

## METABOLISMO DEI GLUCIDI

Il glucosio viene assunto con la dieta e, una volta entrato nell'organismo, ha tre differenti destini: Polimerizzazione per formare glicogeno e avere una fonte di riserva energetica. Ossidazione attraverso la via del pentoso fosfato. La via del pentoso fosfato ha una funzione importante che serve per sintetizzare due molecole: NADPH e ribosio. Ossidazione attraverso la glicolisi. La glicolisi è una via metabolica che permette di trasformare il glucosio a 6C, in due composti semplici, cioè il piruvato a 3C. Ogni atomo di carbonio del glucosio perde elettroni e va a formare CO<sub>2</sub>. Gli elettroni vanno a formare il NADH e il FADH<sub>2</sub>, che servono a formare ATP.

Nella bocca l'enzima amilasi salivare riduce l'amido e il glicogeno in glucosio e maltosio, e tale enzima viene poi disattivato in quanto denaturato dall'acidità gastrica. La digestione continua nel duodeno dove i polisaccaridi residui sono scissi in disaccaridi, come il maltosio grazie all'enzima amilasi pancreatica. Altri enzimi come la maltasi, la saccarasi e la lattasi scindono, rispettivamente il maltosio in 2 molecole di glucosio, il lattosio in glucosio e galattosio e il saccarosio in fruttosio e glucosio.

Per entrare nel circolo sanguigno dall'intestino, il fruttosio diffonde nel lume intestinale. Il glucosio e il galattosio usano un trasportatore che effettua un simporto con gli ioni sodio per passare dal lume intestinale alle cellule dell'orletto a spazzola poi tramite **Glut2** entrano nel sangue, mentre gli ioni sodio escono per la presenza della pompa sodio potassio.

Il glucosio nelle cellule dei tessuti viene fosforilato in posizione 6, per azione dell'**esochinasi**. In questo modo il glucosio 6-P non può attraversare la membrana cellulare. L'enzima esochinasi è inibito dal suo stesso prodotto, il glucosio6-P.

Il glucosio che entra nel sangue deriva dalla degradazione di polisaccaridi o dalla sua sintesi a partire da precursori non saccaridici. Il glucosio entra poi nella maggior parte delle cellule tramite un trasportatore specifico che lo trasferisce dall'esterno della cellula nel citosol, dove si trovano gli enzimi della glicolisi. Si trasformerà glucosio in due unità di piruvato e l'energia libera rilasciata durante il processo impiegata per sintetizzare ATP a partire da ADP + P. In una prima fase di investimento energetico l'esosio glucosio e fosforilato è scisso in due molecole di trioso gliceraldeide 3 fosfato, ATP.

Nella seconda fase di recupero energetico le due molecole di gliceraldeide tre fosfato sono trasformate in B Rovato producendo quattro molecole di ATP. Il NADH Deve essere continuamente ri ossidato per consentire un adeguato rifornimento alla glicolisi del principale agente ossidante, il NAD.

## LA GLICOGENOLISI:

È un processo metabolico che degrada molecole del polisaccaride glicogeno fino a ottenere il glucosio, un monosaccaride. Serve a mantenere la concentrazione ematica del glucosio, se tali valori sono inferiori alla normalità, arriva un segnale dall'ormone glucagone, un ormone iperglicemizzante che agisce a livello epatico avviando reazioni che liberano il glucosio nel sangue. L'adrenalina ha lo stesso compito ma agisce a livello muscolare.

**In caso di necessità di glucosio, il glicogeno che si trova nei tessuti viene attaccato dalla glicogeno fosforilasi.** La glicogenolisi necessita di fosfato inorganico per formare il glucosio 1 fosfato, isomerizzato a glucosio 6-P tramite l'enzima **fosfoglucomutasi**, e potrà seguire varie vie metaboliche. Servirà anche l'enzima debranchificante del glicogeno avendo questo una struttura ramificata.

Nel fegato l'enzima **glucosio-6-fosfatasi** idrolizza il glucosio 6-P in glucosio libero, trasportato poi ai tessuti, potendo riattraversare la membrana cellulare.

Nei diversi organismi, l'eccesso di glucosio viene convertito in forme polimeriche di deposito, cioè il glicogeno nei vertebrati e in molti microrganismi, l'amido nelle piante. Nei vertebrati il glicogeno

Si trova pressoché in due posti:

- **Muscoli:** il glicogeno detiene l'1% del peso totale del muscolo. Il glicogeno muscolare costituisce una riserva di energia immediatamente disponibile per il metabolismo del muscolo stesso. Esso può essere totalmente consumato in meno di un'ora di esercizio fisico intenso. Nel muscolo, il glucosio 6-fosfato, prodotto dalla degradazione del glicogeno, può entrare nella glicolisi e servire come fonte energetica per la contrazione muscolare. Poiché il muscolo non contiene la glucosio 6-fosfatasi, non può convertire il glucosio 6-fosfato in glucosio, quindi non contribuisce al mantenimento del livello di glucosio nel sangue.

- **Fegato:** il glicogeno detiene fino al 10% del peso totale del fegato. Il glicogeno epatico costituisce una riserva di glucosio per gli altri tessuti quando non è disponibile il glucosio della dieta (tra un pasto e l'altro o durante il digiuno). Questo è particolarmente importante per i neuroni, che non possono utilizzare gli acidi grassi come combustibile metabolico. Nel fegato, la scissione del glucosio ha un ulteriore scopo: il rilascio del glucosio nel sangue quando il livello di glucosio tende a diminuire, come nell'intervallo tra due pasti. La scissione richiede l'intervento della **glucosio 6-fosfatasi**, presente nel fegato, ma non in altri tessuti. Il glicogeno viene immagazzinato nel citosol sotto forma di grossi granuli. I granuli di glicogeno sono aggregati abbastanza complessi, formati dal glicogeno e dagli enzimi che lo sintetizzano e lo degradano come pure dai componenti del sistema di regolazione di questi enzimi. I meccanismi generali deputati all'immagazzinamento e alla mobilitazione del glicogeno sono gli stessi nel muscolo e nel fegato, ma gli enzimi differiscono per alcune importanti proprietà, che riflettono i differenti ruoli del glicogeno nei due tessuti il glicogeno può anche derivare dalla dieta.

In questo caso il polisaccaride viene demolito nel tratto intestinale, attraverso una serie di enzimi, che lo convertono in glucosio libero.

### **Demolizione del glicogeno**

Nel muscolo scheletrico e nel fegato, le unità di glucosio delle ramificazioni del glicogeno entrano nella glicolisi per azione di tre enzimi:

- **Glicogeno fosforilasi**: catalizza una reazione nella quale un legame  $\alpha$ -1,4 glicosidico, tra due residui di glucosio all'estremità non riducente di una ramificazione, viene scisso usando il fosfato inorganico, con la formazione di glucosio 1-fosfato. Questo enzima ha un cofattore molto importante che è il piridossal fosfato, il quale ha un gruppo fosforico che agisce come catalizzatore acido generale, promuovendo l'attacco da parte del fosfato inorganico sul legame glicosidico. La glicogeno fosforilasi agisce ripetitivamente sulle estremità non riducenti delle ramificazioni di glicogeno, fino a che non raggiunge un punto che dista quattro residui di glucosio da una ramificazione  $\alpha$ -1,6, dove la sua azione di blocca.
- Enzima deramificante: catalizza altre due reazioni di trasferimento delle ramificazioni. Una volta avvenuto il trasferimento della ramificazione e l'idrolisi del residuo di glucosio in C6, l'azione della glicogeno fosforilasi può continuare.
- Fosfoglucomutasi: catalizza la reazione di conversione del glucosio 1-fosfato, prodotto dalla glicogeno fosforilasi, in glucosio 6-fosfato.

