

Glycolyse und Gluconeogenese

Arbeiten, deren Beginn sich auf die Zeit um 1905 datieren lässt, führten dazu, dass in den 1940er Jahren alle Schritte der Glycolyse bekannt waren. Durchsicht der aktuellen Lehrwerke erweckt den Eindruck, dass es seit dieser Zeit nicht an Versuchen gemangelt hat, das Verständnis dieses vielleicht wichtigsten Stoffwechselwegs künstlich zu verkomplizieren. Da werden gut etablierte und verständliche Substanzbezeichnungen wie z.B. Glycerinaldehyd-3-phosphat durch halbsystematische Namen wie Glyceral-3-phosphat ersetzt und komplizierte Regulationsmechanismen zum Standardwissen erhoben. Intermediate werden als stereochemisch korrekte, aber nur für ausgewiesene Chemiker interpretierbare Keilstrichformeln geschrieben, und Übersichtsschemata mit Details enzymatischer Katalysemechanismen ausgeschmückt.

<u>Die Funktion der Glycolyse</u>	2
<u>Die Funktion der Gluconeogenese</u>	2
<u>Die Reaktionen der Glycolyse</u>	2
Exkurs: Alkoholische Gärung.....	3
Exkurs: Die Spaltung von Fructose-1,6-bisphosphat ist die Umkehrreaktion einer Aldol-Addition.....	5
Exkurs: Bei der Bildung von 1,3-Bisphosphoglycerat entsteht eine energiereiche Phosphorsäureanhydrid-Bindung.....	6
Exkurs: Die Bildung der äußerst energiereichen Verbindung Phosphoenolpyruvat ermöglicht den zweiten ATP-liefernden Schritt.....	7
<u>Die Reaktionen der Gluconeogenese</u>	8
<u>Der Cori-Cyclus</u>	9
Exkurs: Oxalacetat entsteht in den Mitochondrien und wird als Malat ins Cytoplasma exportiert.....	10
<u>Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese in der Leber</u>	11
Allgemeine Prinzipien	11
Erster Kontrollpunkt: Hexokinase, Glucokinase, Glucose-6-phosphatase	12
Zweiter Kontrollpunkt: Phosphofruktokinase 1, Phosphofruktokinase 2, Fruktose-1,6-bisphosphatase	12
Dritter Kontrollpunkt: Pyruvatkinase, Pyruvatcarboxylase, PEP-Carboxykinase	13
<u>Regulation der Glycolyse in den Skelettmuskeln und im Herzmuskel</u>	15

Die Funktion der Glycolyse

Als Glycolyse bezeichnet man die Umwandlung von Glucose in Pyruvat. Die Glycolyse dient in erster Linie dem Energiegewinn. Sämtliche Reaktionen laufen im Zytoplasma ab. Pro umgesetzttem Glucosemolekül werden zwei Moleküle ATP gewonnen. Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat über den Citratcyclus und die Atmungskette vollständig zu CO_2 und H_2O oxidiert, verbunden mit dem zusätzlichen Gewinn von ca. 30 ATP-Molekülen. Unter anaeroben Bedingungen, z.B. während intensiver Muskelarbeit, wird Pyruvat in Lactat umgewandelt (Milchsäuregärung). Der Energiegewinn bleibt in diesem Fall auf die zwei Moleküle ATP beschränkt. Zahlreiche Mikroorganismen, z.B. die Bäckerhefe, wandeln unter anaeroben Bedingungen Pyruvat in Ethanol und CO_2 um (alkoholische Gärung). Dabei werden ebenfalls nur zwei Moleküle ATP gewonnen.

Die Funktion der Gluconeogenese

Bei der Gluconeogenese wird unter Energieverbrauch Glucose aus Pyruvat, Lactat und einigen anderen Metaboliten gewonnen. Die Mehrzahl der Reaktionen der Gluconeogenese sind mit denen der Glycolyse identisch, laufen aber in umgekehrter Richtung ab. Diese Reaktionen werden in der Glycolyse und Gluconeogenese durch die selben Enzyme katalysiert. Drei Reaktionen der Glycolyse sind stark exergonisch und können deshalb unter physiologischen Bedingungen nicht in umgekehrter Richtung ablaufen. Für diese Reaktionen existieren in der Gluconeogenese spezielle Umgehungsreaktionen. Während die Glycolyse in allen Zellen ablaufen kann, erfolgt die Gluconeogenese hauptsächlich in den Organen, deren Aufgabe in der Homöostase des Blutglucosespiegels besteht, nämlich in der Leber und zu geringerem Anteil in der Niere und der Darmschleimhaut.

