UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

Katedra Biochemii
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
tel. 081 445 66 08
www.biochwet.up.lublin.pl

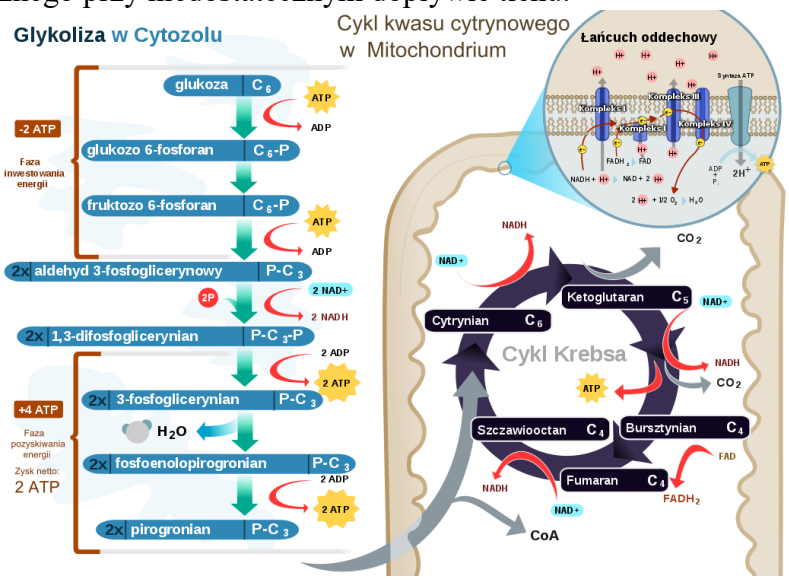
Lublin, 28 maja 2014.

Glikoliza - Glukoneogeneza przebieg i regulacja procesów

Materiały przygotowała Paulina Jachuła, studentka II roku Weterynarii we współpracy z Zespołem Dydaktycznym Katedry Biochemii

Glikoliza jest podstawowym szlakiem katabolizmu glukozy. Jest nie tylko główną drogą degradacji glukozy lecz także stanowi główny szlak przemian fruktozy i galaktozy pochodzenia pokarmowego. Jej zasadnicze znaczenie fizjologiczne wynika z faktu że przemiana ta może dostarczać ATP także w warunkach beztlenowych co pozwala na przykład funkcjonować sprawnie mięśniom podczas dużego wysiłku fizycznego przy niedostatecznym dopływie tlenu.

Jest łańcuchem reakcji prowadzącym do przekształcenia glukozy w pirogronian. Zachodzi w cytoplazmie komórek prawie wszystkich organizmów żywych i służy do wytwarzania energii zgromadzonej w ATP oraz do dostarczania metabolitów budujących składniki komórki. U tlenowców stanowi zaledwie wstępny etap oddychania tlenowego.



PRZEBIEG GLIKOLIZY TLENOWEJ

Glikoliza składa się z dziesięciu reakcji z czego 3 są nieodwracalne. Można ją podzielić na dwie fazy:

1. FAZA ZUŻYWAJĄCA ENERGIĘ
   - -fosforylacja glukozy → - ATP
   - -izomeracja glukozo-6-fosforanu do fruktozo-6-fosforanu
   - -fosforylacja fruktozo-6-fosforanu → -ATP
   - -rozpad fruktozo-1,6-bisfosforanu
   - -izomeracja fosfotrioz

2. REAKCJE DOSTARCZAJĄCE ENERGIĘ W DRUGIEJ FAZIE

   - -utlenianie aldehydu 3-fosfoglicerynowego– dostarcza $NADH_2$ + 6 ATP
   - -powstanie ATP z 1,3-bisfosfoglicerynianu i ADP → + 2ATP
   - -powstanie pirogronianu(2 cząsteczek) → +2ATP

Bilans energetyczny:
Glukoza+ 2Pi + 2NAD + 2ADP → 2 cząsteczki pirogronianu + 2ATP + 2 NADH + 2H+