**VIA DEI PENTOSI FOSFATI**: è una via catabolica del glucosio, avviene nel citoplasma con lo scopo di produrre ribosio e NADPH. Il ribosio è un componente degli acidi nucleici e di molti coenzimi, e riusciamo a produrne a partire dal glucosio 6 fosfato. Il NADPH ridotto possiede il potere riducente per essere fonte di energia per processi di biosintesi di molecole altamente ridotte, ricche di atomi di idrogeno o per ridurre i ROS

## LA GLICOLISI

Una molecola di glucosio viene degradata mediante un insieme di reazioni catalizzate da enzimi, che producono due molecole di un composto a tre atomi, il piruvato (acido piruvico) e parte dell'energia rilasciata viene recuperata sotto forma di ATP e NADH. **E' la via per il catabolismo del glucosio. Avviene nel citoplasma in assenza di ossigeno e nei mitocondri in presenza di ossigeno. Tutti gli intermedi sono fosforilati per impedire che escano dalla cellula.** Avvenendo senza l'ossigeno avviene anche nelle cellule prive di mitocondri, come gli eritrociti. Il piruvato per entrare nella seconda fase della respirazione cellulare (ciclo di Krebs) deve perdere un atomo di carbonio, sotto forma di anidride carbonica (decarbossilazione ossidativa). Il piruvato origina **l'acetil Coenzima A e coenzimi ridotti** avendo ossidato l'atomo di carbonio (2 NADH). Ottengo solo 2 molecole di ATP nette. Rappresenta la prima tappa della respirazione cellulare di tutte le cellule anche quelle senza mitocondri.

La sua degradazione avviene in 10 tappe che possono avvenire con velocità diverse, le prime 5 formano la fase preparatoria - di investimento con consumo di 2 ATP, dove il glucosio viene fosforilato a livello del gruppo ossidrilico sul carbonio 6. **il carbonio 6 fosfato** e si usa la prima molecola di ATP, viene convertito in **fruttosio 6 fosfato**, ulteriormente fosforilato (nella fosforilazione il fruttosio 6P uso la seconda molecola di ATP), **formando il fruttosio 1,6 bifosfato**. In entrambe le tappe e l'ATP a donare i gruppi fosforici. Il fruttosio 1,6 bifosfato viene scisso in due molecole a tre atomi: il **diidrossiacetone fosfato** e la **gliceraldeide 3 fosfato**. Il diidrossiacetone fosfato viene isomerizzato in una seconda molecole di gliceraldeide 3 fosfato. Nelle prime 5 tappe sono state usate due molecole di ATP.

Fase di recupero energetico, ogni molecola di gliceraldeide 3 fosfato viene ossidata e fosforilata dal fosfato inorganico, formando il 1,2 bifosfoglicerato, Convertito in due molecole di piruvato (2 molecola a tre atomi di carbonio). L'energia viene conservata fosforilando quattro molecole di ADP in ATP. la resa energetica è di 2 molecole di ATP. **La glicolisi è soltanto la prima fase della completa degradazione del glucosio.** Il più provato viene ossidato, perdendo il suo gruppo carbossilico informando il gruppo acetilico dell'acetil coenzima a. il gruppo acetilico è ossidato a CO<sub>2</sub> nel ciclo di Krebs. E da queste reazioni di ossidazione vengono sottratti degli elettroni che vengono trasferiti all'ossigeno, attraverso una catena di trasportatori mitocondriale. Ho quindi ossidato la molecola e gli elettroni che si generano sono presi dal NAD che diventa NADH. Il piruvato è più ossidato della gliceraldeide, che deriva dal glicerolo con un gruppo aldeidico

Oppure il piruvato può andare incontro alla fermentazione lattica, in cui viene ridotto a lattato. Per ridursi deve accettare degli elettroni dal NADH, che diviene NAD ossidato e necessario alla glicolisi. Della fermentazione alcolica il piruvato è convertito in etanolo e CO<sub>2</sub>.

Gli intermedi della glicolisi sono **fosforilati**, in questo modo non possono uscire dalla cellula avendo cariche negative e possono anche donare i loro gruppi fosforici all'ADP per formare ATP. Alcune tappe della gluconeogenesi sono le tappe inverse della glicolisi, altre invece sono diverse e interamente spostate verso destra. Ottenuto il glucosio 6P non posso tornare indietro.

Il genoma umano codifica quattro differenti **esochinasi**. Gli isoenzimi sono due o più enzimi che catalizzano la stessa reazione ma che sono codificati da geni diversi.

Il metabolismo aerobio del glucosio comprende la glicolisi, nel citoplasma, il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa, anche detta catene di trasporto degli elettroni, nello spazio intermembrana. La produzione di CO<sub>2</sub> avviene nel ciclo di Krebs. Il metabolismo anaerobico abbiamo due fasi che avvengono nel citoplasma e sono la glicolisi (a divisione del glucosio 6 in due pezzi da tre) e la fermentazione

<b>1° fosforilazione del glucosio</b>	il glucosio viene attivato mediante fosforilazione a livello del suo atomo C6. L'ATP è il donatore del gruppo fosforico. <i>Si ha il trasferimento di un gruppo fosforico dall'ATP al glucosio.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Irreversibile</li> <li>- <b>Esochinasi</b>: catalizza il trasferimento del gruppo fosforico dall'ATP all' esosio, il D-glucosio. L'esochinasi lega il glucosio, si modifica e avvicina tale molecola all'ATP, eliminando una molecola di acqua dal sito attivo. È inibito allostericamente dal suo prodotto, il glucosio 6 fosfato ed era attivo solo quando la cellula è ricca di glucosio.</li> </ul>
<b>2° conversione del glucosio 6-fosfato a fruttosio 6-fosfato</b>	si converte un aldoso, il glucosio 6- fosfato in un chetoso, <b>il fruttosio 6-fosfato.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Fosfoglucosio isomerasi</b></li> <li>- Reversibile, l'enzima apre la struttura ciclica del glucosio, isomerizza e la richiude nella struttura ciclica del fruttosio.</li> </ul>
<b>3° fosforilazione del fruttosio 6 fosfato a fruttosio 1,6 bifosfato</b>	Si catalizza il trasferimento di un gruppo fosforico dall'ATP al fruttosio 6 fosfato che diviene fruttosio 1,6 bifosfato.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Fosfofruttosiochinasi-1 (PFK-1)</b></li> <li>- Irreversibile</li> <li>- è un intermedio esclusivo della glicolisi. È attivato da ADP e da fruttosio 2,6 bifosfato che verrà diviso in due molecole, ciascuna delle quali conserva un gruppo fosfato e non usciranno dalla cellula. Dipende dal magnesio per avvenire. Energia libera negativa-irreversibile. È un enzima allosterico quindi è inibito dall'eccesso di energia (ATP- e citrato) ed attivato dalla necessità di produrre energia. Accelera la reazione il fruttosio 2,6 bifosfato, una molecola regolata da adrenalina e glucagone e comunica il bisogno di energia perché sono in ipoglicemia.</li> </ul>

<b>4° Scissione del fruttosio 1,6 bifosfato</b>	Il fruttosio 1,6 bifosfato viene scisso in due triosi fosforilati, la <u>gliceraldeide 3-fosfato</u> (aldosio) e il <u>diidrossiacetone fosfato</u> (un chetoso).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reversibile</li> <li>- <b>Aldolasi</b></li> <li>- G negativo , ma vicino allo 0 in condizioni fisiologiche → diventa reversibile</li> </ul>
<b>5° Inter conversione dei triosi fosfato</b>	Solo la gliceraldeide 3 fosfato può essere degradata direttamente nella glicolisi, il diidrossiacetone fosfato viene convertito in gliceraldeide 3 fosfato.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Trioso fosfato isomerasi</b></li> </ul>
<b>6° Ossidazione della gliceraldeide 3 a 1,3 bifosfoglicerato</b>	La gliceraldeide 3 fosfato viene ossidata ( tolgo due idrogeno e ottengo un coenzima ridotto NADH) e fosforilata	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Gliceraldeide 3 fosfato deidrogenasi</b>. Toglie un idrogeno ( ossida il gruppo aldeidico) diventa COH. Un gruppo fosfato si attacca al CO- del glicerato. Si crea un legame fosfoanidridico con eliminazione di una molecola di acqua. Si è aggiunto un fosfato non derivante dall'ATP ma inorganico , senza usare energia.</li> </ul>
<b>7° Trasferimento del gruppo fosforico del 1,3 bifosfoglicerato all'ADP..</b>	Trasferisce il gruppo fosforico dal gruppo carbossilico del 1,3BFG all'ADP a formare il 3 fosfoglicerato che diventa il 2-fosfoglicerato per isomerizzazione. <b>È avvenuta la prima fosforilazione a livello del substrato.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fosfoglicerato chinasi.</li> <li>- Reversibile , per invertire il senso della reazione bastano elevate concentrazioni di ATP. Necessita di magnesio.</li> <li>- Produco 2 molecole di ATP.</li> </ul>
<b>8° Conversione del 3 fosfoglicerato in 2 fosfoglicerato</b>	Si scambia , in modo reversibile , il gruppo fosforilico tra il C2 e il C3 , necessita di Magnesio.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enzima fosfoglicerato mutasi (da 3 a 2)</li> </ul>
<b>9° Deidratazione del 2 fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato</b>	Si rimuove una molecola di acqua (disidratazione) dal 2 fosfoglicerato. È un composto instabile ad alta energia di idrolisi , da cui ottengo 2 molecole di ATP per fosforilazione a livello del substrato.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Enolasi</b> Ottengo il <b>fosfoenolpiruvato</b>. Un doppio legame a cui si attacca il gruppo OH</li> </ul>
<b>10° Trasferimento del gruppo fosforico dal fosfoenolpiruvato all'ADP.</b>	Richiede magnesio e potassio. <b>Fosforilazione a livello del substrato.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Piruvato chinasi</b></li> </ul>