Die Reaktionen der Glycolyse

Im ersten Teilabschnitt der Glycolyse wird Glucose in Fructose-1,6-bisphosphat umgewandelt (Abb. 1). Dabei treten ausschließlich C6-Körper auf. Im zweiten Teilabschnitt wird Fructose-1,6-bisphosphat in zwei C3-Körper gespalten, die in Pyruvat umgewandelt werden. Im ersten Abschnitt werden pro Glucosemolekül zwei Moleküle ATP verbraucht. Im zweiten Abschnitt werden pro C3-Körper zwei Moleküle ATP gewonnen. Da aus jedem Glucosemolekül zwei C3-Körper entstehen, werden effektiv zwei Moleküle ATP gewonnen.

Glucose tritt über Glucosetransporter, von denen verschiedene Typen existieren, in die Zelle ein und wird unter ATP-Verbrauch zu Glucose-6-phosphat phosphoryliert. Glucose-6-phosphat kann die Zelle nicht mehr verlassen, da es die Glucosetransporter nicht passieren kann. Nach Isomerisierung zu Fructose-6-phosphat erfolgt eine weitere ATP-abhängige Phosphorylierung zu Fructose-1,6-bisphosphat. Fructose-1,6-bisphosphat wird in Glycerinaldehyd-3-phosphat und Dihydroxyacetonphosphat gespalten. Allerdings ist nur Glycerinaldehyd-3-phosphat Substrat für die folgenden Reaktionen. Deshalb wird das entstandene Dihydroxyacetonphosphat durch Isomerisierung ebenfalls in Glycerinaldehyd-3-phosphat umgewandelt.

Aus Glycerinaldehyd-3-phosphat entsteht durch Oxidation mit NAD^+ und Anlagerung eines anorganischen Phosphats 1,3-Bisphosphoglycerat. Die beiden Phosphatgruppen des 1,3-Bisphosphoglycerats sind über zwei unterschiedliche Bindungstypen gebunden. Bei der Phosphatgruppe in Position 3 handelt es sich um einen wenig energiereichen

Phosphorsäureester. Die Phosphatgruppe in Position 1 dagegen ist ein energiereiches Phosphorsäureanhydrid. Übertragung dieser Phosphatgruppe auf ADP ist der erste ATP-liefernde Schritt der Glycolyse. Das entstandene 3-Phosphoglycerat wird zur 2-Phosphoglycerat isomerisiert und durch Eliminierung eines Wassermoleküls in Phosphoenolpyruvat (PEP) umgewandelt, das eine sehr energiereiche Verbindung darstellt. Als zweiter ATP-liefernder Schritt wird die Phosphatgruppe des Phosphoenolpyruvats auf ADP übertragen. Das dabei entstehende Pyruvat ist das Endprodukt der Glycolyse.

Unter **aeroben** Bedingungen gelangt das Pyruvat in die Mitochondrien, wo es nach Umwandlung in Acetyl-CoA in den Citratcyclus eingespeist wird. Auch das in der Glycolyse gebildete NADH wird in die Mitochondrien übertragen und für den Energiegewinn genutzt. Unter **anaeroben** Bedingungen wird durch die Reduktion von Pyruvat zu Lactat das NADH in NAD^+ zurückverwandelt, um für die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Reaktion zur Verfügung zu stehen.

Die Energiebilanz von 2 ATP-Molekülen pro umgesetzttem Glucosemolekül unter anaeroben Bedingungen ergibt sich daraus, dass zur Bildung von Fructose-1,6-bisphosphat zunächst 2 ATP-Moleküle investiert werden müssen. Fructose-1,6-bisphosphat wird in zwei C3-Körper gespalten, deren Umsetzung jeweils 2 ATP-Moleküle (also insgesamt 4 ATP-Moleküle) liefert. Nach Subtraktion der beiden investierten ATP-Moleküle bleiben 2 ATP-Moleküle übrig.

