



Glicólisis

Dr. Giuliano Bernal Dossetto

Departamento de Ciencias Biomédicas

Universidad católica del Norte

Introducción

- D-Glucosa es el principal combustible de la mayoría de los organismos y ocupa un rol central dentro del metabolismo.
- En animales la glucosa tiene 3 caminos principales: Puede ser almacenada (como glicógeno), oxidada a **piruvato** vía **glicólisis**, u oxidada a **pentosa** mediante la vía de las **pentosas fosfato**.
- Durante la glicólisis una molécula de glucosa (6C) es degradada mediante reacciones catalizadas por enzimas, a dos moléculas de piruvato (3C).

Glycogen,
starch, sucrose

storage

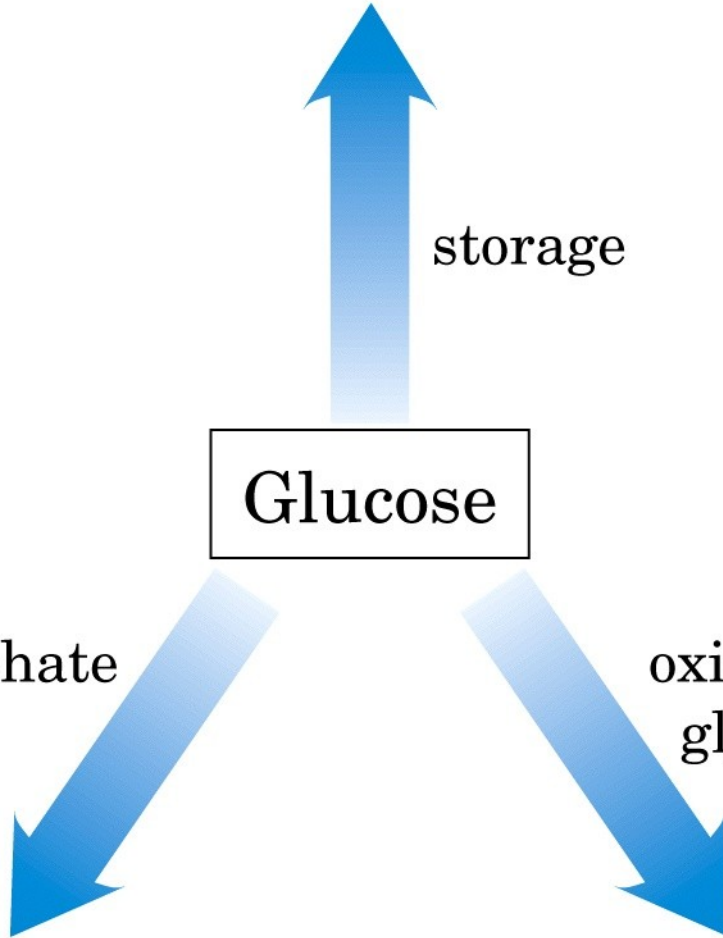
Glucose

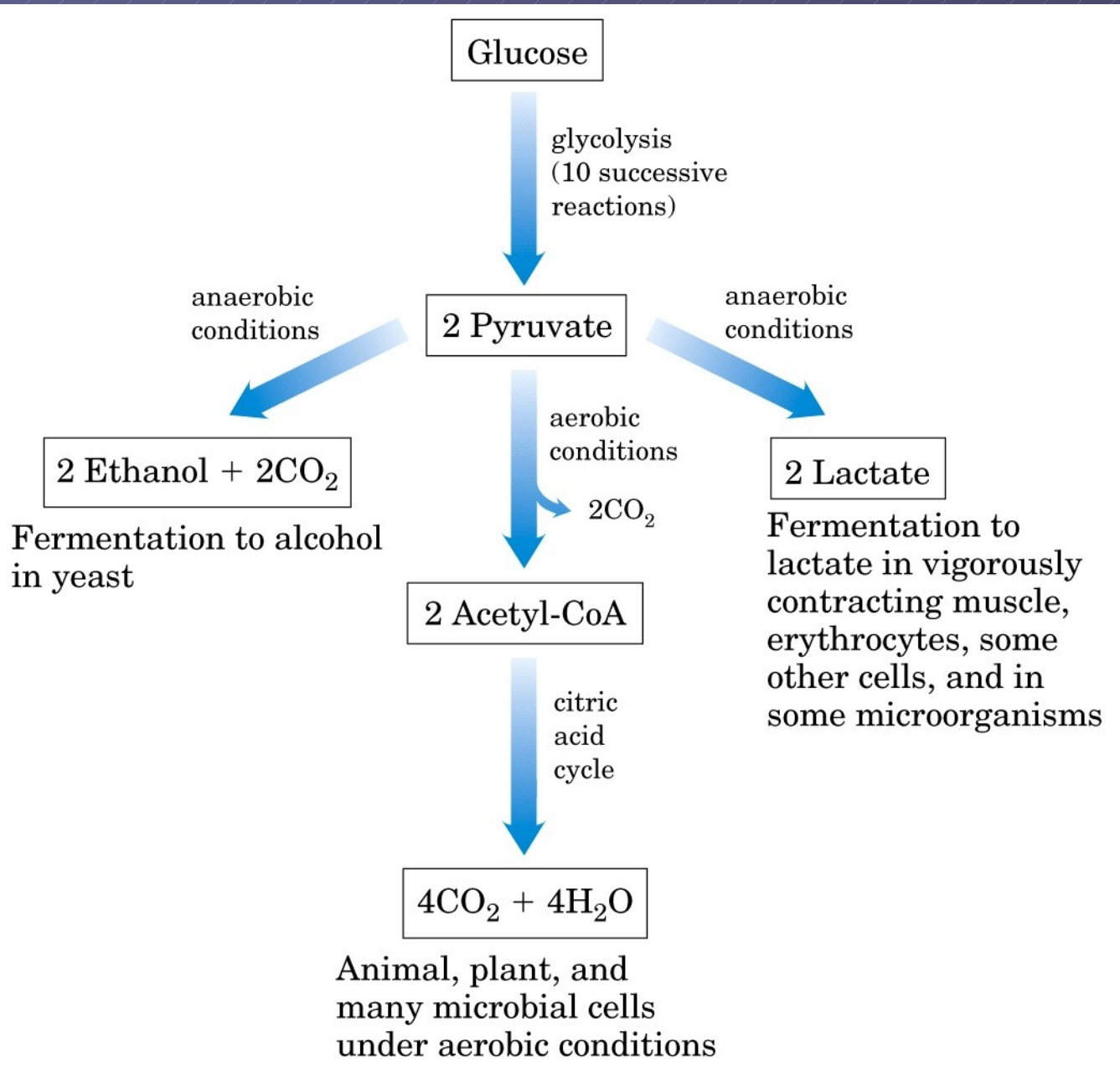
oxidation via
pentose phosphate
pathway

oxidation via
glycolysis

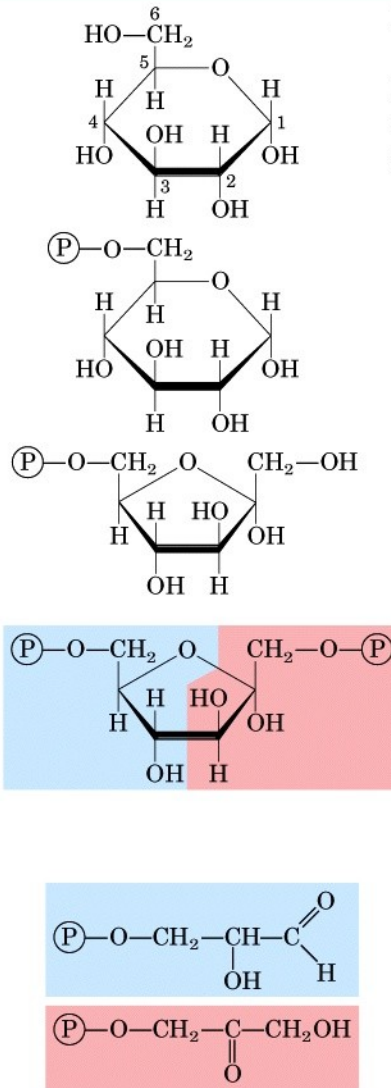
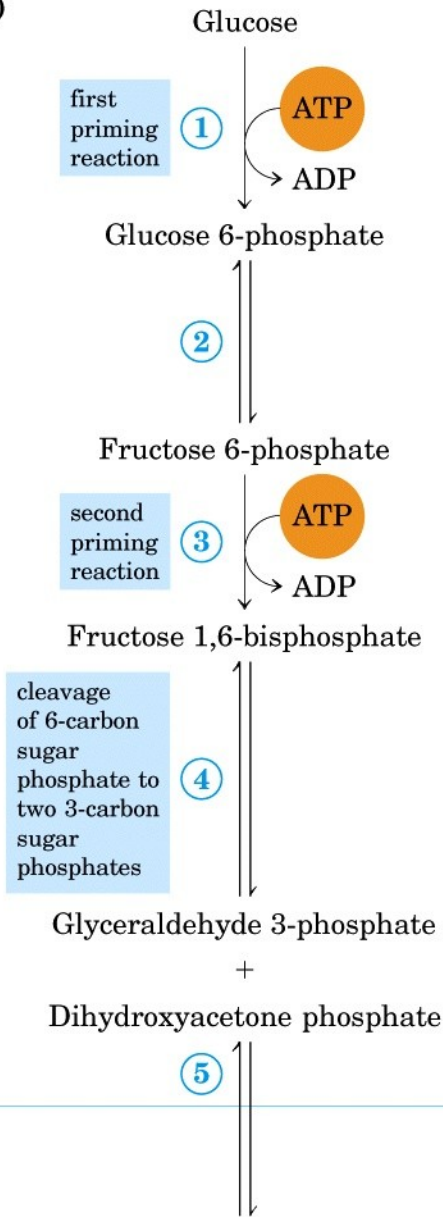
Ribose 5-phosphate

Pyruvate





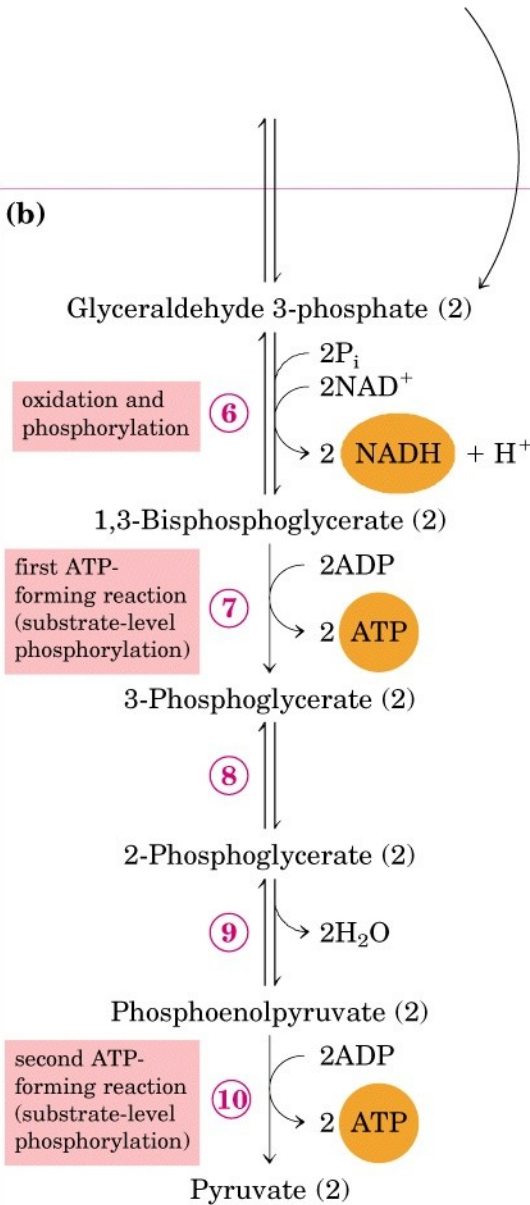
(a)



Preparatory phase

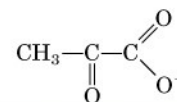
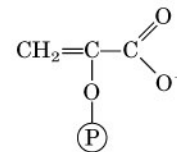
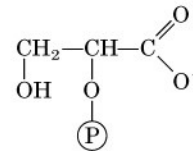
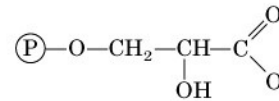
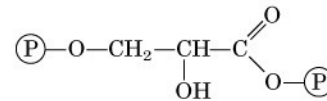
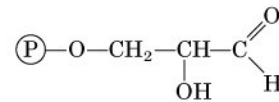
Phosphorylation of glucose and its conversion to glyceraldehyde 3-phosphate

(b)



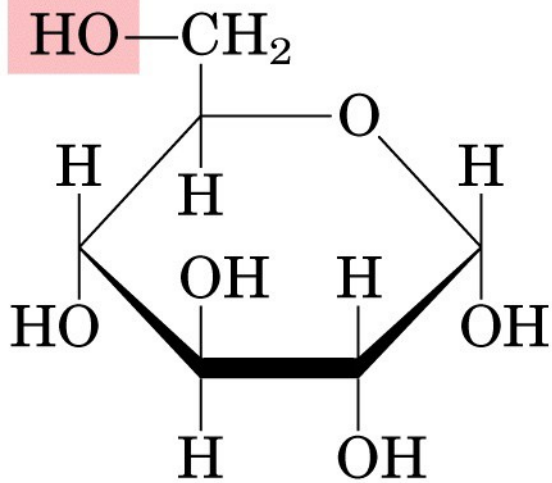
Payoff phase

Oxidative conversion of glyceraldehyde 3-phosphate to pyruvate and the coupled formation of ATP and NADH

