

Via del pentosio fosfato

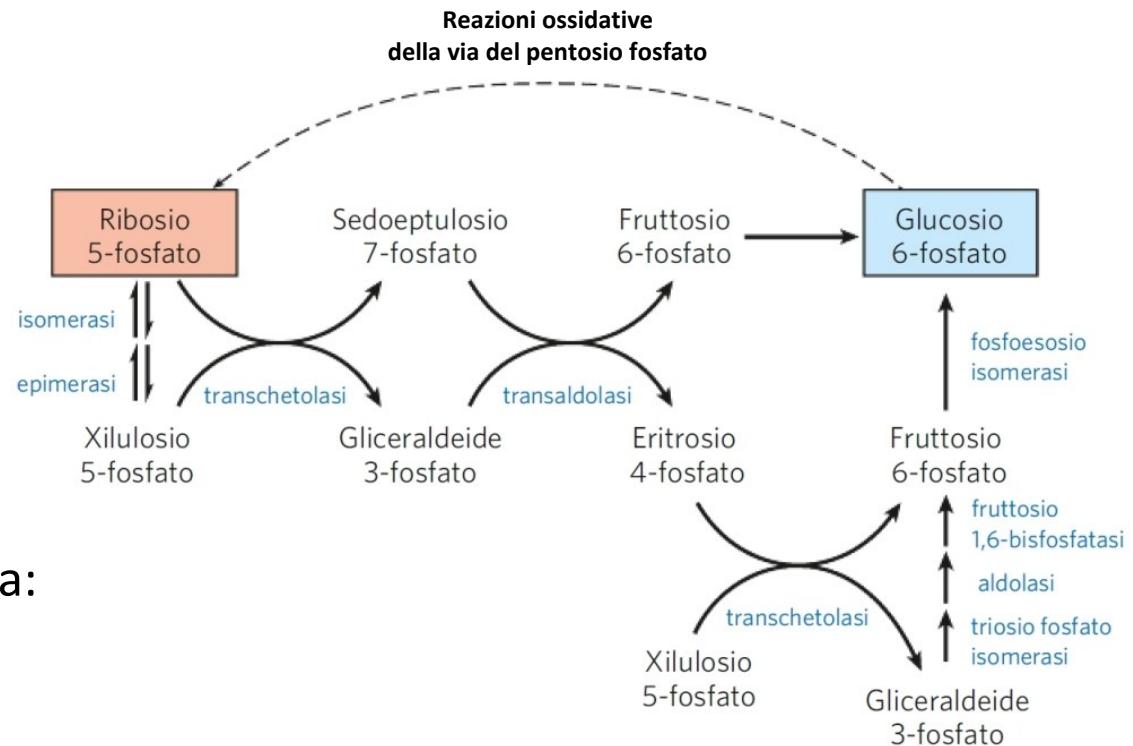


Via del pentosio fosfato

Una via del metabolismo del glucosio finalizzata alla produzione di zuccheri a cinque atomi di carbonio e NADPH. Questa via non produce energia.

Il NADPH è l'agente riducente nelle biosintesi.

È una via che avviene nel citosol di tutte le cellule.



Altri nomi alternativi della via:

Via del fosfogluconato;

Shunt dei pentosi;

Shunt dell'esoso monofosfato.

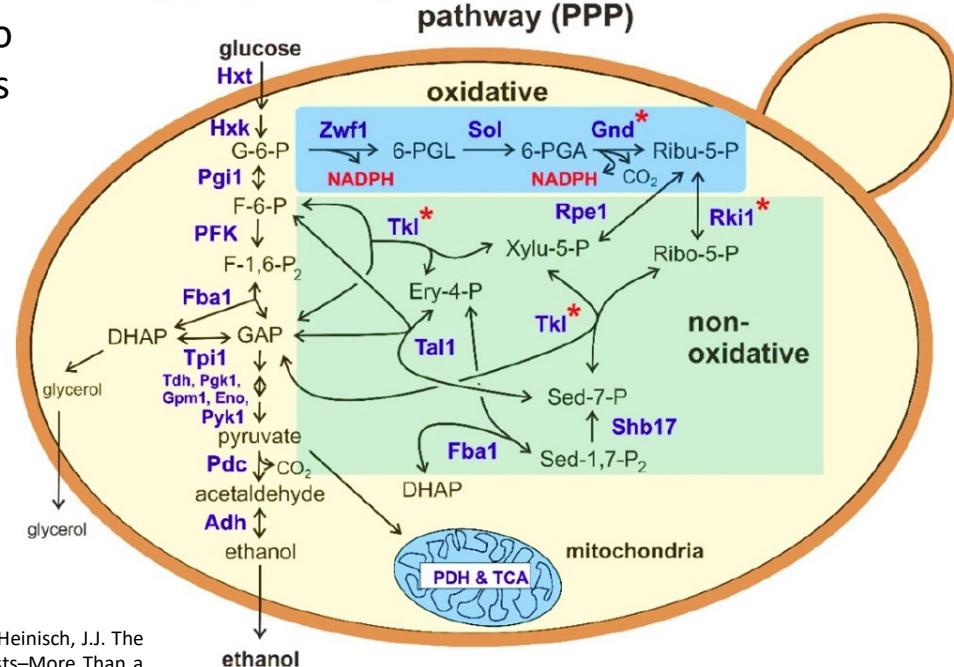
Nel lievito, la PPP ha tre ruoli fondamentali:

1. Bilanciare il potere riducente (NADPH) necessario per la biosintesi anabolica e per la difesa dallo stress ossidativo.

2. Produrre ribosio-5-fosfato quando la cellula deve sintetizzare RNA/DNA (importante durante la crescita rapida).

3. Interagire con la glicolisi e con il metabolismo del carbonio, specialmente quando cambia la fonte di zuccheri o il metabolismo ossidativo/fermentativo.

glycolysis pentose phosphate pathway (PPP)



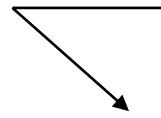
Bertels, L.-K.; Fernández Murillo, L.; Heinisch, J.J. The Pentose Phosphate Pathway in Yeasts—More Than a Poor Cousin of Glycolysis. *Biomolecules* 2021, 11, 725

Ribosio 5-fosfato



Sintesi di RNA, DNA, ATP..., NAD⁺, NADP⁺, FAD, Coenzima A.

NADPH



Biosintesi di: acidi grassi, steroli (ergosterolo), nucleotidi.

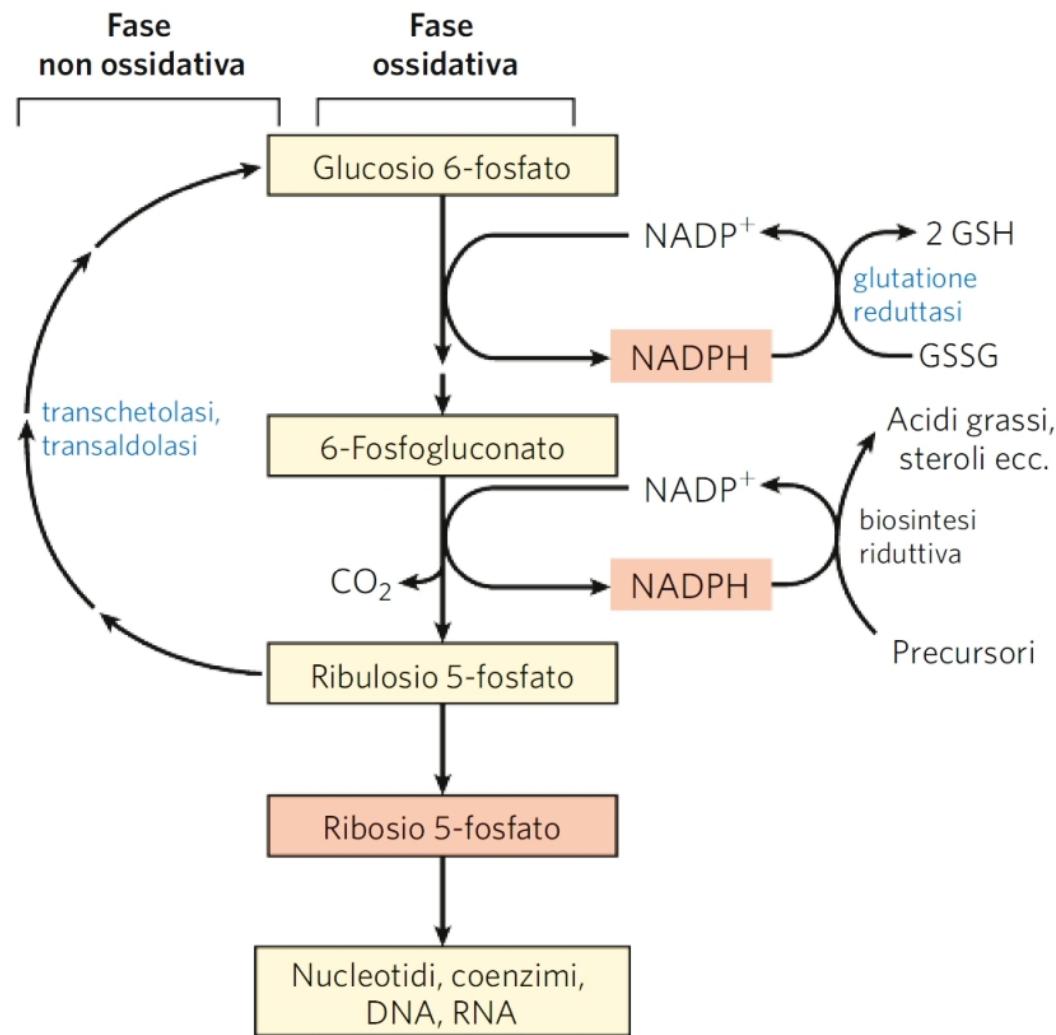
Detossificazione: riduzione del glutathione ossidato; citocromo p450 monoossigenasi.

