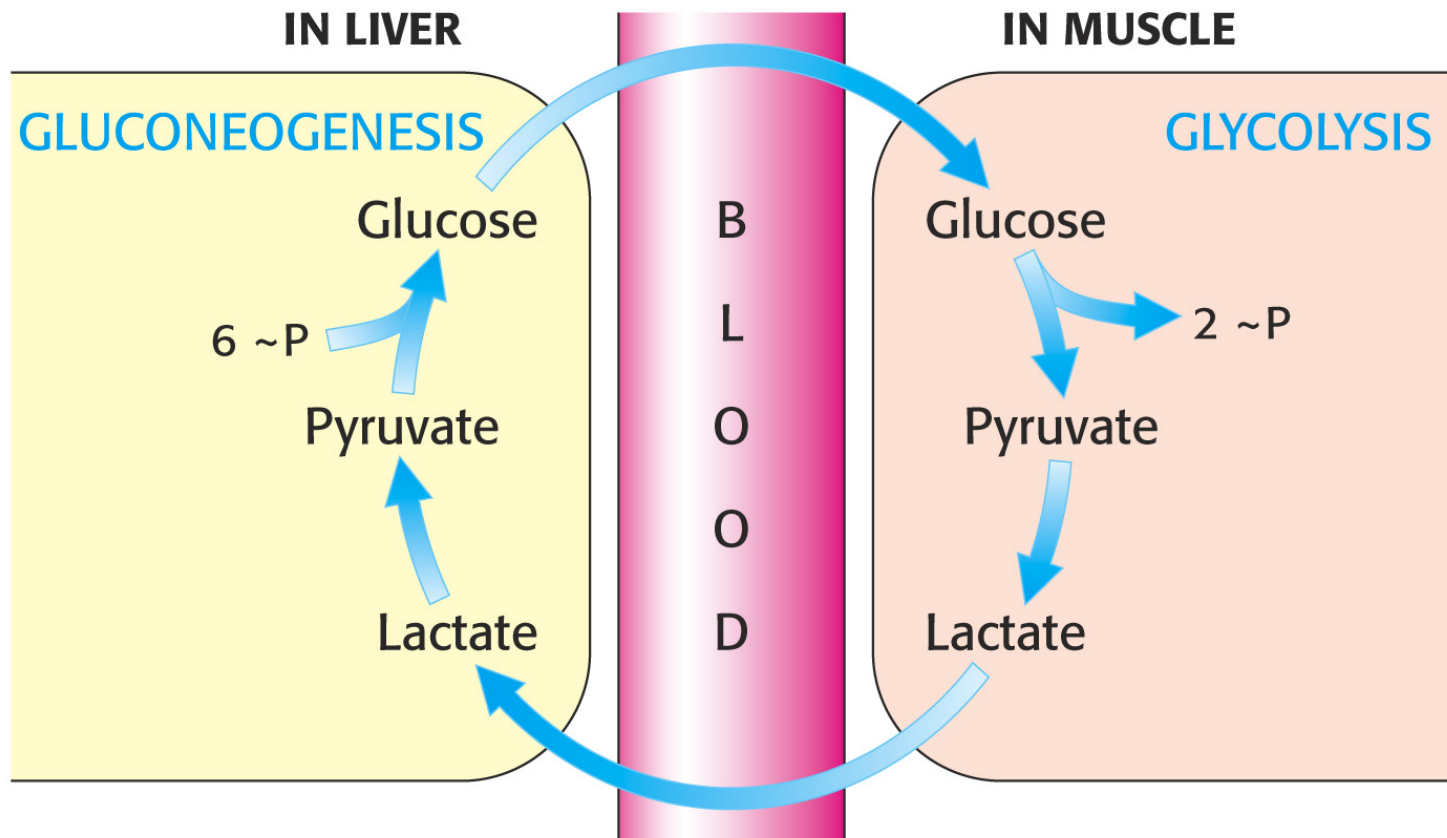


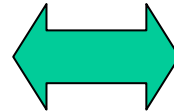
# Gluconeogenesis



# Importancia biológica

- Determinados tejidos **NECESITAN** un aporte **CONTINUO** de glucosa:
  - Cerebro: depende de glucosa como combustible primario
  - Eritrocito: utiliza glucosa como **único** combustible

<u>Consumo glucosa</u>	
Cerebro:	120 g/día
Organismo:	160 g/día



<u>Reservas de glucosa</u>	
Líquidos corporales:	20 g
Glucógeno:	160 g

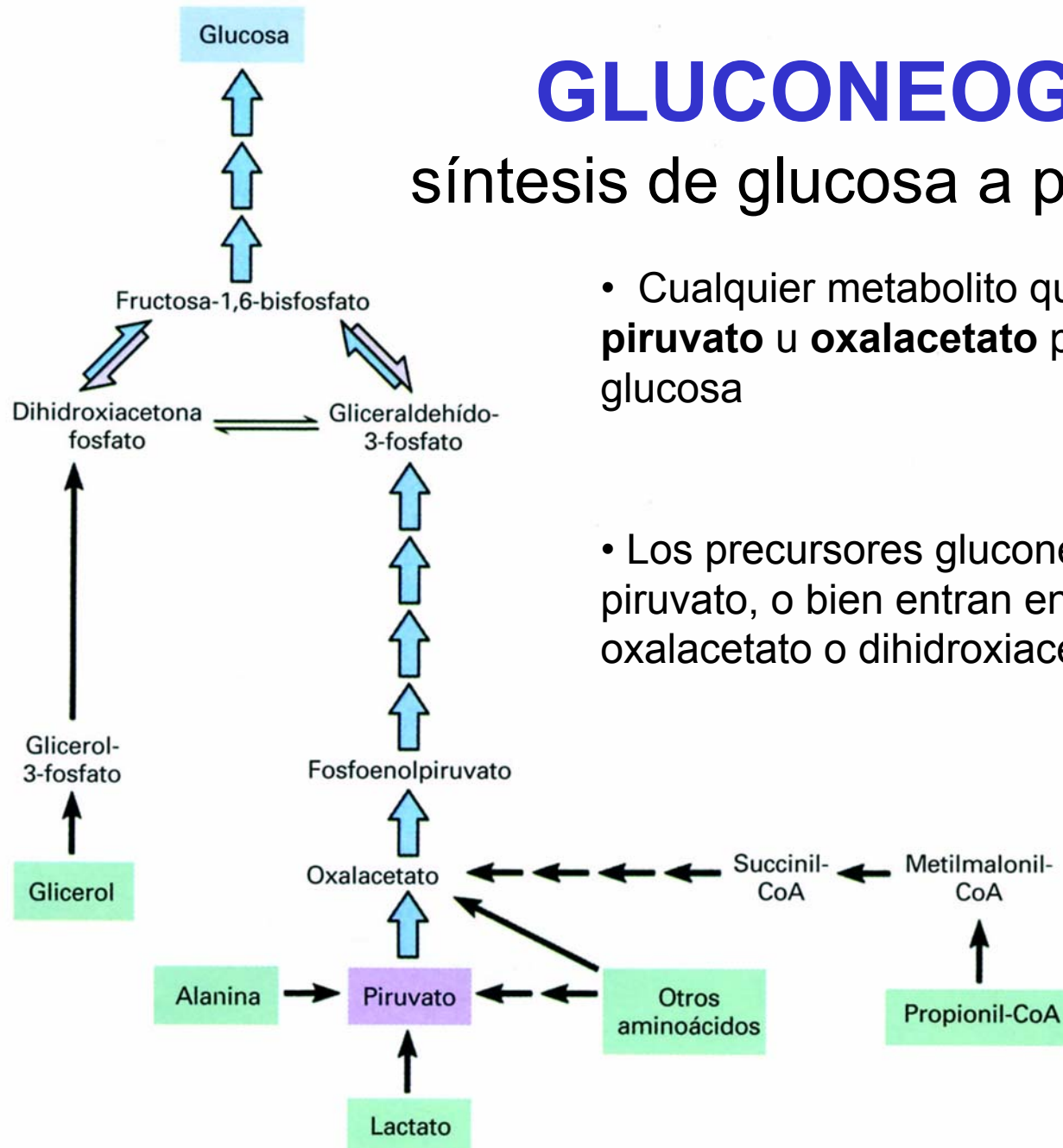
- Las reservas directas de glucosa solo son suficientes para cubrir las necesidades de un día!!!: períodos más largos de ayuno implican la **necesidad** de sistemas alternativos de obtener glucosa



- GLUCONEOGENESIS:** síntesis de glucosa a partir de precursores que no sean hidratos de carbono:
- **LACTATO:** músculo esquelético activo cuando  
Glicolisis > fosforilación oxidativa
  - **AMINOACIDOS:** degradación de proteínas de la dieta o proteínas de músculo esquelético.
  - **GLICEROL:** hidrólisis triacilglicéridos en células adiposas.

# GLUCONEOGENESIS:

síntesis de glucosa a partir de piruvato.

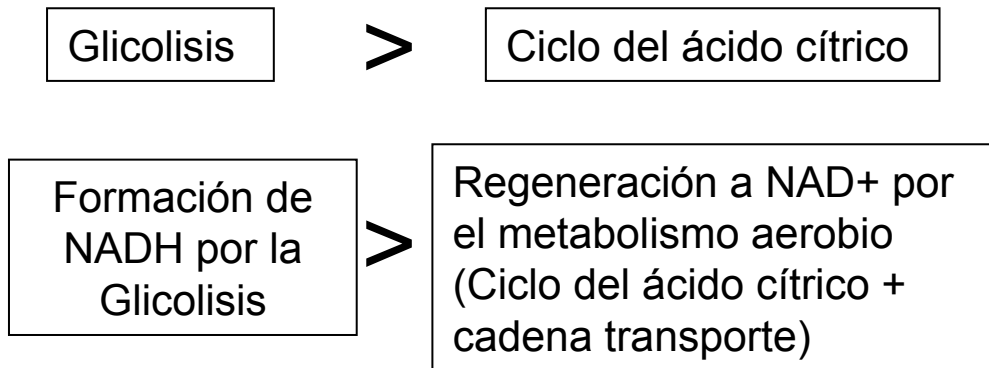


- Cualquier metabolito que pueda ser convertido a **piruvato** u **oxalacetato** puede ser un precursor de glucosa

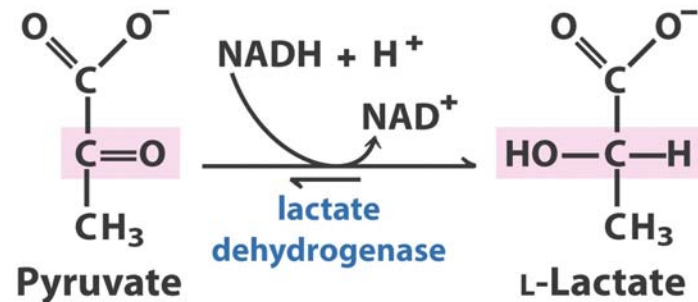
- Los precursores gluconeogénicos se convierten a piruvato, o bien entran en la ruta por conversión a oxalacetato o dihidroxiacetona fosfato

# Lactato como precursor gluconeogénico

- Durante ejercicio físico vigoroso, cuando se contrae el músculo esquelético:

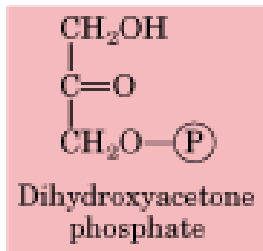
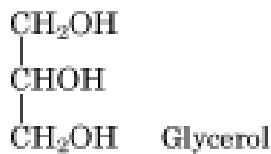
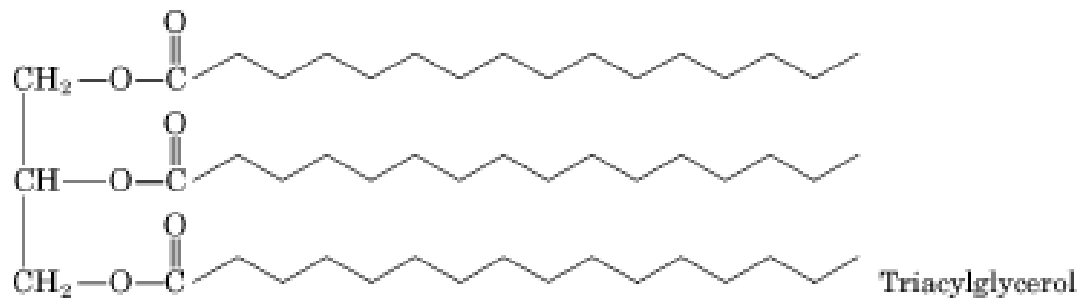