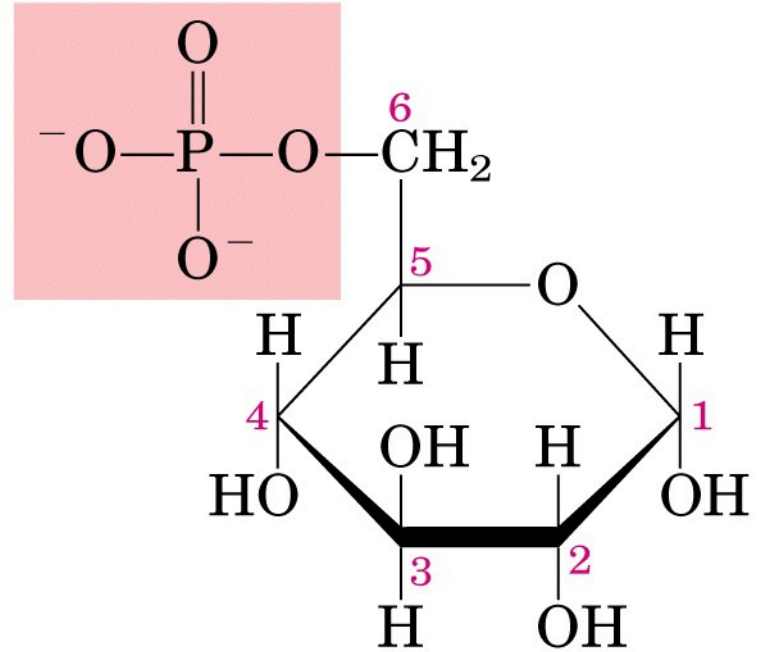
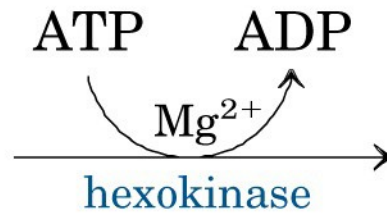


Primera fase de la glicólisis

- En la fase preparatoria de la glicólisis se invierten 2 moléculas de ATP y la cadena de hexosa es degradada en dos triosas-fosfato.
- La D-glucosa se fosforila en posición 6, a fin de producir G-6P, reacción que es catalizada por dos enzimas: **Hexoquinasa** o **Glucoquinasa** con un $\Delta G^\circ = -3.3 \text{ Kcal/mol}$.
- Hexoquinasa está presente en todas las células de todos los organismos. Sin embargo los hepatocitos contienen una isoenzima denominada Glucoquinasa.



Glucose



Glucose 6-phosphate

$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

Hexoquinasa

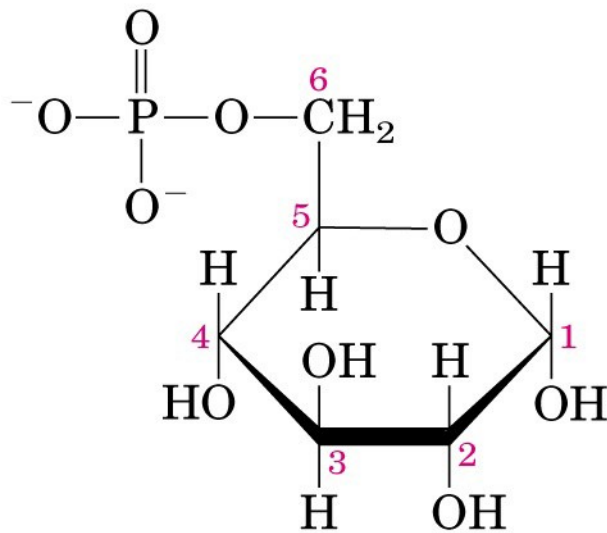
- Es la enzima más difundida y utilizada por la mayor parte de las células. Fosforila la glucosa y otras hexosas.
- Presenta mayor afinidad por las aldohexosas. Se encuentra en levaduras, animales y vegetales.
- Es una enzima reguladora, que **es inhibida por su propio producto a altas concentraciones**. Abunda en el tejido muscular.
- $K_m = 0.1\text{mM}$

Glucoquinasa

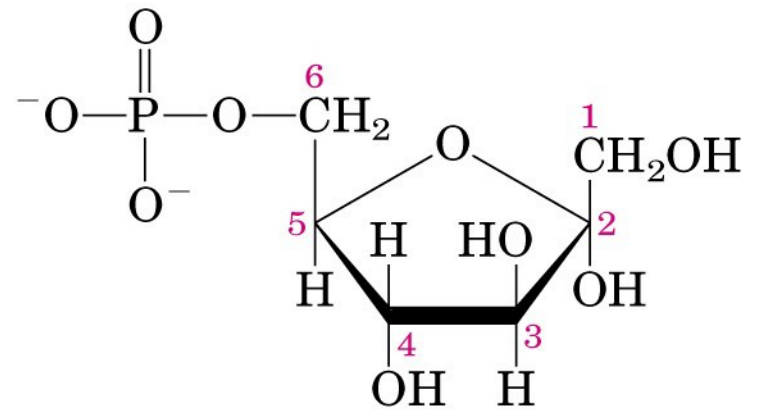
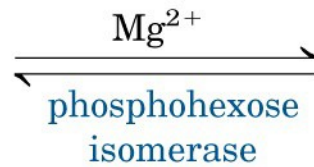
- Es específica para D-glucosa.
- Presenta una Km más alta (10 mM) y necesita, por tanto mayor concentración de glucosa que la hexoquinasa para ser saturada.
- No es inhibida por Glucosa-6P si no que por Fructosa-6P.
- Abundante en el hígado y ausente en el músculo. Actúa, cuando la concentración de glucosa en la sangre es elevada.
- La carencia de esta enzima produce en los individuos diabetes mellitus. La enzima requiere como cofactor Mg^{2+} o Mn^{2+} .

Conversión de Glucosa-6P en Fructosa-6P

- La enzima que cataliza la isomerización de Glucosa-6P (una aldosa) en Fructosa-6P (una cetosa) es la **glucosa-fosfato isomerasa**.
- La reacción es catalizada en ambas direcciones, con un $\Delta G^\circ = +0.4$ Kcal/mol.
- La enzima requiere Mg^{2+} y es específica para G-6P y F-6P.



Glucose 6-phosphate

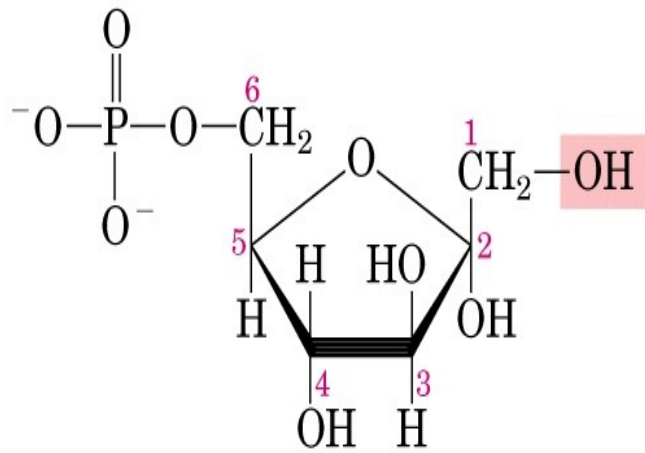


Fructose 6-phosphate

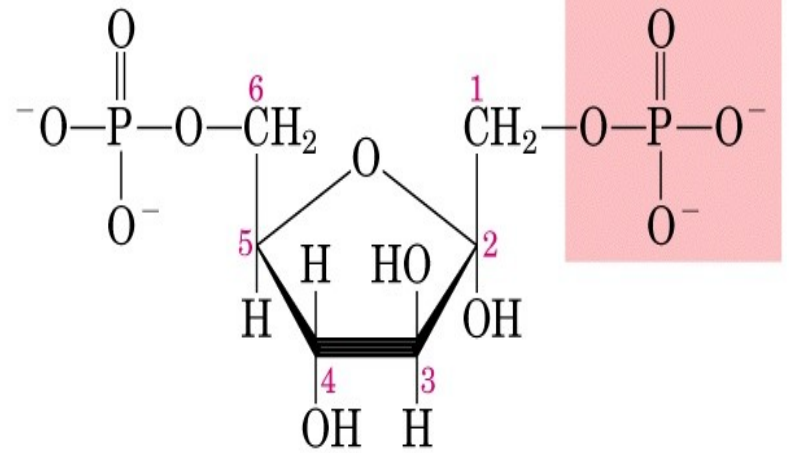
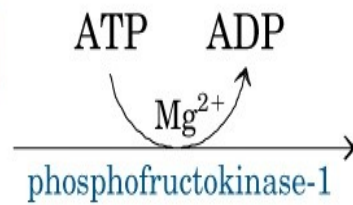
$$\Delta G'^{\circ} = 1.7 \text{ kJ/mol}$$

Fosforilación de F-6P a F-1,6 BP.

- La reacción es catalizada por la enzima **fosfofructoquinasa-1** (PFK -1), la cual cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde el ATP a la F-6P, rindiendo F-1,6 BP. El UTP e ITP pueden sustituir al ATP.
- PFK-1 es una enzima regulatoria. Es el principal punto de regulación en la glicólisis.
- Es **inhibida** por altas concentraciones de **ATP**, **citrato** y **ácidos grasos de cadena larga**. Es estimulada por ADP, AMP. La reacción es irreversible en la célula ($\Delta G^\circ = -3.4 \text{ Kcal/mol}$).