Si realizza in due fasi: ossidativa, che genera NADPH e non ossidativa con l'interconversione degli zuccheri.

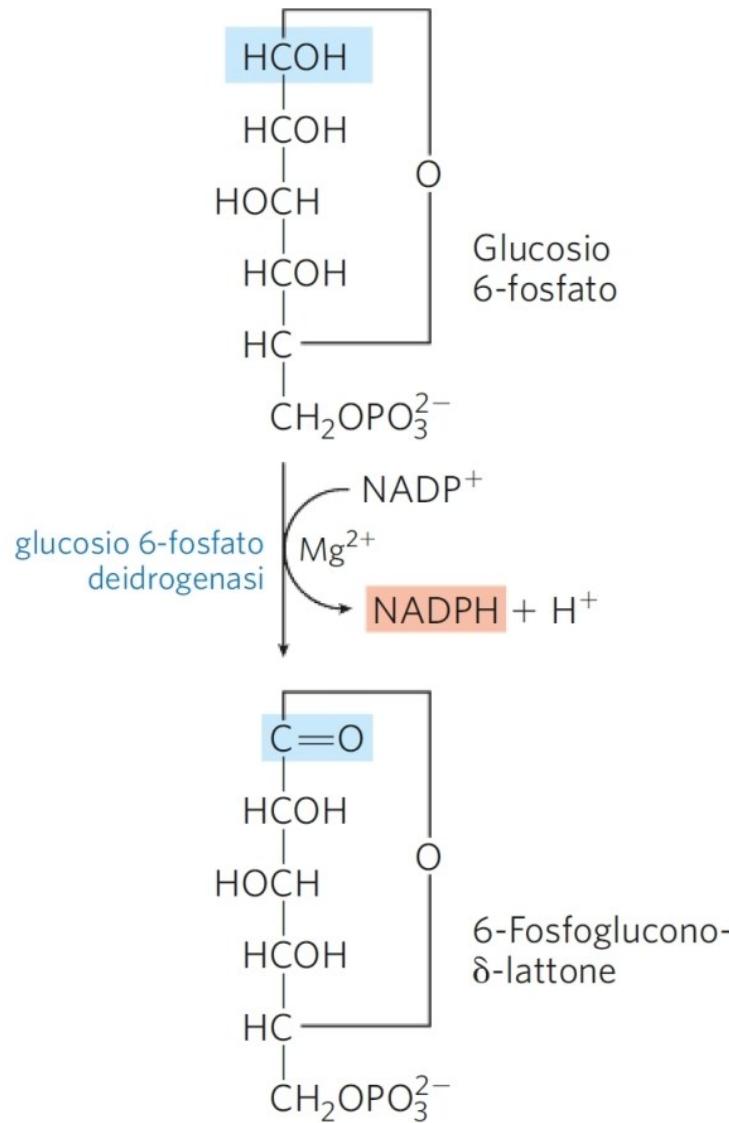
Schema generale della via del pentosio fosfato

La fase ossidativa produce pentosio fosfato e NADPH

La fase non ossidativa ricicla i pentosi fosfato in glucosio 6- fosfato



Prima fase : Ossidativa



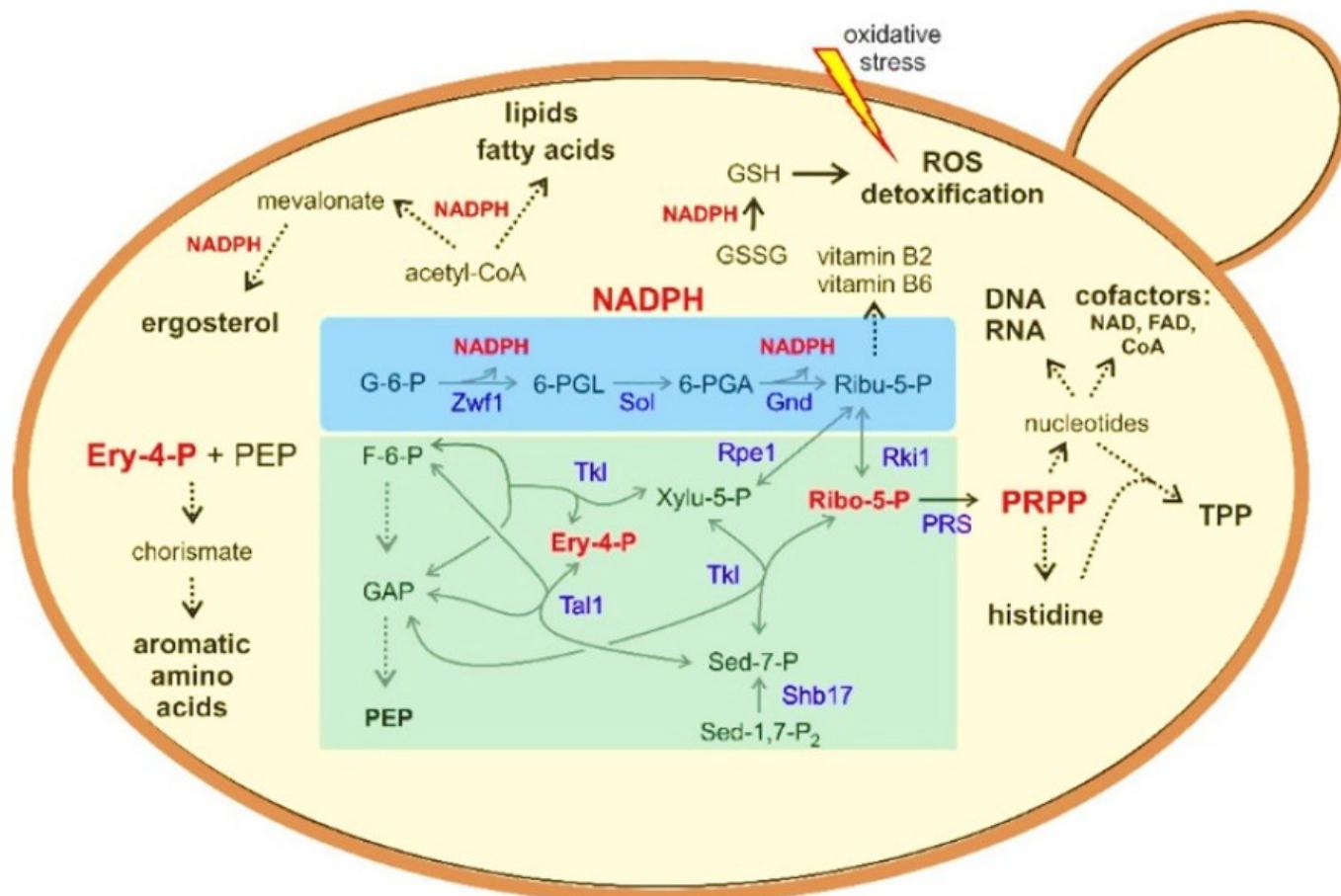
Ossidazione del glucosio-6-P:
enzima **glucosio-6-P-deidrogenasi**.

Il glucosio-6-P viene ossidato in 6-fosfogluconolattone con la concomitante riduzione di una equivalente quantità di $NADP^+$ a $NADPH + H^+$.

