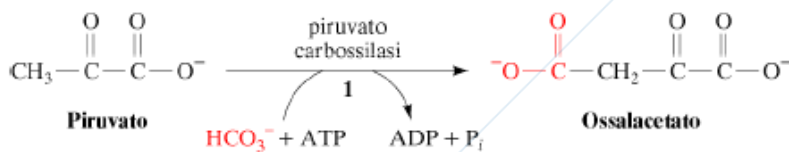


## GLUCONEOGENESI

È la biosintesi ex novo del glucosio da precursori non glucidici ovvero da molecole diverse dagli zuccheri. Questa definizione è tuttavia imprecisa in quanto alcuni dei precursori possono derivare dal glucosio parzialmente utilizzato in tessuti non epatici (è il caso del piruvato prodotto dal lattato). Attraverso la gluconeogenesi il glucosio viene prodotto dal piruvato, dal lattato, dall'ossalacetato o da qualunque altro composto che possa essere convertito in uno di questi precursori. Avviene per il 90% nel **fegato** e per il 10% nei **reni**.

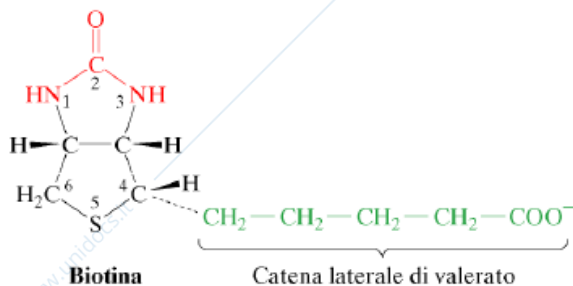
E' conveniente considerare il piruvato come punto di partenza x la sintesi del glucosio.

### ① conversione del piruvato in ossalacetato (l'ossalacetato è un $\alpha$ -chetoacido)



Questa carbossilazione avviene nei **mitocondri** in 2 stadi ed è catalizzata dalla **piruvato carbossilasi** la quale utilizza la **biotina** come

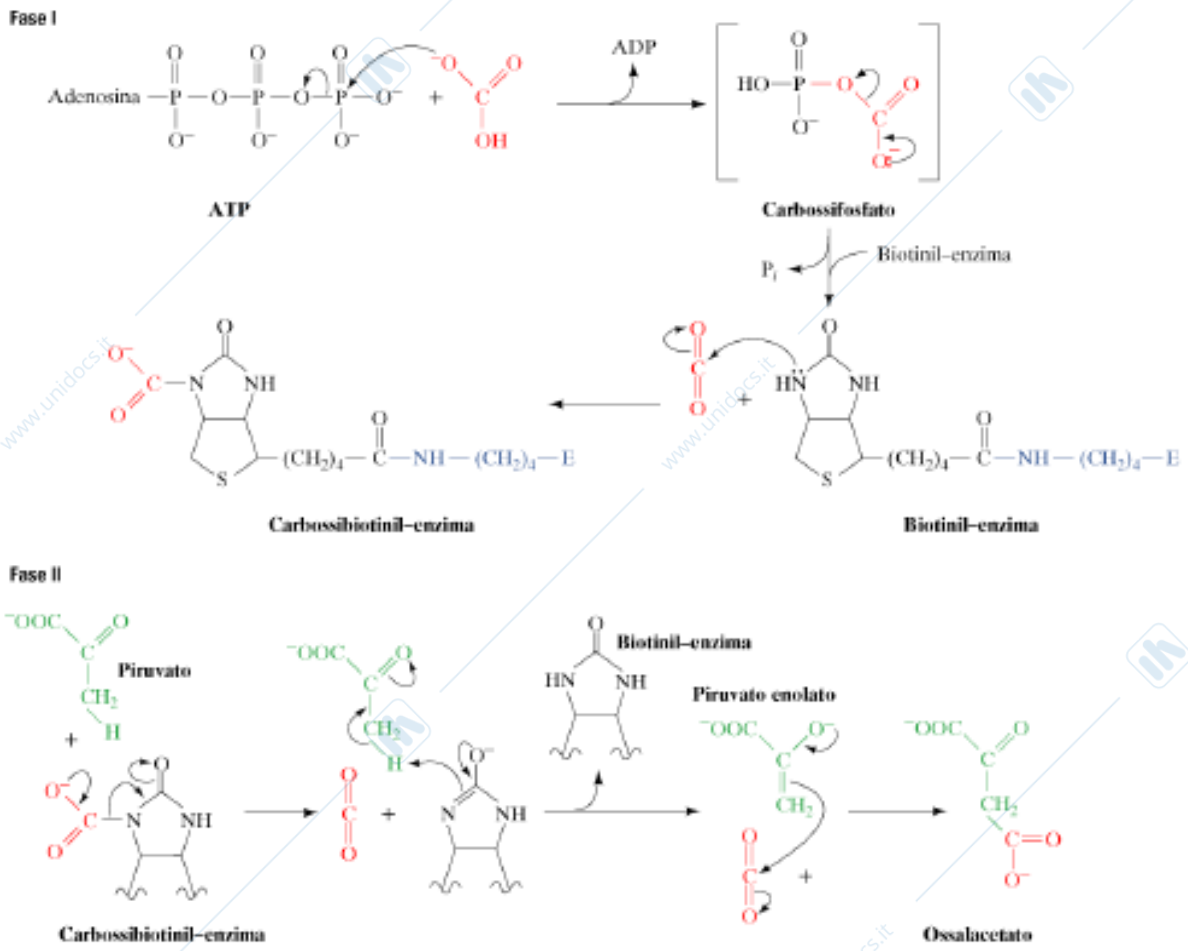
coenzima (la biotina è il gruppo prostetico di quasi tutte le carbossilasi. Le carbossilasi catalizzano l'aggiunta di un gruppo carbossilico). L'energia necessaria a questa reazione di carbossilazione che è termodinamicamente sfavorita viene fornita dall'idrolisi dell'ATP che è invece termodinamicamente favorevole.



