

BIOCHEMIE des Stoffwechsels

(772.113)

9. Einheit

**Gluconeogenese und
oxidativer Pentosephosphatweg**

Metabolismus des Menschen

Einige Fakten:

Täglicher Bedarf von 160 ± 20 g Glucose. Davon konsumiert das Gehirn etwa 75%.

Gehirn und Erythrocyten sind fast vollständig von Glucose als Energiequelle abhängig.

Körperflüssigkeiten (Blut) transportieren etwa 20 g an freier Glucose.

Glycogen-Speicher liefern etwa 180 bis 200 g Glucose.

Der Körper speichert also nur etwas mehr als den Tagesbedarf!
Kann über die Nahrung keine Glucose requiriert werden, muss der Körper aus anderen Quellen Glucose neu synthetisieren.

Gluconeogenese = Neusynthese von Glucose

Glucose-Sollkonzentration im Blut: 5 mM

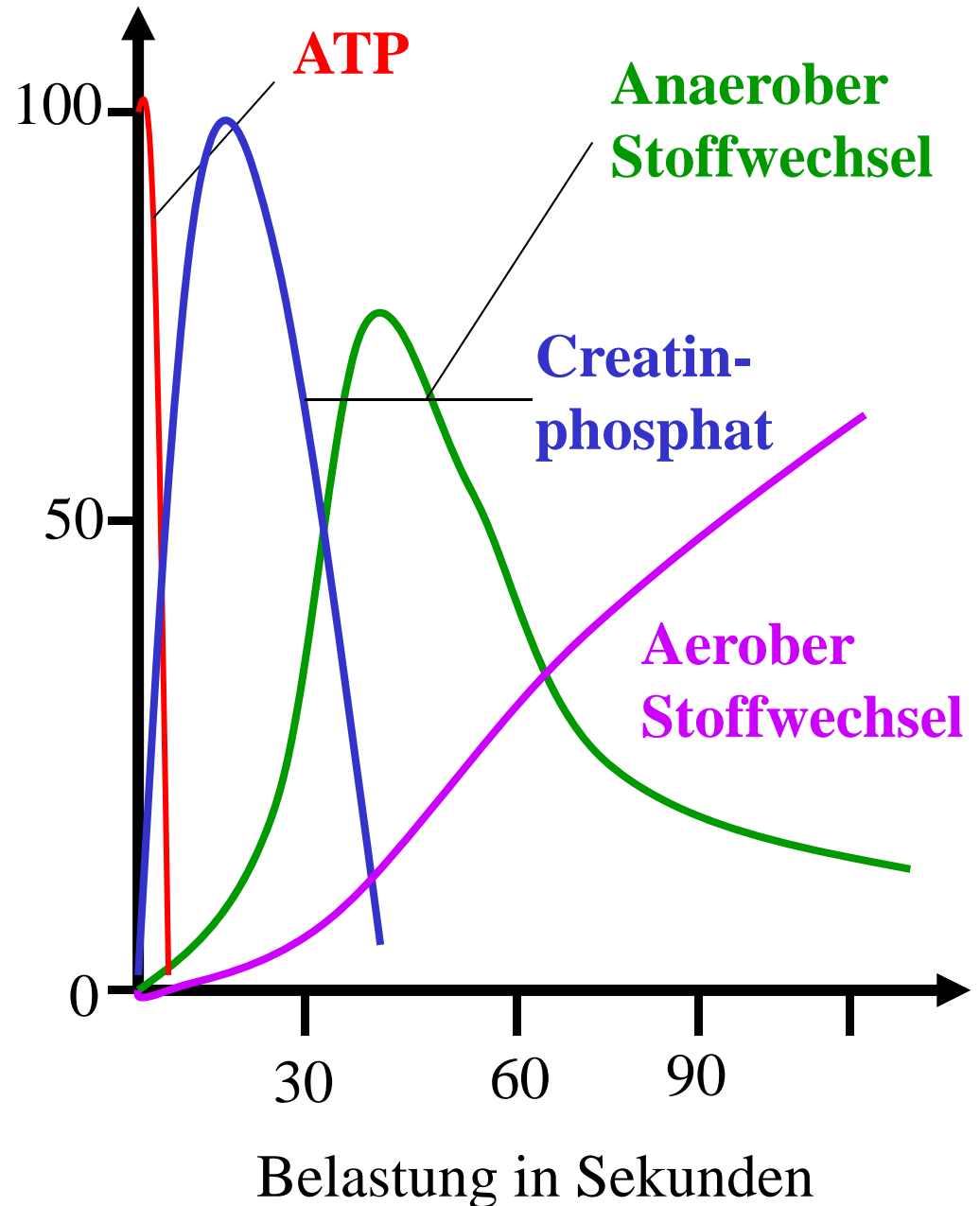
Bereitstellung von Energie:

Kurze intensive Belastung (z.B. 100 m Sprint): **ATP**-Pool und **Creatinphosphat**-Pool werden rasch aufgebraucht

Belastungen im Minutenbereich (z.B. 800 m Lauf): ATP durch **anaerobe Glycolyse** (Substratkettenphosphorylierung; Glucose → Lactat) bereitgestellt

Ausdauersport (z.B. Marathon): ATP durch **aeroben katabolen Stoffwechsel** (oxidative Phosphorylierung) bereitgestellt

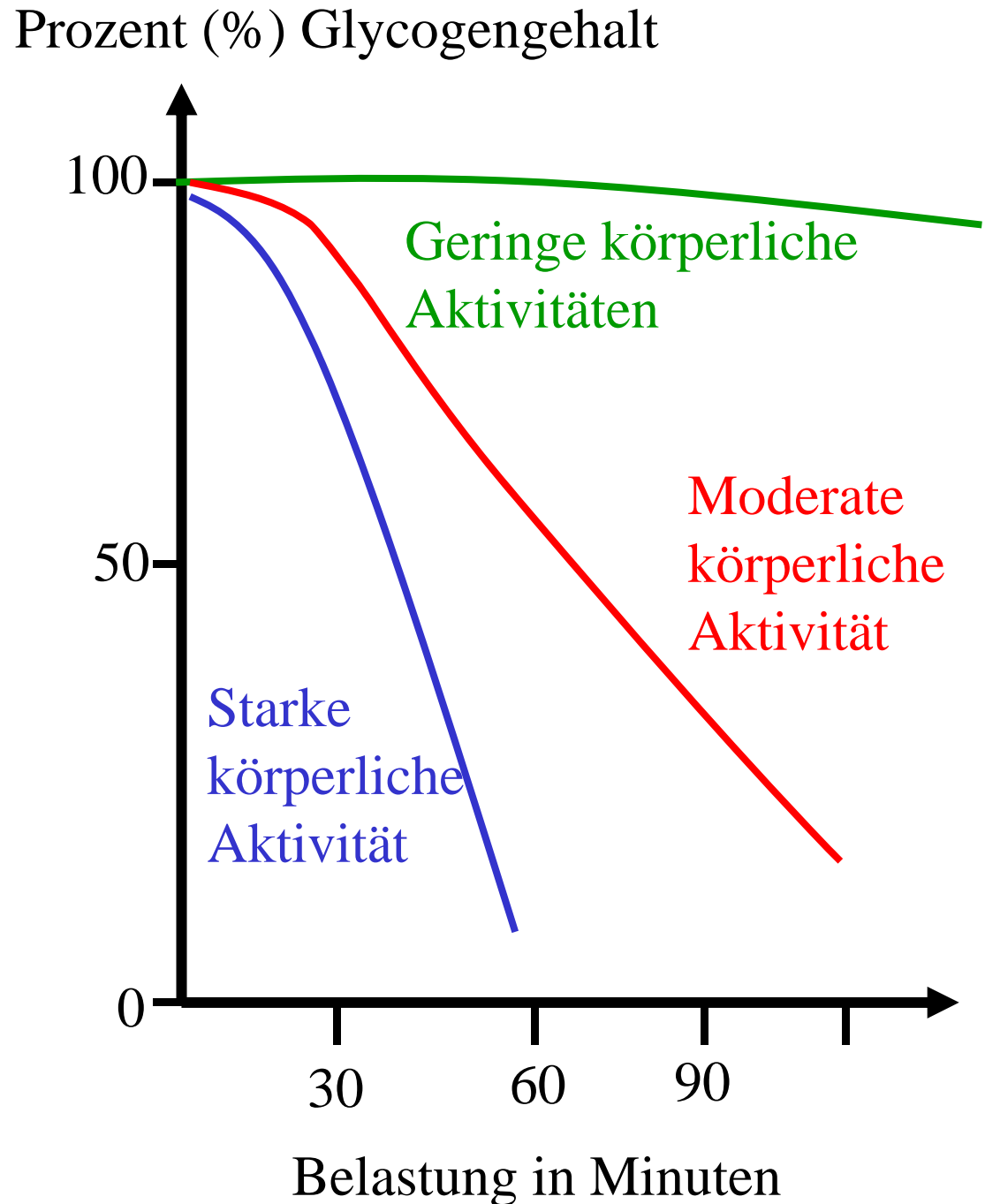
Prozent (%) der Gesamtenergie



Während körperlicher Aktivitäten stammt der Großteil der für die ATP-Synthese notwendigen Glucose aus dem Glycogen (siehe Einheit 10).

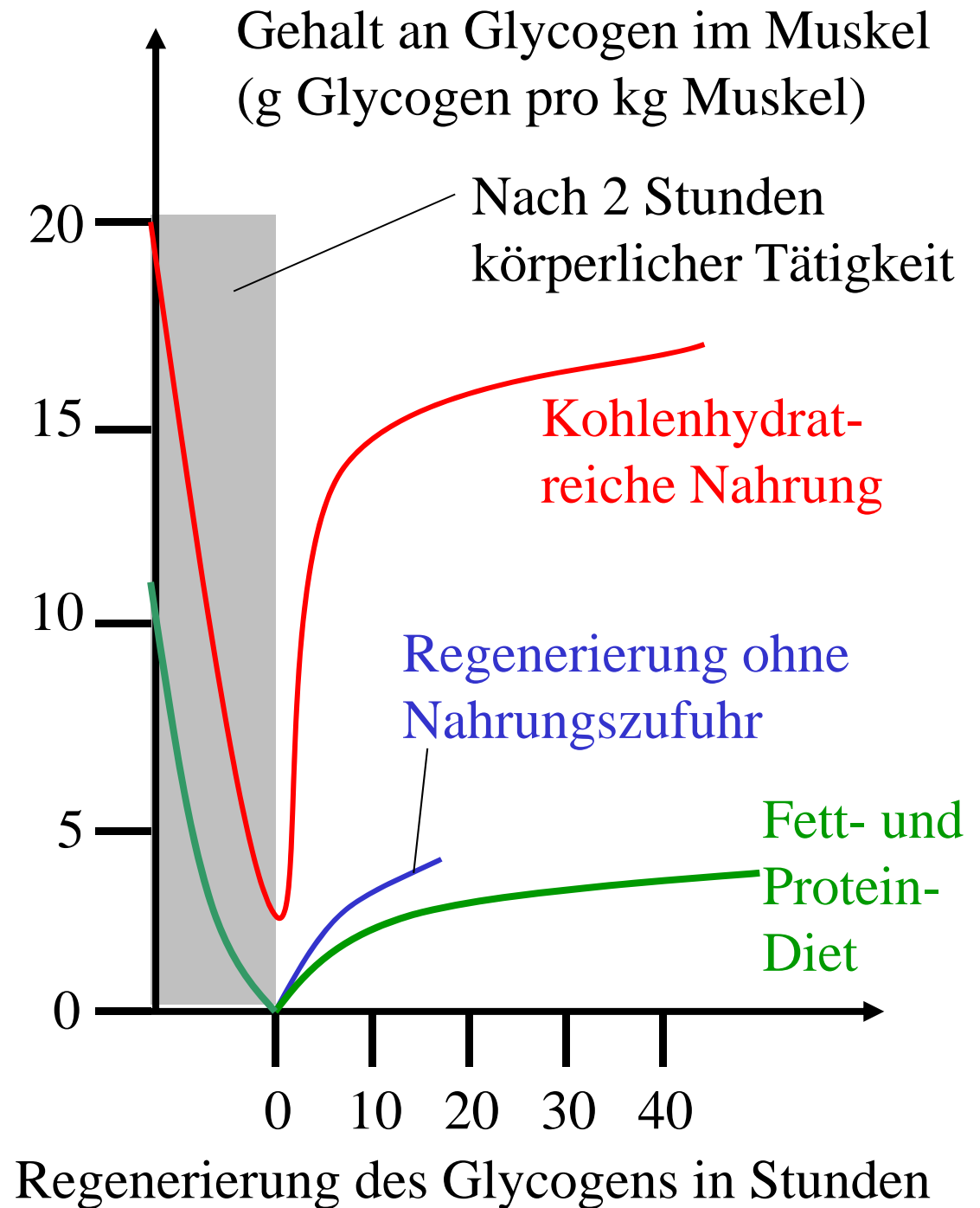
Während körperlicher Aktivität wird nur ein geringer Anteil von Glucose durch Gluconeogenese nachgeliefert.

Der Glycogenabbau hängt von der Intensität der Tätigkeit ab.



Effiziente Regenerierung des durch körperliche Aktivitäten geplünderten Glycogen-Pools erfolgt innerhalb eines Tages nur durch Kohlenhydratreiche Nahrung!

Protein und fettreiche Nahrung regenerieren den Glycogenspiegel im Muskel nur sehr langsam.



Gluconeogenese

Reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese

Die Hormone Insulin, Glucagon und Adrenalin

Der oxidative Pentosephosphat-Weg

Integration von Glycolyse, Gluconeogenese und
oxidativem Pentosephosphat-Weg

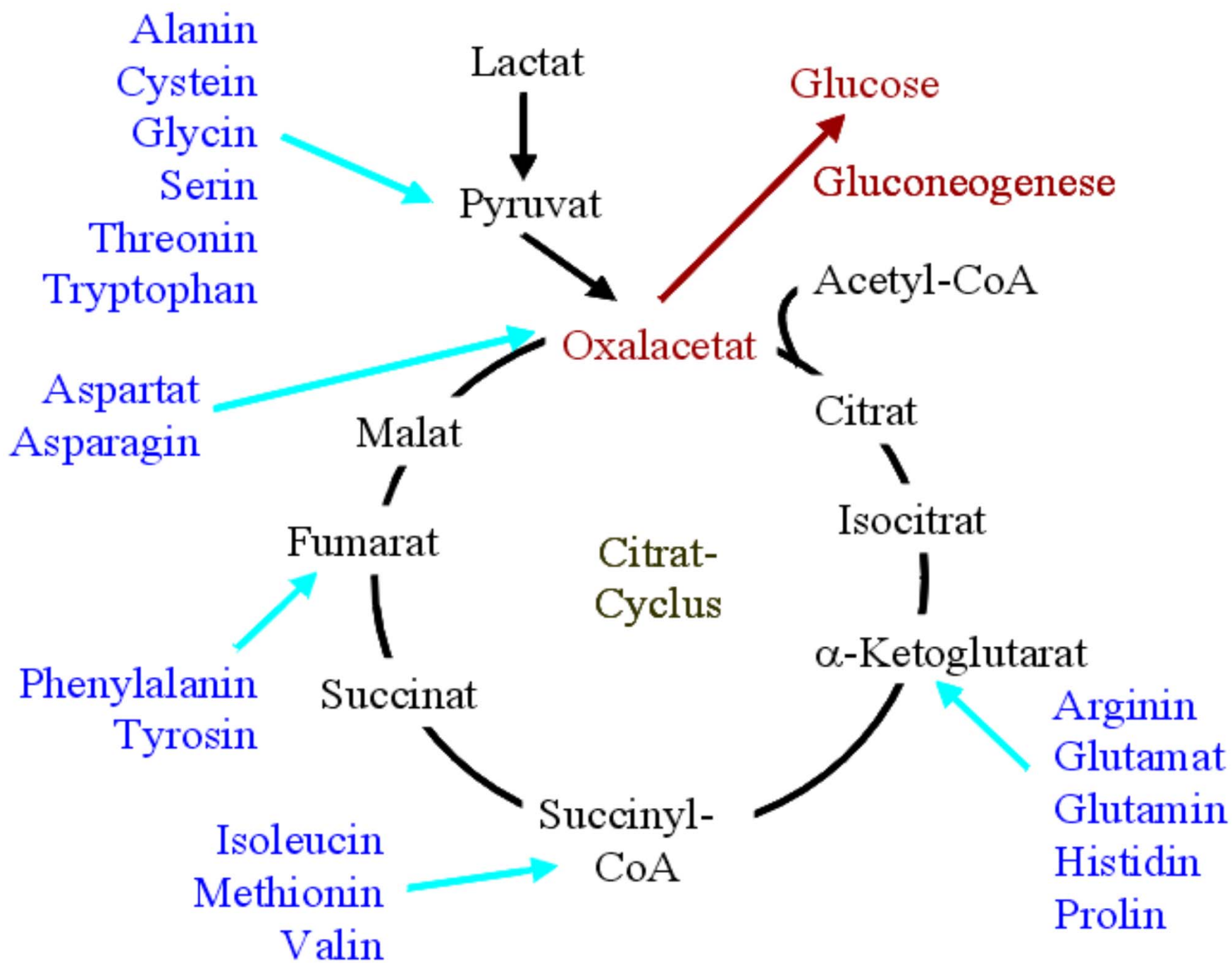
Gluconeogenese

Gluconeogenese

Säugetiere: Biosynthese von Glucose aus Vorstufen, die definitionsgemäß keine Kohlenhydrate sind. Die wichtigsten sind **Lactat, Alanin, Pyruvat** und **Oxalacetat**. Prinzipiell aber alle **Zwischenprodukte** des **Citrat-Cyclus**, die meisten **Aminosäuren** (mit Ausnahme Leucin und Lysin) und **Glycerin**.

In Säugetieren können Fettsäuren und die Aminosäuren Leucin und Lysin nicht als Glucose-Vorstufen fungieren. Fettsäuren und die beiden genannten Aminosäuren werden zu Acetyl-CoA abgebaut und aus Acetyl-CoA kann in Tieren keine Nettosynthese von Zuckern durchgeführt werden.

Organismen, die über den Glyoxylat-Cyclus verfügen (z.B. Prokaryoten oder Pflanzen) können aus Acetyl-CoA Oxalacetat bilden, sodass in diesen Organismen auch Lipide als Kohlenhydratquelle dienen können (siehe Einheit 7)!



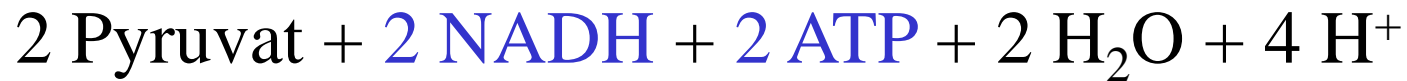
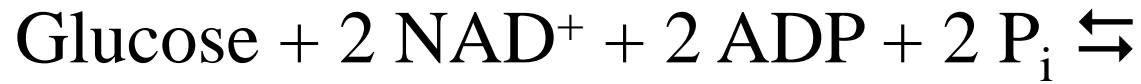
Orte der Glucose-Synthese: Leber (90%) und Niere (10%)

Orte des größten Glucosebedarfs (Gehirn, Muskel) zeigen nur geringe Gluconeogenese-Aktivität. Die Gluconeogenese verwendet 7 Enzyme der Glycolyse. Es sind dies jene, die nahe am chemischen Gleichgewicht arbeiten ($\Delta G^{\circ} \approx 0$).

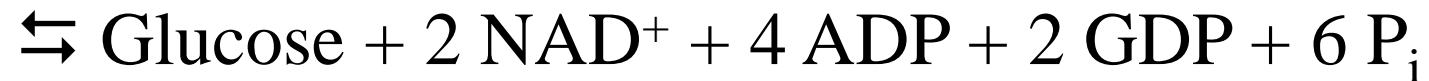
Jene Reaktionen mit $\Delta G^{\circ} \ll 0$ (**Hexokinase**, **Phosphofruktokinase** und **Pyruvat-Kinase**) müssen umgangen werden (siehe auch Glycogen-Abbau und Glycogen-Synthese, Einheit 10). Die entsprechende Enzyme sind spezifisch für die Gluconeogenese.

Allgemeines Prinzip: Synthese- und Abbauwege müssen sich in mindestens einer Reaktion unterscheiden, sodass die Reaktionswege thermodynamisch überhaupt möglich sind und beide Stoffwechselwege unabhängig kontrolliert werden können.

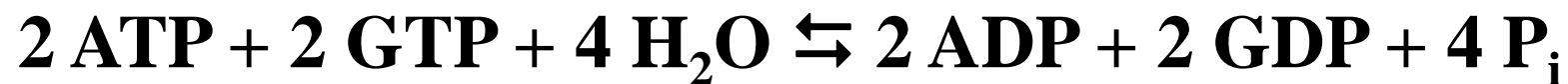
Glycolyse -Übersicht



Gluconeogenese -Übersicht



Nettoreaktion aus Glycolyse und Gluconeogenese:



Die Gluconeogenese beginnt in der Matrix der Mitochondrien. Der Großteil der Enzyme befindet sich aber im Cytoplasma.

Direkte Bildung von Phosphoenolpyruvat aus Pyruvat wäre endergonisch. Strategie: Umwandlung von Pyruvat in energiereiches Zwischenprodukt (= Oxalacetat; C₄-Körper), das anschließend in einer exergonischen Reaktion decarboxyliert wird und so die nötige Freie Enthalpie für die PEP-Synthese liefert.

Dazu sind zwei Enzyme nötig:

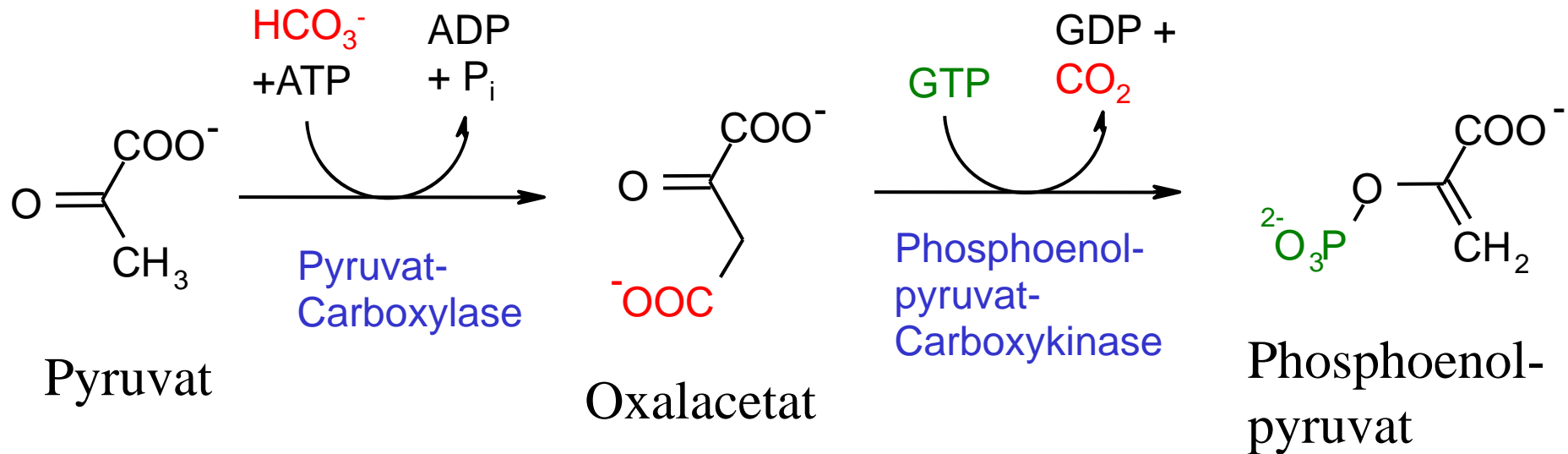
Pyruvat-Carboxylase, die die ATP-getriebene Bildung von Oxalacetat aus Pyruvat und Bicarbonat katalysiert.

Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, die die Umwandlung von Oxalacetat in PEP katalysiert. Diese Reaktion benötigt GTP.

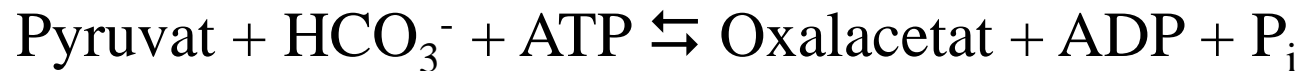
Pyruvat-Carboxylase katalysiert die ATP-getriebene Bildung von Oxalacetat aus Pyruvat und Bicarbonat.

Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase katalysiert die Umwandlung von Oxalacetat in PEP. Diese Reaktion benötigt GTP.

Überblick:



Gluconeogenese 1. Reaktion: Pyruvat-Carboxylase

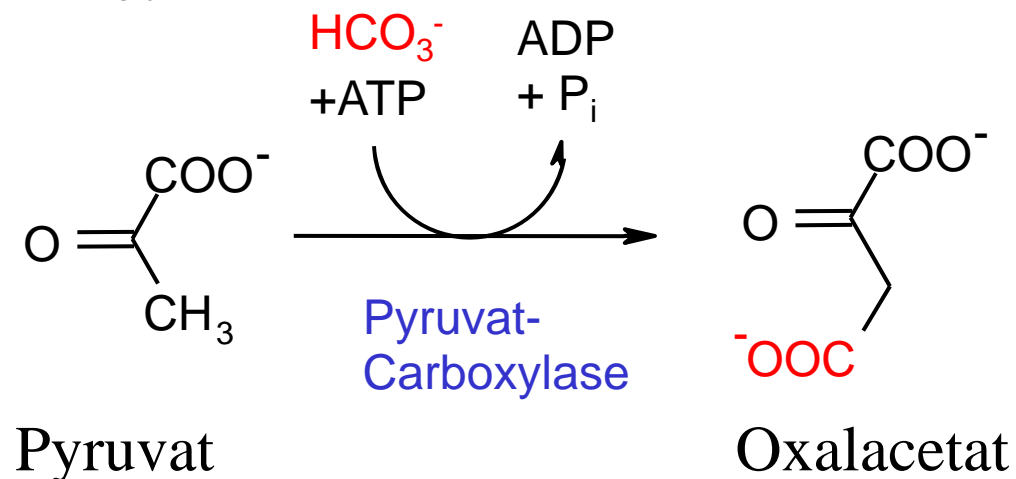


Enzym: Ligase (E.C. 6.4.1.1)

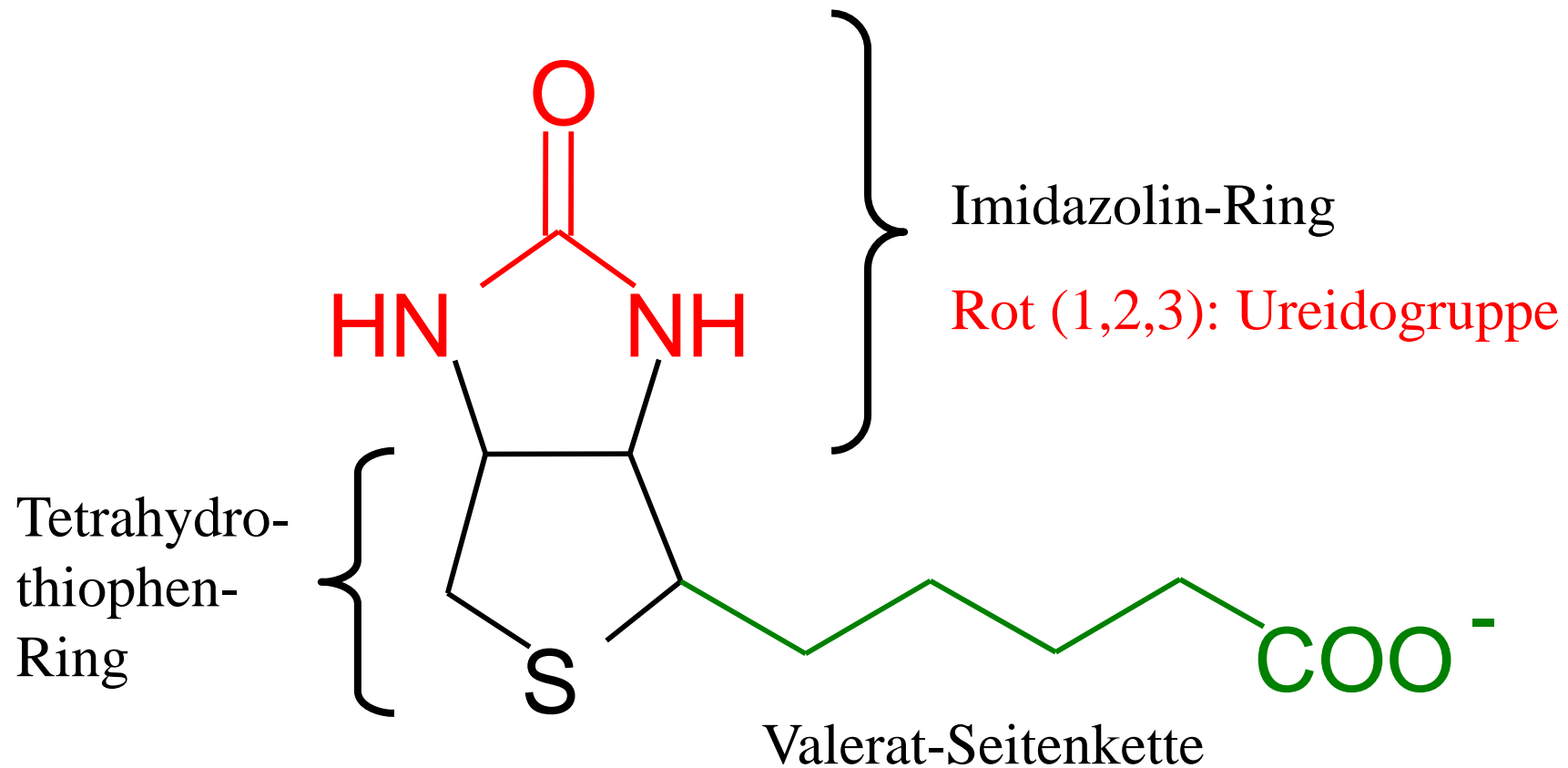
Pyruvat-Carboxylase

Tetramer: 4×120 kDa (Mensch);
Matrix der Mitochondrien

Cofaktor: Biotin

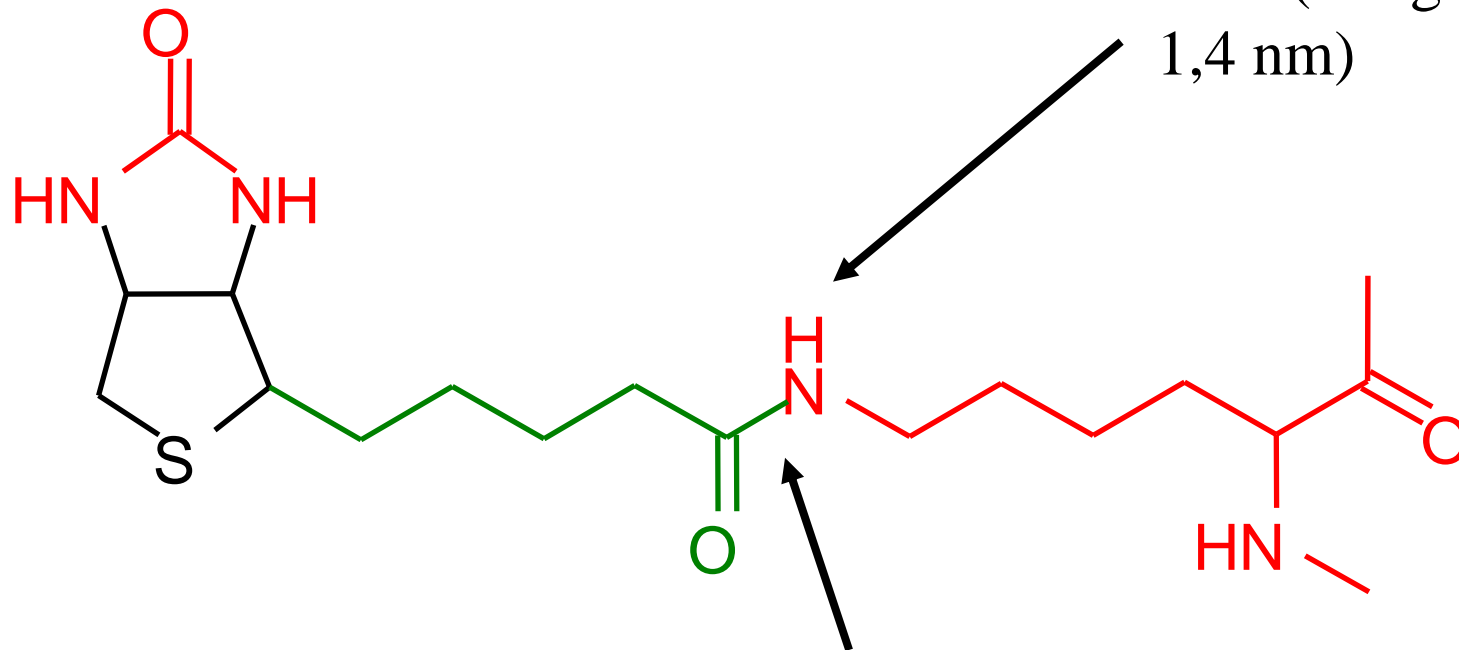


Biotin = Vitamin H (zuerst aus Leberextrakten und Eigelb isoliert)
1935 als Wachstumsfaktor in Hefezellen entdeckt.