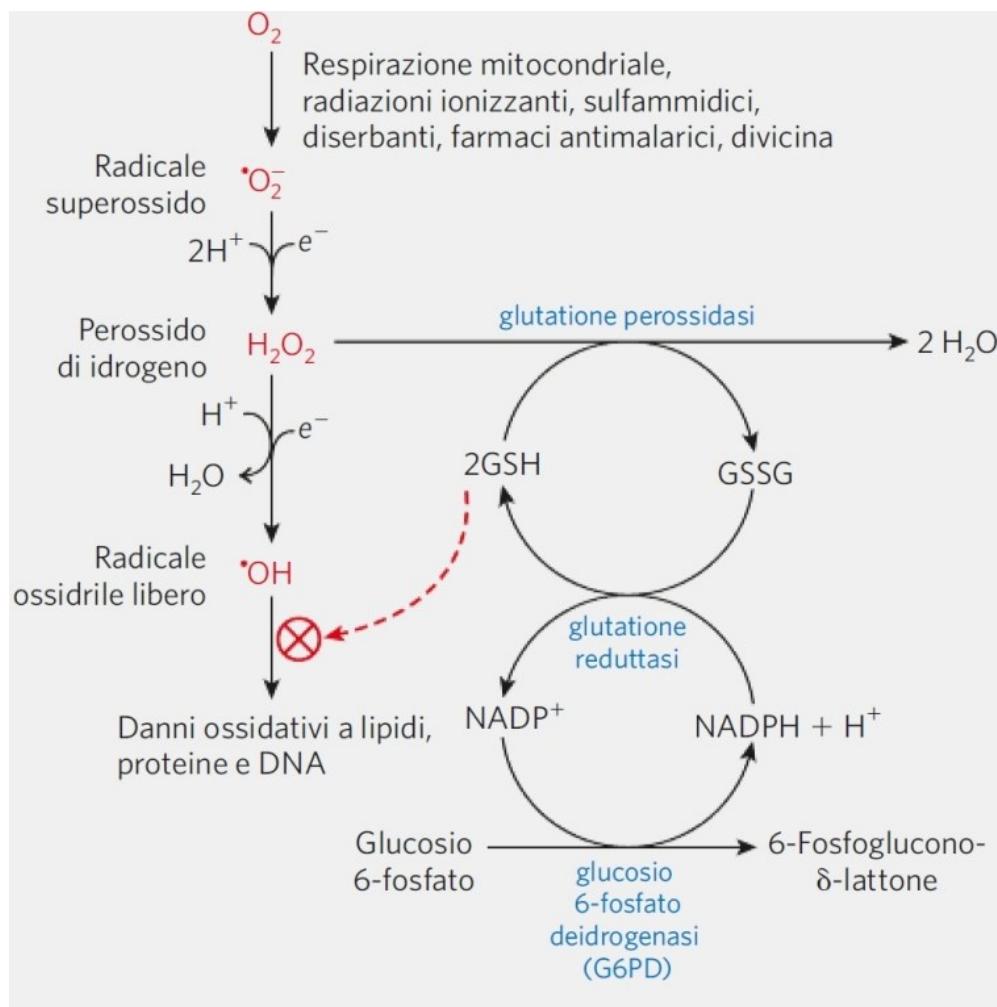
In questa deidrogenazione vengono eliminati 2 H^+ dal C1 del G-6-P e trasferiti al $NADP^+$, con formazione del doppio legame C=O sul C1 del 6-fosfogluconolattone e di $NADPH + H^+$.

la prima reazione è l'ossidazione del glucosio 6 fosfato a 6 fosfoglucono δ lattone (un estere intramolecolare) catalizzata dalla glucosio 6 fosfato deidrogenasi. È la prima reazione a generare NADPH per fornire un potere riducente per la sintesi degli acidi grassi e lipidi e per la riduzione del glutathione, necessario per la disintossicazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS).

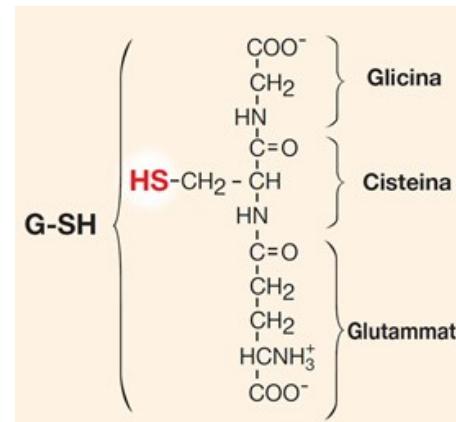
Nel *S. cerevisiae*, la glucosio 6 fosfato deidrogenasi, sembra essere un tetramero nella forma attiva, la dissociazione in dimeri e la diminuzione dell'attività potrebbero essere innescati dal aumento del NADPH.



Ruolo del NADPH e del glutatione nella protezione delle cellule contro i derivati altamente reattivi dell'ossigeno



Il glutatione è un tripeptide composto da L-glutammato, L-cisteina e glicina.

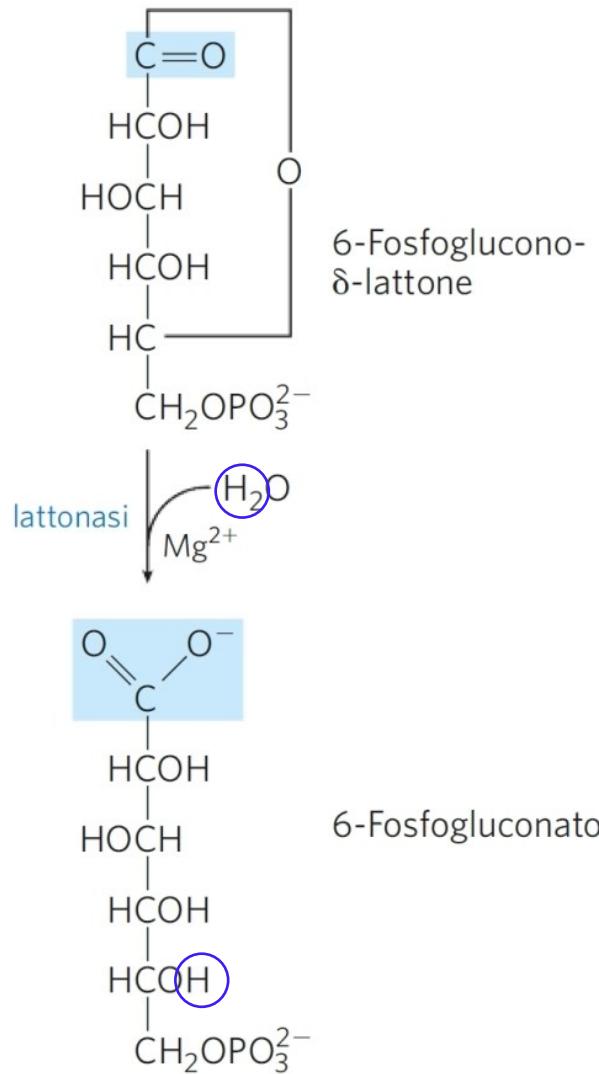


Il glutatione ridotto (GSH) protegge la cellula degradando il perossido di idrogeno e i radicali ossidrili liberi. La rigenerazione di GSH dalla sua forma ossidata (GSSG) richiede il NADPH prodotto nella reazione catalizzata dalla glucosio 6-fosfato deidrogenasi.

L'enzima glucosio-6-P-deidrogenasi

- L'attività della glucosio-6-P deidrogenasi è regolata dal rapporto NADPH/NADP⁺ e dagli acidi grassi liberi.
- L'attività della glucosio-6-P deidrogenasi è soggetta a inibizione allosterica da parte del NADPH
- La produzione di NADPH nel ciclo è autolimitante.

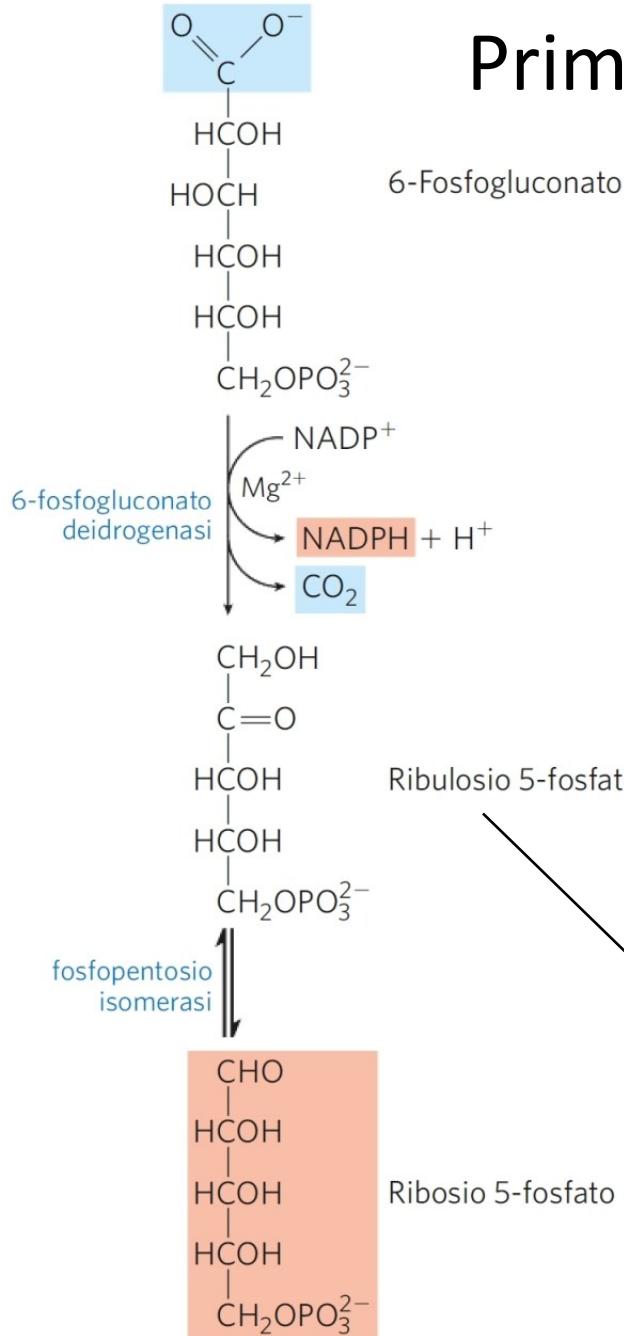
Prima fase : Ossidativa



Formazione del 6-fosfogluconato.

