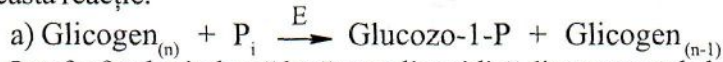


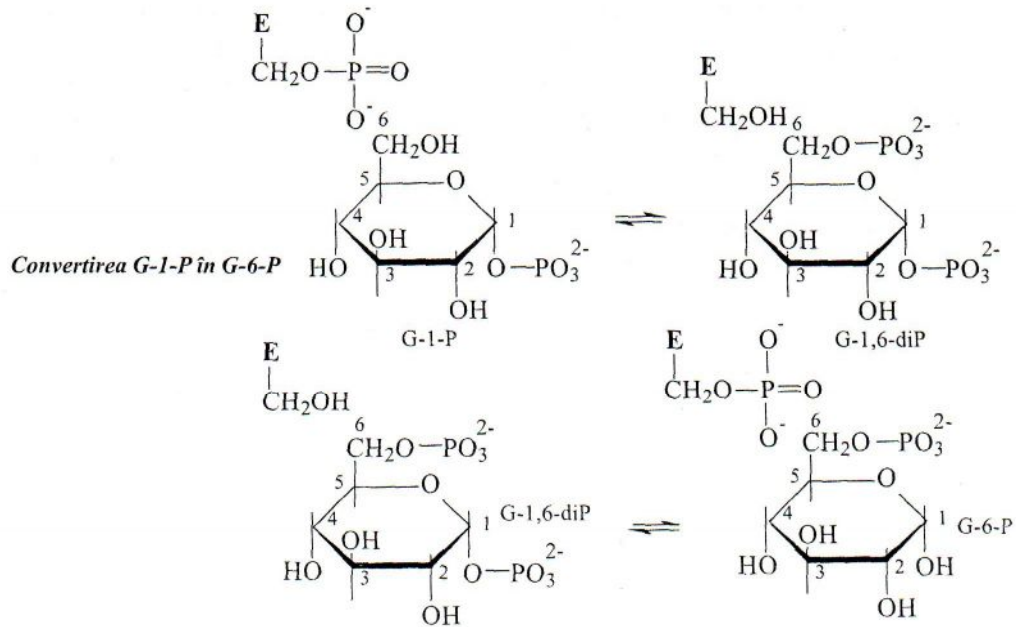
Glicogenoliza

A fost studiată de Carl și Gerty Cori. S-a demonstrat că glicogenul e scindat de ortofosfat, formînd un tip nou de zahăr, identificat glucozo-1-fosfat (ester Cori). Acești savanți au căpătat și au cristalizat enzima *glicogen fosforilaza (GF)*, ce catalizează această reacție.



Ortofosfatul scindează legătura glicozidică dintre atomul de carbon C-1 al restului terminal și C-4 al restului învecinat. Ruperea legăturii este specifică menținîndu-se α -conformație la C-1. *In vivo* reacția este deplasată în direcția scindării glicogenului, cauzată de raportul $\text{P/G-1-P} \rightarrow 100$. Scindarea fosforilitică e economă, zahărul eliberat e fosforilat. În continuare, glucoza fosforilată nu difundează din celulă în raport cu glucoza liberă. Sub acțiunea glicogen fosforilazei glicogenul se scindează într-un grad mic. Legăturile α -1,6 în punctele de ramificare nu sunt sensibile la G-F (glicogen-fosforilază). Efectul ei se stopează la restul terminal situat de la ramificare cu 4 resturi de glucoză. E necesară o nouă enzimă. O *transferază* transferă blocul din trei resturi de glucoză de pe o ramură externă pe alta. Enzima hidrolitică e atestată ca *enzimă de deramifiere (debranching enzima)*. Mai departe, fosforilaza își continuă nestingherită acțiunea pînă în apropierea unui nou punct de ramificare. Ca urmare a acțiunii acestor enzime, se obțin G-1-P și mici cantități de glucoză.

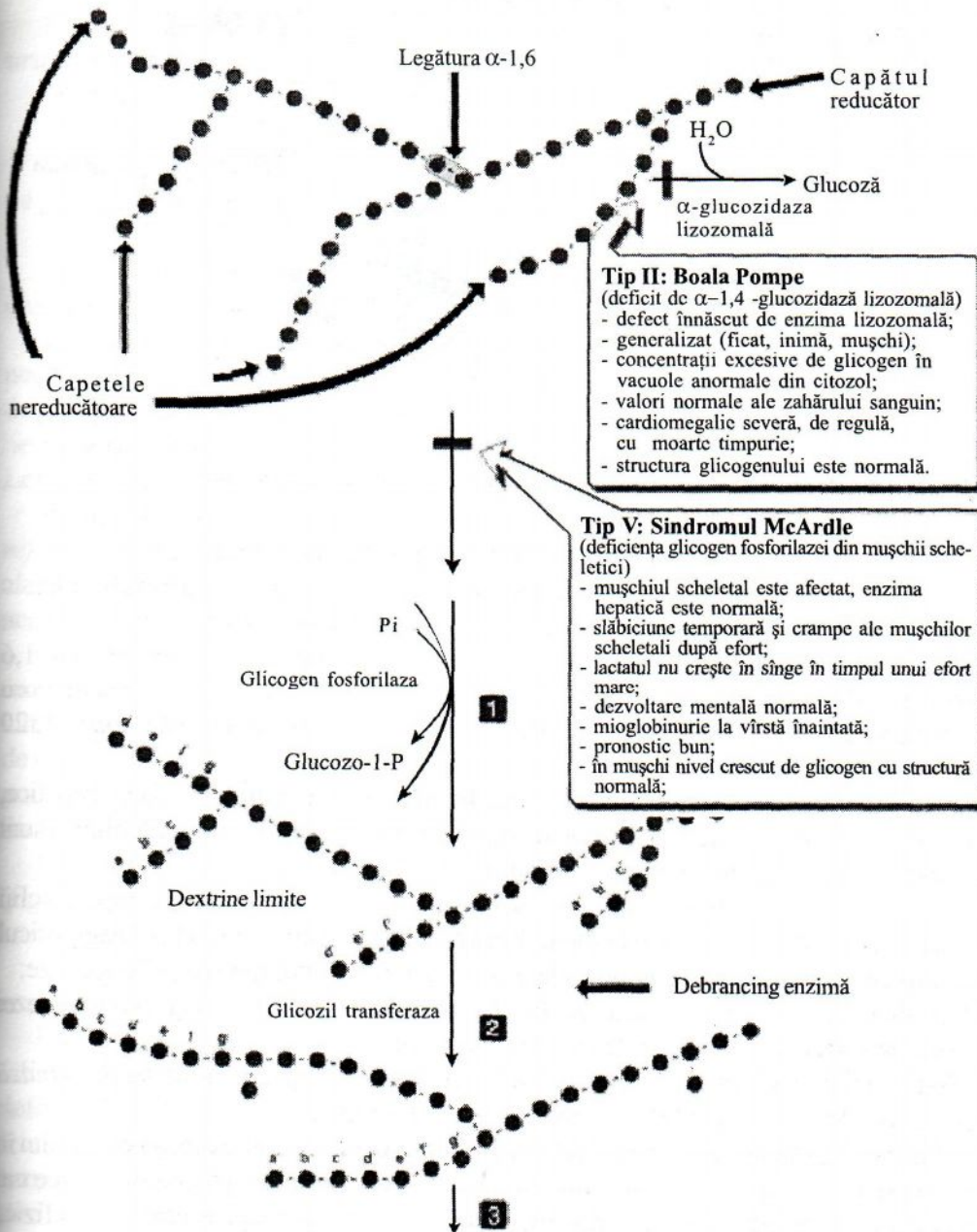
b) G-1-P este convertit la G-6-P sub acțiunea fosfogluco mutazei. În centrul activ al enzimei e prezentă o serină fosforilată. În cadrul catalizei grupa fosforil posibil e transferată la OH al C₆ din G-1-P cu formarea G-1,6-diP, după care grupa fosforil a acestui produs intermediar este transferată pe restul Ser în centrul activ și în final se formează G-6-P, regenerînd enzima fosforilată. Amestecul rezultat conține 95% G-6-fosfat. Enzima necesită, drept cofactor, ionul de Mg²⁺;