1 CZĄSTECZKA GLUKOZY = 2 CZĄSTECZKI PIROGRONIANU = 8 cz ATP zysku

Przebieg reakcji glikolizy:

Faza zużywająca energię

a) W pierwszym etapie następuje fosforylacja glukozy. Dawcą reszty fosforanowej jest ATP
-reakcja jest katalizowana przez heksokinazę w mięśniach i innych tkankach oprócz wątroby nawet przy niskim stężeniu glukozy
-w wątrobie zachodzi głównie przy udziale glukokinazy- enzym funkcjonuje kiedy stężenie glukozy jest odpowiednio wysokie
-jest to reakcja nieodwracalna, a powstający glukozo-6-fosforan nie może przechodzić przez błony komórkowe, dzięki czemu pozostaje wewnątrz komórki

b) Następnym etapem jest izomeryzacja glukozo-6-fosforanu do fruktozo-6-fosforanu z udziałem izomerazy glukozofosforanowej

c) Następuje kolejna reakcja fosforylacji , fruktozo-6-fosforan jest fosforylowany przez fosfofruktokinazę z udziałem ATP do fruktozo-1,6-bisfosforanu
-reakcja jest nieodwracalna w warunkach fizjologicznych
-fosfofruktokinaza odgrywa główną rolę w regulacji szybkości glikolizy („wąskie gardło" glikolizy)

d) Kolejna faza rozpoczyna się od rozszczepienia fruktozo-1,6-bisfosforanu na dwie triozy: aldehyd-3-fosfoglicerynowy i fosfodihydroksyaceton
-reakcja katalizowana przez aldolazę fruktozo-1,6-bisfosforanową
-typowo odwracalna reakcja
-izomeraza fosfotriozowa utrzymuje stan równowagi między triozami . w stanie równowagi 95% stanowi fosfodihydroksaceton.

Faza dostarczająca energię

e) W kolejnym etapie powstały z fosfodihydroksyacetonu aldehyd 3-fosfoglicerynowy zostaje utleniony do 1,3 bisfosfoglicerynianu (z 6 węglowej cząsteczki glukozy powstają 2 cząsteczki związków 3 węglowych – zysk ATP liczony jest podwójnie)
-enzymem jest dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego współdziałająca z NAD
- powstaje 2 $NADH_2$ (po przeniesieniu na łańcuch oddechowy uzyskujemy 2 x 3 cząsteczki ATP)

f) Następnie reszta fosforanowa z 1,3-bisfosfoglicerynianu zastaje przeniesiona na ADP z wytworzeniem ATP i przekształceniem 1,3-bisfosfoglicerynianu w 3-fosfoglicerynian
-reakcję katalizuje kinaza fosfoglicerynianowa
-reakcja odwracalna
-zachodzi fosforylacja substratowa (pierwsza)

g) Powstały 3-fosfoglicerynian ulega izomeracji do 2-fosfoglicerynianu
-reakcja katalizowana jest przez mutazę fosfoglicerynianową
-polega na przeniesieniu reszty fosforanowej z C3 do C2
-enzym wymaga katalitycznych ilości 2,3-bisfosfoglicerynianu którego w większości komórek jest śladowa ilość wyjątkiem są erytrocyty

h) Dehydratacja 2-fosfoglicerynianu do fosfoenolopirogronianu
-enzymem jest enolaza
-powoduje redystrybucję energii w obrębie przekształcanego substratu co prowadzi do wytworzenia bogatego w energię wiązania pomiędzy C2 a fosforanem
-reakcja jest odwracalna

i) Powstanie pirogronianu

-enzymem jest kinaza pirogronianowa (przekształca niestabilny enol w stabilny keton)
-reakcja nieodwracalna
- powstaje ATP
-zachodzi fosforylacja substratowa (druga)

W całym procesie glikolizy, z 1 cząsteczki glukozy powstają 2 cząsteczki pirogronianu