- NADH es regenerado a NAD<sup>+</sup> por **LACTATO DESHIDROGENASA**

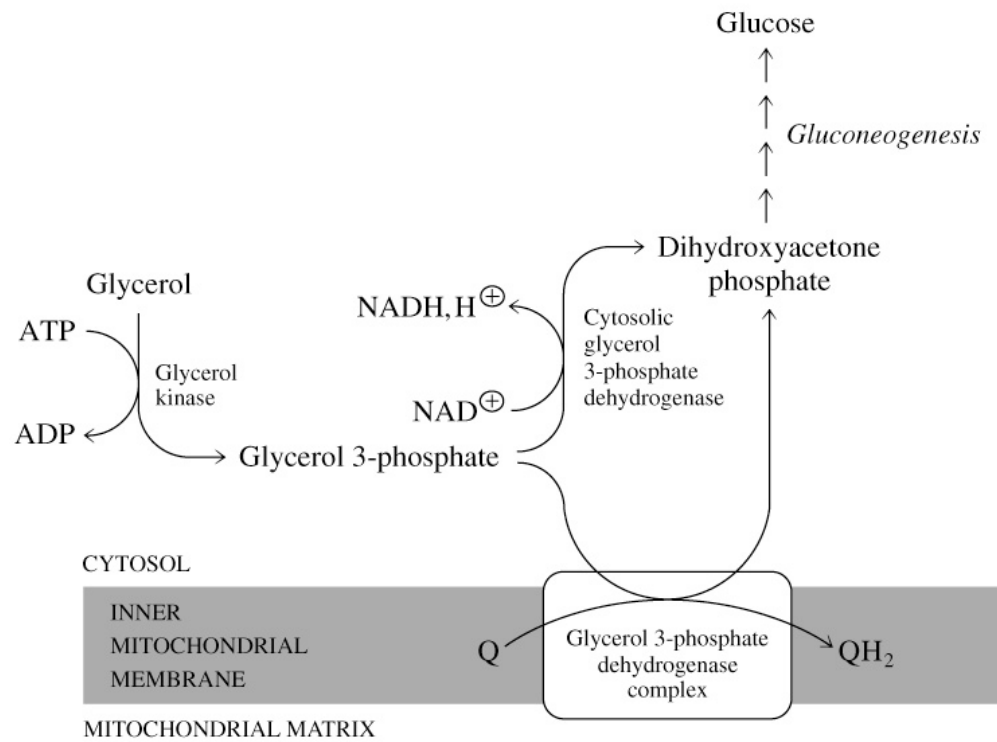


$$\Delta G'^{\circ} = - 25.1 \text{ kJ/mol}$$

- Lactato como tal queda como punto muerto en el metabolismo: debe convertirse de nuevo en piruvato para poder ser metabolizado: es reconvertido a piruvato en el hígado



# Glicerol como precursor gluconeogénico



# Aminoácidos precursores de glucosa

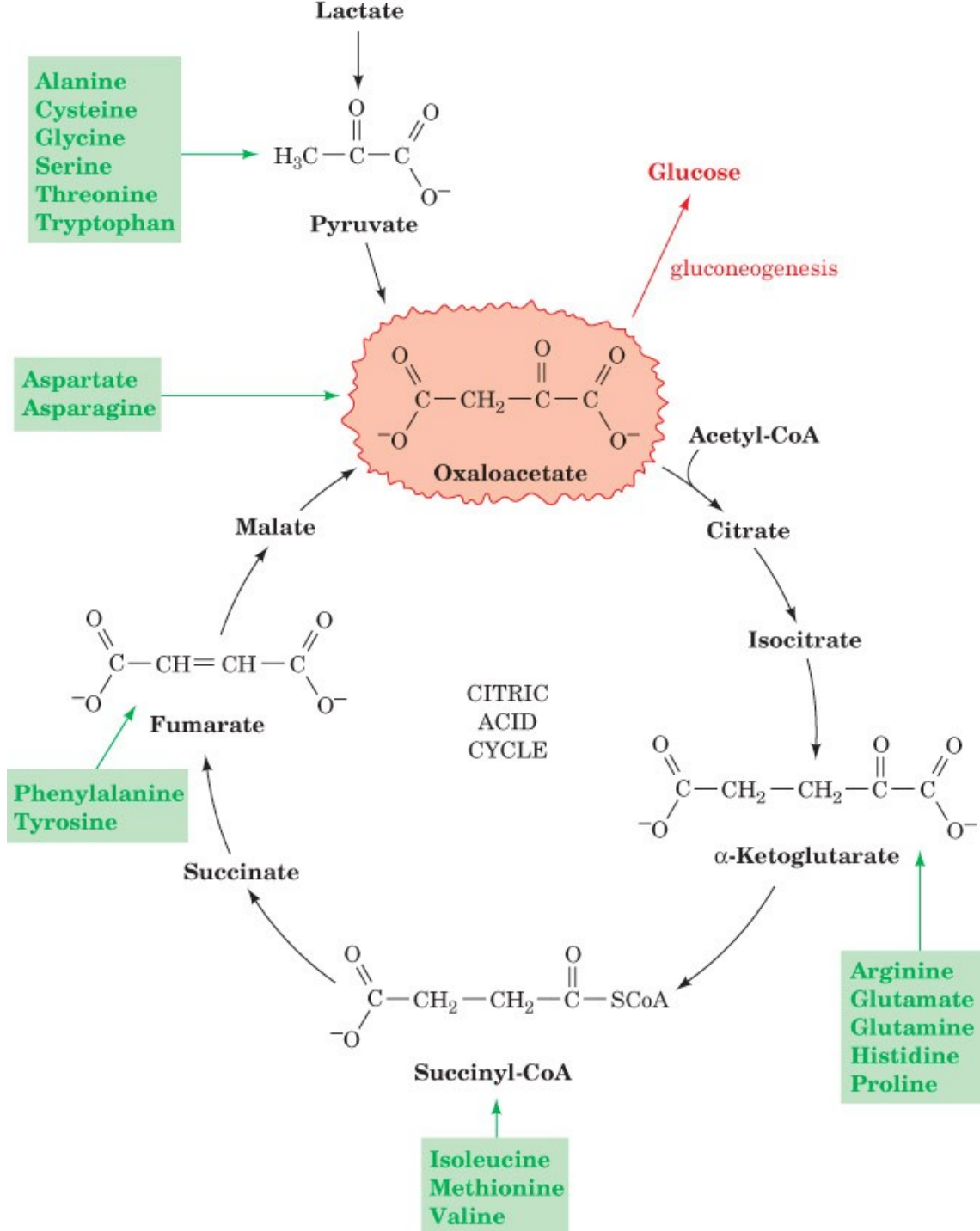
table 20-3

## Glucogenic Amino Acids, Grouped by Site of Entry\*

<b>Pyruvate</b>	<b>Succinyl-CoA</b>
Alanine	Isoleucine <sup>†</sup>
Cysteine	Methionine
Glycine	Threonine
Serine	Valine
Tryptophan <sup>†</sup>	
<b>α-Ketoglutarate</b>	<b>Fumarate</b>
Arginine	Phenylalanine <sup>†</sup>
Glutamate	Tyrosine <sup>†</sup>
Glutamine	
Histidine	<b>Oxaloacetate</b>
Proline	Asparagine
	Aspartate

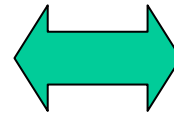
\*These amino acids are precursors of blood glucose or liver glycogen because they can be converted to pyruvate or citric acid cycle intermediates. Only leucine and lysine are unable to furnish carbon for net glucose synthesis.

<sup>†</sup>These amino acids are also ketogenic (see Fig. 18-19).

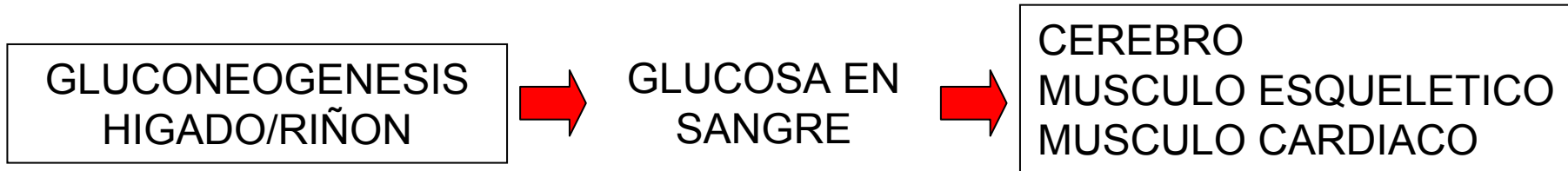


# Localización tisular

- Hígado (90%) y riñón (10%) son los órganos donde tiene lugar principalmente la gluconeogénesis

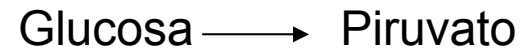


- En Cerebro, músculo esquelético y músculo cardíaco tiene lugar muy poca gluconeogénesis



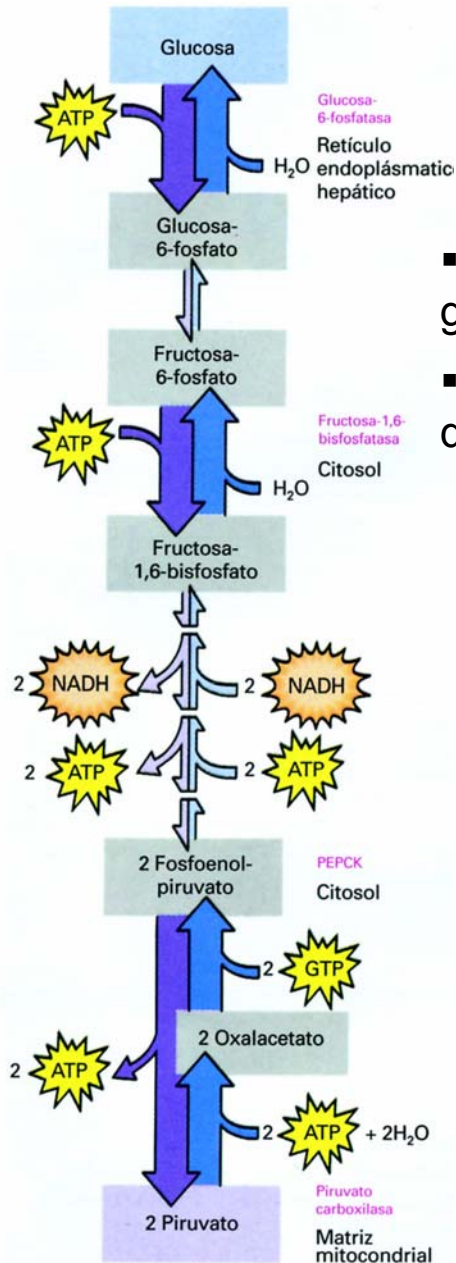
- La gluconeogénesis en hígado y riñón ayuda a **mantener el nivel de glucosa** necesario en sangre para que cerebro y músculos puedan extraer la suficiente glucosa para atender a sus demandas energéticas

## GLICOLISIS:

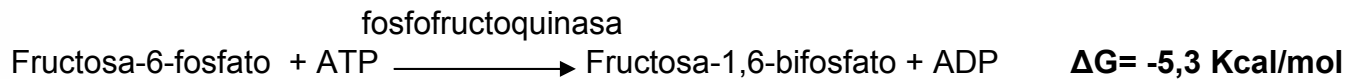


## GLUCONEOGENESIS: Piruvato $\longrightarrow$ Glucosa

- Sin embargo, la gluconeogénesis **no es el proceso inverso** de la glicolisis
- Razon termodinámica: 3 reacciones de la **glicolisis** están muy desplazadas del equilibrio, prácticamente irreversibles

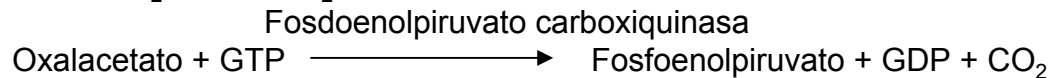
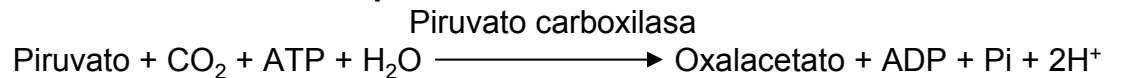


Neto:  $+2\text{ATP} + 2\text{NADH}$       Neto:  $-4\text{ATP} - 2\text{GTP} - 2\text{NADH}$

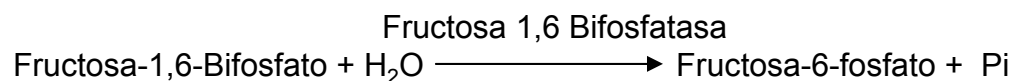


- En la **gluconeogénesis** estas reacciones son sustituidas por reacciones nuevas:

