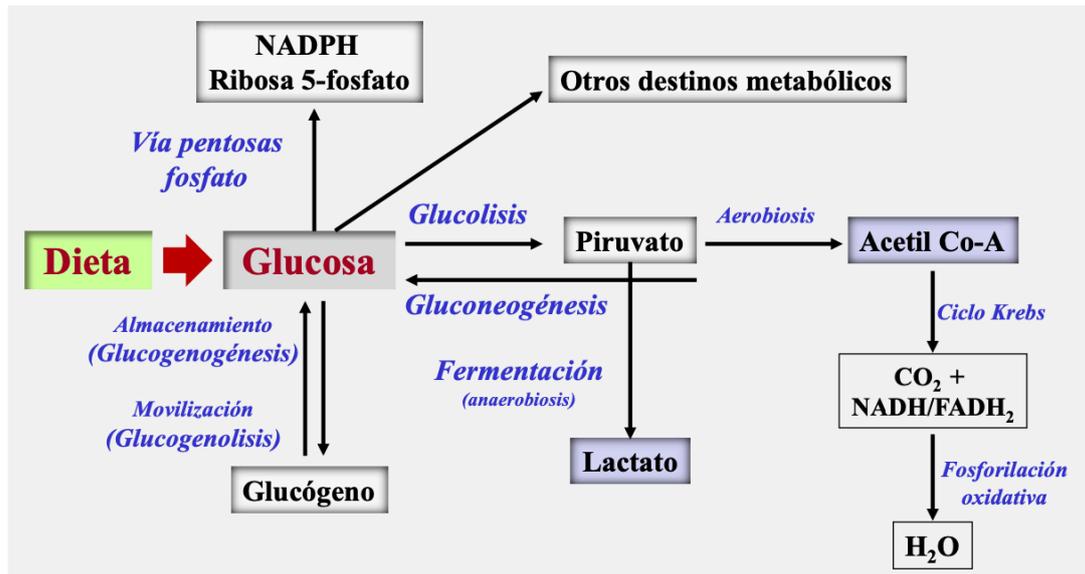


T20. GLUCÓLISIS: FUNCIÓN, SECUENCIA REACCIONAL Y REGULACIÓN.

Glucosa: visión general de sus orígenes y destinos metabólicos



Dieta → Polisacáridos, disacáridos, monosacáridos ... Digestión, transporte, transformación

Control hormonal (Insulina/glucagón)

Importancia de los transportadores

La glucosa, fuente de energía para nuestro organismo, debe mantenerse constante (60-120 mg/ml; 5 mmolar). Alrededor del 80% del consumo diario de glucosa (200gr aprox.) lo consume el cerebro.

Orientación al estudio de las vías metabólicas: Aspectos a considerar

¿Para qué? Tener muy claro el **objetivo** de la vía: productos que pretende obtener, incluido su rendimiento/balance energético.

¿Dónde? Considerar la **compartimentación** a todos los niveles: órganos/tejidos, compartimento/s celulares implicados.

¿Cómo? Primera aproximación, tener clara la **"estrategia general"** que sigue la vía para conseguir los objetivos que pretende. Es decir, en términos generales, cómo consigue la vía sus objetivos. Después, **analizar cómo transcurre la vía** con más profundidad. Esto no implica saberse las fórmulas, pero sí los intermediarios de la vía y los enzimas, particularmente, los implicados en **pasos reguladores**.

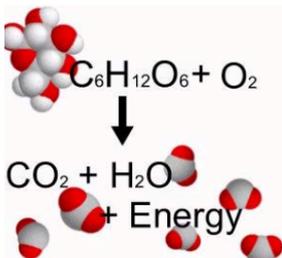
¿Cuándo? Es muy importante tener claro en qué condiciones va a funcionar la vía. Es decir, **cómo se regula**. Considerar diferentes aspectos sobre las **enzimas reguladoras clave de la vía y su control**

- **A corto plazo** (regulación alostérica, sustratos o productos, isoenzimas, por fosforilación/defosforilación)
- **A largo plazo** (regulación de la cantidad de enzima), efectos que incluyen la acción hormonal (hablando de glúcidos, principalmente insulina, glucagón y adrenalina)

Características generales de la glucólisis

La **glucólisis** es la degradación gradual de la **glucosa (6C)** hasta **piruvato (3C)**.

- Es la **ruta catabólica principal de la célula** porque nuestro aporte energético fundamental debe satisfacerse a partir de los glúcidos.
- Es un **proceso universal** (todos los organismos pueden realizarla)
- Es una ruta sencilla desde el punto de vista de la compartimentación, ya que se produce en el **citoplasma**. (¿Dónde?)
- Es **anaerobia**, no necesita del oxígeno. Según si hay oxígeno o no podemos derivar el piruvato en una ruta u otra.
- **Unidireccional** (algunas reacciones son reversibles): va a funcionar en el sentido de degradación de la glucosa, la vía opuesta es la gluconeogénesis que tiene 7 de las 10 reacciones en común, esas 3 diferentes (reguladoras, irreversibles) hacen que sea unidireccional.