La biotina, funge da trasportatore di **CO<sub>2</sub>** (esiste in max parte sotto forma di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ed è legata covalentemente (quindi il legame è stabile) all'enzima attraverso un legame ammidico tra il gruppo carbossilico della sua catena di valerato ed un residuo di lisina del sito attivo dell'enzima. Da questo legame ammidico si forma un biotinil-enzima.

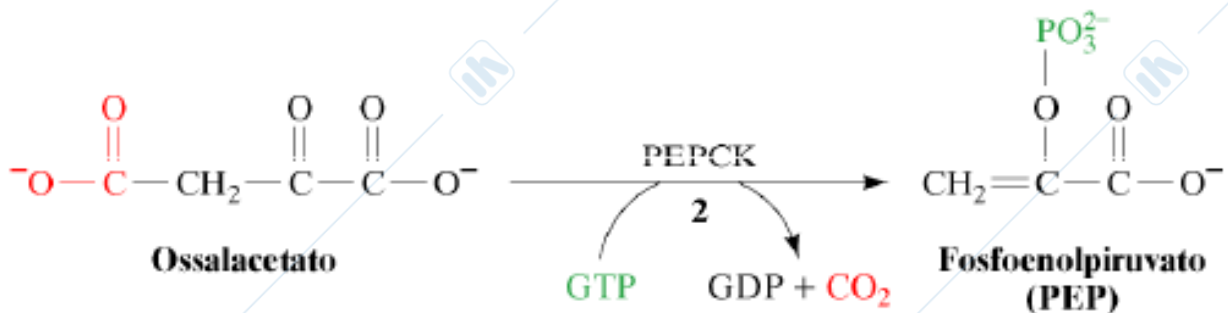
Si ha l'attacco nucleofilo di uno degli ossigeni del bicarbonato all'atomo  $\gamma$ -P di una molecola di ATP con formazione di ADP e carbonilfosfato (è la forma attivata dell'anidride carbonica). Il carbonilfosfato decompone liberando P<sub>i</sub> e CO<sub>2</sub> la quale reagisce in una condensazione di tipo aldolico con un N del biotinil-enzima. L'N-carbossibiotinil-enzima risultante x decarbossilazione produce anidride carbonica e

l'anione del biotinil-enzima il quale deprotonando il C<sub>3</sub> del piruvato forma il corrispondente ione enolato e rigenera il biotinil-enzima. Lo ione enolato condensa con la CO<sub>2</sub> formando l'ossalacetato.