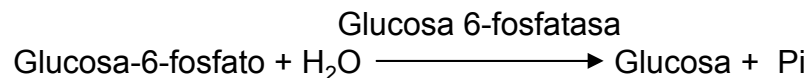
### ▪ Formación de Fosfoenolpiruvato:



### ▪ Formación de Fructosa-6-fosfato:

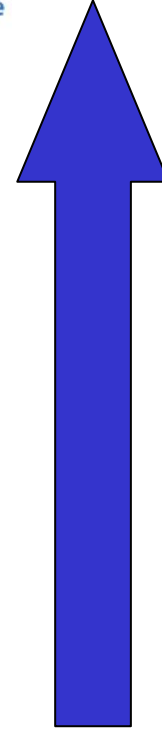
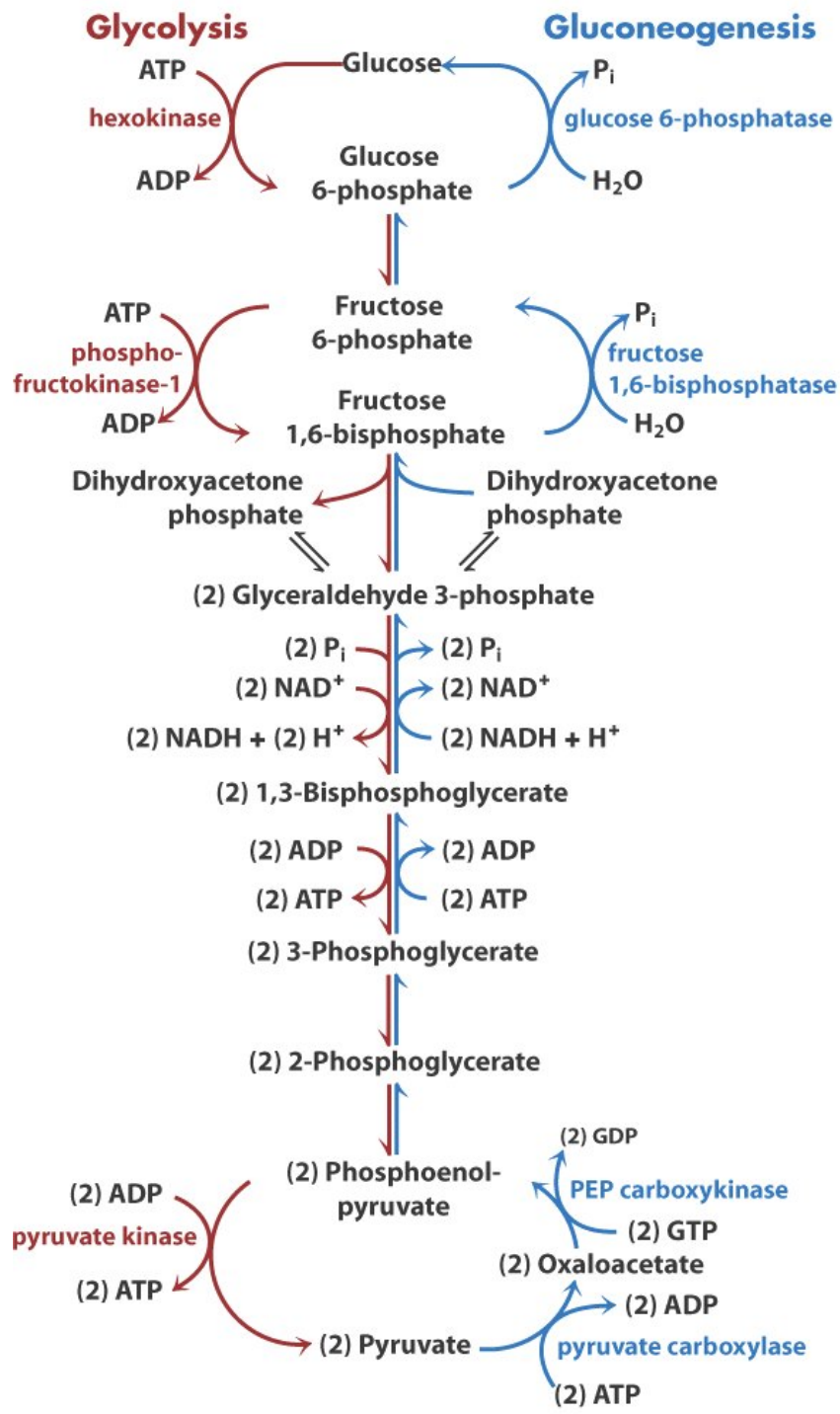
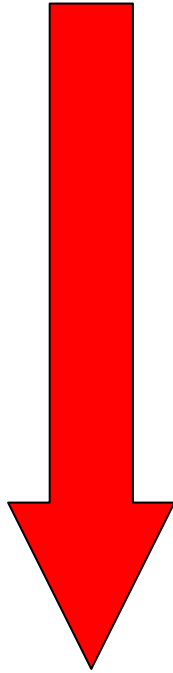


### ▪ Formación de Glucosa:





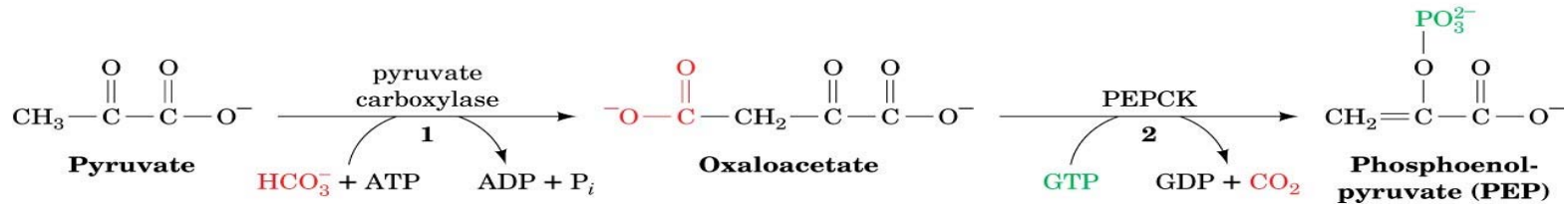
# Glycolysis



# Gluconeogenesis

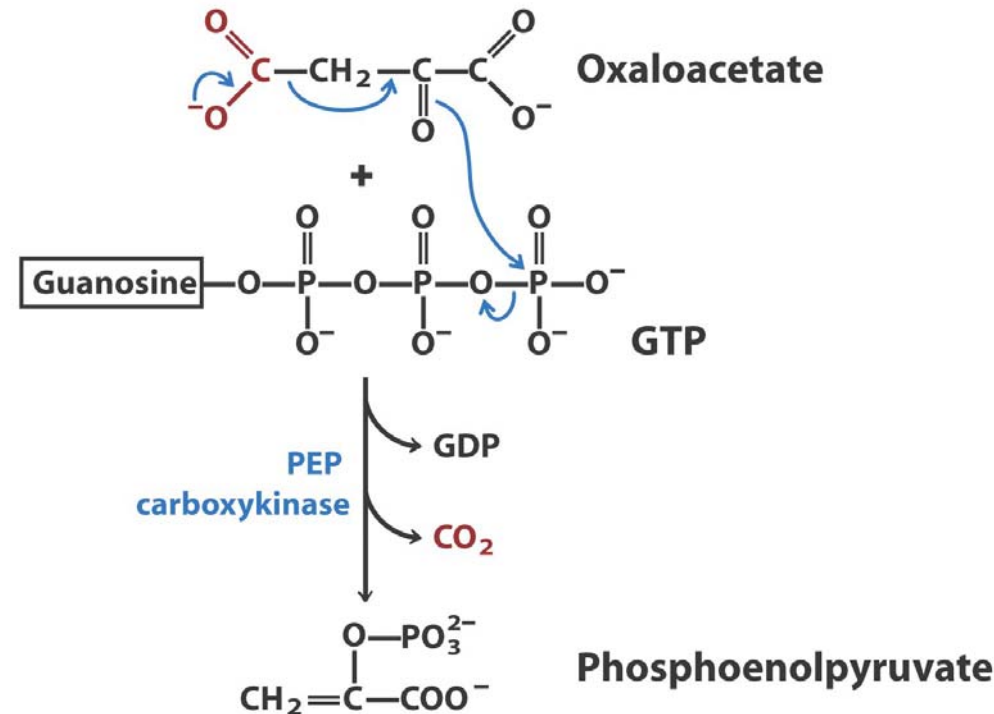
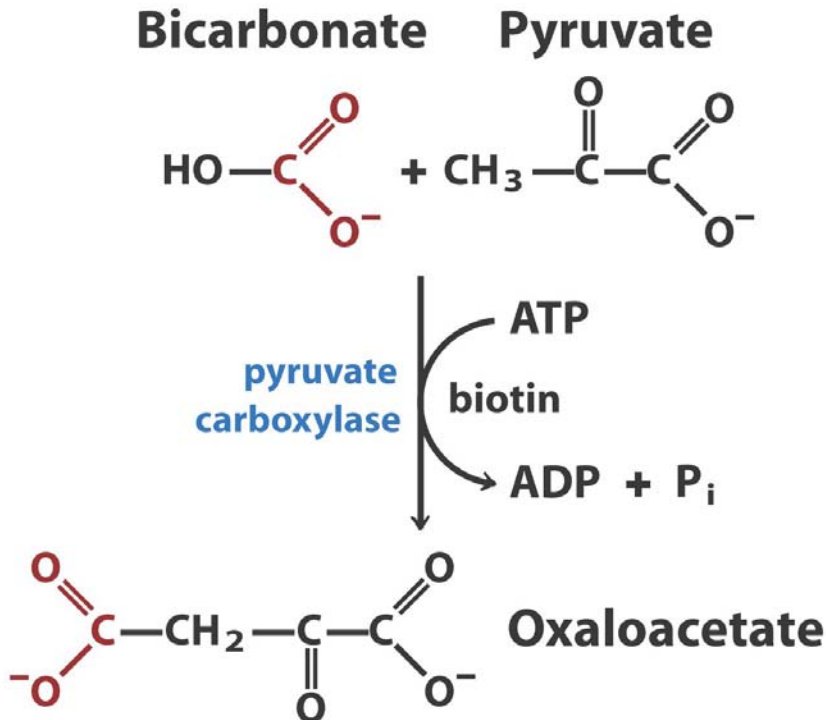
# Conversión de Piruvato en fosfoenolpiruvato

- Se realiza en dos pasos:

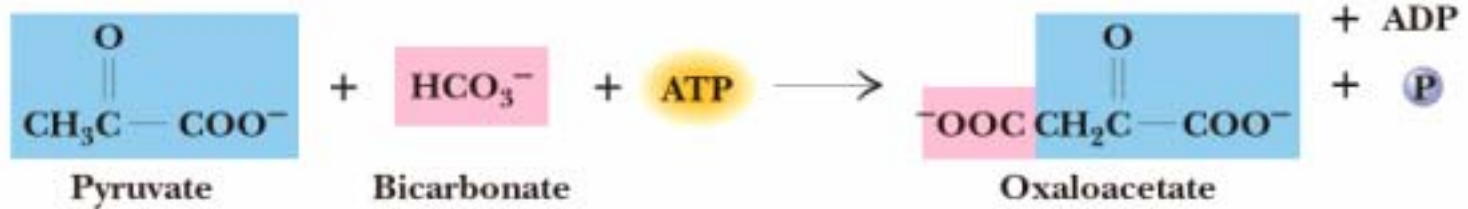


a) Carboxilación del piruvato, consumiendo ATP

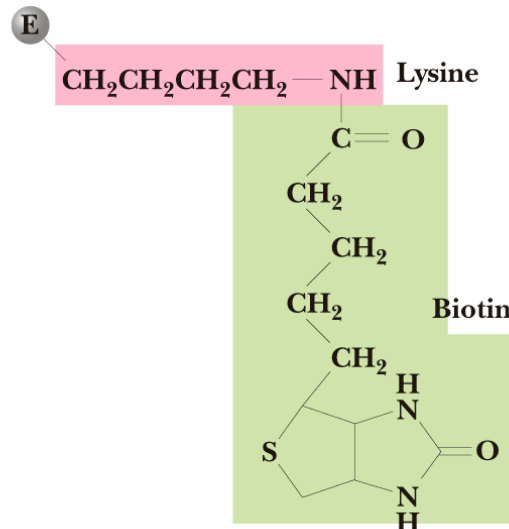
b) Descarboxilación y fosforilación del oxalacetato, consumiendo GTP