REGULACJA PROCESU GLIKOLIZY

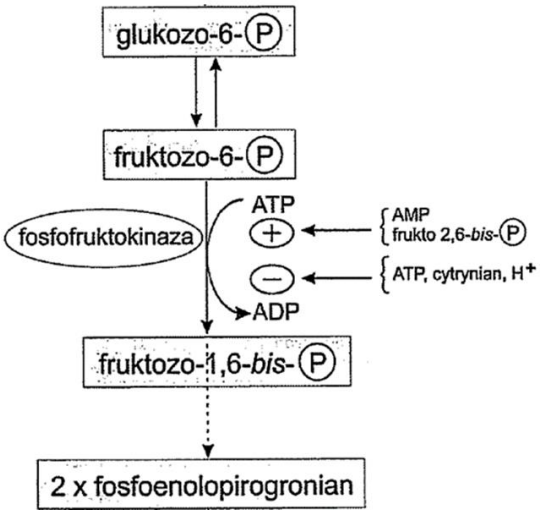
Proces Glikolizy służy dwóm zasadniczym celom :
- produkcja ATP
- dostarczenie metabolitów do różnych biosyntez
Aby sprostać tym zadaniom, szybkość przemiany glukozy w pirogronian musi być regulowana.

Glikoliza podlega regulacji poprzez działanie efektorów allosterycznych oraz hormonów (insulina, glukagon) na 3 kluczowe enzymy :
- heksokinaza / glukokinaza
- fosfofruktokinaza
- kinaza pirogronianowa

Te enzymy katalizują nieodwracalne reakcje.

Najważniejszym miejscem regulacji glikolizy jest reakcja katalizowana przez Fosfofruktokinazę I

Fosfofruktokinaza I jest allosterycznie hamowana przez czynniki wskazujące na wysoki poziom energii lub zakwaszenie komórki:
– ATP
–cytrynian
– H+
oraz allosterycznie aktywowana przy niedoborze energii przez:
– AMP
– fruktozo – 2,6 – bisfosforan (tylko w wątrobie)



Obniżenie stężenia H^+ (spadek pH) powoduje inhibicję fosfofruktokinazy I ponieważ zapobiega to nadmiernemu gromadzeniu kwasu mlekowego w wyniku glikolizy beztlenowej.

Zahamowanie aktywności fosfofruktokinazy I przez cytrynian związane jest z dostarczaniem acetyloCoA do cytozolu – produktu utleniania kwasów tłuszczowych (β-oksydacji). Wysoki poziom cytrynianu w

cytoplazmie jest sygnałem dla glikolizy, że acetylo-CoA jest wytwarzany w dostatecznej ilości w β-oksydacji i nie ma potrzeby dostarczać ich więcej poprzez rozkład glukozy.

W wątrobie fosfofruktokinaza I jest aktywowana przez fruktozo – 2,6 – bisfosforan. Związek ten pobudza aktywność fosfofruktokinazy I poprzez zwiększenie jej powinowactwa do fruktozo – 6 – fosforanu i obniżenie inhibitorowego efektu ATP na aktywność tego enzymu.

REGULACJA GLIKOLIZY – FOSFOFRUKTOKINAZA II

Oprócz fosfofruktokinazy I, istnieje jeszcze fosfofruktokinaza II, która jest bifunkcyjnym enzymem zawierającym dwie domeny o aktywności enzymatycznej:

–aktywność fosfofruktokinazy przekształcająca fruktozo–6 –fosforan w fruktozo– 2,6–bisfosforan (silny aktywator fosfofruktokinazy I) oraz

– aktywność fruktozo – 2,6 – bisfosfatazy (fruktozo–2, –bisfosforan jest nietrwały),

oraz trzecią domenę — regulatorową

Fosfofruktokinaza II jest regulowana:

- allosterycznie przez fruktozo – 6 – fosforan, który aktywuje enzym
- przez kowalencyjną modyfikację (fosforylację)

Fosforylacja enzymu powoduje wzrost aktywności fosfatazy i zahamowanie aktywności kinazowej enzymu. Fosforylacja enzymów następuje na skutek pobudzenia receptorów adrenergicznych.