L'idrolisi del 6-fosfogluconolattone in 6-fosfogluconato è catalizzata dalla **6-fosfogluconato lattonasi**.

In questa reazione di idrolisi, grazie all'entrata di una molecola di H_2O , l'OH dell' H_2O si va a legare sul C1 (l' H^+ si allontana), mentre l'altro H dell' H_2O va a legarsi sull'ossigeno del C5.



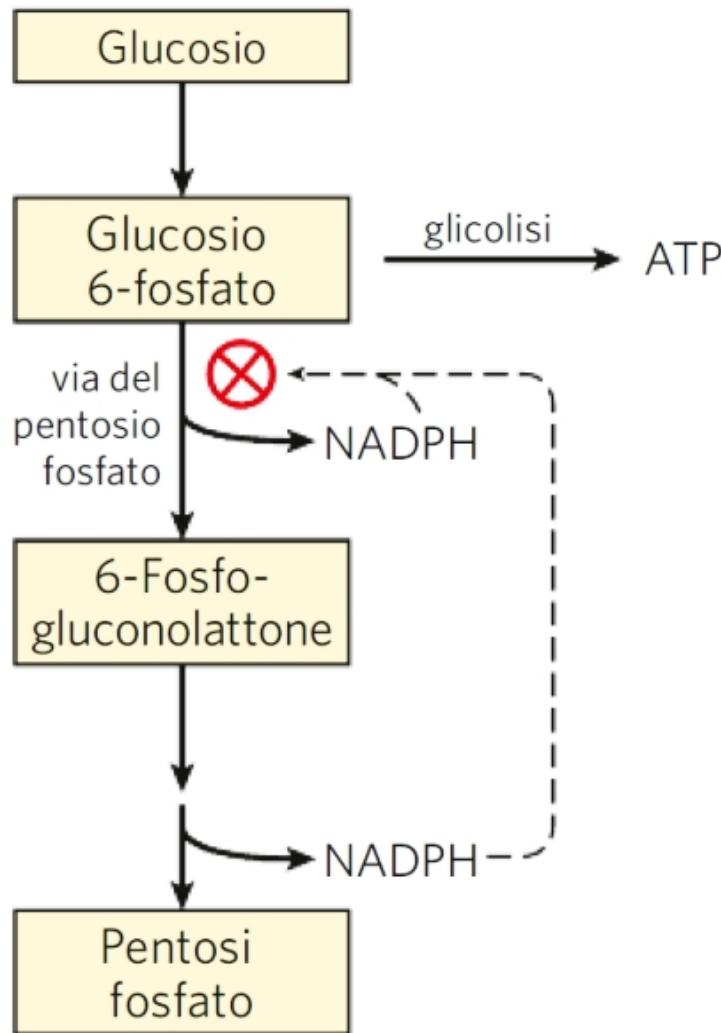
Prima fase : Ossidativa

Decarbossilazione ossidativa del 6-fosfogluconato.

La trasformazione del 6-fosfogluconato in ribulosio-5-P è un processo di decarbossilazione ossidativa, catalizzato dalla **6-fosfogluconato deidrogenasi** e una seconda molecola di NADP^+ viene ridotta a $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Il C1, viene rimosso sotto forma di CO_2 , mentre a livello del C3 vengono rimossi 2 H (che ritroviamo nel $\text{NADPH} + \text{H}^+$) con la contemporanea formazione del doppio legame C=O.

La fosfopentosio isomerasi converte il ribulosio 5-fosfato nel suo isomero, il ribosio 5-fosfato

Il ruolo del NADPH nella regolazione della ripartizione del glucosio 6-P tra la glicolisi e la via del pentosio fosfato



In assenza del NADP⁺, la prima reazione della via del pentosio P (catalizzata dalla G6PDH) non può procedere.

Quando la cellula converte rapidamente il NADPH in NADP⁺, nelle biosintesi riduttive, il livello di NADP⁺ aumenta, la G6DP viene stimolata e il flusso del glucosio 6-P, attraverso la via del pentosio P, tende a incrementare.

Quando il livello del NADPH aumenta, perché diminuisce la velocità delle biosintesi, inibisce il primo enzima della via del pentosio fosfato e il glucosio 6-P viene utilizzato per rifornire la glicolisi.

Conclusione:



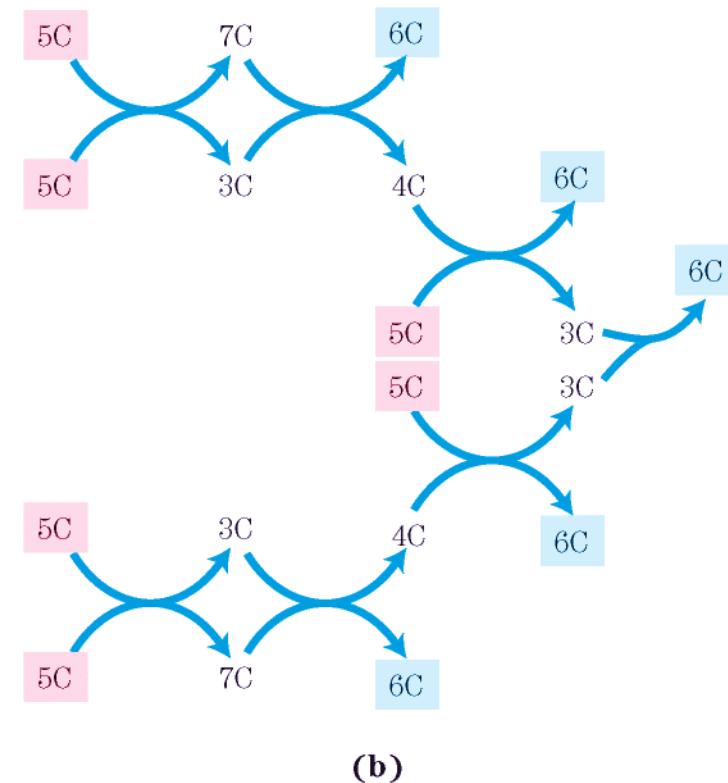
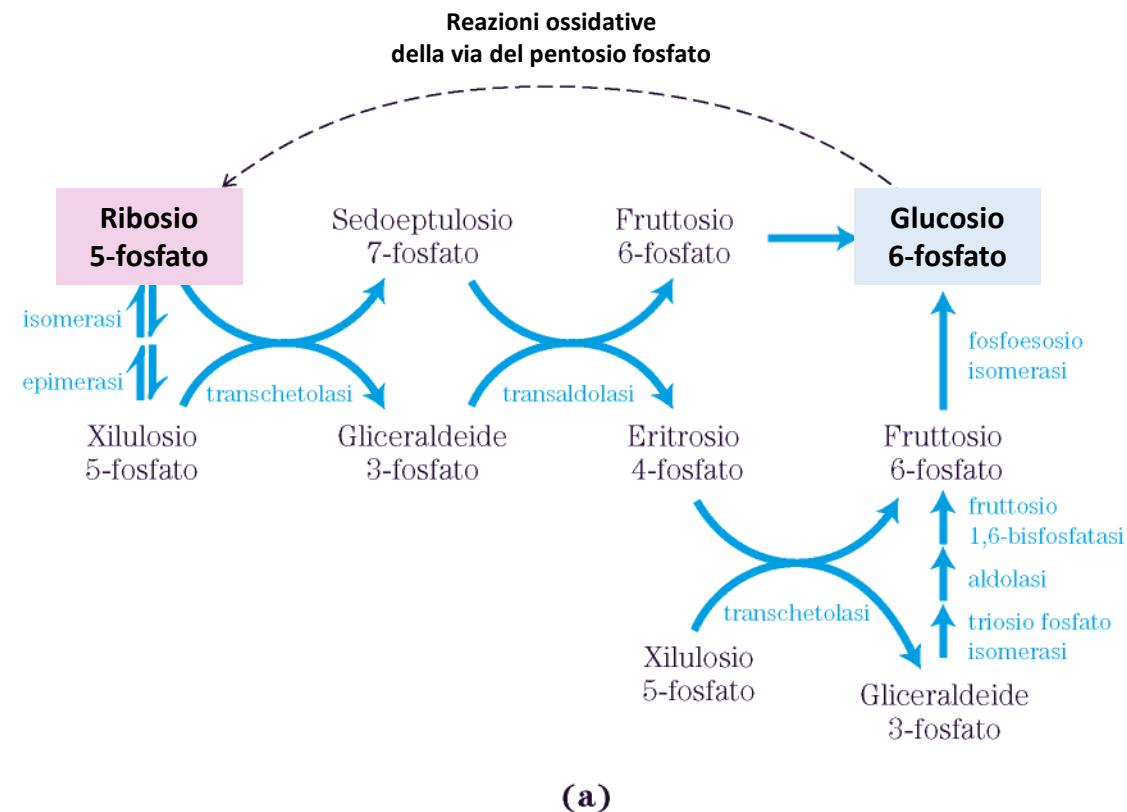
IL rapporto $[NADP^+]/[NADPH]$:

- Quando la cellula ha **molto NADPH**, la G6PDH viene **inibita** (feedback negativo).
- Quando aumenta la richiesta di potere riducente (ad esempio sotto stress ossidativo o durante la sintesi di lipidi), cresce il rapporto **$NADP^+/NADPH$** , e la G6PDH si **attiva**.