c) în ficat G-6-P (ester Robinson) este hidrolizat sub acțiunea enzimei *glucozo-6-fosfatază*. Enzima se conține în rinichi și intestine.



Ficatul menține glucoza în sânge la un nivel relativ constant. El eliberează glucoza în timpul activității intensive (efort fizic) sau în intervalul dintre alimentări. Glucoza eliberată e utilizată în primul rând de mușchi și creier (fig. 4.4). Glicogenoliza nu necesită aport energetic suplimentar.



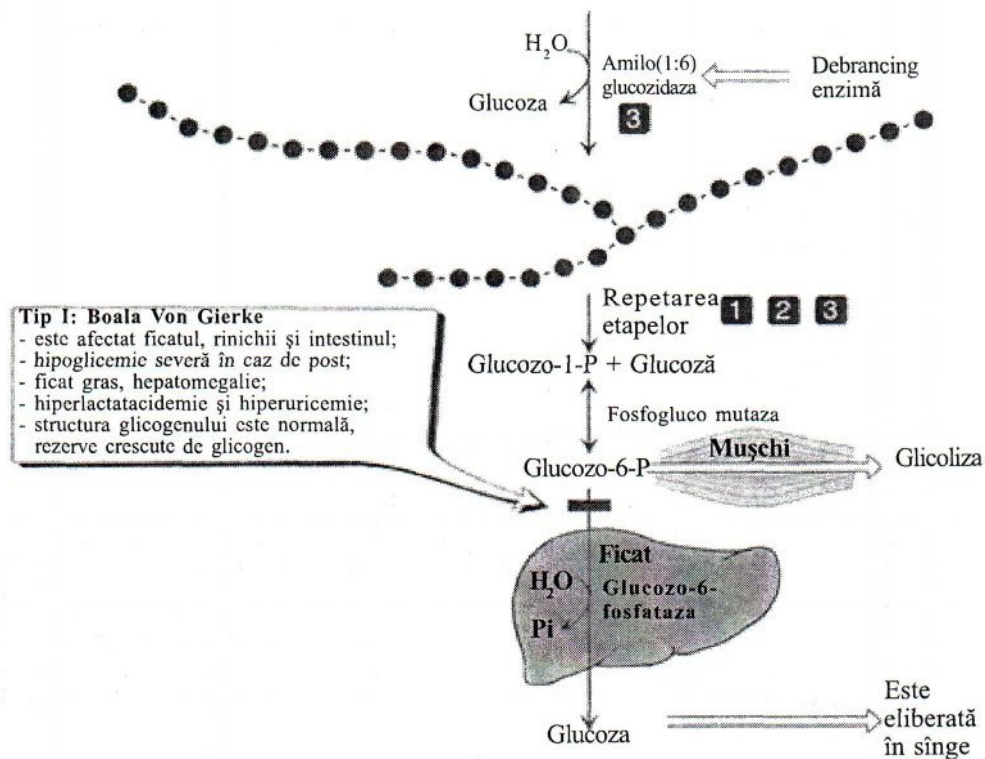


Figura 4.4. Schematic e redată degradarea glicogenului cu dereglările respective

În afară de maladiile menționate, sunt cunoscute și alte glicogenoze ca:

a) *afecțiunea Cori* defectă e enzima α -1,6 glucozidaza (enzima de deramifiere), este implicat în proces ficatul, inima, mușchii scheletali (*maladia Forbes*);

b) *maladia Anderson* este cauzată de deficiența enzimei de ramifiere (α -1,4-1,6 transglucozidaza), este afectat ficatul, splina, intestinul, unde se acumulează glicogen cu catene neramificate. Progresează ciroza ficatului și evoluția este fatală pînă la vîrsta de 20 ani;

c) *glicogenoza Hers* se caracterizează prin diminuarea activității fosforilazei hepatice, avînd în consecință depuneri masive de glicogen normal în ficat. Manifestările clinice sunt asemănătoare unei forme atenuate a *maladiei Von Gierke*;

d) *insuficiența fosfofructo kinazei* cauzează *maladia Tarui* – sunt afectați mușchii scheletali, eritrocitele ce determină o hemoliză intensă, acumularea lactatului. Diagnosticul și tratamentul este mult mai complicat la asocierea a mai multor tipuri de glicogenoze;

e) deficitul de *glicogen sintetază* provoacă o hipoglicemie, cu accentuarea cetogenezei și se caracterizează prin retard de creștere, deces precoce;

f) sunt descrise și *glicogenoze de tip IX și X*, cu deficit respectiv de *fosforilaz kinază* și *proteinkinază* ce conduc la hipoglicemie și hepatomegalie.

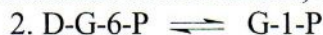
Majoritate glicogenozelor sunt afecțiuni ereditare ce duc la acumularea glicogenului în țesuturi și afectarea metabolismului glucidic, cu generarea simptomelor clinice ca: hepatomegalie, hipoglicemie, hipotonie musculară, deficit energetic în caz de efort fizic.

GLICOGENOGENEZA

Practic, are loc în orice țesut, procesul fiind deosebit de activ în ficat și mușchii scheletali.



Reacția este catalizată de *hexokinază*, ce necesită ioni de Mg^+ .



Reacția e catalizată de enzima *fosfogluco-mutaza*.



Reacția-cheie a sintezei glicogenului e activarea glucozei catalizată de enzima-G-1-P *uridil-transferază*.

O altă enzimă, *pirofosfataza*, hidrolizează PP_i la 2P_i :



4. Transferul grupelor glucozil de la UDP pe capătul nereducător al moleculei ramificate de glicogen e catalizat de *glicogen sintază* (GS):



În procesul acestei reacții se formează o legătură α -1,4 între C-1 al restului de glucoză și al C-4 restului terminal glucozid din lanțul glicogenului.

Echilibrul e deplasat în dreapta spre sinteza glicogenului. Enzima, ca activator, necesită ramura (inițiator, primer) moleculei de glicogen, cu nu mai puțin de 4 resturi de glucoză, la care enzima, consecutiv, adăunează grupe glucozidice din capătul nereducător. Rolul UDP-glucozei a fost evidențiat de biochimistul argentinian Luis Leloir, decernându-i-se Premiul Nobel în 1970.