## a) Carboxilación del piruvato



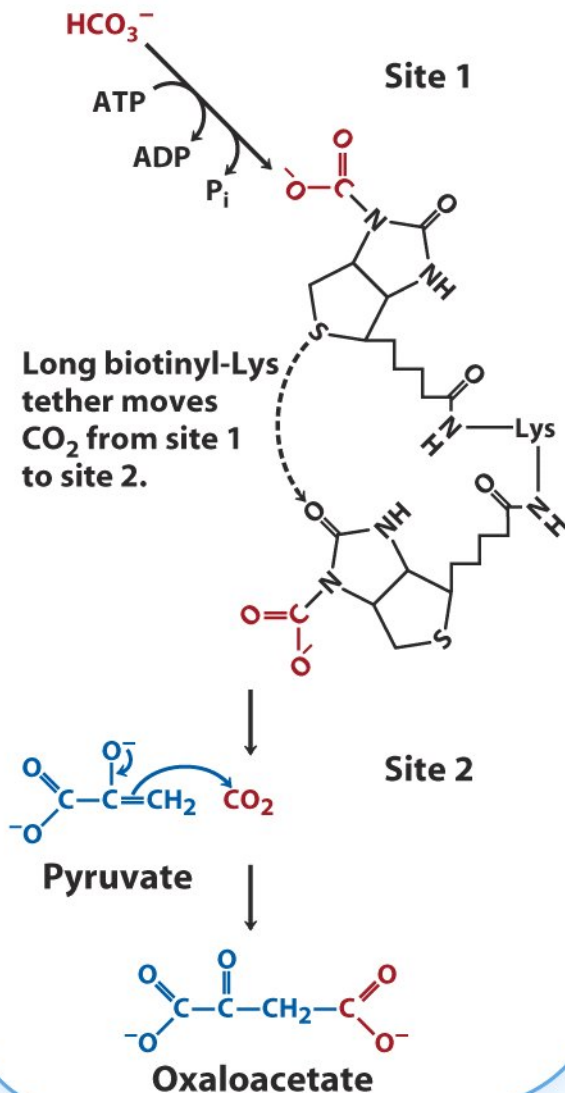
- Se realiza en la matriz mitocondrial.
- Catalizado por **PIRUVATO CARBOXILASA**:
  - Estructura:
    - Region N-terminal 300-350 aa : Dominio de captación de ATP
    - Región C-terminal: dominio de unión de Biotina



- **BIOTINA**:
  - transportador de  $\text{CO}_2$  activado.
  - Unida al enzima por una cadena larga y flexible.

# Mecanismo de la Piruvato carboxilasa

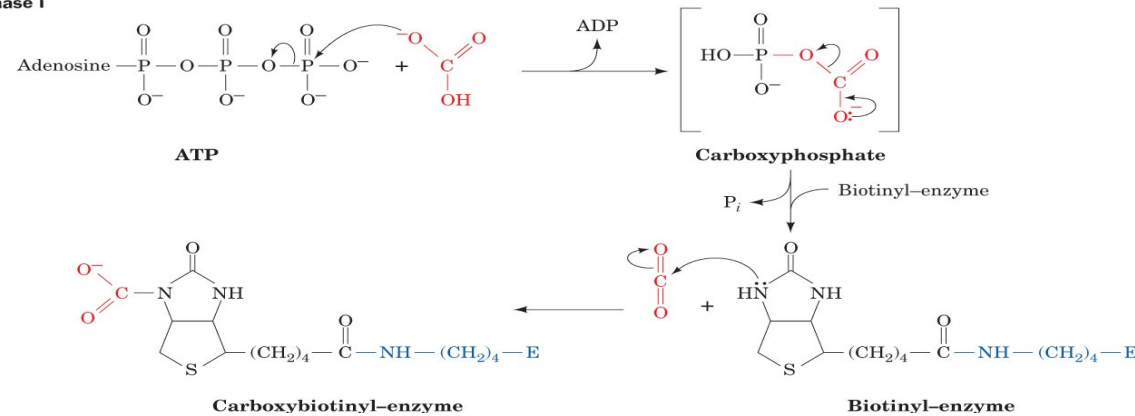
## Pyruvate carboxylase



## Mecanismo de tres etapas:

### 1. Activación del $\text{CO}_2$

Phase I

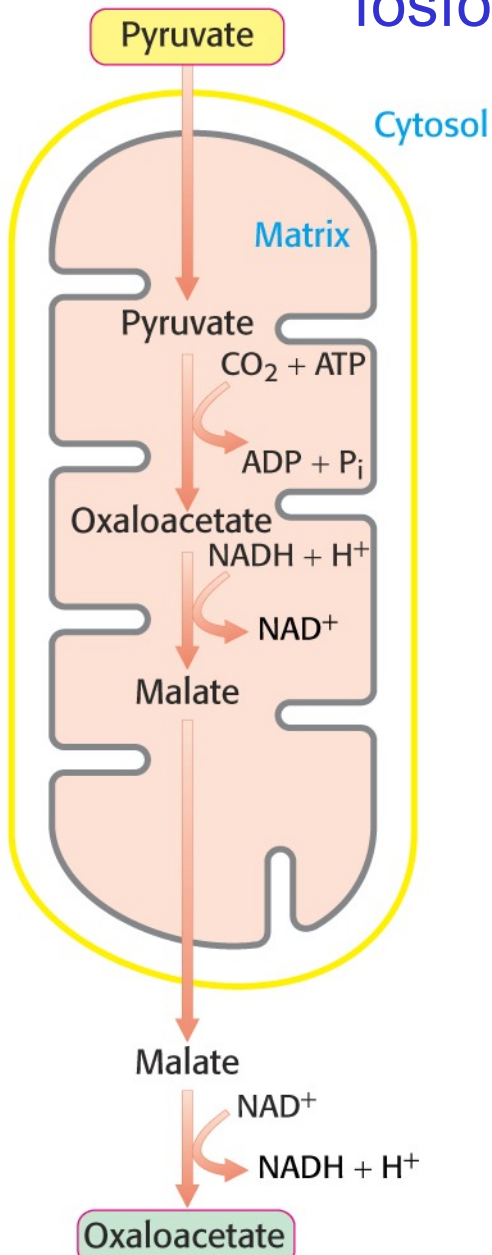


### 2. Unión del $\text{CO}_2$ activado a la biotina

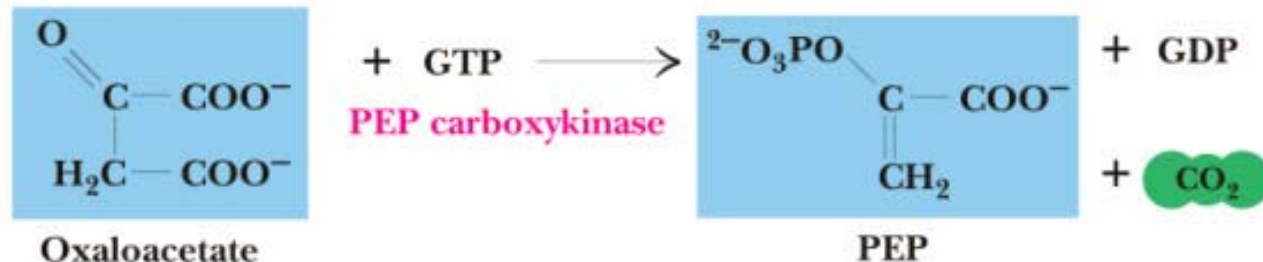
3. Paso del  $\text{CO}_2$  desde biotina al piruvato. El brazo unido a biotina permite el transporte del  $\text{CO}_2$  entre los dos centros activos del enzima.

- La etapa de carboxilación de biotina depende de la unión previa de **Acetil CoA**: ACTIVACION ALOSTERICA
- La presencia de Acetil CoA: control fisiológico
  - carga energética alta: oxalacetato  $\longrightarrow$  glucosa
  - carga energética baja: oxalacetato  $\longrightarrow$  ciclo del ácido cítrico

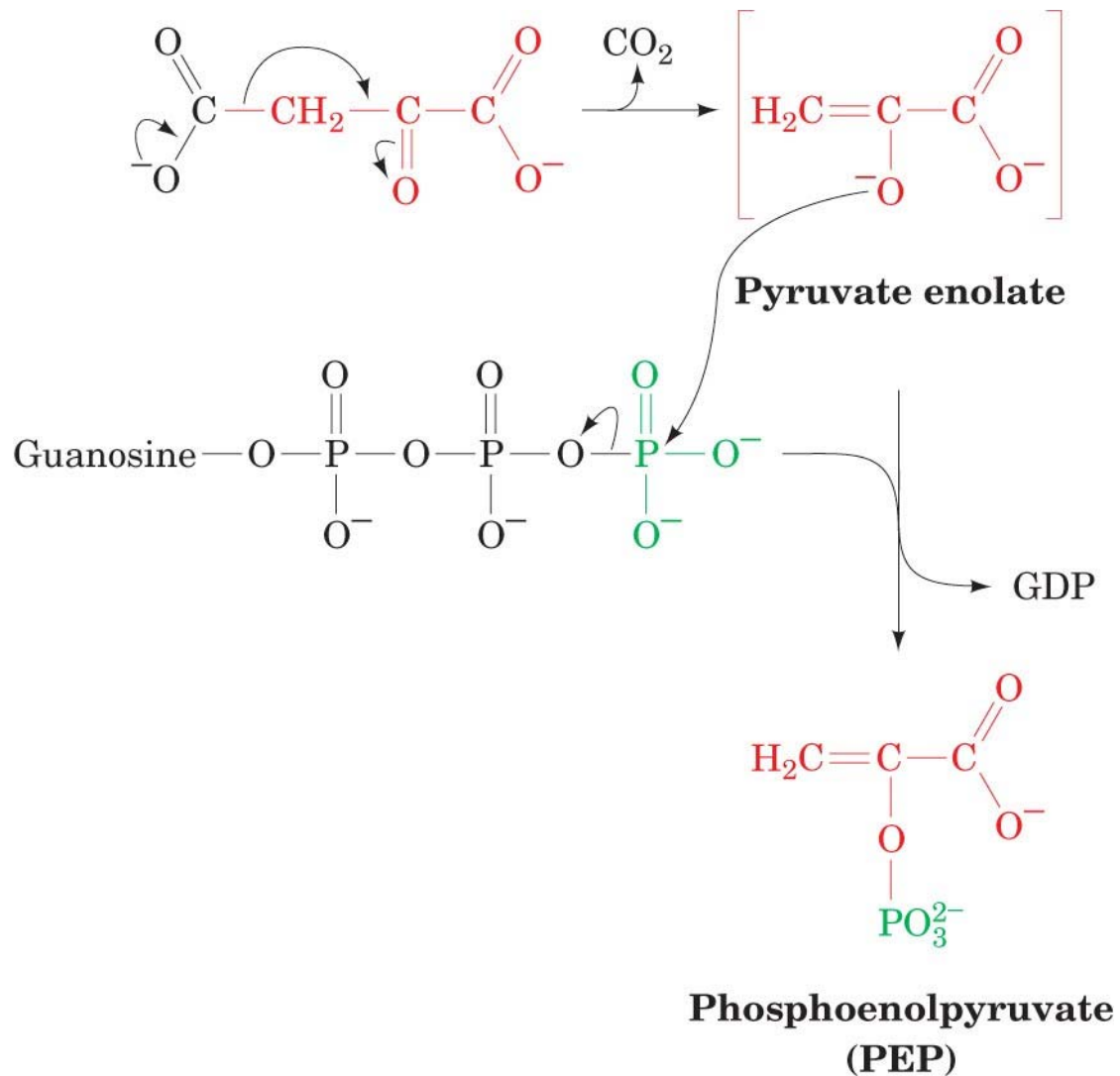
## B) Transporte de Oxalacetato al citosol y conversión a fosfoenolpiruvato



- Pyruvato carboxilasa** es un enzima **mitocondrial**, mientras que el resto de enzimas de la gluconogénesis son citosólicos: Se debe **transportar** el **oxalacetato** producido **fuera de la mitocondria**:
  - Oxalacetato es reducido a malato por una malato deshidrogenasa mitocondrial ligada a NADH
  - Malato es transportado al citosol por el sistema lanzadera malato-aspartato
  - Una vez en el citosol, el malato es reoxidado a oxalacetato por una malato deshidrogenasa citosólica ligada a  $\text{NAD}^+$
- Oxalacetato es descarboxilado y fosforilado simultaneamente por FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA (PEP carboxiquinasa). La hidrólisis del GTP y liberación de  $\text{CO}_2$  desplazan a la reacción hacia la formación de PEP.