Si formano: 2piruvato + 2ATP+ 2NADH+2H+2ATP+2H2O

La 1 reazione , la 3 e la 10 sono spostate verso destra , le altre sono all'equilibrio percorribili in un senso o nell'altro. Se tolgo i prodotti

Le due molecole di NADH vengono ossidate a NAD con il contemporaneo trasferimento dei loro elettroni alla catena di trasporto degli elettroni localizzata nei mitocondri, fino all'ossigeno, fornendo così l'energia necessaria a formare ATP mediante il processo di fosforilazione.

La regolazione della glicolisi si basa sull'equilibrato bilanciamento di ATP consumata , NADH rigenerato e sulla regolazione allosterica di alcuni enzimi:

PKU-1, esochinasi e la piruvato chinasi. È sotto controllo del glucagone, adrenalina e insulina. *Nelle cellule cancerose la glicolisi procede a una velocità maggiore..*

Anche altri carboidrati entrano nella via glicolitica dove essere stati trasformati negli intermedi della glicolisi. Soprattutto i polisaccaridi amido e glicogeno. I polisaccaridi vengono idrolizzati a monomeri.

L'amido comincia a essere digerito nella bocca grazie all'enzima amilasi salivare che idrolizza i legami glicosidici alfa 1 → 4, tale enzima è disattivato dal basso-acido pH dello stomaco ma la degradazione continua grazie all'amilasi pancreatica nell'intestino tenue. La digestione del glicogeno procede allo stesso modo.

Il glicogeno immagazzinato nei tessuti può essere mobilizzato dall'enzima glicogeno fosforilasi che catalizza l'attacco del gruppo fosforico al legame glicosidico, generando glucosio 1 fosfato. Un enzima deramificante rimuove le ramificazioni. Viene poi convertito in glucosio-6-fosfato.

Il fruttosio è metabolizzato nel fegato. l'enzima fosfofruttochinasi fosforila il fruttosio in fruttosio 1 fosfato, Convertito in diidrossiacetone fosfato e gliceraldeide, quest'ultima viene fosforilata a gliceraldeide tre fosfato ed entra nella glicolisi.

In condizioni aerobiche il piruvato viene ossidato ad acetato che nel mitocondrio è ossidato in anidride carbonica e il NADH si ossida a NAD. Senza ossigeno il NADH non può essere ossidato, quindi devo trovare modi per rigenerare il NAD , quindi ossidare il NADH.

il NAD si rigenera ossidandosi , quindi riducendo il piruvato , catalizzata dalla lattato deidrogenasi. Il lattato si produce in grandi quantità durante una contrazione muscolare violenta, e ionizzandosi provoca l'acidificazione che riduce la contrazione muscolare. Il lievito e altri organismi fermentano il glucosio a etanolo e CO<sub>2</sub>. Il piruvato viene decarbossilato (piruvato decarbossilasi), usando il magnesio. Abbiamo ottenuto l'acetaldeide che viene ridotta a etanolo a opera dell'alcol deidrogenasi. Nel **muscolo** durante un'intensa attività fisica quando la domanda di ATP è elevata in rifornimento di ossigeno è scarso, L'ATP si ottiene tramite glicolisi anaerobica. L'enzima lattato deidrogenasi catalizza l'ossidazione di NADH producendo NAD e lattato. La reazione è reversibile quindi le concentrazioni di piruvato e di lattato sono rapidamente portate all'equilibrio. A provocare i dolori muscolari e l'accumulo di acido prodotto durante la glicolisi.

**L'ATP** ha uno zucchero, il ribosio, una base azotata, l'adenina, e tre gruppi fosfato. È una molecola carica nel senso che se togliessi un fosfato per idrolisi, reagirebbe con l'acqua a formare grandi quantità di energia, ottenendo l'ADP.

**NAD<sup>+</sup> e FAD** trasportano elettroni, possono essere cariche (ridotte) NADH e FADH<sub>2</sub> o scariche (ossidate) ovvero NAD<sup>+</sup> e FAD. Avviene in 10 fasi. La glicolisi è divisa in una fase preparatoria di investimento energetico, dove attacca due gruppi fosfato allo zucchero per facilitarne la rottura, investendo due molecole di ATP che diventerà ADP e ottengo il fruttosio. Nella fase 4 avviene la lisi, tagliando lo zucchero in due pezzi da tre, a ciascuno rimane un gruppo fosfato, in gliceraldeide 3 fosfato. Per ciascuna produco 2 ATP e un NADH ridotto (carico). Ottengo due molecole di piruvato.

Nel **lievito** in condizioni anaerobiche il NAD per la agricoli si è rigenerato convertendo il piruvato in etanolo e anidride carbonica, attraverso due reazioni che comprendano la decarbossilazione del piruvato che forma acetaldeide e anidride carbonica, catalizzata dalla piruvato decarbossilasi e la riduzione dell'acetaldeide a etanolo da parte del NADH, catalizzata dall'enzima alcol deidrogenasi. si ottiene così il NAD.

La regolazione della glicolisi:

la fosfo frutto chinasi è il principale enzima che controlla il flusso della glicolisi nel muscolo.

*Solo tre reazioni, cioè quelle catalizzate dall'esochinasi, dalla fosfofruttochinasi e dalla piruvato chinasi, avvengono con notevoli variazioni negative di energia libera nel muscolo cardiaco in condizioni fisiologiche. queste reazioni che avvengono in condizioni lontane dall'equilibrio sono appunto di controllo metabolico della via.*

*La PFK È attivata da ADP, AMP e fruttosio-2,6 bifosfato.*

**Nel ciclo di Krebs** si produce anidride carbonica. Due atomi di carbonio, dopo il ciclo divengono CO<sub>2</sub>. Si parte dall'ossalacetato (4) al citrato (6) e si ritorna all'ossalacetato. Mi permette di ottenere CO<sub>2</sub>, 6 NADH, 2 FADH<sub>2</sub> (coenzimi ridotti che entrano in fosforilazione ossidativa). Per ogni NADH ottengo 2,5 ATP, per ogni FADH<sub>2</sub> 1,5. Ottengo anche 2 di GTP (guanosi tri fosfato) trasformabile in ADP. Avviene nel mitocondrio, segue anche la fosforilazione ossidativa dove i coenzimi ridotti cedono elettroni e idrogeni a complessi, dalla parte interna del mitocondrio alla zona intermembrana. Gli idrogeni, dopo che gli elettroni hanno attraversato i complessi e hanno formato l'acqua, riducendo l'ossigeno grazie all'ATP sintasi man mano che i protoni tornano nel mitocondrio permette di sintetizzare ATP.

L'accettore finale è l'ossigeno essendo l'elemento più elettronegativo (non avendo il fluoro).