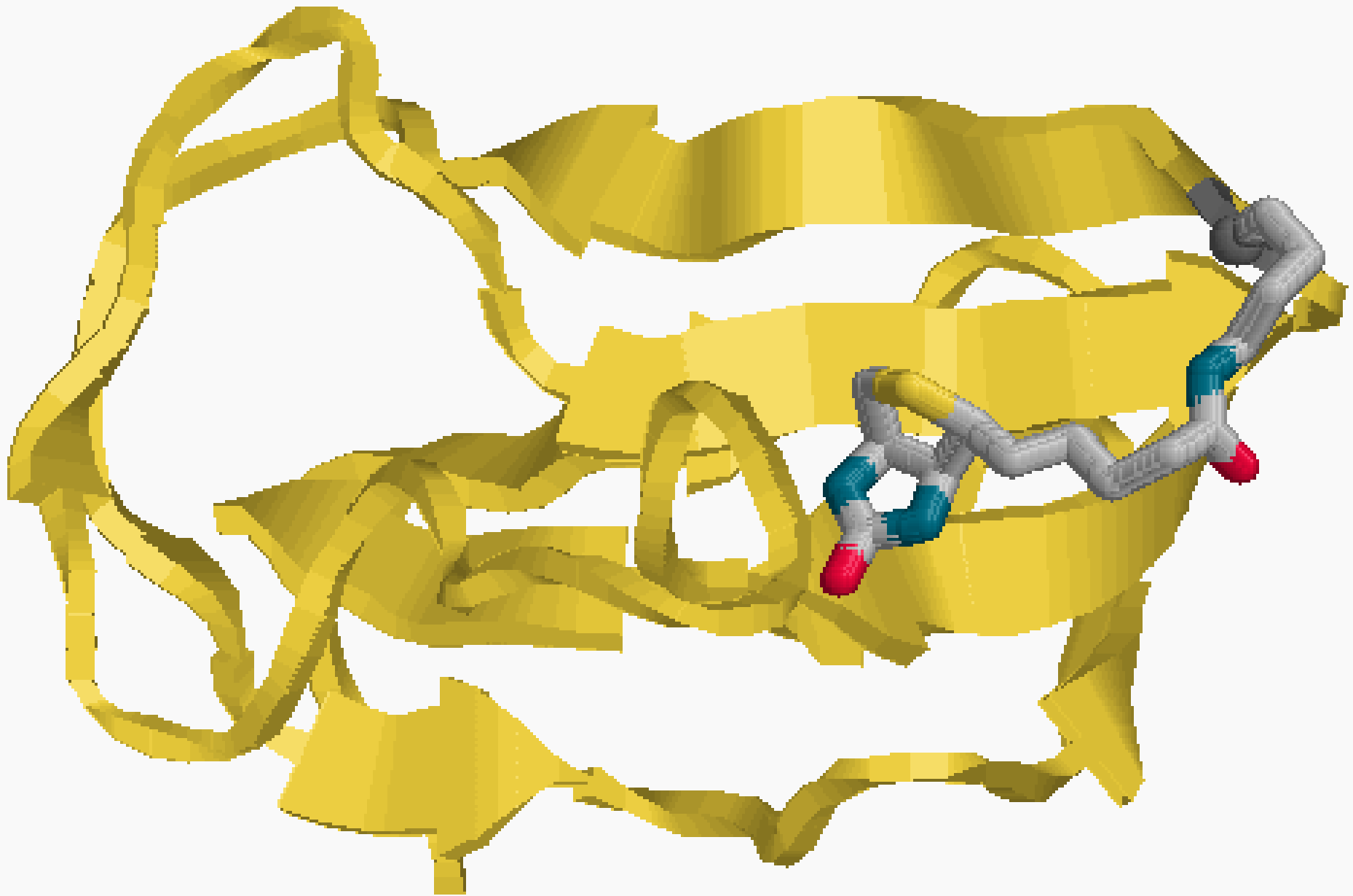
Biocytin-Rest (Biotinyl-Lysin):

Biotin ist kovalent an jede der vier Untereinheiten von **Pyruvat-Carboxylase** gebunden.



Beweglicher
Arm (Länge
1,4 nm)

Amidbildung aus Carboxylat des Biotins und ϵ -Aminogruppe von Lysin



Biotin-Bindungsdomäne der **Pyruvat-Carboxylase**

Biologische Funktion des Biotins: CO₂-Träger

Für den Menschen essentieller Nährstoff (Vitamin H).

Nahrungsbedingter Mangel aber sehr selten, da in vielen Nahrungsmitteln vorkommend und außerdem von Darmbakterien synthetisiert.

Ausnahme: Verzehr großer Mengen roher Eier.

Ursache: Eiklar enthält **Avidin**, das Biotin extrem stark bindet ($K_{\text{diss}} = 10^{-15}$ M) und so die Absorption im Darm verhindert.

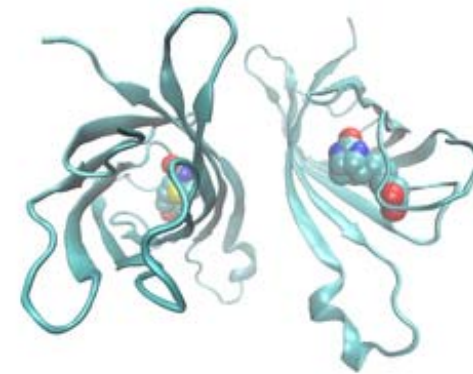
Funktion des Avidins im Eiklar: Verhinderung des Wachstums von Mikroorganismen, die ebenfalls Biotin benötigen. Eiklar ist nämlich sehr nährstoffreich. Gekochte Eier stellen kein Problem dar, da **Avidin** (= Protein) durch Hitzeinwirkung denaturiert ist.

Biotinylierung in der Forschung:

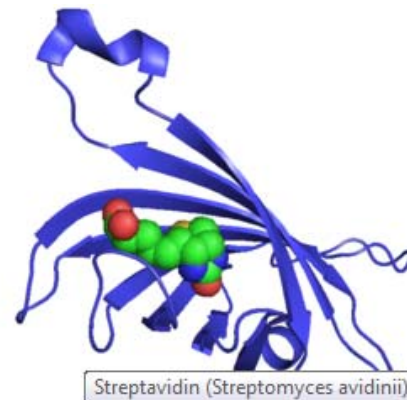
Kovalente Bindung von Biotin an ein Molekül (Protein oder DNA), um es später detektieren zu können, z.B. mittels ELISA oder Western Blot. Auch hier macht man sich die starke Wechselwirkung mit **Avidin** (oder **Streptavidin**) zunutze.

Weitere Anwendungen:

Affinitätschromatographie
Biotin-markierter Stoffe (Säulen mit kovalent gebundenem Avidin).



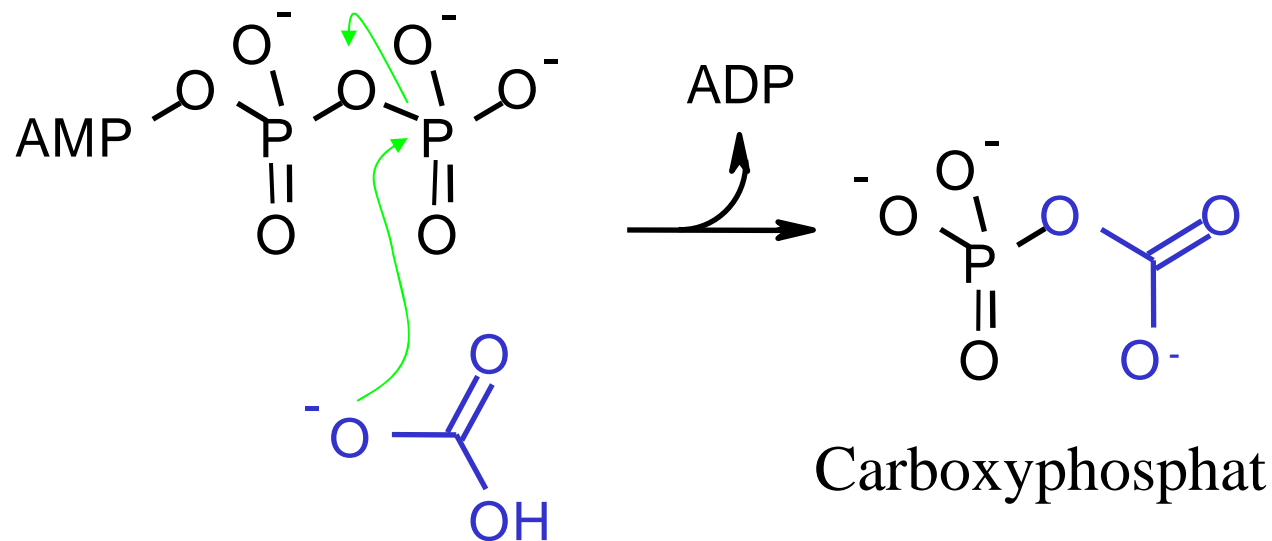
Bändermodell eines **Avidin**-Dimer, mit gebundenem Biotin (Kalottendarstellung).
Monomergröße: 128 Aminosäuren



Streptavidin:
bakterieller Ursprung.
Monomer:
159 Aminosäuren

Reaktionsmechanismus der **Pyruvat-Carboxylase** umfaßt 2 Reaktions-Schritte, die an verschiedenen Stellen am Enzym stattfinden. Der bewegliche Arm des Biocytins ermöglicht Transfer von CO_2 zwischen beiden Stellen:

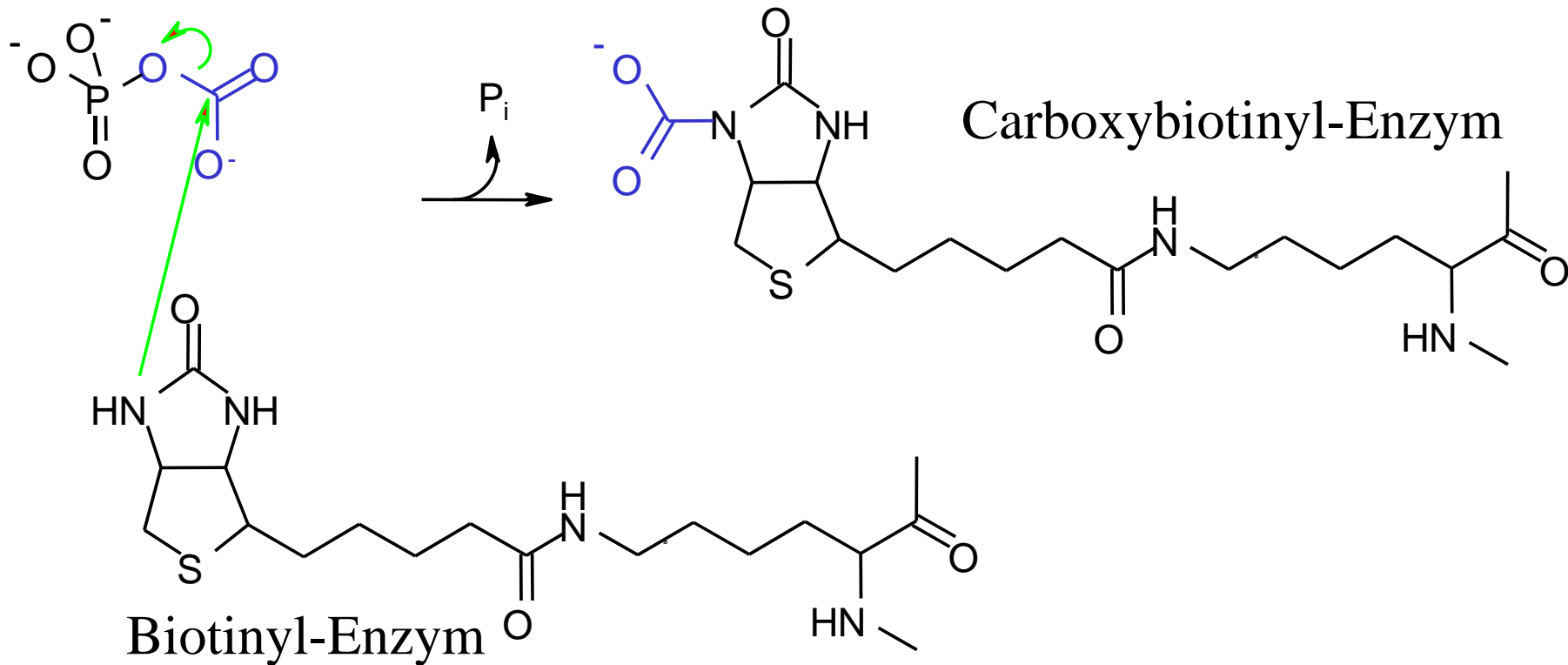
1. Aktivierung von Bicarbonat mit ATP. Bildung von Carboxyphosphat:



Nucleophiler Angriff des Bicarbonat-Sauerstoffs auf das γ -Phosphat von ATP unter Bildung von Carboxyphosphat.

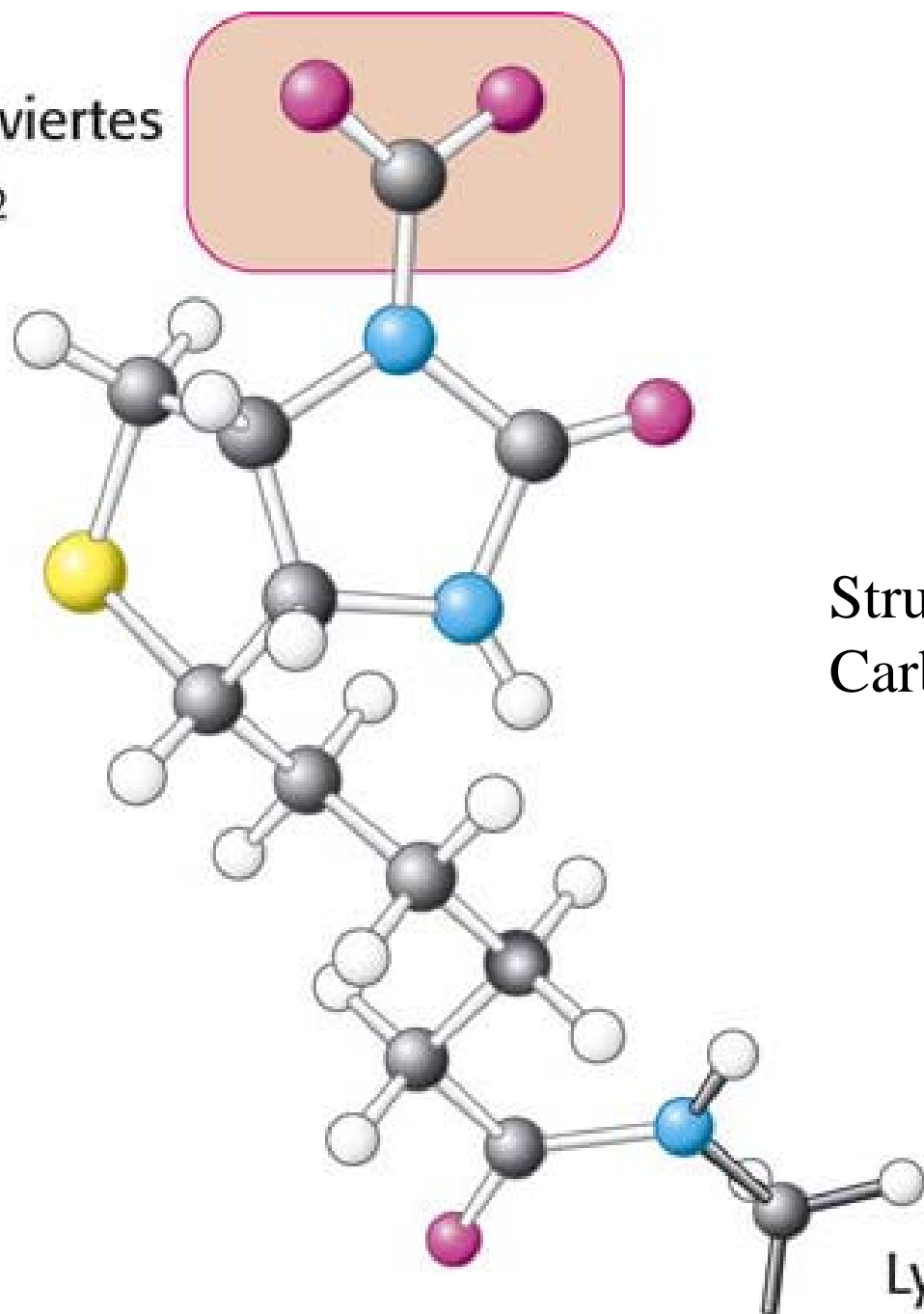
2. Carboxylierung von Biotin an seinem N(1)-Atom durch aktiviertes Bicarbonat

Reaktion von Carboxyphosphat mit Biotin (sehr schnell)



Carboxybiotinyl-Enzym: enthält aktiviertes Carboxylat;
 $\Delta G^{\ominus'}$ für Abspaltung der Carboxygruppe ist $-19,7 \text{ kJ/mol}$.

aktiviertes
CO₂

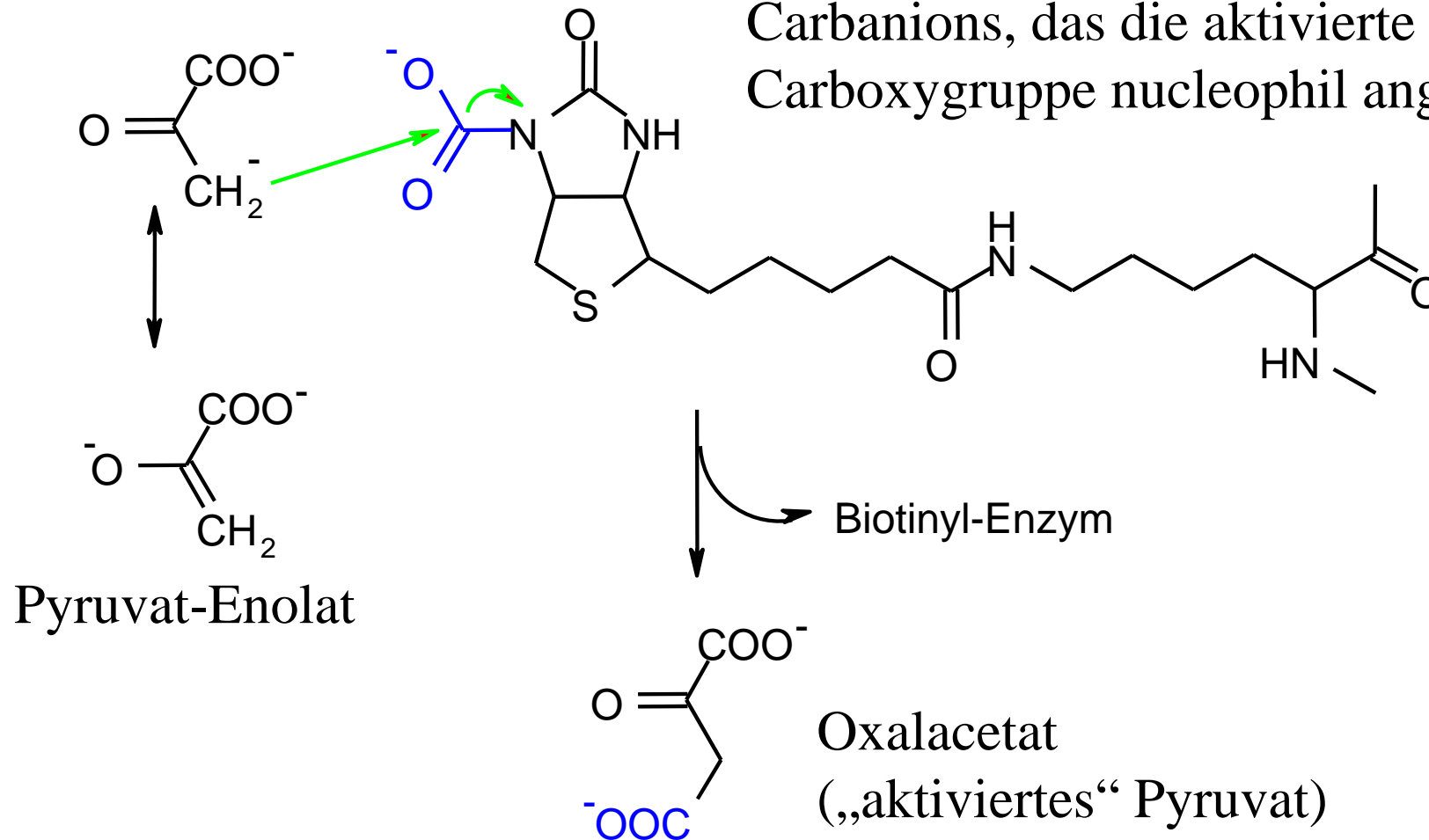


Struktur des
Carboxybiotins

Lysin

3. Übertragung der aktivierten Carboxygruppe vom Carboxybiotin auf (deprotoniertes) Pyruvat unter Bildung von Oxalacetat

Abstraktion eines Protons vom C(3) des Pyruvats. Bildung eines Carbanions, das die aktivierte Carboxygruppe nucleophil angreift.



Allosterische Regulation durch Acyl-CoA

Die Synthese von Oxalacetat ist eine **anaplerotische Reaktion** („Auffüll“-Reaktion), die die Aktivität des Citronensäure-Cyclus erhöht (siehe Einheit 7). **Pyruvat-Carboxylase** ist (wie der Citrat-Cyclus) in der Matrix der Mitochondrien lokalisiert.

Acetyl-CoA ist Substrat des Citronensäure-Cyclus und ein starker allosterischer **Aktivator** der **Pyruvat-Carboxylase**. Erst durch das Binden von Acetyl-CoA an die allosterische Bindungsstelle ist das Enzym aktiv.

- ◆ Akkumulierung von Acetyl-CoA signalisiert weiteren Bedarf von Oxalacetat
- ◆ **Pyruvat-Dehydrogenase** wird durch Acetyl-CoA **inhibiert**. Bei Überschuss an ATP und/oder NADH- sind zudem die Schrittmacherenzyme des Citrat-Cyclus gehemmt. Oxalacetat wird unter diesen Umständen für die Gluconeogenese verwendet.

Gluconeogenese 2. Reaktion: PEP-Carboxykinase

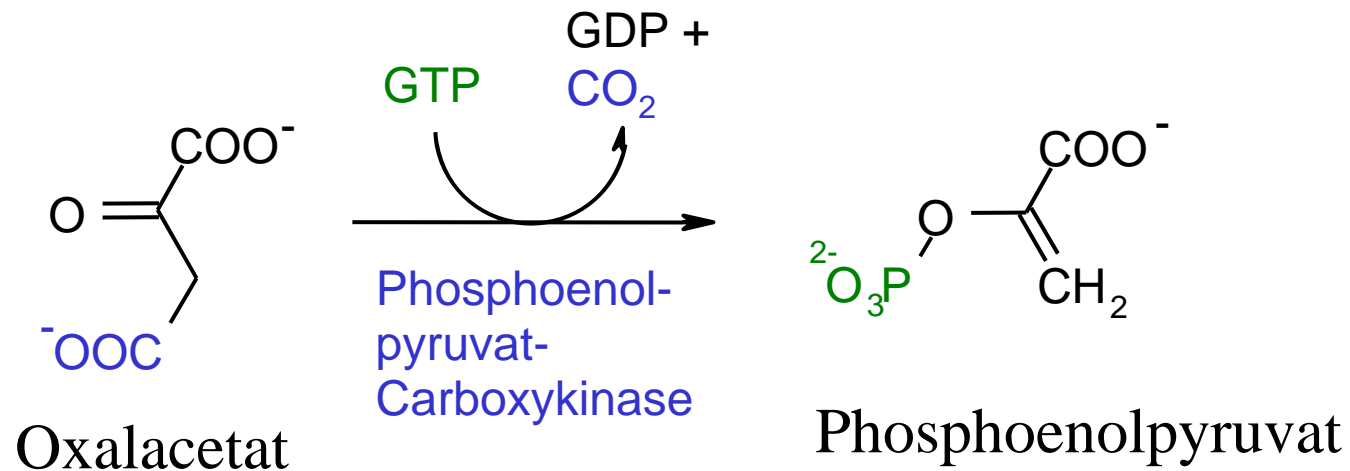


Enzym: Lyase (E.C. 4.1.1.49)

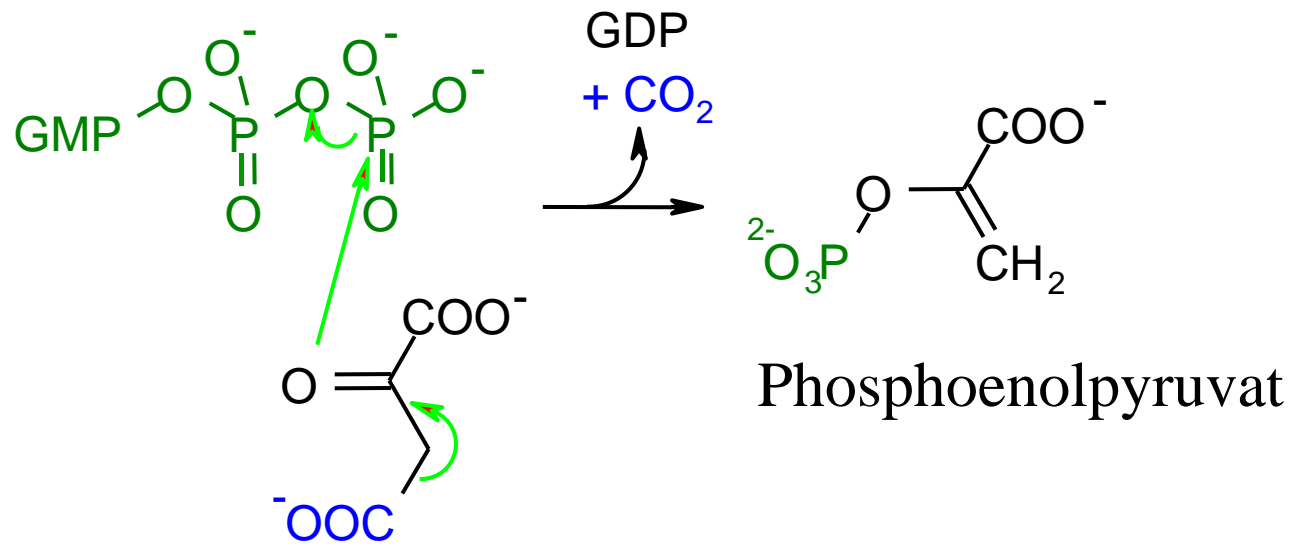
PEP-Carboxykinase

Monomer mit 74 kDa (Mensch)

Mitochondrium und/oder Cytosol

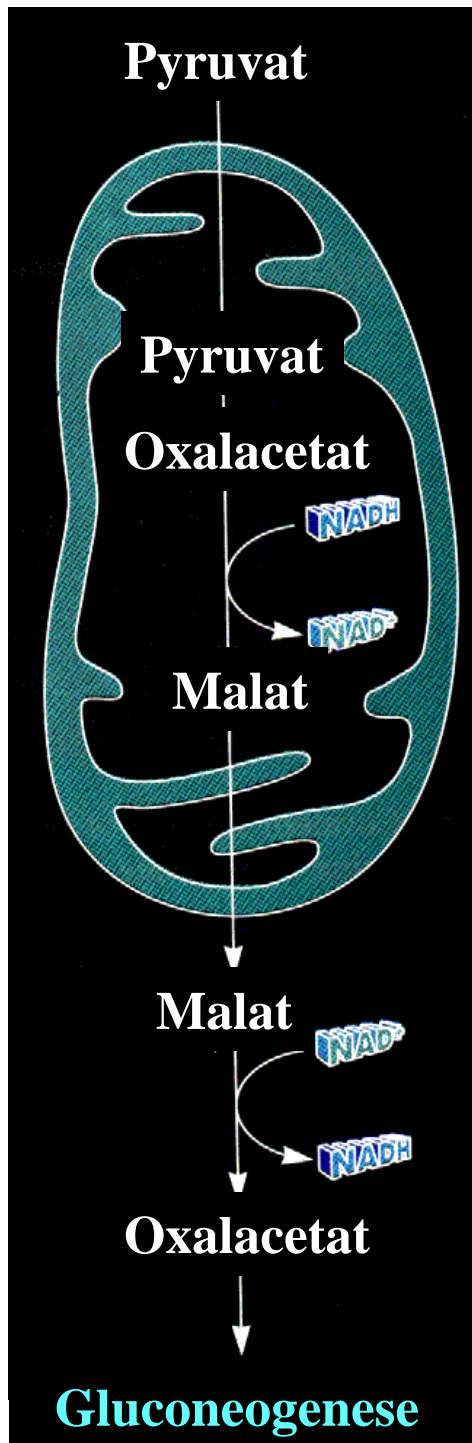


Reaktionsmechanismus der PEP-Carboxykinase:



Oxalacetat
(β -Keto-Säure)

Decarboxylierung von Oxalacetat bildet resonanzstabilisiertes Enolat-Anion, dessen Sauerstoffatom die γ -Phosphorylgruppe von GTP angreift.



Pyruvat-Carboxylase-Reaktion

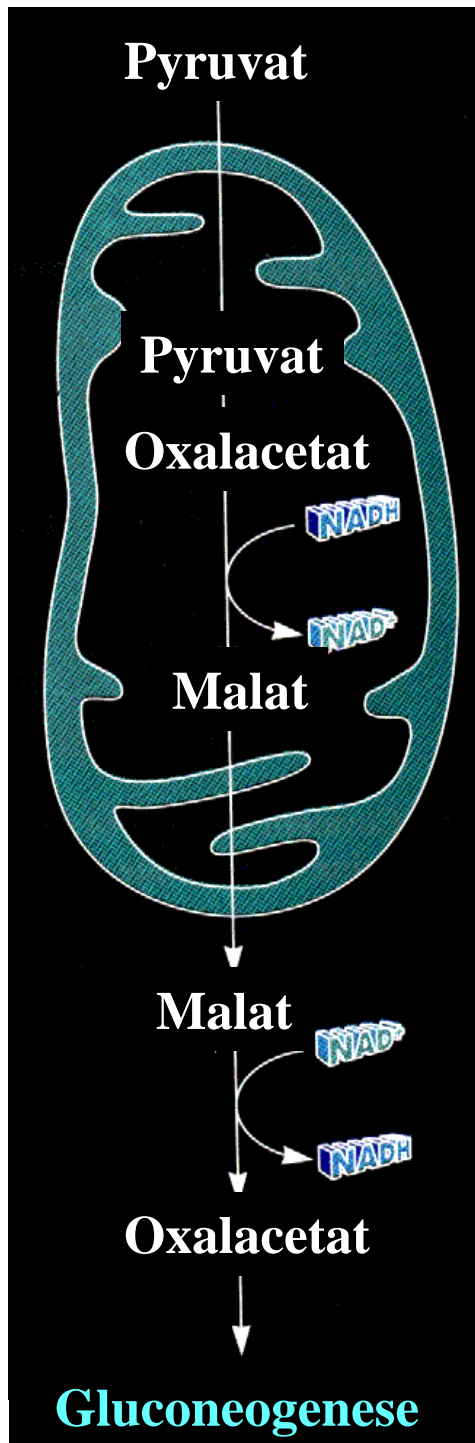
PEP-Carboxykinase-Reaktion

Nettoreaktion: $\Delta G^{\ominus \prime} = -22,6 \text{ kJ/mol}$

Pyruvatcarboxylase ist ausschließlich in der Matrix der Mitochondrien lokalisiert.

PEP-Carboxykinase ist beim Menschen sowohl in der mitochondrialen Matrix als auch im Cytosol lokalisiert.

Die restlichen Enzyme der Gluconeogenese sind im Cytosol lokalisiert, d.h. Oxalacetat und PEP müssen die Mitochondrien verlassen können.



Für Phosphoenolpyruvat und Pyruvat existiert ein spezifisches Membrantransport-System, jedoch nicht für Oxalacetat (siehe auch Einheit 8).

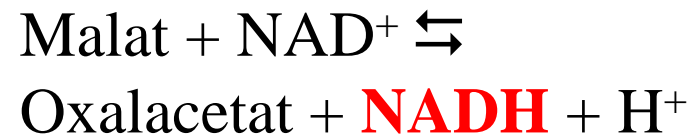
Oxalacetat muss entweder in Malat oder Aspartat umgewandelt werden:

Route 1: **Aspartat-Aminotransferase-Weg**

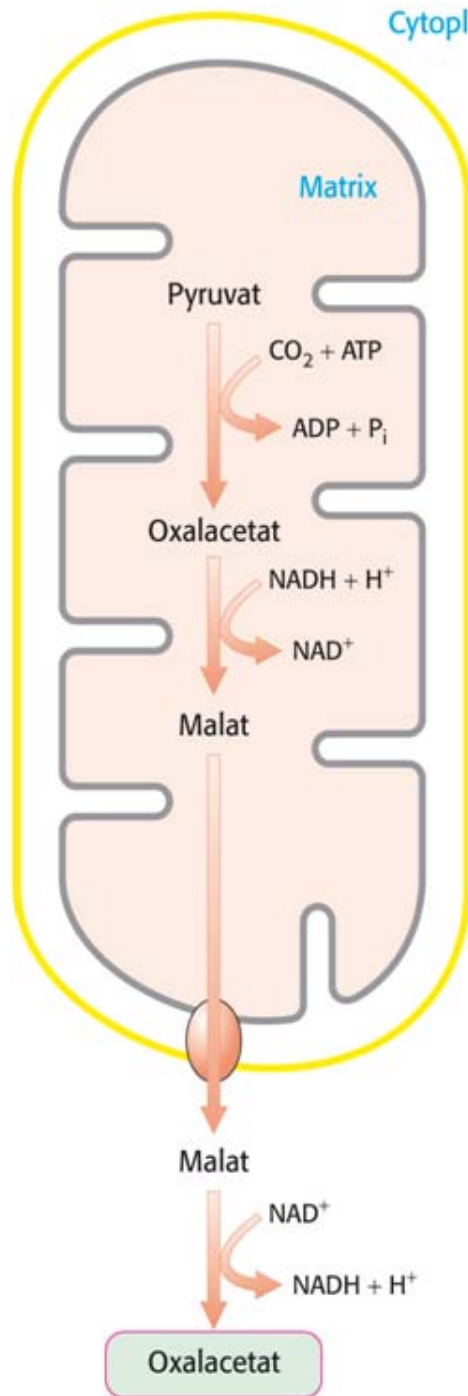


Enzym: **Aspartat-Aminotransferase**

Route 2: **Malat-Dehydrogenase-Weg**



Enzym: **Malat-Dehydrogenase**



Beide Wege möglich. Kopplung von Route 1 und Route 2 ist ebenfalls möglich. Siehe auch Malat-Aspartat-Shuttle in Einheit 8!