Il Livello di glucosio-6-fosfato:

- Se la glicolisi rallenta o c'è accumulo di glucosio-6-P, più substrato viene indirizzato verso la PPP.

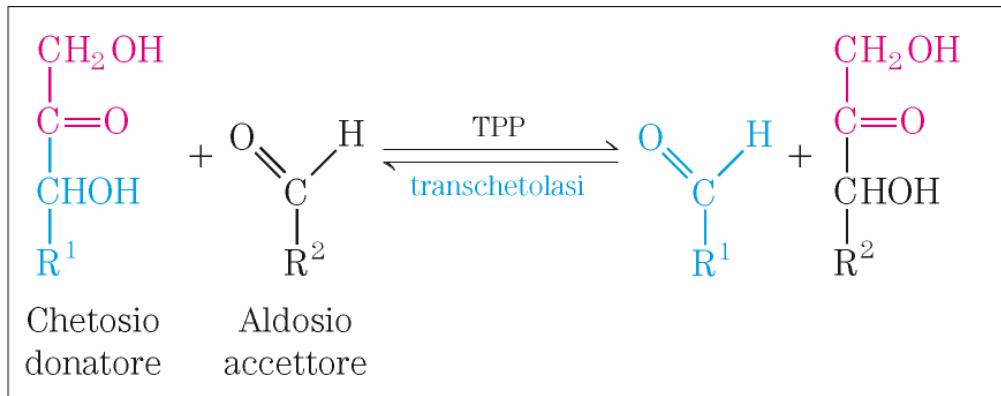
Reazioni non ossidative della via del pentosio fosfato



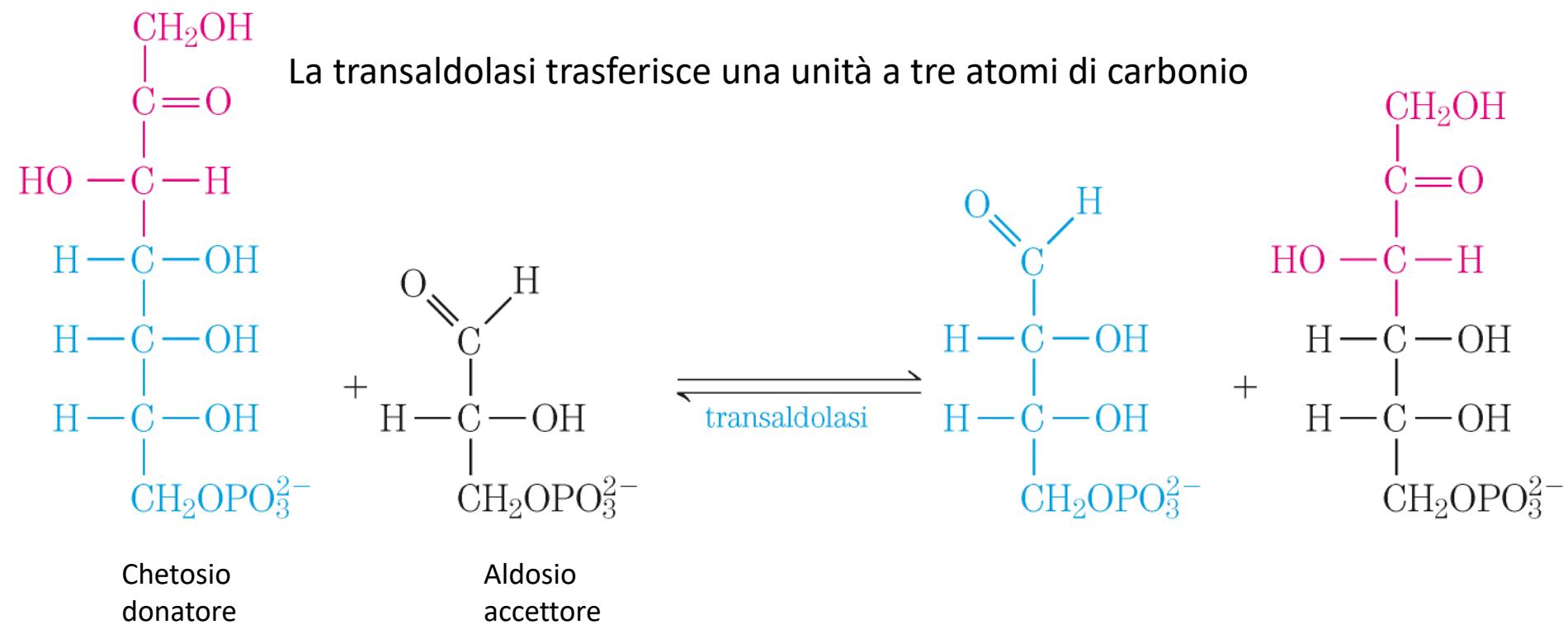
Queste reazioni convertono pentosi in esosi fosfato, consentendo alle reazioni ossidative di proseguire.

La transchelolasi e la transaldolasi sono enzimi specifici di questa via metabolica.

Le reazioni catalizzate dalla transchetolasi e transaldolasi

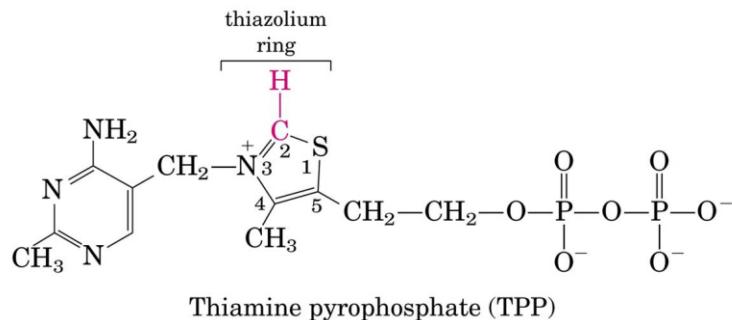


La transchetolasi catalizza il trasferimento di un frammento a due atomi di carbonio da un chetosio donatore a un aldoso accettore.

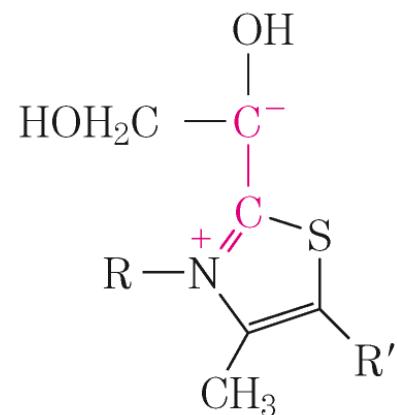
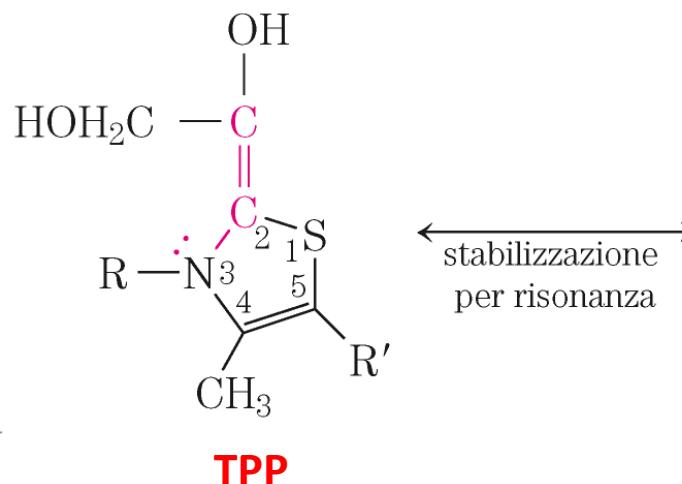


Le reazioni catalizzate dalla transchetolasi e transaldolasi

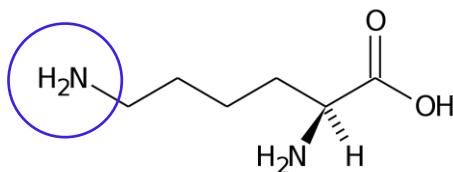
La transchetolasi richiede come cofattore la TPP che stabilizza un carbanione a due atomi di carbonio con il carbonio reattivo del suo anello tiazolico.



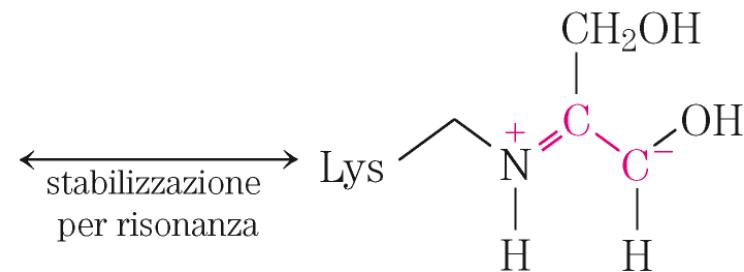
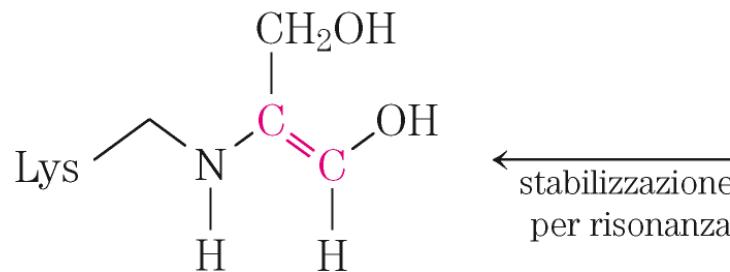
Transchetolasi



La transaldolasi usa la catena laterale della lisina per formare una base di Schiff con il gruppo carbonilico del substrato, un chetosio, stabilizzando così un carbanione che è l'elemento centrale del meccanismo di reazione.