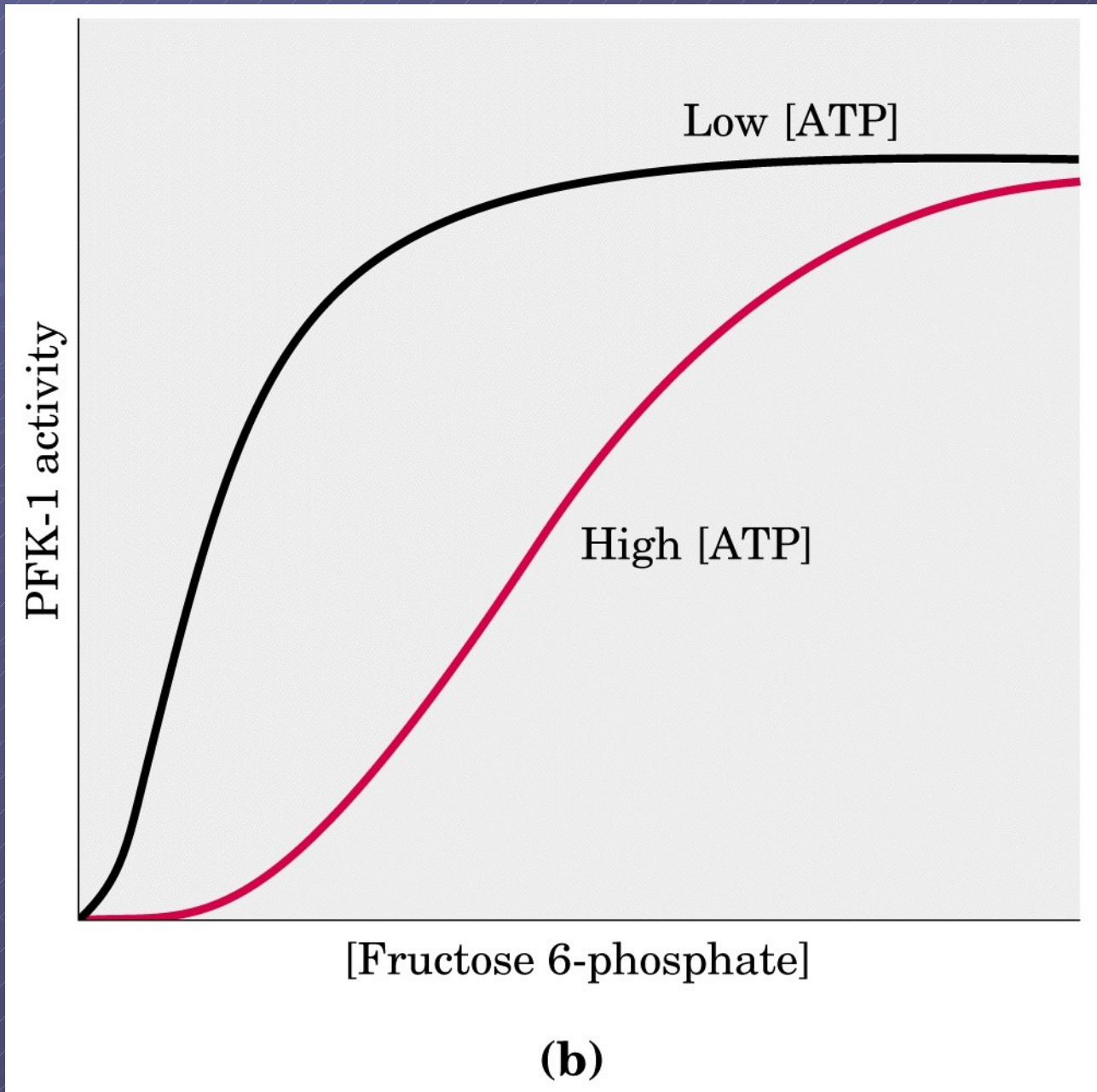


Fructose 6-phosphate



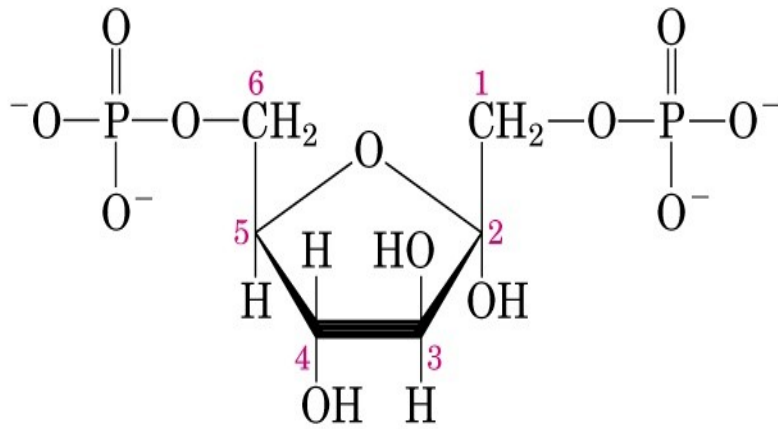
Fructose 1,6-bisphosphate

$$\Delta G'^{\circ} = -14.2 \text{ kJ/mol}$$

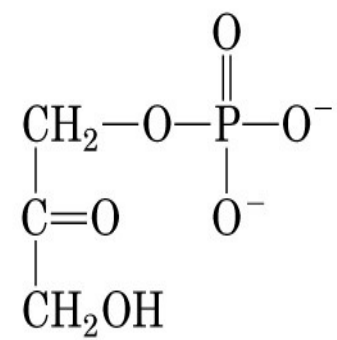


Degradación de F-1,6 BP

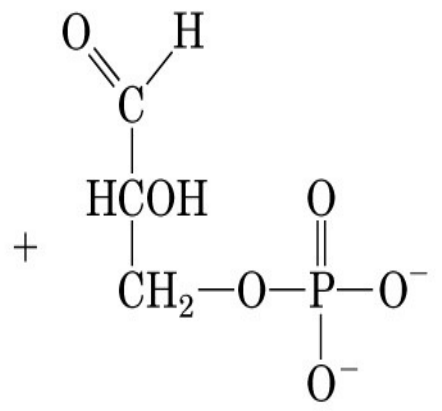
- La enzima **fructosa-difosfato-aldolasa**, también llamada simplemente **aldolasa**, cataliza una condensación aldólica reversible.
- F-1,6 BP es degradada para producir 2 triosas fosfato diferentes: dihidroxiacetona fosfato (una cetosa) y D-gliceraldehído-3P (una aldosa) con un $\Delta G^{\circ} = +5.73$ Kcal/mol.
- A pesar de que la reacción enzimática tiene un cambio de energía libre fuertemente positivo, esta podría proceder en cualquier dirección. Sin embargo durante la glicólisis el paso que sigue empuja la reacción hacia el catabolismo.



Fructose 1,6-bisphosphate

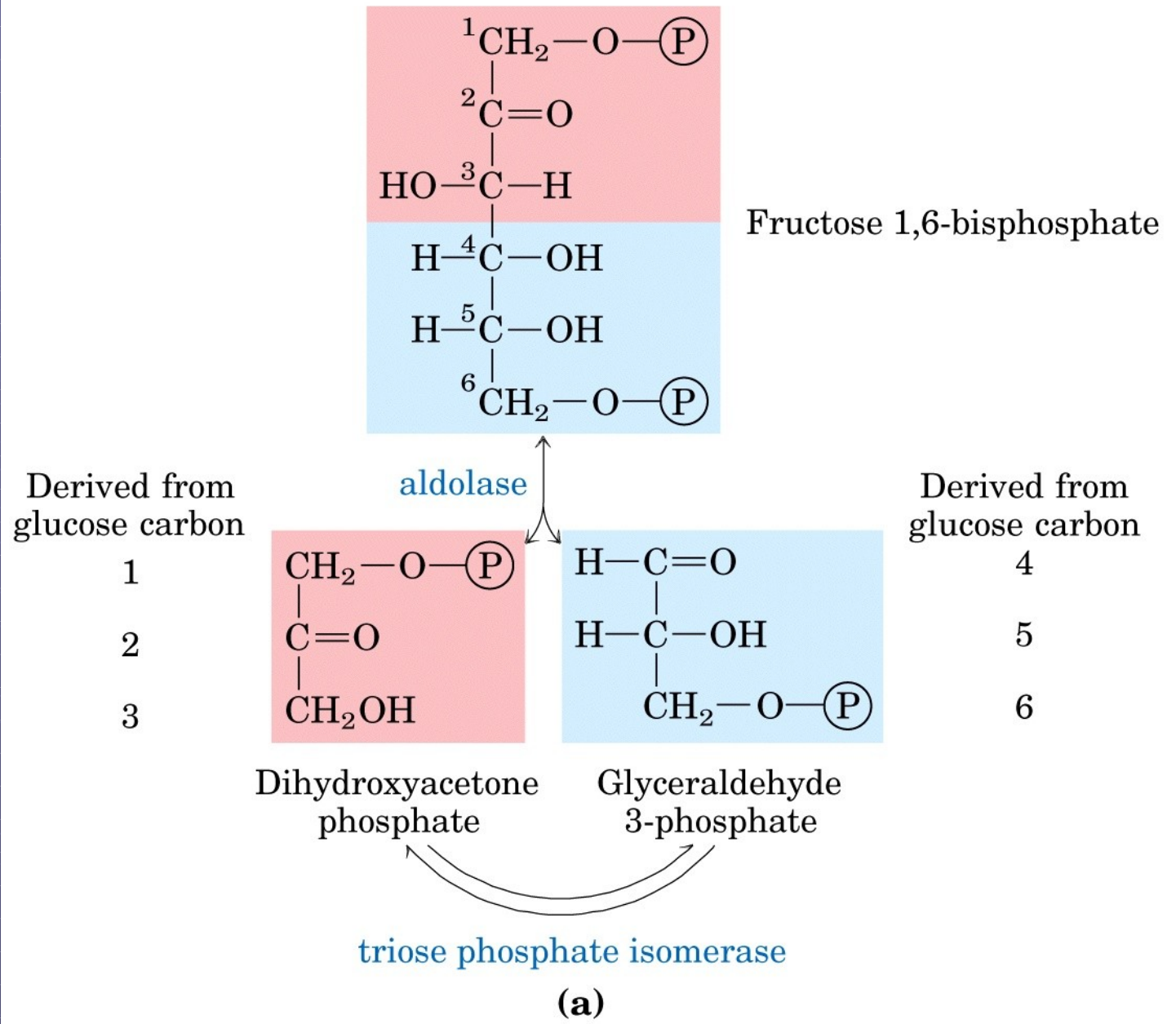


Dihydroxyacetone phosphate



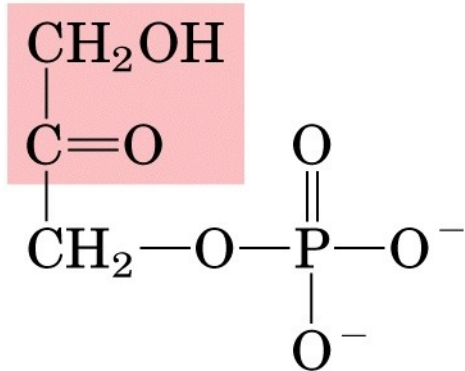
Glyceraldehyde 3-phosphate

$$\Delta G'^{\circ} = 23.8 \text{ kJ/mol}$$

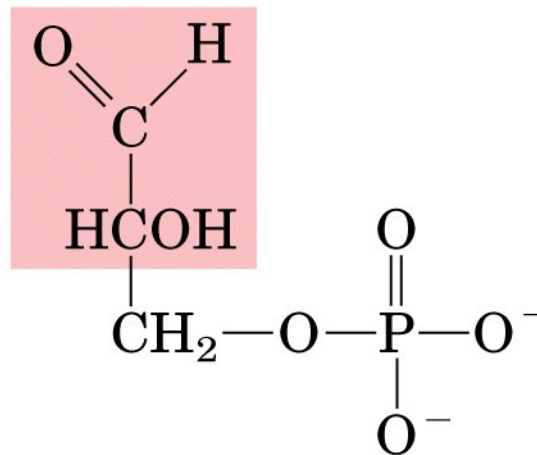
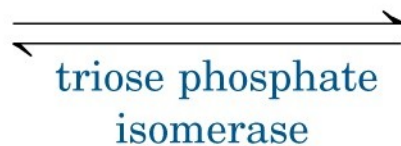


Interconversión de las Triosa-Fosfatos

- Sólo el G-3P puede ser degradado en la glucólisis.
- El otro producto, DHAP, es rápidamente convertido en G-3P por la acción de la enzima **triosa-fosfato-isomerasa** ($\Delta G^{\circ'} = +1.83$ Kcal/mol).
- Mediante esta reacción C1, C2 y C3 de la molécula de glucosa original son indistinguibles de C6, C5 y C4 respectivamente.



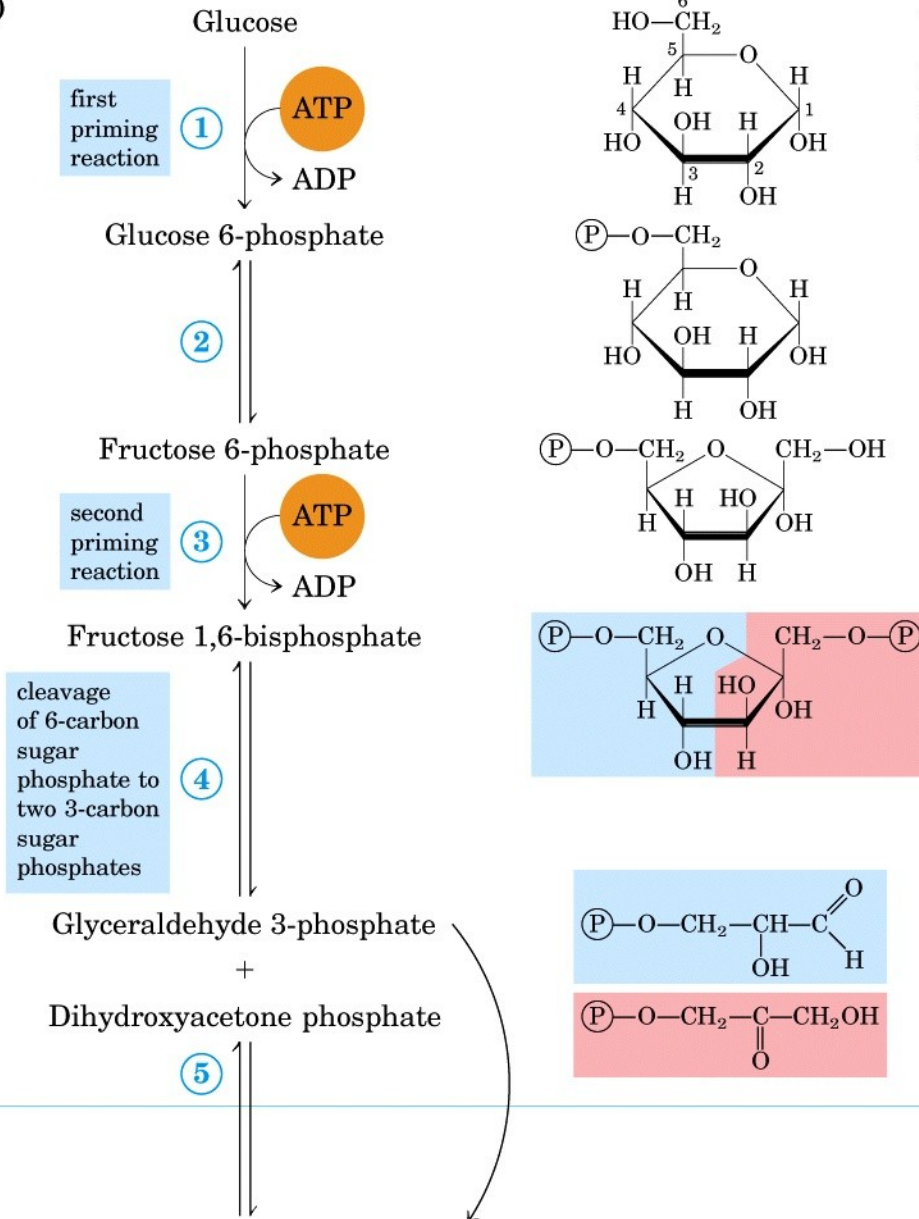
Dihydroxyacetone
phosphate



Glyceraldehyde
3-phosphate

$$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$

(a)



Preparatory phase

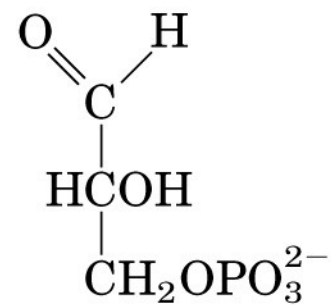
Phosphorylation of glucose and its conversion to glyceraldehyde 3-phosphate

Segunda Fase Glucólisis. (Fase de Payoff)

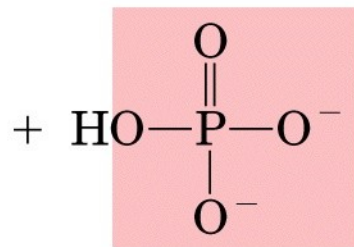
- Esta fase contempla las fases de fosforilación en las que se regenera ATP, a partir del ADP, y la obtención de NADH a partir de NAD⁺.
- La conversión de 2 moléculas de Gliceraldehído-3P a 2 moléculas de piruvato es acompañada por la formación de 4 moléculas de ATP.