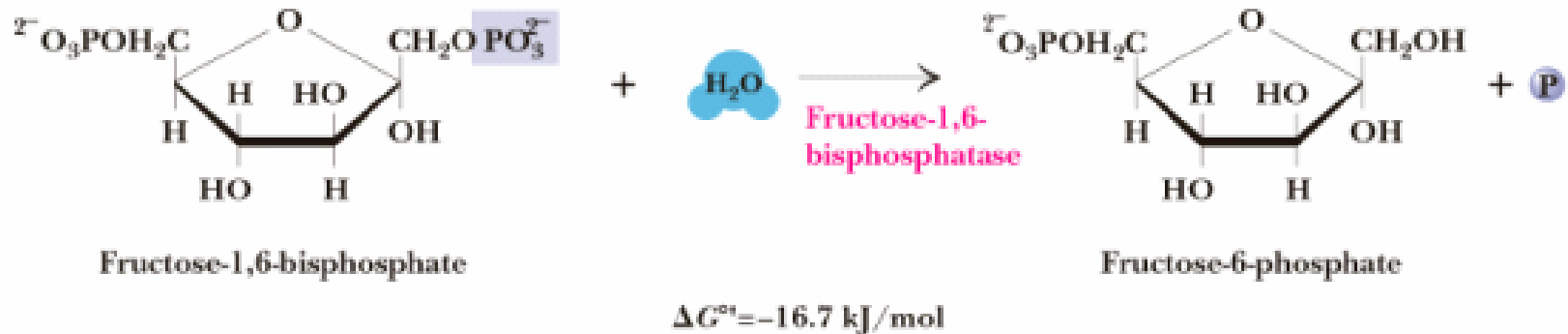


# Mecanismo de la FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA



# Conversión de Fructosa-1,6-bifosfato en Fructosa-6-fosfato

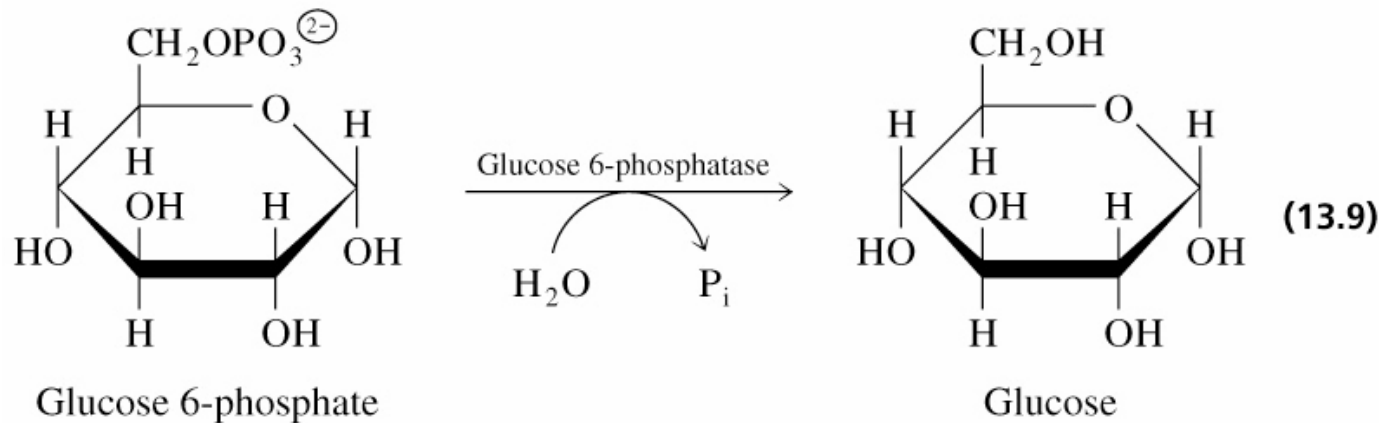
- Una vez formado, el Fosfoenolpiruvato es metabolizado por los enzimas de la glicolisis pero en sentido inverso (**reacciones en equilibrio**).
- El siguiente paso irreversible es la hidrólisis de Fructosa-1,6-bifosfato en Fructosa-6-fosfato y Pi:



- Catalizado por **FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATASA**, enzima alostérico.
  - Requiere  $\text{Mg}^{2+}$ .
  - Inhibido por AMP, fructosa 2,6-bifosfato
  - activado por ATP, citrato

# Formación de Glucosa

- La Fructosa-6-fosfato formada se convierte rápidamente en Glucosa-6-fosfato
- En la mayoría de tejidos: Glucosa-6-fosfato  $\longrightarrow$  Síntesis de glucógeno
  - Razón principal: Glucosa-6-fosfato NO DIFUNDE fuera de la célula, mientras que glucosa si
- El mantenimiento de la glucosa dentro de la célula se realiza por dos sistemas:
  - Regulación de la glucosa-6-fosfatasa:

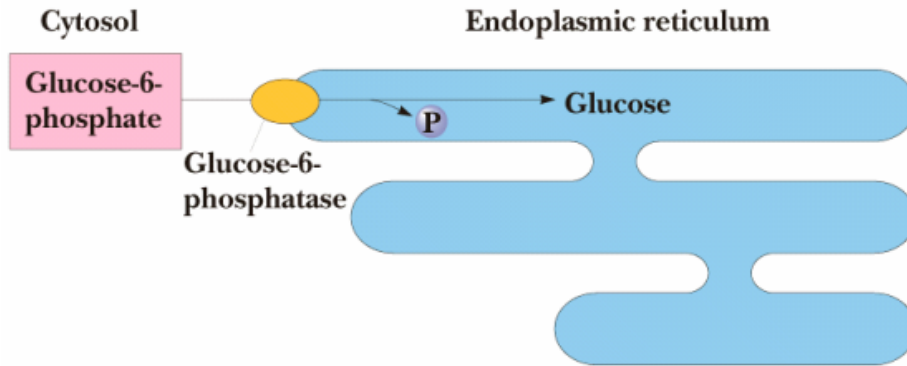


- Glucosa-6-fosfatasa solo se encuentra presente en tejidos cuya función sea mantener los niveles de glucosa en sangre: HIGADO y en menor grado RIÑÓN



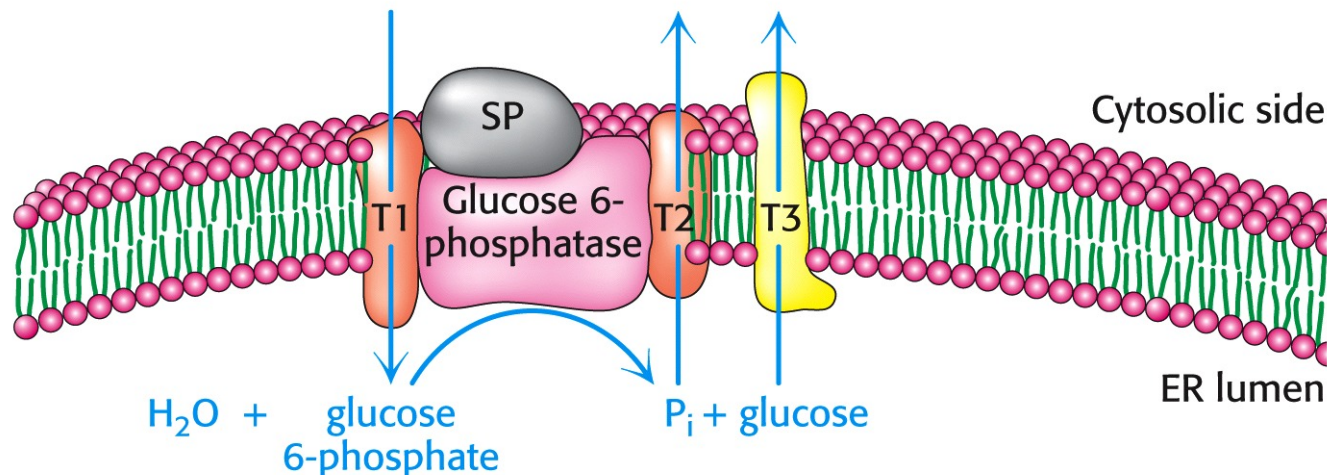
# Formación de Glucosa

- Glucosa no es sintetizada en el citosol.



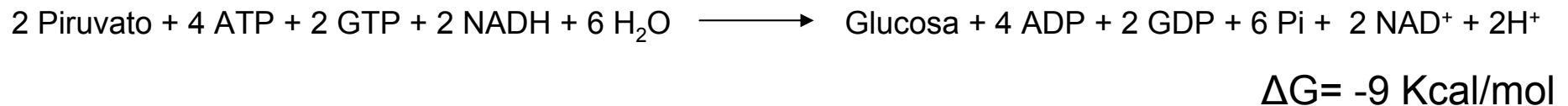
- Glucosa-6-fosfato es transportada al lumen del retículo endoplasmático, en hidrolizada por Glucosa-6-fosfatasa unida a la membrana.
- Vesículas del RE difunden, liberando glucosa a la sangre al fusionarse con la membrana plasmática

- Glucosa-6-fosfatasa precisa de la presencia de una proteína estabilizadora que une  $\text{Ca}^{2+}$  (SP).
- Es necesaria también la utilización de transportadores específicos de glucosa-6-fosfato (T1), así como de  $\text{P}_i$  (T2) y glucosa (T3)

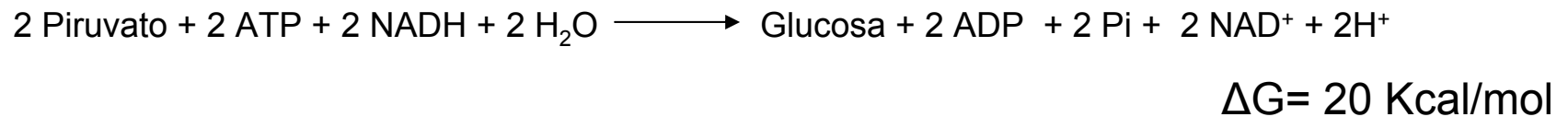


# Balance global de la gluconeogénesis

- La estequiometría de la gluconeogénesis es:



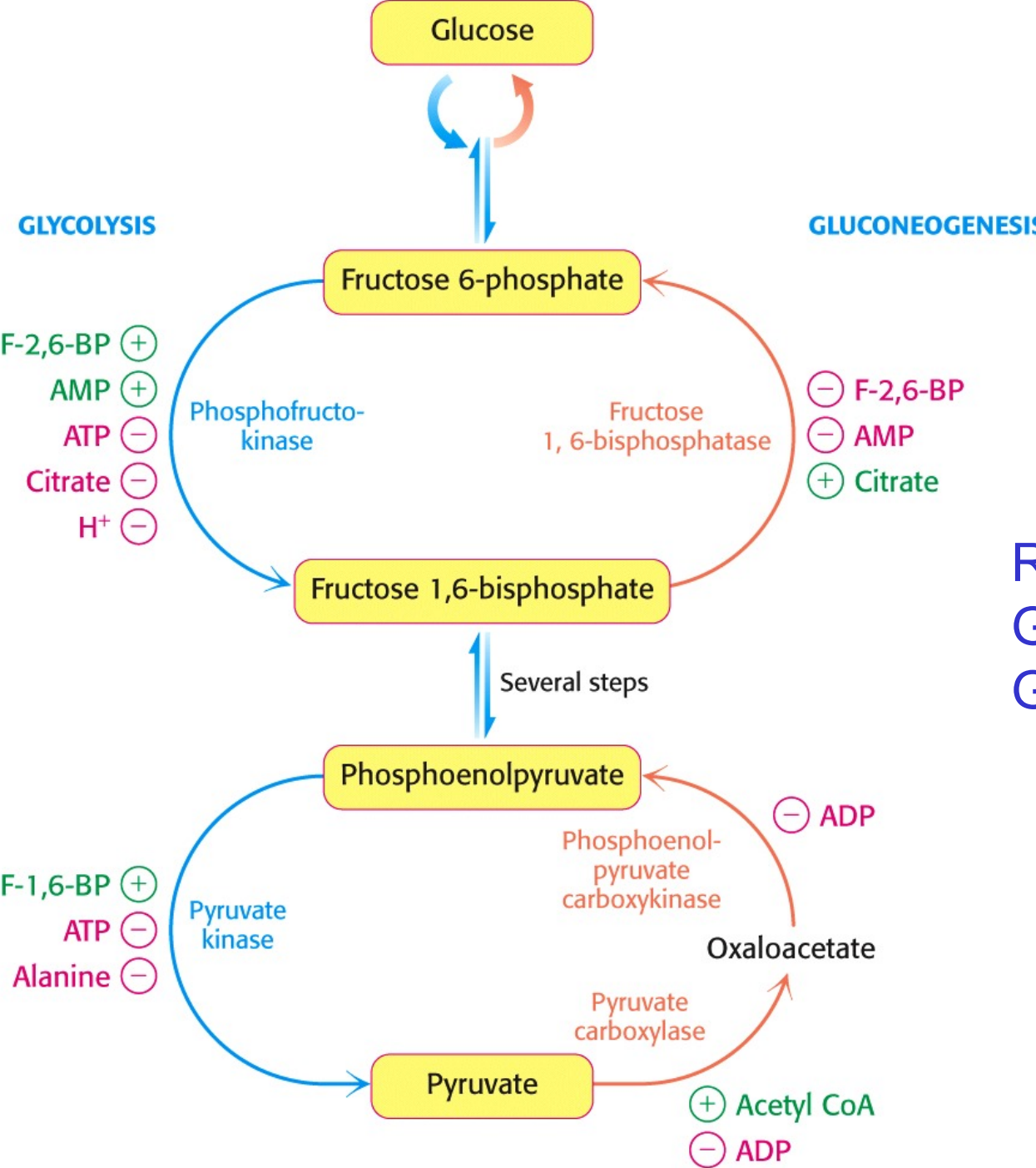
- mientras que la reacción inversa de la glucólisis sería :