Ramificarea se realizează sub acțiunea *4-6 transglucozidazei* (enzima de ramificare) și implică transferul fragmentului oligozaharidic, cel puțin 6, la capătul nereducător al ramurii ce conține nu mai puțin de 11 resturi de glucoză pe OH al C_6 al glucozei din aceeași ramură sau alta, dar orientată spre interiorul moleculei. Ca rezultat, se formează o ramură nouă. Glicogen sintaza poate atașa la ea resturi de glucoză. În situația în care nu există un primer glicogenic se recurge la un primer de natură proteică – *glicogenina*. Ultima prezintă o proteină catalitică glucozil transferazică, care permite inițierea procesului de sinteză și adăugarea succesivă a câtorva resturi glucozil. Procesul presupune transferul unui rest glucozil din UDP-glucoză pe gruparea OH a tirozinei din molecula glicogeninei. Sinteza glicogenului necesită un aport energetic echivalent cu 2 molecule de ATP.

Ramifierea amplifică solubilitatea glicogenului și numărul de capete nereducătoare (fig. 4.5).

Reglarea proceselor de liză și sinteză a glicogenului

Așadar, glicogenul se supune mai lesne acțiunii *glicogen fosforilazei* și *glicogen sintazei*.

Enzimele respective se reglează reciproc atunci când una e activă, cealaltă e inhibată. Glicogen fosforilaza și glicogen sintaza sunt prezente în două forme: fosforilate și defosforilate. Controlul metabolic variat și complex este realizat atât prin reglarea covalentă, cât și prin cea alosterică. S-a stabilit că: G-Fa e activă în forma fosforilată și G-Fb e mai puțin activă defosforilată, pe când G-Sa e activă în forma defosforilată și G-Sb mai puțin activă – fosforilată.

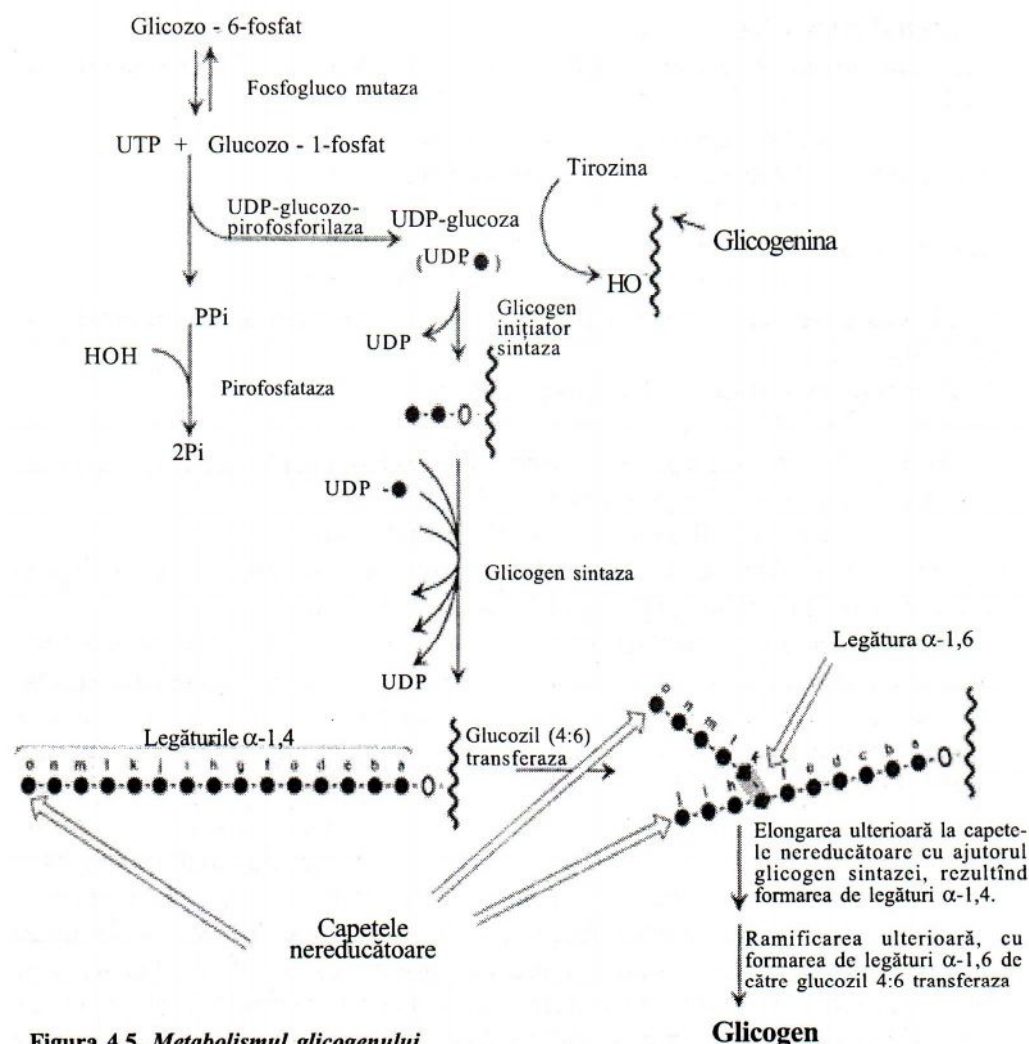


Figura 4.5. Metabolismul glicogenului

Interconversia celor două forme ale G-F se realizează grație acțiunii antagoniste a două enzime: *glicogenfosforilaz kinaza* și *glicogenfosforilaz fosfataza*. Kinaza fosforilează restul de serină în centrul activ al G-Fb, cu ajutorul ATP. Fosfataza scindează hidrolitic P de la G-Fa.

Glicogen fosforilaz kinaza (G-F-K) reprezintă o enzimă constituită din 4 tipuri de subunități, fiecărei fiindu-i proprii 4 copii. Subunitatea γ – subunitate catalitică; α – β – σ au funcții reglatorii; γ e reprezentată de calmodulină - proteină ce fixează Ca^{2+} și care, în funcție de concentrația citoplasmică a acestuia, își modifică conformația.

Însăși enzima glicogen fosforilaz kinaza are două forme interconvertibile: transformarea formei inactive în activă are loc prin fosforilarea realizată la α și β , cu contribuția ATP și a kinazei (*Proteinkinaza dependentă de AMPc*). Se inactivează de către o *fosfoprotein fosfatază*. AMPc e mesagerul secund format ca răspuns la acțiunea adrenalinei, glucagonului care stimulează activitatea kinazei (AMPc dependentă), efectuând

fosforilarea kinazei și activînd C-Fb, concomitent fosforilînd-o și accelerînd scindarea glicogenului. G-Fb în mușchi e activată de AMPc (modulator pozitiv), iar ATP este modulator negativ. Activitatea finală e determinată de raportul AMP/ATP. Glicogen fosforilaza "a" este AMP independentă. Studiul roentgencristalografic al formelor "a" și "b" ale glicogen fosforilazei au favorizat perceperea mecanismelor catalitice și reglatorii ale acestei enzime cardinale a metabolismului. S-a stabilit că 841 de resturi de aminoacizi sunt aranjate compact în 3 domenii structurale: domeniul amino-terminal (310); domeniul fixator de glicogen (160) și carboxiterminal (371). Centrul catalitic e localizat în adîncul subunității formate din resturile aminoacide ale celor 3 domenii, fiind apărat de mediul apos ce facilitează predominarea fosforilării față de hidroliză (fig.4.6).