REGULACJA GLIKOLIZY – HEKSOKINAZA

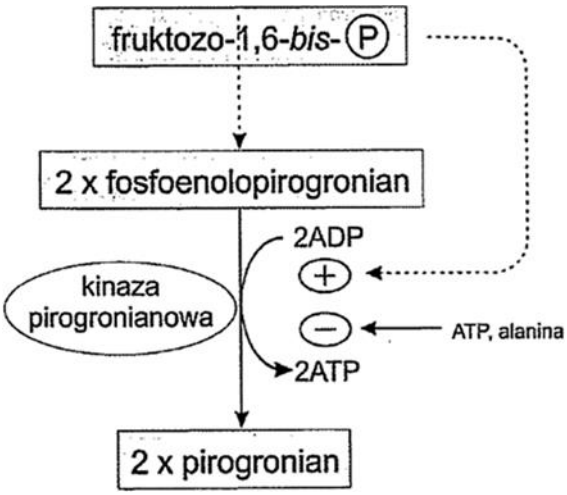
Reakcja katalizowana przez heksokinazę nie jest właściwa tylko dla glikolizy, jest to wspólny etap dla wszystkich dróg w których glukoza jest substratem :

- glikoliza,
- cykl pentozowy,
- synteza glikogenu)

I dlatego heksokinaza nie jest głównym enzymem regulatorowym.
Jednak duża ilość glukozo – 6 – P powstającego w wyniku rozpadu glikogenu sprawia, że reakcja katalizowana przez heksokinazę jest zbędna.
Otrzymany cukier jest już w formie ufosforylowanej i hamuje heksokinazę.

~ Na uwagę zasługuje fakt iż jako metabolit pośredni Glukozo-6-fosforan hamuje heksokinazę lecz nie hamuje glukokinazy

REGULACJA GLIKOLIZY – KINAZA PIROGRONIANOWA



-kontroluje wypływ metabolitów glikolizy
Istnieją dwa typy kinazy pirogronianowej :
typ L – przeważa w wątrobie
typ M –przeważa w mięśniach i mózgu
Oba typy są regulowane przez allosteryczne efektory:
–fruktozo – 1,6 – bisfosforan - aktywuje enzymy
– ATP, alanina - obniża aktywność enzymów
–Tylko Forma L kinazy pirogronianowej jest regulowana jest na drodze fosforylacji (w wątrobie).
–Ufosforylowana forma jest nieaktywna

Regulacja Glikolizy – Hormony

Insulina
- indukuje syntezę enzymów
  - glukokinazy (dodatkowo jej synteza jest pobudzana przez samą glukozę)
  - fosfofruktokinazy
  - kinazy pirogronianowej

Glukagon (hormon trzustkowy)
- hamuje glikolizę pobudzając fosforylację kinazy pirogronianowej (enzym nieaktywny).
- insulina wywiera efekt przeciwstawny powodując defosforylację tego enzymu

GLUKONEOGENEZA

Glukoneogeneza nie jest prostym odwróceniem glikolizy, która ze względu na bariery energetyczne charakteryzuje się nieodwracalnością trzech wcześniej omówionych spośród 10 reakcji (a, c, i).

Nieodwracalne reakcje glikolizy:

1. $\text{glukoza} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{heksokinaza}} \text{glukozo-6-fosforan} + \text{ADP}$: aktywacja cząsteczki heksozy przy udziale heksokinazy

2. $\text{fruktozo}-_6-\text{fosforan} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{fosfofruktokinaza}} \text{fruktozo-1,6-bifosforan} + \text{ADP}$: dodatkowe ufosforylowanie

3. $\text{fosfoenolopirogronian} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{kinazapirogronianowa}} \text{pirogronian} + \text{ATP}$: przekazanie reszty fosforanowej (ostatnia reakcja glikolizy)