- El coste extra de la gluconeogénesis es de 4 moléculas de alto potencial de transferencia de grupos fosforilo (2 ATP y 2 GTP): Se usa la energía del ATP y GTP para convertir una reacción energéticamente desfavorable como es la reacción inversa de la glicólisis ( $\Delta G = 20 \text{ Kcal/mol}$ ) en una reacción energéticamente favorable ( $\Delta G = -9 \text{ Kcal/mol}$ )

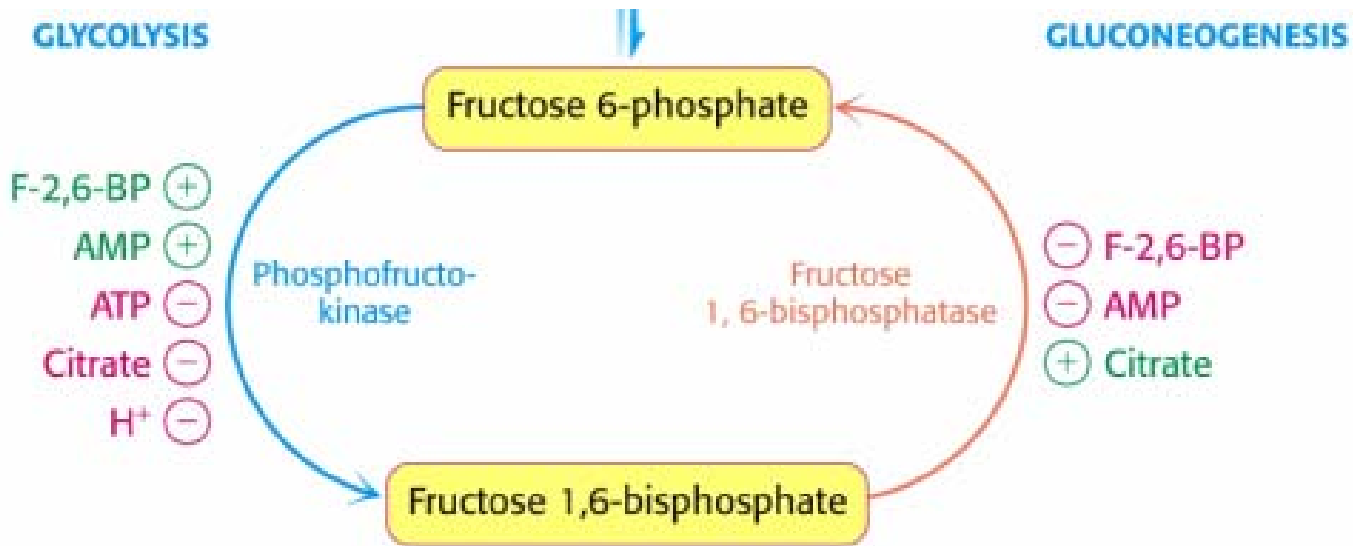
# Regulación de la Gluconeogénesis / Glicolisis



- Gluconeogénesis y glicolisis están **coordinadas**: una de las vías está relativamente inactiva y la otra funciona a velocidad elevada
- Razón: ambas rutas **son altamente exergónicas** y podrían estar funcionando al mismo tiempo, con un resultado final de consumo de 2 ATP y 2 GTP por cada ciclo de reacción.
- Sistema de control: las CANTIDADES Y ACTIVIDADES de los enzimas característicos de cada ruta están controlados de tal manera que no pueden ser ambas rutas activas simultáneamente:
  - Velocidad de la **glicolisis**: controlada por **concentración de glucosa**
  - Velocidad de la **gluconeogénesis**: controlada por **concentración de lactato y otros precursores**



# Regulación de la Gluconeogénesis / Glicolisis

# Regulación de la conversión fructosa-6-fosfato/fructosa 1,6 bifosfato



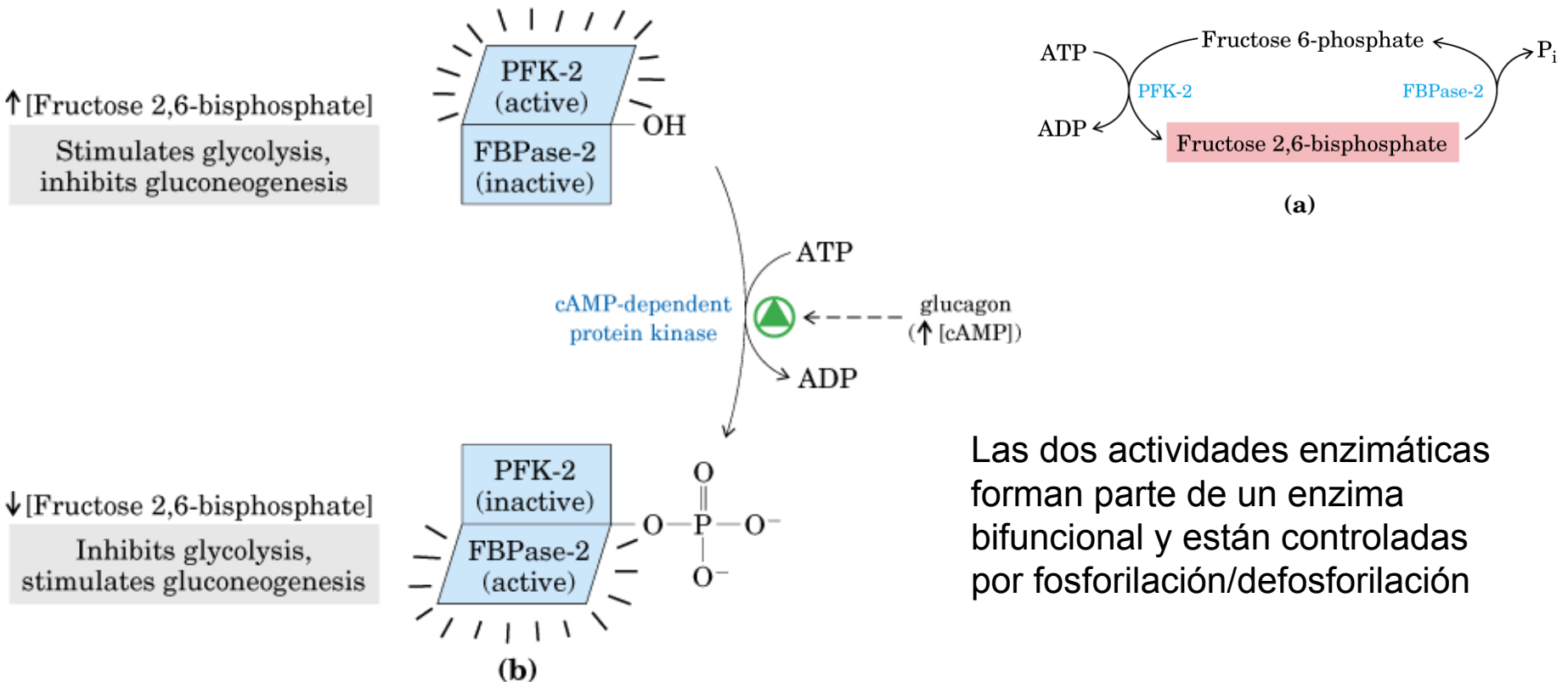
- Nivel elevado de AMP: carga energética baja, necesidad de síntesis de ATP  GLICOLISIS
- Nivel bajo de AMP/citrato: carga energética alta, desconexión de la glicolisis  GLUCONEOGENESIS
- Ambos enzimas son regulados en el hígado por los niveles de la molécula señal **Fructosa-2,6-bisfosfato** cuyos niveles son:
  - Bajos en ayuno
  - Altos en alimentación

Debido a efectos antagonistas entre insulina/glucagon

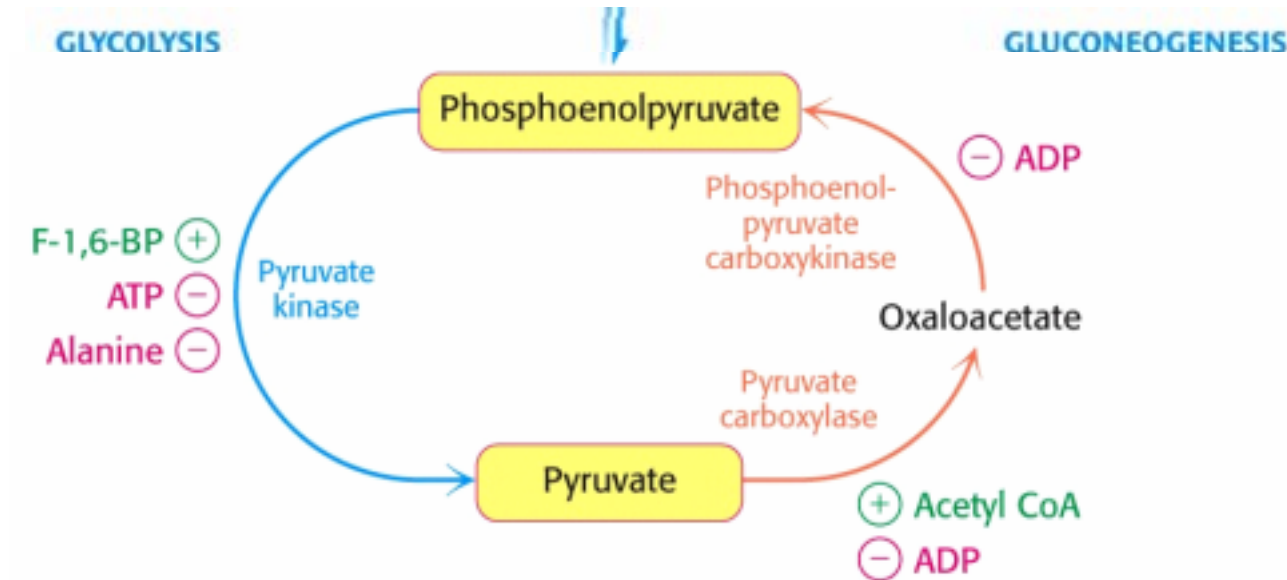
En **ayuno**, se **activa la gluconeogénesis** en hígado para **suministrar los niveles de glucosa en sangre** necesarios para cerebro, y músculo.

# Fructosa 2,6 bifosfato

- Fructosa-2,6-bifosfato:
  - **activador alosterico** de la fosfofructoquinasa
  - **Inhibidor alostérico** de fructosa-1,6-bifosfatasa
- Una concentración alta de Fructosa-2,6-bifosfato estimula la glicolisis
- Una concentración baja de Fructosa-2,6-bifosfato :estimula la gluconeogénesis
- La concentración de Fructosa-2,6-bifosfato en la célula depende del balance entre su síntesis (catalizada por fosfofructoquinasa-2 **PFK-2**) y su degradación (catalizada por fructosa bifosfatasa-2 **FBPasa-2**)



# Regulación de la conversión fosfoenolpiruvato/piruvato



- carga energética alta o niveles de precursores de glucosa altos:



# Regulación de la Gluconeogénesis / Glicolisis

- Las cantidades de los enzimas clave de glicolisis y gluconeogénesis también están reguladas: **control** de su **expresión génica**

- **INSULINA**: aumenta después de la ingesta de alimentos

Estimula expresión de :

FOSFOFRUCTOQUINASA

PIRUVATO QUINASA

ENZIMA BIFUNCIONAL PFK-2/ FBPasa-2

- **GLUCAGON**: aumenta en ayuno

Inhibe expresión de :

FOSFOFRUCTOQUINASA

PIRUVATO QUINASA

ENZIMA BIFUNCIONAL PFK-2/ FBPasa-2

Estimula expresión de

FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA

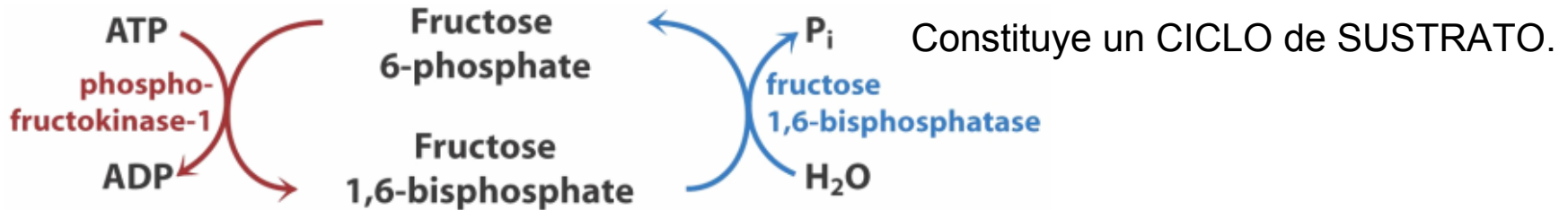
FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATASA

- Este control sobre la expresión génica es mucho mas lento (horas/días) que el control alostérico (segundos/minutos)



# Ciclos de sustrato

- Una pareja de reacciones como:

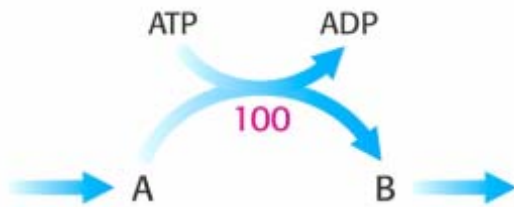


- Ambas reacciones no son plenamente activas al mismo tiempo, PERO experimentos de marcaje isotópico han demostrado que tampoco una reacción esta COMPLETAMENTE desactivada cuando la otra es activa.