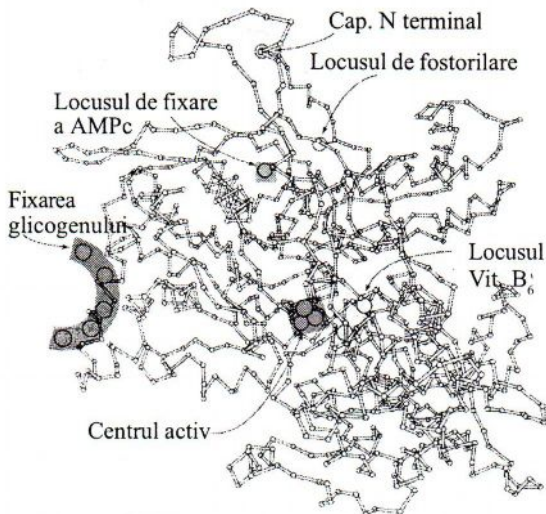


Figura 4.6. Imaginea schematică a carcsei α -carbonice din fosforilaza "a"

Vit. B₆ necesară pentru activitatea enzimei se fixează în apropierea locului de fixare a G-1-P. Molecula enzimei înlesnește un locus de fixare a glicogenului la o depărtare de 30Å de la centrul activ, ce favorizează fosforilarea multor capete de glicogen, nedisociind și resociind după fiecare ciclu catalitic. Conține, de altfel, și două locusuri alosterice de reglare la hotare între subunități (AMPc și locusul de fosforilare a serinei). Enzima se studiază încontinuu, dar și în prezent se poate afirma că ea reprezintă un integrator fin informativ al metabolismului energetic celular.

Proteinkinaza (PK) favorizează fosforilarea conform reacției:



pe cînd fosfoprotein fosfataza (FPF) detașează fosforul, activînd sintaza:



Aceste două enzime reglatoare ale *glicogen sintazei* sunt identice cu cele două ale glicogen fosforilaz kinazei. De aceea, enzimele se reglează reciproc. O acțiune adițională întreprinsă de celulă pentru a evita desfășurarea simultană a defosforilării și a fosforilării constă în inactivarea fosfoprotein fosfatazei de către o proteină – *inhibitorul de fosfatază*, activ prin fosforilare AMPc dependentă. Această fosforilare este realizată, însă, cu reziduu de treonină, nu și de serină, ca în celelalte cazuri. Prin atașarea inhibitorului de fosfatază la FPF este suprimată numai acțiunea hidrolitică a enzimei asupra reziduurilor de fosfoserină, nu și asupra celor de fosfotreonină. G-S se reglează de către modulatorii alosterici, G-Sb se activează de către glucozo-6-fosfat și această formă e denumită dependentă.

Sporirea concentrației de AMPc produsă prin activarea adenilatciclazei (activată de

glucagon și adrenalină) activează proteinkinaza AMPc dependentă ce efectuează fosforilarea simultană a G-F-K, G-F, G-S și a inhibitorului de FPF (ultimul inactivează FPF), excluzând funcționarea simultană a celor două enzime antagoniste (PK și FPF). Procesul de glicoliză se va declanșa, suprimându-se sinteza (fig. 4.7).

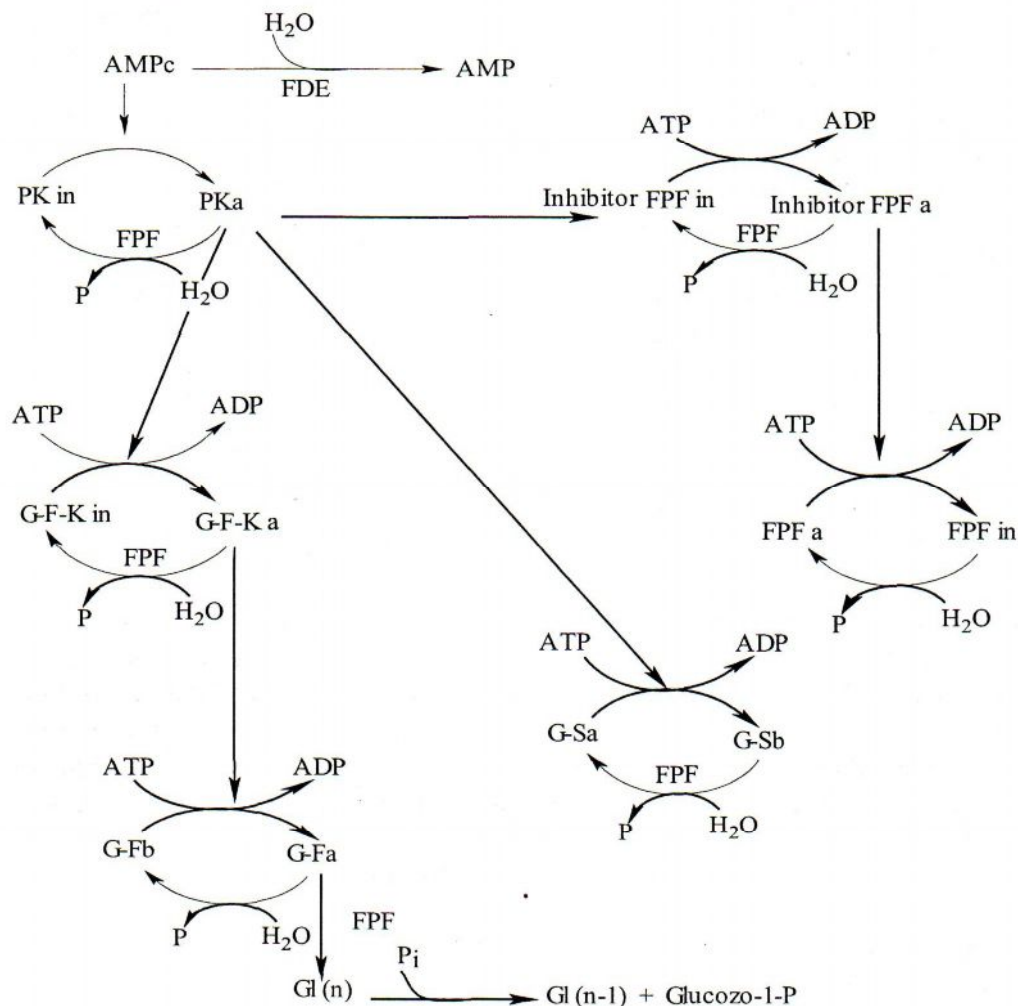


Figura 4.7. Reglarea sintezei și lizei glicogenului

Reducerea concentrației de AMPc (adică a concentrației de glucagon și adrenalină) sau, respectiv, creșterea concentrației de insulină (activează fosfodiesteraza) inactivează proteinkinaza AMPc dependentă și, deci, sisteză fosforilarea G-F-K, G-F, G-S și a inhibitorului FPF.