Der Mechanismus der beiden ATP-liefernden Schritte der Glycolyse wird als **Substratkettenphosphorylierung** bezeichnet. Der Begriff beschreibt die Übertragung von Phosphatgruppen von energiereichen Substraten mit hohem Phosphatgruppen-Übertragungspotential auf ADP. Dagegen bezeichnet man den unter aeroben Bedingungen in den Mitochondrien ablaufende Mechanismus der ATP-Synthese als **Atmungskettenphosphorylierung** oder **oxidative Phosphorylierung**.

Exkurs: Alkoholische Gärung

Bei der für die Wein- und Bierherstellung verwendeten Bäckerhefe sowie bei vielen anderen Mikroorganismen erfolgt die unter anaeroben Bedingungen notwendige Rückverwandlung von NADH zu NAD^+ durch die Umwandlung von Pyruvat in Ethanol. Die zweistufige Reaktionsfolge ist unten dargestellt. Bei ausreichender Sauerstoffzufuhr erfolgt auch bei der Hefe die Energiegewinnung über den Citratcyclus und die Atmungskette.

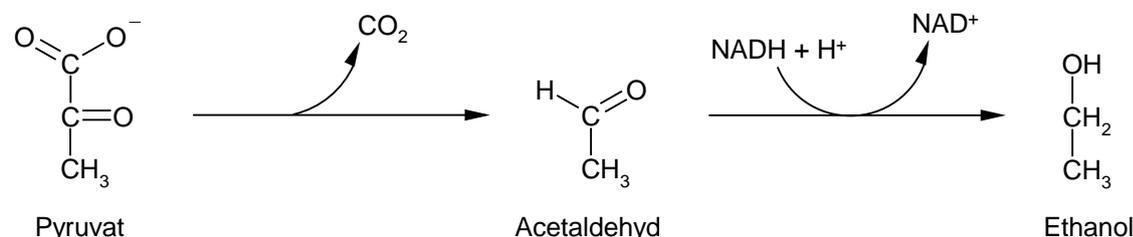
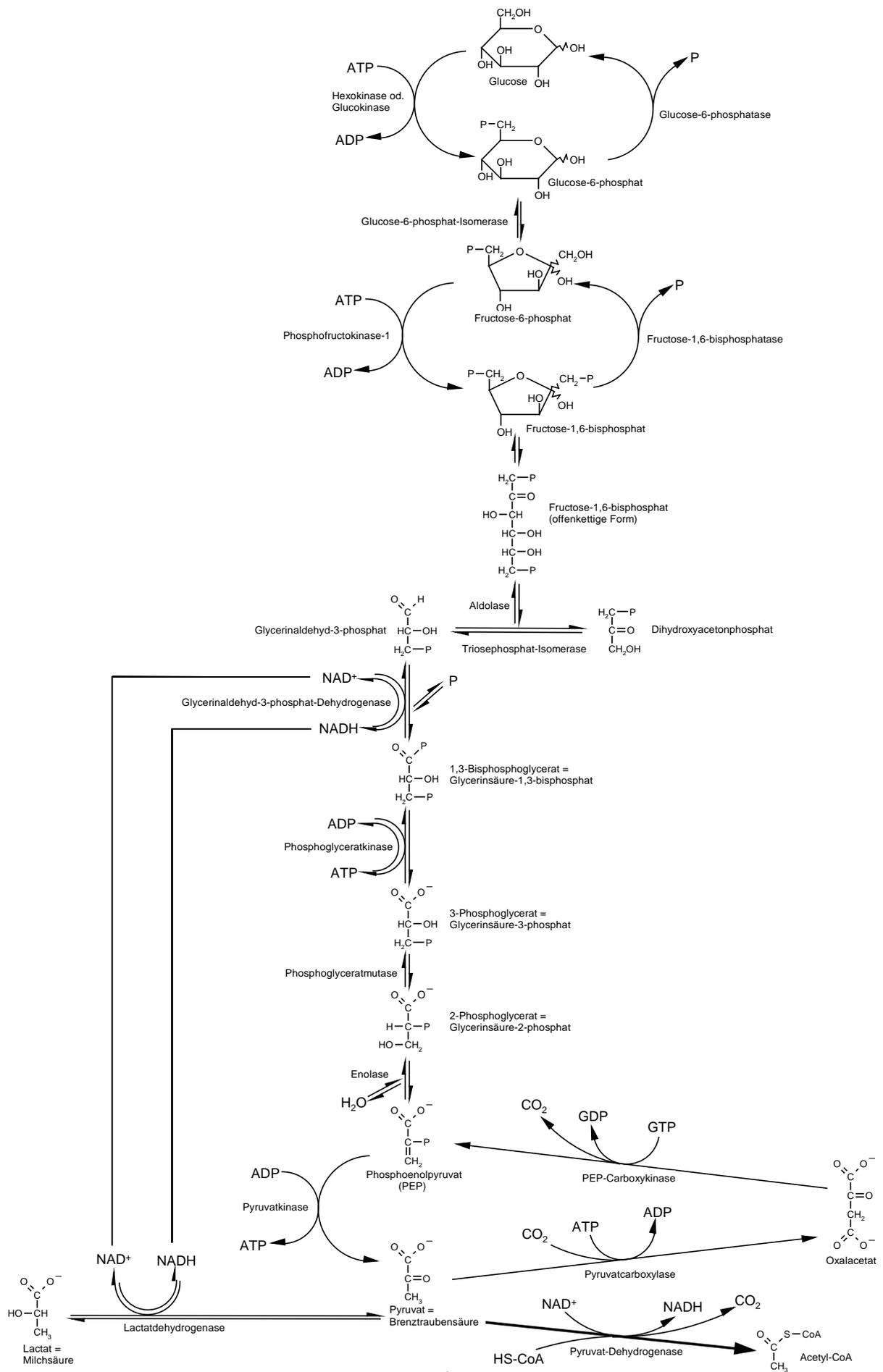
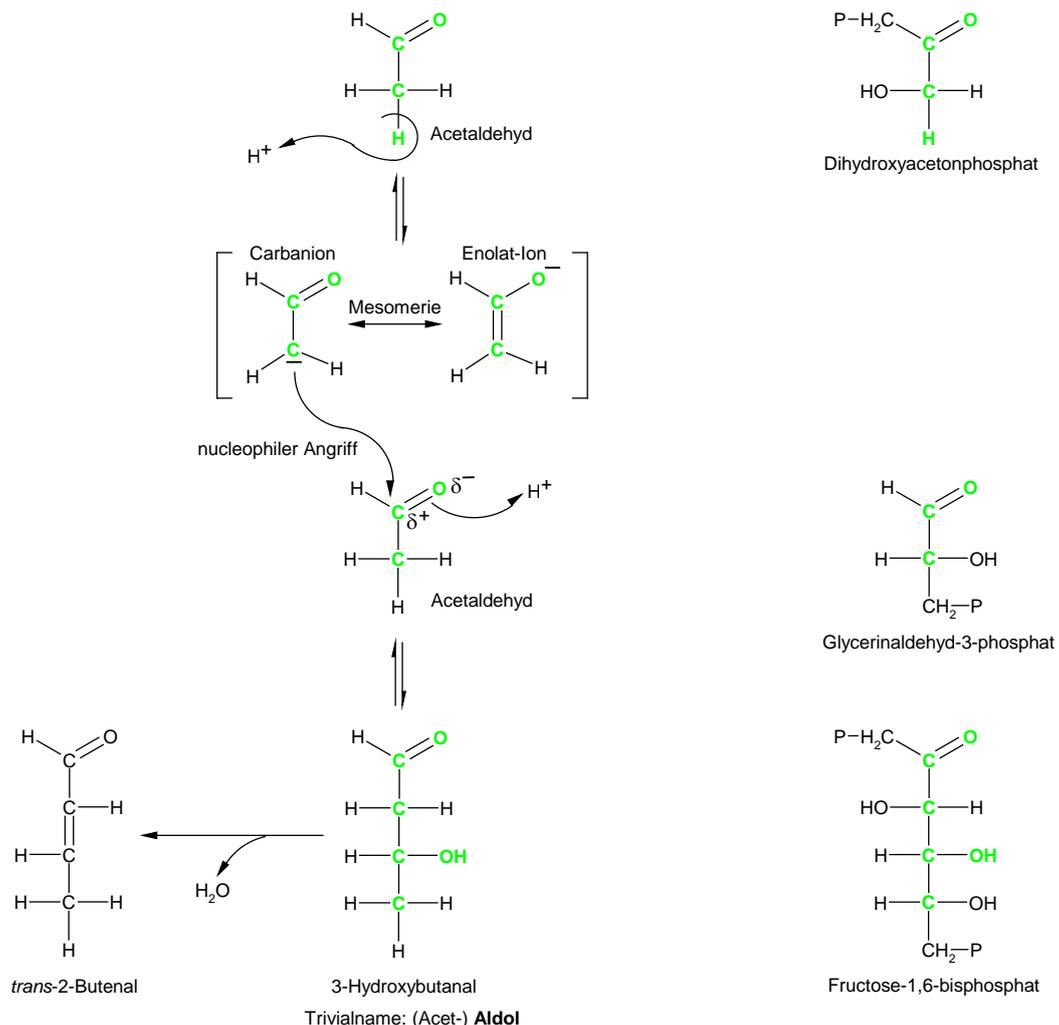