Bei der Gluconeogenese wird **NADH** benötigt, deshalb ist unter den meisten Bedingungen der **Malat-Dehydrogenase**-Weg erforderlich. Die auch im Cytosol anzutreffende **Malat-Dehydrogenase** produziert bei der Reoxidation von Malat zu Oxalacetat **NADH**!

Liegt Lactat als Vorstufe der Gluconeogenese vor, wird bei dessen Oxidation auch cytosolisches **NADH** produziert:



Enzym: **Lactat-Dehydrogenase**

Gluconeogenese 3. Reaktion: Enolase

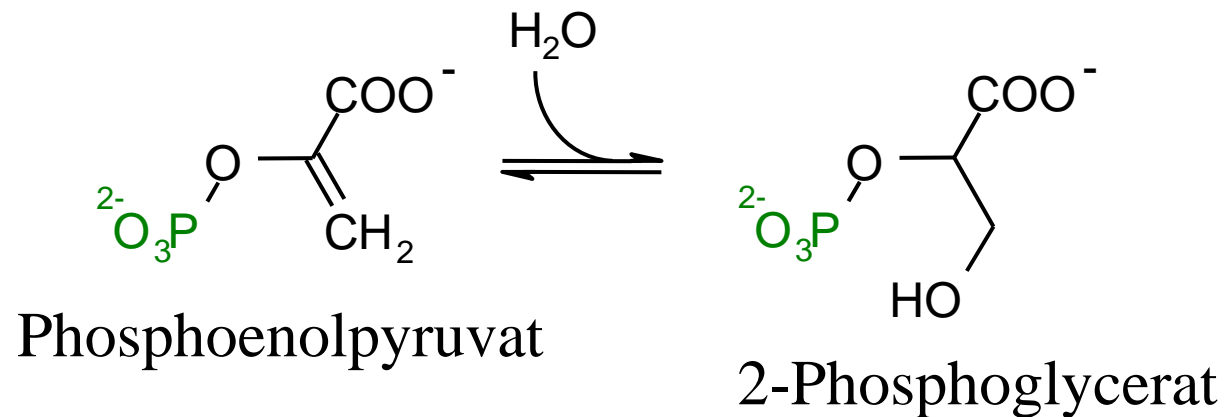
Phosphoenolpyruvat + H₂O ⇌ 2-Phosphoglycerat

Enzym: Lyase

Enolase (EC 4.2.1.11)

Dimer: 2 × 41 kDa (Kaninchenmuskel)

Cofaktor: Mg²⁺



Gluconeogenese 4. Reaktion: Phosphoglycerat-Mutase

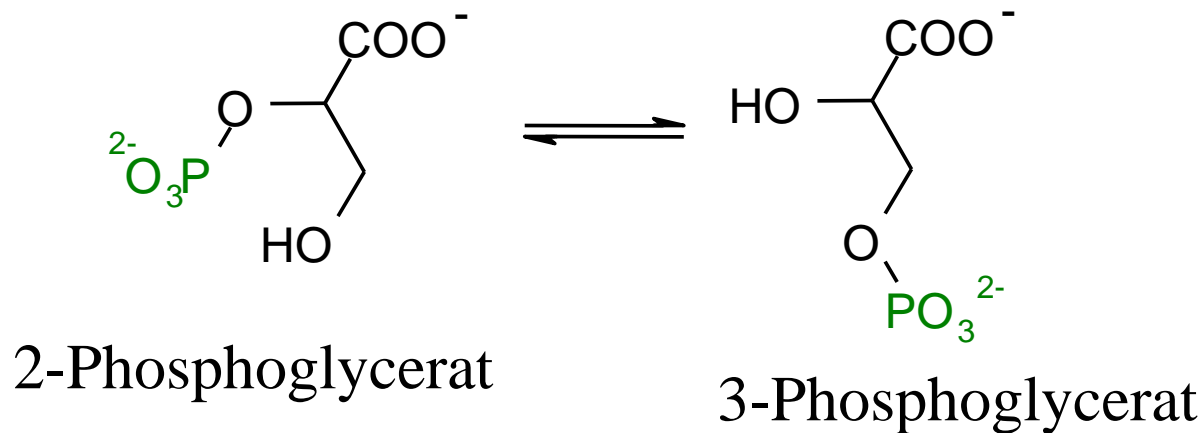
2-Phosphoglycerat \rightleftharpoons 3-Phosphoglycerat

Enzym: Isomerase

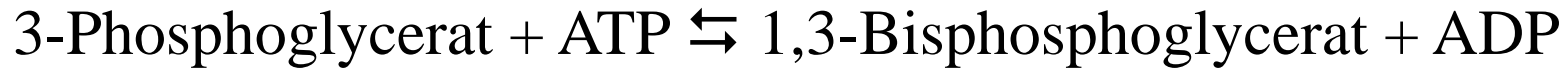
Phosphoglycerat-Mutase (EC 5.4.2.1)

Dimer: 2×27 kDa (Kaninchenmuskel)

Cofactor: 2,3-BPG



Gluconeogenese 5. Reaktion: Phosphoglycerat-Kinase

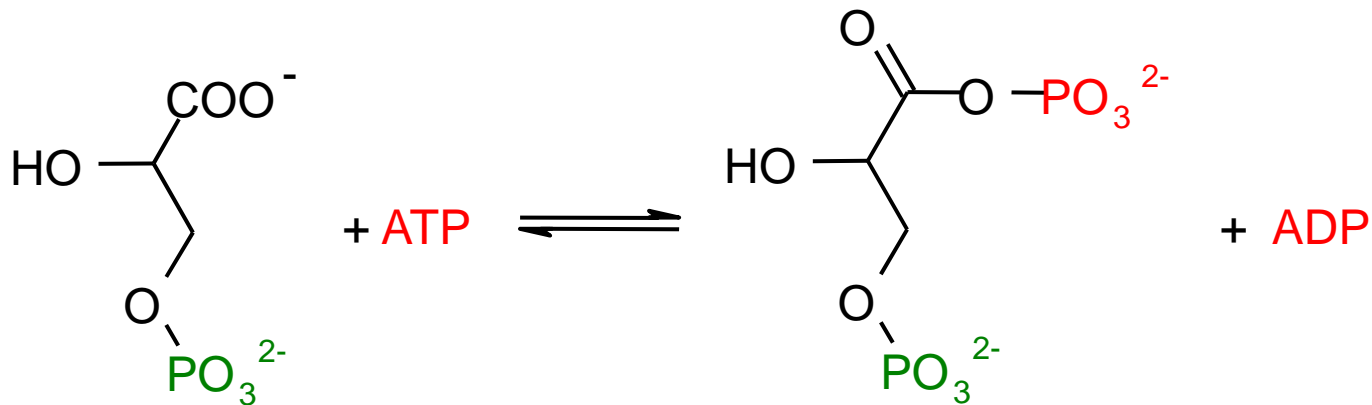


Enzym: Phosphotransferase

Phosphoglycerat-Kinase (EC 2.7.2.3)

Monomer: 64 kDa (Kaninchenmuskel)

Cofaktor: Mg^{2+}



3-Phosphoglycerat

1,3-Bisphosphoglycerat

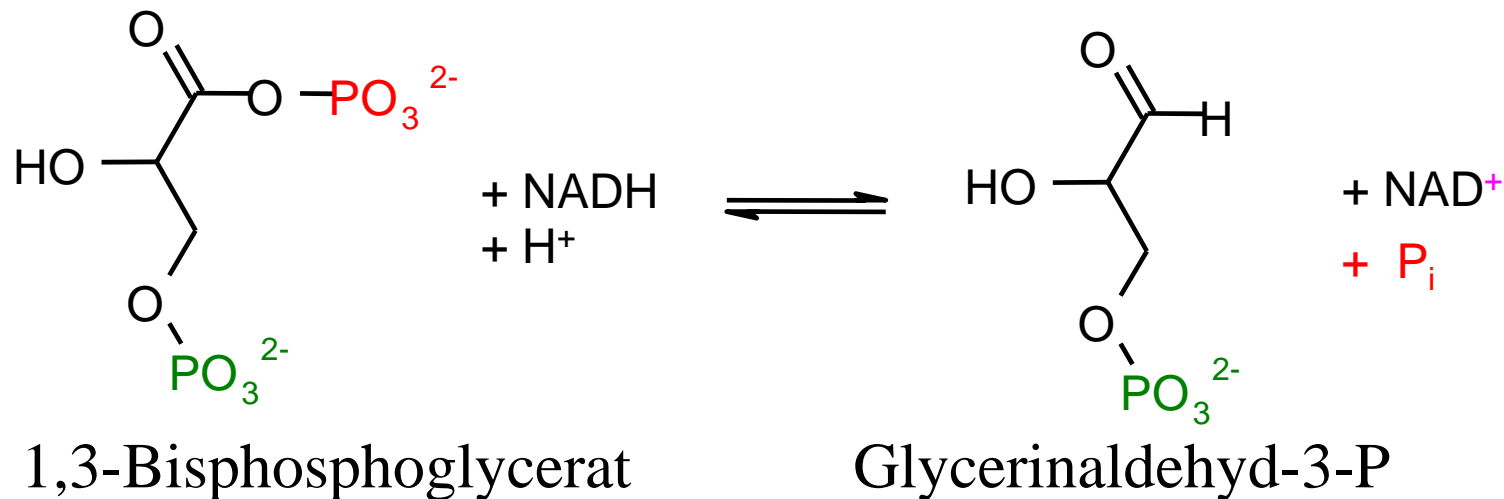
Gluconeogenese 6. Reaktion: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase



Enzym: Oxidoreductase

Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

(E.C. 1.2.1.12) Tetramer: 4×37 kDa (Kaninchenmuskel)



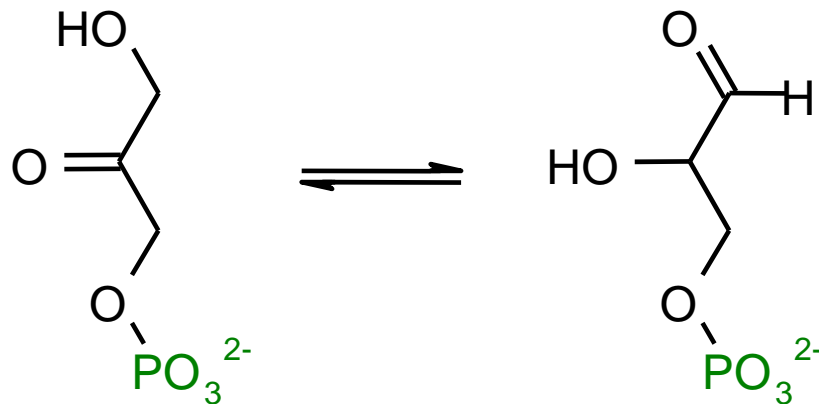
Gluconeogenese 7. Reaktion: Triosephosphat-Isomerase

Dihydroxyacetonphosphat \rightleftharpoons Glycerinaldehyd-3-Phosphat

Enzym: Isomerase

Triosephosphat-Isomerase (E.C. 5.3.1.1)

Dimer: 2×27 kDa (Hühnermuskel)



Dihydroxyacetonphosphat

Glycerinaldehyd-3-P

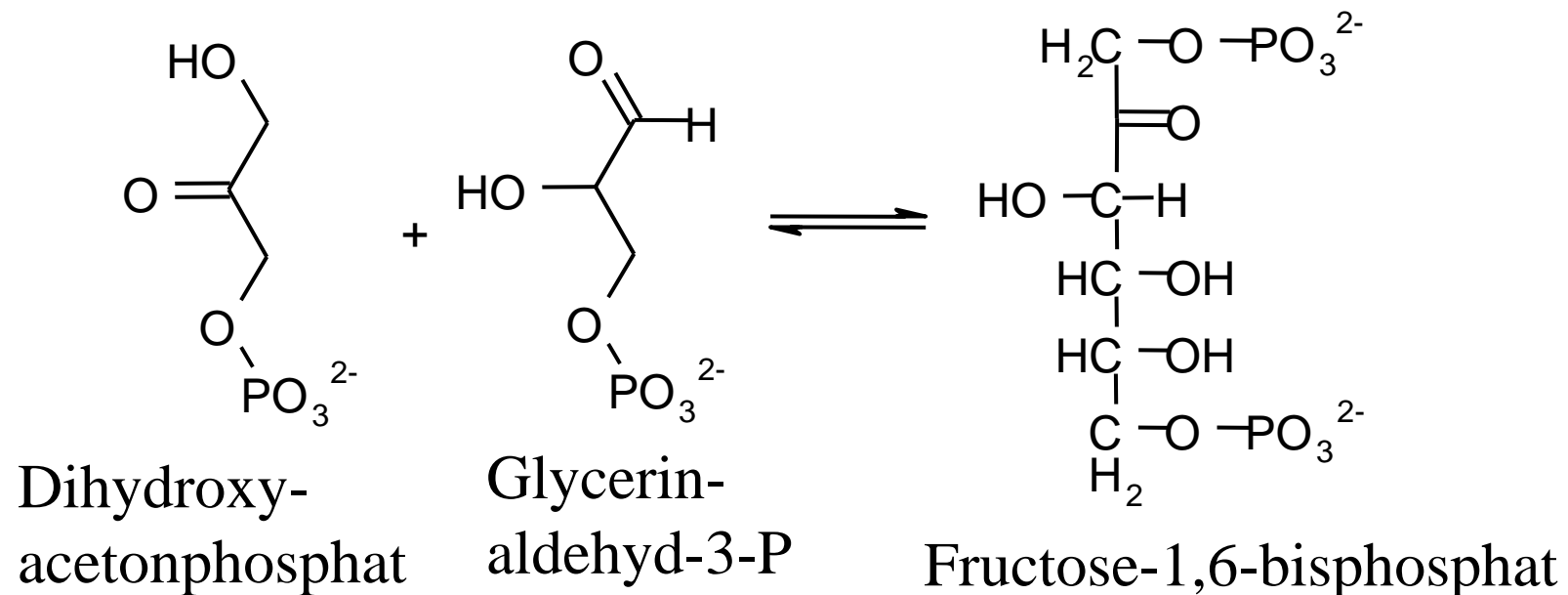
Gluconeogenese 8. Reaktion: Aldolase



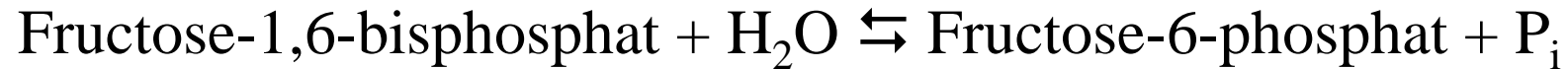
Enzym: Lyase

Aldolase (E.C. 4.1.2.13)

Tetramer: 4×40 kDa (Kaninchenmuskel)

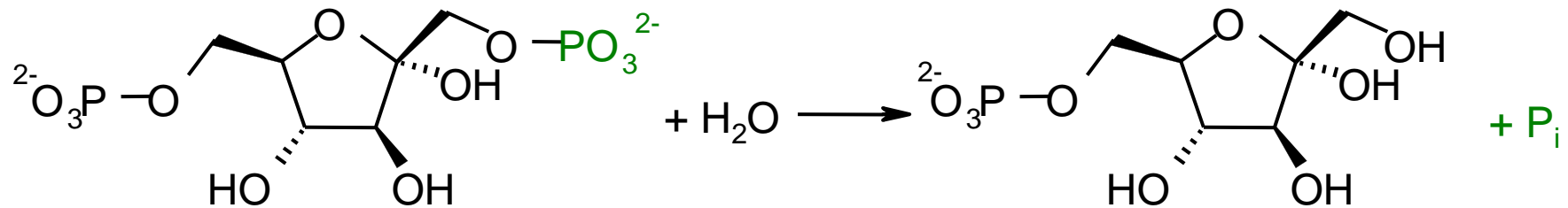


Gluconeogenese 9. Reaktion: Fructose-Bisphosphatase



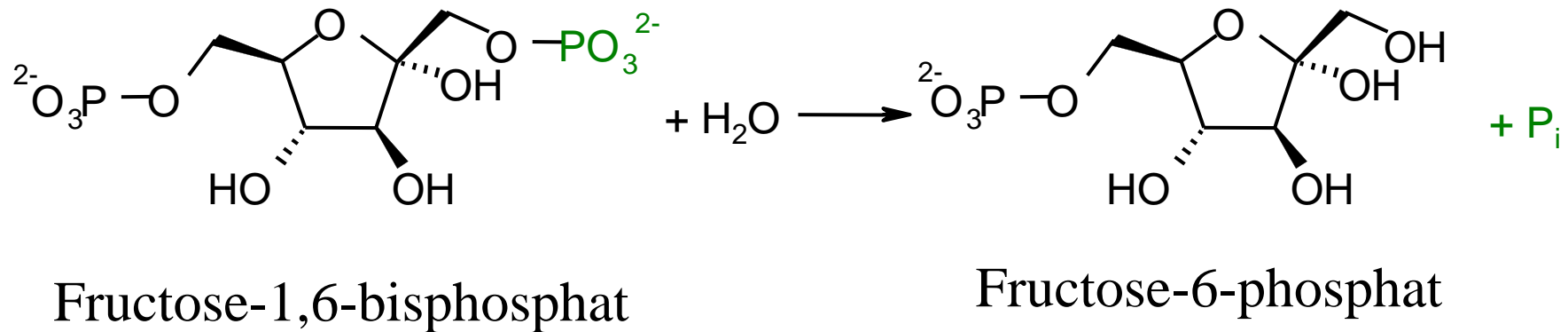
Enzym: Hydrolase

Fructose-Bisphosphatase (E.C. 3.1.x.y)



Fructose-1,6-bisphosphat

Fructose-6-phosphat



Phosphatester-Hydrolyse: $\Delta G^{\ominus\prime} = -16,7 \text{ kJ/mol}$

Leber (*in vivo*-Bedingungen): $\Delta G^{\prime} = -8,6 \text{ kJ/mol}$

Allosterisch reguliertes Enzym:

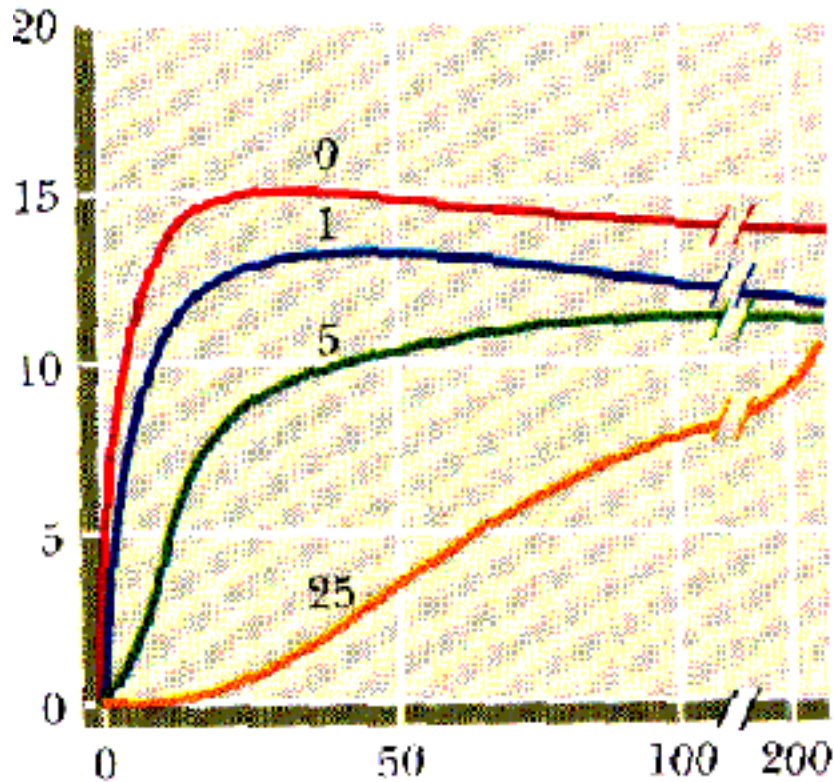
Stimulierung durch Citrat

Inhibierung durch Fructose-2,6-bisphosphat

Inhibierung durch AMP (Verstärkung der AMP-Inhibierung durch Fructose-2,6-bisphosphat)

Inhibierung von Fructose-1,6-bisphosphatase durch Fructose-2,6-bisphosphat :

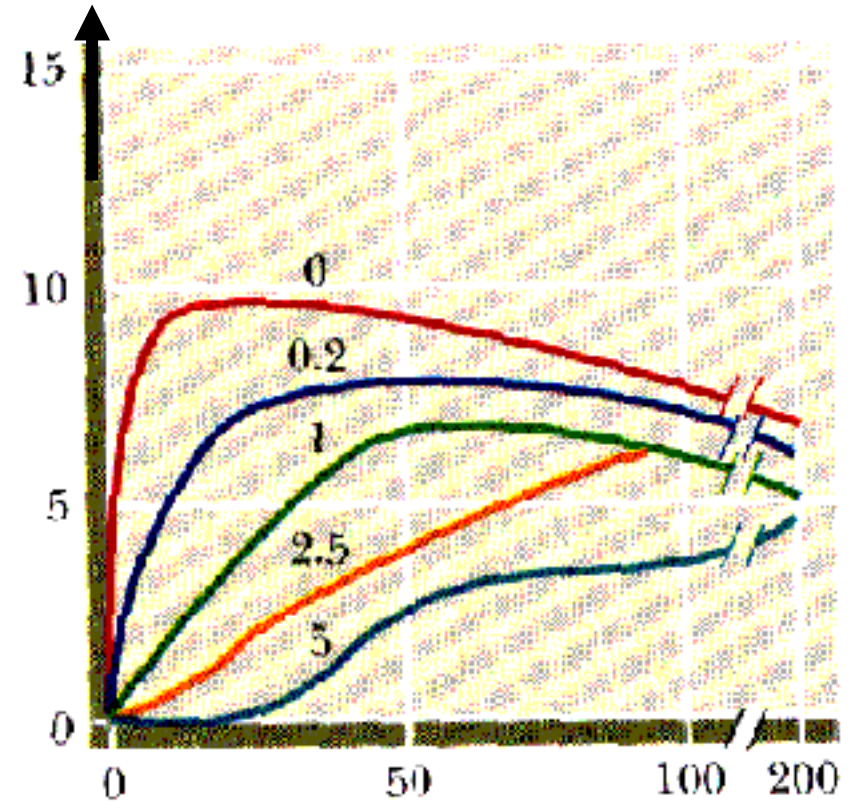
Enzymaktivität



Fructose-1,6-bisphosphat (μM)

In Abwesenheit von AMP

(0, 1, 5, 25 μM Fructose-2,6-bis-ph.)

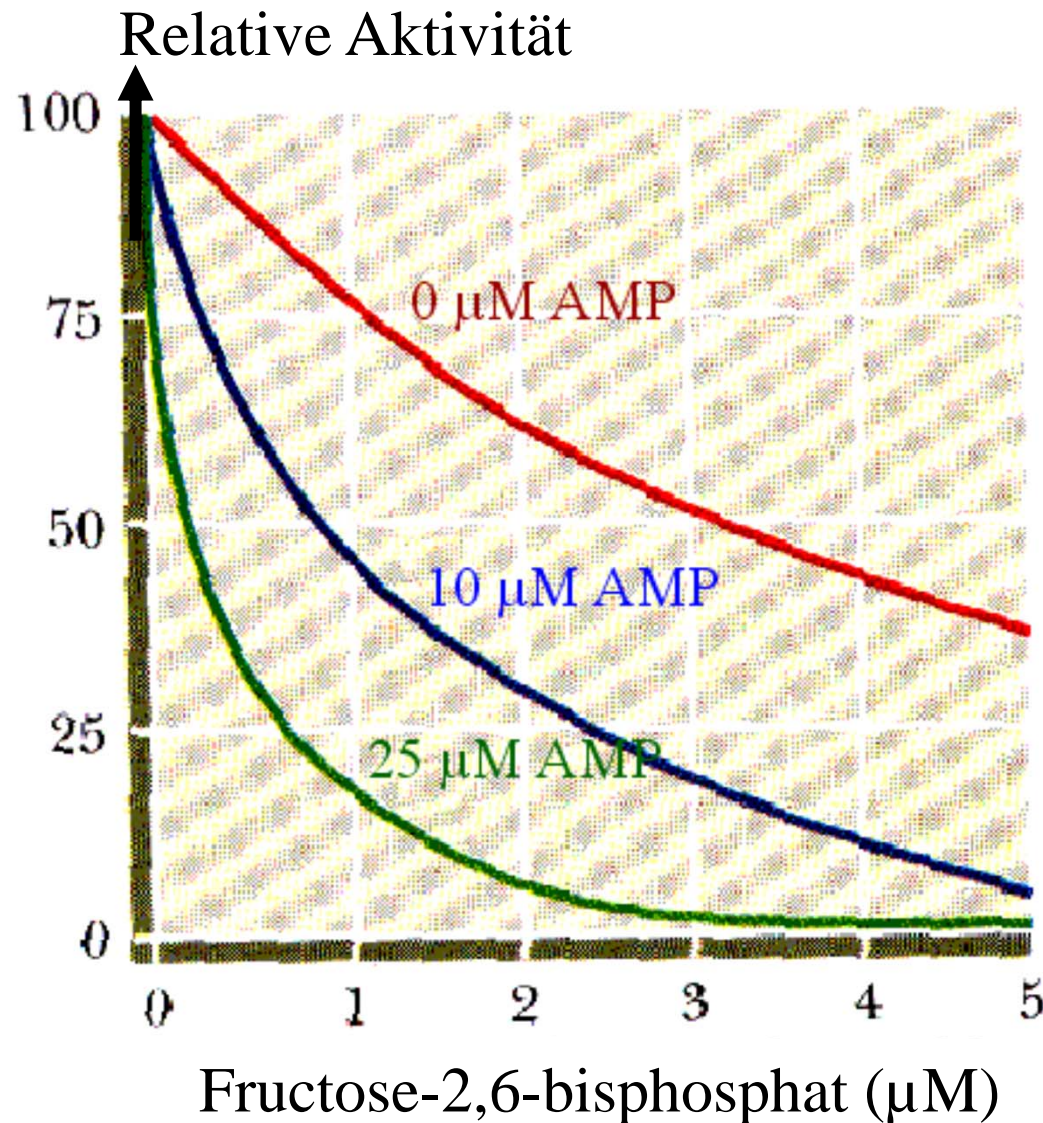


Fructose-1,6-bisphosphat (μM)

In Anwesenheit von 25 μM AMP

(0, 0.2, 1, 2.5, 5 μM Fructose-2,6-bis-ph.)

Inhibierung von **Fructose-1,6-bisphosphatase** durch Fructose-2,6-bisphosphat in Gegenwart von AMP :



Fructose-2,6-Bisphosphat ist für die reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese von großer Bedeutung! Synergistischer Effekt von AMP und Fructose-2,6-bisphosphat bei der Inhibierung von **Fructose-1,6-bisphosphatase**

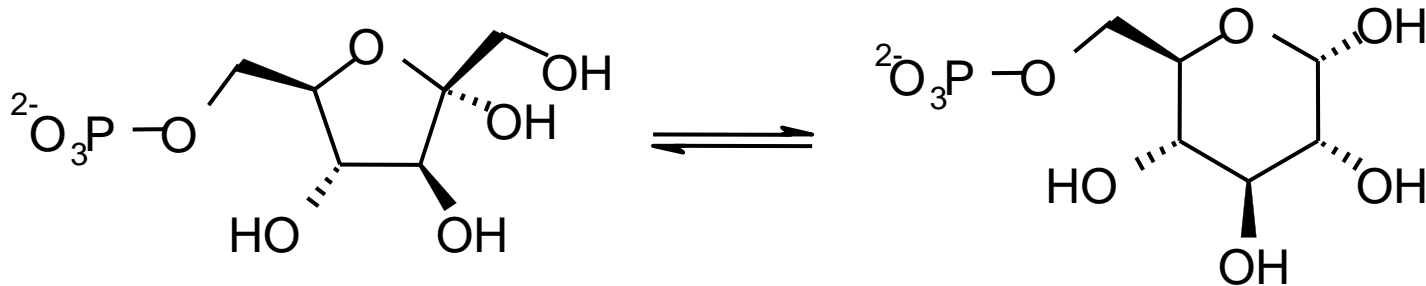
Gluconeogenese 10. Reaktion: Glucosephosphat-Isomerase

Fructose-6-phosphat \rightleftharpoons Glucose-6-phosphat

Enzym: Isomerase (E.C. 5.3.1.x)

Glucosephosphat-Isomerase (Phosphoglucosomerase)

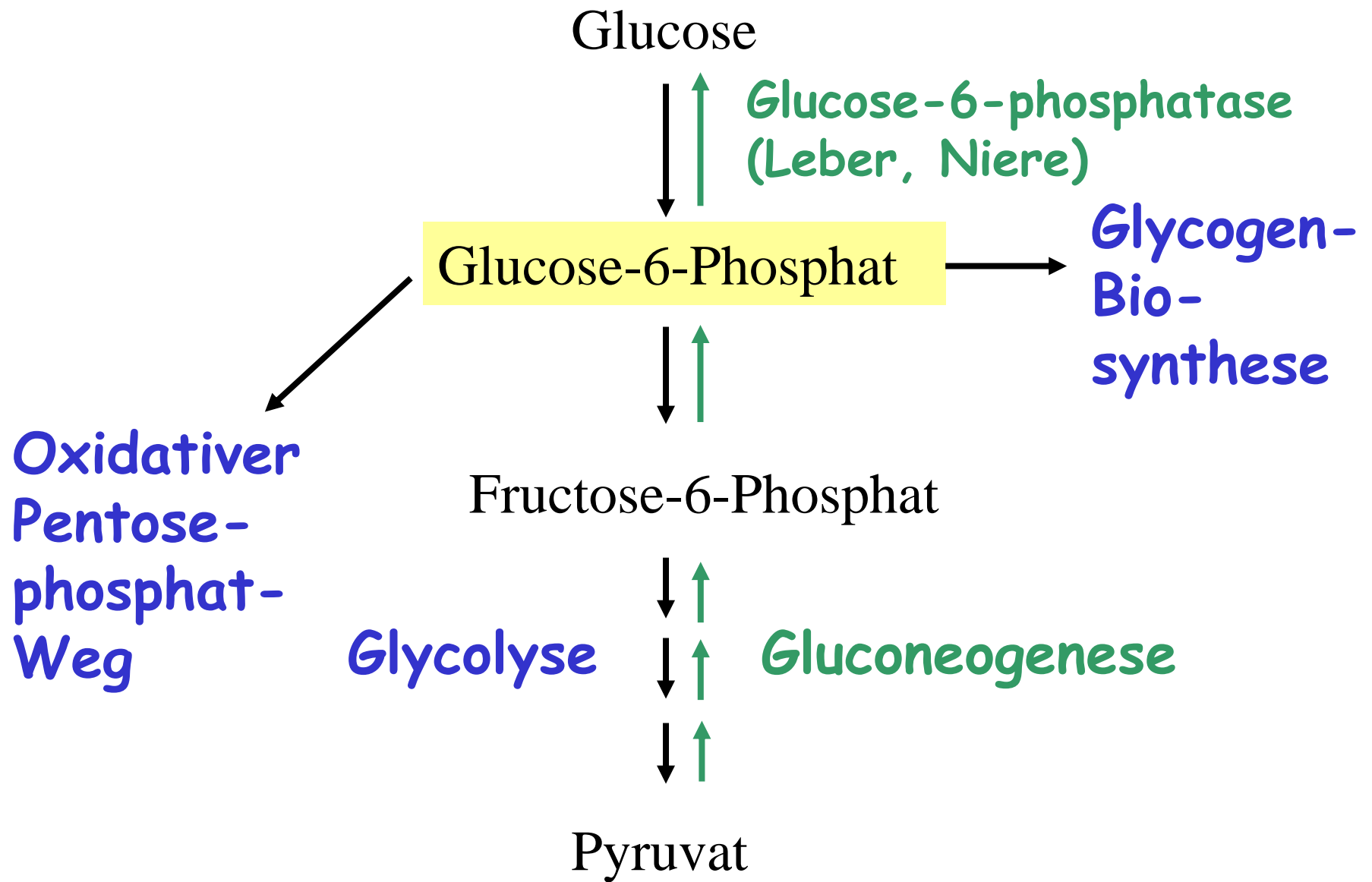
Dimer: 2×61 kDa (Kaninchenmuskel)



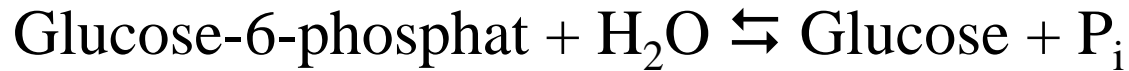
Fructose-6-phosphat

Glucose-6-phosphat

In den meisten Geweben endet hier die Gluconeogenese!