La glucólisis tiene dos objetivos:

1. Obtención de energía, en forma de ATP y poder reductor (NADH)
2. Preparación de la glucosa como piruvato (vía de entrada en el ciclo de Krebs)

Reacción global de la ruta:



Se producen 2 moléculas de ATP por cada glucosa que se degrada

La degradación es oxidativa y se generan equivalentes de reducción en forma de 2 moléculas de NADH + H⁺

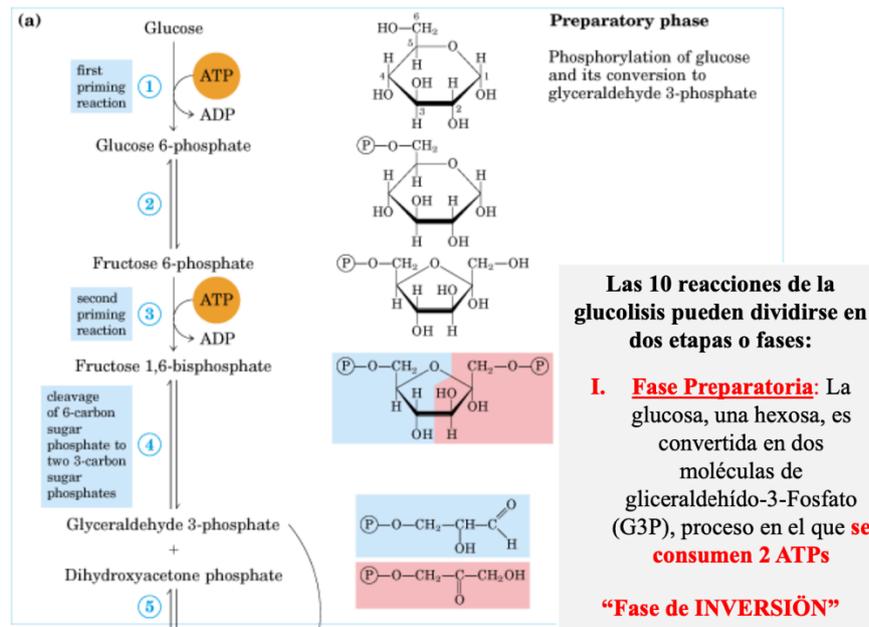
Estrategia de la ruta

1. **Fosforilación de la glucosa:** gracias a los transportadores de la glucosa **glut** va a entrar a las células. La fosforilación (añadimos grupo fosfato) hace que haya un secuestro metabólico de los sacáridos (el grupo fosfato no puede salir de la célula).
2. **Transformación de los intermediarios fosforilados en compuestos con un alto potencial de transferencia de grupos fosforilo:** vamos a ir transformando esta glucosa en una serie de compuestos intermediarios fosforilados, algunos de los cuales tendrán un grupo fosfatos de alta energía (va a estar energéticamente muy favorecida su transferencia al ADP para sintetizar ATP).
3. **Acoplamiento de la síntesis de ATP mediante “fosforilación a nivel de sustrato”:** este grupo fosfato va a transferirse a ADP para sintetizar ATP a modo de fosforilación a nivel de sustrato (transferencia de grupo fosfato directamente de una molécula hasta ATP, en el ciclo de Krebs se da otra).

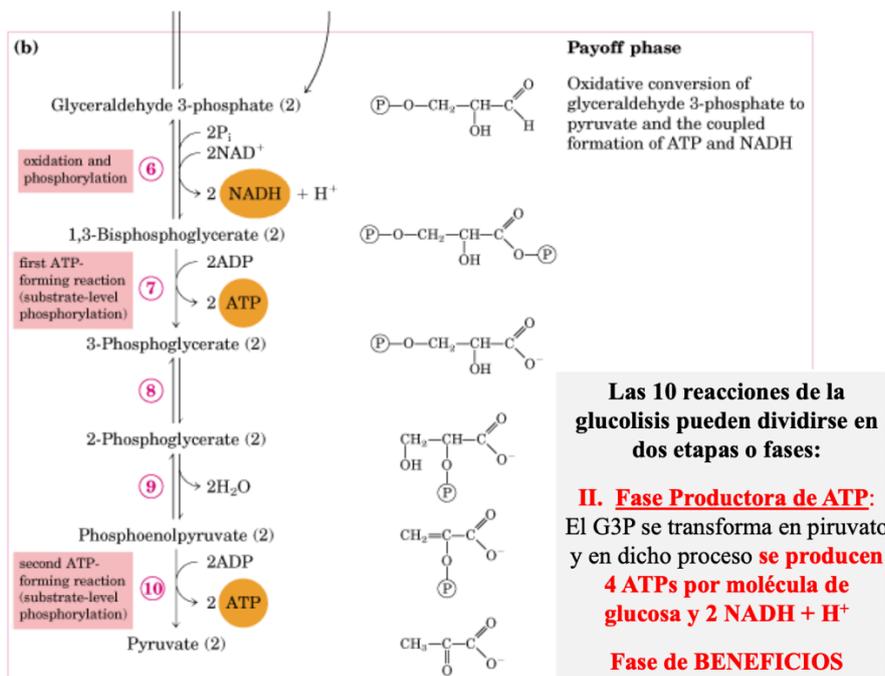
Participan **10 enzimas solubles en el citosol que no se agrupan formando complejos enzimáticos** (normalmente los enzimas que participan en una misma ruta metabólica se asocian).

Las 10 reacciones de la glucólisis pueden dividirse en **dos etapas o fases**:

- I. **Fase preparatoria:** la glucosa, una hexosa, es convertida en dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato (G3P), proceso en el que **se consumen 2 ATPs**.