Abb. 1 (nächste Seite). Die Reaktionen der Glycolyse und Gluconeogenese. Phosphatreste sind als P dargestellt.



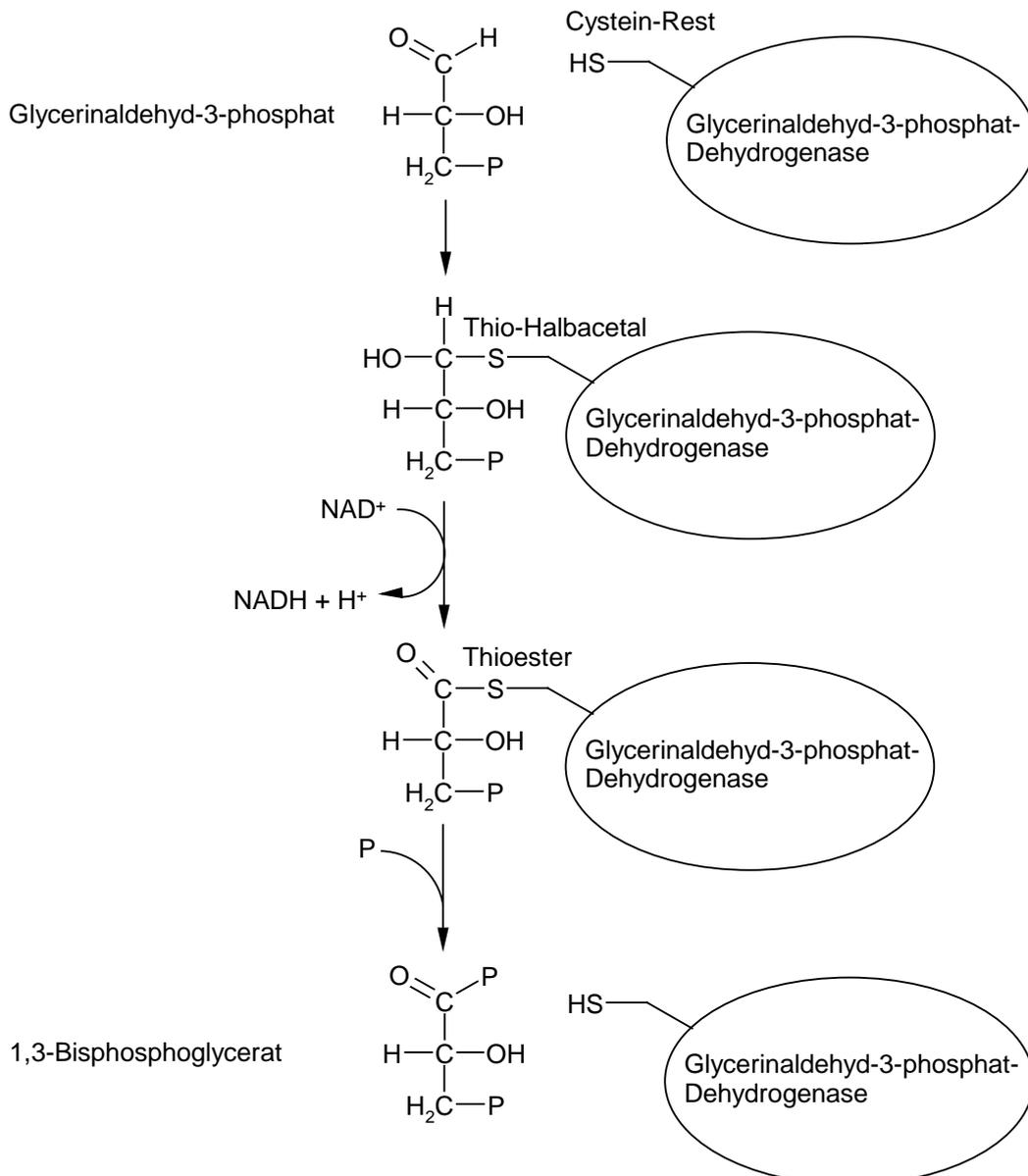
Exkurs: Die Spaltung von Fructose-1,6-bisphosphat ist die Umkehrreaktion einer Aldol-Addition