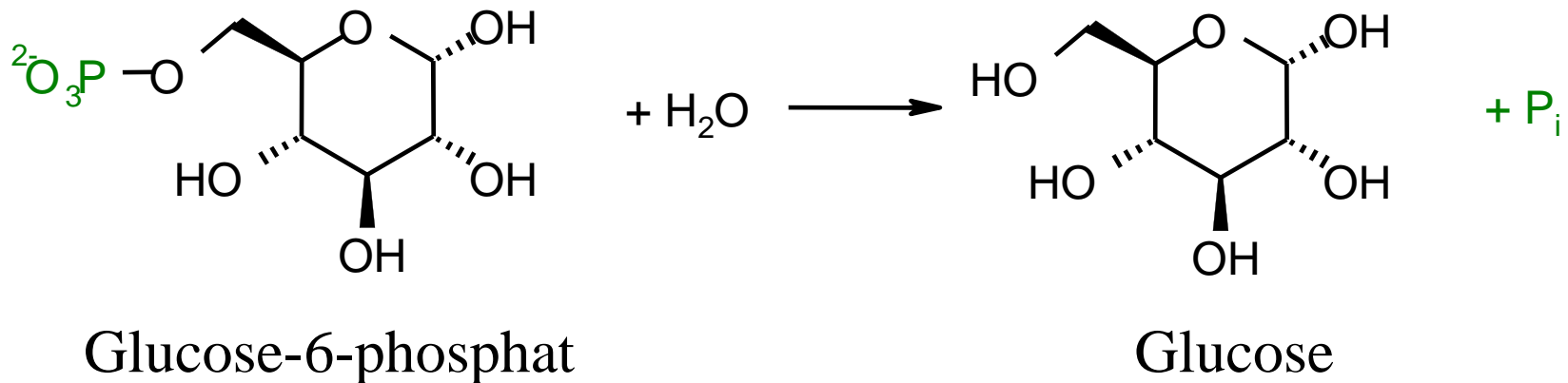
Gluconeogenese 11. Reaktion: Glucose-6-Phosphatase



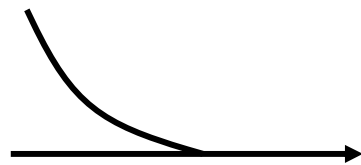
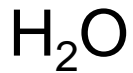
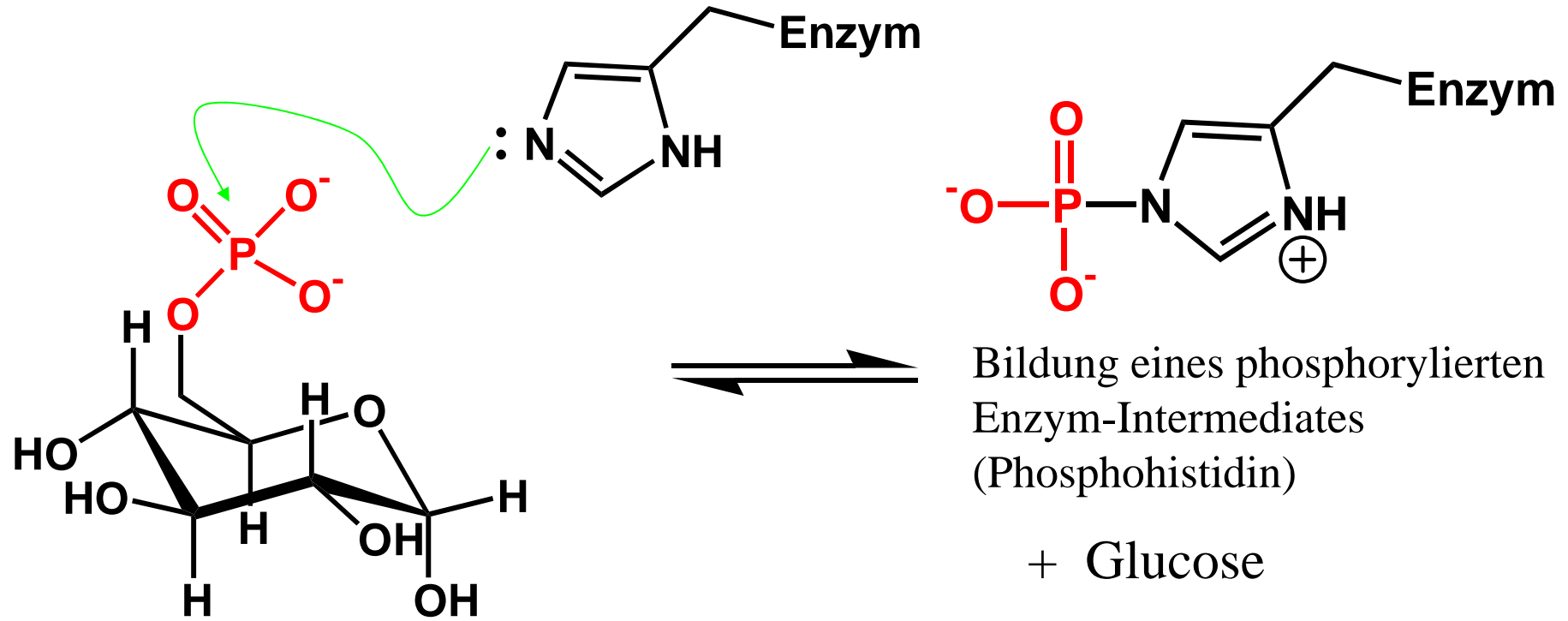
Enzym: Hydrolase (E.C. 3.1.3.9)

Glucose-6-phosphatase

Membran-gebunden und nur in Leber und Niere
(und z.T. Dünndarm) vorkommend



Mechanismus der Glucose-6-phosphatase :



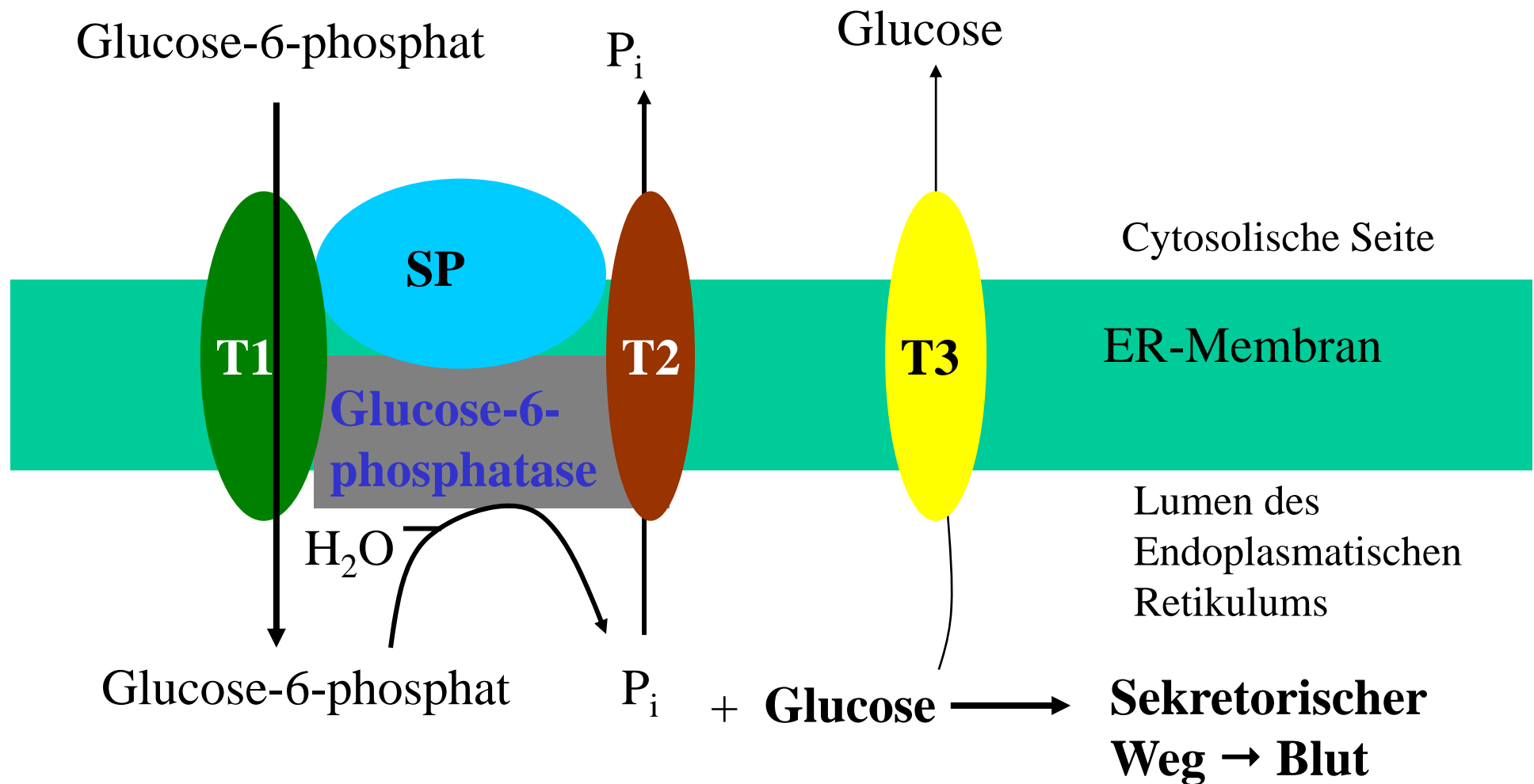
HOPO_3^{2-} und Enzym im Ausgangszustand

$$\Delta G' = -5,1 \text{ kJ/mol}$$

Die **Glucose-6-phosphatase** ist nicht im Cytosol lokalisiert, sondern in der Membran des Endoplasmatischen Retikulums (ER) vor allem von Leber- und Nierenzellen, also in Organen, die für die Aufrechterhaltung des Blutglucosespiegels wichtig sind.

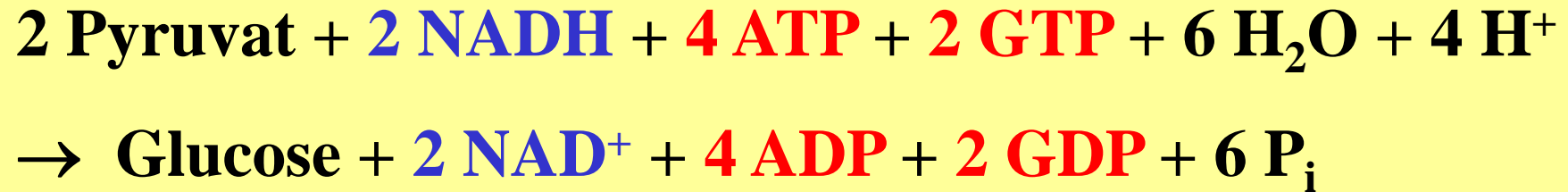
In Muskeln und Gehirn (Glucose-Konsumenten!) fehlt dieses Enzym. Dort und in den meisten Zellen endet die Gluconeogenese bei Glucose-6-phosphat (Ausgang für Glycogenbiosynthese oder oxidativen Pentosephosphatweg).

Nur in Leber- oder Nierenzellen wird Glucose-6-phosphat in das Lumen des ER transportiert und von **Glucose-6-phosphatase** hydrolysiert. Das Enzym bildet einen Komplex, der außerdem einen **Glucose-6-phosphat-Transporter**, T1, und einen **Phosphat-Transporter** (T2) enthält. Nur ein kleiner Teil der Glucose wird zurück ins Cytoplasma (T3) transportiert, der Großteil geht über den sekretorischen Weg (Vesikel?) über die Zellmembran ins Blut.



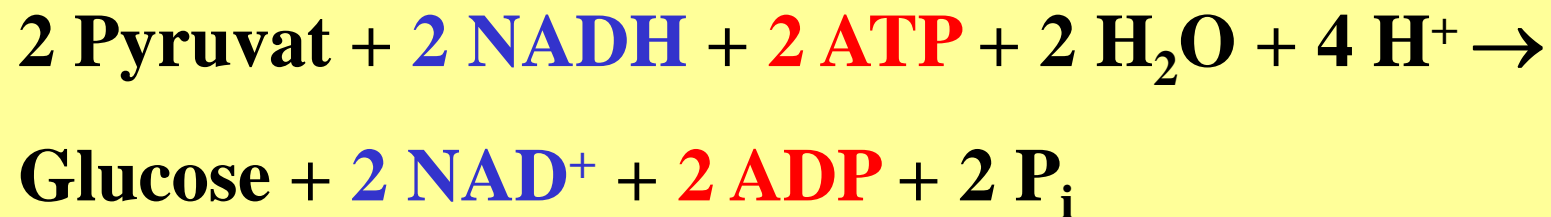
SP ist ein Ca²⁺-bindendes Protein, das für die Phosphatase-Aktivität essentiell ist (SP, Stabilisatorprotein).

Gluconeogenese-Bilanz



$$\Delta G^{\ominus'} = -37,7 \text{ kJ/mol bzw. } \Delta G' = -15,6 \text{ kJ/mol}$$

Fiktiv (Umkehrung der Glycolyse):



$$\Delta G^{\ominus'} = +74 \text{ kJ/mol, d.h. stark endergonisch}$$

Gluconeogenese

Reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese

Gluconeogenese und Glycolyse werden so reguliert, dass der eine Weg relativ inaktiv ist, während der andere eine hohe Aktivität aufweist. Wären beide gleichzeitig aktiv, wäre die Nettoreaktion die Hydrolyse von zwei ATP und zwei GTP!

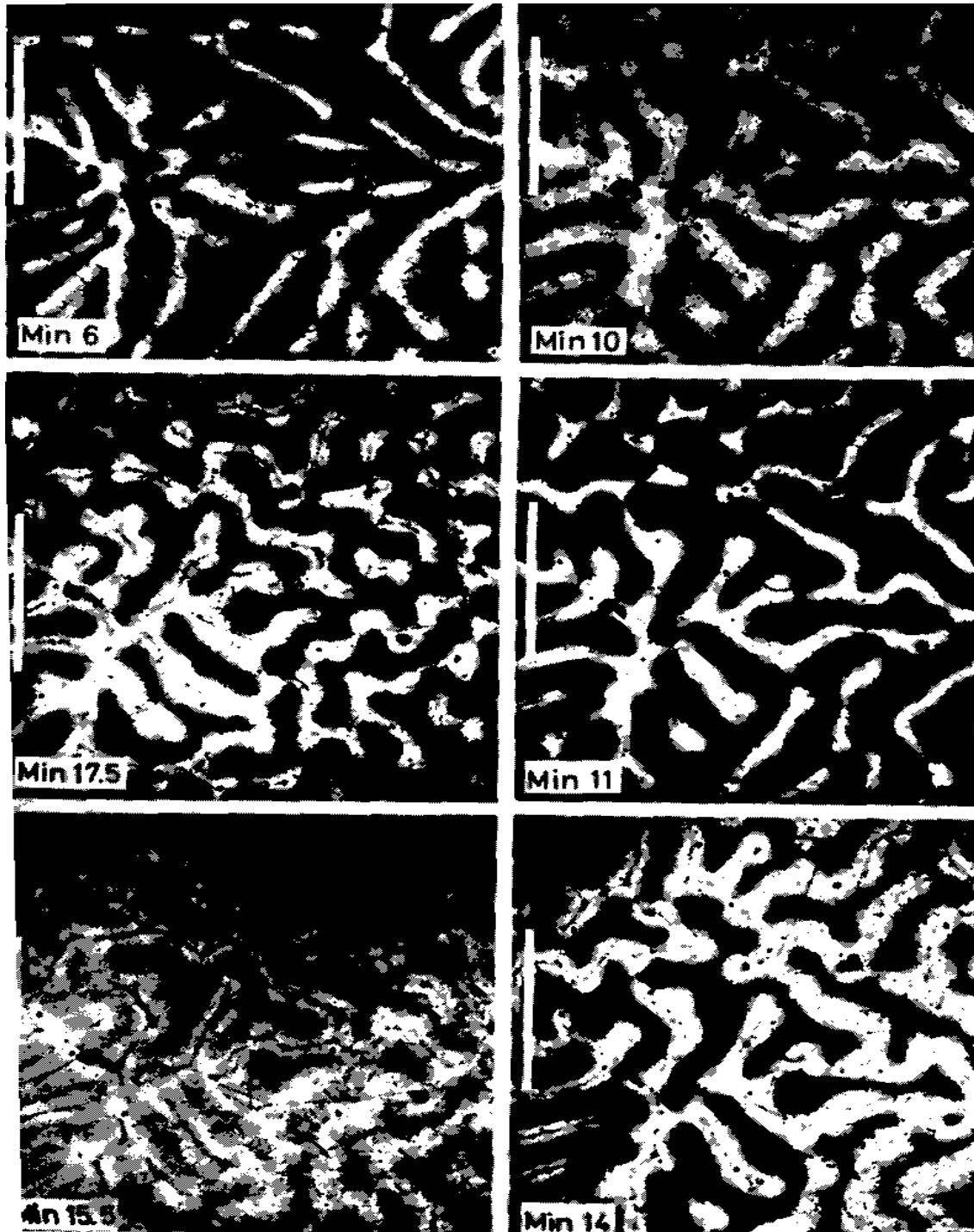
Unter zellulären Bedingungen sind sowohl Gluconeogenese als auch Glycolyse exergonisch. Die Mengen und Aktivitäten der Enzyme werden jedoch so kontrolliert, dass nicht beide Stoffwechselwege voll aktiv sind. Die Geschwindigkeit der Glycolyse wird von der Glucosekonzentration, jene der Gluconeogenese von Lactat und anderen Vorstufen bestimmt.

Regulierte Enzyme von Glycolyse und Gluconeogenese:

Hexokinase/Glucose-6-phosphatase

Phosphofruktokinase/Fruktose-Bisphosphatase

Pyruvat-Kinase/Pyruvat-Carboxylase



Die Konzentrationen der Metaboliten zeigen stabile räumliche und zeitliche Oszillationen.

Beispiel: NADH in einem zellfreien Hefeextrakt

Die beobachteten Oszillationen der Metaboliten sind nur solange zu beobachten, wie die **Phosphofruktokinase** aktiv ist.

Beeinflussung der Oszillationen durch Veränderungen der Effektor-Konzentrationen.

Lebende Organismen sind thermodynamisch offene Systeme, die ein Fließgleichgewicht aufrechterhalten.

Der Fluss von Zwischenprodukten durch einen Stoffwechselweg muss den zellulären Bedingungen angepasst werden.

Die Konzentration der Metaboliten ist dagegen relativ konstant, dies entspricht einem Zustand großer thermodynamischer Effizienz.

Ein Stoffwechselweg ist eine Folge enzymkatalysierter Reaktionen.

Der Fluß J der Metaboliten durch jeden Reaktionsschritt kann als Differenz der Geschwindigkeiten der Hin- und Rückreaktion angeschrieben werden: $J = v_h - v_r$

Gleichgewicht: $v_h = v_r$ und $J = 0$

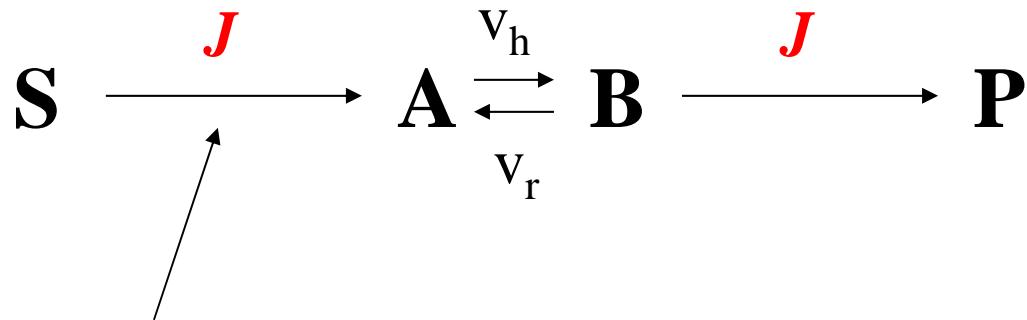
Abseits des Gleichgewichts: $v_h \gg v_r$ und $J \approx v_h$

Der Fluß durch einen Fließgleichgewichtsweg wird durch den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt (Schrittmacherreaktion) festgelegt.

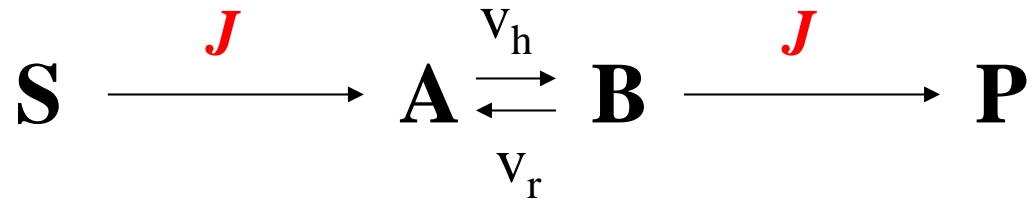
Kontrolle (Regulation):

- (1) Die Schrittmacherreaktion(en) muss sich den Stoffwechselbedürfnissen des Organismus anpassen können
- (2) Diese Veränderungen müssen innerhalb des Stoffwechselweges weitergegeben werden können.

Wie reagiert eine enzymkatalysierte Reaktion auf eine Veränderung im Fluss der vorhergehenden Reaktion ? Man betrachte folgenden vereinfachten Fließgleichgewichtsweg:



Geschwindigkeitsbestimmender Schritt
(Schrittmacher-Reaktion)



Der Fluss \mathbf{J} durch die Reaktion $\mathbf{A} \rightleftharpoons \mathbf{B}$ ist identisch mit dem Fluss in der Schrittmacher-Reaktion.

Ein Anstieg des Flusses im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt um $\Delta \mathbf{J}$ wird an den nächsten Reaktionsschritt des Weges über den Anstieg von v_h weitergegeben:

$$\Delta \mathbf{J} = \Delta v_h \quad \text{Umformen: } (: \mathbf{J}) \quad \text{und} \quad (\times v_h/v_h)$$

$$\Delta \mathbf{J} / \mathbf{J} = (\Delta v_h / v_h)(v_h / \mathbf{J}) = [\Delta v_h / v_h][v_h / (v_h - v_r)] \quad \text{aus } \mathbf{J} = v_h - v_r$$

$$\Delta J/J = [\Delta v_h/v_h][v_h/(v_h-v_r)]$$



Relative Veränderung
des Flusses der
Schrittmacherreaktion

Relative Veränderung von v_h ,
der Geschwindigkeit der
Hinreaktion der
anschließenden Reaktion

Michaelis-Menten-Gleichung:

$$v_h = v_{\max}^h [A] / (K_M + [A])$$

Häufigste physiologische Situation: $[A] \ll K_M$

$$v_h = v_{\max}^h [A] / K_M \quad \text{bzw.} \quad \Delta v_h = v_{\max}^h \Delta [A] / K_M$$

Somit gilt:

$$\Delta v_h/v_h = \Delta [A]/ [A]$$

Die relative Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit entspricht der relativen Änderung der Substratkonzentration

mit

$$\Delta J/J = [\Delta v_h/v_h][v_h/(v_h-v_r)]$$

$$\Delta J/J = \{ \Delta[A] / [A] \} [v_h/(v_h-v_r)]$$

$[v_h/(v_h-v_r)]$

Maß wie empfindlich die relative Änderung des Flusses einer Reaktion auf die relative Änderung der Substratkonzentration der nachfolgenden Reaktion anspricht (Maß für die Reversibilität einer Reaktion)

$$\Delta J/J = \{\Delta[A] / [A]\} [v_h / (v_h - v_r)]$$

$[v_h / (v_h - v_r)]$ 2 Extremfälle:

Irreversible Reaktion: $v_r \rightarrow 0$ und somit $[v_h / (v_h - v_r)] \rightarrow 1$

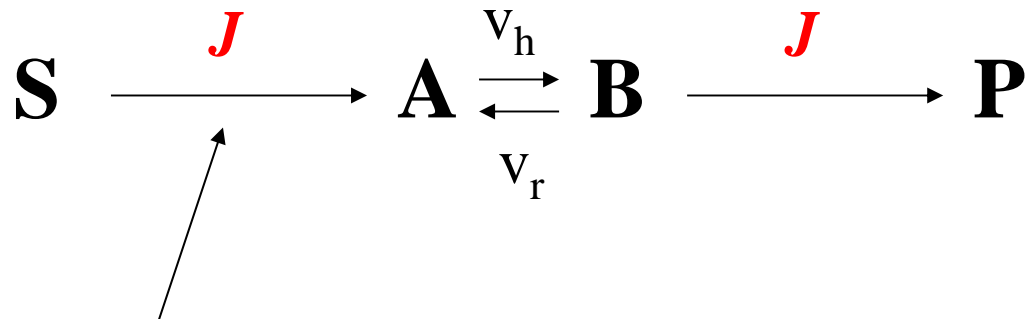
Die Reaktion reagiert auf einen relativen Anstieg des Flusses mit einem fast gleich großen Anstieg der Substratkonzentration:

$$\Delta J/J \approx \Delta[A] / [A]$$

Reversible Reaktion: Reaktion nähert sich dem Gleichgewicht

$v_r \rightarrow v_h$ und somit $[v_h / (v_h - v_r)] \rightarrow \infty$

Aus der **Gleichung** $\Delta J/J = \{\Delta[A] / [A]\} [v_h / (v_h - v_r)]$ folgt daher, dass die Reaktion auf einen relativen Anstieg des Flusses mit einem wesentlich geringeren Anstieg ihrer Substratkonzentration reagiert!



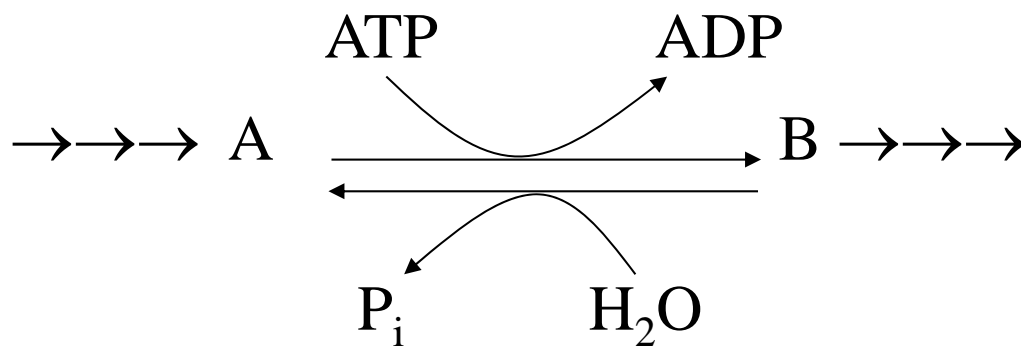
Der Fluss durch einen Stoffwechselweg wird durch den (die) geschwindigkeitsbestimmenden Schritt(e) bestimmt ($v_h \gg v_r$). Diese Reaktion ist wesentlich langsamer als die nachfolgenden Reaktionen. Das Reaktionsprodukt wird sofort umgesetzt und kann nicht mit den Edukten ins Gleichgewicht kommen.

Je näher eine Reaktion am Gleichgewicht ($v_h = v_r$) ist, umso besser ist sie in der Lage auf einen relativen Anstieg des Flusses zu reagieren. Mehrere aufeinanderfolgende Gleichgewichtsreaktionen zeigen den gleichen Fluss!

Der Fluss der Metaboliten durch einen Stoffwechselweg kann sich um ein Vielfaches ändern, während die Konzentration der Metaboliten im Fließgleichgewicht relativ konstant bleibt.

Die Kontrolle des Flusses im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt erfolgt auf vielfältige Weise, z.B. durch allosterische Kontrolle und/oder kovalente Modifikation des/der Schrittmacherenzym(e), über Substratcyclen oder genetische Kontrolle.

Glycolyse und Gluconeogenese werden reziprok allosterisch reguliert. Die Enzyme **Phosphofructokinase** und **Fructose-1,6-bisphosphatase** etablieren einen sog. **Substratcyclus**:

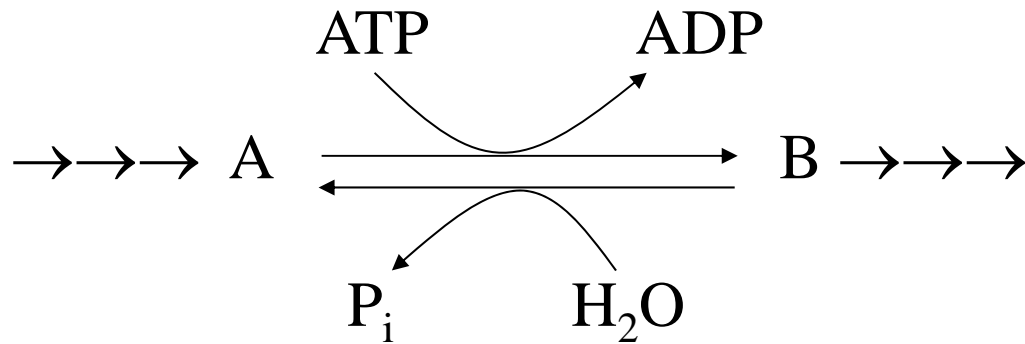


Die Enzymeaktivitäten sind nie vollständig unterdrückt, d.h. dass auch während der Glycolyse **Glucose-1,6-bisphosphatase** noch etwas Aktivität zeigt. Solche **Substratcyclen** treten im Prinzip bei allen Paaren entgegengesetzt irreversibler Reaktionen auf. Sie sind nicht nutzlose Cyclen, sondern dienen dazu **Stoffwechselsignale zu verstärken!**

Es ist z.B. ein Faktum, dass sich der Fluss durch die Glycolyse um den Faktor 100 ändern kann, während die Änderungen der Konzentrationen der Effektoren wie z.B. [ATP] oder [AMP] viel geringer sind.

Beispiel: **Phosphofruktokinase/Fructose-1,6-bisphosphatase**





Annahme: Geschwindigkeit der Umwandlung von A in B sei 100, während die Geschwindigkeit für die Umwandlung von B in A 90 sei.
Der Nettfluß J wäre 10.

Wenn nun ein Effektor die Geschwindigkeit für $A \rightarrow B$ um 20% steigert (auf 120), und die Rückreaktion um 20% erniedrigt (auf 72), dann ist der Nettofluß J bereits 48 (Steigerung um 380%!).

Beispiel: Reaktion von **Phosphofruktokinase** (PFK) und **Fructose-1,6-bisphosphatase** (FBP) auf die Veränderung der AMP-Konzentration.
Annahme: Die AMP-Konzentration vervierfacht sich.

Es ist bekannt, dass die Aktivität der Muskel-PFK etwa 10mal höher ist als jene von FBP. Die maximale Aktivität der PFK sei 100, jene der FBP 10.

Man beobachtet, dass durch die Zunahme an AMP um das Vierfache die PFK-Aktivität (v_h) von 10% (wenig AMP) auf 90% ihres Maximalwertes (=100) ansteigt, während die FBP-Aktivität (v_r) um 90% ihres Maximalwertes (=10) abnimmt.

Fluss durch die PFK-Reaktion, wenn [AMP] niedrig:

$$J = v_h - v_r = 10 - 9 = 1$$

Fluss durch die PFK-Reaktion, wenn [AMP] hoch:

$$J = v_h - v_r = 90 - 1 = 89$$

Durch die Kreislaufführung wird der Effekt der Veränderung der Effektorkonzentration auf den Fluss vervielfacht!

Neben der Verstärkung von Effektorsignalen, spielen Substrat-Cyclen auch eine Rolle in der Wärmeproduktion (ähnlich den biogenen Entkopplern, siehe Einheit 8).

Von Hummeln ist bekannt, dass sie, um flugfähig zu bleiben, eine Körpertemperatur von 30°C benötigen. Sie erreichen das durch die Tatsache, dass in den Flugmuskeln **Phosphofruktokinase** und **Fructose-1,6-bisphosphatase** gleichzeitig voll aktiv sind und daher als Nettoreaktion eigentlich nur ATP hydrolysiert wird. In diesem konkreten Fall wird die **Fructose-1,6-bisphosphatase** nicht durch AMP gehemmt.

Mechanismen der Regulation von Schrittmacher-Enzymen

- **Substratlevel-Kontrolle.** Normalerweise ist $K_M > [S]$. Mit steigender Substratkonzentration, $[S]$, nimmt die Aktivität des Enzyms (v) daher linear zu. Änderung unmittelbar. Dies gilt für jedes **Enzym**.
- **Allosterische Interaktion.** Veränderung der katalytischen Aktivität durch Bindung eines Metaboliten an die Effektor-Bindungsstelle (= allosterisches Zentrum = nicht ident mit aktivem Zentrum). Änderung in Sekunden/Minuten. Alle **Schrittmacherenzyme** sind allosterische Proteine. Zahlreiche Beispiele wurden schon erwähnt (Einheiten 5-7, 9).

- **Kovalente Modifikation** des Schrittmacherenzym durch Phosphorylierung. Meist cAMP-abhängige Phosphorylierung/Dephosphorylierung der **Schrittmacherenzyme** durch **Proteinkinasen**. Die Bildung von cAMP (sekundärer Botenstoff) wird dabei durch **Hormone** (primäre Botenstoffe, z.B. **Glucagon, Adrenalin**) stimuliert. Im folgenden wird diese Informationskaskade (Hormon → cAMP → **Proteinkinase** → **Schrittmacherenzym**) vorgestellt. Änderungen in Minuten.
- **Regulation der Genexpression** der Schrittmacherenzyme. Erhöhte Genexpression bedeutet vermehrte Produktion des **Schrittmacherenzym**s. Änderungen in Stunden bis Tagen.