- II. **Fase productora de ATP:** el G3P se transforma en piruvato y en dicho proceso **se producen 4 ATPs por molécula de glucosa y 2 NADH + H+**.

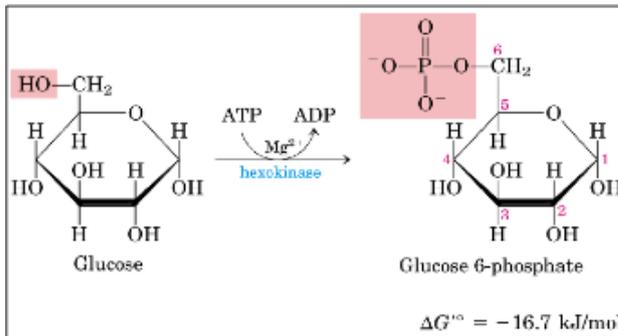
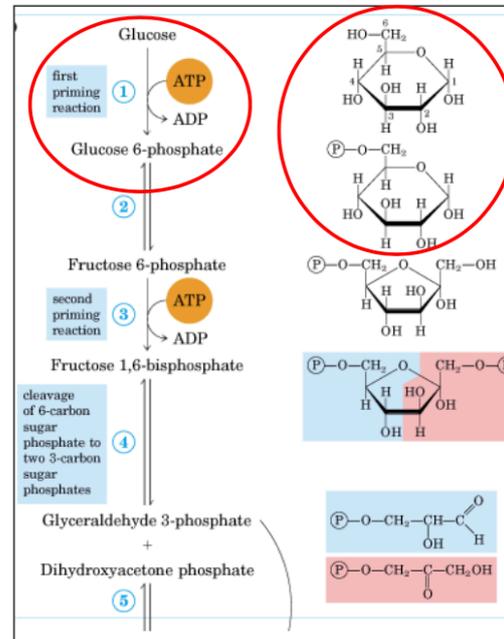


Glucólisis: secuencia reaccional

Fase I. Preparatoria

1.- Fosforilación de la glucosa para dar glucosa-6-fosfato (G6P): Impide la salida de glucosa de la célula y aumenta la reactividad del oxígeno al formar el éster-fosfato. Requiere el **gasto de una molécula de ATP**. Es una reacción **irreversible** (lo que hace que sea reguladora, un **punto de control** de la ruta). Se trata de una reacción **exergónica** (variación de energía libre negativa: $\Delta G^{\circ} = -16.7$ kJ/mol). Es catalizada por la **hexoquinasa**.

La hexoquinasa lleva a cabo la fosforilación ampliamente distribuida en tejidos y con baja especificidad (no solo fosforila a la glucosa). Esto es porque tiene un bajo K_m de 0,1 mM (va a estar funcionando, aunque esté saturada de glucosa o aunque haya hipoglucemia) para la glucosa suponiendo una altísima afinidad.



Otro dato importante de la hexoquinasa es que está regulada alostéricamente por su producto, la G6P, que inhibe la actuación de la enzima. También se inhibe por ATP, un indicador de que las necesidades energéticas de la célula están satisfechas.

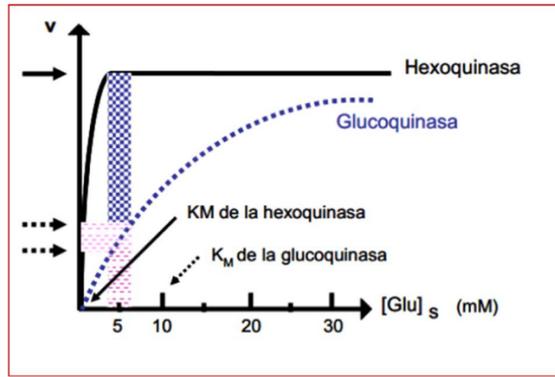
En hígado y páncreas, la **glucoquinasa** (K_m 10 mM para la glucosa; no inhibición por G6P) actúa como sensor de los niveles de glucosa para su homeostasis (síntesis de glucógeno; liberación de insulina).

Se da una situación particular en el páncreas y en el hígado: vamos a tener una isoenzima diferente, la glucoquinasa (diferencia con la hexoquinasa en que tiene un K_m altísimo para la glucosa muy por encima de la concentración que tenemos, es decir, baja afinidad, y a esa concentración aun estaría funcionando a la mitad de la velocidad máxima, además de que no es inhibida por la G6P)

Por esto, el hígado capta glucosa de la circulación cuando sus niveles se incrementan ligeramente, como ocurre tras las comidas. Cuando entra la glucosa tenemos un transportador y un enzima sensible a las variaciones de los niveles de glucosa (no como con la hexoquinasa) entonces la glucoquinasa puede actuar como sensor de la glucemia para estimular la secreción de insulina en función de sus niveles y en el hígado para derivarlo hacia el almacenamiento en forma de glucógeno.