W sytuacji kiedy jest deficyt glukozy, glukoneogeneza zaspokaja zapotrzebowanie na nią.
Dodatkowo w trakcie glukoneogenezy usuwane są z krwi produkty metabolizmu innych tkanek (mleczan, glicerol). Zwykło się rozpatrywać glukoneogenezę jako przekształcenie pirogronianu w glukozę, jednakże powinno się ją traktować nieco szerzej – chodzi nie tylko o syntezę glukozy z pirogronianu ale również z wielu innych, drobnocząsteczkowych związków np.:

- mleczan - w procesie glikolizy, która zachodzi w mięśniach, np. u ssaków, zapotrzebowanie na energie jest
tak gwałtowne w mięśniu pracującym, ze zwykle nie wystarcza tlenu po to, aby całkowicie spalić wykorzystywana jako paliwo glukozę, w związku z tym powstający w glikolizie pirogronian jest przekształcany w mleczan, który jest usuwany z komórek mięśniowych do krwi, wychwytywany przez wątrobę i w wątrobie może być wykorzystywany, ponieważ szkoda tego związku, gdyż jest w nim jeszcze dużo energii, może być stosowany jako substrat do syntezy glukozy

-niektóre aminokwasy glukogenne – ich szkielety węglowe po procesie deaminacji dają pirogronian np. alanina; inne aminokwasy,
np. asparaginian, w wyniku transaminacji mogą się przekształcać w szczawiooctan;
-glicerol powstający w wyniku lipolizy tłuszczów może się włączyć bardzo łatwo w szlak glukoneogenezy, przekształcając się w fosfodihydroksyaceton

Przebieg

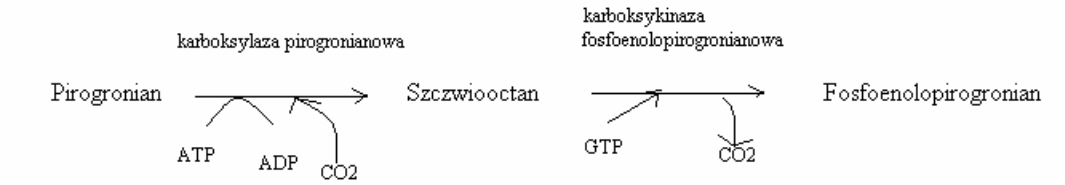
1. karboksylacja pirogronianu
   -w mitochondrium pirogronian jest karbosylowany przez karboksylazę pirogronianową do szczawiooctanu
   -pozwala to na ominięcie nieodwracalnego szlaku glikolizy
   -karboksylaza pirogronianowa zawiera koenzym-biotynę która wiąże CO2 kosztem energii pochodzącej z rozpadu ATP. Enzym ten jest aktywowany allosterycznie przez acetylo-SCoA

2. transport szczawiooctanu do cytozolu
   -wewnętrzna błona komórkowa jest dla niego nieprzepuszczalna
   -musi być przekształcony do :
   - jabłczanu- na drodze redukcji
   - cytrynianu- wiązanie reszty acetylowej z acetylo-SCoA
   - asparaginian- poprzez wiązanie grupy aminowej na drodze trans aminacji

   -produkty tych reakcji w cytozolu na powrót rozpadają się do szczawiooctanu

3. dekarboksylacja szczawiooctanu
   -w cytozolu jest dekarboksylowany i fosforylowany przez karboksykinazę fosfoenolopirogronianową i przekształca się w fosfoenolopirogronian