Hormonelle Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese über den Fructose 2,6-bisphosphat-Spiegel im Cytosol

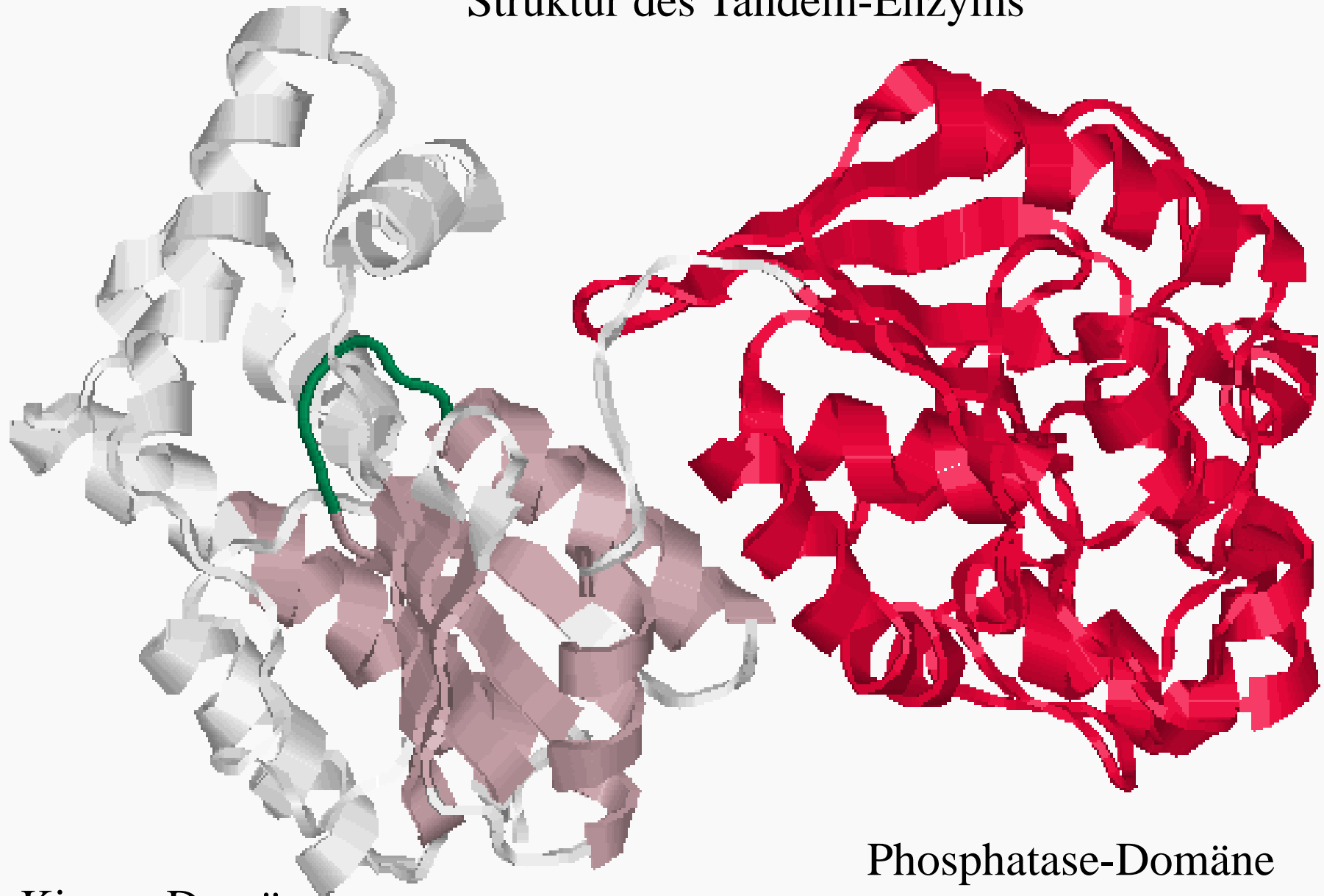
Phosphofructokinase: **Stimulierung durch AMP und Fructose-2,6-bisphosphat**
Hemmung durch ATP und Citrat

Fructose-1,6-bisphosphatase: Stimulierung durch Citrat
Hemmung durch AMP und Fructose-2,6-bisphosphat

Fructose-2,6-bisphosphat wird an einem bifunktionellen Enzym (**Tandem-Enzym**) synthetisiert. Das **Tandem-Enzym** hat zwei Domänen unterschiedlicher enzymatischer Aktivität:

Phosphofructokinase-2 und Fructose-2,6-bisphosphatase

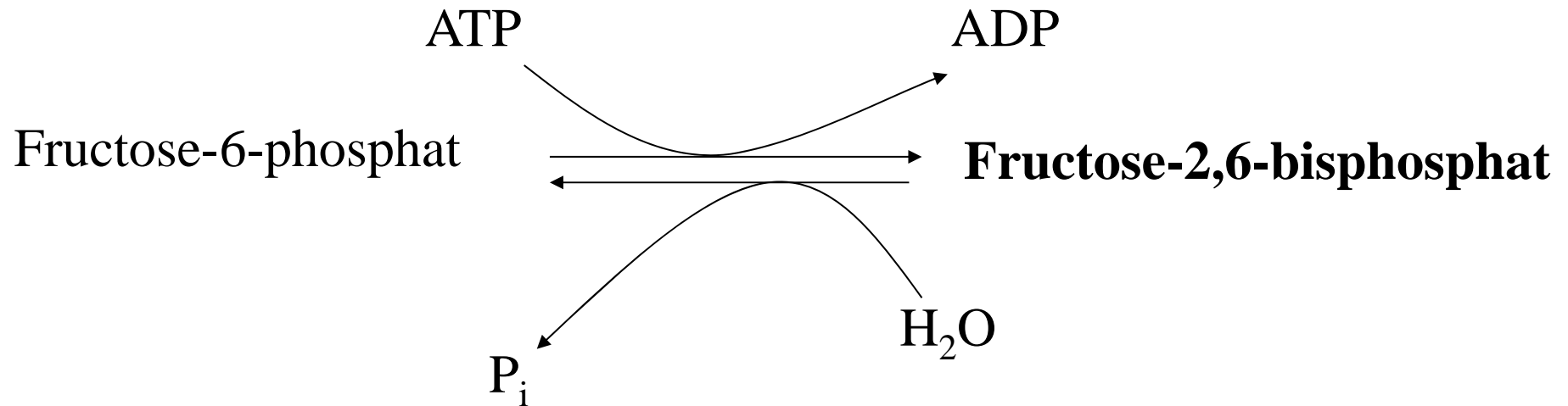
Struktur des Tandem-Enzyms



Kinase-Domäne

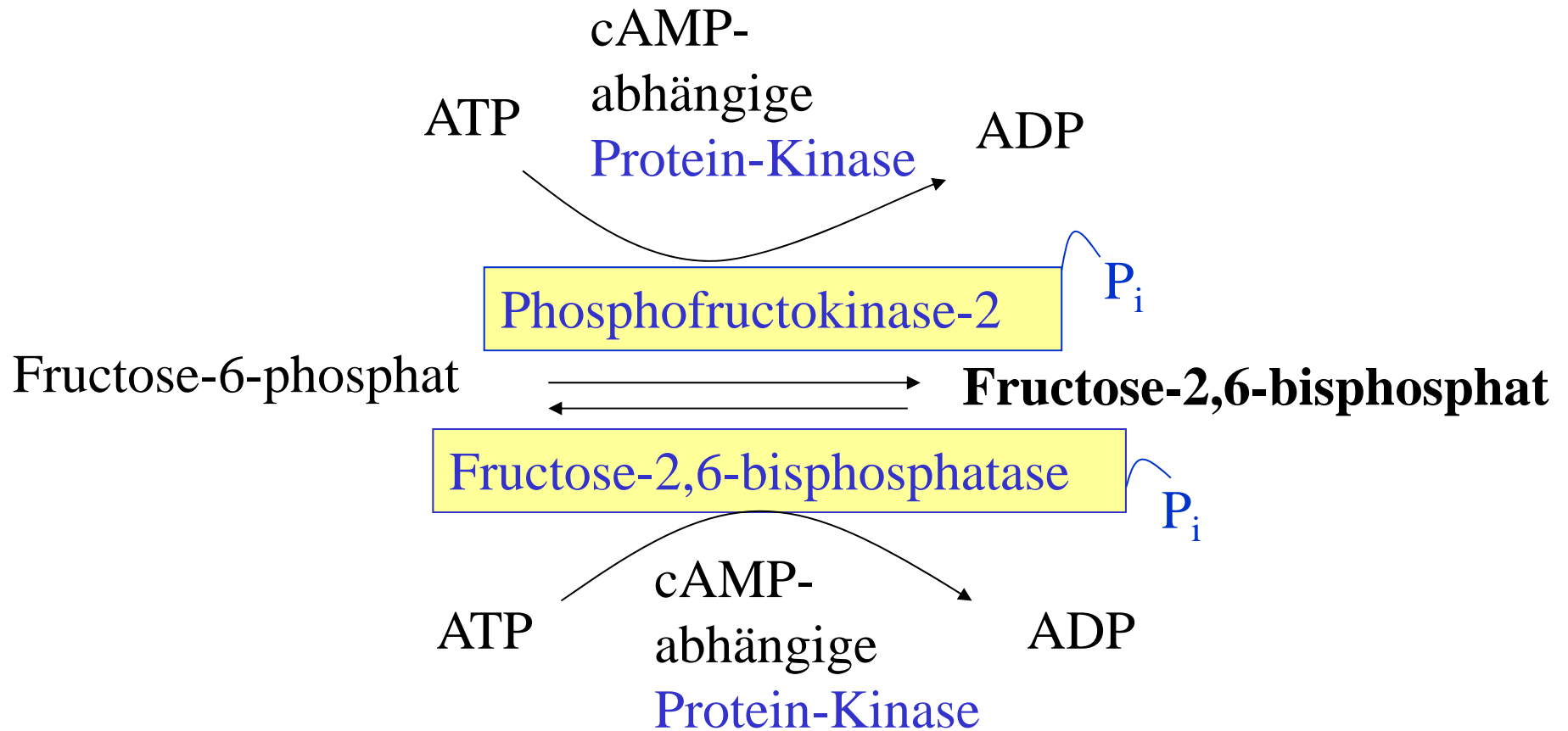
Phosphatase-Domäne

Phosphofruktokinase-2



Fructose-2,6-bisphosphatase

Die Konzentration des Fructose-2,6-bisphosphat ist im Hungerzustand niedrig, im satten Zustand dagegen hoch. Die Synthese und Abbau von Fructose-2,6-bisphosphat werden von den Hormonen **Insulin** und **Glucagon** antagonistisch beeinflusst.



Im Hungerzustand wird **Glucagon** ausgeschüttet. Also Folge wird in der Leber die **Fructose-2,6-bisphosphatase** und **Phosphofruktokinase-2** durch die cAMP-abhängige **Protein-Kinase A** phosphoryliert.
 Konsequenz: Aktivitätserhöhung der **Fructose-2,6-bisphosphatase** und Inaktivierung der **Phosphofruktokinase-2** → Abfall der Konzentration von F-2,6-BP → Aktivierung der Gluconeogenese

Abfall der Glucose-Konzentration im Blut



Erhöhte **Glucagon**-Sekretion



Erhöhung der Konzentration an **cAMP** (sekundärer Botenstoff)



Erhöhte Enzym-Phosphorylierung (z.B. des **Tandem-Enzyms**)



Aktivierung von **Fructose-2,6-bisphosphatase** und
Inaktivierung von **Phosphofruktokinase-2**



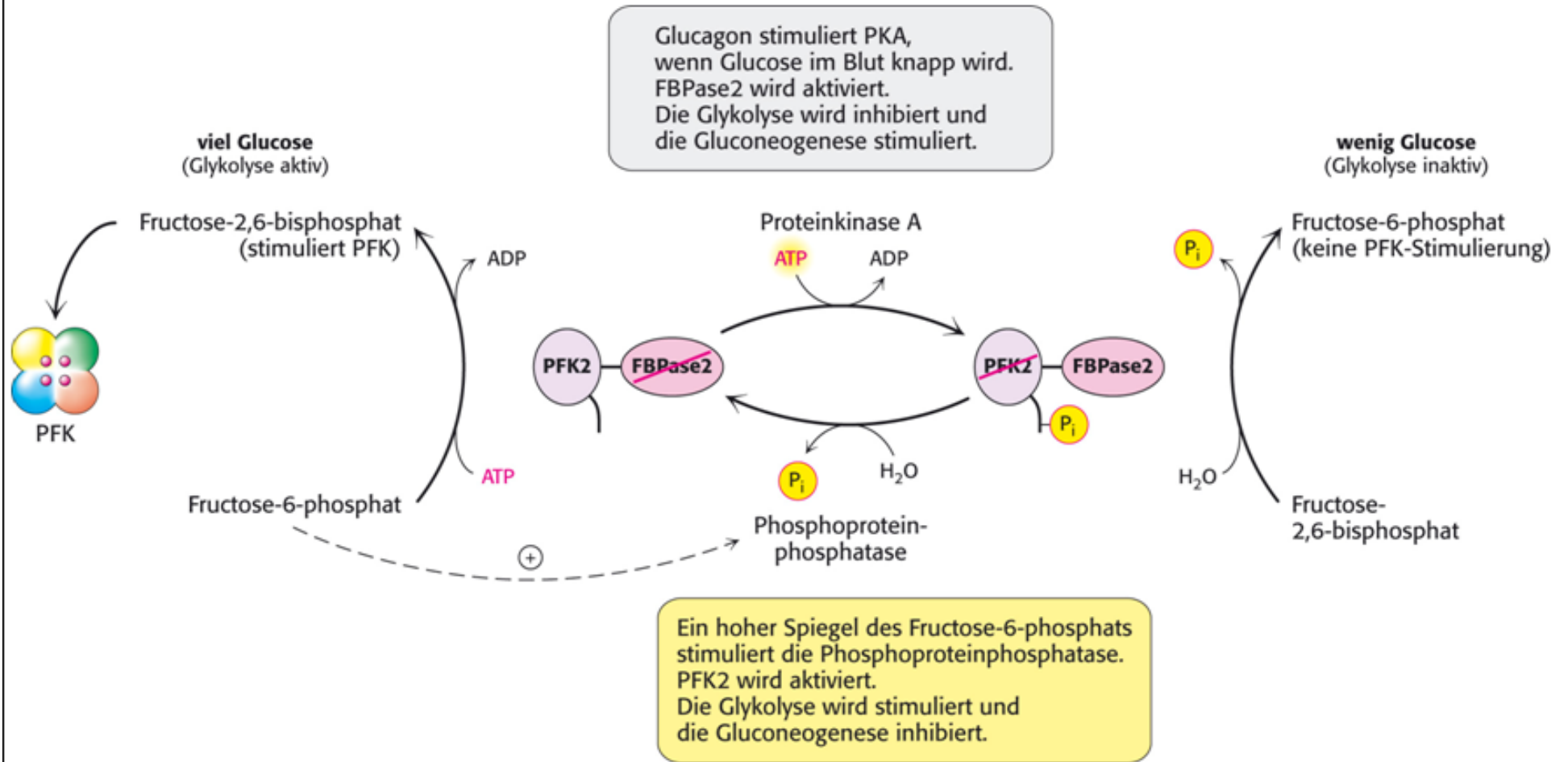
Erniedrigung der Fructose-2,6-bisphosphat-Konzentration



Hemmung der **Phosphofruktokinase** und Aktivierung der
Fructose-1,6-bisphosphatase → **Vermehrte Gluconeogenese**

PFK, Phosphofruktokinase

FBPase, Fructose-2,6-bisphosphatase



Weitere Beispiele zur reziproken Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese und zur Rolle von **Hormonen**:

Pyruvatkinase: Stimulierung durch Fructose-1,6-bisphosphat
Hemmung durch ATP und Alanin

Hemmung durch Phosphorylierung. Auslöser ist wieder das Hormon **Glucagon**, das über eine cAMP-abhängige **Protein-Kinase Pyruvat-Kinase** phosphoryliert und dadurch inaktiviert.

Pyruvat-Carboxylase: Stimulierung durch Acetyl-CoA
Stimulierung durch ATP,
Hemmung durch ADP

Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase: **Stimulierung durch ATP**
Hemmung durch ADP

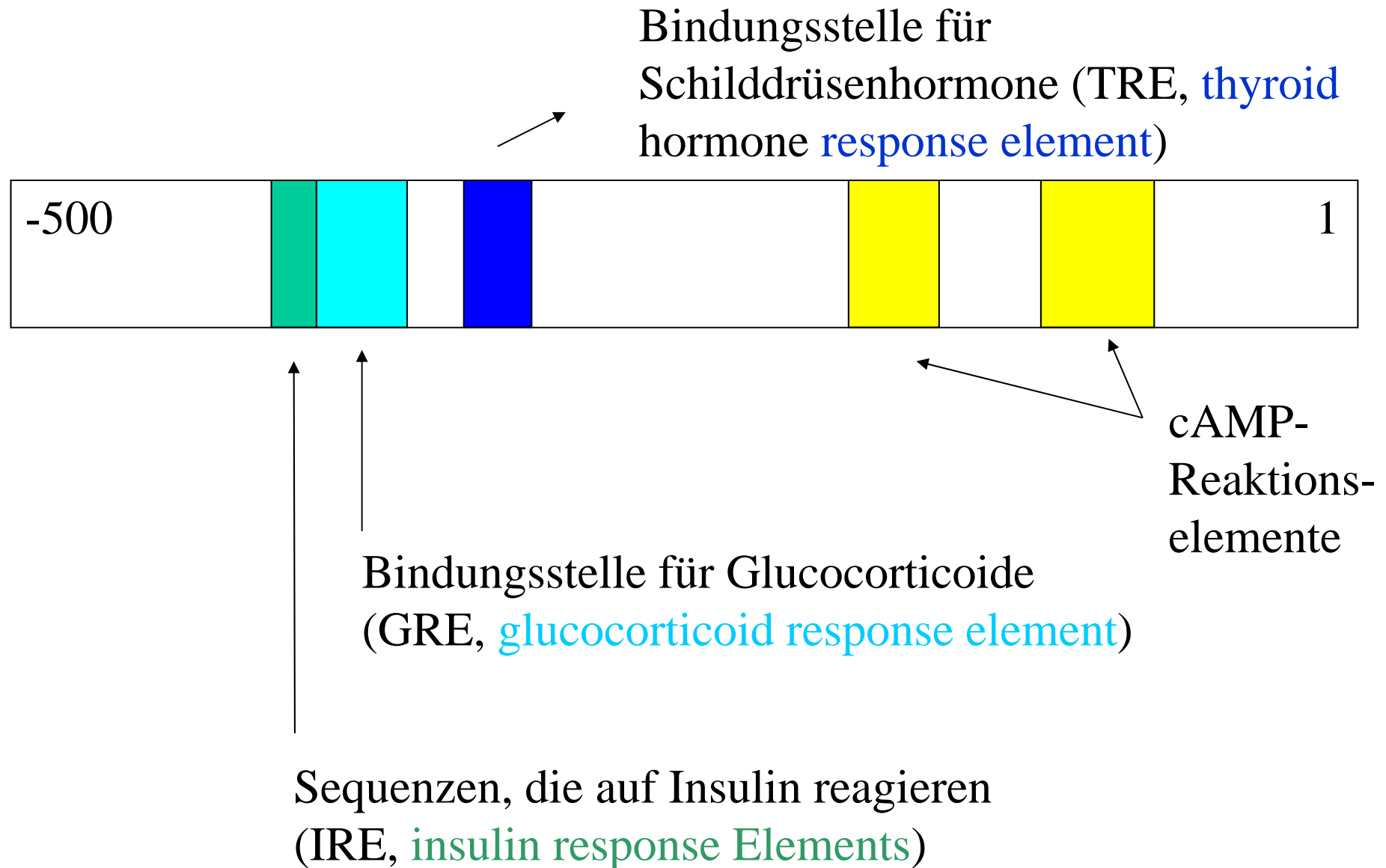
Hormonelle Regulation der Genexpression von Schrittmacherenzymen

Hormone beeinflussen auch die Genexpression von Schrittmacherenzymen durch Veränderung der Transkriptionsgeschwindigkeit (Einfluss auf die Promotorregion).

Die **Insulin**-Konzentration im Blut steigt nach der Nahrungsaufnahme. **Insulin** steigert die Expression der **Phosphofruktokinase**, der **Pyruvat-Kinase** und des **Tandem-Enzyms**, das Fructose-2,6-bisphosphat herstellt. Konsequenz: Fluss durch Glycolyse wird erhöht.

Glucagon wird im Hungerzustand ins Blut abgegeben. **Glucagon** hemmt die Expression der **Phosphofruktokinase**, der **Pyruvat-Kinase** und des **Tandem-Enzyms**, aber fördert die Expression der **Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase** und der **Fructose-1,6-bisphosphatase**, also von Enzymen der Gluconeogenese.

Beispiel: Promotor-Region (500 bp) für das Gen, das für Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase codiert.



Cori-Cyclus

Bei höheren Organismen wie dem Menschen sind Stoffwechselwege zudem oftmals organspezifisch. In den Muskeln dominiert z.B. die Glycolyse, in der Leber die Gluconeogenese. Mit Hilfe des sog. **Cori-Cyclus** werden über die Blutbahn Stoffwechselprodukte zwischen Muskeln und Leber ausgetauscht.

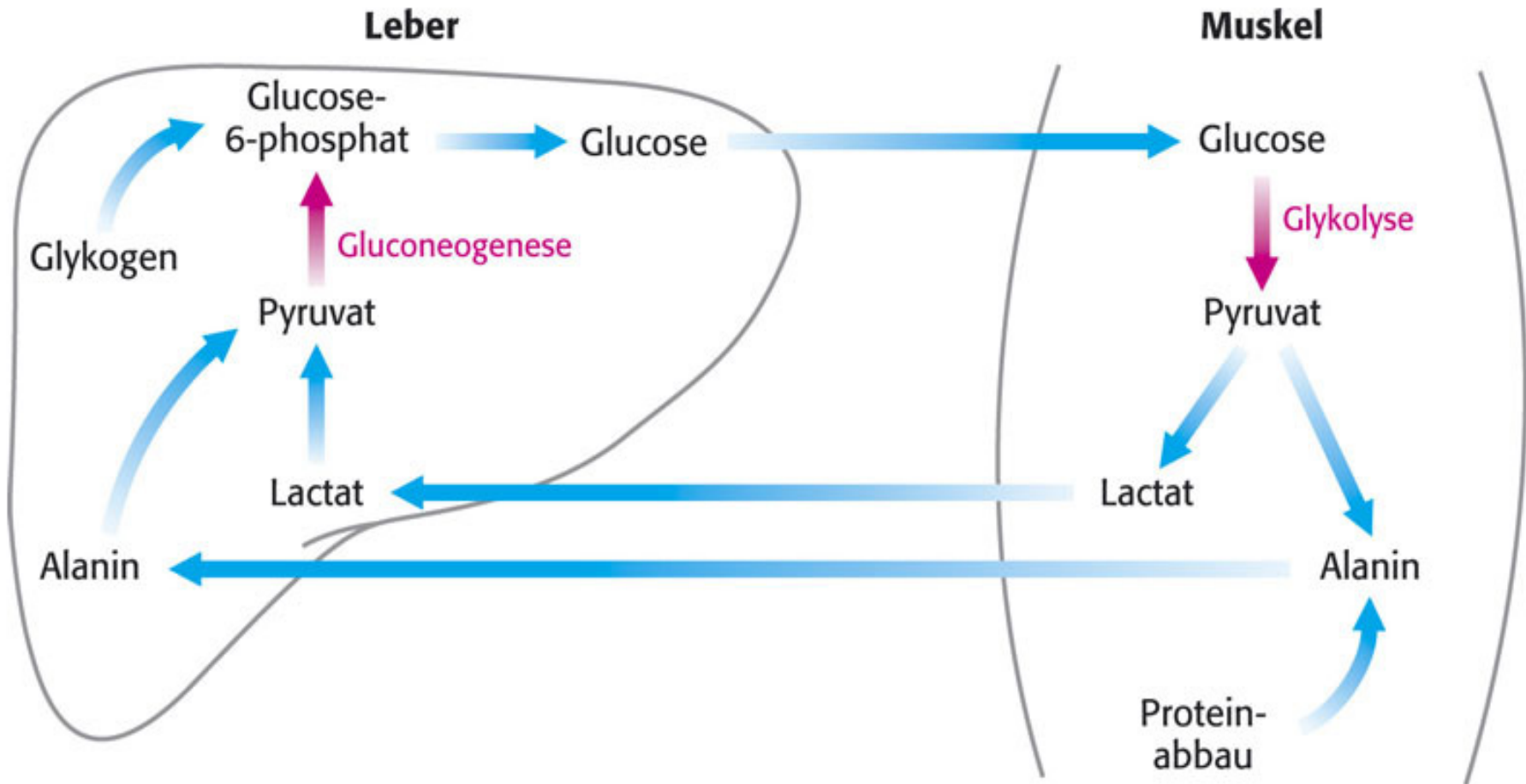
Im (schnell) kontrahierenden Skelettmuskel ist die Geschwindigkeit der Glycolyse schneller als die der Pyruvat-Oxidation durch **Pyruvat-dehydrogenase** und Citrat-Cyclus. Um NAD^+ für die Glycolyse zu regenerieren, wird daher permanent Pyruvat in Lactat mittels der **Lactat-Dehydrogenase** umgewandelt (und dabei NADH reoxidiert). Es ist zu beachten, dass die Umwandlung von Glucose in Lactat keine Netto-Oxidations-Reduktions-Reaktion darstellt.

Die Lactatbildung ist aber kein totes Gleis. Das Lactat muss in Pyruvat zurückverwandelt werden, bevor es metabolisiert werden kann. Dies geschieht in der Leber. *Die Lactat-Bildung bringt Zeitgewinn und verlagert einen Teil des Stoffwechsels von der Muskulatur zur Leber.*

Die Plasmamembran der meisten Zellen ist für Lactat und Pyruvat hochpermeabel. Beide Substanzen diffundieren aus dem aktiven Skelettmuskel in das Blut und werden zur Leber transportiert. Im Muskel wird aufgrund des hohen NADH/NAD⁺-Verhältnisses weit mehr Lactat als Pyruvat gebildet und abtransportiert.

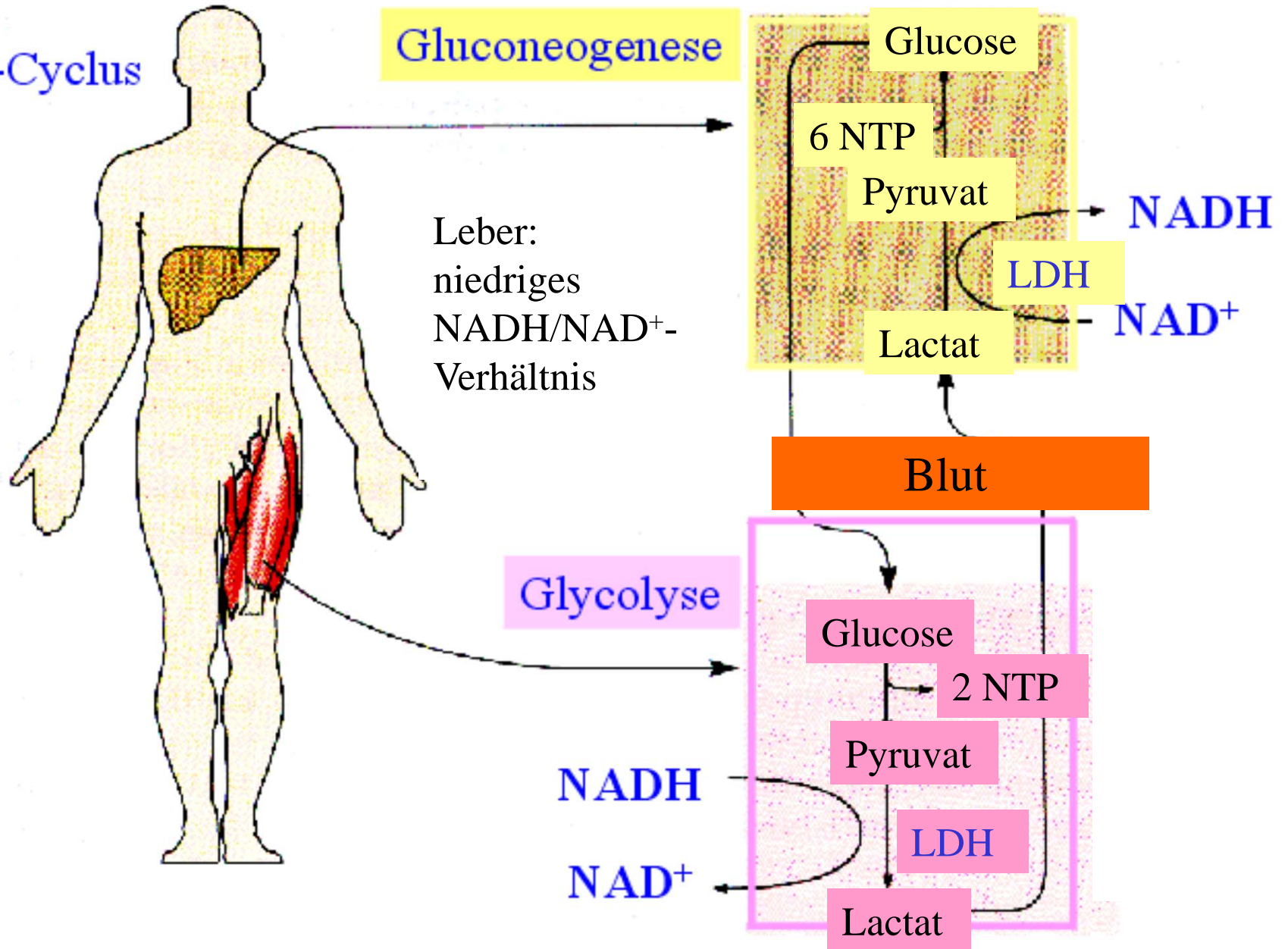
In der Leber jedoch ist das NADH/NAD⁺-Verhältnis im Cytosol niedrig und somit die Lactat-Oxidation zu Pyruvat begünstigt.

Pyruvat kann schließlich wieder in der sog. **Gluconeogenese** zu Glucose umgewandelt werden, die über das Blut wieder zur Skelettmuskulatur gelangen kann (**Cori-Zyklus**).

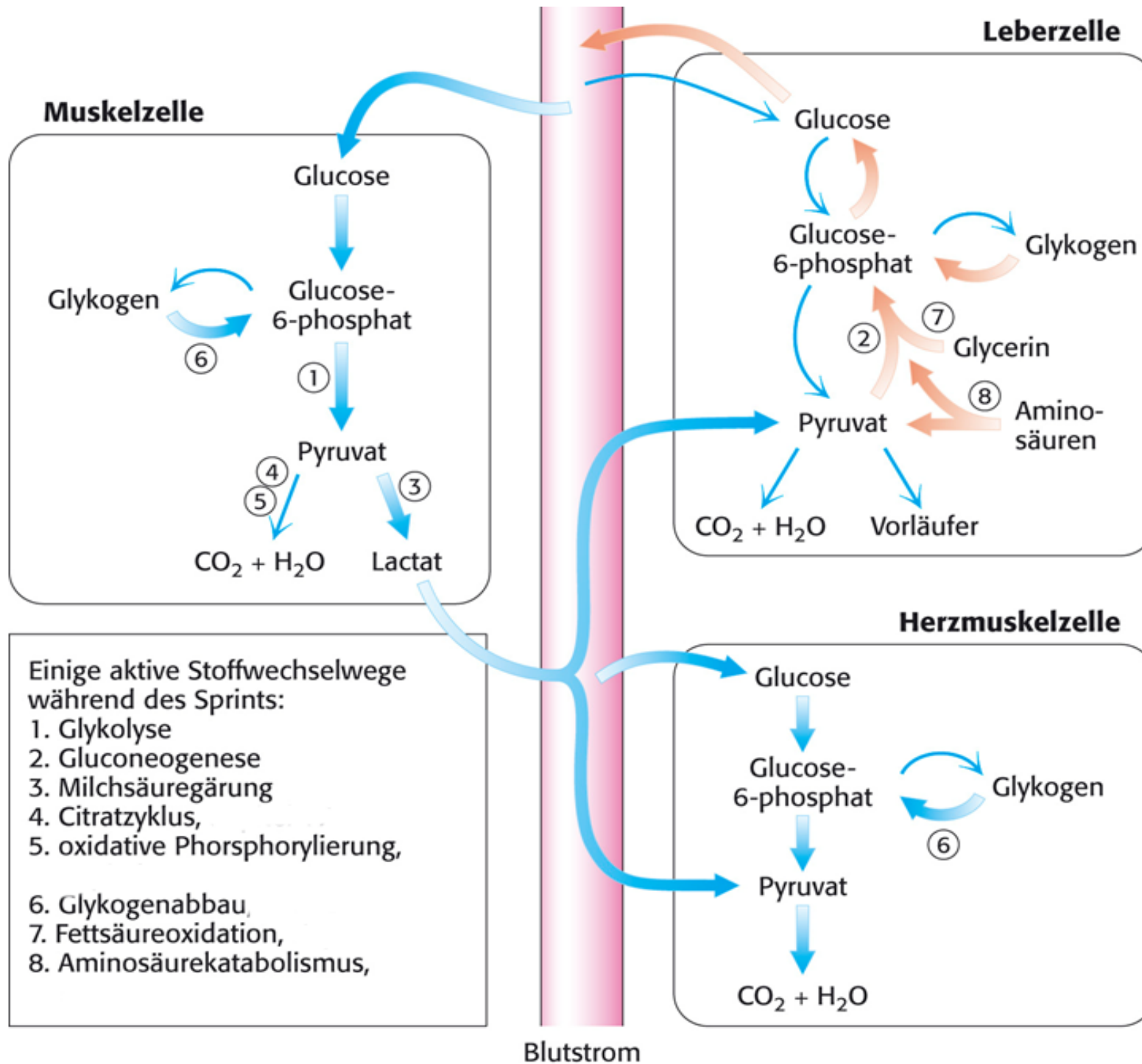


Neben Lactat wird im Skelettmuskelt auch permanent Alanin produziert, das durch Transaminierung aus Pyruvat entsteht. Auch Alanin wird über ein homologes Enzym in der Leber wieder in Pyruvat umgewandelt und ist daher auch eine wichtige Glucose-Vorstufe.

Cori-Cyclus



Muskel:
hohes NADH/NAD⁺-Verhältnis



Einige aktive Stoffwechselwege während des Sprints:

1. Glykolyse
2. Gluconeogenese
3. Milchsäuregärung
4. Citratzyklus,
5. oxidative Phosphorylierung,
6. Glykogenabbau,
7. Fettsäureoxidation,
8. Aminosäurekatabolismus,

Gluconeogenese

Reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese

Die Hormone **Insulin**, **Glucagon** und **Adrenalin**

Insulin

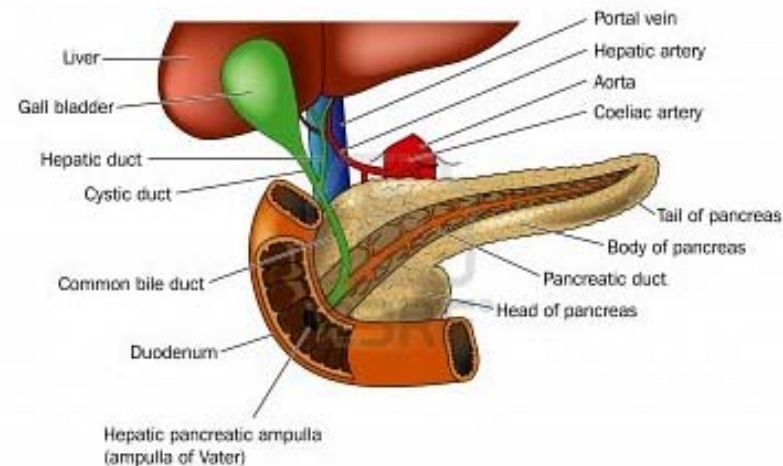
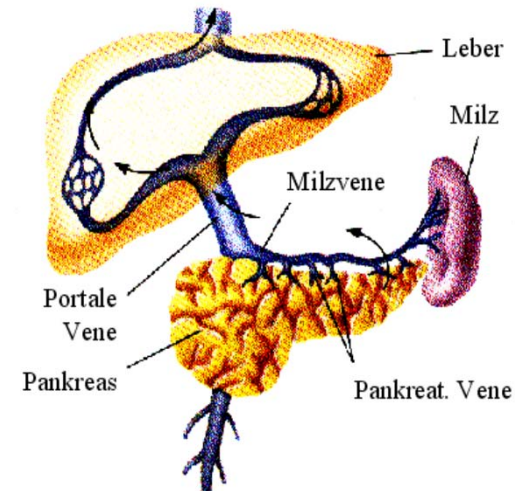
Produktion in den β -Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas.