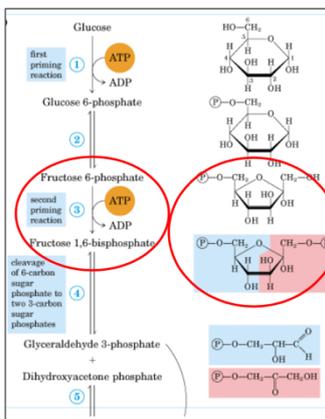
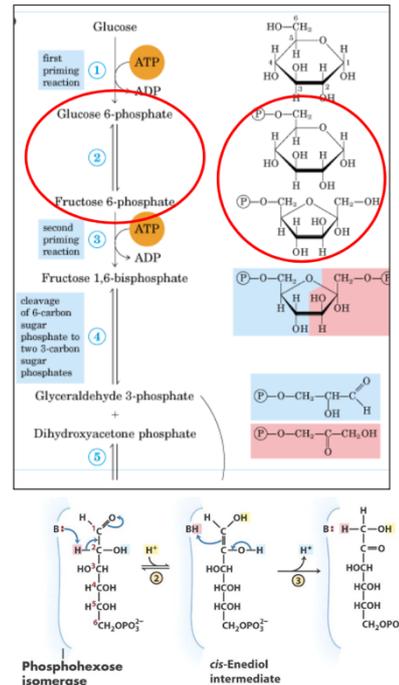
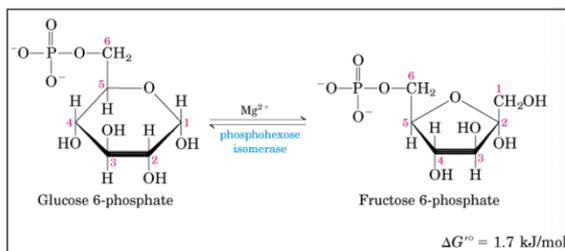
HÍGADO
 ↓
 Almacenar el **EXCESO** de glucosa circulante como **GLUCÓGENO**

PÁNCREAS
 ↓
 Liberar **INSULINA** en respuesta a los **NIVELES** de **GLUCOSA** circulantes



	Glucoquinasa	Hexoquinasa
Parámetros cinéticos		
K_M	Alto: 10 mM	Baja, <100 μ M
V_{max}	Alta	Baja
Distribución celular	Hígado, células β páncreas	Mayoría de los tejidos
Regulación		
A corto tiempo	Por cambios en la concentración de glucosa	Inhibida por glucosa 6P
A largo tiempo	Inducida por insulina	Constitutiva

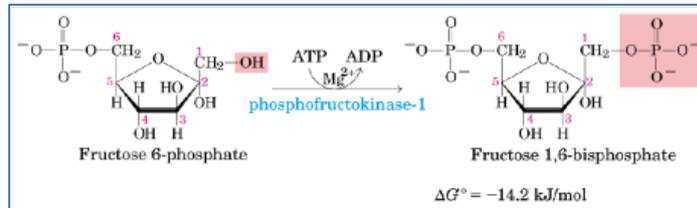
2.- Isomerización de la G6P a fructosa-6-fosfato (F6P): convierte una aldosa en una cetosa, permitiendo que el C1 del azúcar esté disponible para la siguiente reacción de fosforilación. Es reversible, específica y se produce sobre la forma abierta de la glucosa (no se puede convertir una aldosa en una cetosa si no es en la forma abierta). Catalizada por la **fosfohexosa isomerasa**.



3.- Fosforilación de la F6P para dar fructosa-1,6-bifosfato: permite que los dos productos que se generen en la siguiente reacción estén fosforilados y no puedan escapar de la célula. Compromete a la glucosa en la vía glucolítica. Es una reacción **exergónica** en la que se consume una segunda molécula de ATP (utilizando 1 ATP se incorpora fósforo en el C1 generando la fructosa-1,6-bifosfato). Es una reacción **irreversible (punto clave de control de la ruta:** sistema de control de glucólisis y gluconeogénesis a nivel hepático). La enzima que lo cataliza es la **fosfofructoquinasa 1 (PFK1)**.

El objetivo es que la molécula de fructosa tenga en su molécula 2 grupos fosfato para así romper la fructosa por la mitad, y es necesario que los 2 compuestos estén fosforilados para comprometerlos metabólicamente y que sigan 'secuestrados'. Es decir, que los dos productos que se generen en la reacción estén fosforilados y no puedan escapar de la célula; compromete a la glucosa en la vía glucolítica.

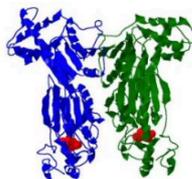
La PFK1 está activada alostéricamente por fructosa-2,6-bisfosfato, ADP y AMP (indicador de baja producción de energía), inhibiéndose por citrato y ATP.



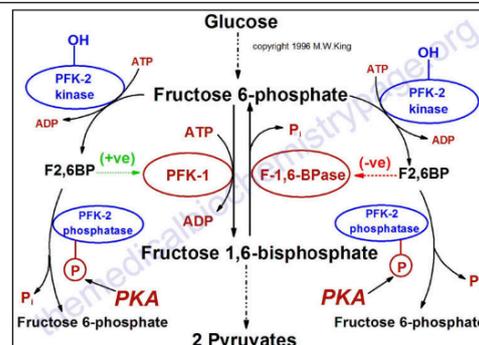
La fructosa-2,6- bifosfato es sintetizada a partir de la fosforilación de la fructosa-6-fosfato por la **PFK2** (fosfofructoquinasa 2), un enzima que existe en el **HÍGADO** (donde coexisten glucolisis y gluconeogénesis) para el control simultáneo y coordinado de ambas vías (insulina/glucagón; fosforilación/desfosforilación).