Oxidación de Gliceraldehído-3P

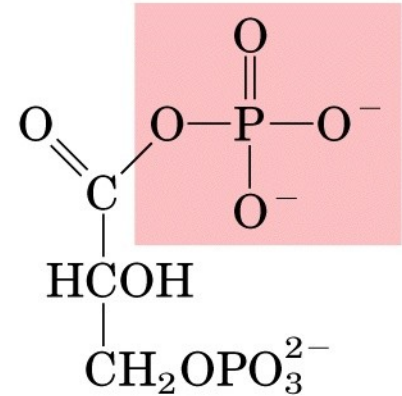
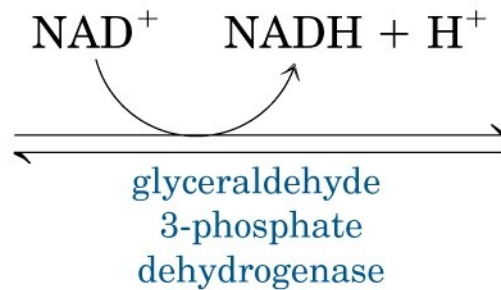
- Se oxida el Gliceraldehído-3P en presencia de NAD^+ y se convierte en 1,3-bifosfoglicerato ($\Delta G^{\circ'} = +1.5 \text{ Kcal/mol}$) y NADH .
- Por primera vez se utiliza P_i para la fosforilación de una molécula.
- La enzima que cataliza la reacción es la **gliceraldehído 3-fosfato-deshidrogenasa**.
- Otro componente de esta reacción es el NAD^+ , que acepta electrones del gliceraldehído-3P y los transporta hacia la cadena del transporte electrónico



Glyceraldehyde
3-phosphate

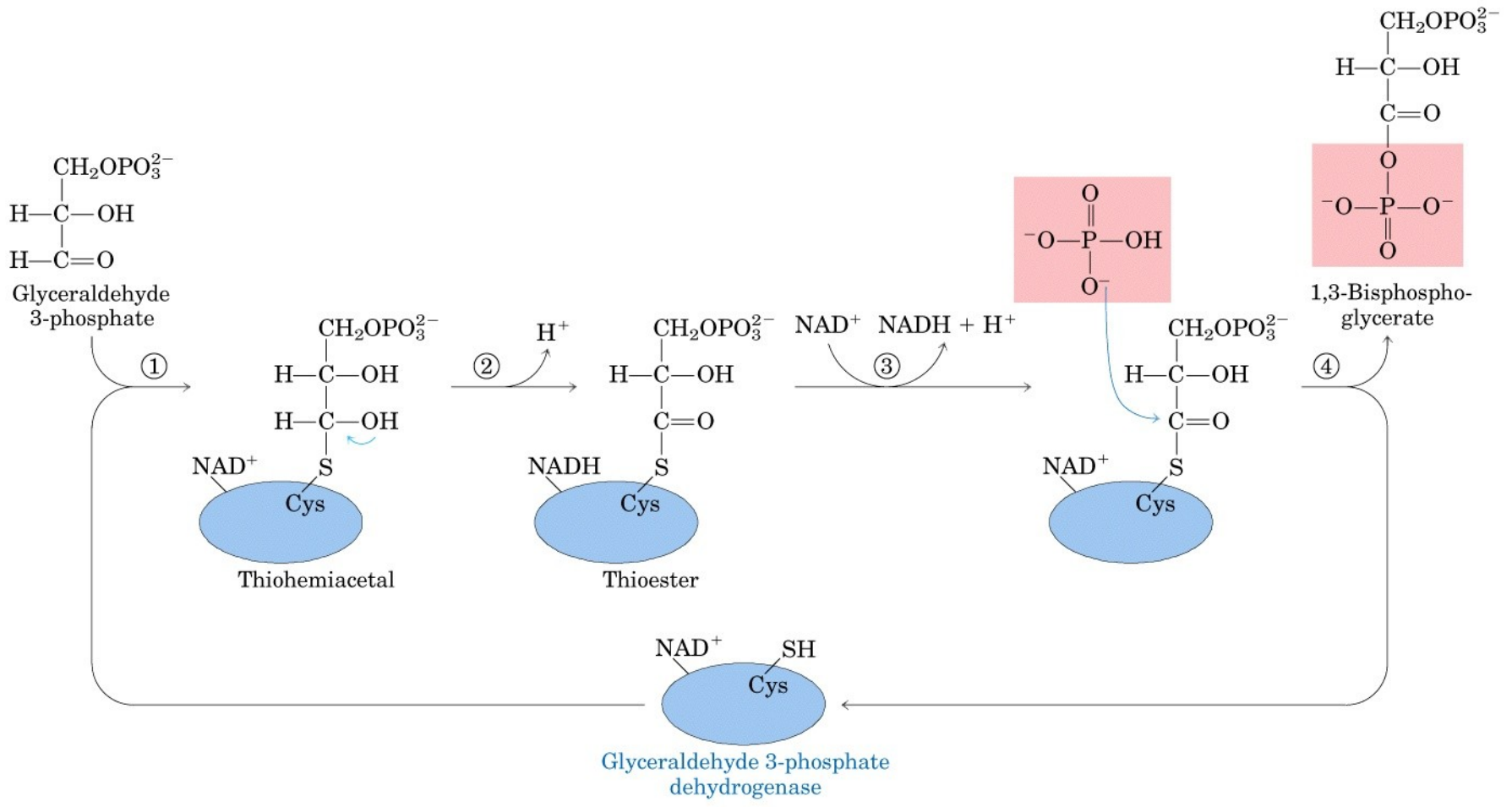


Inorganic
phosphate



1,3-Bisphosphoglycerate

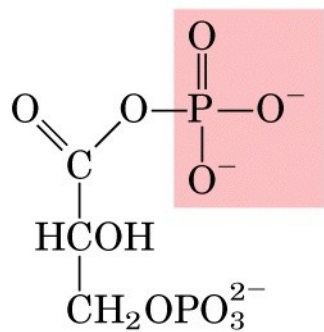
$$\Delta G'^{\circ} = 6.3 \text{ kJ/mol}$$



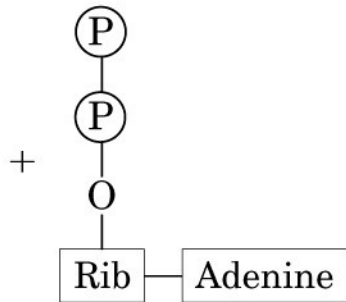
Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase reaction: a more detailed representation

Transferencia de fosfato desde 1,3-BP-glicerato a ADP

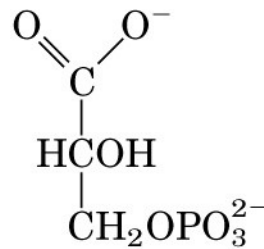
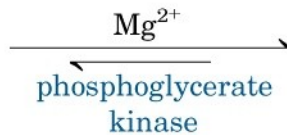
- El 1,3 BP-glicerato formado en la fase anterior, reacciona enzimáticamente con ADP, generándose 3P-glicerato.
- Reacción catalizada por la **fosfoglicerato-quinasa** ($\Delta G^{\circ} = -4,5 \text{ Kcal/mol}$).
- La formación de ATP por transferencia de un grupo fosforilo corresponde a la llamada **fosforilación a nivel de sustrato**, distinta a la **fosforilación ligada a respiración**.



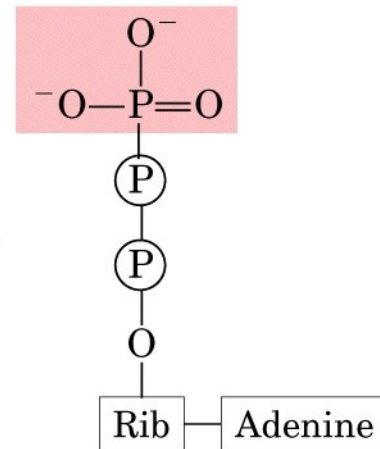
1,3-Bisphosphoglycerate



ADP



3-Phosphoglycerate

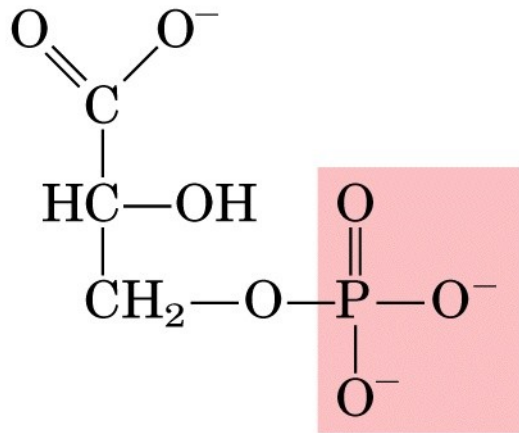


ATP

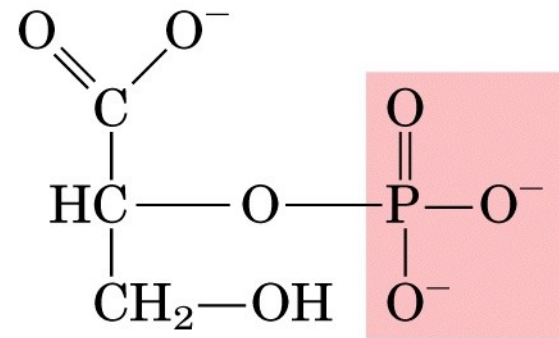
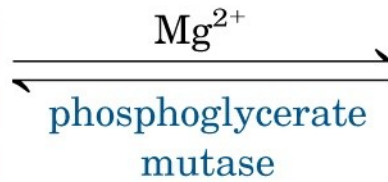
$$\Delta G'^{\circ} = -18.5 \text{ kJ/mol}$$

Conversión del 3P-glicerato en 2P-glicerato.

- Reacción reversible catalizada por la enzima **fosfoglicero-mutasa**.
- La enzima cataliza la transferencia del grupo P, desde la posición 3 a la posición 2 del ácido glicérico ($\Delta G^\circ = 1.06$ Kcal/mol) en la célula.
- La forma presente en los tejidos animales necesita del **2,3-difosfoglicerato** como intermediario metabólico.

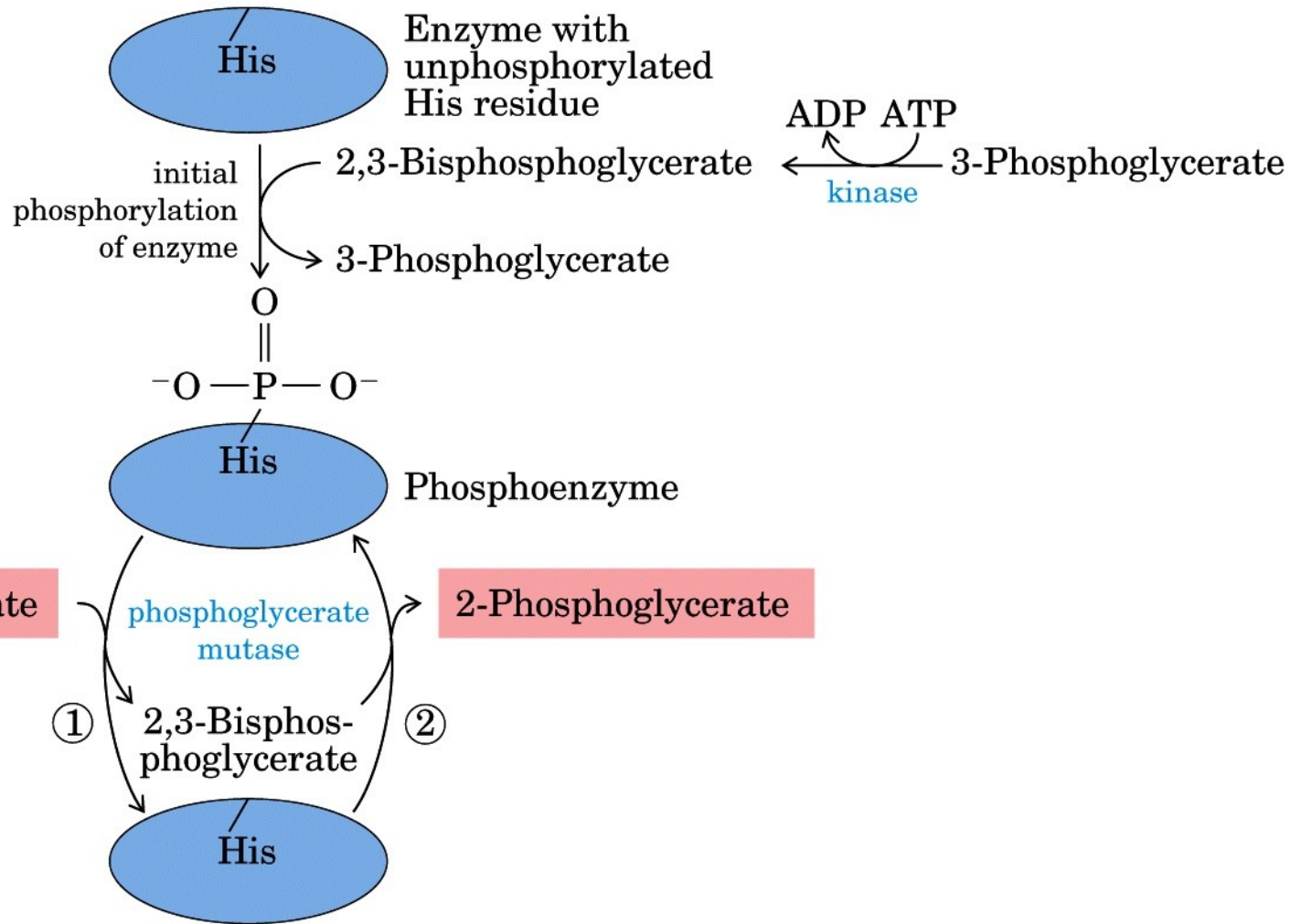


3-Phosphoglycerate



2-Phosphoglycerate

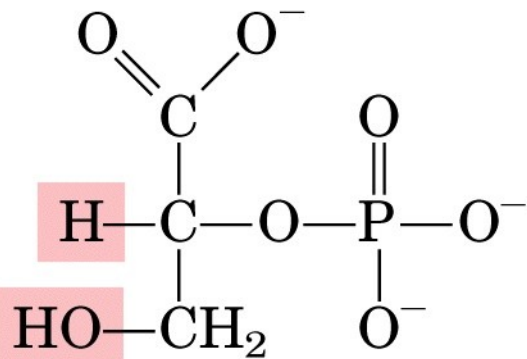
$$\Delta G'^{\circ} = 4.4 \text{ kJ/mol}$$