Abgabe in die pankreatischen Venen, die in das portale Venensystem münden.

Insulin passiert also die Leber, bevor es ans Blut abgegeben wird.

Nach **Nahrungsaufnahme** ist die Glucosekonzentration im Blut hoch. Der Blutglucosespiegel muss wieder gesenkt werden. Glucose soll in die Zellen aufgenommen und dort verarbeitet werden:

Insulin wird ausgeschüttet



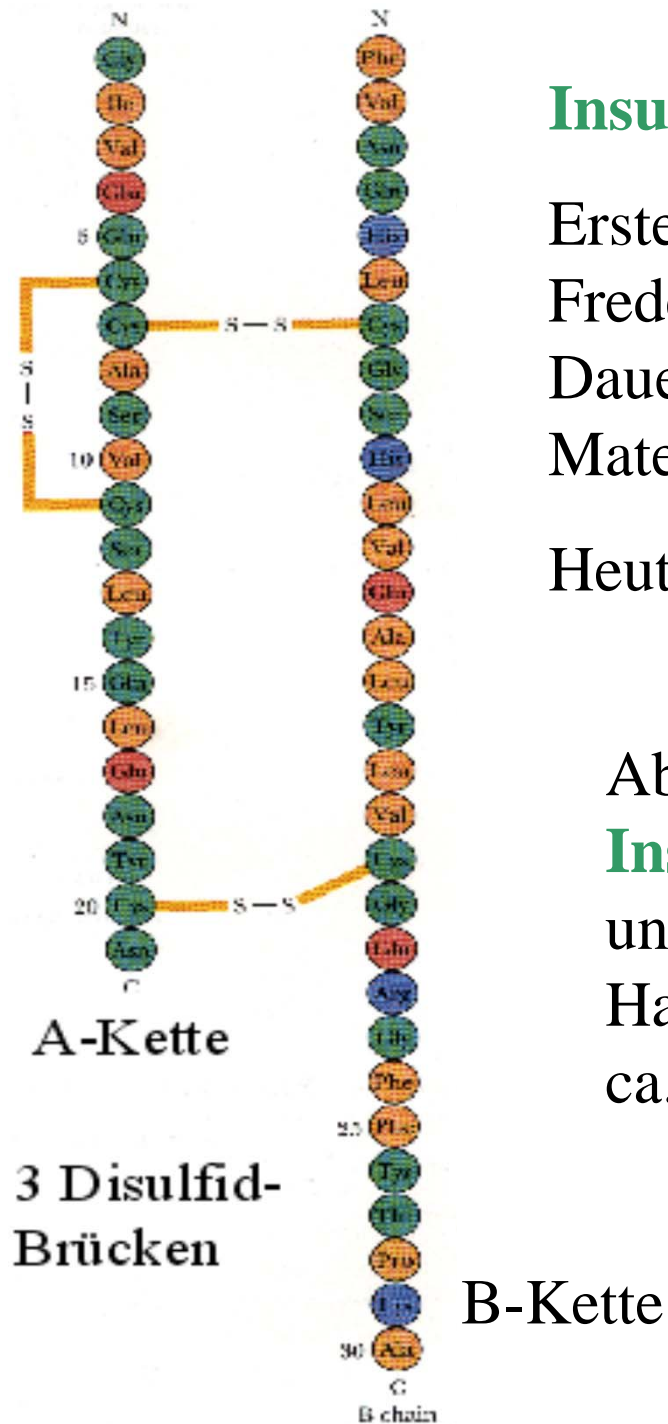
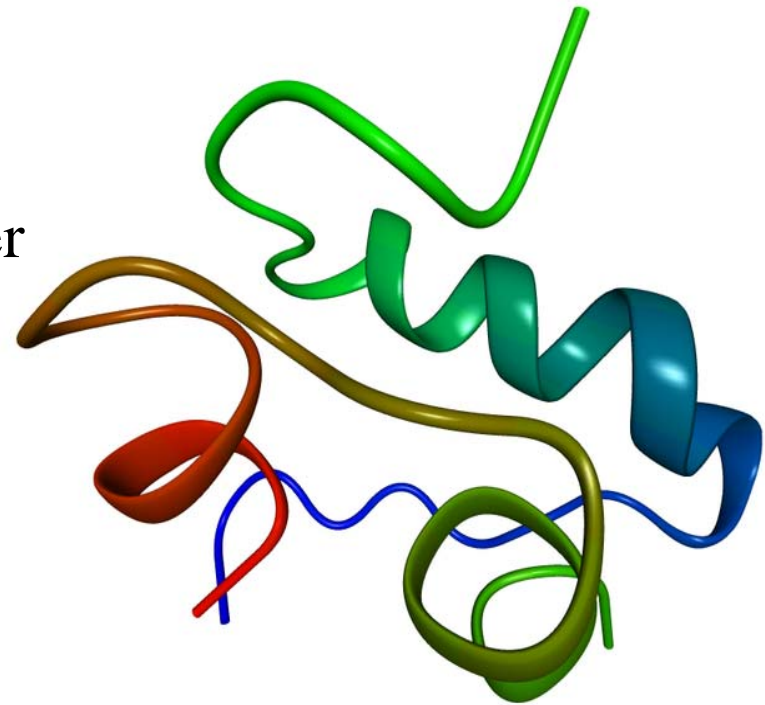
Insulin ist Polypeptidhormon

Erstes vollständig sequenziertes Protein (1953
Frederick Sanger): 51 Aminosäuren (6 kDa);

Dauer der Sequenzierung: fast 10 Jahre;
Materialbedarf: 100 g Protein

Heute rekombinant produziert

Abbau des
Insulins in Leber
und Niere
Halbwertszeit:
ca. 5-8 min



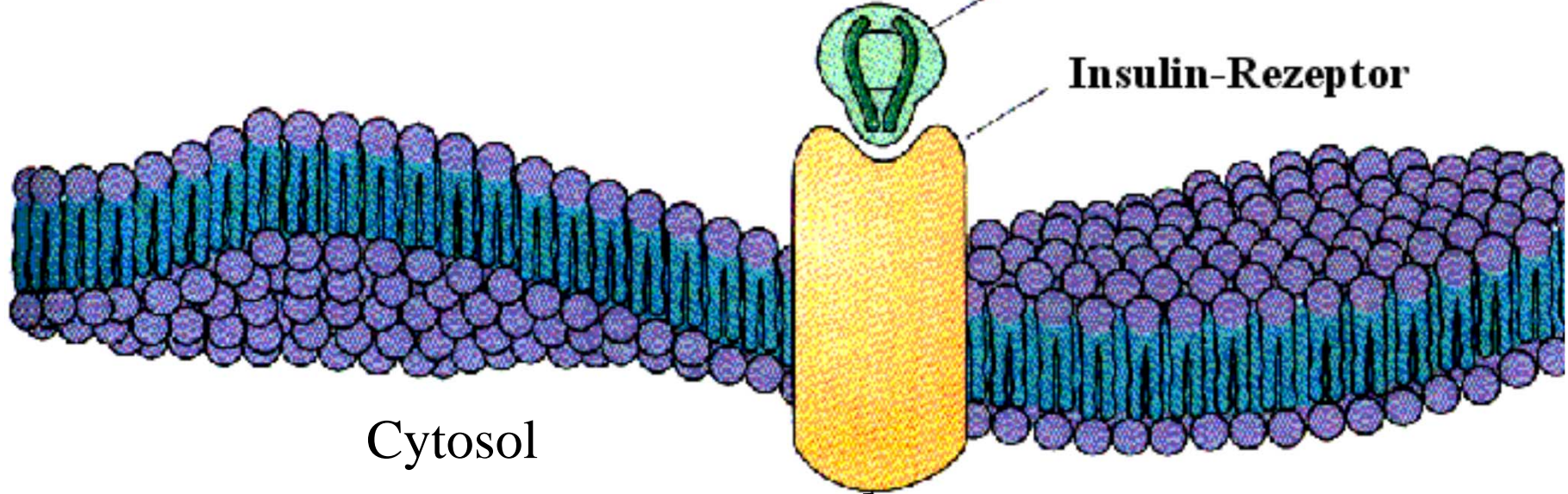
Insulinausschüttung begünstigt

- die Expression und Einbau von **Glucosetransportern** in die Plasmamembran von Fett- und Muskelzellen (siehe 4. Einheit).
- Glucoseverwertung durch **Glycogenbiosynthese**: Glucose → Glucose-6-Phosphat → Glucose-1-Phosphat → **Glycogen** (Einheit 10)
- Glucoseverwertung durch **Glycolyse** und Aktivierung der **Pyruvat-Dehydrogenase** (Verbindung zw. Glycolyse und Citronensäurecyclus). Abbau von Glucose zu Acetyl-CoA (Baustein in der Fettsäuresynthese)
- Induzierung der **Synthese der glycolytischen Enzyme** **Glucokinase**, **Phosphofructokinase** und **Pyruvatkinase** und der **Pyruvat-Dehydrogenase**
- **Fettsäuresynthese**

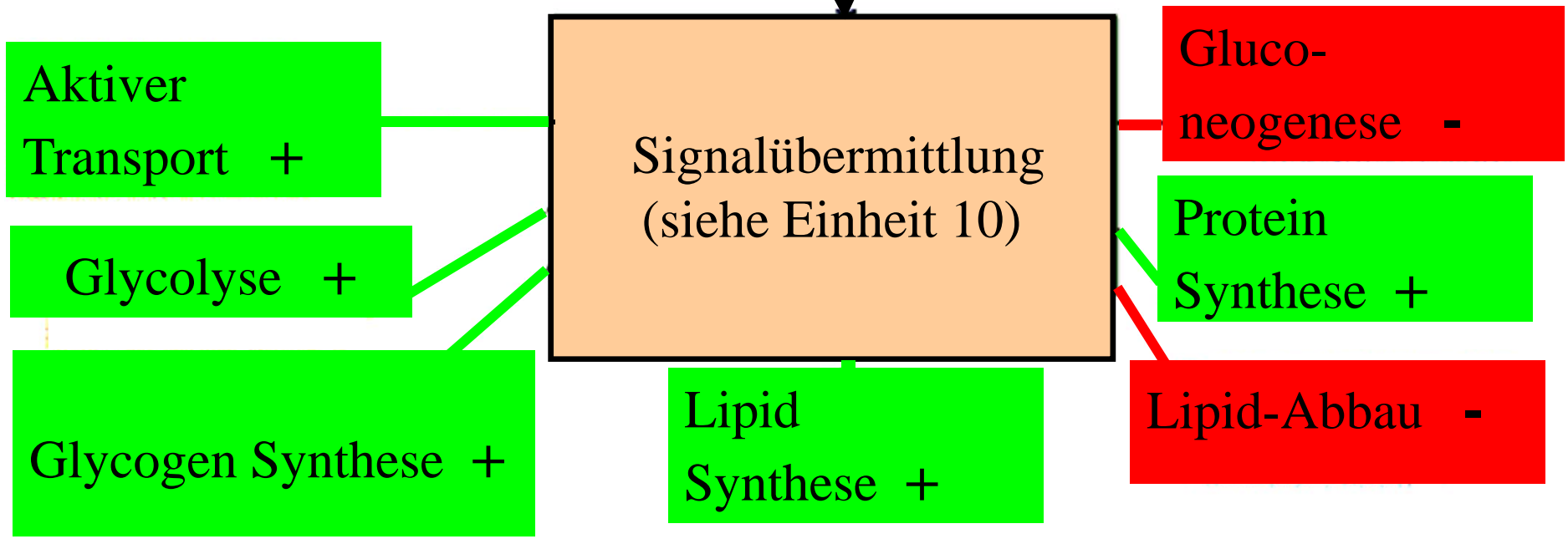
Effekte von Insulin in der Zelle

INSULIN

Insulin-Rezeptor



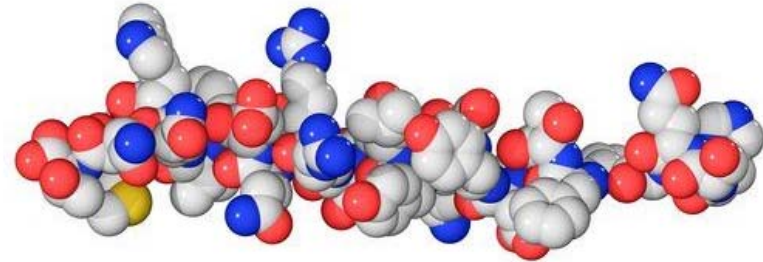
Cytosol



Glucagon

Polypeptidhormon
aus 29 Aminosäuren;
Bildung in den α -Zellen
der Langerhans-Inseln
des Pankreas

H_3N^+ -His-Ser-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-
Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-
Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-
COO⁻



Gehirn und Erythrocyten sind auf die Verfügbarkeit von Glucose angewiesen! Das Peptidhormon **Glucagon** sorgt für die Aufrechterhaltung des Blutglucose-Spiegels. Sinkt dieser, wird das Hormon ins Blut ausgeschüttet.

Nur an Leberzellen und im Fettgewebe kann ein Andocken an spezifische Rezeptoren erfolgen. Andere Organe (z.B. Muskeln) haben keine Rezeptoren für **Glucagon**.

Das Binden von Glucagon an Rezeptoren löst eine Informationskaskade im Cytosol aus → Aktivierung von **Adenylylcyclase** → Anstieg des cAMP-Spiegels und in der Folge der Protein-Phosphorylierung (siehe Einheit 10).

Glucagonausschüttung begünstigt

- Anstieg der Geschwindigkeit des Glycogenabbaus durch Aktivierung der **Glycogen-Phosphorylase** und Inaktivierung der **Glycogen-Synthase** in der Leber (siehe Einheit 10).
- Umschalten von Glycolyse (wird inhibiert) auf Gluconeogenese (z.B. aus Aminosäuren durch Protein-Abbau).

Glucagon-Ausschüttung bewirkt Phosphorylierung der **Fructose-2,6-bisphosphatase** und **Phosphofruktokinase-2** → Abfall der Konzentration des Effektormoleküls Fructose-2,6-bisphosphat → Aktivierung der Gluconeogenese

Letztendlich wird die intrazellulären Glucose-6-phosphat Konzentration erhöht. Mittels **Glucose-6-Phosphatase** wird Glucose produziert und ins Blut ausgeschüttet.

Diabetes mellitus (einfach: Diabetes) ist eine komplexe Stoffwechselkrankheit, die durch ein stark abnormes Muster der Brennstoffverwertung gekennzeichnet ist. Sie ist begleitet von einer Überproduktion von Glucose in der Leber und einer schlechten Verwertung in anderen Organen. Etwa 5% der Bevölkerung. Zwei Typen:

Typ-I-Diabetes oder **insulin**abhängiger Diabetes mellitus (IDDM, *insulin-dependent diabetes mellitus*).

Ursache: Autoimmunzerstörung der **insulin**sezernierenden β -Zellen des Pankreas. Meist vor dem 20. Lebensjahr. Die betroffene Person benötigt **Insulin** zum Überleben. Meist auch **Glucagon**spiegel zu hoch. Patient im permanenten “Hungerzustand”, trotz hoher Blutglucose-Konzentration. Leber betreibt permanent Gluconeogenese. Glycolyse ist gehemmt und Glycogenabbau stimuliert.

Die Leber produziert also ein Übermaß an Glucose, die in das Blut freigesetzt wird. Die Kapazität der Rückresorption in den Nierentubuli wird überschritten und Glucose im Harn (mit viel Wasser) ausgeschieden (Name *mellitus*, süß). Nicht behandelte Diabetiker ist in der akuten Phase daher hungrig und durstig.

Da die Nutzung der Kohlenhydrate beeinträchtigt ist, führt ein **Insulin**mangel zu unkontrolliertem Fett- und Proteinabbau. Durch die Fettsäure- β -Oxidation entsteht viel Acetyl-CoA, das aber nicht in den Citrat-Cyclus eintreten kann (Oxalacetat-Mangel).

Ketonkörper akkumulieren. Die Nieren können das Säure-Basegleichgewicht nicht mehr aufrechterhalten. Die Patienten trocknen aus, der pH-Wert im Blut sinkt. Bei Nichtbehandlung fallen die Patienten ins Koma.

Typ-II-Diabetes oder nicht**insulin**abhängiger Diabetes mellitus (NIDDM, *non-insulin-dependent diabetes mellitus*). Patienten haben normale oder sogar erhöhte Blut**insulin**spiegel, sprechen aber schlecht auf das Hormon an. Meist erst in höherem Alter. Etwa 90% aller Diabetes mellitus Fälle. Ursache unklar. Genetische Disposition möglich. Entwickelt sich vor allem bei übergewichtigen Personen.

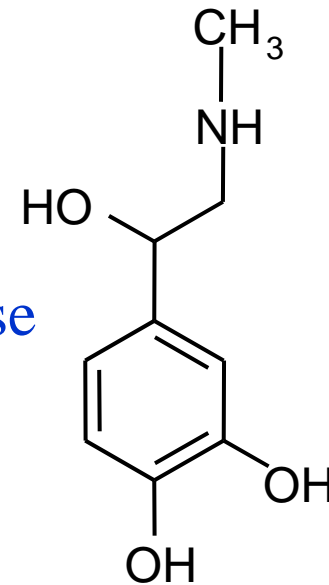
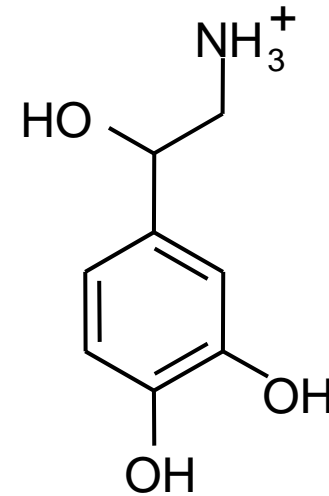
Adrenalin (Epinephrin) und Noradrenalin (Norepinephrin)

“Kampf-oder-Flucht“-Hormone, die bei Stress ausgeschüttet werden. Bildung in den Nebennieren. Rezeptoren auf der Oberfläche von Leber- und Muskelzellen.

Auschüttung von **Adrenalin** führt wie bei **Glucagon** zur Aktivierung der **Adenylylcyclase** → Anstieg des intracellulären cAMP-Spiegels → Erhöhung der Proteinphosphorylierung → Induktion des Glycogenabbaus und Inhibierung der Glycogen-Biosynthese (Aktivierung der **Glycogen-Phosphorylase** und Inaktivierung der **Glycogen-Synthase**; siehe Einheit 10).

Zudem regt **Adrenalin** die α -Zellen der Bauchspeicheldrüse zur **Glucagon**synthese an.

Noradrenalin



Adrenalin

Unterschiede zwischen **Adrenalin** und **Glucagon**

Glucagon dient der langfristigen Aufrechterhaltung des Glucose-Spiegels sowohl im Blut als auch im Gewebe: Stimulierung der Gluconeogenese und des Glycogenabbaus und somit der Glucosefreisetzung durch die Leber. Der Blutglucosespiegel wird also langfristig durch die Leber kontrolliert.

Im Gegensatz zum **Adrenalin** aktiviert **Glucagon** nicht die **Glycogen-Phosphorylase** der Muskeln (in den Muskeln existieren keine Glucagon-Rezeptoren). **Adrenalin** dient der kurzfristigen Glucosefreisetzung im Muskel aus Glycogen (Energiebedarf!). Die entsprechenden Signalwege innerhalb der Zelle (Informationsübertragung vom Hormon zum Schrittmacherenzym) werden in der Einheit 10 genauer vorgestellt.

Gluconeogenese

Reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese

Die Hormone Insulin, Glucagon und Adrenalin

Der oxidative Pentosephosphat-Weg

Oxidativer Pentosephosphat-Cyclus

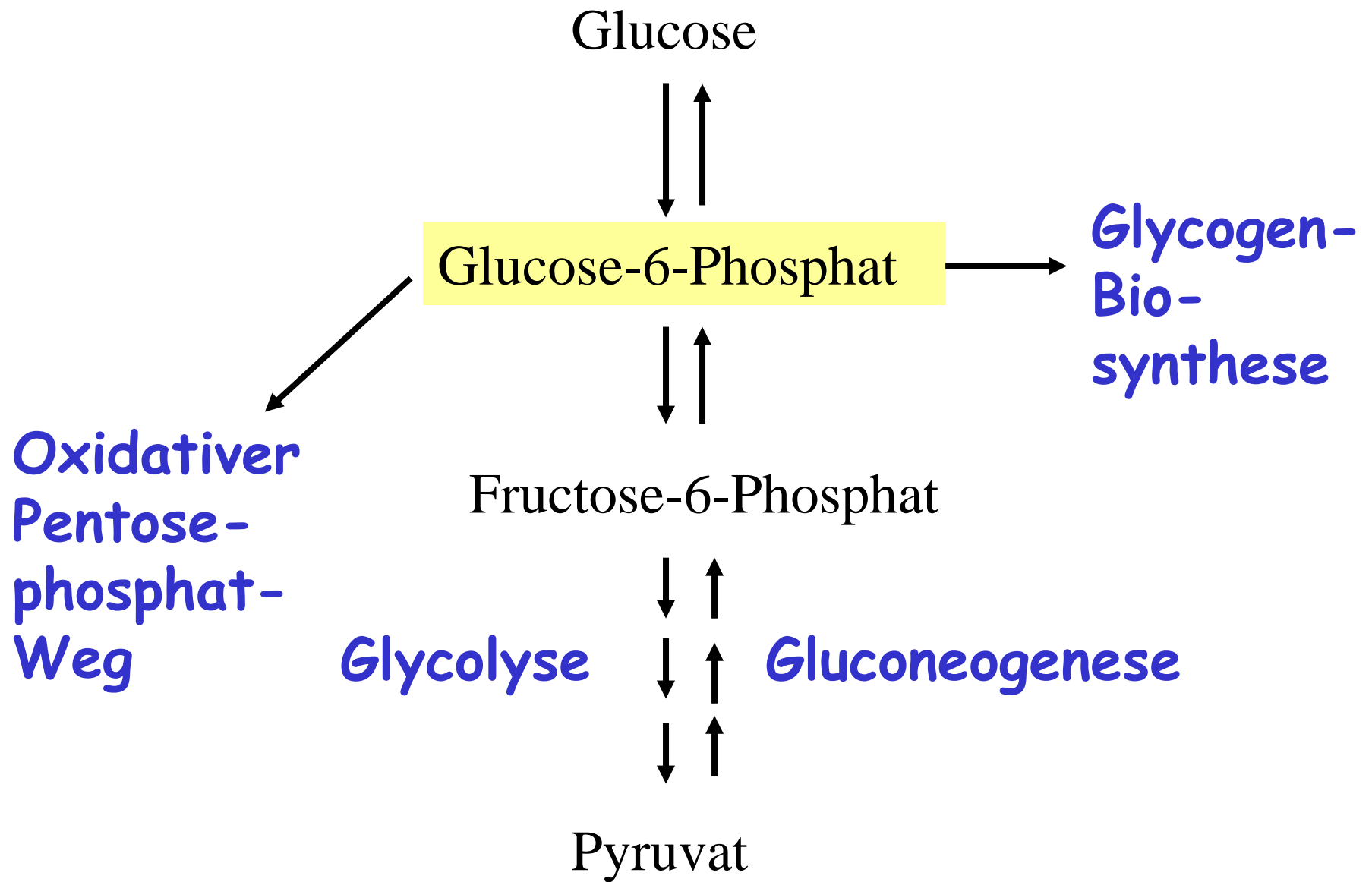
Auch als Hexosemonophosphatweg oder Phosphogluconat-Cyclus bezeichnet.

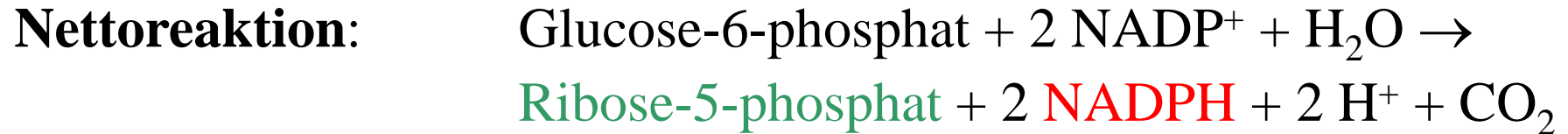
30er Jahre Otto Warburg: Im Cytosol wird Glucose-6-phosphat zu Gluconat-6-phosphat oxidiert. Entdeckung des NADP⁺.

40er Jahre Gewebe atmen auch in Gegenwart hoher Fluoridkonzentrationen (Fluorid hemmt das Glycolyse-Enzym **Enolase**).

50er Jahre Aufklärung des Pentosephosphat-Cyclus durch Frank Dickens, Bernard Horecker, Fritz Lipmann und Efraim Racker.

Nettoreaktion: $\text{Glucose-6-phosphat} + 2 \text{ NADP}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$
 $\text{Ribose-5-phosphat} + 2 \text{ NADPH} + 2 \text{ H}^+ + \text{CO}_2$





Funktion:

Produktion von NADPH für Biosynthesen

Bereitstellung von Ribose-5-P als essentielle Vorstufe für die Biosynthese von vielen zentralen Metaboliten wie Nucleotiden (z.B. ATP), RNA, DNA, CoA, NAD⁺ oder FAD.

Reversible Umwandlung von C₃, C₄, C₅, C₆ und C₇-Zuckern

Lokalisation: Cytosol.

Die Aktivität des Pentosephosphatweges ist in der Skelettmuskulatur sehr niedrig (in den Muskeln wird Glucose-6-phosphat in der Glycolyse verwertet), im **Fettgewebe** aber sehr hoch. Funktion: NADPH wird bei der reduktiven Biosynthese von Fettsäuren aus Acetyl-CoA benötigt (z.B. bei der Bildung von Milch in den Brustdrüsen).

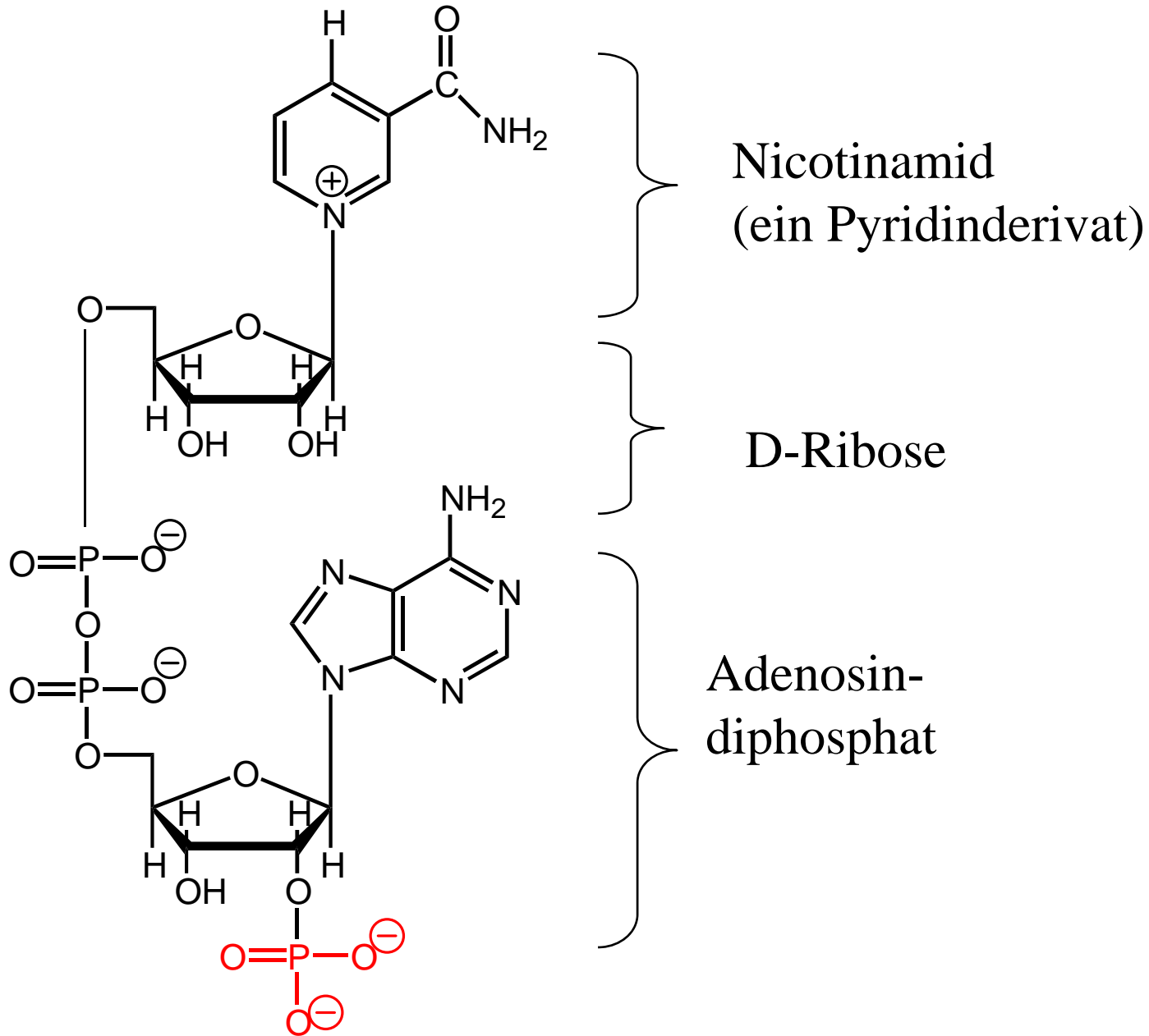
Neben dem Fettgewebe findet man die enzymatische Ausstattung in der Leber (30% der Glucose-Oxidation gehen in der Leber über den Pentosephosphat-Cyclus) und z.T. in der Nebennierenrinde.

Generell in Geweben, die den Großteil der Fettsäure- und Cholesterin-Biosynthese leisten!

Generell gilt, dass NADH im katabolen Stoffwechsel gebildet wird und in der Atmungskette letztendlich oxidiert wird, während **NADPH** im anabolen Stoffwechsel als Elektronendonator (Hydrid-Ionendonator) fungiert.