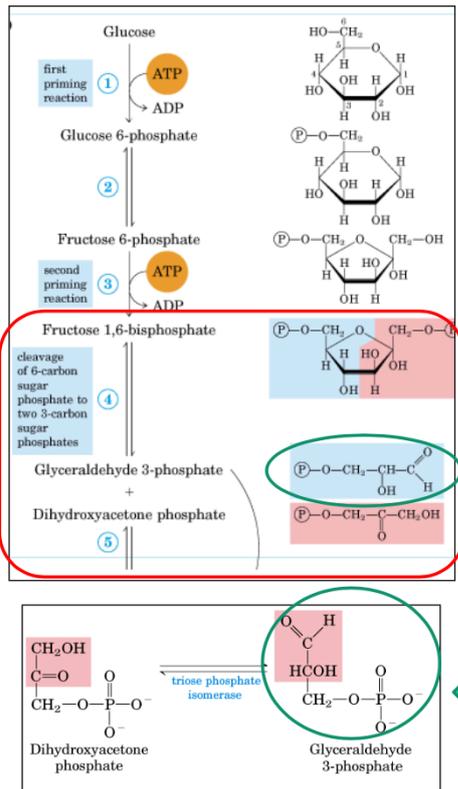
La Fosfofructoquinasa-1 (PFK 1) está regulada alostéricamente, es el punto de control más importante de la glucolisis.

- **ATP:** Además de sustrato, es un inhibidor alostérico del enzima, si hay mucho ATP no necesitamos que funcione la glucolisis.
- **Citrato:** Es un intermediario del ciclo del ácido cítrico que, cuando se acumula sale de la mitocondria e inhibe alostéricamente la PFK-1.
- + **AMP:** Grandes cantidades de AMP indica una relación energética en la célula Q (Q=ATP/ADP+AMP) baja, luego se estimula el flujo a través de la ruta.
- + **F2,6BP:** Es el regulador más importante. Sus niveles están controlados hormonalmente. Es la vía de control hormonal del ciclo.



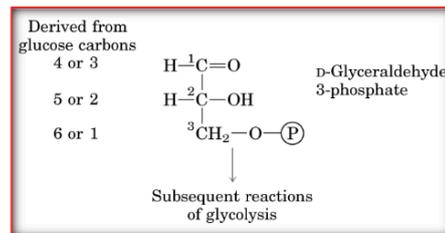
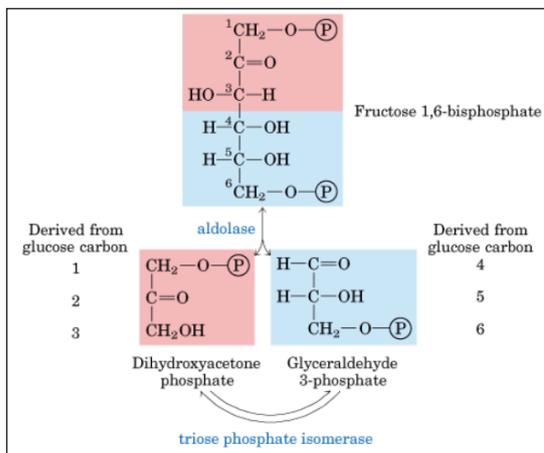
En hígado, la **PFK 2**, enzima bifuncional (quinasa/fosfatasa) genera Fructosa-2,6-bisfosfato que ayuda al control de los flujos de **glucolisis/gluconeogénesis (Insulina/glucagón; fosforilación/desfosforilación)**





4.- Escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato en dos triosas fosfato (dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído-3-fosfato): genera dos productos de tres carbonos, fosforilados, que no pueden escapar de la célula y son rápidamente metabolizados. Es una reacción **reversible** y **endergónica**, favorecida por la rápida eliminación de productos. Catalizada por la **aldosa** (ej. de catálisis covalente).

5.- Isomerización de la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) a gliceraldehído-3-fosfato (G3P): permite la conversión de la cetona generada en aldehído, ya que sólo el G3P sirve para la siguiente reacción de la glucólisis. Es una reacción **reversible** y **endergónica**, favorecida por la eliminación del producto (G3P). Catalizada por la enzima **triosa fosfato isomerasa**.



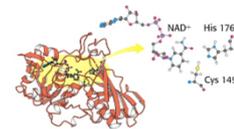
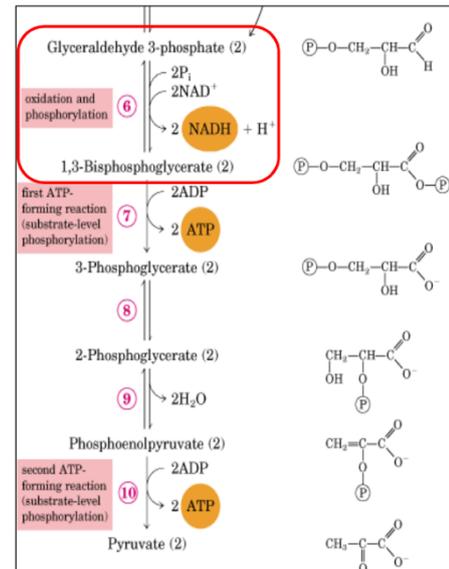
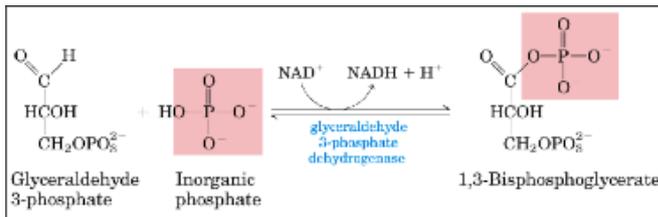
BALANCE DE LA FASE DE PREPARACIÓN



