato-asp artato viene deidrogenato dalla diidroorotasi portando aòda formazione del diidroorotato, intermedio fondamentale per la formazione dell'ortone.
- 4) Il diidroorotato a questo punto subisce un'ossidazione, con conseguente riduzione dell' ubichinone , dalla diidroorotato deidrogenasi portando alla formazione del'ortato
- 5) L'ortato a questo punto entra in contatto con il PRPP, acquistando un fosfato dalla ortato-fosforibosile-transferasi, portando alla formazione dell'ortato-monofosfato.
- 6) L'ortato-mono-fosfato viene in contatto con l' enzima ortato-monofosfato-carbossilasi e, con liberazione di CO<sub>2</sub>, si ha la formazione dell'UMP (urirdina monofosfato).

A questo punto dall'UMP posso ottenere UTP (uridina trifosfato) falla quale si posono ottenere CTP (citidina trifosfato), attraverso una ammirazione con glutammina, e la TTP (tiamina pirofosfato); questa è indispensabile per il DNA.

#### Recettori

I recettori sono siti specifici con cui interagiscono farmaci, ormoni e le mac4romolecole per poter espletare la loro funzione. Ne esistono di 4 tipologie:

- citosolici —> sono intracellulari e legano ormoni lipofili come ormoni steroide i e tiroidei. Il complesso che si forma migra verso il nucleo per stimolare i processi di trascrizione genetica.
- Legati a canali ionici —> sulla membrana, legano neurotrasmettitori ce determinano l'apertura del canale.
- Legati a proteine G—> sulla membrana; le proteine G che trasducono il segnale hanno 3 subunità (apha, beta e gamma). L'ormone che si deve legare va a indurre una scissione della proteina in subunità apha, che scambia GDP con GTP, e subunità beta e gamma. Il complesso proteina G-GTP lega l'adenilato ciclasasi, che attiva e catalizza la formazione di cAMP. Il processo, quando ho cAMP in eccesso, può tornare indietro