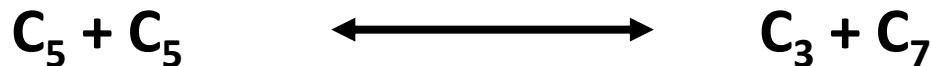
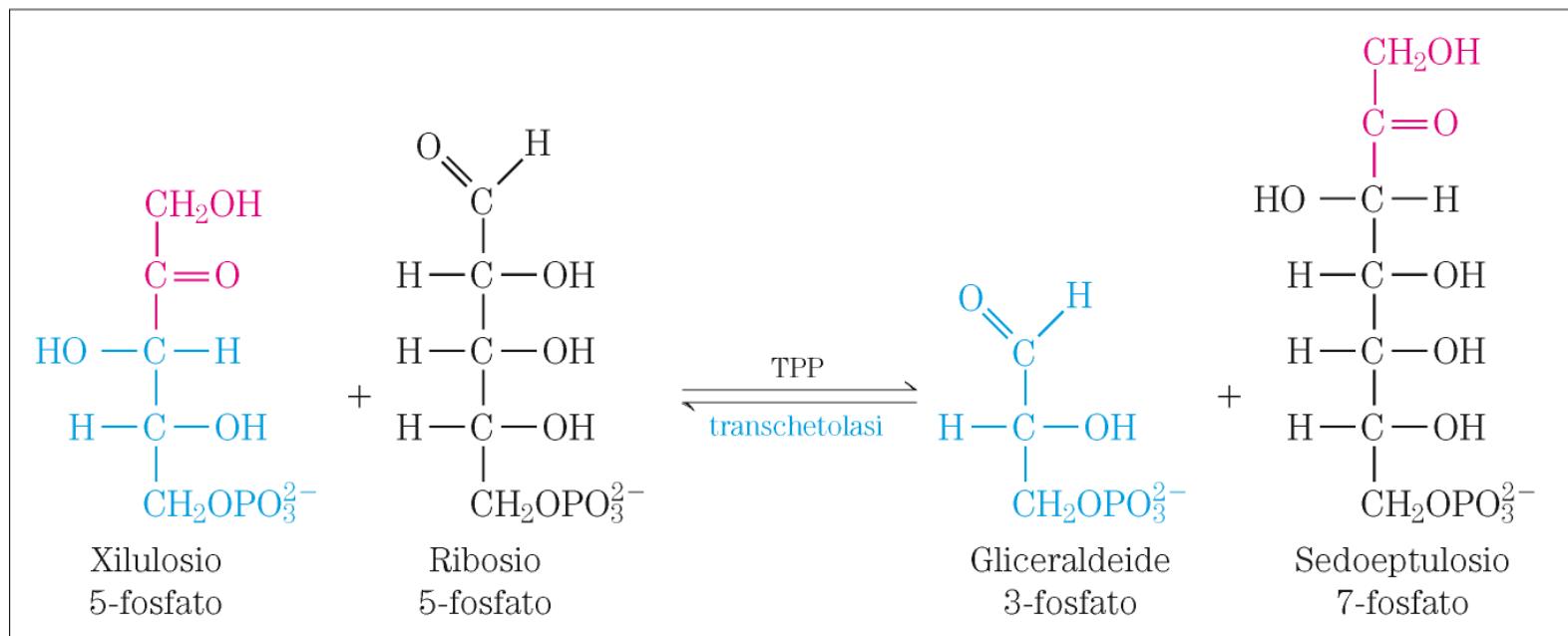
Transaldolasi



Base di Schiff protonata

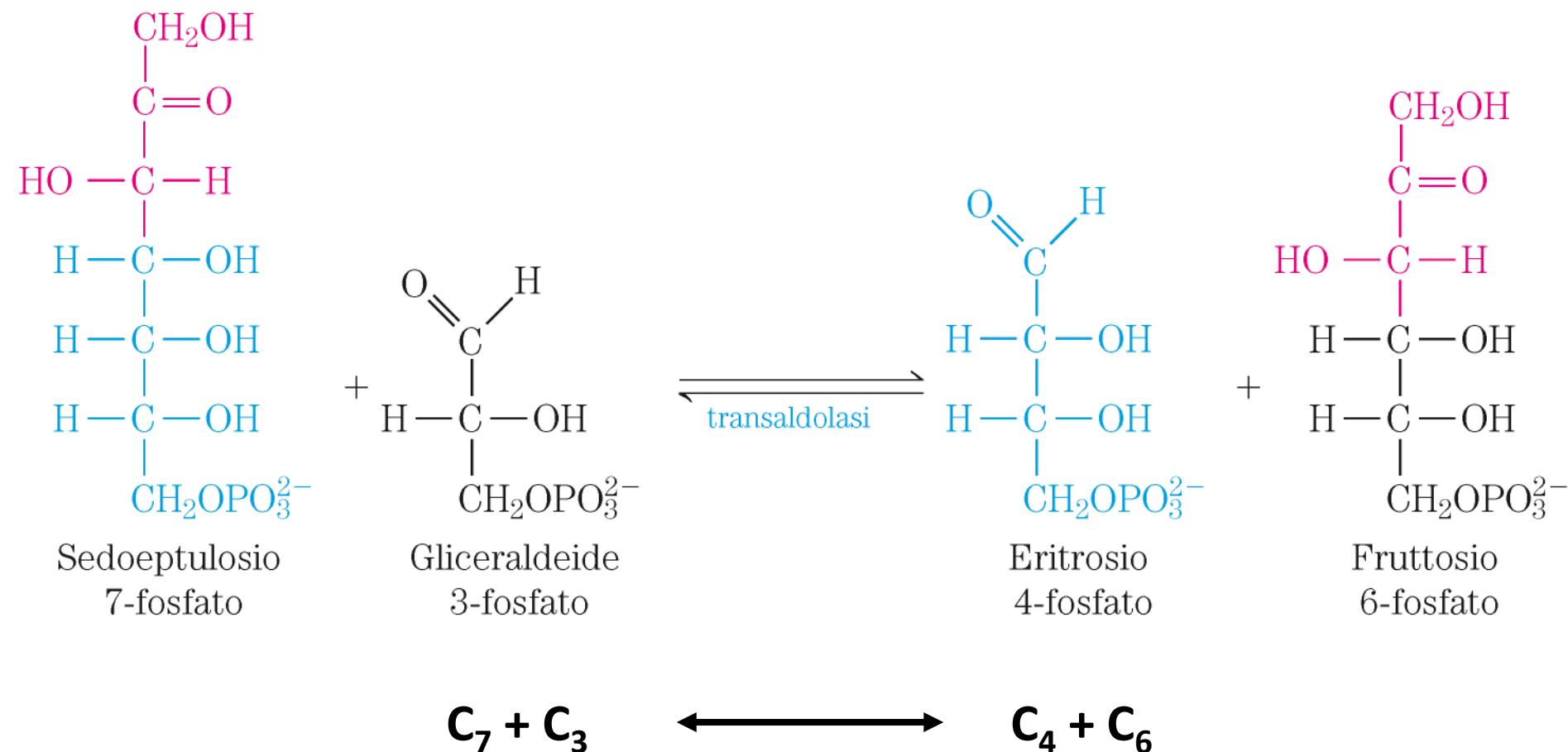
la transchetolasi è un enzima difosfotiamina (TPP) dipendente.

La reazione consiste nel trasporto di un frammento a 2 atomi di carbonio (chetolo) da un chetoso, fosforilato sull'ultimo atomo di C_5 , ad un aldoso, anch'esso fosforilato, con formazione di una nuova coppia di chetoso ed aldoso fosforilati, In questa reazione di transchetolazione, si ha il trasferimento di due atomi di carbonio dallo xilulosio-5-P (C_5) al ribosio-5-P (C_5), formando sedozeptulosio-7-P (C_7) ed gliceraldeide-3-fosfato (C_3).