### COME SI GENERA L'ATP?

- Fosforilazione ossidativa: ottengo molte molecole perché il trasferimento di elettroni e protoni avviene con passaggi intermedi con cui recupero l'energia che trasferisco man mano.
- Fosforilazione a livello del substrato: intermedi della glicolisi, **il PEP o 1,3 BFG** hanno una maggior energia di idrolisi dell'ATP, togliendoli per cui il gruppo fosforico ottengo molta energia che permette di caricare direttamente l'ADP per ottenere ATP. Ottengo 2 molecole di ATP nella glicolisi. Si cede il gruppo fosfato direttamente all'ADP.

I coenzimi sono il **potere riducente** quindi cedono elettroni per ridurre le molecole. Si dice "respirazione" quando la molecola che alla fine accetta elettroni e protoni è una molecola organica, come l'ossigeno. Anche altre molecole organiche possono farlo, in alcuni microorganismi. Nella fermentazione, l'acido piruvico non è trasformabile in acetilCoA essendoci poco ossigeno, è trasformato, ridotto in acido lattico.

Affinché il glucosio non esca dalla cellula, il glucosio è fosforilato dall'esochinasi, necessita di ioni magnesio e all'ATP che cede il gruppo P, essendo una reazione endoergonica e altrimenti non avverrebbe se non accoppiata all'idrolisi esoergonica dell'ATP. È irreversibile, solo le cellule del fegato possono liberare glucosio, con un enzima che toglie il gruppo fosforico quando siamo in ipoglicemia. È un isoenzima ovvero è formato da più subunità che non sono uguali in tutti i tessuti. La fosforilazione è attivata dalle necessità energetiche della cellula ed è inibito dal suo prodotto. Se c'è molto glucosio6P posso andare avanti nella glicolisi e non serve fosforilare, usando energia, avendone già a disposizione.

**IL METABOLISMO DI ESOSI DIVERSI DAL GLUCOSIO:** anche il fruttosio, il galattosio e il mannosio sono importanti carburanti metabolici. dopo la digestione i monosaccaridi entrano nel circolo sanguigno, che li trasporta i vari tessuti, sono trasformati in intermedi della glicolisi. Il **fruttosio** è il principale carburante energetico nelle diete che contengono grandi quantità di frutta o saccarosio. vi sono due vie per il metabolismo del fruttosio: una nel muscolo e una nel fegato, essendoci diversi enzimi.

**Nel muscolo:** il metabolismo è simile a quello del glucosio, quindi l'esochinasi fosforila il fruttosio in fruttosio -6- fosfato, che entra in glicolisi in un solo passaggio.

**Nel fegato** l'esochinasi, detta glucochinasi, caratterizzato da una bassa affinità per gli esosi, compreso il fruttosio, per cui il metabolismo sarà diverso. il fegato trasforma il fruttosio intermedi glicolitici tramite una via metabolica composta da 7 enzimi.

- 1) La fosfofruttochinasi catalizza la fosforilazione in C1 del fruttosio dall'ATP, formando fruttosio -1- fosfato.
- 2) L'aldolasi di tipo B effettua una scissione aldolica quindi dal fruttosio1- fosfato otteniamo il diidrossiacetone e la gliceraldeide.
- 3) Si fosforila la gliceraldeide da parte dell'ATP catalizzata dalla gliceraldeide chinasi
- 4) La glicerolo chinasi catalizza la fosforilazione Atp dipendente del glicerolo producendo glicerolo-3- fosfato.
- 5) L'ossidazione del NADH, dall'enzima glicerolo fosfato deidrogenasi converte il glicerolo 3 fosfato in DHAP

Il **galattosio** è ottenuto dall'idrolisi del lattosio (un disaccaride costituito da galattosio e glucosio), contenuto nel latte nei prodotti caseari. il galattosio e il glucosio sono epimeri e differiscono solo nella configurazione del C4. l'eso chinasi non ne riconosce il galattosio, che per entrare in glicolisi deve subire una reazione di epimerizzazione, che si verifica dopo l'unione del galattosio all'uridina difosfato.

- 1) il galattosio è fosforilato dall'ATP in una reazione catalizzata dalla galattochinasi.
- 2) L'enzima galattosio-1- fosfato. uridilil trasferasi trasferisce il gruppo uridilico dell'UTP al galattosio 1 fosfato, formando glucosio -1- fosfato e UDP- galattosio mediante scissione del legame pirofosforico dell'UDP- glucosio.
- 3) L'enzima UDP- galattosio-4- epimerasi trasforma il UDP- galattosio in UDP- glucosio.
- 4) Il glucosio 1- fosfato è convertito in glucosio-6- fosfato dalla attività della fosfoglucomutasi.

Il **mannosio**, è l'epimero in C2 del glucosio. Entra nella via glicolitica dopo essere trasformato in F6P. prima dall'esochinasi è trasformato in mannosio-6- fosfato. Poi l'enzima fosfomannosio isomerasi trasforma questo aldoso nell'intermedio glicolitico.

## GLUCONEOGENESI:

Nei mammiferi alcuni tessuti dipendono quasi completamente dal glucosio, per il cervello, il sistema nervoso, i testicoli, gli eritrociti e la midollare del rene e i tessuti embrionali. Il glicogeno viene consumato quindi è necessario poter produrre glucosio da precursori non saccaridici. Si usa quindi il piruvato e altri composti correlati e avviene soprattutto nel fegato, nella corteccia renale e nelle cellule epiteliali che circondano il lume dell'intestino tenue.

Per prima cosa si ha **la conversione del piruvato a fosfoenolpiruvato**.

Quindi in primis si trasferisce il piruvato dal citosol al mitocondrio dove l'enzima **piruvato carbossilasi** converte, usando come coenzima la biotina, il piruvato in ossalacetato, che per essere trasportato nel citosol (non essendoci trasportatori) **viene ridotto a malato** dalla **malato deidrogenasi mitocondriale** a spese dell'NADH che si ossida a NAD. Quindi, il malato esce dal mitocondrio per poi essere riossidato a ossalacetato nel citosol, producendo il NADH.

L'ossalacetato è poi convertito in fosfoenolpiruvato dall'enzima **fosfoenolpiruvato carbossichinasi**. Quindi il piruvato è fosforilato a PEP, ottenendo due gruppi fosforici, uno dall'ATP e uno dal GTP.

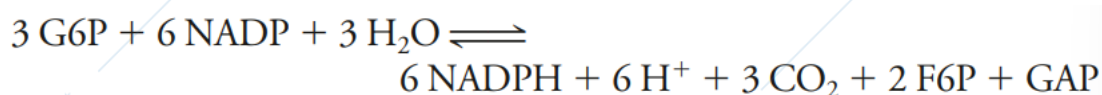
**La conversione del fruttosio 1,6 bifosfato in fruttosio 6 fosfato**, catalizzate da un enzima, irreversibile, la fruttosio 1, 6 bifosfatasi. Che promuove l'idrolisi del gruppo fosforico.

**Conversione del glucosio 6 fosfato in glucosio** libero dall'enzima glucosio 6 fosfatasi.

I mammiferi non possono convertire gli acidi grassi in glucosio.

**LA VIA DEL PENTOSIO FOSFATO:** *L'ATP è la moneta energetica della cellula e una seconda lo è il potere riducente. Infatti molte reazioni endoergoniche necessitano sia di ATP ma anche di NADPH, che si genera dall'ossidazione del glucosio-6-fosfato mediante una via metabolica alternativa alla glicolisi, la via dei pentosi fosfati.*

Via di ossidazione del glucosio. Il glucosio 6 fosfato può essere convertito in altri composti utili alla cellula come il pentosio fosfato tramite al via del pentosio fosfato dove l'accettore finale di elettroni è il NADP e si produce il NADPH. Il pentosio ribosio 5 fosfato è usato dalle cellule che si dividono rapidamente per costruire il DNA, RNA, ATP; NADH; FADH<sub>2</sub>, coenzima A.