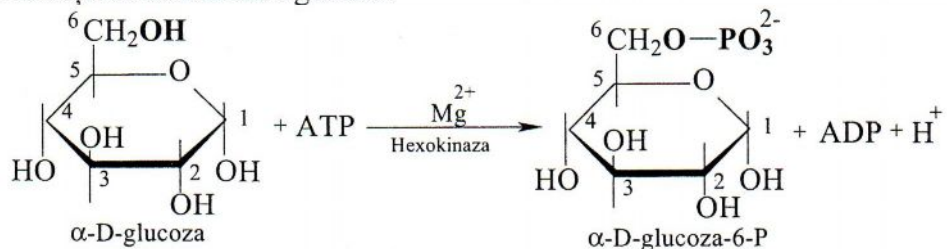
Inhibitorul devine inactiv, permite acțiunea FPF, care defosforilează cele trei enzime implicate în glicogenoliză. Ca urmare, G-S se activează. Activarea glicogenolizei coincide în timp cu inactivarea glicogen sintezei.

Glicoliza (calea Embden-Mejerhof)

Glucosa îndeplinește roluri metabolice multiple în organism, fiind indispensabilă pentru el, și servește drept combustibil excelent pentru țesuturi. Utilizarea glucozei drept sursă de energie necesită parcurgerea glicolizei – degradarea ei incompletă pînă la piruvat și, încontinuu, pînă la CO_2 .

Calea centrală a catabolismului e universală, se deosebește prin caracterul reglării vitezei scindării și prin evaluarea metabolică a piruvatului.

1. Reacția de fosforilare a glucozei



Enzima fosforilării – *hexokinaza* – e prezentă în toate celulele, are o structură tridimensională, legarea se face după tipul inducției coordinative. Molecula enzimei suferă modificări conformaționale profunde (fig. 4.8).

E reprezentată de izoforme diferite – toate catalizează aceeași reacție, dar cu viteze diferite. Glucosa în mușchi fosforilează cu viteză maximă și enzima e inhibată de G-6-P – produs și inhibitor alosteric.

În ficat, *glucokinaza* se caracterizează prin:

- a) e specifică numai pentru D-glucoză;
- b) G-6-P n-o inhibă;
- c) conferă K_m mare (10mM), comparativ cu 0,10mM pentru hexokinază. E activă la concentrații mari de glucoză, ce favorizează depunerea ei în glicogen. La bolnavii de *diabet zaharat* cantitatea glucokinazei e redusă, avînd

consecințe grave: nivelul glucozei în sînge e înalt, iar nivelul glicogenului în ficat e scăzut;

d) K_m mare oferă posibilitate creierului și mușchilor să utilizeze glucoza primordial la o cantitate mică în sînge.

2. Următoarea reacție reprezintă conversia glucozo-6-fosfatului la fructozo-6 fosfat (ester Neuberg).

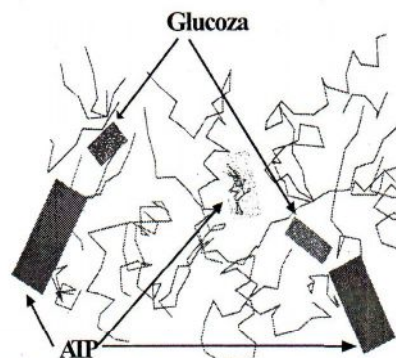
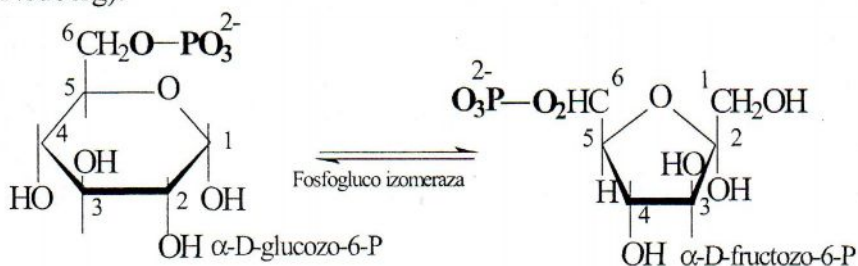
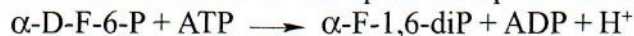


Figura 4.8. Imaginea schematică a scheletului de carbon din hexokinaza din drojii. Două subunități identice interacționează nesimetric

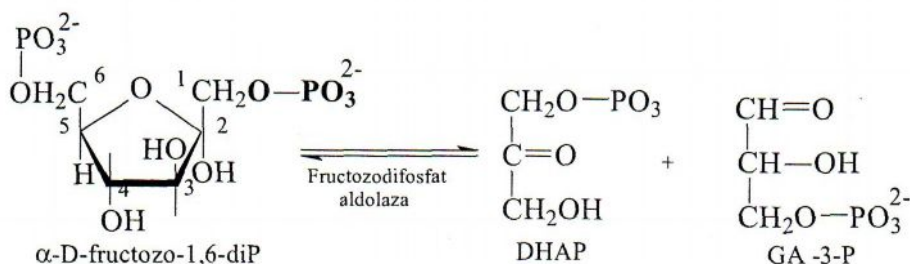
Enzima *fosfogluco izomeraza* este o aldolază, ce necesită prezența Mg^{2+} și transformă aldoza în cetoză. Grupa carbonil e transferată din poziția 1 în 2.

3. Fosforilarea fructozo-6-fosfatului este reprezentată prin următoarea reacție:



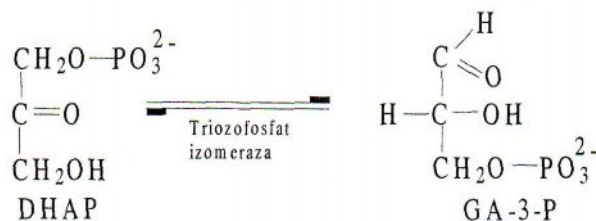
Enzima *fosfofructo kinaza* catalizează reacția ireversibilă care prezintă un indice important de control al glicolizei. Reprezintă o enzimă compusă, inhibată de ATP, citrat, acizi grași. Reacția decurge lent și determină viteza glicolizei, în ansamblu.

4. Scindarea fructozo-1,6-bifosfatului în 2 trioze:



Enzima e o *fructozodifosfat aldolază* (aldolază), ce nu necesită Mg^{2+} , dar la unele organisme necesită Zn^{2+} . Produsele sunt momentan utilizate în alte reacții. Reacția e dependentă de temperatură, fapt ce grăbește formarea rezultatelor.

5. Conversia triozelor fosforilate prezintă următoarea reacție:

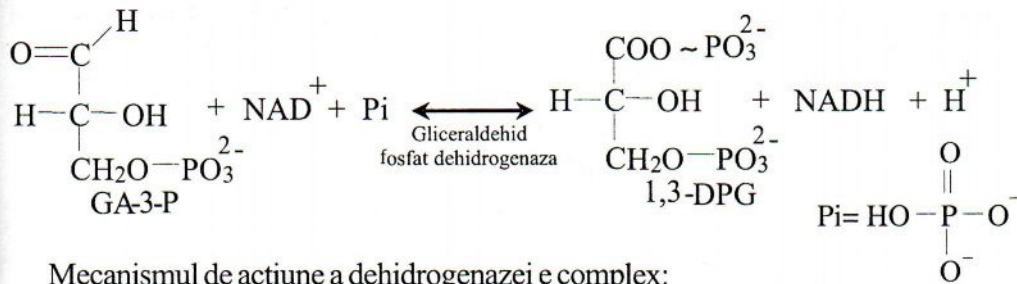


Enzima e o *triozofosfat izomerază*. Reacția e deplasată spre formarea cetoformei –DHAP (95%), dar pe măsura utilizării gliceraldehid-3-P are loc formarea lui.