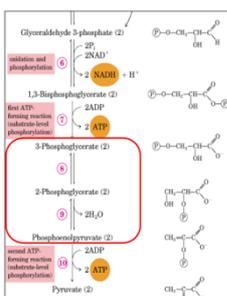
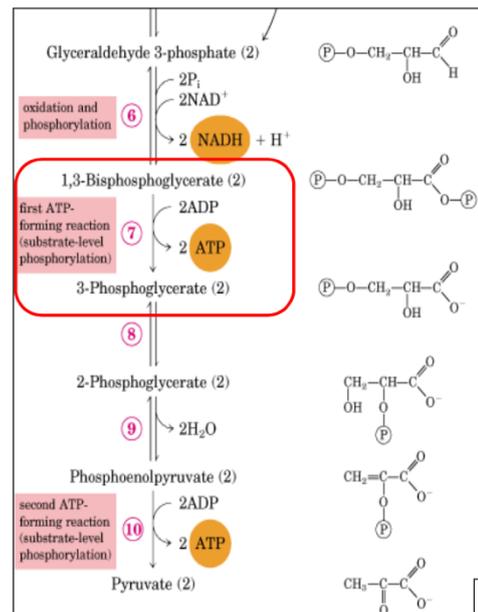
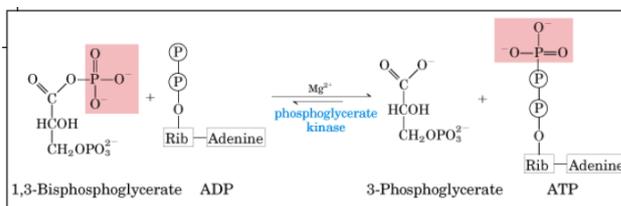
De las 5 reacciones que componen esta fase, 2 funcionan irreversiblemente *in vivo* (etapas reguladoras) propulsando la ruta, y 3 están funcionando reversiblemente.

Fase II. De rendimiento energético/ generación de ATP

6.- Oxidación y fosforilación del gliceraldehído-3-fosfato para generar 1,3 bifosfoglicerato (1,3-BPG): el 1,3-BPG tiene un enlace acilfosfato, de alta energía, que puede usarse en la siguiente reacción para transferir el grupo fosforilo al ADP y generar ATP. Es una reacción de **óxido-reducción, reversible**, que utiliza **NAD+** como **coenzima**. Está catalizada por la enzima **gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa** (ej. de catálisis covalente).

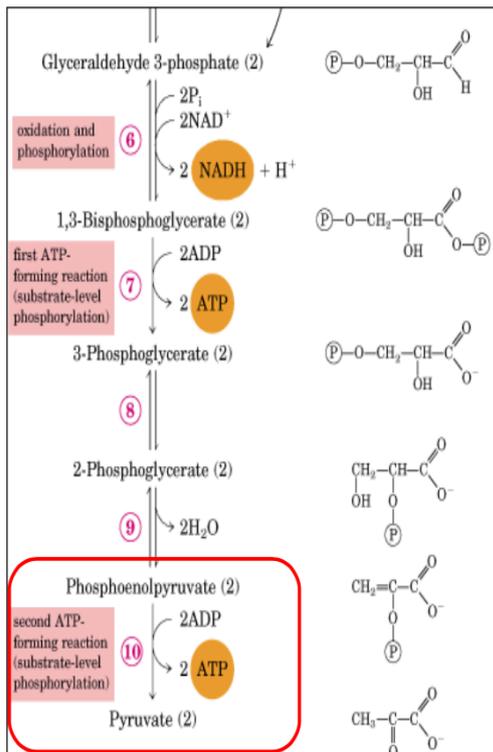


7.- Fosforilación del ADP por el 1,3 bifosfoglicerato: transferencia del grupo fosfato de alta energía al ADP para **sintetizar ATP**. Es la **primera fosforilación a nivel de sustrato** [se sintetiza directamente ATP por transferencia al ADP de un fosfato proveniente de un sustrato con potencial elevado de transferencia del grupo fosfato (1,3- BPG)]. Es una reacción **reversible y exergónica**, catalizada por la **fosfoglicerato quinasa**. Es la única reacción que, implicando el ATP, no es un punto de control de la glucólisis.



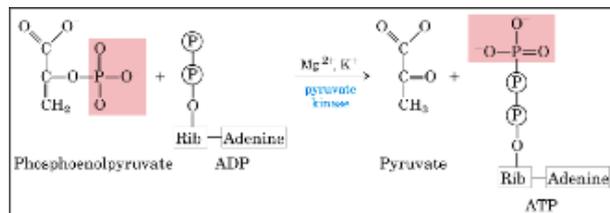
8.- “Isomerización” (interconversión) del 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato: por medio de la **fosfoglicerato mutasa**.