- ¿Por qué este gasto extra de ATP?. Dos posibles:

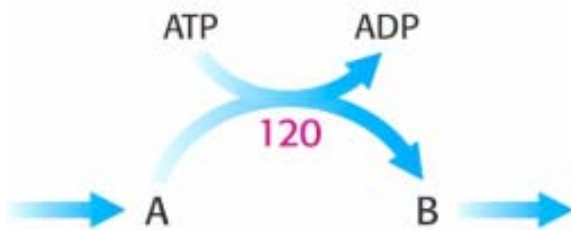
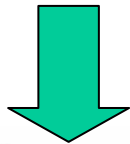
- 1) Mecanismo de **generación de calor**:  
en los musculos de vuelo del abejorro ambas enzimas están activas, lo cual le permite mantener temperatura muscular de 30° C, incluso a temperatura ambiental de 10° C. En las abejas no ocurre esto, y no pueden volar a temperatura ambiente baja.
- 2) Mecanismo de **control**, de amplificación de señal metabólica:

# Regulación por ciclos de sustrato



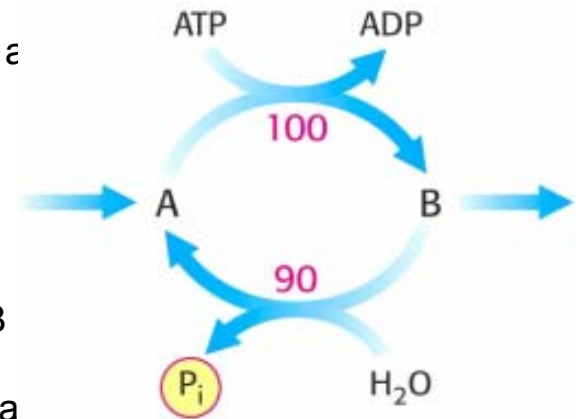
Flujo neto de B: 100

+ Efactor Alostérico



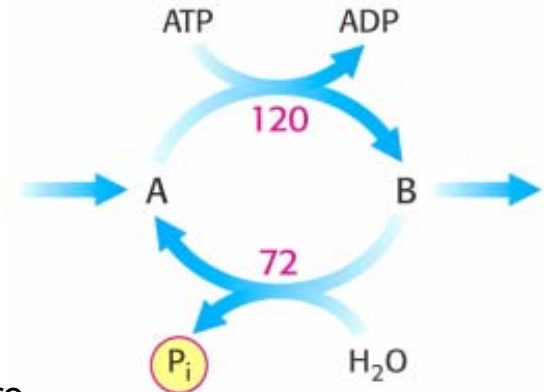
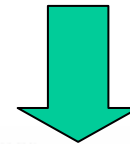
Flujo neto de B: 120  
(Ganancia 20%)

▪ Supongamos una reacción de A a B, y que a la vez tiene lugar la conversión de B a A cada una catalizada por un enzima a una determinada velocidad. En principio esto puede verse como poco eficiente, la producción de B es solo 10, frente a 100 que obtendríamos sin reacción reversa



Flujo neto de B: 10

+ Efactor Alostérico



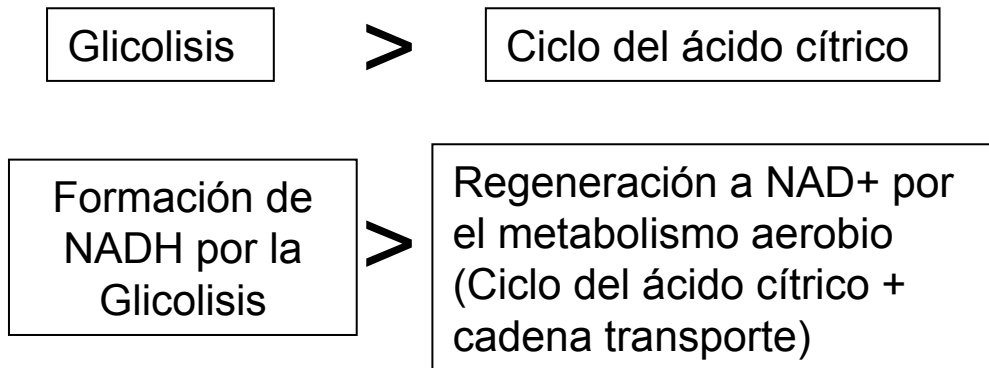
Flujo neto de B: 48  
**(Ganancia 380%)**

▪ Que ocurre si ahora interviene un efector alostérico que funciona aumentando un 20% la conversión de A a B y disminuyendo otro 20% la conversión de B en A? Se obtiene proporcionalmente mas flujo de B que si solo hubiera estado activa la ruta de A a B

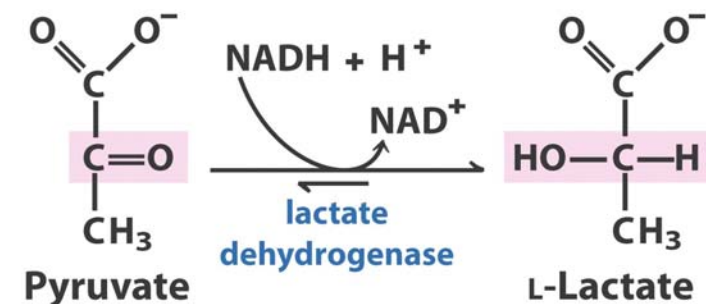
Estos ciclos **consumen energía** pero son mejores a la hora de **responder rápidamente** a necesidades de productos

# Relaciones intertisulares en la síntesis hepática de Glucosa

- El lactato producido en músculo esquelético activo y en eritrocitos (carecen de mitocondrias) es una FUENTE de ENERGIA para OTROS ORGANOS.
- Durante ejercicio físico vigoroso, cuando se contrae el músculo esquelético:



- NADH es regenerado a NAD<sup>+</sup> por **LACTATO DESHIDROGENASA**

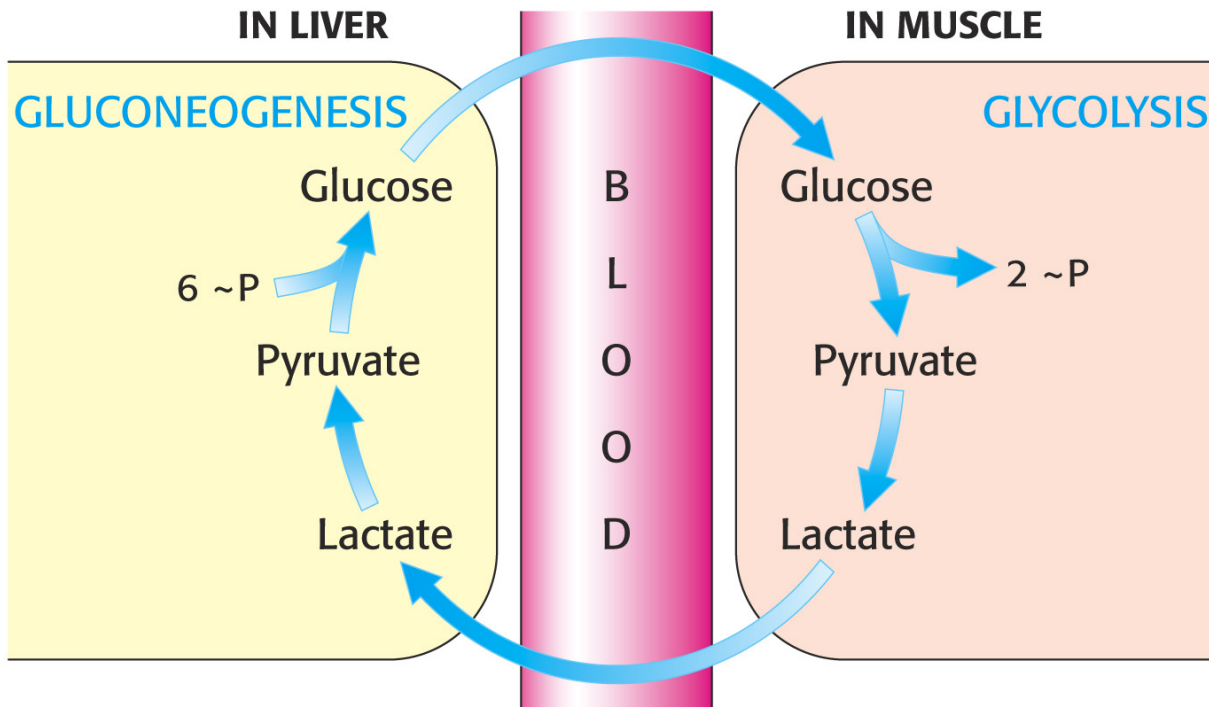


$$\Delta G'^{\circ} = - 25.1 \text{ kJ/mol}$$

- Lactato como tal queda como punto muerto en el metabolismo: debe convertirse de nuevo en piruvato para poder ser metabolizado

# Relaciones intertisulares en la síntesis hepática de Glucosa

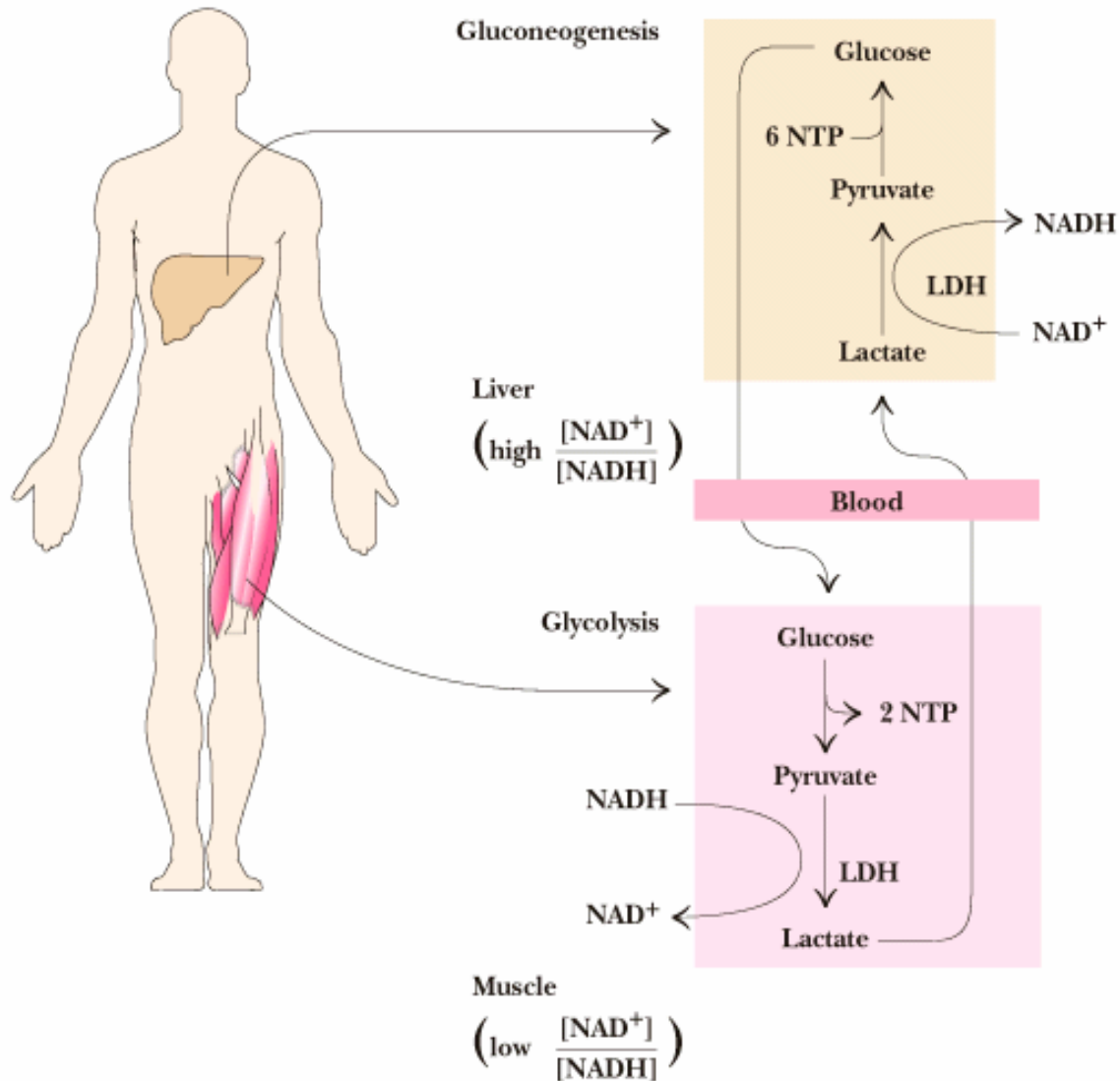
- El lactato producido en músculo esquelético activo permea a la sangre:



- Este lactato puede permear a células del hígado donde es de nuevo oxidado a piruvato y convertido a glucosa por gluconeogénesis, que es liberada al torrente sanguíneo para que puede ser utilizada en músculo (**CICLO DE CORI**).