Așadar, în cele 5 etape ce reprezintă prima fază a glicolizei, molecula de glucoză, utilizând două molecule de ATP, s-a scindat în două trioze.

A doua fază a glicolizei, în care se includ cele două molecule de GA-3-P în aceleași reacții chimice, sunt reacții de oxido-reducere cuplate cu fosforilarea la nivel de substrat și sinteză de ATP.

1) Oxidarea fosforilantă a gliceraldehid-3-fosfatului prezintă prima reacție a acestei faze. Enzima e o *gliceraldehid fosfat dehidrogenază*. Grupa aldehyd se oxidează și nu se formează acidul carbonic, dar un amestec din anhidridă a acidului fosforic și a acidului 3-fosfoglicerice, adică 3-fosfoglicerolfosfat, care, de fapt, este un acilfosfat, ce se caracterizează printr-o valoare de $\Delta G = 11,8 \text{ kcal}$. O parte considerabilă a energiei libere, ce se elimină la oxidarea grupei aldehydice, se păstrează în grupa fosfat a acilfosfatului (la C-1).

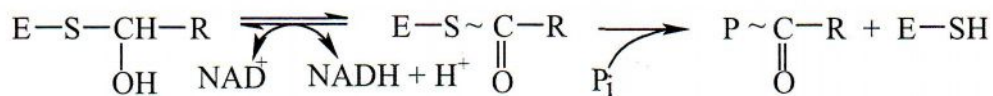


Mecanismul de acțiune a dehidrogenazei e complex:

a) adăuția unei grupe SH din centrul activ al enzimei la gliceralehid-3-fosfat, cu formarea unui semitioacetat (legătură covalentă):

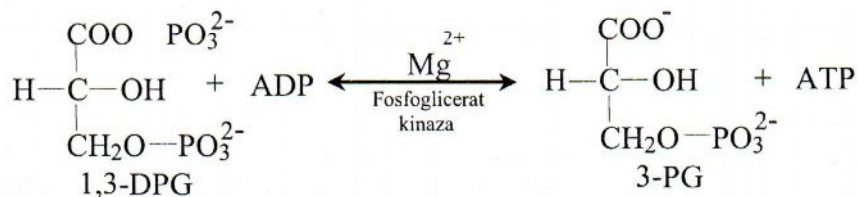


b) enzima transferă H^+ de la substrat la NAD^+ , fixat rigid cu centrul activ. În urma transferului apare complexul macroergic acilfosfat, care ulterior interacționează cu P liber, generând 3-P-G-P și regenerând enzima liberă:

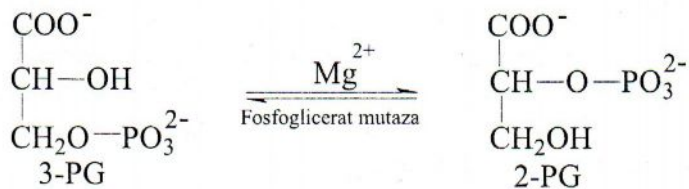


Enzima e compusă din 4 subunități identice. Fiecare lanț polipeptidic conține 330 aminoacizi. Grupele SH pot fi legate de iodacetat (ICH_2COOH) – inhibitor necompetitiv.

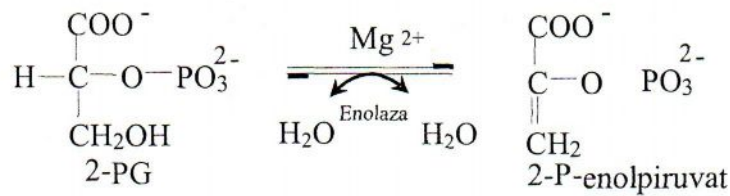
2) Fosforilarea la nivel de substrat ($\Delta G = -4,5 \text{ kcal}$) este rezultatul transferului restului fosforil pe ADP, reacție catalizată de fosfoglicerat kinază:



3) În continuare, are loc transformarea 3-fosfogliceratului în 2-fosfoglicerat, sub acțiunea unei mutaze specifice și în prezența obligatorie a ionilor Mg^{2+} : ($\Delta G = +1,06 \text{ kcal}$)

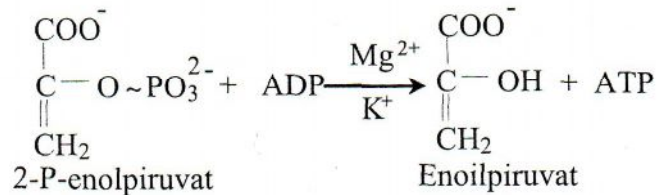


4) Enzima enolaza catalizează reacția reversibilă de dehidratare. În cadrul acestui proces are loc repartiția energiei în moleculă:



Modificările energiei libere în această reacție sunt $\Delta G = 4,2 \text{ kcal} \rightarrow \Delta G = -14,8 \text{ kcal}$. Enzima este inhibată de fluorid (F^-) în prezența fosfatului. Realmente, *fluorid fosfatul* ce leagă ionii Mg^{++} este inhibitorul autentic.

5) Transformarea 2-fosfoglicerat în piruvat e catalizată de enzima *piruvat kinaza*. Are loc o *fosforilare la nivel de substrat*. Forma enol rapid se transformă în ceto (nefermentativ), ce predomină la $\text{pH} = 7,0$ ($\Delta G = -7,5 \text{ kcal/mol}$):



Reacția e deplasată în dreapta, forța motrice o constituie degajarea de energie. Reacția e ireversibilă.

În glicoliză se observă reacții chimice de 3 tipuri:

- 1) scindarea scheletului hidrocarburic al glucozei, cu formarea piruvatului (via C);
- 2) fosforilarea ADP de compuși SME (via P);
- 3) via transferului de electroni (via H).

E de menționat că:

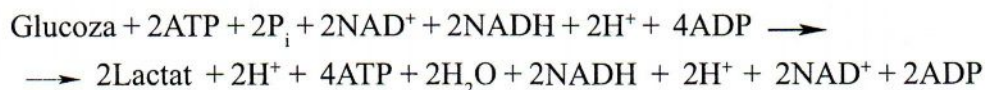
1. Enzimele ce catalizează reacțiile glicolitice în citozol sunt solubile.
2. De la glucoză pînă la piruvat sunt antrenați 9 metaboliți intermediari fosforilați, care îndeplinesc următoarele funcții:

a) la $\text{pH}=7,0$ fosfatul poartă sarcină negativă, membranele celulare sunt impermeabile pentru moleculele cu sarcină și, deci, intermediarii glicolizei nu pot părăsi celula. Glucoza, lactatul, piruvatul au sisteme de transport specifice;

b) acești metaboliți reprezintă componentele necesare în procesul fermentativ de acumulare a energiei metabolice – transferul la ADP, cu sinteză de ATP;

c) grupele fosfat îndeplinesc funcții de identificare, fapt ce atestă că moleculele produselor intermediare ale glicolizei ocupă o poziție justă față de centrul activ al enzimelor corespunzătoare. Aproape toate enzimele necesită ioni de Mg^{++} , care formează complexe cu grupele fosfat în ADP, ATP, la fel ca și intermediarii glicolizei. O anumită specificitate manifestă față de complexele cu ioni de Mg^{++} .