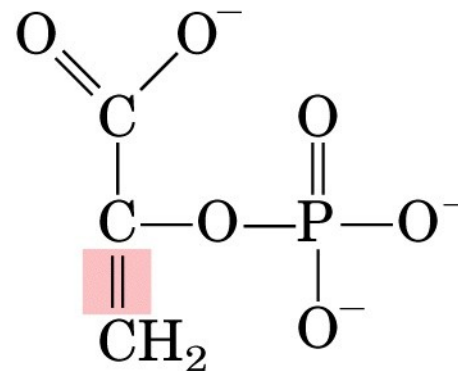
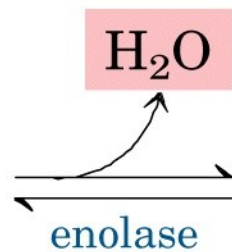
Mechanism of the phosphoglycerate mutase reaction

Deshidratación del 2-P-glicerato a fosfoenol-piruvato.

- La reacción genera un compuesto fosforilado de alta energía ($\Delta G^{\circ} = 1.79$ Kcal/mol) y es catalizada por la **enolasa**.



2-Phosphoglycerate



Phosphoenolpyruvate

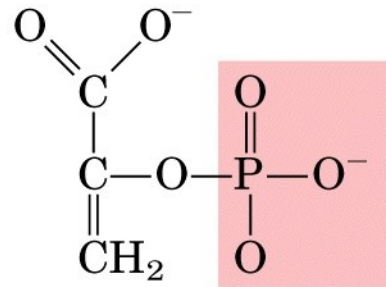
$$\Delta G^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$

Transferencia del P desde el fosfoenol-piruvato al ADP

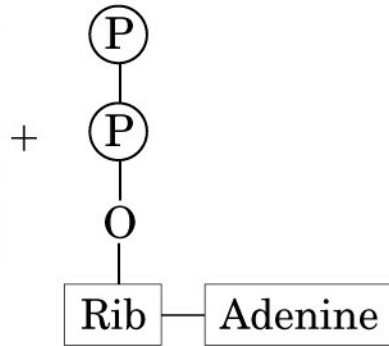
- Catalizada por la **piruvato quinasa** con producción de piruvato libre y ATP, es el último paso de la glicólisis.
- Reacción exergónica e irreversible en condiciones intracelulares ($\Delta G^\circ = -7.5 \text{ Kcal/mol}$).
- La enzima necesita Mg^{2+} o Mn^{2+} y K^+ .
- Piruvato primero aparece en su forma enol y rápidamente tautomeriza a su forma ceto, estable a pH 7,0.

Características

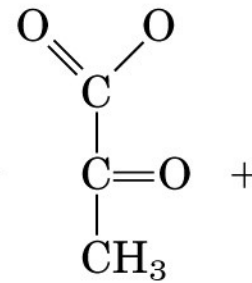
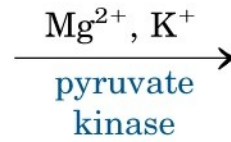
- En los mamíferos la enzima es **alostérica**.
- La forma L (hepática) es activada por la F1,6-BP y elevadas concentraciones de fosfoenolpiruvato.
- La forma M (muscular) no es activada por F1,6-BP pero sí por fenilalanina.
- La enzima es **inhibida** por altas concentraciones de **ATP**, **citrato**, **alanina**, **ácidos grasos de cadena larga** y por el **acetil-CoA**.



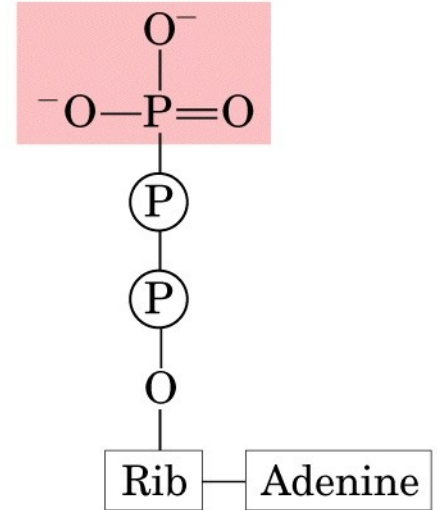
Phosphoenolpyruvate



ADP

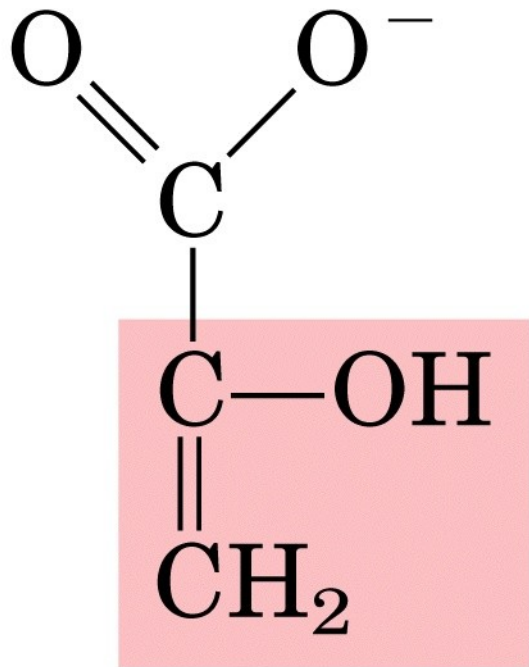


Pyruvate

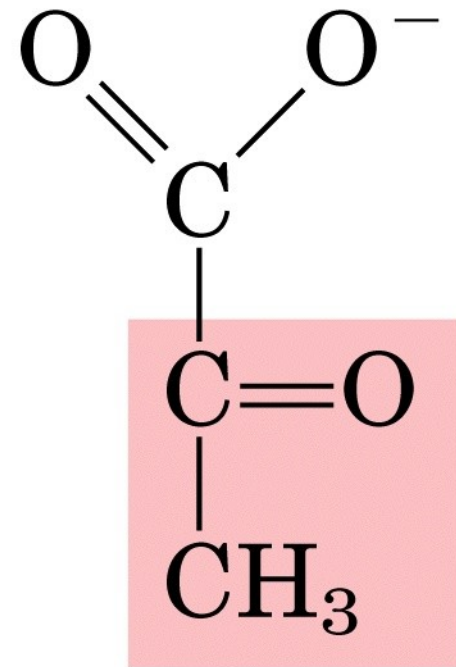


ATP

$$\Delta G'^{\circ} = -31.4 \text{ kJ/mol}$$



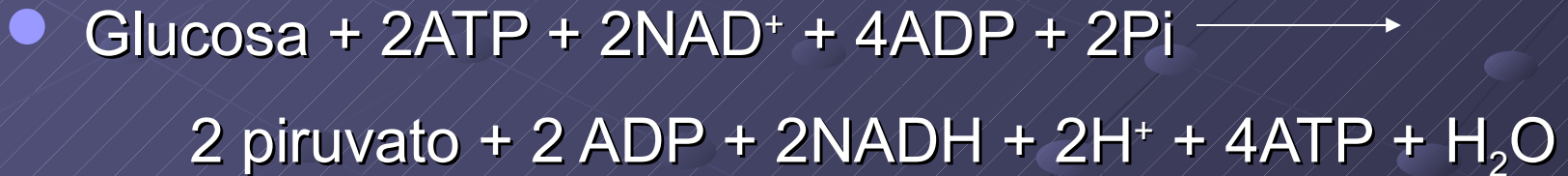
Pyruvate
(enol form)



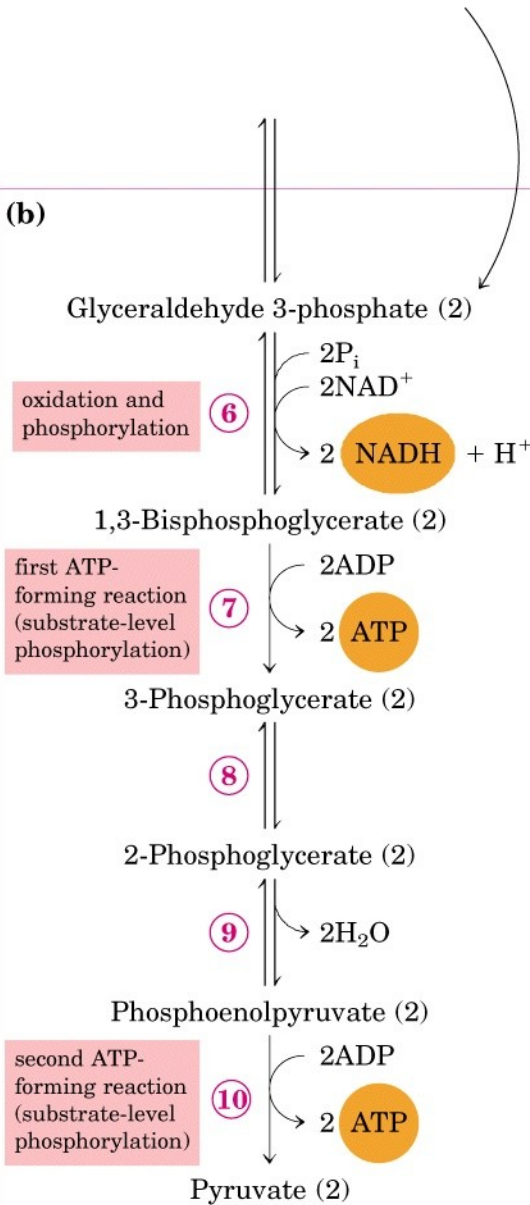
Pyruvate
(keto form)

Energética de la glucólisis

- Ocho de las reacciones de la glucólisis se encuentran en estado de equilibrio o muy próximo a él, donde sus valores de ΔG° están cercanos a cero.
- Tres de las reacciones se producen con un gran descenso de ΔG° y lejos del equilibrio: Reacciones de la **hexoquinasa**, **fosfofructo-quinasa-1** y la **piruvato-quinasa**.

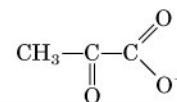
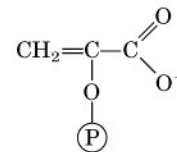
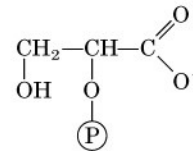
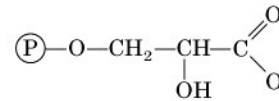
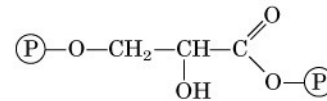
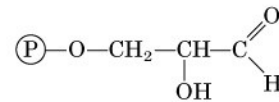


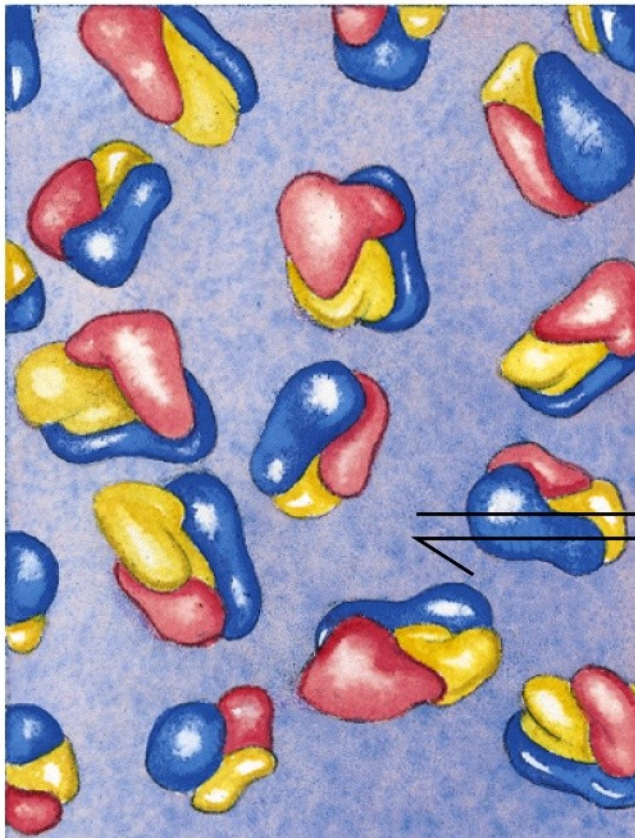
(b)