La

Prima reazione è l'ossidazione del glucosio 6 fosfato a 6 fosfoglucono beta lattone, a opera della glucosio 6 fosfato deidrogenasi, e viene poi idratato a formare il 6 fosfogluconato, bNADP<sup>+</sup> si riduce, va incontro a decarbossilazione ossidativa formano il ribulosio 5 fosfato, convertito dalla fosfopentosio isomerasi in ribosio 5 fosfato. Può terminare qui o proseguire con una fase non ossidativa.

FASE 1: **Reazioni ossidative** che portano alla formazione di NADPH e ribulosio-5-fosfato. *Il G6P è il punto di partenza della via, e può provenire dalla degradazione delle glicogeno o dalla reazione del l'esochinasi.*

- 1) *La glucosio-6-fosfato deidrogenasi catalizza il trasferimento di uno ione idruro dal C1 del G6P al NADP<sup>+</sup>, formando 6-fosfoglucono beta lattone. Ossidazione del glucosio 6 fosfato a 6 fosfoglucono beta lattone.*
- 2) *La 6-fosfogluconolattoneasi ne aumenta l'idrolisi a 6-fosfogluconato. Idratazione del 6 fosfoglucono beta lattone a 6 fosfogluconato.*
- 3) *La 6-fosfogluconato deidrogenasi catalizza la decarbossilazione ossidativa del 6-fosfogluconato a Ru5P ( ) a 5 atomi di carbonio e CO<sub>2</sub>. Si forma il secondo NADPH.*
- 4) *Isomeizzazione del ribulosio 5 fosfato **a ribosio 5 fosfato.***

FASE 2 in cui il ribulosio-5-fosfato viene isomerizzato o epimerizzato: Reazioni di isomerizzazione e epimerizzazione, che trasformano due molecole di Ru5P in ribosio-5-fosfato. *Il Ru5P è trasformato in R5P dall'enzima ribulosio 5 fosfato isomerasi. Le quantità relative di R5P e Xu5P prodotte a partire dal Ru5P dipendono dalle necessità della cellula. Per esempio, l'R5P è un precursore essenziale nella biosintesi dei nucleotidi. Di conseguenza, la produzione di R5P è relativamente elevata nelle cellule in rapida divisione, dove la velocità di sintesi del DNA è aumentata. Se la via è utilizzata solo per produrre NADPH, lo Xu5P e l'R5P sono prodotti in un rapporto di 2:1, per essere convertiti in intermedi glicolitici nella terza fase della via del pentosio fosfato.*

FASE 3: Reazioni di scissione e formazione di legami C-C

Il flusso della via e la velocità di sintesi di NADPH sono controllati dalla velocità della reazione catalizzata dalla glucosio-6-fosfato deidrogenasi, reazione 1, La cui attività è regolata dalla concentrazione di NADP<sup>+</sup>

**Nella fase non ossidativa** i pentosi sono riconvertiti in esosi da due enzimi, i transchetolasi e transaldolasi. Permettendo alle reazioni della fase ossidativa di proseguire a formare glucosio 6P, fruttosio 6P o gliceraldeide 3P e quindi di ritornare alla glicolisi. Questa seconda parte può avvenire se il nostro organismo ha a disposizione del ribosio in eccesso rispetto al NADPH prodotto. *Si aggiunge un atomo di carbonio a partire dal ribosio 5 fosfato, quando in eccesso, e si ottiene il glucosio -6-fosfato, da degradare nella glicolisi e ottenere energia.*

*È una via regolata: il primo enzima, la glucosio 6 fosfato deidrogenasi è regolato (essendo il 1°). AMP e ADP inibiscono la via, indicando appunto che ho poca energia, per cui il glucosio 6P si usa nella glicolisi per ottenere energia. Inibisce la via anche il NADPH (ridotto) essendo una via che lo produce se ne ho già, la via non avviene. Se il corpo ha molto ATP, la via viene percorsa perché il glucosio 6P non serve al momento, avendo già energia. Lo uso per creare glicogeno o in questa via.*

*Le funzioni principali della via sono la generazione di coenzimi potere riducente (NADPH) per la biosintesi di molecole altamente ridotte, gli acidi grassi, rifornire la cellula di ribosio 5 fosfato necessario alla sintesi di nucleotidi e acidi nucleici. e una via localizzato nel citoplasma.*

*La seconda parte della via si percorre con tanto ribosio in eccesso, per ottenere glucosio 6P o utilizzarlo per la gluconeogenesi.*

**FORMAZIONE DI ACIDO GLUCORONICO:** avviene solo nel fegato dove 5 grammi al giorno di glucosio sono convertiti in acido glucuronico con gruppo COH, che viene ossidato a gruppo carbossilico a cui si legano sostanze tossiche e farmaci per essere eliminate tramite le urine. Tale molecola di usa per la detossificazione dell'organismo. Molti farmaci sono dati sottoforma di Sali, perché in forma ionica sono più solubili nel nostro organismo.

Il glucosio 6P può imboccare la glicolisi, è anche un suo intermedio. Ottengo il piruvato, senza ossigeno diviene lattato. Ottengo anche, dalla glicolisi, oltre il piruvato più ossidato, 2 molecole di ATP e due coenzimi ridotti. La glicolisi si svolge quando la cellula ha necessità di energia.

Le fasi della respirazione cellulare:

- 1) Le molecole combustibili come il glucosio, gli acidi grassi e alcuni amminoacidi sono convertiti in acetil coenzima A. La degradazione del glucosio avviene con la glicolisi e la decarbossilazione ossidativa, degli acidi grassi e aminoacidi attraverso la beta ossidazione e la deaminazione ossidativa rispettivamente.
- 2) L'acetilcoA tramite ossidazione produce anidride carbonica nel ciclo di krebs.
- 3) L'ossigeno molecolare ossida tutti i coenzimi ridotti, NAD e FAD che tornano a ossidare il glucosio. NADH e FADH Cedono idrogeno e elettroni attraverso una catena di molecole trasportatrici di elettroni, la catena respiratoria mitocondriale, all'ossigeno che si riduce formando acqua. si genera un flusso di energia che viene recuperata sotto forma di ATP con un processo di fosforilazione ossidativa

**Idrogeni e elettroni vengono trasferiti da carboidrati, lipidi e proteine all'ossigeno, la accettatore finale.**

Come si forma l'ATP?

- Fosforilazione a livello del substrato: si trasferisce un gruppo fosfato dal substrato. come avviene nella glicolisi dal PEP e 1,3 BFG.
- Fosforilazione ossidativa: vi è il trasferimento di idrogeni e elettroni all'ossigeno e l'energia che si libera e usata per fosforilare l'ADP con un fosfato libero.

## CICLO DI KREBS

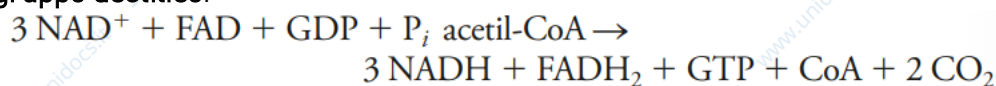
*Se il prodotto finale della glicolisi è ulteriormente ossidato, la cellula può recuperare una grande quantità di energia. L'ossidazione di un composto organico richiede un accettore di elettroni, che sono usati quindi come ossidanti. Negli organismi aerobici gli elettroni prodotti dal metabolismo ossidativo sono trasferiti all'ossigeno. Tale ossidazione si svolge nel ciclo dell'acido citrico. Infatti mentre gli atomi di carbonio in forma ridotta sono ossidati ad anidride carbonica, gli elettroni sono trasferiti ai trasportatori di elettroni che sono in seguito ri-ossidati dall'ossigeno.*

Per la maggior parte delle cellule che vivono in condizioni aerobiche la glicolisi è solo la prima fase dell'ossidazione del glucosio. Il piruvato prodotto viene ossidato ad **acqua** e **anidride carbonica** in questa fase detta respirazione cellulare. In una prima fase le molecole organiche come gli zuccheri, gli acidi grassi e alcuni aminoacidi devono essere ossidate a gruppo acetilico per entrare nel ciclo. In una seconda fase i gruppi acetilici sono ossidati ad anidride carbonica nel ciclo di krebs e l'energia viene conservata sotto forma di coenzimi ridotti, che verranno ossidati liberando elettroni e protoni (H<sup>+</sup>), trasferiti all'ossigeno e formando acqua.