Stoichiometria glicolizei anaerobe:



Obținerea unei cantități mici de ATP eliberată rapid este avantajoasă pentru necesitățile imediate de energie sau activitatea unor țesuturi cu necesități energetice minime. În țesuturile anaerobe, inclusiv și în ficat, acidul lactic este transformat în acetil-CoA și utilizat ca substrat în ciclul Krebs.

3. O altă cale de metabolizare este *sinteza etanolului*. Unele microorganisme, de exemplu drojdiile, fermentează glucoza la fel până la piruvat. Apoi:



Enzima *piruvat decarboxilază* (Mg^{2+} , TPP). Reacția în celulă e ireversibilă. Enzima nu se conține în țesuturile animale.



Enzima reacției este *alcool dehidrogenază*. În 1856, Louis Pasteur a argumentat fermentația zahărului în alcool, prin acțiunea microorganismelor. În condiții sterile, fermentația nu are loc. De pe bobitele de poamă proaspete s-a izolat cultura de drojdie și s-a determinat că ea e responsabilă de fermentația sucului. Transformarea vinului în oțet e cauzată de alte microorganisme.

Reglarea glicolizei. Viteza reacțiilor catabolice principale ce asigură scindarea glucozei și utilizarea energiei chimice sub forma de ATP, în fiecare moment se reglează în corespundere cu necesitățile celulei în ATP, indiferent de calea în continuare a utilizării ATP – biosinteza, transfer activ sau lucru mecanic. Enzimele reglatoare percep diferite semnale ale căilor metabolice și sunt receptive la ele.

Prima reacție reglatoare (1) e catalizată de *hexokinaza* ce fosforilează glucoza liberă cu ajutorul ATP în poziția 6. E o enzimă alosterică ce se inhibă de G-6-P. Glucokinaza ficatului nu se inhibă, și surplusul de glucoză e transformat prin G-1-P în glicogen. În condiții normale, insulina stimulează sinteza glucokinazei. În inaniție și diabet, activitatea glucokinazică e redusă.

Reglarea majoră (2) a glicolizei e determinată de activitatea fosfofructo kinazei, enzimă alosterică conjugată, reglată de un număr suficient de modulatori pozitivi și negativi. Activitatea ei e dependentă de concentrația substraturilor (ATP și F-6-P), produselor (ADP și F-1-6-diP). Sunt semnificativi AMP, citratul, Mg^{2+} , fosfatul și alți metaboliți. Principalii modulatori negativi sunt ATP și citratul, pozitivi – AMP, F-1,6-diP.

Ca rezultat al acțiunii alosterice, viteza reacțiilor crește de sute de ori la trecerea mușchiului din stare de repaus în stare activă. Cu alte cuvinte:

1) stimularea glicolizei are loc în condițiile unei sarcini energetice mici în celula ce solicită energie;

2) conținutul mare de *citrat*, ca o consecință a surplusului de compuși ce joacă rolul de precursori ai energiei. În final, scindarea glucozei nu e oportună;

3) un suficient efector alosteric pozitiv constituie *F-2,6-difosfatul*, integrator metabolic sintetizat de o enzimă bifuncțională: fosfofructo-2-kinaza/fructozo-2,6-difosfataza

(PF-2-K/F-2,6-diP-aza) (fig. 4.9). Enzima a fost izolată și secvenționată, include 470 aminoacizi care pot fi divizați în două domenii: kinazic – aminoterminal (1-249) și cel fosfatazic – C terminal (250-470).

Enzima se reglează covalent prin interconversie fosforilare – defosforilare. La fosforilare este acționată de proteinkinaza A (AMPc dependentă).

Activitatea kinazei scade, în timp ce activitatea fosfatazei crește. Concentrația hepatică a F-2,6-diP este controlată de doi factori majori: F-6-P și AMPc.

F-6-P mărește concentrația de F-2,6-diP, prin activarea alosterică a PF-2-kinazei și inhibiția F-2,6-difosfatazei, conducând la stimularea glicolizei și inhibiția gluconeogenezei. AMPc scade concentrația de F-2,6-difosfat, inactivând via PK-A (PF-2-K inactivă - fosforilată) și activează simultan F-2,6-difosfataza (activă - fosforilată).

Glucagonul, reducând concentrația de F-2,6-difosfat, inhibă glicoliza, lipogeneza și activează gluconeogeneza. Insulina inhibă gluconeogeneza, lipoliza și stimulează glicoliza (fig.4.9).

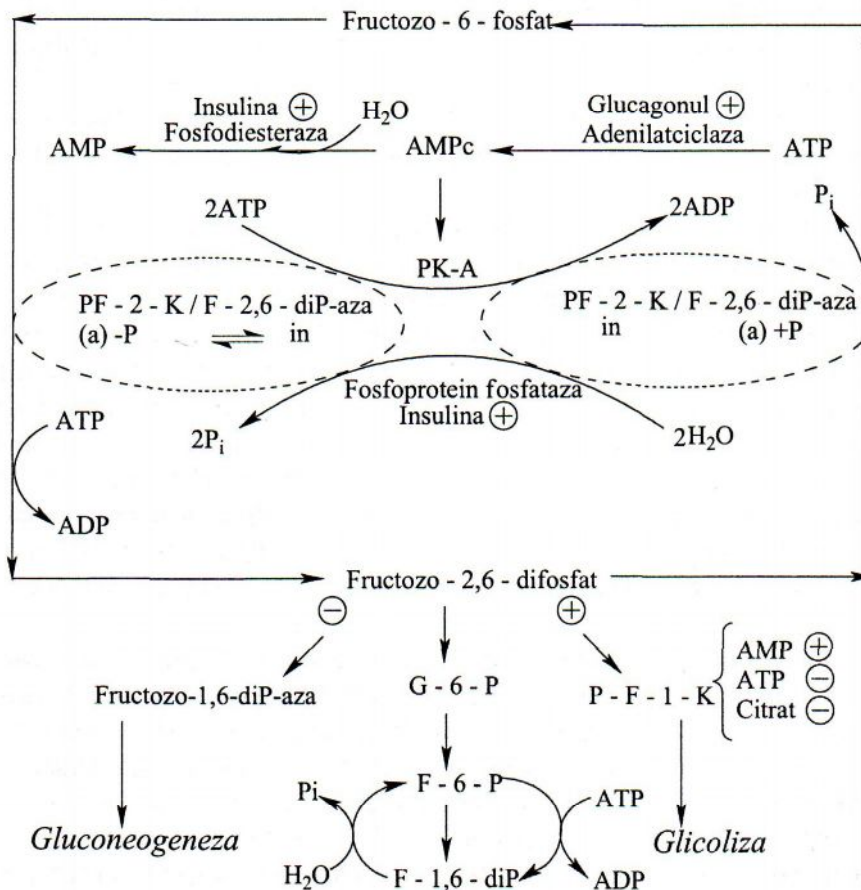


Figura 4.9. Rolul reglator al fructozo-2,6-difosfatului

O altă reacție reglatoare e cea piruvat kinazică (3). Piruvat kinaza este o enzimă alosterică. Se află în trei izoforme, ce diferă după repartiția lor în țesuturi și receptivitatea

la diferiți modulatori. L-forma predomină în țesuturi capabile de gluconeogeneză (ficat, rinichi). Enzima e inhibată și de alanină. În condiții de aprovizionare suficientă cu energie și precursori de glucoză, glicoliza se inhibă creînd o situație favorabilă gluconeogenezei. Este inhibată de ATP, acetil-CoA, acizi grași cu greutate moleculară mare. M-forma nu posedă o atare reglare.