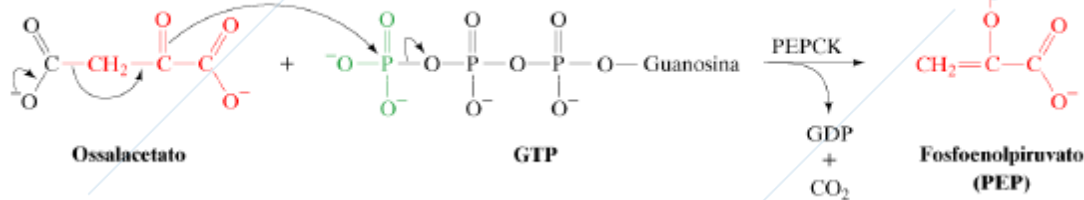
La formazione dell'ossalacetato è un modo per ripristinarlo quando viene deviato in altre vie.

② conversione dell'ossalacetato in fosfoenolpiruvato



L'ossalacetato (l'ossalacetato non ha trasportatori sulla membrana mitocondriale interna) viene convertito dalla malato deidrogenasi NADH-dipendente in malato il quale mediante un trasportatore specifico esce nel **citofosol** dove, dopo essere stato

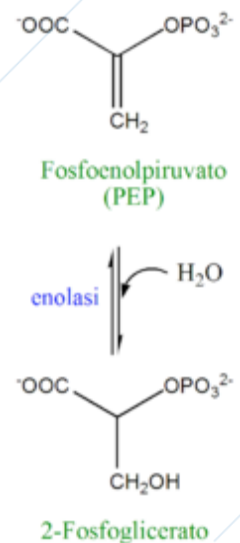
riossidato ad ossalacetato da una malato deidrogenasi NAD<sup>+</sup>-dipendente, è trasformato in PEP (fosfoenolpiruvato) dalla fosfoenolpiruvato carbossichinasi (PEPCK). Il fosfato è donato dal GTP. In questa trasformazione l'ossalacetato viene contemporaneamente decarbossilato e fosforilato. L'anidride carbonica è un buon GU.



L'enzima PEPCK nell'uomo è presente sia nel mitocondrio che nel citoplasma. In alcuni organismi animali è solo mitocondriale mentre in altri organismi è solo citoplasmatico. Il PEP prodotto nei mitocondri al contrario dell'ossalacetato può uscire senza problemi.

Nel percorso a 2 stadi che converte il piruvato in PEP sono consumate 2 molecole di nucleoside trifosfato (una di ATP ed una di GTP) cioè vengono spesi 2 legami fosfoanidridici.

③ idratazione del PEP a 2-fosfoglicerato La reazione è catalizzata dall'enzima enolasi



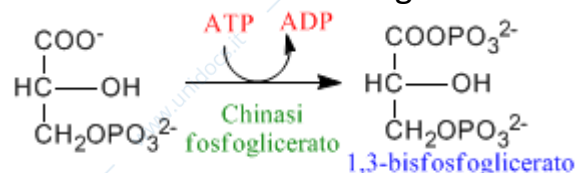
④ isomerazione del 2-fosfoglicerato a 3-fosfoglicerato L'enzima



fosfoglicerato mutasi (sono un tipo di isomerasi) catalizza l'isomerazione del 2-fosfoglicerato in 3-

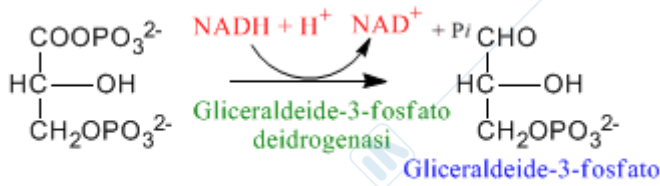
fosfoglicerato. Il gruppo fosforico passa dal carbonio numero 2 al carbonio numero 3

⑤ Fosforilazione del 3-fosfoglicerato ad 1,3-bisfosfoglicerato La reazione è catalizzata dall'enzima fosfoglicerato chinasi



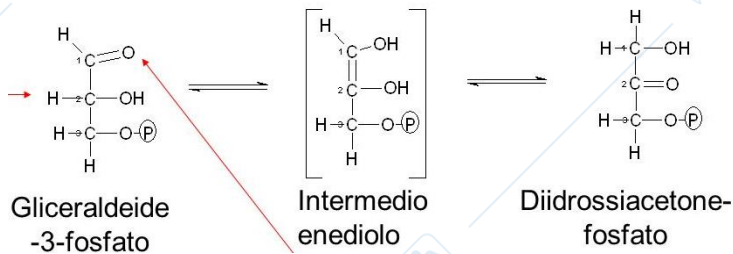
3-fosfoglicerato

⑥ conversione dell'1,3-bisfosfoglicerato in gliceraldeide-3-fosfato La reazione è catalizzata dalla gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi

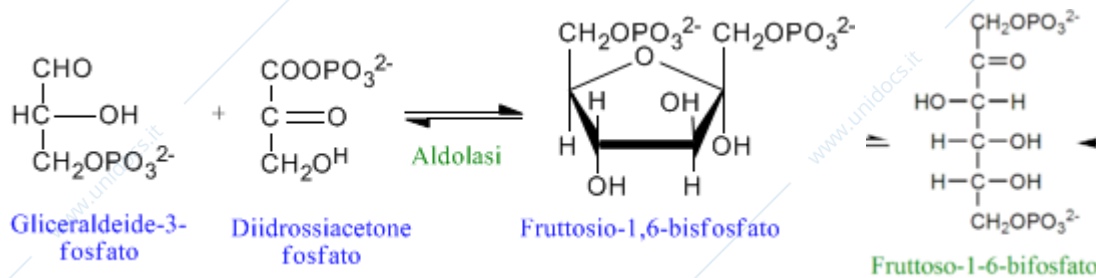


1,3-bisfosfoglicerato

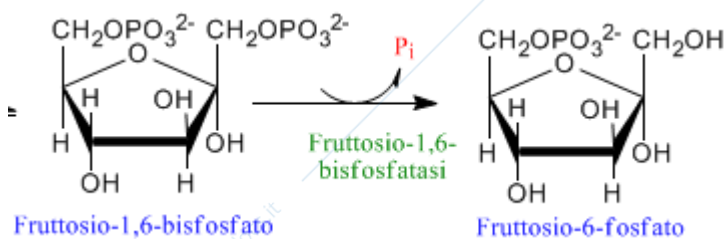
⑦ tautomerizzazione della gliceraldeide-3-fosfato in diidrossiacetone fosfato Questa isomerizzazione (la tautomerizzazione è un'isomerizzazione tra tautomeri che sono isomeri differenti x le posizioni di un H e di un doppio legame) è catalizzata dall'enzima trioso fosfato isomerasi ed avviene tramite la formazione di un endiolo intermedio



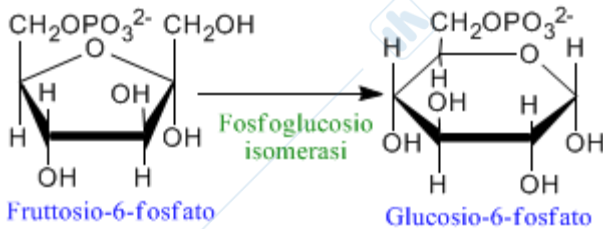
⑧ formazione del fruttosio 1,6-bisfosfato Questa condensazione aldolica tra la gliceraldeide-3-fosfato e il diidrossiacetone fosfato è catalizzata dall'enzima aldolasi



⑨ idrolisi del fruttosio 1,6-bisfosfato a fruttosio 6-fosfato L'idrolisi del gruppo fosforico legato al carbonio numero 1, che viene rilasciato sotto forma di fosfato inorganico, è catalizzata dalla fruttosio-1,6-bisfosfatasi



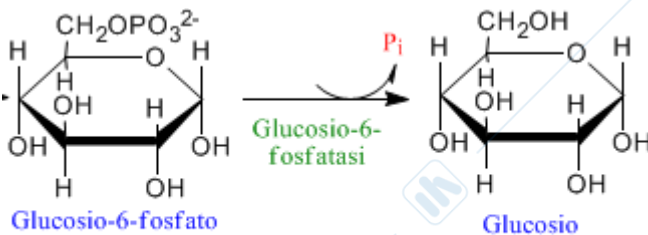
⑩ isomerizzazione del fruttosio 6-fosfato a glucosio 6-fosfato Questa reazione è catalizzata dalla fosfoglucosio isomerasi ed avviene attraverso una tautomeria cheto-enolica con la formazione di un endiolo intermedio (è lo stesso meccanismo della reazione ⑦)



Nella maggior parte dei tessuti la gluconeogenesi termina con la formazione del glucosio 6-fosfato, non si forma glucosio libero. L'enzima glucosio 6-fosfatasi è, infatti, assente nei muscoli e

nel cervello.

