

Biochimica III - GLICOLISI

Alcune vie metaboliche sono comuni a tutti gli organismi, in particolare, il **metabolismo del glucosio** ricopre un ruolo centrale per le piante, gli animali e molti microrganismi eucarioti e procarioti. Questo **esoso** è ricco di energia potenziale e quindi è un ottimo combustibile per il catabolismo. È anche un precursore versatile, capace di formare numerosi altri composti utili per le biosintesi.



La reazione di combustione del glucosio è un'ossidazione nella quale il glucosio si ossida e l'ossigeno si riduce. La stessa equazione si applica al catabolismo del glucosio che avviene all'interno delle cellule; qui, però, l'ossidazione del glucosio è un processo **strettamente controllato** che avviene a temperature compatibili con la vita e che comprende molte **reazioni intermedie**, ognuna delle quali è catalizzata da un **enzima specifico**. Tale processo «estrae» l'energia contenuta nei legami del glucosio e la «immagazzina» nelle **molecole di ATP**. L'energia dell'ATP può poi essere impiegata per eseguire un lavoro cellulare.

L'energia contenuta nei legami chimici del glucosio è estratta tramite tre grandi processi catabolici: la **glicolisi**, la **respirazione cellulare** e la **fermentazione**. Questi tre processi comprendono diverse vie metaboliche.

1. La glicolisi è la via che dà inizio al catabolismo del glucosio: tramite una serie di reazioni, il glucosio è convertito in un composto a tre atomi di carbonio, il **piruvato**. Durante il processo si libera una piccola quantità di energia che viene accumulata sotto forma di ATP e NADH. La glicolisi è un **processo anaerobico** perché non richiede ossigeno; costituisce la sola fonte di energia in alcuni organi (come il cervello) e in alcuni tipi di cellule (come i globuli rossi).

2. In presenza di ossigeno, alla glicolisi segue la respirazione cellulare, che **ossida** ulteriormente il piruvato formando **acqua** e **diossido di carbonio**. Questo processo è quindi **aerobico**. Durante la respirazione cellulare si libera una grande quantità di energia, che è impiegata per formare ATP.

3. In assenza di ossigeno, invece, alla glicolisi segue la fermentazione; si tratta quindi di un **processo anaerobico** come la glicolisi. La fermentazione trasforma il piruvato in **lattato** o in **etanolo**, composti ancora relativamente ricchi di energia. Poiché in questo caso l'ossidazione del glucosio è incompleta, quando alla glicolisi segue la fermentazione si libera una quantità di energia assai minore rispetto alla glicolisi seguita alla respirazione cellulare.

La glicolisi si svolge nel **citosol** di tutte le cellule e comprende **dieci reazioni**, ognuna catalizzata da uno specifico enzima.

Durante le reazioni della glicolisi si verifica l'ossidazione incompleta della molecola di glucosio con formazione di due molecole di piruvato e liberazione di energia chimica: l'energia liberata è impiegata per la sintesi di ATP e per la riduzione di NAD⁺.

Poiché l'ossidazione del glucosio non è completa, solo una piccola quota dell'energia contenuta nei suoi legami viene accumulata sotto forma di ATP e NADH; la maggior parte rimane nel prodotto finale, il piruvato.

Le dieci tappe della glicolisi si possono raggruppare in due grandi fasi, una endoergonica e una esoergonica:

Le prime cinque tappe della glicolisi rompono il glucosio in due molecole a tre atomi di carbonio. Questa fase è endoergonica perché per avviare la reazione è necessario fornire energia sotto forma di due molecole di ATP (reazioni di innesco). Attraverso queste reazioni, due gruppi fosfato sono trasferiti sulla molecola di glucosio, trasformandolo in fruttosio 1,6-bisfosfato, una molecola più instabile e reattiva. La fosforilazione serve anche a conferire ai composti intermedi della glicolisi una carica elettrica negativa che impedisce loro di uscire dalla cellula attraversando la membrana plasmatica.

A partire dal fruttosio 1,6-bisfosfato si formano due molecole di gliceraldeide 3-fosfato (G3P), uno zucchero a tre atomi di carbonio. Nella fase endoergonica, quindi, la cellula consuma due ATP e produce due G3P.

Durante le successive cinque tappe c'è la liberazione di energia chimica e la trasformazione della G3P in piruvato. Complessivamente si verificano la sintesi di quattro molecole di ATP e la riduzione di due molecole di NAD⁺ a NADH.