- El lactato puede también permear a células del músculo cardíaco donde es también oxidado a piruvato, pero pasando posteriormente al ciclo del ácido cítrico y cadena de transporte electrónico para producir ATP.

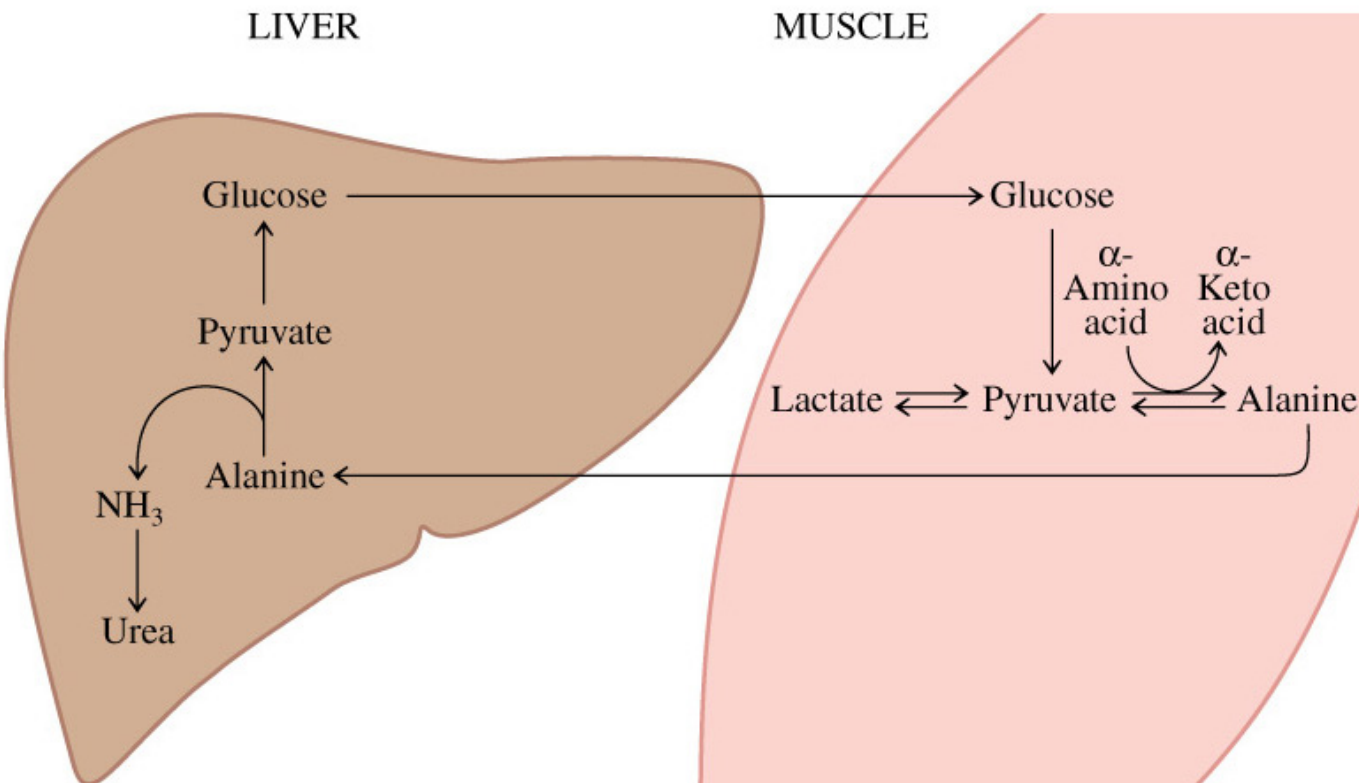
# Ciclo de Cori



# Relaciones intertisulares en la síntesis hepática de Glucosa

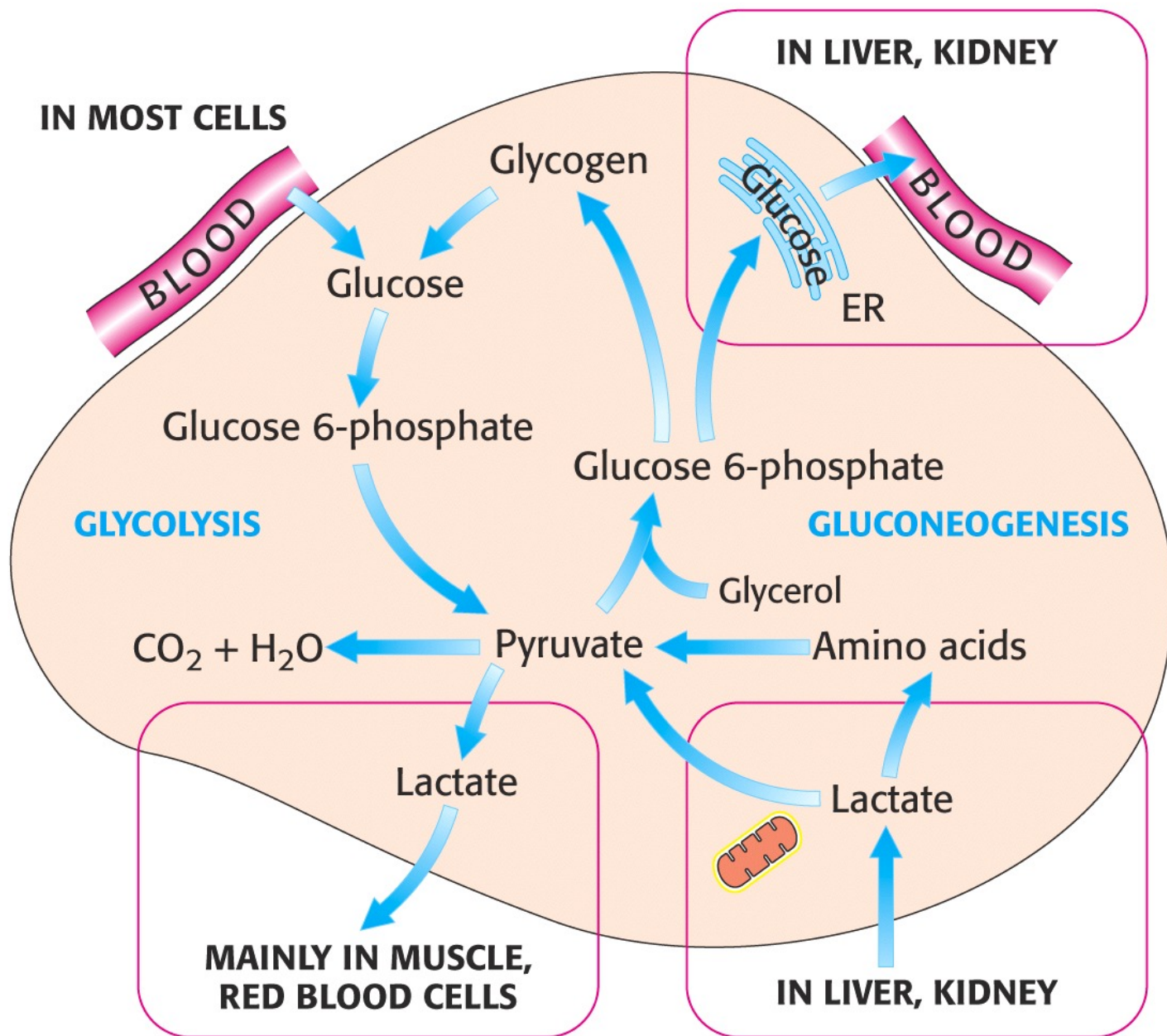
## Ciclo glucosa-alanina :

- (1) En músculo: Transaminación de piruvato para producir alanina, que viaja al hígado por el torrente sanguíneo
- (2) En hígado: Transaminación de alanina a piruvato que pasa a gluconeogénesis
- (3) La Glucosa producida se libera al torrente sanguíneo



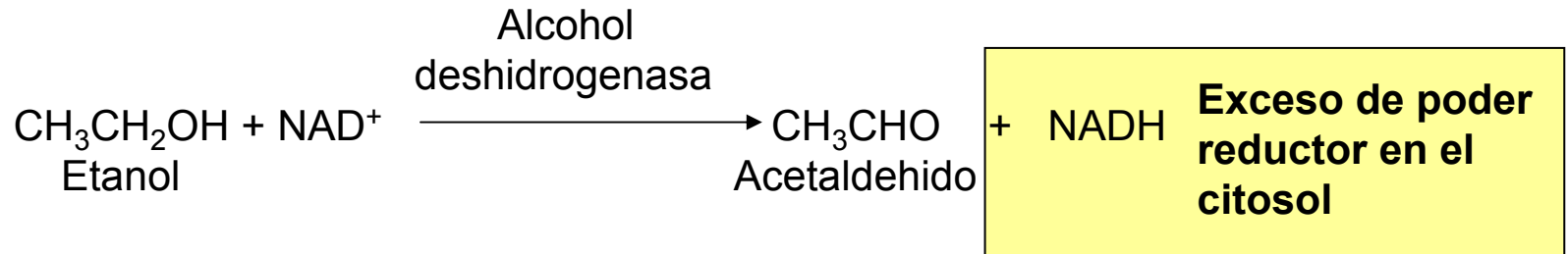
- Este proceso ayuda a mantener el balance de nitrógeno (se transporta  $\text{NH}_4^+$  al hígado)

# Coordinación glicolisis/gluconeogénesis en diferentes tejidos



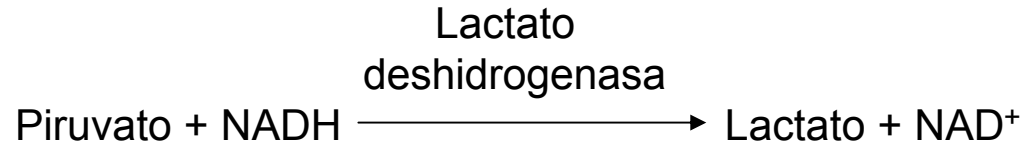
# La ingestión de Alcohol inhibe la Gluconeogénesis

- El etanol es oxidado principalmente en el hígado por la alcohol deshidrogenasa:

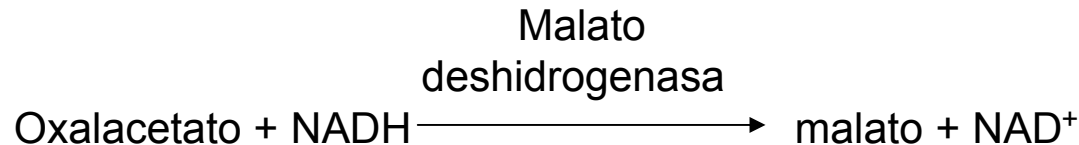


- Este exceso de NADH en el citosol crea problemas para la gluconeogénesis hepática:

- fuerza el equilibrio de la reacción de lactato deshidrogenasa hacia la formación de lactato:



- fuerza el equilibrio de la reacción de malato deshidrogenasa (lanzadera aspartato-malato) hacia la formación de malato



Es decir se consumen Piruvato y oxalacetato: **inhibición de la gluconeogénesis**