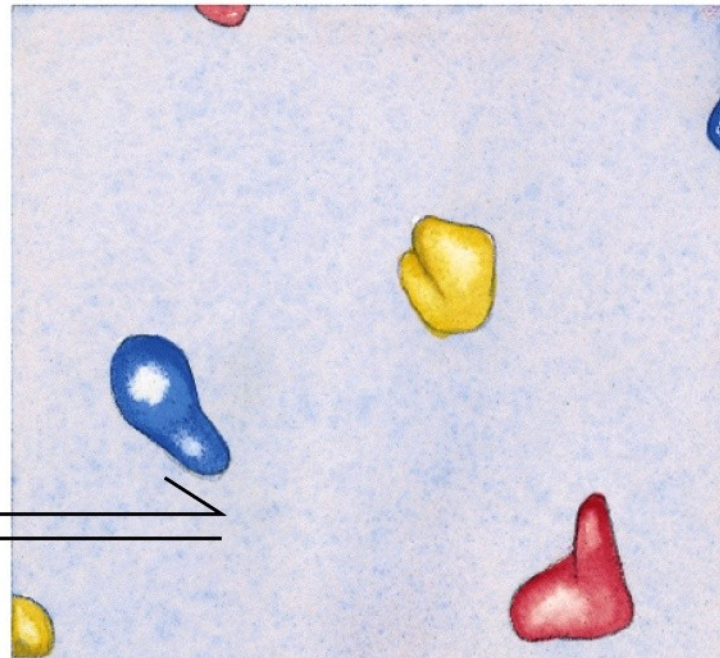
Payoff phase

Oxidative conversion of glyceraldehyde 3-phosphate to pyruvate and the coupled formation of ATP and NADH

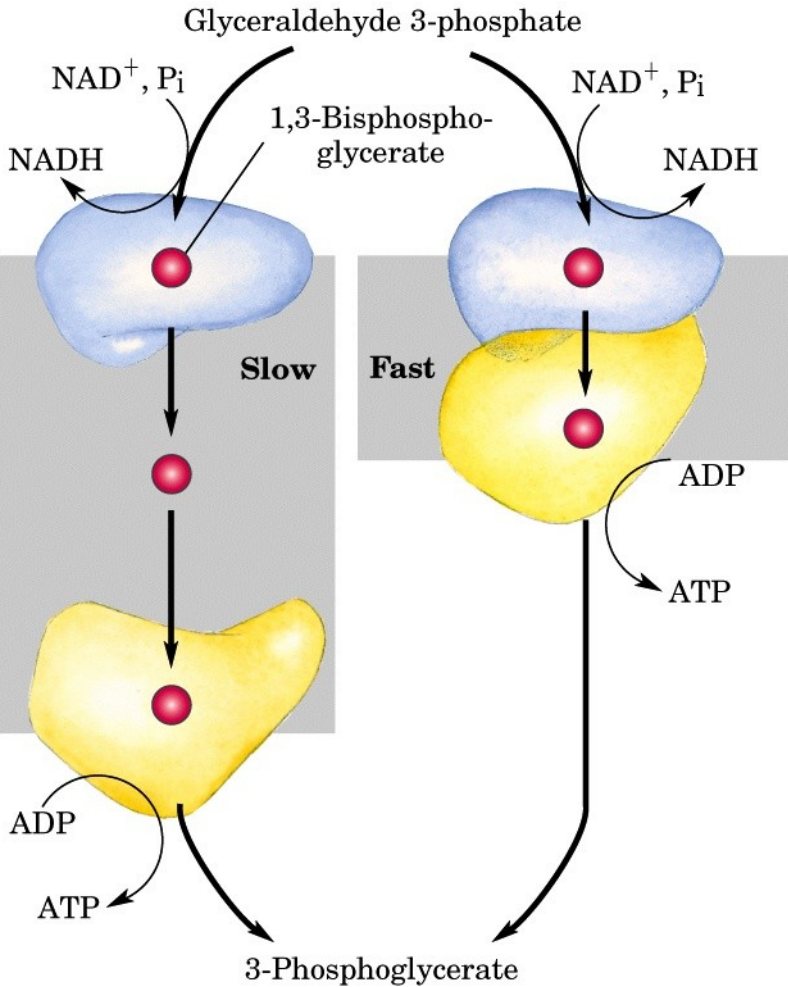




In the cytosol, high concentrations of enzymes 1, 2, and 3 favor their association.



In extract of broken cells, dilution by buffer reduces the concentrations of enzymes 1, 2, and 3, favoring their dissociation.



Channeling of a substrate between two enzymes in the glycolytic pathway:

Glyceraldehyde-3P (Blue)

3-Phosphoglycerate kinase (Yellow)

Sequential action of two separate enzymes: the product of the first enzyme (1,3-bisphosphoglycerate) diffuses to the second enzyme.

Substrate channeling through a functional complex of two enzymes: the intermediate (1,3-bisphosphoglycerate) is never released to the solvent.

Catabolismo de glucosa en el tejido canceroso

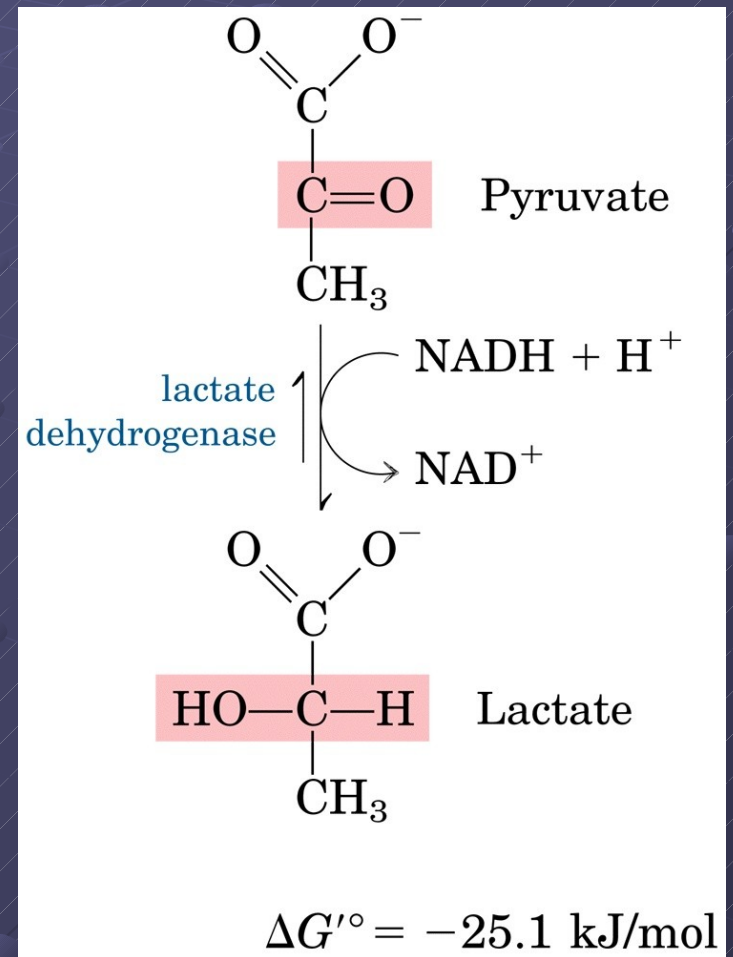
- El consumo de glucosa y la glicólisis proceden **10 veces más rápido** en el tejido canceroso.
- En general los tejidos tumorales presentan **hipoxia**, por lo tanto deben consumir mayores concentraciones de glucosa para obtener su producción de ATP.
- Otra razón es que estas células poseen un menor contenido de mitocondrias, lo que las obliga a obtener más ATP por la vía glicolítica.
- Las células tumorales sobreexpresan algunas enzimas glicolíticas como la **hexokinasa (Isoenzima ubicada en la cara citosólica de la membrana interna mitocondrial)**.

Destino del piruvato en condiciones anaeróbicas

- Cuando los tejidos no pueden suplir suficiente oxígeno para la glicólisis aeróbica, el **piruvato** se reduce a **lactato**.
- Los eritrocitos son capaces de generar fermentación láctica en **presencia de O_2** .
- La reacción es catalizada por la **lactato deshidrogenasa**.
- El lactato generado por el músculo en actividad puede ser reciclado. En el hígado es convertido a glucosa por **gluconeogénesis**.

Fermentación Láctica

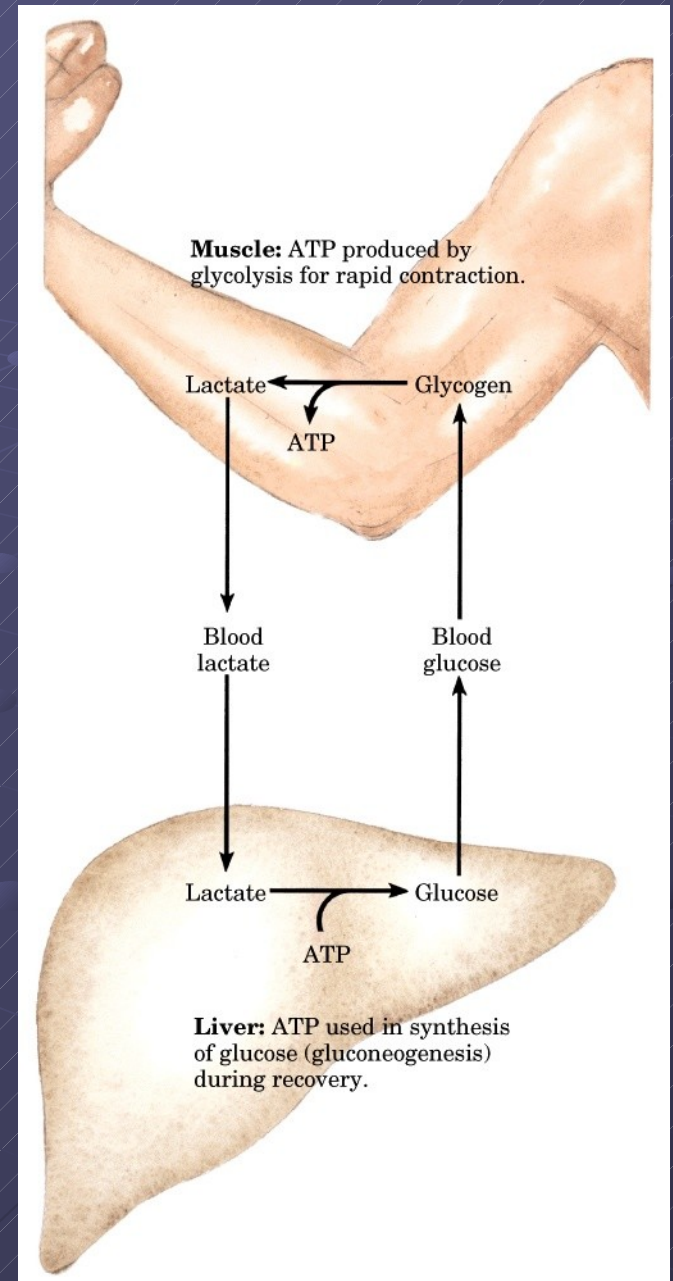
La glucosa se degrada a 2 moléculas de ácido láctico. Este proceso se produce en microorganismos y en las células musculares de la mayor parte de los animales superiores.



Ciclo de Cori

Durante una actividad física intensa y corta, una carrera de 100 mts, en la cual el oxígeno no puede ser llevado en forma rápida al músculo, se degradan depósitos de glicógeno para generar lactato y ATP.

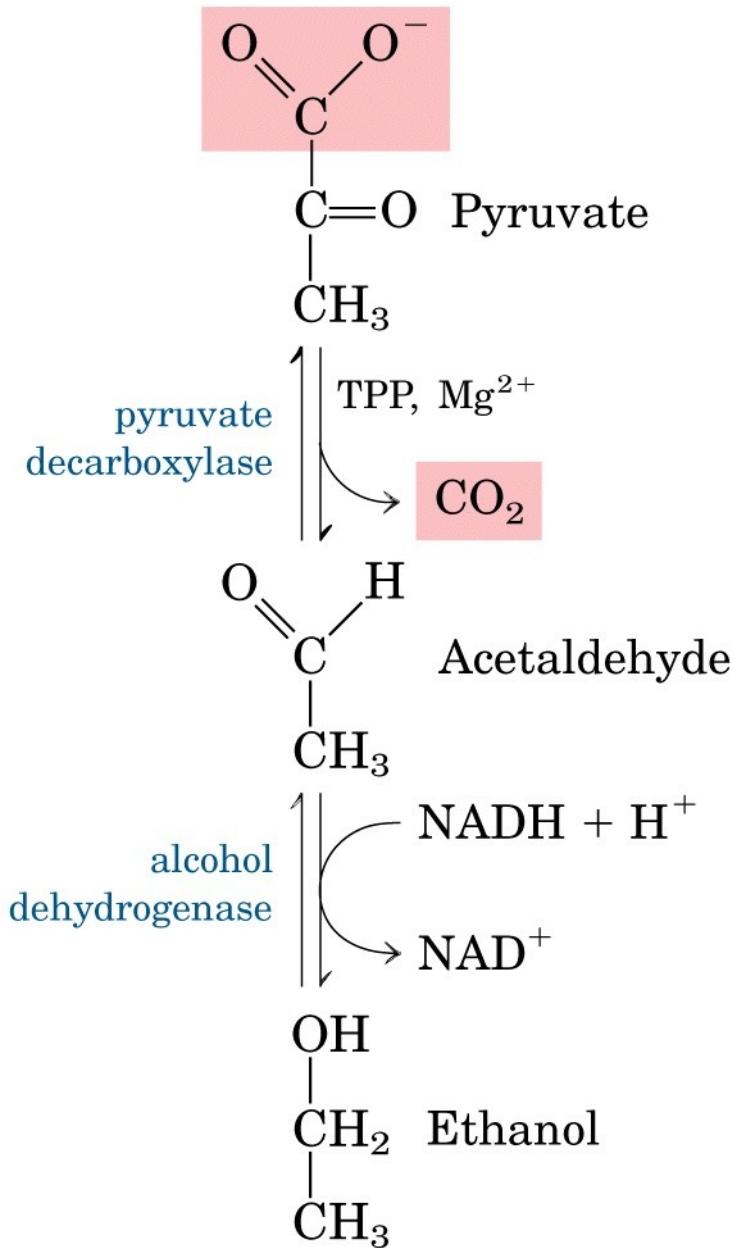
El lactato es lentamente convertido a glucosa vía gluconeogénesis en el hígado durante el período de descanso.