Sette delle dieci tappe della glicolisi sono reversibili, ovvero possono avvenire anche nella direzione opposta; le altre tre tappe (I, III, X) sono irreversibili nelle condizioni intracellulari; questo fa sì che la glicolisi sia nel suo insieme un processo irreversibile.

Le 10 reazioni della glicolisi:

- **fase endoergonica**: avviene in cinque tappe, richiede l'investimento di due molecole di ATP e porta alla rottura del glucosio in due molecole di gliceraldeide 3-fosfato. Gli enzimi coinvolti in questa fase appartengono alle famiglie **trasferasi** (esochinasi e fosfofruttochinasi), **isomerasi** (fosfoesoso isomerasi e trioso fosfato isomerasi) e **liasi** (aldolasi).
1. **Fosforilazione del glucosio**: nella prima tappa della glicolisi, il glucosio è attivato per le successive reazioni mediante una **fosforilazione** a livello del C6 per formare **glucosio 6-fosfato**; l'ATP è il donatore del gruppo fosfato. Questa reazione è catalizzata dall'enzima **esochinasi***, che come molte altre chinasi necessita di **ioni Mg²⁺** per svolgere la propria attività catalitica.
 2. **Conversione del glucosio 6-fosfato a fruttosio 6-fosfato**: L'enzima **fosfoesosoisomerasi** catalizza l'**isomerizzazione** del glucosio 6-fosfato (un aldoso) in **fruttosio 6-fosfato** (un chetoso). Questa tappa rappresenta anche il **punto di ingresso**

nella glicolisi di zuccheri diversi dal glucosio, come il fruttosio o il mannosio, che vengono fosforilati e convertiti a fruttosio 6-fosfato da specifiche chinasi e isomerasi.

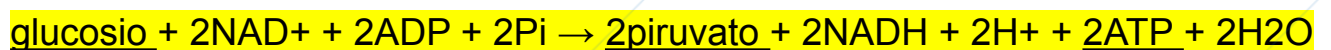
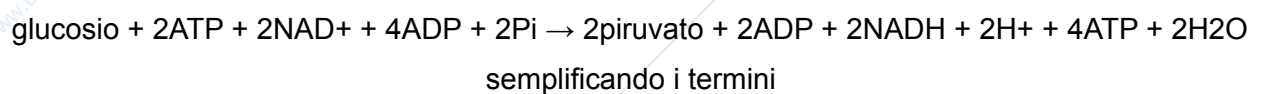
3. **La fosforilazione del fruttosio 6-fosfato a fruttosio 1,6-bisfosfato:** L'enzima **fosfofruttochinasi*** catalizza il **trasferimento** di un gruppo fosforico dall'ATP al fruttosio 6-fosfato con formazione di **fruttosio 1,6-bisfosfato**. La fosfofruttochinasi è soggetta a una **regolazione molto complessa**: la sua attività aumenta quando la quantità di ATP cellulare diminuisce o quando aumentano l'ADP e l'AMP.
4. **La scissione del fruttosio 1,6-bisfosfato:** l'enzima **aldolasi** **scinde** il fruttosio 1,6 bisfosfato in due triosi fosforilati, la **gliceraldeide 3-fosfato** (un aldoso) e il **diidrossiacetone fosfato** (un chetoso). Questa è la **tappa litica** che dà il nome alla glicolisi.
5. **L'interconversione dei triosi fosfato:** dei due triosi fosfato formati dall'aldolasi, soltanto la gliceraldeide 3-fosfato può essere demolita nelle reazioni successive. Pertanto l'altro prodotto, il diidrossiacetone fosfato, è rapidamente **isomerizzato** in **gliceraldeide 3-fosfato** dalla **trioso fosfato isomerasi**.
 - **fase esoergonica:** al termine della fase preparatoria si sono formate due molecole di gliceraldeide 3-fosfato per ogni molecola di glucosio; ora inizia la **conversione di questa molecola in piruvato**, accompagnata dalla formazione di quattro molecole di ATP e di due di NADH. Gli enzimi coinvolti in questa fase appartengono alle famiglie **ossidoreduttasi** (gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi), **trasferasi** (fosfoglicerato chinasi e piruvato chinasi), **isomerasi** (fosfoglicerato mutasi) e **liasi** (enolasi).
6. **Ossidazione e fosforilazione della gliceraldeide 3-fosfato:** la prima reazione della fase esoergonica è la **conversione** della gliceraldeide 3-fosfato a **1,3-bisfosfoglicerato**, catalizzata dalla **gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi**. Questa tappa è la **somma di due reazioni**: la prima è un'ossidazione dell'aldeide ad acido carbossilico, accompagnata dalla riduzione del NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$; la seconda è la fosforilazione dell'acido carbossilico per formare il prodotto finale, l'1,3-bisfosfoglicerato. Poiché la quantità di NAD^+ è assai inferiore a quella del glucosio che entra nella glicolisi, la reazione di ossidazione si arresta subito se il NADH non viene continuamente riossidato mediante la fermentazione o la respirazione cellulare.
7. **Sintesi di ATP:** l'1,3-bisfosfoglicerato ha una forte tendenza a cedere un gruppo fosfato; su di esso opera l'enzima **fosfoglicerato chinasi**, che **trasferisce** all'ADP il gruppo fosfato ad alta energia dell'1,3-bisfosfoglicerato per formare **ATP** e **3-fosfoglicerato**. La reazione è detta **fosforilazione a livello del substrato** perché il donatore del fosfato (l'1,3-bisfosfoglicerato) è il substrato di una chinasi. Questa tappa compensa il dispendio energetico della fase endoergonica perché si formano due ATP per ciascuna molecola di glucosio.