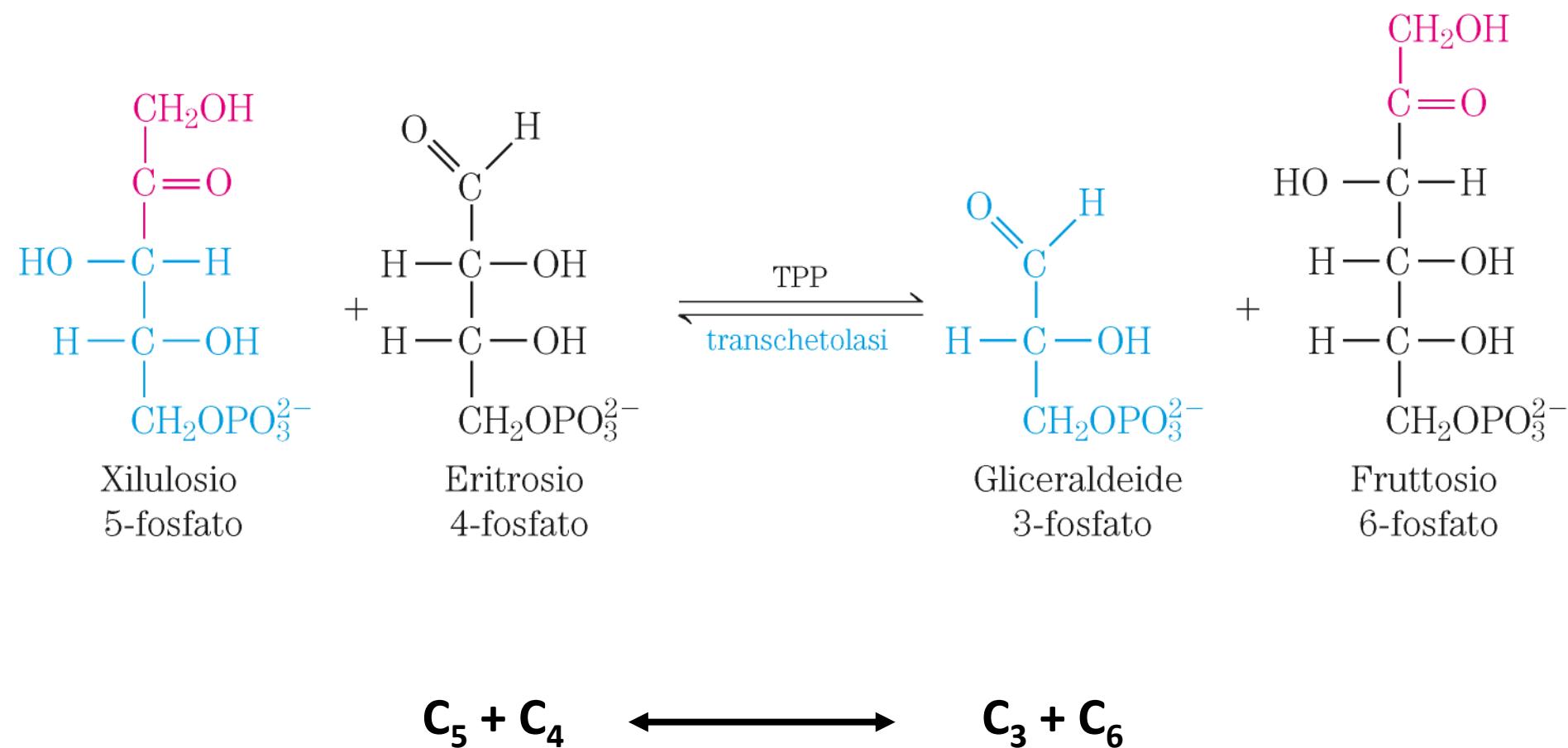


Questa reazione è catalizzata dalla **Transaldolasi** ed è caratterizzata dal trasferimento di un frammento a 3 atomi di C (diossiacetone) da un chetoso fosforilato sull'ultimo atomo di carbonio ad un aldoso pure fosforilato.

In particolare, si ha il trasferimento di tre atomi di carbonio dal sedoepitulosio-7-P (C_7) alla gliceraldeide-3-fosfato (C_3), formando eritrosio-4-P (C_4) e fruttosio-6-P (C_6).

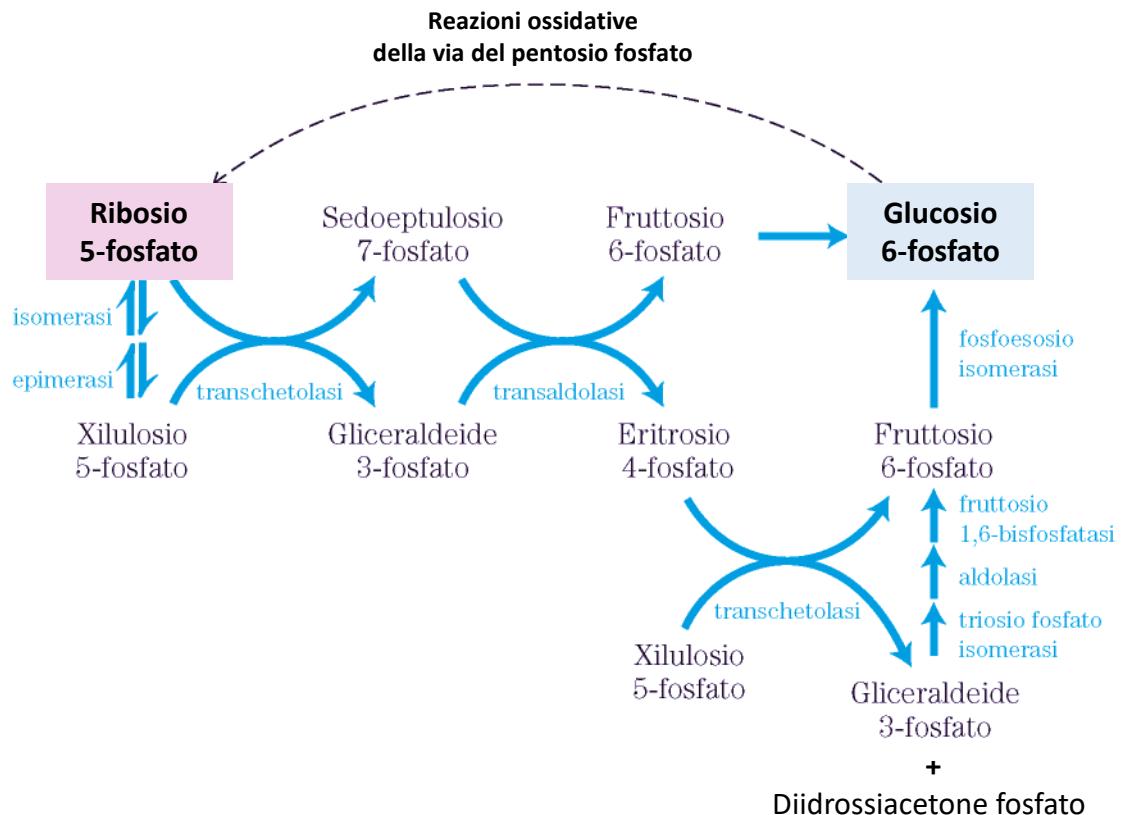


Ancora per azione della **transchetolasi** un frammento a due atomi di carbonio viene trasferito da una seconda molecola di xilulosio-5-P (C_5) sull'eritrosio-4-P (C_4), formando gliceraldeide-3-P (C_3) e fruttosio-6-P (C_6).



La via non ossidativa dei pentosi fosfato produce:

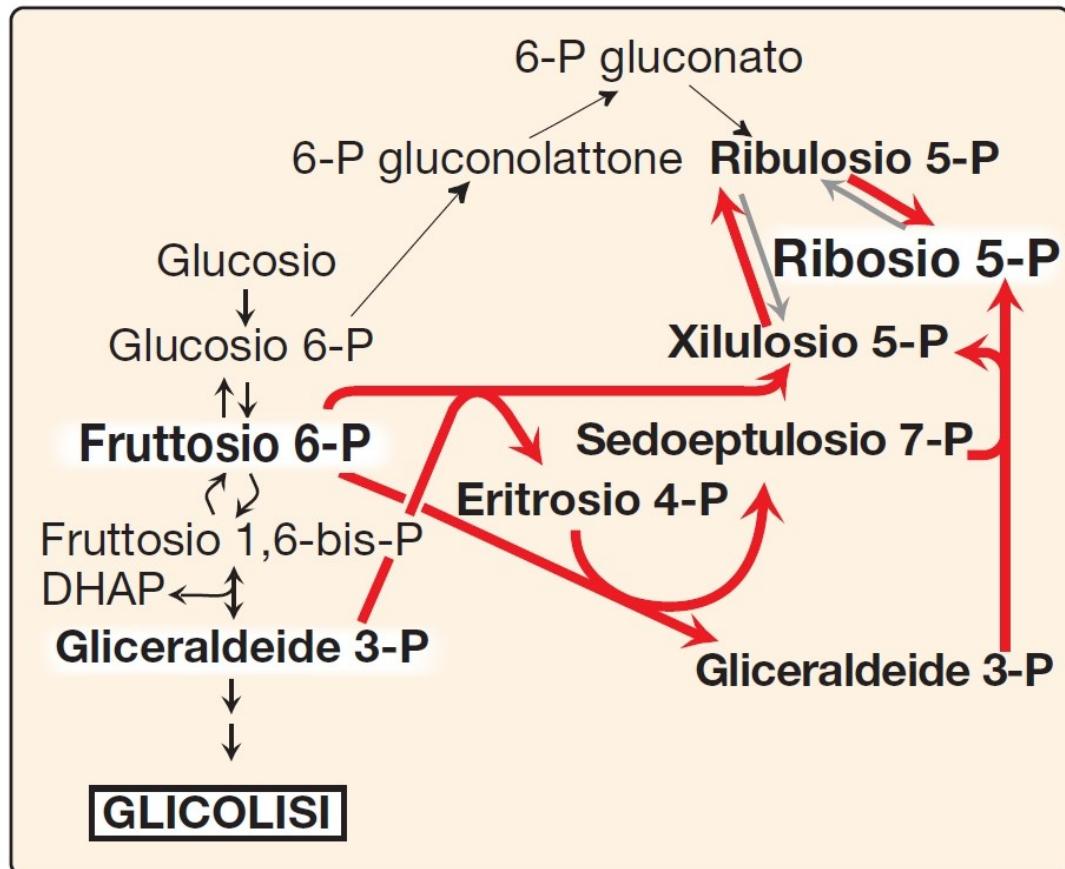
- 2 molecole di fruttosio 6 fosfato che verranno trasformate in glucosio 6 fosfato dall'enzima fosfoesosio isomerari.
 - 1 molecole di gliceraldeide 3 fosfato che insieme al diidrossiacetone fosfato formerà 1 molecola di fruttosio 1,6 bisfosfato, che verrà trasformata in fruttosio 6 fosfato dalla fruttosio 1,6 bisfosfatasi.