9.- Deshidratación del 2-fosfoglicerato para formar fosfoenolpiruvato (PEP): catalizada por la **enolasa**. Genera un compuesto (PEP) con un alto potencial de transferencia del grupo fosfato, que se usará en la siguiente reacción para generar ATP.



10.- Fosforilación del ADP por el PEP; síntesis de piruvato: transferencia del grupo fosfato de alta energía del PEP al ADP para **sintetizar ATP y piruvato**. Es la **segunda fosforilación a nivel de sustrato**. Es una reacción **exergónica e irreversible (punto de control de la ruta)**. Catalizada por la **piruvato quinasa**.

La piruvato quinasa es inhibida cuando hay suficiente ATP o existen otros combustibles como el acetil CoA. Por otro lado, se activa alostéricamente por la presencia de AMP y fructosa-1,6-bisfosfato.



Es una enzima cuya actividad va a estar regulada por fosforilación y desfosforilación, sobre todo a nivel hepático. La actividad de la piruvato quinasa es regulada a través de la regulación por insulina y glucagón (control hormonal), ayudando al control de los flujos de glucólisis/gluconeogénesis (Insulina/Glucagón):

- Insulina: Forma no fosforilada
- Glucagón: Forma fosforilada.

El proceso lo que pretende es obtener ATP, entonces las formas fosforiladas serán las no activas.

BALANCE DE LA GLUCOLISIS y REGULACIÓN

Etapa	Enzima	ATP	NADH + H ⁺
G → G6P	HK	-1	0
F6P → F1,6BP	PFK1	-1	0
2 (G3P → 1,3BPG)	G3PDH	0	2x1
2 (1,3BPG → 3PG)	PGK	2x1	0
2 (PEP → Piruvato)	PK	2x1	0

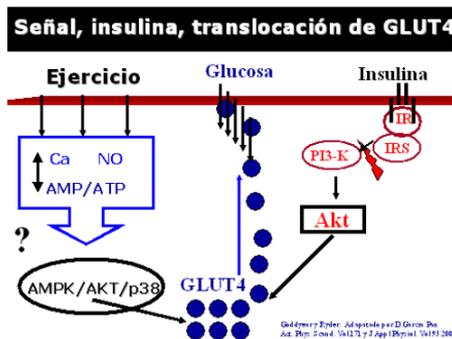


$\Delta G < 0$ (-75 kJ/mol) Reacción global irreversible
 Hay tres reacciones favorables $\Delta G < 0$ que funcionan de forma irreversible impulsando la ruta.
 Las 7 reacciones restantes están en el equilibrio.

BALANCE DE LA GLUCOLISIS y REGULACIÓN

Regulación: A nivel de los tres enzimas que catalizan reacciones irreversibles

- 1. Alostérica** (carga energética; niveles de sustratos y/o productos; F-2,6-BP)
- 2. Hormonal** (Insulina/glucagón): afecta (en tejidos específicos)
 - La actividad de los enzimas (fosforilación/desfosforilación)
 - La cantidad de enzimas (vía activación de factores de transcripción)
 - El nivel de transportadores de glucosa (Glut 4)

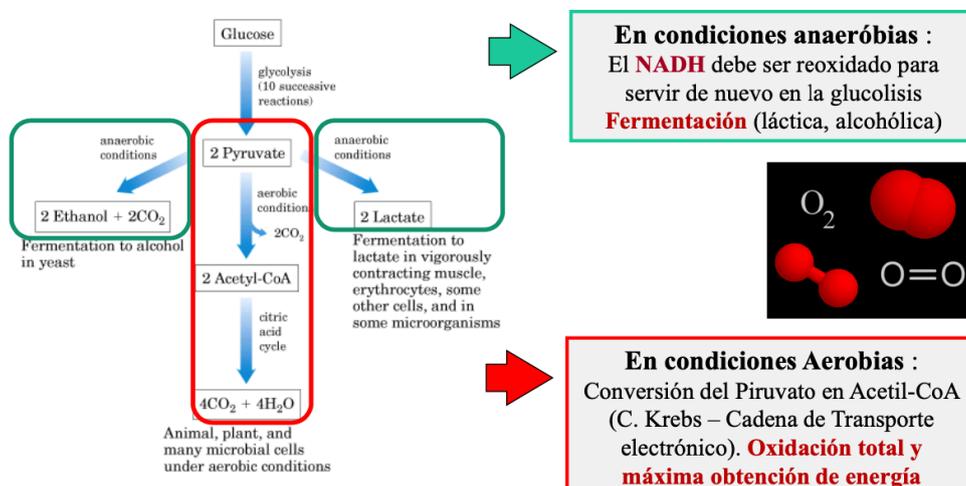


Tipo	Tejido	Km	Regulación	Transporte
GLUT1 y GLUT 3	Todos los tipos celulares	1mM	HIF	Glucosa basal
GLUT2	Hígado Páncreas	15-20mM		Glucosa
GLUT4	Músculo Adipocitos	5mM	Insulina	Glucosa entrenamiento intenso
GLUT5	Intestino delgado			Fructosa

Destinos metabólicos del piruvato y del NADH

El destino va a estar determinado por la disponibilidad de oxígeno y por la necesidad de reoxidar el NADH que se ha generado en la glucólisis para que vuelva a ser utilizado en la forma oxidada en la glucólisis.