*Costituito da una serie di 8 reazioni che ossida il gruppo acetilico dell'acetilCoA a due molecole di anidride carbonica, conservando l'energia rilasciata in composti ridotti come NADH e FADH. Il ciclo prende il nome dal prodotto della sua prima reazione, il citrato. un giro completo del ciclo produce due molecole di anidride carbonica, 3 di NADH, 1 di FADH<sub>2</sub> e un composto ad alta energia (GTP/ATP)..*

**Il ciclo ossida i gruppi acetilici provenienti da varie fonti, non solo dal piruvato.**

Il piruvato subisce una decarbossilazione ossidativa ovvero viene ossidato ad acetil coa e, poi, ad anidride carbonica a opera della **piruvato deidrogenasi**. Ho rimosso quindi il gruppo carbossilico sotto forma di una molecola di CO<sub>2</sub> e i due atomi che restano diventano il **gruppo acetilico**.



I coenzimi ridotti entrano nella fosforilazione ossidativa a produrre molte molecole di ATP. Gli enzimi si trovano nella mitocondrio.

- 1) **FORMAZIONE DEL CITRATO**= L'ossalacetato si condensa col gruppo acetilico ( con l'acetil co A) dando il **citrato**, **enzima citrato sintasi**, attivata dal calcio e ADP. *L'acetil-CoA dona ( si condensa) il suo gruppo acetilico all'ossalacetato, formando il citrato a 6 atomi di carbonio. Il CoA liberato viene riciclato .*
- 2) **FORMAZIONE DELL'ISOCITRATO**: Il citrato viene isomerizzato a **isocitrato** dall'enzima **aconitasi**. *Il citrato viene trasformato in isocitrato, sempre a 6 atomi di C. L'aconitasi aggiunge una molecola di acqua al doppio legame all'intermedio che si era formato*
- 3) **OSSIDAZIONE DELL'ISOCITRATO AD ALFA CHETOGLUTARATO**: **La isocitrato deidrogenasi** catalizza l'ossidazione, ( deidrogenato)→ decarbossilazione ossidativa con perdita di una molecola di CO<sub>2</sub> a formare alfa chetoglutarato a 5 atomi di carbonio. Lo ione magnesio interagisce col gruppo carbonilico dell'intermedio ossalosuccinato. Esistono due isocitrato deidrogenasi che riducono NAD o NADP<sup>+</sup> , con lo scopo di produrre NADPH.
- 4) **OSSIDAZIONE DELL'ALFA-CHETOGLUTARATO A SUCCINIL-COA**: L'alfa chetoglutarato perde un'altra molecola di CO<sub>2</sub> → decarbossilazione ossidativa a dare succinil-CoA e CO<sub>2</sub> a opera **dell'alfa chetoglutarato deidrogenasi**. L'energia che si libera è conservata nella formazione del legame tioestere del succinil-coA.
- 5) **CONVERSIONE DEL SUCCINIL-COA A SUCCINATO**: Il succinil-CoA ha un legame tioestere come l'acetilcoa. Usiamo l'enzima succinil-CoA sintetasi ( succinato tiochinasasi). Avviene la fosforilazione a livello del substrato trasferendo un fosfato inorganico dall'enzima che in uno stadio intermedio è fosforilato.
- 6) **OSSIDAZIONE DEL SUCCINATO A FUMARATO**: la succinato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del succinato a fumarato. Si trova nella membrana interna dei mitocondri e contiene centri zolfo-ferro e FAD<sup>+</sup> legata covalentemente. Gli elettroni dal succinato passano attraverso il FAD e i centri prima di entrare nella catena di trasporto.
- 7) **IDRATAZIONE DEL FUMARATO A MALATO**: la **fumarasi** catalizza l'idratazione del L-malato agendo sul suo doppio legame trans, essendo stereospecifico non agisce sul suo isomero cis.
- 8) **OSSIDAZIONE DEL MALATO A OSSALACETATO**: la malato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del l-malato a ossalacetato, accoppiando la riduzione di NAD a NADH. La reazione sarebbe spostata a sinistra ma essendo l'ossalacetato continuamente rimosso dal reazione della citrato sintasi , l'equilibrio si sposta a destra , verso la sua formazione.

Quattro delle otto reazioni sono ossidazioni , la cui energia è conservata sotto forma di coenzimi ridotti.

È entrato un gruppo acetilico e ne sono uscite due molecole di anidride carbonica dall'ossidazione dell'alfa chetoglutarato e dell'isocitrato. È una via anfibolica, utile al catabolismo e anabolismo. Alfa chetoglutarato e ossalacetato sono precursori di glutammato e aspartato per transaminazione. L'ossalacetato può essere usato come precursore nella gluconeogenesi e il succinil-Coa per la sintesi dell'anello porfirinico del gruppo eme dell'emoglobina.

**Regolazione:** controllando la velocità di conversione del piruvato in acetil-coA. La piruvato deidrogenasi è inibita dall'ATP. Tale complesso viene regolato anche in modo covalente tramite fosforilazione del residuo di serina su una delle due subunità di E1. Infatti tale complesso possiede tre enzimi e due proteine regolatrici.

Il ciclo è regolato a livello delle tre reazioni esoergoniche: quella catalizzata dalla citrato sintasi (1°), dall'isocitrato deidrogenasi e alfa-chetoglutarato deidrogenasi

Il piruvato viene decarbossilato, l'acetile si lega al coenzima A.

I gruppi acetilici entrano nel ciclo come parte del composto ad alta energia Acetil-CoA. Abbiamo visto che in condizioni aerobiche il NADH prodotto dalla glicolisi e ri ossidato mediante il trasferimento dei suoi elettroni ai mitocondri, quindi il prodotto finale è il piruvato. Il piruvato è trasportato attraverso una proteina di trasporto insieme a H<sup>+</sup> nella mitocondrio, per essere ulteriormente ossidato.

L'acetil-CoA Si forma dal piruvato tramite una decarbossilazione ossidativa, operata da un complesso multi enzimatico, il complesso della piruvato deidrogenasi.

- 1) La **citrato sintasi** unisce un gruppo acetilico all'ossalacetato, per dare il **citrato** a 6 atomi di carbonio con tre gruppi COH e un gruppo alcolico OH. Questa è la reazione iniziale del ciclo, spostata a destra, irreversibile ed è il modo in cui gli atomi di carbonio entrano sotto forma di acetil-coa. La citrato sintasi è attivata dallo ione calcio che nel muscolo indicano contrazione e quindi richiesta di ATP, ADP, dall'ossalacetato, dal coenzima A. E' inibito da ATP, NADH (entra nella fosforilazione ossidativa e crea ATP), succinil-coa (un intermedio del ciclo, posso produrre coenzimi quindi ATP) e acil-coa, derivanti dagli acidi grassi che con la beta ossidazione producono coenzimi ridotti e quindi ATP, che indicano che ho energia a disposizione o che la posso facilmente produrre
- 2) **L'aconitasi catalizza** l'isomerizzazione reversibile del citrato in **isocitrato**. Toglie una molecola di acqua, si forma un doppio legame, si addiziona acqua così H e OH che si trova in posizione 2, si scambiano.
- 3) **Decarbossilazione ossidativa** dell'isocitrato per ottenere **alfa-chetoglutarato**. E' una reazione irreversibile catalizzata dalla **isocitrato deidrogenasi**. In questa tappa si libera la prima molecola di carbonio sotto forma di anidride carbonica. L'enzima è attivato allostericamente da ADP, Ca<sup>+</sup>, che indicano che bisogna produrre più energia, è inibito da ATP e NADH. L'alfa chetoglutarato a **5 atomi** di carbonio e si forma anche per deaminazione ossidativa degli amminoacidi e nella transaminazione (un intermedio nelle reazioni che spostano un gruppo NH<sub>2</sub> da un amminoacido all'altro) dell'acido glutammico. Il carbonio passa da nox +3 a +4, si ossida, a ridursi è un NAD che diventa NADH.
- 4) **Decarbossilazione ossidativa** dell'alfa chetoglutarato a **succinil-CoA** a 4 atomi di carbonio, un intermedio attivato legato al coenzima A. si toglie una molecole di anidride carbonica all'alfa chetoglutarato e si lega al coenzima a formare il legame col lo zolfo. L'alfa chetoglutarato viene dei carbossilato conformazione di succinil-coa, catalizzata dalla **Alfa chetoglutarato deidrogenasi**. Simile alla piruvato deidrogenasi che trasformava il piruvato a acetilCoA, togliendo una molecole di CO<sub>2</sub> e lo lega al coenzima A. Il succinil-coa è un tioestere ad alta energia di idrolisi. È inibito da ATP, GTP, NADH, SUCCINICOA, attivato da Ca<sup>2+</sup>.
- 5) **Conversione del succinil-CoA a succinato** (4 atomi di carbonio): catalizzata dall'enzima **succinato tiochinasi** che scinde il legame tioestere ad alta energia del succinil-CoA, producendo GTP → fosforilazione a livello del substrato, perché il GTP può donare il gruppo fosforico all'ADP.
- 6) **Ossidazione del succinato a fumarato (4 C), perdendo 2 atomi di carbonio**. L'enzima che catalizza la reazione è **la succinato deidrogenasi**, FAD accetta gli elettroni, riducendosi a FADH<sub>2</sub>. Inibita dall'ossalacetato. Si forma doppio legame tra C2 e C3.