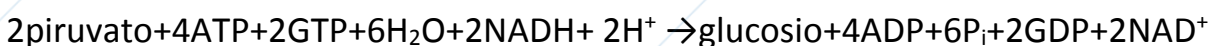
⑪ idrolisi del glucosio 6-fosfato a glucosio L'idrolisi del fosfato legato al carbonio numero 6, che viene liberato come fosfato inorganico, è catalizzata dalla glucosio 6-fosfatasi. Questo enzima è legato alla membrana del reticolo endoplasmatico.



Il glucosio libero si forma nel **fegato**, nei **reni** e nell'**intestino tenue**. La reazione ⑪ avviene durante il trasporto nel **reticolo endoplasmatico** dove il glucosio 6-fosfato viene trasferito da un

trasportatore. Poi il  $P_i$  ed il glucosio vengono portati nel citosol da una coppia di trasportatori

Le prime 6 reazioni della gluconeogenesi avvengono 2 volte in quanto occorrono 2 molecole di gliceraldeide-3-fosfato x sintetizzare una molecola di glucosio. Quindi, facendo i conti, la stechiometria complessiva è:



La gluconeogenesi è un processo energeticamente dispendioso dato che consuma ATP. Servono 4 molecole di nucleosidi trifosfato in+ rispetto alla glicolisi. Questo costo aggiuntivo è necessario x trasformare un processo energeticamente sfavorevole (l'inverso della glicolisi) in un processo favorevole (la gluconeogenesi).

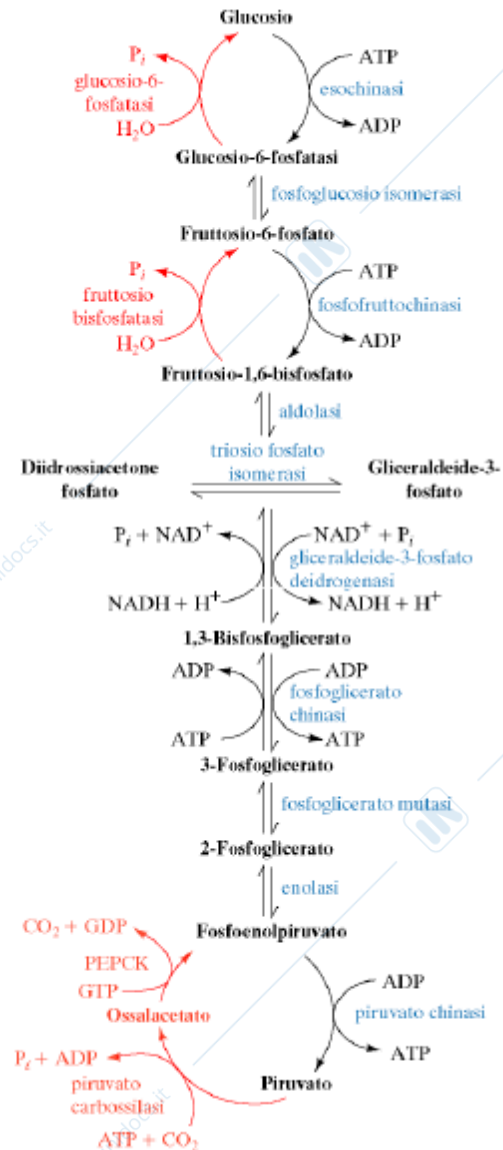
**La gluconeogenesi non è l'inverso della glicolisi**, perché, pur condividendo diverse tappe, non sono vie metaboliche esattamente identiche che procedono in modo opposto. Se la gluconeogenesi fosse semplicemente l'inverso della glicolisi sarebbe un processo estremamente endoergonico praticamente impossibile. Ciò che rende

esoergonica la gluconeogenesi è il consumo di 6 molecole di nucleosidi trifosfato (4ATP+2GTP)

REAZIONE ENDOERGONICA = reazione che consuma energia ossia una reazione avente  $\Delta G$  positivo

REAZIONE ESOERGONICA = reazione che rilascia energia ossia una reazione avente  $\Delta G$  negativo

Le reazioni caratteristiche della gluconeogenesi (sono mostrate in rosso nella figura), essendo catalizzate da enzimi differenti, scavalcano le reazioni irreversibili della glicolisi (le reazioni irreversibili della glicolisi sono catalizzate dalla esochinasi, dalla fosfofruttochinasi-1 e dalla piruvato chinasi). Le reazioni della gluconeogenesi tra fosfoenolpiruvato ed il fruttosio 1,6-bisfosfato utilizzano gli stessi enzimi della glicolisi, ma avvengono in direzione opposta. Queste tappe corrispondono alle reazioni reversibili della glicolisi.