Ej.: Los eritrocitos al no tener mitocondrias no pueden llevar a cabo la respiración celular; la falta de orgánulos necesarios para llevar el piruvato al Acetil CoA hará que tengan que llevar a cabo otros procesos de obtención de energía.



En condiciones anaerobias → Fermentación

Si no tenemos oxígeno no podemos llegar a él y nuestro organismo lo único que puede llevar a cabo es la glucólisis; se ve obligado a reoxidar el NADH para que sirva de nuevo en la glucólisis.

Este proceso se denomina **fermentación** (láctica o alcohólica) Pretende asegurar los 2 ATP obtenidos en la glucólisis y generando diferentes compuestos.

En condiciones anaeróbicas : Fermentación
 El NADH debe ser reoxidado para servir de nuevo en la glucólisis

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{C} \\
 | \\
 \text{C}=\text{O} \quad \text{Pyruvate} \\
 | \\
 \text{CH}_3
 \end{array}$$

lactate dehydrogenase

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{C} \\
 | \\
 \text{HO}-\text{C}-\text{H} \quad \text{Lactate} \\
 | \\
 \text{CH}_3
 \end{array}$$

NADH + H⁺ → NAD⁺

El Ciclo de Cori

Hígado: 2 Piruvato → 2 Lactato → Glucosa (2 ATP) → Glucosa → 2 Piruvato (6 ATP) → 2 Lactato. Músculo: Glucosa → 2 Piruvato → 2 Lactato. Sangre: Lactato ↔ Glucosa.

La síntesis de Lactato es importante en situaciones de limitada disponibilidad de oxígeno (**ejercicio intenso**)
Su reversibilidad permite la reutilización del lactato para sintetizar glucosa (**Ciclo de Cori**)

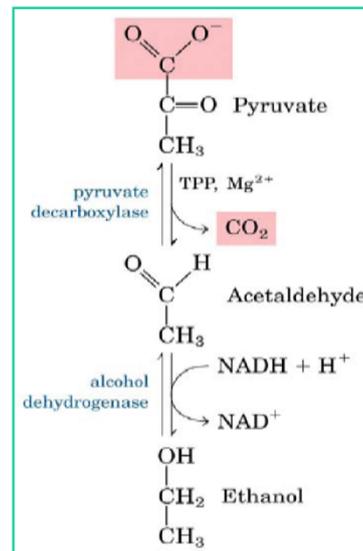
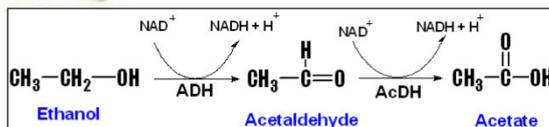
**En el caso de los eritrocitos: llevan a cabo la fermentación láctica. Reoxidan NADH para que por lo menos la glucólisis siga funcionando.*

La conversión de Piruvato en etanol (Fermentación alcohólica) es importante en industria (vino, cerveza, pan,...)

A nivel hepático, la alcohol deshidrogenasa, funcionando en sentido opuesto, inicia la metabolización del etanol



La acumulación de acetaldehído y NADH provoca importantes **desequilibrios metabólicos y hepatotoxicidad**



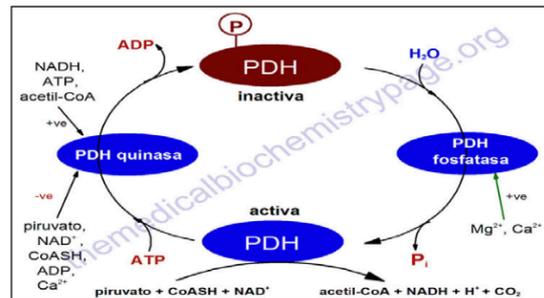
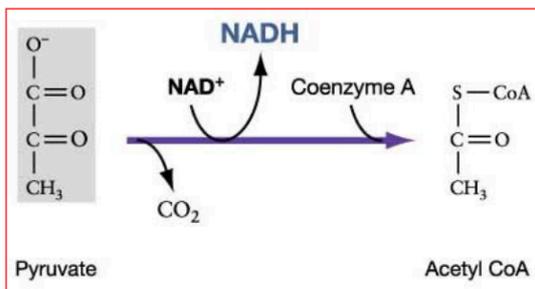
**En condiciones aerobias → conversión de piruvato en Acetil CoA
 (vía ciclo de Krebs – cadena de transporte electrónico)**

Se da una **oxidación total y máxima obtención de energía** (cuando uno tiene oxígeno suficiente en el organismo el aceptor final de electrones es él) Se oxida finalmente la glucosa obteniendo aproximadamente 36-38 ATP.

En condiciones ideales podemos transformar el piruvato en Acetil CoA, incorporarlo al ciclo de Krebs. Para esto necesitamos de las mitocondrias, por lo que primero tenemos que meter el piruvato gracias a unos transportadores, donde hay un complejo denominado **piruvato deshidrogenasa (PDH)**. Este es un complejo con varias actividades (descarboxilasa, transacetilasa y deshidrogenasa). Requiere: TPP, NAD⁺, FAD, ácido lipoico y CoA-SH.

Se regula **alostéricamente** por **modificación covalente** (fosforilación):

- Activadores (sustratos de la reacción): NAD⁺, CoA-SH, AMO
- Inhibidores (productos): ATP, Acetil CoA, NADH



Rutas alimentadoras de la Glucolisis