8. **La conversione del 3-fosfoglicerato**: l'enzima **fosfoglicerato mutasi** catalizza lo **spostamento** del gruppo fosfato dal C-3 al C-2 del glicerato, con formazione di **2-fosfoglicerato**.
9. **La deidratazione del 2-fosfoglicerato**: questa reazione catalizzata dall'enzima **enolasi** **rimuove una molecola di acqua** dal 2-fosfoglicerato formando un **doppio legame** tra il C-2 e il C-3 della catena. Il prodotto della reazione, il **fosfoenolpiruvato** (PEP), è un composto molto instabile, che tende a cedere facilmente un gruppo fosfato.
10. **Formazione di piruvato e ATP**: l'ultima tappa è il **trasferimento** del gruppo fosforico dal fosfoenolpiruvato all'ADP attraverso una **seconda fosforilazione a livello del substrato** che richiede K^+ e Mg^{2+} ; la reazione è catalizzata dalla **piruvato chinasi**. Le due molecole di ATP che si formano rappresentano il guadagno energetico della glicolisi. Il prodotto finale è il **piruvato**.

esochinasi*: enzima **citosolico solubile**, **allosterico** che va incontro ad una profonda modificazione della sua forma quando lega le molecole di esoso e Mg-ATP (adattamento indotto); questa modificazione avvicina l'ATP alla molecola di glucosio legato all'enzima. Esistono quattro **isoenzimi** dell'esochinasi (**esochinasi II** nel muscolo scheletrico, **esochinasi IV** nel fegato, differiscono tra loro per il valore di K_m per il glucosio e hanno ruolo metabolico diverso: il muscolo consuma glucosio per produrre energia, il fegato mantiene l'omeostasi del glucosio nel sangue.)

fosfofruttochinasi*: enzima complesso composto da più **subunità**; ogni subunità ha un **sito catalitico**, dove i substrati sono quasi in contatto, ed un **sito di legame** per un regolatore allosterico.

Bilancio completo della glicolisi:



Il piruvato, poi, prende vie diverse a seconda che ci si trovi in presenza o in assenza di ossigeno.

1. In condizioni aerobiche si verifica l'ossidazione completa del piruvato grazie alla respirazione cellulare, il gruppo carbossilico del piruvato verrà eliminato sotto forma di CO_2 con formazione dell'acetil-coenzima A, che sarà poi completamente ossidato a CO_2 nel ciclo di Krebs, all'interno dei mitocondri. Sempre nei mitocondri, le due molecole di NADH prodotte durante la glicolisi saranno riossimate a NAD^+ dalla catena di trasporto degli elettroni. Il trasferimento degli elettroni dal NADH all' O_2 fornisce l'energia per la sintesi dell'ATP mediante il processo di fosforilazione ossidativa.

2. In condizioni anaerobiche la cellula deve ricorrere alla fermentazione per evitare che la glicolisi si blocchi a causa dell'assenza di NAD^+ . La fermentazione può avvenire in due modi, che si differenziano per il prodotto finale, ma che permettono entrambi la rigenerazione del NAD^+ : nella fermentazione lattica il piruvato si riduce a lattato, mentre nella fermentazione alcolica il piruvato è convertito a etanolo e diossido di carbonio.