- 7) **Idratazione del fumarato a malato con gruppo alcolico**, catalizzata dall'enzima fumarasi.
- 8) **Ossidazione malato a ossalacetato**, perdendo 2 atomi di carbonio, cedendo gli elettroni al NAD.

Gli elettroni trasportati da NADH e FADH<sub>2</sub> sono inviati alla catena di trasporto degli elettroni, che culmina nella riduzione dell'ossigeno ad acqua. L'energia di trasporto degli elettroni è conservata nella sintesi di ATP tramite la fosforilazione ossidativa.

**REGOLAZIONE DEL CICLO DI KREBS:** il piruvato diventa acetilcoa quando ho bisogno di energia, è presente calcio. Gli acetilcoa entrano nel ciclo, che procede più velocemente maggiore è l'ossalacetato. Alcuni intermedi possono uscire dal ciclo per essere usati nell'anabolismo, l'ossalacetato può calare, ne posso produrre con un enzima che agisce sul piruvato, il piruvato carbossilasi che aggiunge un atomo di carbonio al piruvato che diviene ossalacetato (sotto forma di CO<sub>2</sub>). Il passaggio da isocitrato ad alfa chetoglutarato è un altro passaggio irreversibile per tolgo una molecola di CO<sub>2</sub>, gli inibitori sono sempre molecola che indicano che ho una disposizione di energia. Gli attivatori sono molecole che indicano la necessità di energia (ADP, ioni calcio). Il resto del ciclo è reversibile. Le molecole che possono essere sintetizzati da intermedi del ciclo di Krebs sono alcuni amminoacidi, le porfirine che formano il gruppo eme. Se aumenta la concentrazione di ossalacetato, reazione anaplerotica, posso regolare il ciclo dalla piruvato carbossilasi che aggiunge un gruppo CO<sub>2</sub> al piruvato. È un enzima allosterico che lavora con molti acetil-Coa.

Il primo intermedio, il citrato, da cui grazie alla citrato sintasi posso ottenere acidi grassi **dall'alfachetoglutarato** per reazioni di transaminazione posso ottenere l'amminoacido glutammato, e da quest'ultimo (sempre per reazioni di transaminazione) possono ottenere altri amminoacidi come l'asparagina, prolina e la glutammina. Posso anche ottenere le purine, basi che compongono il DNA. Il **glutammato**, al contrario, può essere deaminato ad alfa chetoglutarato per essere degradato nel ciclo di Krebs. Un altro intermedio, il **succinilcoa** può portare alla formazione delle porfirine. **L'ossalacetato** può essere trasformato in fosfoenolpiruvato, quindi di fare il primo stadio della gluconeogenesi. Dal PEP posso quindi sintetizzare nuovo glucosio nella gluconeogenesi o ottenere alcuni amminoacidi.

## LA FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA:

**IL TRASPORTO DI ELETTRONI E LA FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA:** la terza fase della respirazione cellulare comprende la catena respiratoria mitocondriale, dove l'ossigeno provoca l'ossidazione dei coenzimi ridotti generati dalla glicolisi, beta ossidazione e ciclo dell'acido citrico. *Sono reazioni fortemente esoergoniche e l'energia libera non è dispersa come calore ma utilizzata per produrre una differenza di pH tra una matrice mitocondriale lo spazio Inter membrana che a sua volta provoca una reazione di fosforilazione che genera ATP da ADP e fosfato inorganico.*

Mediante il trasferimento dei loro elettroni ad altre sostanze, NADH e FADH<sub>2</sub> sono ri-ossidati a NAD e FAD. Prima di ridurre l'ossigeno ad acqua gli elettroni trasferiti prendono parte una serie di reazioni di ossido riduzione al livello di numerosi centri redox presenti in quattro complessi enzimatici. Il trasferimento degli elettroni è accoppiato all' espulsione dei protoni dal mitocondrio, producendo un gradiente protonico attraverso la membrana mitocondriale. L'energia libera conservata in questo gradiente elettrochimico promuove la sintesi di ATP a partire da ADP + P mediante la fosforilazione ossidativa.

Il **mitocondrio** è delimitato da una membrana esterna liscia e contiene una membrana interna ricca di invaginazione, queste sono dette creste il loro numero dipende dall'attività respiratoria della cellula. La membrana interna divide il mitocondrio in due compartimenti: lo spazio Inter-membrana (pH più basso, più H<sup>+</sup>) e la matrice interna (pH più alto, meno H<sup>+</sup>). La matrice è composta da una soluzione con una consistenza gelatinosa che contiene concentrazioni molto elevate di enzimi solubili che parteciperà al metabolismo ossidativo, substrati e cofattori, ioni inorganici, comprende anche DNA, RNA e ribosomi. Quando avvengono reazioni di ossidazione gli ioni H<sup>+</sup> si spostano dalla matrice allo spazio intermembrana, creando una differenza tra i due compartimenti e una fosforilazione che genera ATP da ADP e fosfato inorganico grazie a un complesso intermembrana detto ATP-sintasi. Essendo la sintesi di ATP una reazione endoergonica viene accoppiato a delle reazioni che producono maggior energia di Gibbs e con un intermedio comune. Si usano dei potenziali redox. Chi è più avido di elettroni, ha un potenziale redox più positivo. Si crea una differenza tra chi li cede e chi li prende. Gli elettroni passano attraverso specie fino ad arrivare all'ossigeno, la specie più avida di elettroni presente nel nostro organismo (sarebbe il fluoro, non presente nel nostro organismo)

Anche la membrana mitocondriale esterna contiene porine, che consentono la diffusione libera di molecole a basso peso molecolare. La membrana interna è permeabile soltanto all'ossigeno, all'anidride carbonica e all'acqua, contiene proteine della catena respiratoria e proteine di trasporto. L'impermeabilità controllata della membrana mitocondriale interna alla maggior parte degli ioni e dei metaboliti permette la formazione di gradienti ionici attraverso questa barriera e la azione delle funzioni metaboliche dei mitocondri.

Il NADH prodotto nel citosol la glicolisi deve avere accesso alla catena respiratoria per essere ossidato, tuttavia la membrana interna del mitocondrio è priva di una proteina capace di trasportare NADH (è impermeabile), per cui solo i suoi elettroni possono essere trasportati nel mitocondrio tramite uno o più sistemi navetta.

Posso considerare la fosforilazione ossidativa come composta da una prima fase della catena di trasporto degli elettroni e una seconda fase di fosforilazione di ADP a ATP. I trasportatori degli elettroni trasferiscono gli elettroni dalla NADH e FADH<sub>2</sub> all'ossigeno e sono associate alla membrana mitocondriale interna. *L'ossidazione di NADH e FADH<sub>2</sub> effettuata dalla catena di trasporto degli elettroni. Un insieme di complessi proteici contenenti centri redox caratterizzati da affinità per gli elettroni progressivamente crescenti. gli elettroni si spostano lungo questa catena da potenziale di riduzione più bassi verso potenziali di riduzione più alti. I complessi sono 4, nella membrana interna dei mitocondri, con affinità crescente per gli elettroni.*

FAD E NAD hanno due punti di entrata diversa. Il **NADH** cede i suoi elettroni al complesso 1 e tramite il complesso 10 (ubichinone) li cede al 3 e con il citocromo C li cede al complesso 4.