La via del PPP completa formerà 2 molecole di F6P + 1 molecola di G3P

Formazione del ribosio 5-fosfato a partire da intermedi della glicolisi

Quando la richiesta di ribosio per la sintesi dei nucleotidi è superiore alla richiesta di NADPH, le reazioni di interconversione possono produrre il ribosio 5-fosfato a partire da gliceraldeide 3-fosfato e fruttosio 6-fosfato.



Riassunto della via del pentosio fosfato

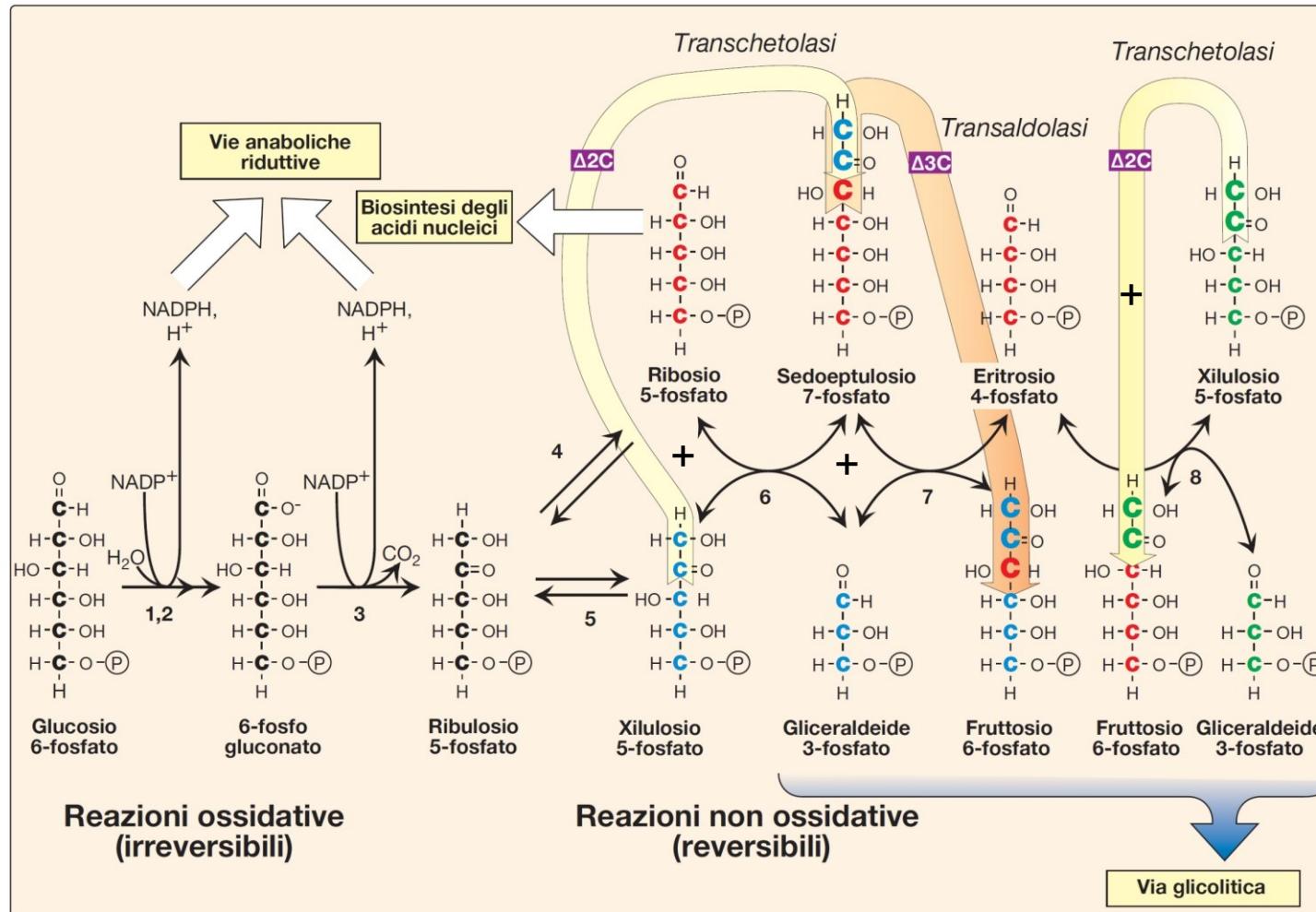


Figura 13.2 Reazioni della via del pentosio fosfato. I numeri sotto le frecce delle reazioni corrispondono agli enzimi: (1, 2) glucosio 6-fosfato deidrogenasi e 6-fosfogluconolattone idrolasi; (3) 6-fosfogluconato deidrogenasi; (4) ribosio 5-fosfato isomerasi; (5) fosfopentosio epimerasi; (6, 8) transchetolasi (coenzima: tiammina pirofosfato); (7) transaldolasi. Δ2C indica che nelle reazioni catalizzate dalla transchetolasi vengono trasferite unità a due atomi di carbonio; Δ3C indica che nella reazione catalizzata dalla transaldolasi viene trasferita un'unità a tre atomi di carbonio. Queste reazioni possono essere così rappresentate: zucchero a 5C + zucchero a 5C → zucchero a 7C + zucchero a 3C → zucchero a 4C + zucchero a 6C. NADP(H) = nicotinammide adenina dinucleotide fosfato; (P) = fosfato; CO₂, diossido di carbonio.

La via del pentosio fosfato

NADP⁺

Disponibilità di substrati

	Reazione	Enzima
Parte ossidativa		
	Glucosio 6-P + NADP ⁺ → 6-fosfoglucono-δ-lattone + NADPH + H ⁺	Glucosio 6-fosfato deidrogenasi
	6-fosfoglucono-δ-lattone + H ₂ O → 6-fosfogluconato + H ⁺	Lattonasi
	6-fosfogluconato + NADP ⁺ → ribulosio 5-Fosfato + CO ₂ + NADPH	6-fosfogluconato deidrogenasi
Parte non ossidativa		
	Ribulosio 5-fosfato ⇌ ribosio 5-fosfato	Fosfopentoso isomerasi
	Ribulosio 5-fosfato ⇌ xilulosio 5-fosfato	Fosfopentoso epimerasi
	Xilulosio 5-fosfato + ribosio 5-fosfato ⇌ sedoepituloso 7-fosfato + gliceraldeide 3-fosfato	Transchetolasi
	Sedoepituloso 7-fosfato + gliceraldeide 3-fosfato ⇌ fruttosio 6-fosfato + eritroso 4-fosfato	Transaldolasi
	Xilulosio 5-fosfato + eritroso 4-fosfato ⇌ fruttosio 6-fosfato + gliceraldeide 3-fosfato	Transchetolasi

Funzioni della via del pentoso fosfato

- Principale produzione di NADPH, potere riducente per le biosintesi riduttive di acidi grassi, steroidi e sali biliari.
- Produzione di pentosi tra cui ribosio-5-fosfato utilizzato per la sintesi di nucleotidi e acidi nucleici.
- Degradazione ossidativa dei pentosi (di origine alimentare) in esosi che entrano nella glicolisi o nella gluconeogenesi (gliceraldeide 3 fosfato)

Tutti gli enzimi di questa via sono presenti nel citosol così come quelli della glicolisi e la maggior parte di quelli della gluconeogenesi.

Queste tre vie sono interconnesse dalla condivisione di enzimi ed intermedi.

Conclusioni della via del pentoso fosfato

- In **condizioni aerobiche** e con alto fabbisogno biosintetico (crescita attiva), la via del pentosio fosfato nel lievito è **più attiva**, perché serve più NADPH per la sintesi di lipidi e per mantenere il glutathione ridotto e mantenere l'equilibrio redox.
- Quando il lievito affronta lo **stress ossidativo**, aumenta rapidamente il flusso nella PPP per produrre NADPH e combattere i ROS (specie reattive dell'ossigeno).
- In **condizioni fermentative (anaerobiche)**, la via è **meno attiva**, perché la cellula privilegia la glicolisi per generare ATP e NADH, mentre il NAD⁺ necessario per la glicolisi viene rigenerato tramite la fermentazione alcolica.