Fermentación alcohólica

- Es propia de levaduras, tales como la levadura de cerveza (*Sacharomyces cerevisiae*).
- La molécula de glucosa se escinde para rendir **2 moléculas de etanol** y **2 de CO₂**.
- El proceso es similar al descrito para la glicólisis, excepto en la etapa final, donde las enzimas **piruvato descarboxilasa** y **alcohol deshidrogenasa** catalizan la síntesis de etanol.

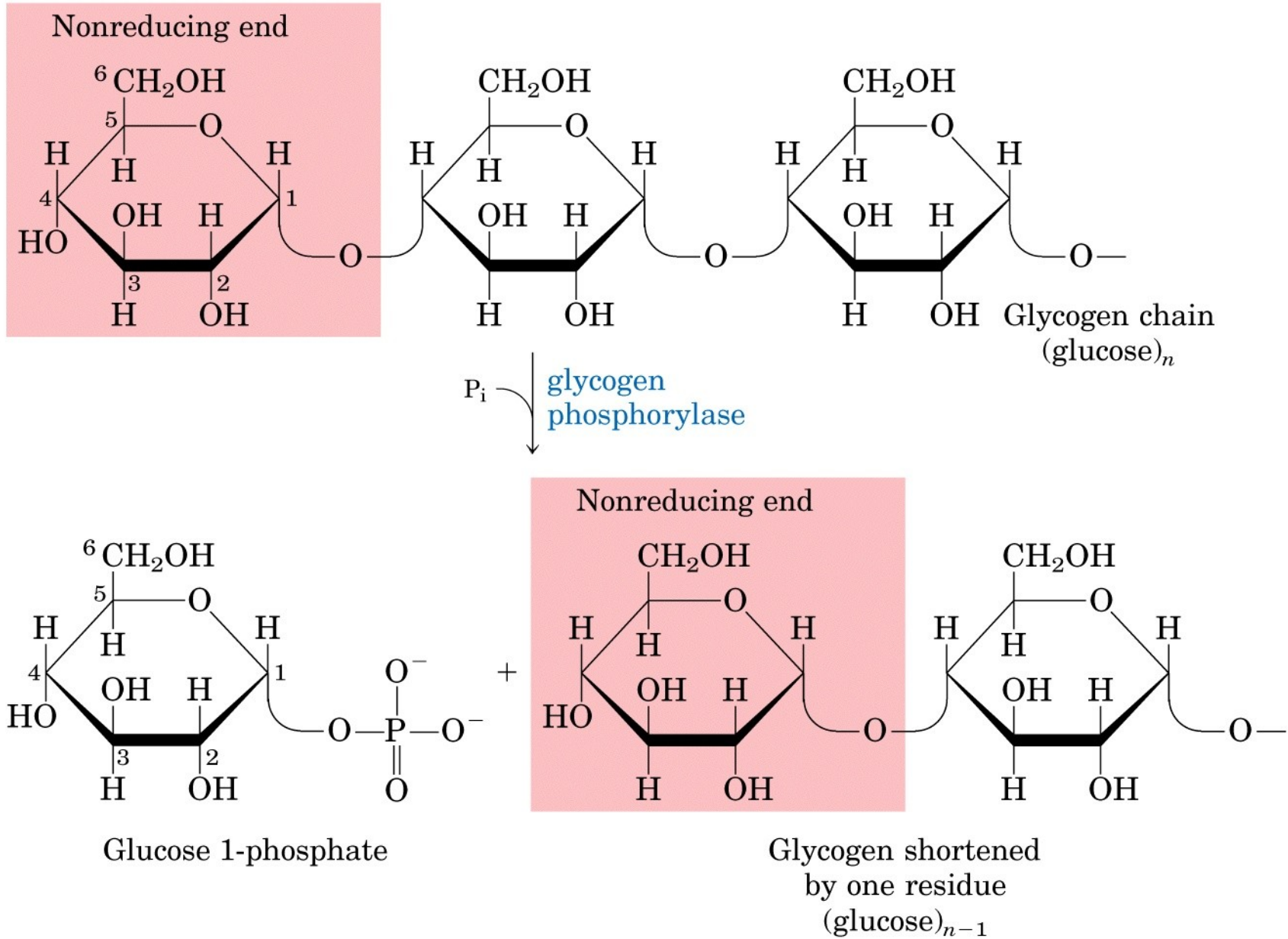


Piruvato descarboxilasa requiere Mg^{2+} y posee la coenzima TPP fuertemente unida.

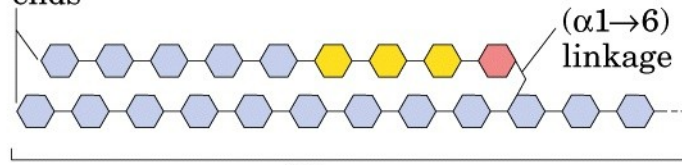
Alcohol deshidrogenasa está presente en muchos organismos que metabolizan etanol. Las células hepáticas catalizan la oxidación del etanol produciendo NADH

Glucógeno

- Polisacárido ramificado de residuos de glucosa.
- La enzima **glucógeno-fosforilasa** y **enzima desramificante** forman residuos de Glucos-1P.
- **Fosfogluco-mutasa** transforma los residuos de Glucosa-1P en Glucosa-6P
- Esta enzima precisa Mg^{2+} y glucosa 1,6 BP que actúa como intermediario metabólico.
- El papel de la glucosa 1,6 BP en la reacción de la fosfogluco-mutasa, es semejante al del 2,3-difosfoglicerato en la reacción de la fosfoglicero-mutasa.