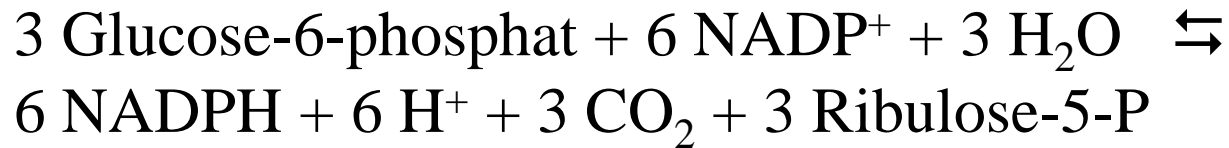
Leber: $[NAD^+]/[NADH] = 725$ aber $[NADP^+]/[NADPH] = 0,015$

Struktur von Nicotinamidadenindinucleotid (NADP⁺)



3 Stadien:

1. **Oxidative Reaktionen**, die zur Bildung von NADPH und Ribulose-5-phosphat führen:

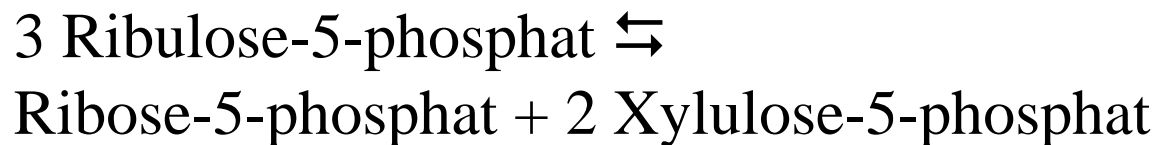


Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

6-Phosphogluconolactonase

Phosphogluconat-Dehydrogenase

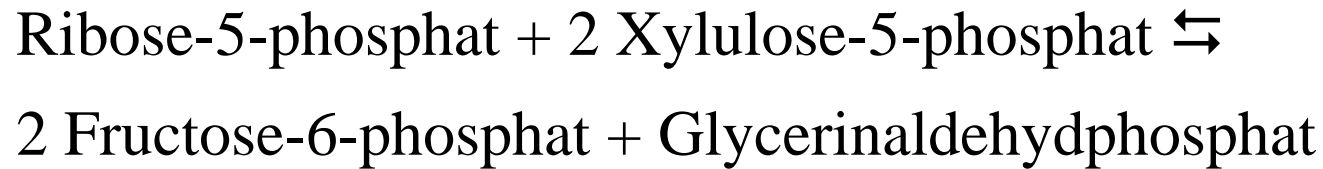
2. **Isomerisierungs- und Epimerisierungsreaktionen**, die Ribulose-5-Phosphat in Ribose-5-phosphat und Xylulose-5-phosphat umwandeln:



Ribulose-5-phosphat-Isomerase

Ribulose-5-phosphat-Epimerase

3. **C-C Bindungsspaltungen und -knüpfungen**, die aus zwei Xylulose-5-phosphat und einem Ribose-5-phosphat zwei Moleküle Fructose-6-phosphat und ein Molekül Glycerinaldehyd-3-phosphat ergeben:

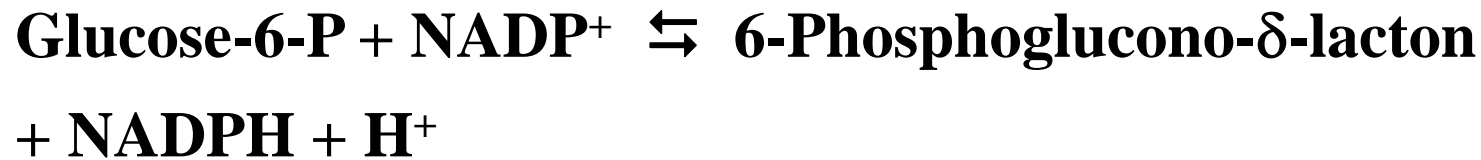


Transaldolasen

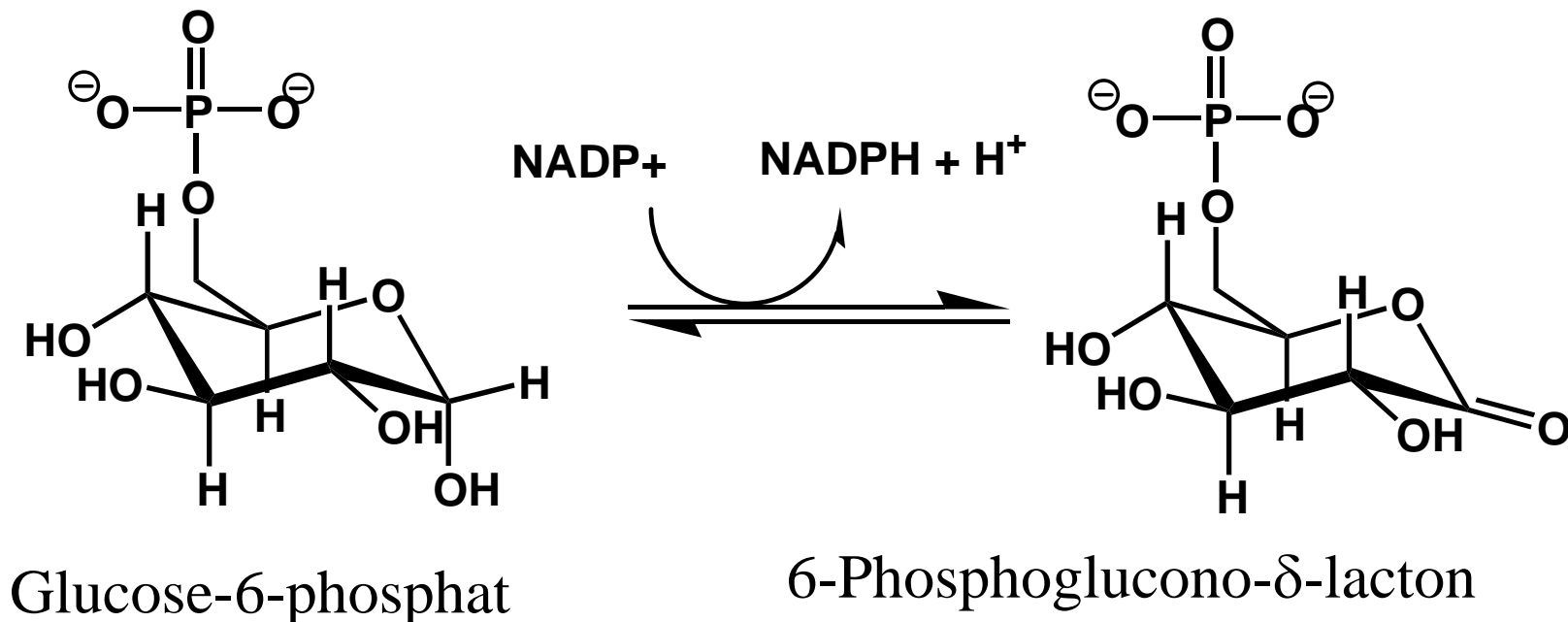
Transketolasen

Pentosephosphatweg

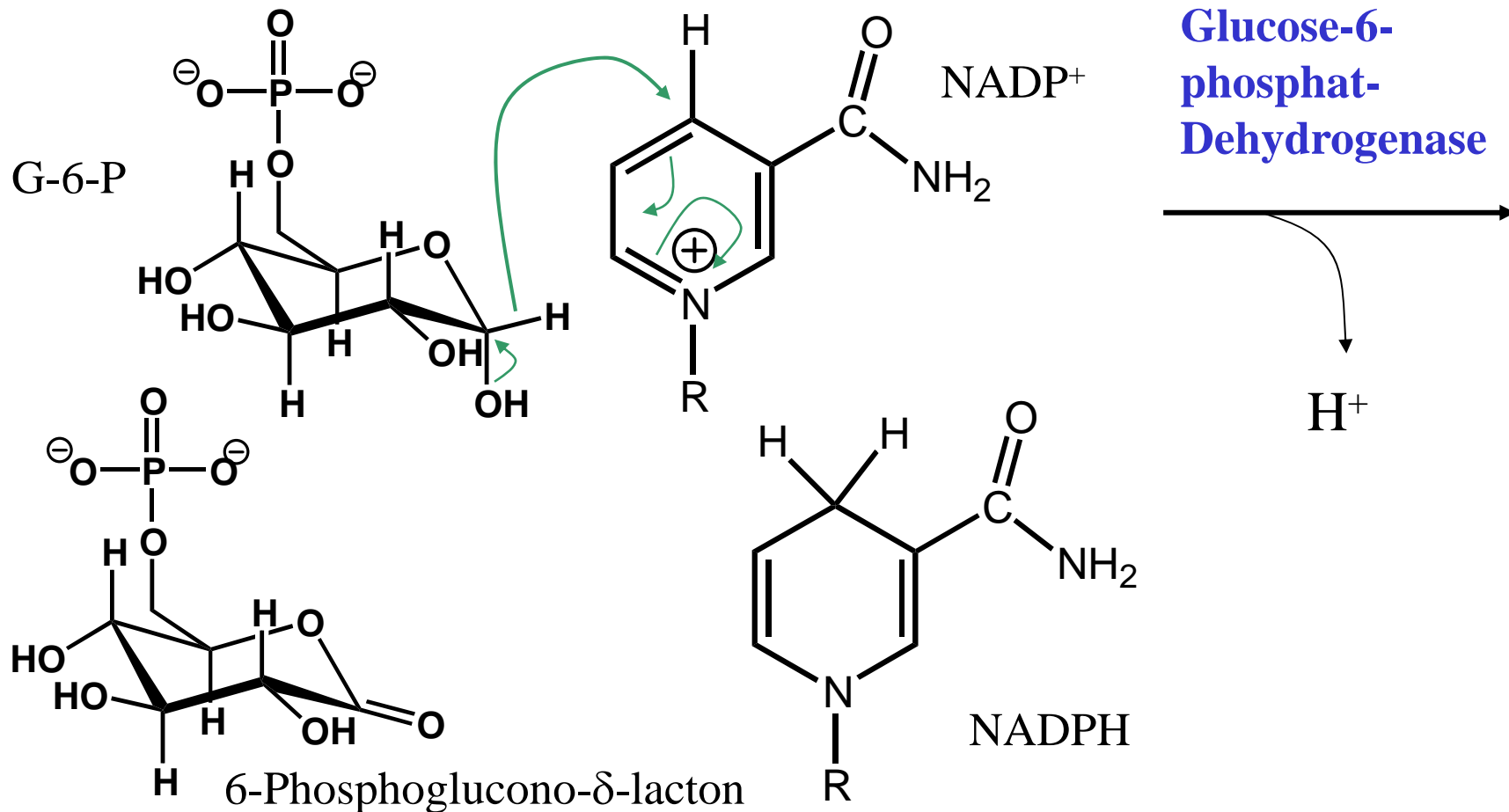
1. Reaktion: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase



Enzym spezifisch für NADP^+ . Irreversibler Schritt, daher Regulationspunkt (starke Hemmung durch NADPH und Acyl-CoA, also durch Intermediate der Fettsäurebiosynthese).



Glucose-6-phosphat, ein cyclisches Halbacetal, wird also zu einem cyclischen Ester (Lacton) oxidiert. Formal handelt es sich um den Nettotransfer eines Hydrid-Ions von der Aldehydfunktion am C(1) des Glucose-6-phosphats auf NADP^+ unter Bildung von 6-Phosphoglucono- δ -lacton.

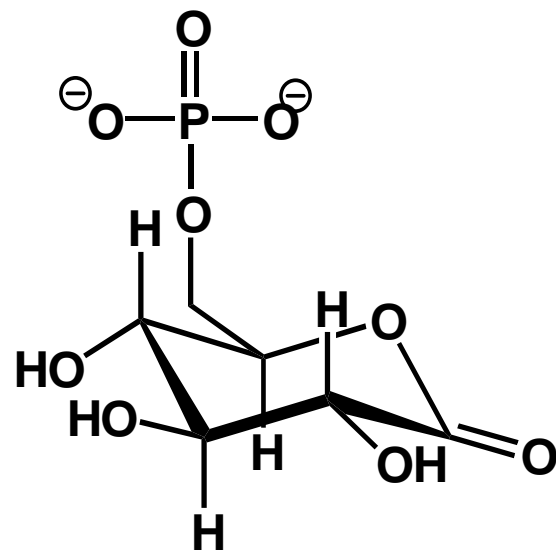


Pentosephosphatweg

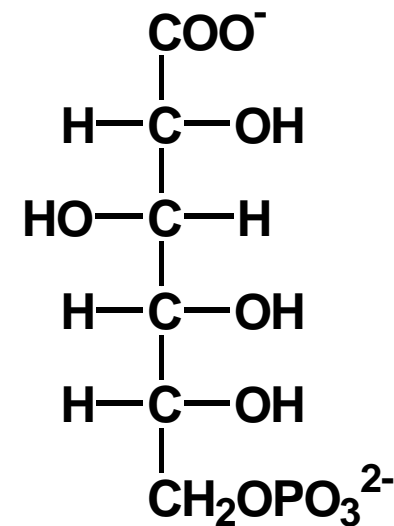
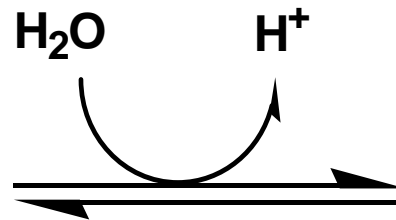
2. Reaktion: 6-Phosphogluconolactonase



6-Phosphoglucono- δ -lacton ist hydrolytisch instabil und unterliegt einer spontanen Ringöffnung. Durch das Enzym **6-Phosphogluconolactonase** erfolgt nur Beschleunigung der Reaktion.



6-Phosphogluconolacton



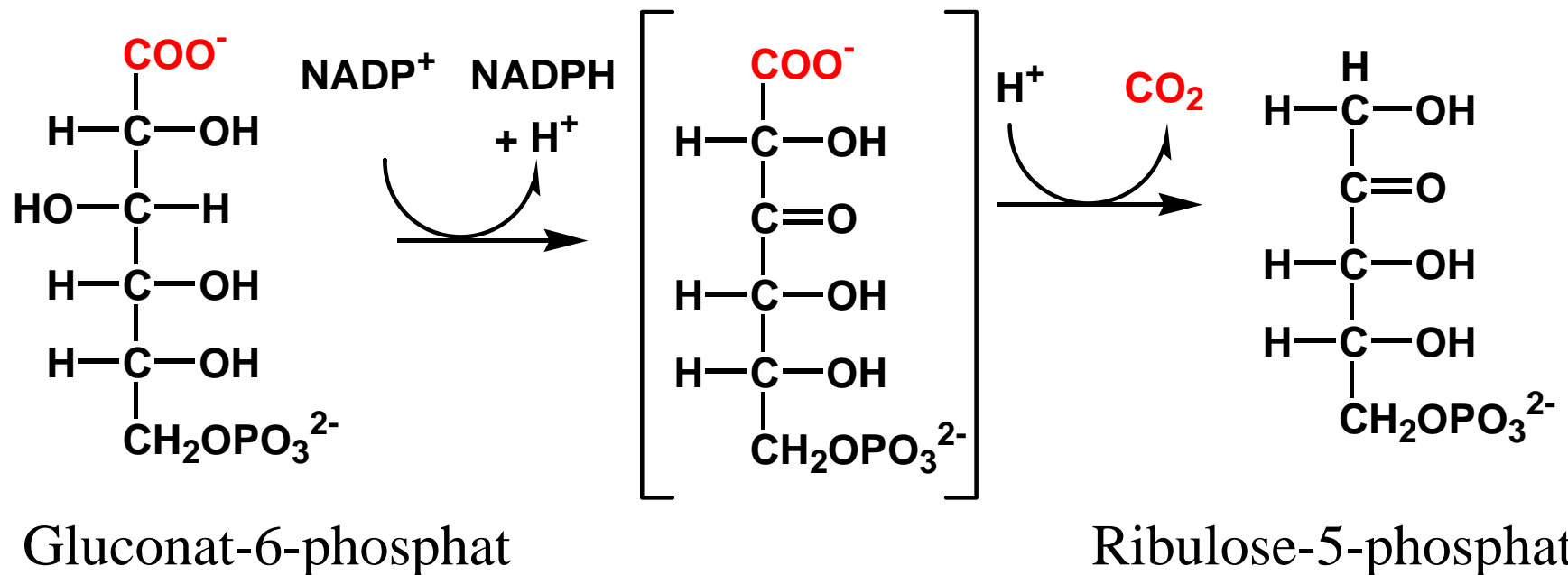
Gluconat-6-phosphat

Pentosephosphatweg

3. Reaktion: Gluconat-6-phosphat-Dehydrogenase



Oxidative Decarboxylierung von 6-Phosphogluconat. Zwischenstufe ist die Bildung einer β -Keto-Säure (3-Keto-6-phosphogluconat), die leicht decarboxyliert (vgl. mit [Isocitrat-Dehydrogenase](#)).



Nun folgen die **Isomerisierungs- und Epimerisierungsreaktionen**, die Ribulose-5-Phosphat in Ribose-5-phosphat und Xylulose-5-phosphat umwandeln:

Ribulose-5-phosphat-Isomerase (Ketose \rightleftharpoons Aldose):

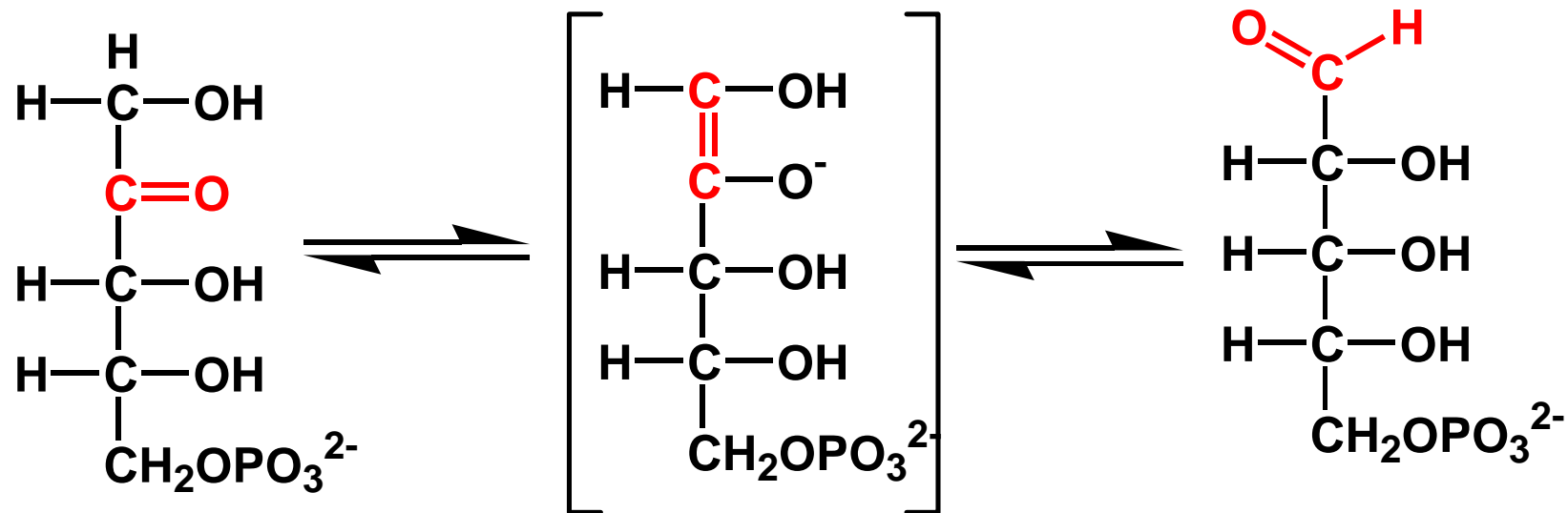
D-Ribulose-5-phosphat \rightleftharpoons Ribose-5-phosphat

Ribulose-5-phosphat-Epimerase (Ketose \rightleftharpoons Ketose):

D-Ribulose-5-phosphat \rightleftharpoons Xylulose-5-phosphat

Pentosephosphatweg

4. Reaktion: Ribulose-5-phosphat-Isomerase



Ribulose-5-phosphat Endiol-Zwischenprodukt Ribose-5-phosphat

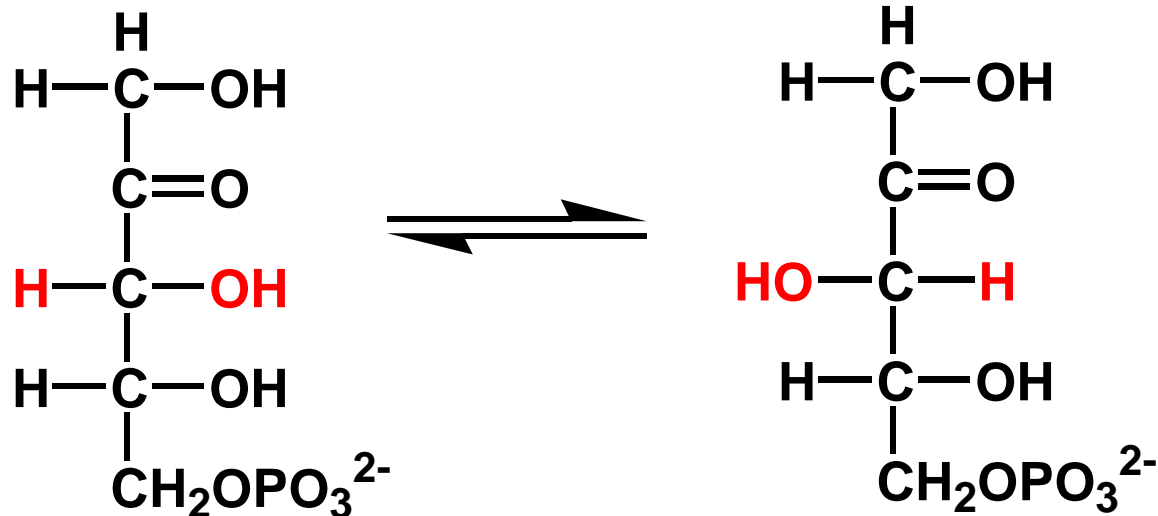
Basische Gruppe im aktiven Zentrum des Enzyms abstrahiert Proton von C(1) des Ribulose-5-phosphats.

Zwischenstufe: 1,2-Endiolat (vgl.: [Phosphoglucoisomerase](#) in der Glycolyse)

Pentosephosphatweg

5. Reaktion: Ribulose-5-phosphat-Epimerase

D-Ribulose-5-phosphat \rightleftharpoons **Xylulose-5-phosphat**



Ribulose-5-phosphat

Xylulose-5-phosphat

Eine basische Gruppe des aktiven Zentrums des Enzyms abstrahiert ein C(3)-Proton. Zwischenstufe: 2,3-Endiolat

Nettoreaktion der ersten vier Reaktionen des Pentosephosphat-Cyclus:



Innerhalb der Zelle liegt zwischen den 3 Pentosephosphat-Molekülen (Ribulose-5-phosphat, Ribose-5-phosphat, Xylulose-5-phosphat) ein Gleichgewicht vor.

Wird mehr Ribose-5-phosphat gebildet, als die Zelle benötigt, wird der Überschuß zusammen mit Xylulose-5-phosphat in die glycolytischen Zwischenprodukte Fructose-6-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat umgewandelt → **Transketolase- und Transaldolase-Reaktionen.**

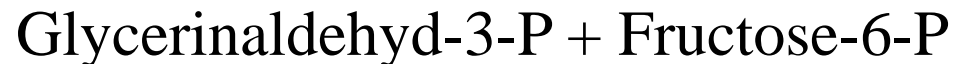
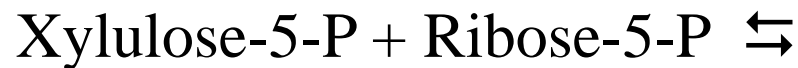
„Sinn“: Die Zelle kann den Bedarf an NADPH und/oder Ribose-5-Phosphat in einer Reaktionsfolge abdecken und dennoch überschüssige C-Metaboliten recyclieren.

Pentosephosphatweg:

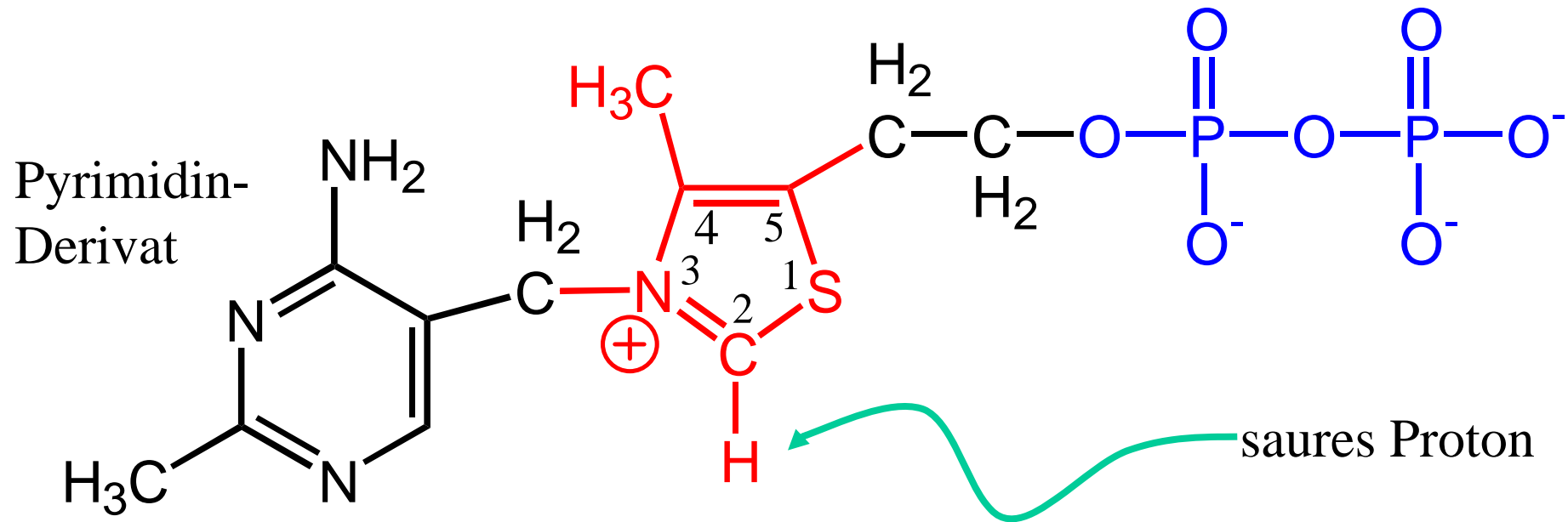
Transketolasen

Transketolasen

Übertragung von C₂-Einheiten unter Beteiligung des Coenzym Thiaminpyrophosphat. Zwischenprodukt: kovalentes Addukt von Xylulose-5-P und Thiaminpyrophosphat (TPP)



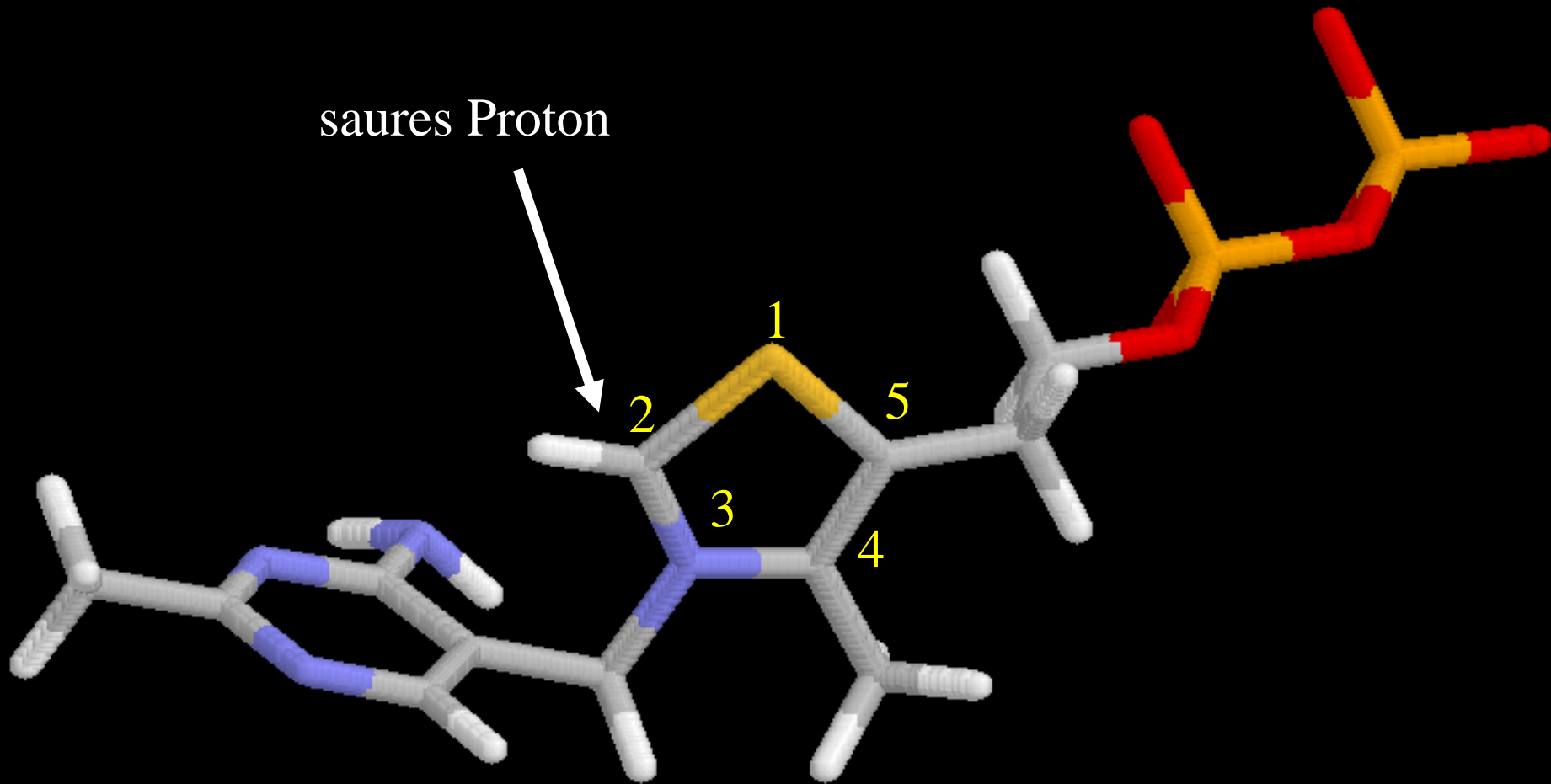
Thiaminpyrophosphat



Der Thiazoliumring bildet die katalytisch aktive funktionelle Gruppe von **Transketolasen**. Dieses Coenzym findet man auch in der **Pyruvat-Dehydrogenase**, **Pyruvat-Decarboxylase** oder in der **α -Ketoglutarat-Dehydrogenase**.

Thiaminpyrophosphat

saures Proton



Dipolares Carbanion (YLID):

aktive Form des Coenzym
(Funktion als Elektronensenke)

Stabilisierung durch pos. geladenes quarternäres Stickstoffatom

Die Vitamine werden aus der Nahrung aufgenommen. Vitamine B sind wasserlöslich! Bereits besprochene Vitamine sind in **rot** dargestellt:

Vitamin

Thiamin (**Vitamin B₁**)

Riboflavin (**Vitamin B₂**)

Niacin (**Vitamin B₃**)

Pantothenat (**Vitamin B₅**)

Pyridoxin (**Vitamin B₆**)

Vitamin B₁₂

Cofaktor

Thiaminpyrophosphat:
Decarboxylierungen,
Transketolasen

FAD

NAD⁺

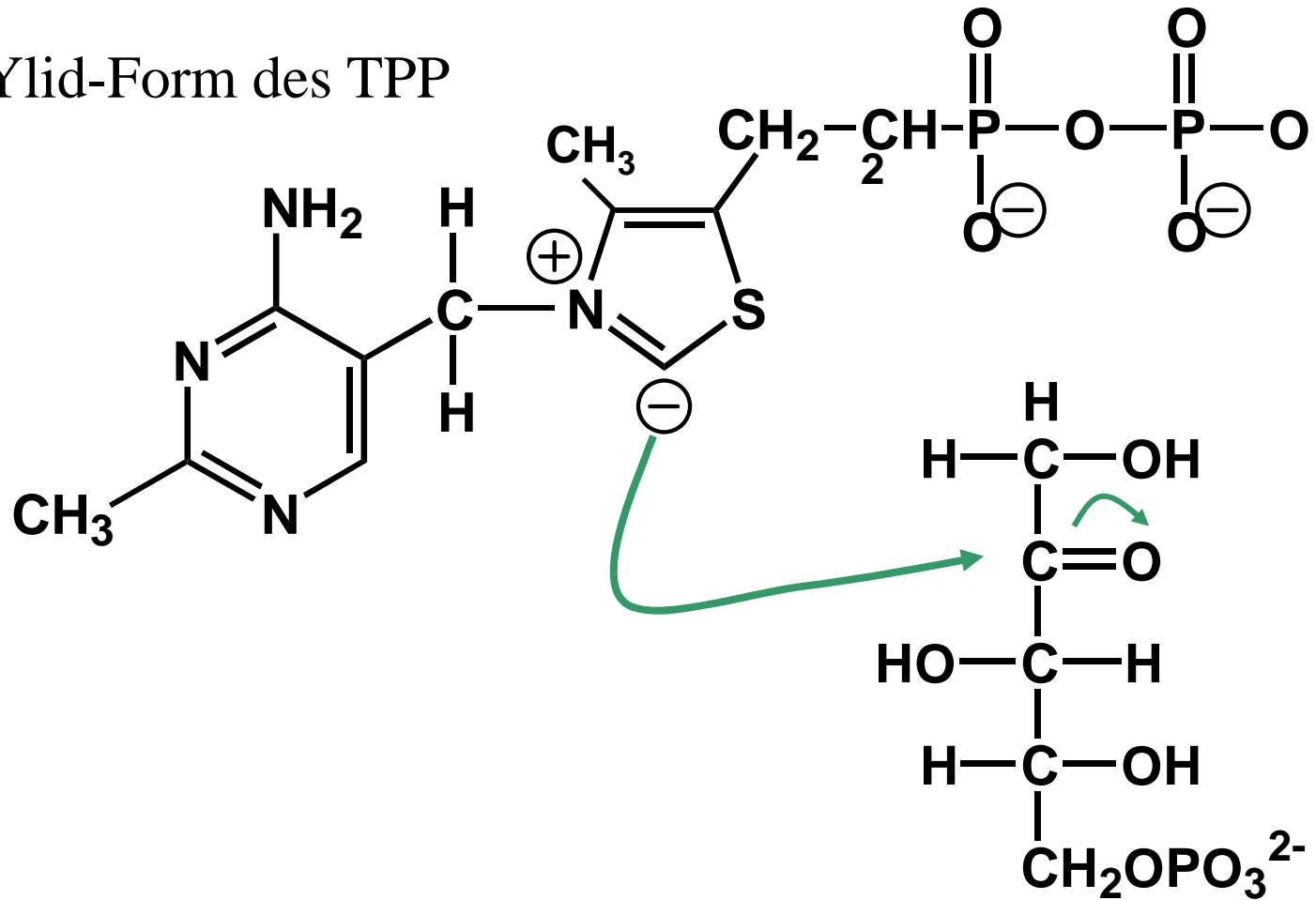
Coenzym A

Pyridoxalphosphat (siehe
Glykogen- und
Aminosäurestoffwechsel)

Cobalamin

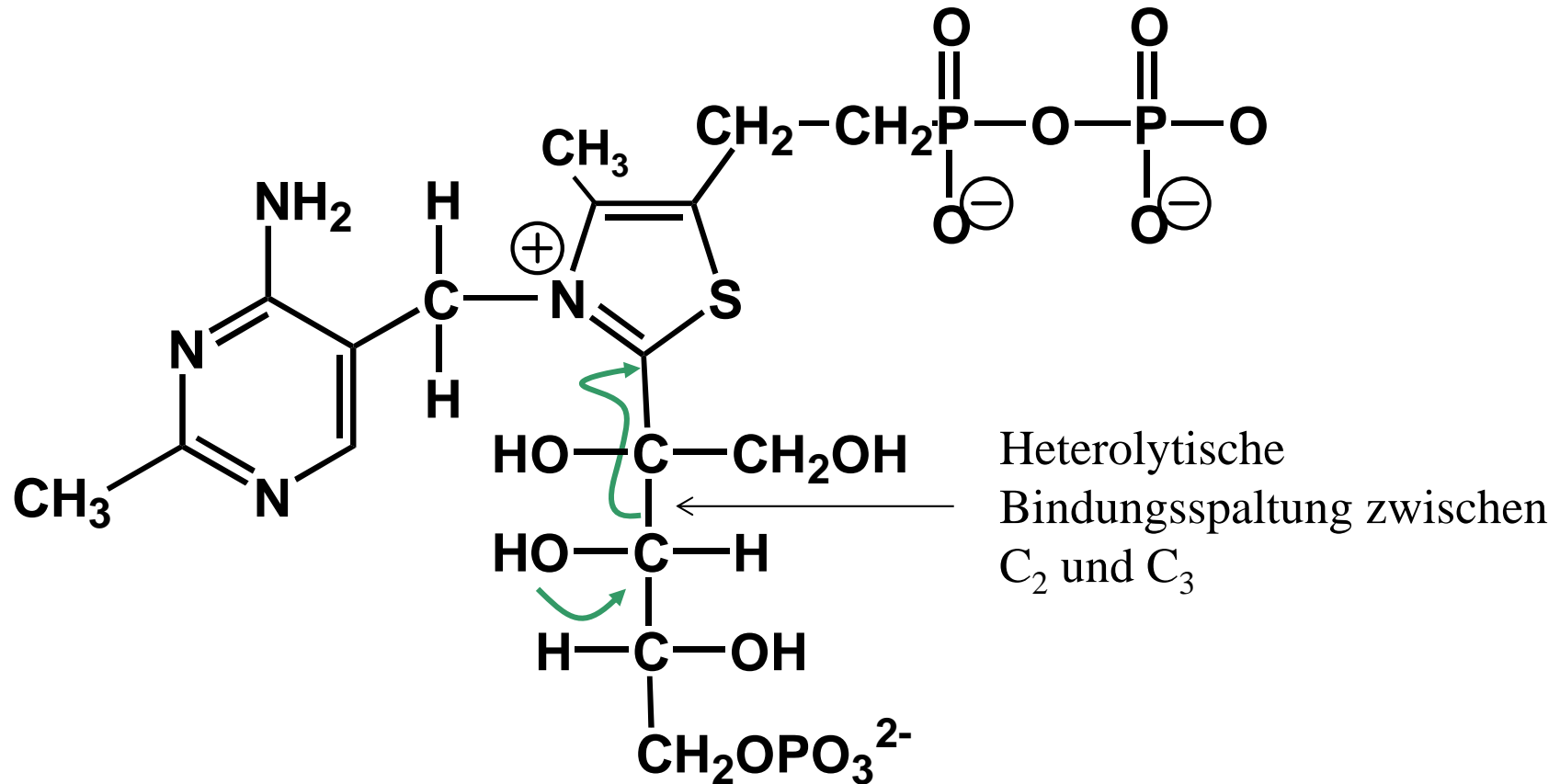
(Fettsäurestoffwechsel)

Ylid-Form des TPP



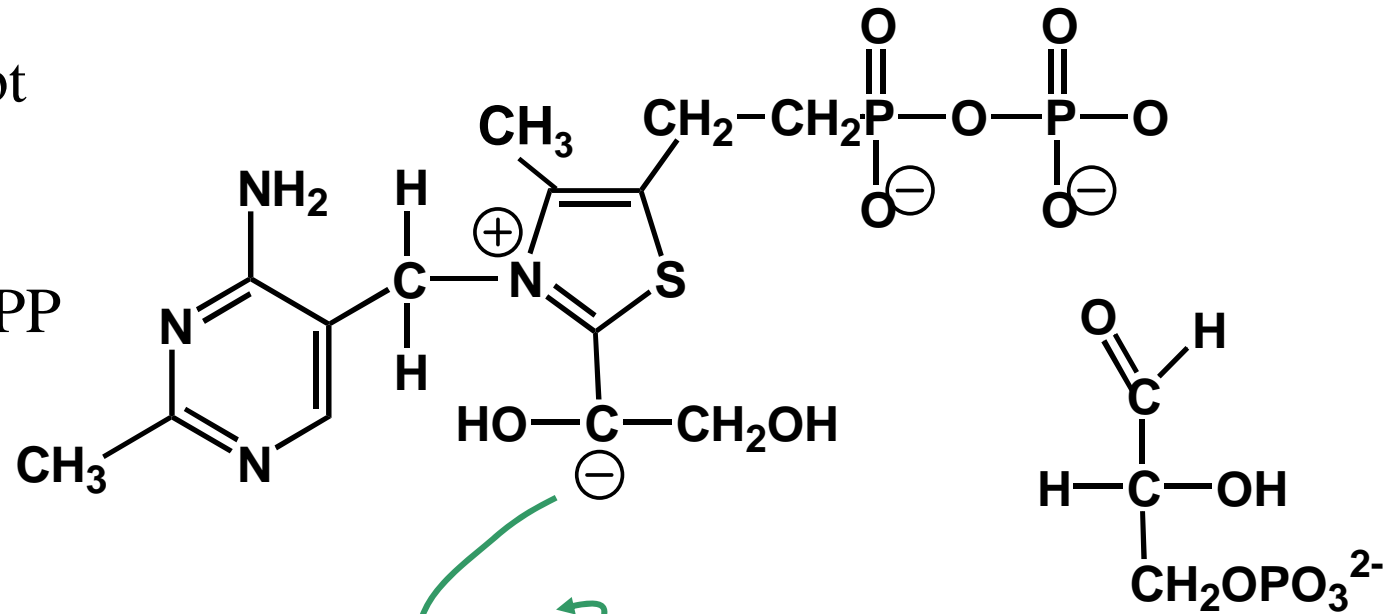
Das TPP-Ylid greift die Carbonylgruppe von Xylulose-5-phosphat an.