### Regolazione della gluconeogenesi

La glicolisi e la gluconeogenesi sono reciprocamente regolate x impedire che le 2 vie, funzionando contemporaneamente, generino uno spreco di energia.

La gluconeogenesi è regolata da meccanismi di controllo allosterici ed a livello del substrato.

L'acetil-CoA attiva la piruvato carbossilasi

L'AMP inibisce la fruttosio 1,6-bisfosfatasi

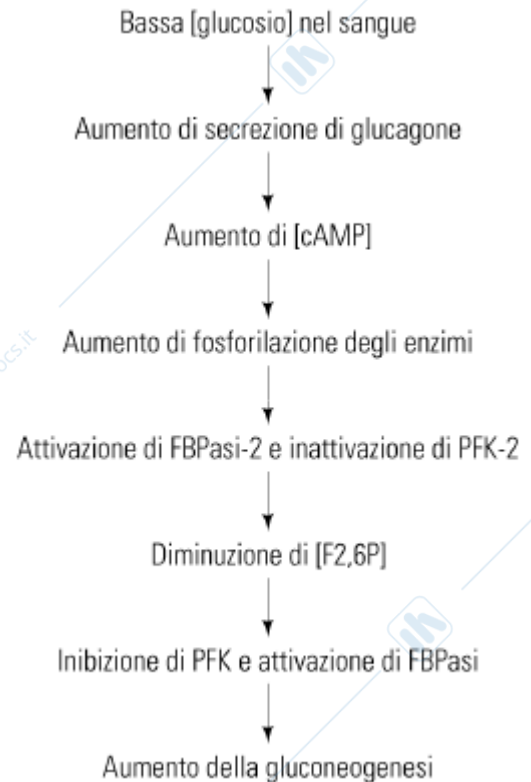
Il citrato attiva la fruttosio 1,6-bisfosfatasi

Il fruttosio-2,6-bisfosfato (anche indicato come F2,6P) attiva allostericamente la fosfofruttochinasi 1 ed inibisce la fruttosio 1,6-bisfosfatasi.

L'equilibrio tra gluconeogenesi e glicolisi è sotto controllo ormonale.

Quando la glicemia è bassa (accade in condizioni di digiuno), il **glucagone** (ormone iperglicemizzante) a livello epatico blocca la glicolisi e attiva la gluconeogenesi. Tale ormone pancreatico nel fegato stimola la produzione di cAMP (è sintetizzato a partire dall'AMP dall'adenilico ciclasi anche detto adenilato ciclasi che è attivato dal glucagone), il quale attiva la PKA. Questo enzima mediante fosforilazione inibisce la fosfofruttochinasi-2 (PFK-2) ed attiva contemporaneamente la fruttosio bis-fosfatasi-2 (queste attività avvengono in domini diversi della stessa proteina. Si tratta quindi di un enzima multifunzionale ed in particolare bifunzionale). La conseguente diminuzione della concentrazione della fruttosio-2,6-bisfosfato riduce l'inibizione della fruttosio 1,6-bisfosfatasi determinando un aumento della gluconeogenesi. L'**insulina** esercita un effetto opposto (stimola la glicolisi ed inibisce la gluconeogenesi) xchè stimola FOSFO-PROTEINA-FOSFATASI-1 che catalizza la defosforilazione della proteina bifunzionale PFK-2 attivandone l'attività chinasi. Di conseguenza i livelli di fruttosio-2,6-bisfosfato aumentano.

La fosfoenolpiruvato carbossicinasasi è indotta (si tratta, infatti, di un enzima la cui regolazione avviene x induzione) dagli ormoni glucorticoidi.



Possono entrare nella gluconeogenesi gli AA glucogenici, il glicerolo. Il fruttosio

Le piante diversamente dagli animali possono produrre glucosio dagli acidi grassi o dall'acetil-CoA.