-dawcą fosforanu jest GTP



4. dalsza przemiana fosfoenolopirogronianu
   -odwrócenie reakcji glikolizy z wykorzystaniem jej enzymów
   -przemiana 3-fosfoglicerynianu w 1,3-bis-fosfoglicerynian zużywa cząsteczkę ATP
   -redukcja 1,3-bis-fosfoglicerynianu do aldehydu 3-fosfoglicerynowego zużywa cząsteczkę NADH2
   -ponieważ do powstania 1 cząsteczki glukozy potrzeba 2 cząsteczek fosfotrioz łączny nakład energetyczny jest dwa razy większy
5. defosforylacja fruktozo-1,6-bis-fosforanu
   -powstaje fruktozo-6-fosforan
   -katalizowana przez enzym występujący w wątrobie i nerce czyli fruktozo-1,6-bis-fosfatazę
   -pozwala to na ominięcie nieodwracalnego procesu glikolizy katalizowanego przez fruktokinazę
6. defosforylacja glukozo-6-fosforanu
   -hydroliza przez enzym glukozo-6-fosfatazę omija nieodwracalny etap glikolizy katalizowany przez heksokinazę lub glukokinazę
   -powstaje wolna glukoza która może opuszczać komórkę

Regulacja glukoneogenezy

Regulacja przez:
-hormony
-efektory allosteryczne

W stanie głodu glukoza jest oszczędzana, z rozpadu KT powstaje acetylo-CoA, który allosterycznie
hamuje dehydrogenazę pirogronianową, hamując ten enzym zapobiega zużyciu pirogronianu drogą oksydacyjnej dekarboksylacji. Acetylo-CoA pobudza karboksylazę pirogronianową i kieruje pirogronian w glukoneogenezę.
Fruktozo-1,6-bis fosfataza jest regulowana przez poziom energii w komórce. Wysoki poziom AMP w stanie niedoboru energii hamuje aktywność tego enzymu , a pośrednio całą glukoneogenezę. Z kolei wysoki poziom ATP i niski AMP pobudzają glukoneogenezę.
Fruktozo-1,6-bis-fosfataza jest też hamowana przez fruktozo-2,6-bis-fosforan którego stężenie jest regulowane hormonalnie

W stanie głodu, podwyższony poziom glukagonu pobudza fosforylację kinazy pirogronianowej

(dezaktywacja enzymu), dzięki czemu fosfoenolopirogronian nie przekształca się do pirogronianu i jest substratem w glukoneogenezie.

Glukagon powoduje zmniejszenie zawartości fruktozo-2,6-bis-fosforanu w komórce. Efekt ten wywierany jest poprzez pobudzenie fosforylacji fosfofruktokinazy-2, enzymu zaangażowanego w syntezę fruktozo-2,6-bis-fosforanu. Fruktozo-2,6-bis-fosforan jest silnym aktywatorem allosterycznym fosfofruktofinazy I, czyli kluczowego enzymu glikolizy, i inhibitorem allosterycznym fruktozo-1,6-bis-fosfatazy, czyli kluczowego enzymu glukoneogezezy. Fosforylacja fosfofruktokinazy II - enzymu katalizującego powstania fruktozo-2,6-bis-fosforanu, unieczynnia ten enzym, a w konsekwencji spada zawartość fruktozo-2,6- bisfosforanu w cytozolu, a w dalszej kolejności obniża się aktywność fosfofruktokinazy I i w konsekwencji całej glikolizy. Następuje zahamowanie glikolizy i pobudzenie glukoneogenezy poprzez usunięcie inhibitora allosterycznego fruktozo-1,6-bis-fosfatazy.
Ułatwia to przekształcenie fruktozo-1,6-bis-fosforanu w fruktozo-6-fosforan.

	Aktywność		Induktor	Represor	Aktywator	Inhibitor
	przy karmieniu węglowodanami	przy głodzeniu i w cukrzycy				
Karboksylaza pirogronianowa	↓	↑	Glukokortykoidy glukagon, adrenalina	Insulina	Acetylo-CoA	ADP
Karboksykinaza fosfoenolopirogronianowa	↓	↑	Glukokortykoidy, glukagon, adrenalina	Insulina	Glukagon?	
Glukozo-6-fosfataza	↓	↑	Glukokortykoidy, glukagon, adrenalina	Insulina		

Bibliografia:
Biochemia – Edward Bańkowski
Biochemia kręgowców – Wacław Minakowski
e-biotechnologia.pl
wikibooks.org
http://wiki.biol.uw.edu.pl