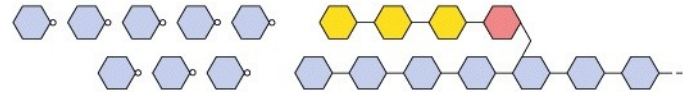


Nonreducing ends



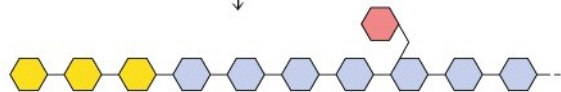
Glycogen

glycogen phosphorylase



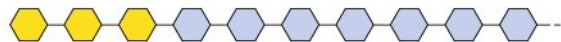
Glucose 1-phosphate molecules

transferase activity of debranching enzyme

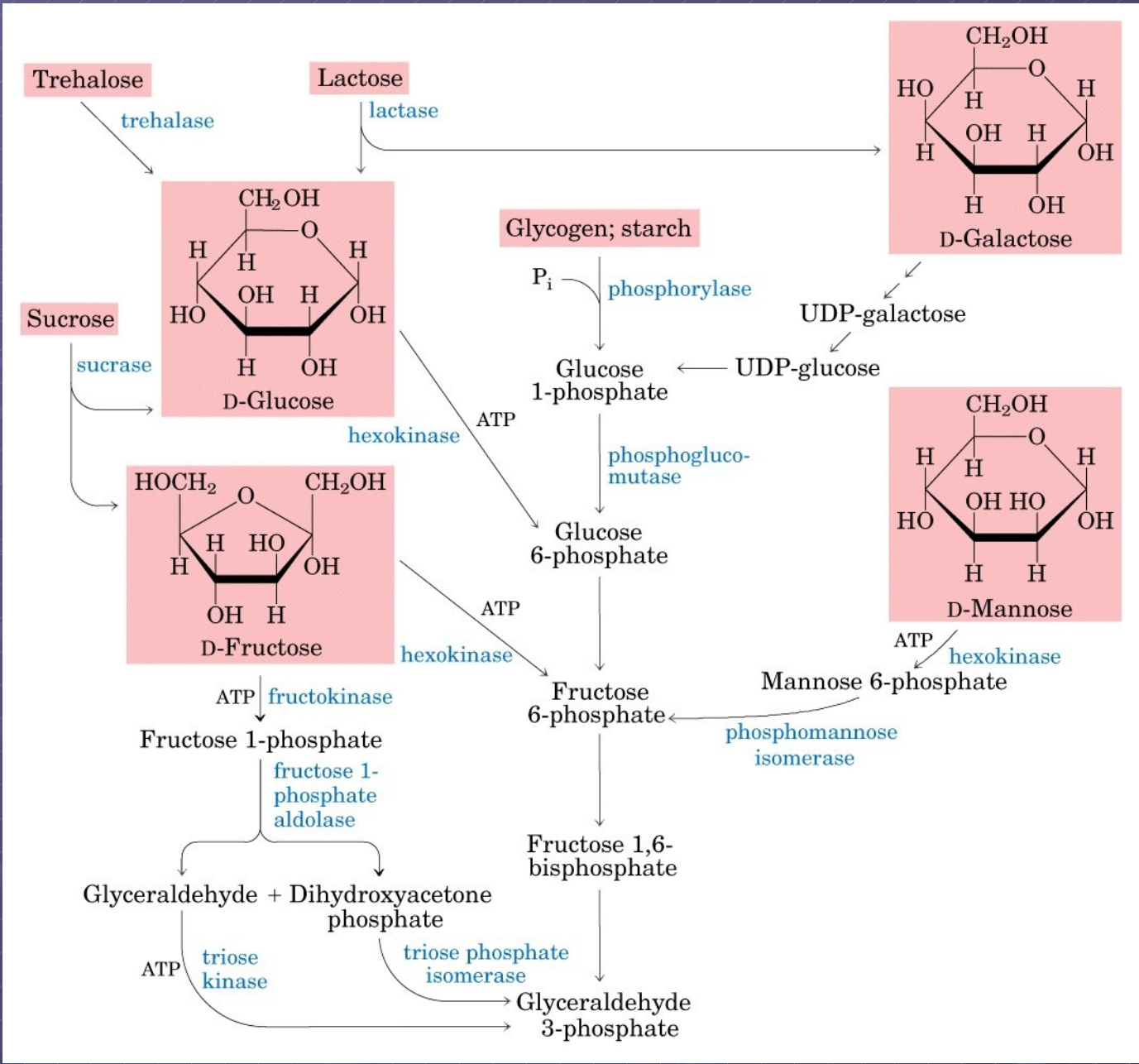


($\alpha 1 \rightarrow 6$) glucosidase activity of debranching enzyme

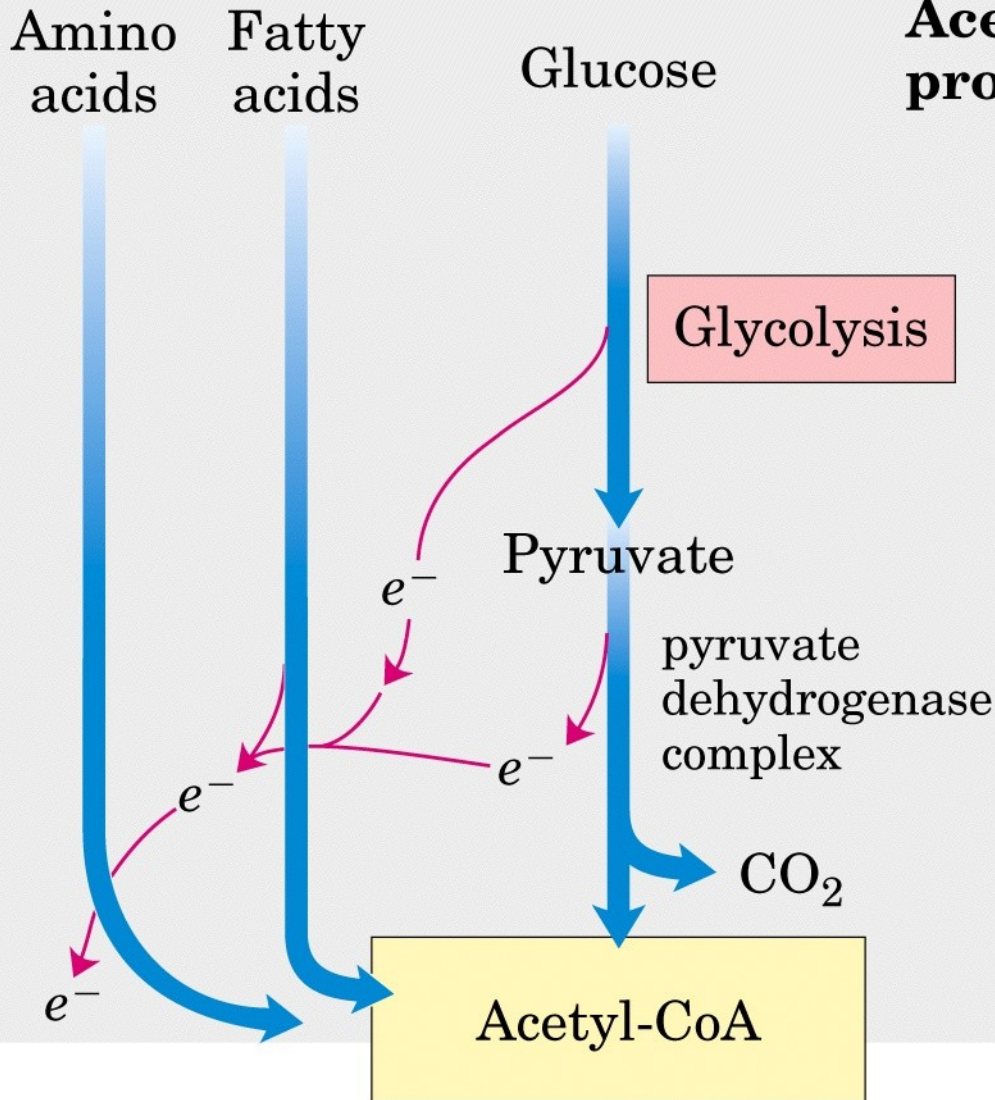
Glucose

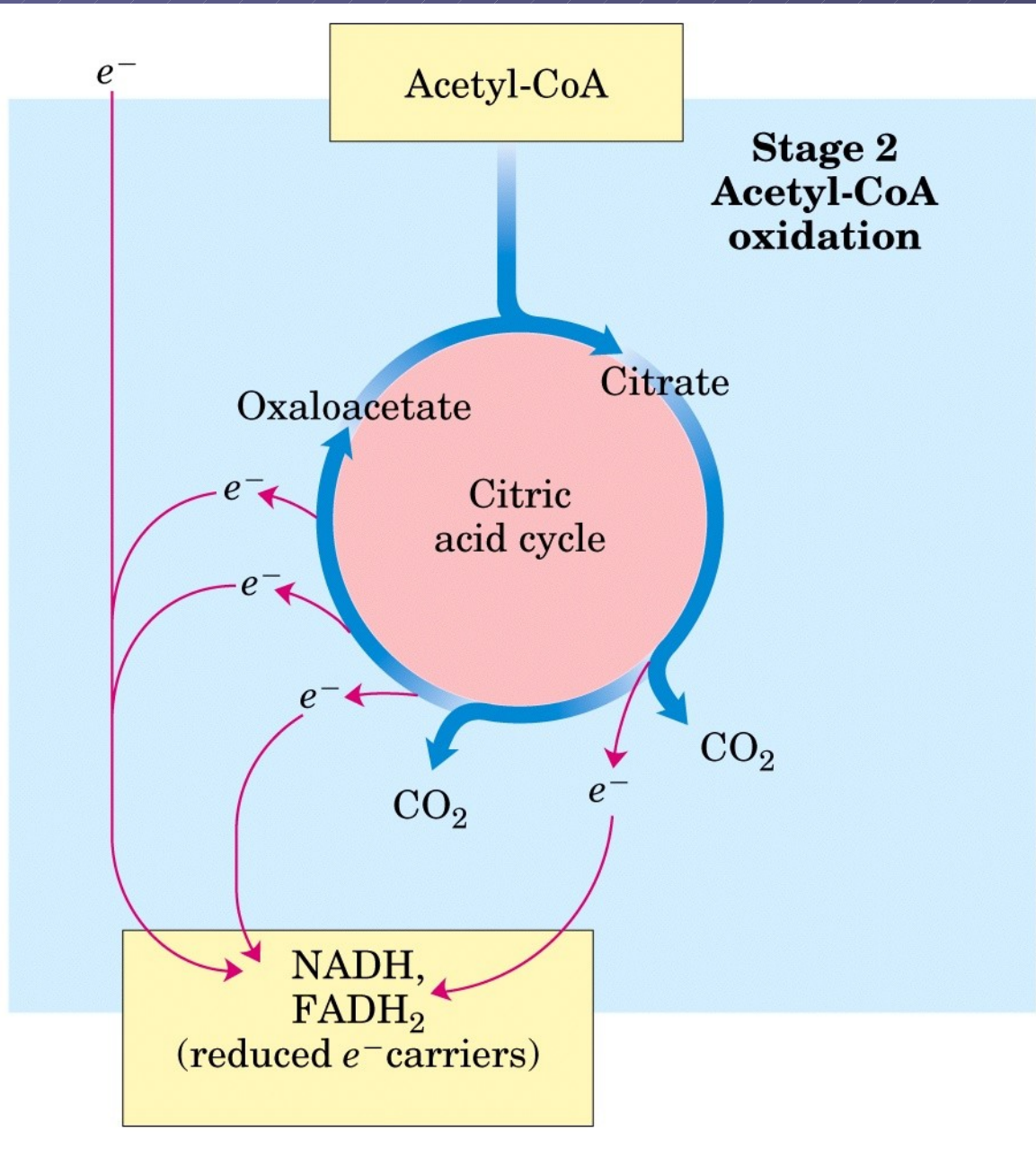


Unbranched ($\alpha 1 \rightarrow 4$) polymer; substrate for further phosphorylase action



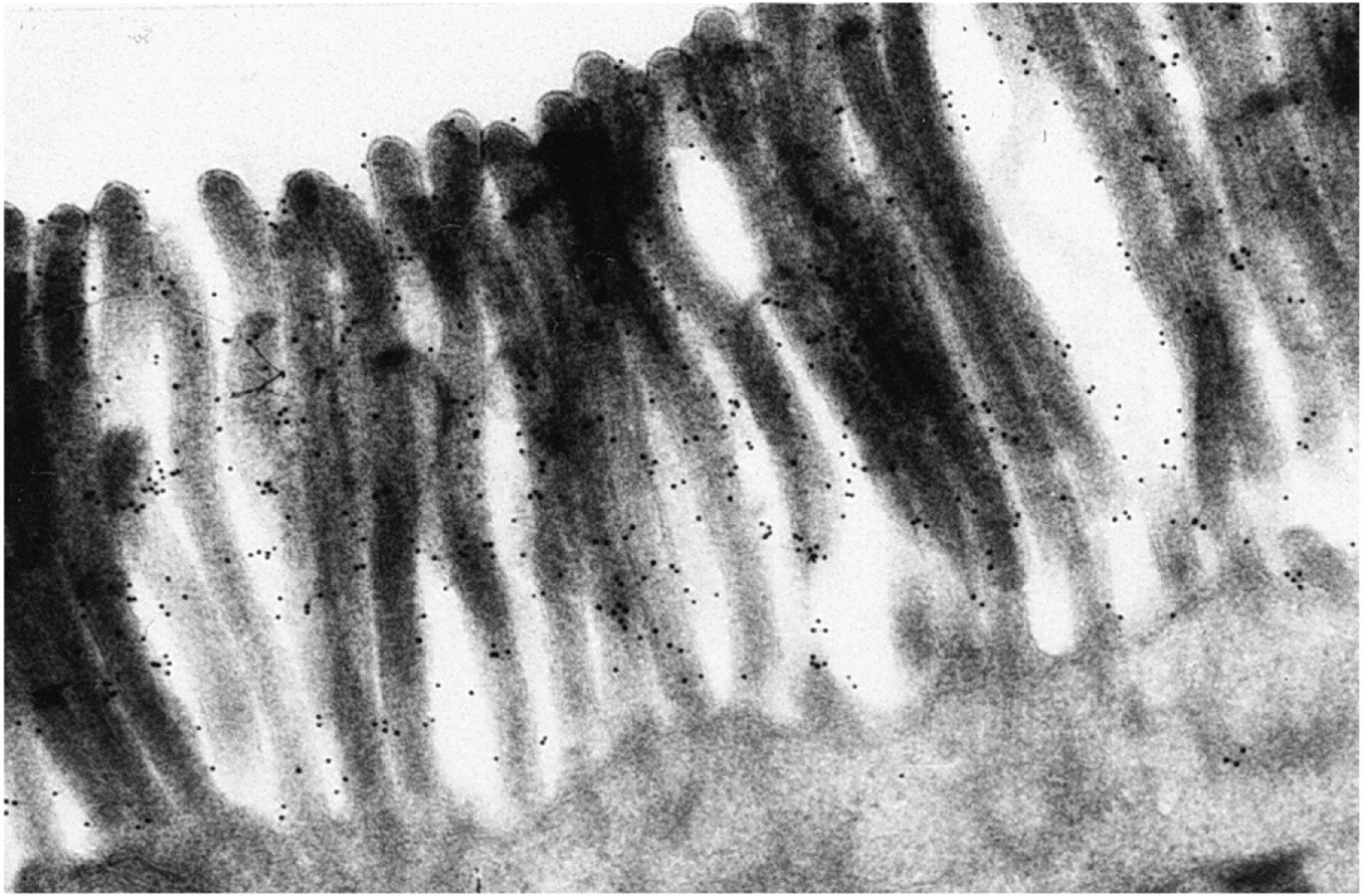
Stage 1 Acetyl-CoA production



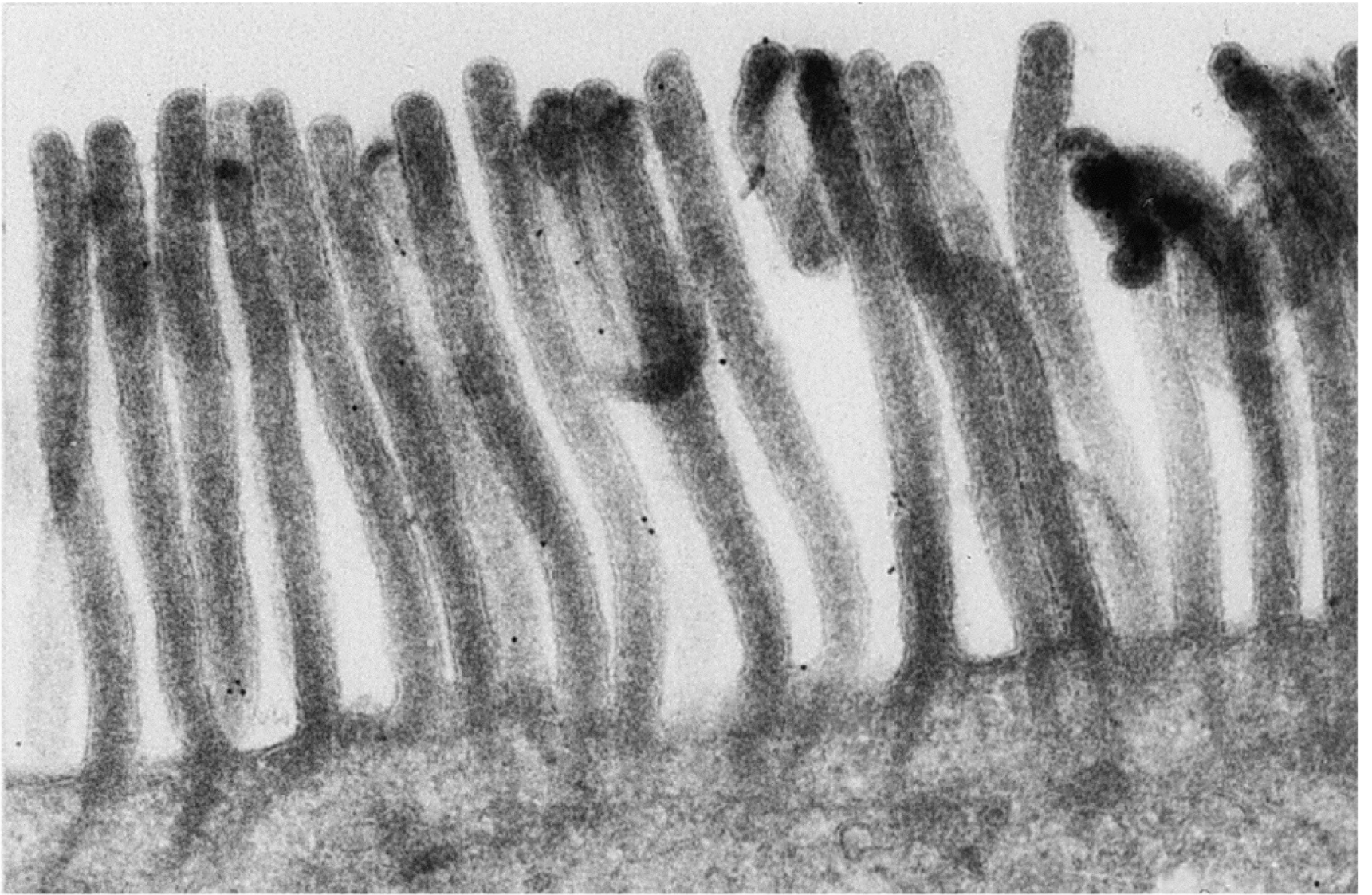


Incorporación de disacáridos.

Los disacáridos son generalmente hidrolizados, a sus monosacáridos antes de ser absorbidos en el intestino. La enzima **lactasa**, es un tipo de beta galactosídasa cuya actividad es nula en algunas razas humanas.



(a)



(b)