Il **FADH<sub>2</sub>** cede i suoi elettroni al complesso 2 e tramite al coenzima Q<sub>10</sub>, li cede al 3 e al complesso 4 tramite il citocromo C. Questo è il motivo per cui si creano diverse quantità di molecole di ATP. **Il complesso Q<sub>10</sub>** ha una parte aromatica con due gruppi CO. È detta anche ubiquinone perché ha due gruppi C=O (chetonici) in un anello aromatico e due gruppi Oh diventando ubiquinol. È il trasportatore di idrogeni e elettroni dal complesso 1 o 2 al complesso 3. È una molecola organica, idrofobica e insolubile in acqua e solubile nella membrana plasmatica. **Il citocromo c** trasporta elettroni e idrogeni dal complesso 3 al 4. Contiene un gruppo eme, ma a differenza dell'emoglobina in cui il ferro è ossidato +2, il ferro nel citocromo deve prendere un elettrone e trasportarlo essendo +3, prendendolo diviene +2 e cedendolo a qualcun altro diviene di nuovo +3. I complessi pompano fuori ioni H<sup>+</sup>, non avviene per il complesso 2 (non è una pompa protonica) = diversa quantità. Per ogni NADH 3 molecole di ATP, per ogni FADH<sub>2</sub> 2 molecole.

Il complesso 1 è detto **NADH deidrogenasi**, il complesso 2, **succinato coenzima 2 reduttasi** (il FADH<sup>2</sup> è quello prodotto nel ciclo di Krebs quando il succinato è deidrogenato a ottenere fumarato), non è una pompa protonica, cedono elettroni al complesso Q e da qui al 3 complesso, idrosolubile. L'1, il 3 e il 4 sono tutte pompe protoniche, tranne il secondo. Secondo la teoria chemiosmotica si ottiene una differenza di pH e di potenziale tra i due lati della membrana interna, in quello intermembrana ci sono più cariche positive, mentre nella matrice le cariche + sono meno e c'è un accumulo di cariche negative. La spinta a creare ATP è data da entrambe, grazie al fatto che l'ATP sintasi i protoni nello spazio intermembrana entrano nella matrice passando dall'ATP sintasi.

- Il complesso 1 catalizza il trasferimento esoergonico dal coenzima ridotto al complesso Q. Manda fuori 4 H<sup>+</sup> fuori dalla matrice. Gli elettroni passano poi a gruppi eme legati a zolfo a ponte derivanti dalla cisteina. Il ferro passa da 3<sup>+</sup> a 2<sup>+</sup>
- Il complesso 2 ha dei centri ferro-zolfo e un ferro legato al gruppo eme.
- Coenzima Q-citocromo C ossido reduttasi (il complesso 3). Abbiamo gruppo ferro-zolfo e gruppi eme. È una pompa protonica, pompa 4 H<sup>+</sup> nello spazio intermembrana e cede elettroni e idrogeni al citocromo C.
- Il citocromo c, contiene ferro, li cede al complesso 4
- Il complesso 4 possiede ioni ferro e ioni rame che svolge la medesima funzione. Il ferro passa da diversi stadi -1,5 (ione superossido) e -1 (ioni perossido). Se il processo non avviene completamente si formano tali ioni, aggressivi per la cellula essendo molto avidi di elettroni e possono ossidare molecole che non dovrebbero.

Per cui l'ossigeno deve rimanere legato fino al formarsi dell'acqua. È una pompa protonica ( $4\text{H}^+$ ).

*Gli elettroni sono trasportati dai complessi 1 e 2 al complesso 3 mediante il lipide coenzima Q, denominato ubiquinone a causa della sua ubiquità in tutti gli organismi che respirano. dal complesso 3 tre gli elettroni sono trasferiti al complesso 4 attraverso il citocromo c, una proteina periferica di membrana. Ciascuno dei quattro complessi respiratori della catena di trasporto degli elettroni è costituito da alcuni componenti proteici associati a vari gruppi prostetici che partecipano a reazioni redox con potenziale di riduzione progressivamente crescenti. tutti i complessi possono muoversi lateralmente all'interno della membrana mitocondriale. Il potenziale redox passa da valori più negativi a valori più positiva → è la forza che spinge gli elettroni attraverso i complessi. L'energia ceduta si usa per spingere i protoni. L'ATP sintasi è un complesso comprendente diverse proteine, formato da una parte fissa e una che gira e girando si legano gli  $\text{H}^+$  e passano dall'altra parte e i gruppi fosfato. i protoni rientrano grazie all'ATP sintasi non potendo attraversare la membrana in modo diretto.*

**FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA:** il principale processo di sintesi dell'ATP per gli organismi non fotosintetici, avviene nei mitocondri e coinvolge complessi proteici inseriti nella membrana interna mitocondriale. Secondo **la teoria chemioosmotica** le differenze nella concentrazione dei protoni tra le due facce della membrana sono un modo per conservare l'energia estratta dalle ossidazioni metaboliche. Il meccanismo della fosforilazione ossidativa prevede 3 componenti principali: una serie di trasportatori degli elettroni, attraverso i quali fluiscono fino all'ossigeno, produzione di gradienti di protoni e un complesso proteico (ATP sintasi) capace di usare il gradiente protonico per formare ATP.

I mitocondri possiedono due membrane, una esterna permeabile a ioni e piccole molecole e una **membrana mitocondriale interna** impermeabile anche a piccole molecole e a quasi tutti gli ioni, compresi i protoni. Le uniche molecole che passano sono quelle dotate di trasportatori specifici nella membrana esterna. Qui troviamo le componenti della catena respiratoria e il complesso Atp-sintasi.

La fosforilazione ossidativa ha inizio con l'ingresso degli elettroni nella catena di trasporto degli elettroni, detta catena respiratoria. La maggior parte degli elettroni sono raccolti dalle deidrogenasi nei processi catabolici e conservati nei coenzimi nicotinamidici e flavinici. La maggior parte delle deidrogenasi sono deidrogenasi NAD-dipendenti per cui rimuovono dal loro substrato due H, uno trasferito (come H-) al NAD<sup>+</sup> e l'altro rilasciato nell'ambiente circostante come protone. Il NADH trasporta gli elettroni al complesso della NADH deidrogenasi. Troviamo altri gruppi di trasportatori, l'ubichinone, i citocromi (proteine), proteine ferro-zolfo. Il flusso è in sequenza NADH → ubichinone → citocromi → ossigeno.

I trasportatori di elettroni della catena di trasporto sono organizzati in complessi sovramolecolari. Il complesso 1 e 2 catalizzano (essendo enzimi) il trasferimento di elettroni da due diversi donatori, il NADH e succinato (complesso 2) all'ubichinone, ai citocromi dal complesso 3 e il complesso 4 dai citocromi all'ossigeno.

Il trasporto di elettroni è un processo esoergonico e tale energia si usa per pompare i protoni fuori dalla matrice mitocondriale. L'energia elettrochimica contenuta in questo gradiente di concentrazione protonica e nella separazione delle cariche consente di conservare gran parte dell'energia liberata dal trasferimento degli elettroni. L'energia conservata è detta forza motrice protonica formata dall'energia potenziale chimica (dovuta alla differenza di concentrazione di una specie chimica, H<sup>+</sup>, in due regioni separate da membrana) e dall'energia del potenziale elettrico, che si genera dalla separazione delle cariche. Tale forza motrice protonica porta alla **sintesi di ATP** quando il flusso protonico inverte la sua direzione e i protoni tornano alla matrice, attraverso un canale protonico associato alla ATP sintetasi → accoppiamento chemioosmotico, la sintesi non avverrebbe se non fosse associata al flusso degli elettroni.