Glicoliza se reglează subtil, foarte complicat și nu e de mirare, deoarece reprezintă cea mai veche cale metabolică, fiind una din pozițiile principale. *Glicoliza, ciclul Krebs, fosforilarea oxidativă sunt coordonate între ele, funcționînd în regim de autoreglare și economie maximă.* În celulele cancerigene e dereglată coordonarea lor și glicoliza e accelerată, formînd mult lactat.

Patologiile medicale

Mutațiile la nivelul genei pentru *glucokinază* cauzează apariția unei boli monogenetice, cu debut precoce: diabetul zaharat de tip MODY-2. Diminuarea activității glucokinazei cauzează scăderea fluxului glicolizei în ficat și pancreas, care determină creșterea glicemiei și hipersecreția reacțională de insulină. Cu toate acestea, nivelul insulinei sintetizate de către pancreas este mult diminuat, ca urmare a deficitului energetic la nivelul celulelor beta ale pancreasului.

În ficat are loc diminuarea glicogenogenezei și amplificarea gluconeogenezei, ca răspuns la reducerea ratei glicolizei. Aceste perturbări explică hiperglicemia persistentă observată la pacienți.

Deficitul *piruvat kinazei* cauzează blocarea întregului flux al intermediarilor la nivelul glicolizei. Manifestările clinice constau în apariția unei anemii hemolitice ereditare, datorită imposibilității desfășurării glicolizei în eritrocite.

Enolaza este inhibată sub acțiunea fluorurii de sodiu, care acționează ca inhibitor competitiv, blocînd glicoliza și producerea acidului lactic în hematii. Cu toate că structura NaF nu seamănă cu cea a 2-fosfogliceratului, se consideră că efectul inhibitor se datorează formării unui complex între fosfat, Mg^{2+} și NaF, care blochează accesul substratului la centrul activ al enzimei. Acest inhibitor este utilizat frecvent în laboratoarele clinice, deoarece permite dozarea corectă a glicemiei, prin blocarea utilizării glucozei plasmatice de către eritrocitele prezente în proba recoltată. În caz contrar, consumul glucozei și producerea acidului lactic în hematii conduc la rezultate incorecte în cursul dozărilor efectuate.

Deficitul *piruvat dehidrogenazei* sau blocarea lanțului respirator mitocondrial antrenează acumularea excesivă a acidului piruvic provenit din glicoliză. Acesta va fi convertit în acid lactic sub acțiunea lactatdehidrogenazei. Creșterea nivelului de acid lactic în circulație determină apariția acidozei lactice, care poate fi primară sau secundară.

Deficitul ereditar al lactat dehidrogenazei cauzează apariția unei miopatii metabolice, manifestată prin reducerea nivelului seric al lactatului și intoleranță la efort fizic.

Distribuția izoenzimelor tisulare de LDH este variabilă. LDH₁ și LDH₂ sunt principalele izoforme în inimă, rinichi, creier și eritrocite. LDH₃ și LDH₄ sunt predominante în glandele endocrine (tiroida, suprarenale, pancreas), splină, timus, leucocite, trombocite. LDH₄ și LDH₅ preponderent se află în ficat și mușchii scheletali. Distribuția normală a izoenzimelor LDH în serul sanguin este următoarea:

$$\text{LDH}_1 < \text{LDH}_2 > \text{LDH}_3 > \text{LDH}_4 \Leftrightarrow \text{LDH}_5$$

În *infarctul miocardic* crește atât LDH_1 , cât și LDH_2 , dar $\text{LDH}_1 > \text{LDH}_2$. Se constată creșterea LDH_3 cu predominarea față de LDH_2 în *maladiile neoplastice*, *limfoproliferative* și ale trombocitelor. LDH_2 și LDH_3 se majorează în *infarctul pulmonar*. Valori majore ale LDH_5 se depistează în *afecțiunile ficatului și mușchilor scheletali*.

Acidoza lactică constituie un sindrom metabolic caracterizat prin acumularea acidului lactic în sânge (valori care depășesc 5 mmol/L), concomitent cu scăderea pH-ului sanguin sub 7,2. Cele mai frecvente cauze care duc la apariția acidozei lactice sunt:

- a) deficitul ereditar al piruvat dehidrogenazei sau carența de vitamina B_1 ;
- b) imposibilitatea regenerării formei oxidate a coenzimei NAD^+ la nivelul lanțului respirator mitocondrial, prin deficitul unuia din complexele lanțului transportator de electroni sau prin blocarea fosforilării oxidative;
- c) producerea excesivă de NADH , de exemplu în caz de intoxicație cu alcool;
- d) blocarea utilizării acidului lactic pentru gluconeogeneză în caz de deficit al enzimelor gluconeogenezei, de exemplu deficitul piruvat carboxilazei, responsabilă de inițierea gluconeogenezei, deficitul glucozo-6-fosfatazei;
- e) accentuarea marcată a glucozei anaerobe, de exemplu în caz de efort fizic prelungit.

Acidoza lactică secundară se întâlnește în toate situațiile caracterizate prin hipoxie sau anoxie prelungită, șoc, hipoperfuzie, insuficiență cardiovasculară, precum și în carențele de vitamină B_1 .

Tratamentul constă în mărirea ratei de perfuzie tisulară, respectiv administrarea vitaminei B_1 . Se depistează o acidoză lactică și a altor acizi organici la pacienții cu afecțiuni ale intestinului subțire (malabsorbția, bypass jejunal, rezecția intestinală). D-lactatul este produsul bacteriilor anaerobe, care apoi, prin via portală, este vehiculat în circulație. În terapia acestor maladii se vor utiliza antibioticele, se va limita folosirea carbohidraților și e necesară recolonizarea florei bacteriene.

Acidoza primară va apărea la deficitul uneia din subunitățile piruvat dehidrogenazei și se manifestă încă în perioada neonatală prin creșterea marcată a acidului lactic în circulație (mai mare decât 5 mmol/L) și deficit energetic tisular, în special în organele cu activitate metabolică intensă (insuficiență hepato-renală, encefalopatie metabolică, etc.). Tratamentul vizează administrarea substanțelor nutritive de natură lipidică, a căror oxidare este independentă de complexul piruvat dehidrogenazic.