Xylulose-5-phosphat

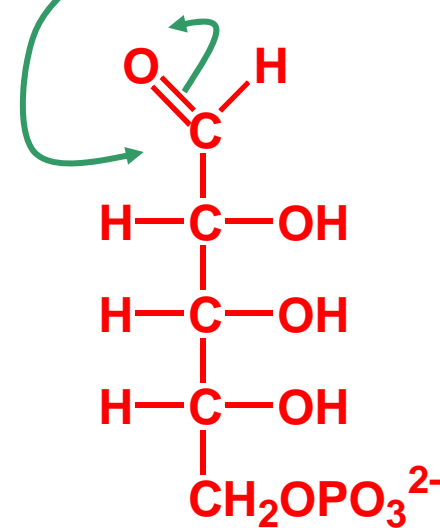


Bildung des Xylulose-5-phosphat-TPP Addukts (vgl. mit [Pyruvat-Decarboxylase](#) und [Pyruvat-Dehydrogenase](#); Einheit 6)

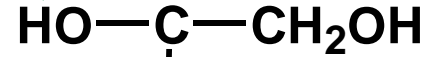
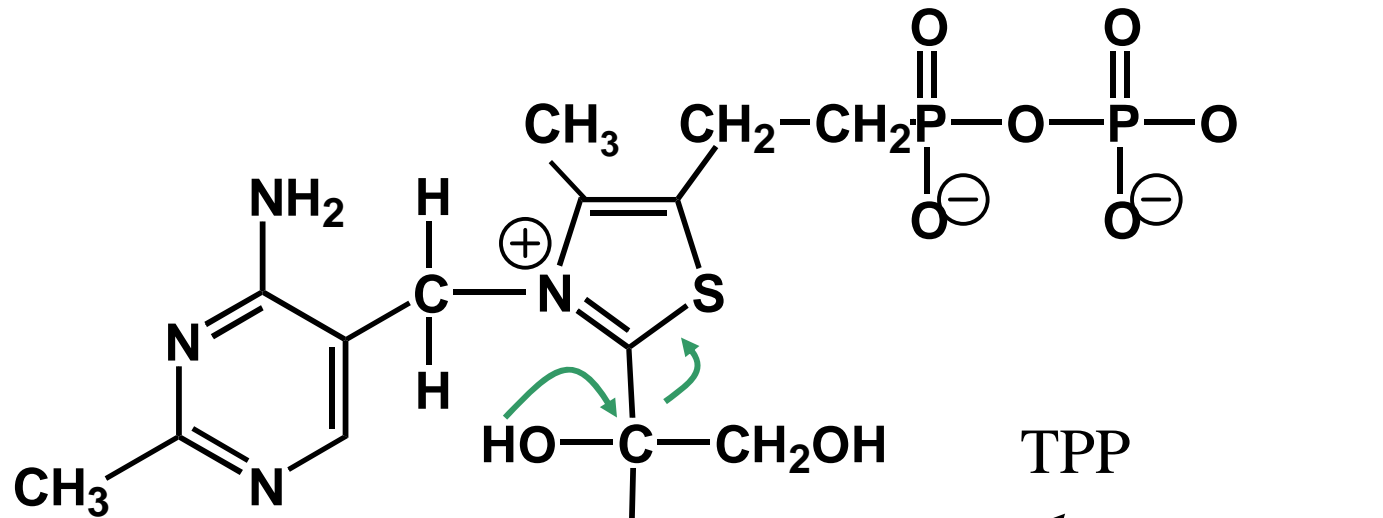
Spaltung der C(2)-
C(3)-Bindung ergibt
GAP und enzym-
gebundenes 2-(1,2-
Dihydroxyethyl)-TPP



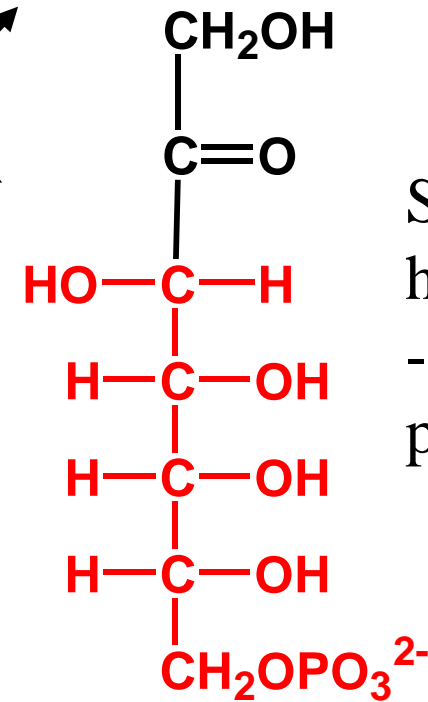
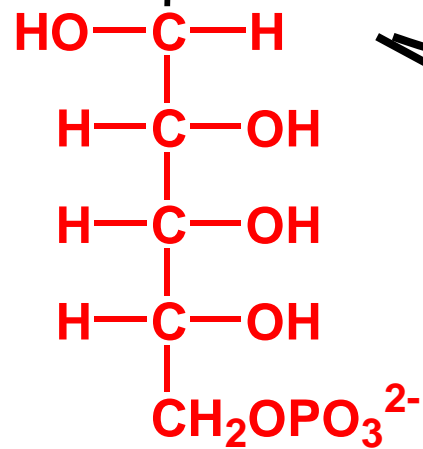
Das C(2) Carbanion greift
den Aldehyd-Kohlenstoff
von Ribose-5-phosphat an



Ribose-5-
phosphat



TPP



Sedo-
heptulose
-7-
phosphat

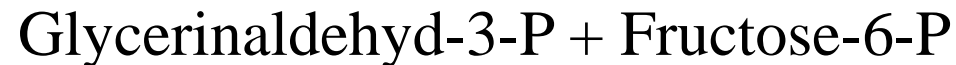
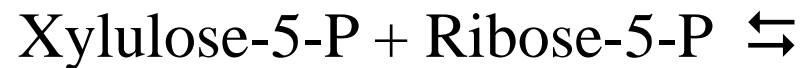
Bildung des
Sedoheptulose-7-
phosphat-Addukts

Abspaltung von TPP

Freisetzung von Sedoheptulose-7-phosphat

Transketolasen

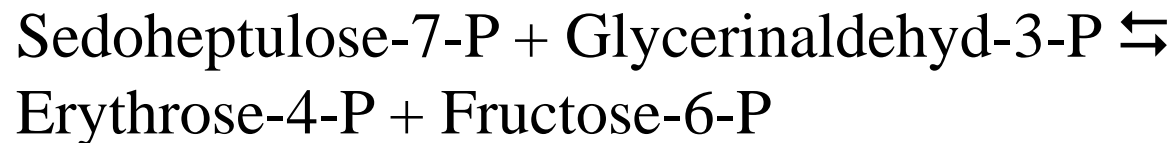
Übertragung von C₂-Einheiten unter Beteiligung des Coenzym Thiaminpyrophosphat. Zwischenprodukt: kovalentes Addukt von Xylulose-5-P und Thiaminpyrophosphat (TPP)



Pentosephosphatweg:

Transaldolase

Übertragung einer C₃-Einheit von Sedoheptulose-7-phosphat auf Glycerinaldehyd-3-phosphat. Zwischenprodukt: Schiff'sche Base

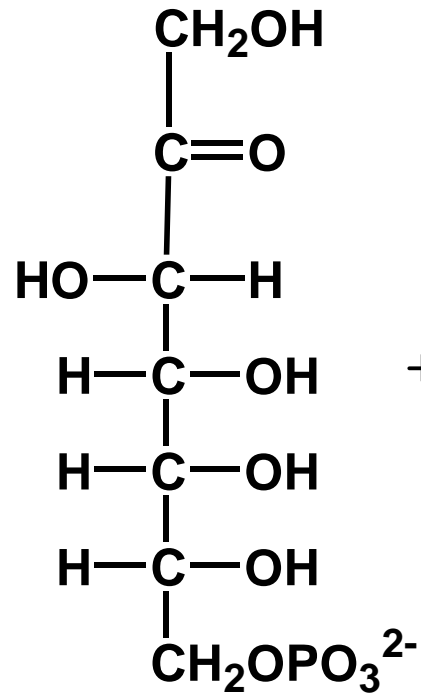


Mechanismus: Aldolspaltung
(vgl. [Aldolase](#) aus Glycolyse)

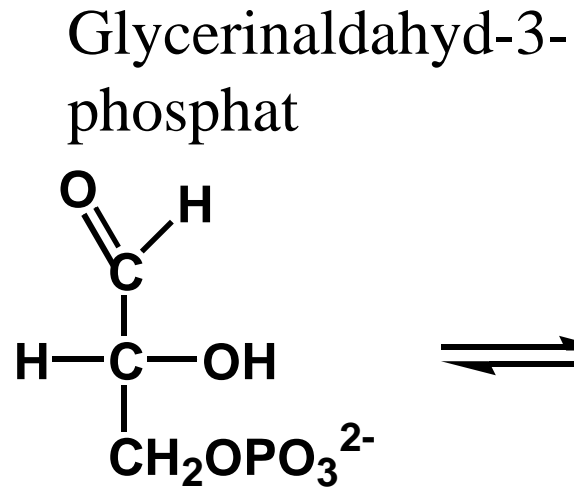
Zwischenprodukt: Schiff'sche Base zwischen Lysin und Carbonylgruppe von Sedoheptulose-7-phosphat

Enaminbildung des Dihydroxyacetonphosphats

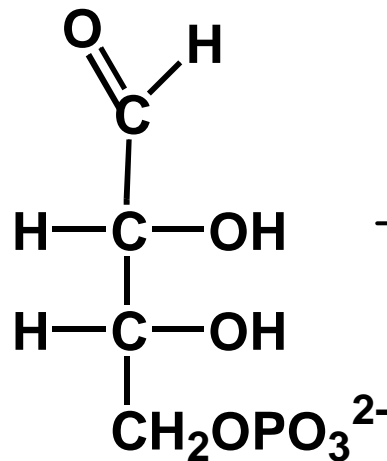
Sedo-
heptulose-
7-phosphat



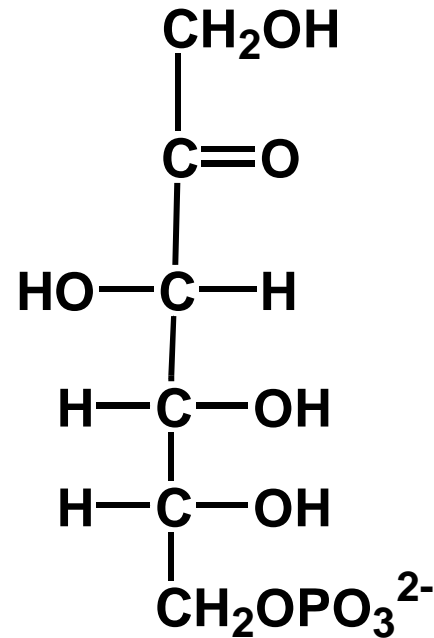
+



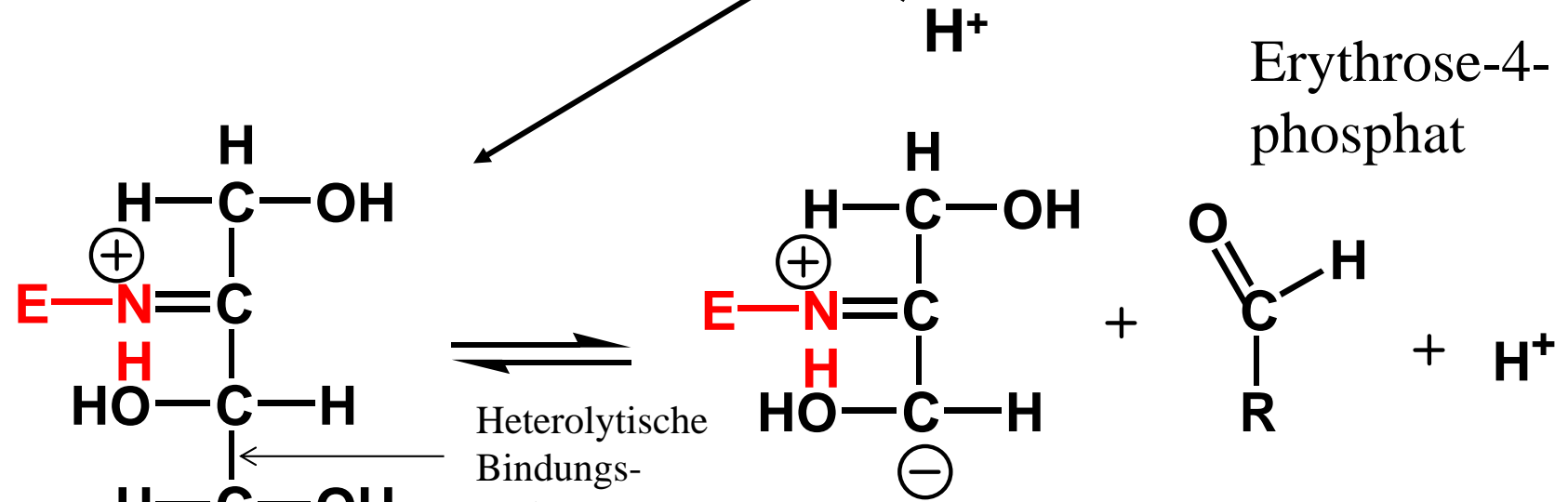
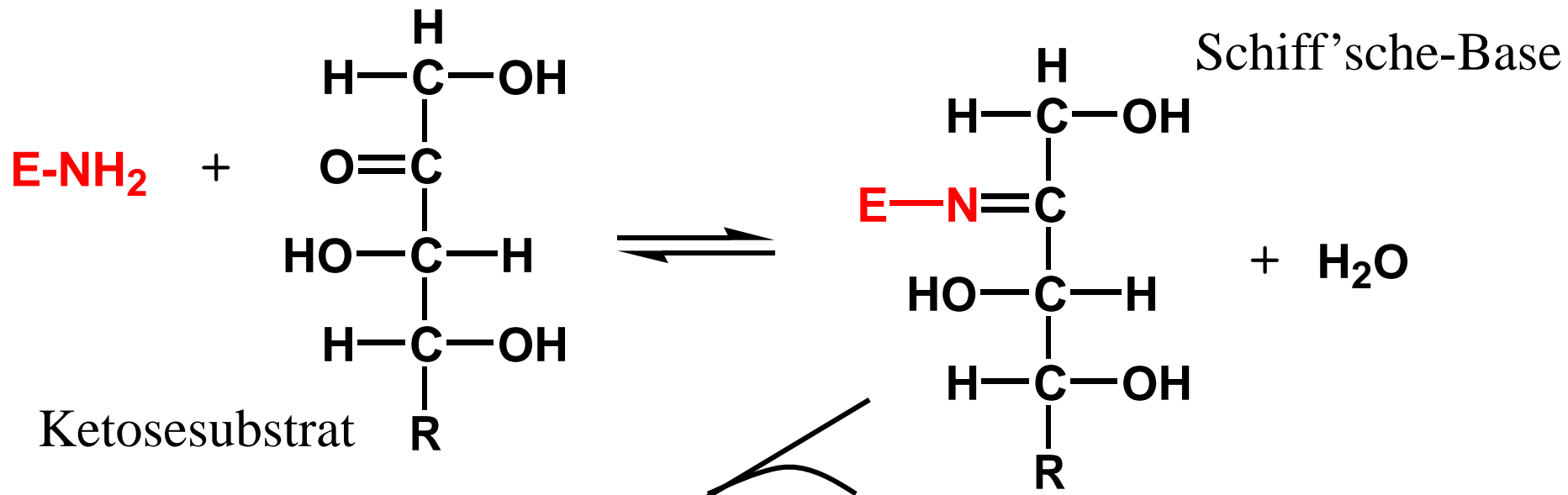
Erythrose-
4-phosphat



+

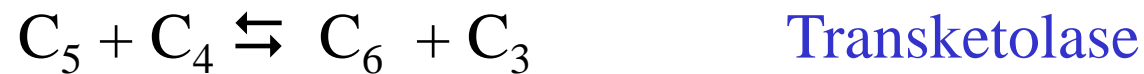
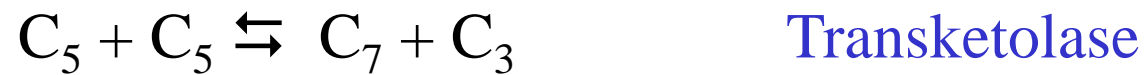


Fructose-6-
phosphat



Angriff auf Aldose-Substrat (GAP)

3. Phase des Pentosephosphat-Cyclus:



Umwandlung von überschüssigem Ribose-5-phosphat in glycolytische Zwischenprodukte, wenn der Bedarf an NADPH den Bedarf an Ribose-5-phosphat für Biosynthesen übersteigt.

Glycerinaldehyd-3-phosphat und Fructose-6-phosphat können in der Glycolyse und oxidativen Phosphorylierung zur ATP-Bildung „verbrannt“ werden. Oder im Rahmen der Gluconeogenese zur Bildung von Glucose-6-phosphat verwendet werden.

Gluconeogenese

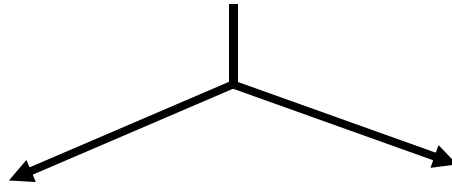
Reziproke Regulation von Glycolyse und Gluconeogenese

Die Hormone Insulin, Glucagon und Adrenalin

Der oxidative Pentosephosphat-Weg

Integration von Glycolyse, Gluconeogenese und
oxidativem Pentosephosphat-Weg

Glucose-6-Phosphat



Glycolyse

Bedarf an ATP

Regulationspunkt:

Phosphofruktokinase

Inhibierung durch hohes
ATP/AMP-Verhältnis und
Citrat

Aktivierung durch F2,6-BP

Pentosephosphat-Cyclus

Bedarf an NADPH und Ribose-
5-phosphat

Regulationspunkt:

**Glucose-6-phosphat-
Dehydrogenase**

$\Delta G^{\ominus} = -17,6 \text{ kJ/mol}$

Inhibierung durch hohe
NADPH-Konzentrationen und
Acyl-CoA

4 Szenarien der Kombination von Glycolyse und Pentosephosphat-Cyclus:

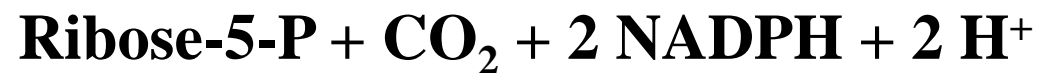
- (1) Die Zelle benötigt sowohl Ribose-5-phosphat als auch NADPH
- (2) Die Zelle benötigt mehr Ribose-5-phosphat als NADPH
- (3) Die Zelle benötigt mehr NADPH als Ribose-5-phosphat
- (4) Die Zelle benötigt NADPH, ATP jedoch nicht Ribose-5-phosphat

Die Zelle benötigt sowohl Ribose-5-phosphat als auch NADPH:

Dominanz der ersten vier Reaktionen des Pentosephosphat-Cyclus

Glucose-6-P → → Gluconat-6-phosphat → Ribulose-5-P →
Ribose-5-P

Nettoreaktion:



Die Zelle benötigt mehr Ribose-5-phosphat als NADPH

Bypass der oxidativen Reaktionen des Pentosephosphat-Cyclus durch Extraktion von Fructose-6-P und Glycerinaldehyd-3-P (jedoch nicht von Glucose-6-P) aus der Glycolyse.

Bildung von Ribose-5-P aus Fructose-6-P und Glycerinaldehyd-3-P durch **Transketolase-** und **Transaldolase-**Reaktionen.

Nettoreaktion:

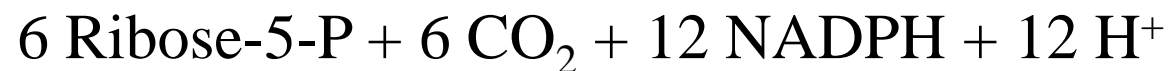


Die Zelle benötigt mehr NADPH als Ribose-5-phosphat

Recycling von Ribose-5-P zu Intermediaten des glycolytischen Cyclus.

Komplexes Zusammenspiel von **Transketolase** und **Transaldolase**-Reaktion führt zur Umwandlung von Ribose-5-P in Fructose-6-P und Glycerinaldehyd-3-P, die via Gluconeogenese wieder in Glucose-6-P umgewandelt werden können.

Nettoreaktion:

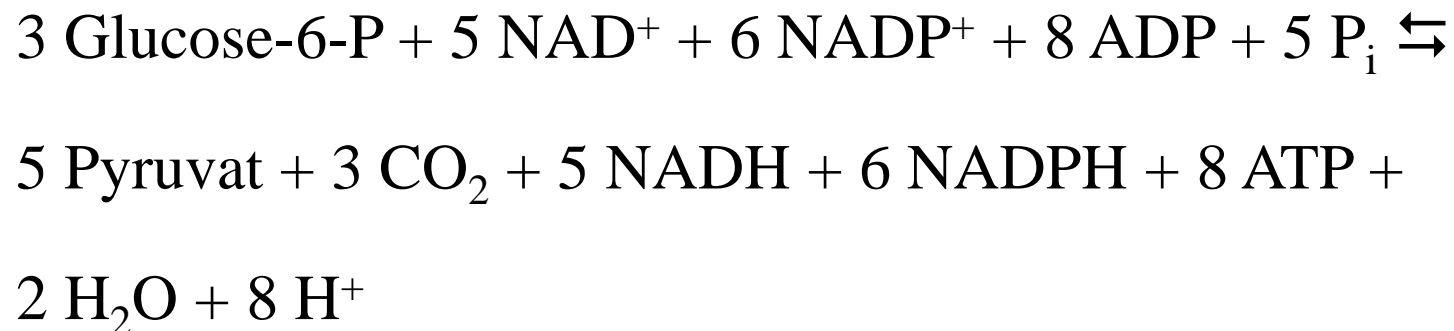


Die Zelle benötigt NADPH, ATP jedoch nicht Ribose-5-phosphat

Recycling von Ribose-5-P zu Intermediaten des glycolytischen Cyclus.

Aus Fructose-6-P und Glycerinaldehyd-3-P entstehen im glycolytischen Cyclus ATP und Pyruvat (das noch weiter im TCA-Cyclus und in der Atmungskette umgesetzt werden kann).

Nettoreaktion:

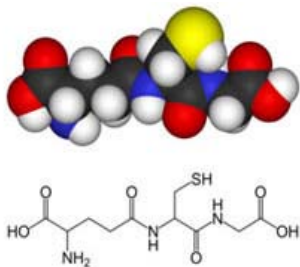


NADPH und Glutathion

Mangel an Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

NADPH: Verwendung in (reduktiven) Biosynthesen (z.B. anaboler Fettsäure- und Aminosäure-Stoffwechsel).

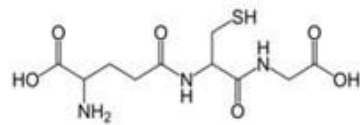
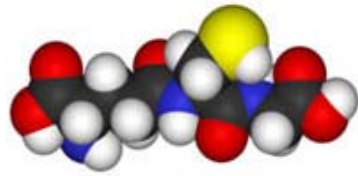
Zudem ist **NADPH** für die Aufrechterhaltung des cytoplasmatischen Redox-Potentials (reduzierendes Milieu) von großer Bedeutung. Es sorgt nämlich für die Reduktion von **Glutathion** durch die **Glutathion-Reductase** (siehe unten).



Glutathion ist ein im Cytoplasma in hoher (mM) Konzentration vorkommendes Tripeptid. Es kommt hauptsächlich in seiner reduzierten Form (GSH) vor [freie Thiol(SH)-Gruppe].

Glutathion:

Abfangen von H_2O_2 und Peroxiden in Erythrocyten mittels **Glutathion-Peroxidase**:

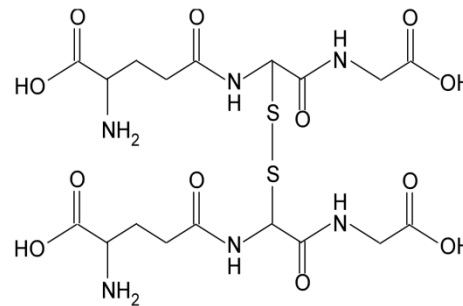


GSH



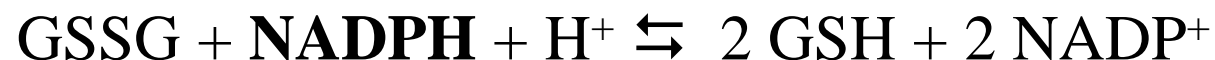
Peroxide entstehen permanent in einem aeroben Organismus. Sie sind Oxidationsmittel und müssen entsorgt werden (oxidativer Stress).

Mittels Glutathion-Peroxidase werden sie reduziert. Dabei wird Glutathion (GSH) oxidiert (GSSG).



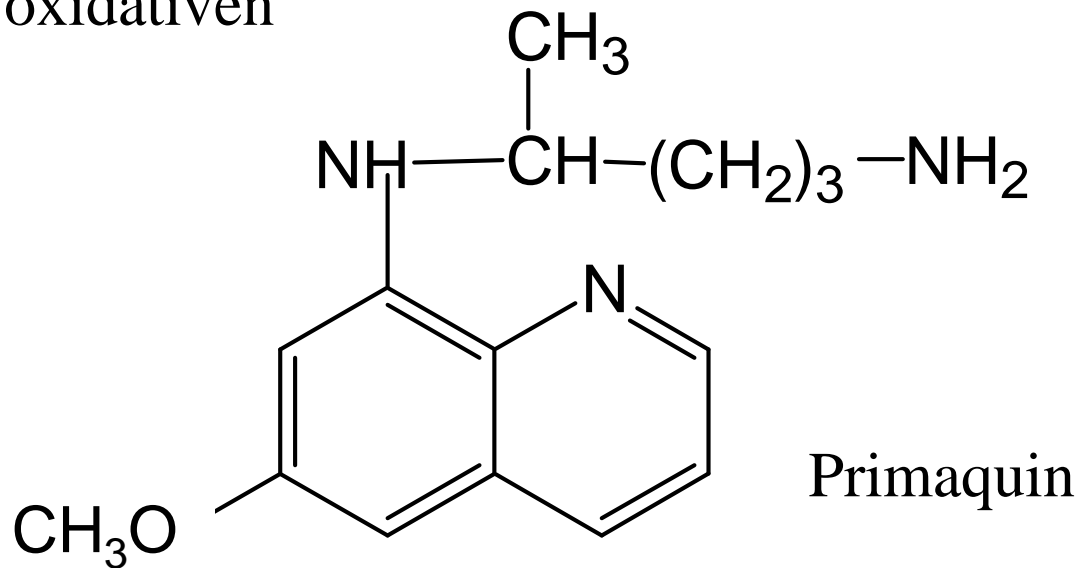
GSSG

Regeneration von Glutathion (GSH) durch **Glutathion-Reductase**:



Wie wirkt sich nun bei oxidativem Stress ein Mangel an **Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase** aus? Genau dies tritt nämlich bei manchen afrikanischen und asiatischen Populationen auf. Dort findet man häufig einen genetisch bedingten Mangel an **Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase**.

Viele Malariamittel wirken über die Auslösung von oxidativem Stress im Malariaparasiten *Plasmodium falciparum*, z.B. auch **Primaquin**. Die Gabe dieser Mittel induziert natürlich auch beim Menschen oxidativen Stress!

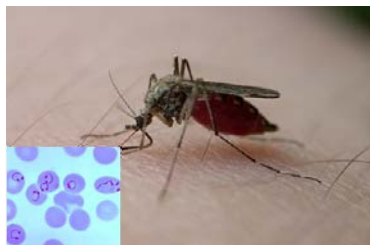


Folge der Gabe von Primaquin: Schwere hämolytische Anämie. Denn Primaquin stimuliert die Peroxid-Bildung und steigert den NADPH-Bedarf.

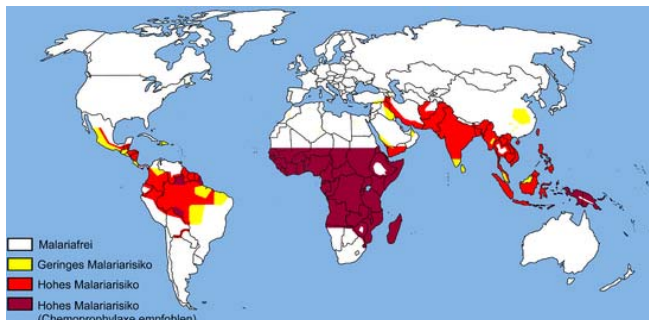
Interessanterweise haben sich in diesen (Malaria-)Regionen bei den dort lebenden Menschen über 100 verschiedene Mutationen der **Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase** „etabliert“.

Häufigster Typ:

sog. Typ A⁻-Mangel: Nur 10% der normalen Enzymaktivität.



P. falciparum ist einzelliger Parasit, der von Moskitos übertragen wird



Dies scheint ein Selektionsvorteil zu sein, da er eine gewisse Resistenz gegen den Malariaparasiten *Plasmodium falciparum* vermittelt. Der Wirt ist nämlich durch den geringeren NADPH-Spiegel für den Parasiten anscheinend weniger attraktiv.