Die Spaltung von Fructose-1,6-bisphosphat in Glycerinaldehyd-3-phosphat und Dihydroxyacetonphosphat ist die Umkehrreaktion einer **Aldol-Addition**. Deshalb heißt das entsprechende Enzym **Aldolase**. Die Aldol-Addition ist eine allgemeine Reaktion von Carbonyl-Verbindungen, also Aldehyden und Ketonen. Da der Mechanismus kompliziert ist, wird zunächst das klassische Beispiel einer Aldol-Addition zweier Moleküle Acetaldehyd erläutert (linker Teil der untenstehenden Abb.). Die elektronenziehende Wirkung des Sauerstoffatoms der Carbonylgruppe des ersten Acetaldehyd-Moleküls ermöglicht die Deprotonierung des benachbarten C-Atoms. Es liegt damit der ungewöhnliche Fall vor, dass ein an ein Kohlenstoffatom gebundenes Wasserstoffatom als Proton abgespalten werden kann; man spricht von einer C-H-aciden Verbindung. Die entstehende Spezies kann als mesomere Grenzstruktur zwischen dem Carbanion und dem Enolat-Ion beschrieben werden. Die weitere Reaktion lässt sich am leichtesten aus der Struktur des Carbanions verstehen. Das freie Elektronenpaar greift den positiv polarisierten Carbonyl-Kohlenstoff des zweiten Acetaldehyd-Moleküls an (nucleophiler Angriff). Das Produkt trägt den Trivialnamen **Aldol**. Unter bestimmten Bedingungen kann die Eliminierung eines Wassermoleküls folgen, so dass eine Doppelbindung entsteht; man spricht dann von einer **Aldol-Kondensation**. Aldol-Kondensationen spielen eine Rolle bei der Quervernetzung von Kollagen-Fibrillen. Die Reaktion von Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat zu Fructose-1,6-bisphosphat (rechter Teil der untenstehenden Abb.) erfolgt formal nach dem selben Mechanismus wie die Reaktion zwischen den beiden Acetaldehyd-Molekülen.



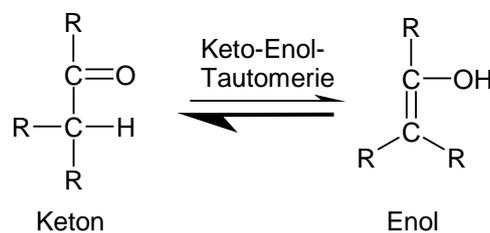
Exkurs: Bei der Bildung von 1,3-Bisphosphoglycerat entsteht eine energiereiche Phosphorsäureanhydrid-Bindung

Treibende Kraft für den ersten ATP-liefernden Schritt ist die Oxidation eines Aldehyds (Glycerinaldehyd-3-phosphat) zu einer Säure (3-Phosphoglycerat = Anion des Glycerinsäure-3-phosphats). Die frei werdende Energie wird zunächst zur Bildung der energiereichen Phosphorsäureanhydrid-Bindung des 1,3-Bisphosphoglycerats genutzt, bevor in der Folgereaktion ATP entsteht. Der katalytische Mechanismus der Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase ist ein typisches Beispiel dafür, wie die bei einer Reaktion frei werdende Energie in Form einer Verbindung mit hohem Phosphatgruppen-Übertragungspotential für den Stoffwechsel nutzbar gemacht wird. Im aktiven Zentrum bildet Glycerinaldehyd-3-phosphat mit einem Cystein-Rest ein Thio-Halbacetal. Durch Übertragung eines Hydrid-Ions (H⁻) auf NAD⁺ entsteht unter Bildung von NADH ein Thioester-Zwischenprodukt. Da die Thioester-Bindung energiereich ist, kann sie unter Anlagerung eines anorganischen Phosphats gespalten werden, so dass die energiereiche Phosphorsäureanhydrid-Bindung entsteht.

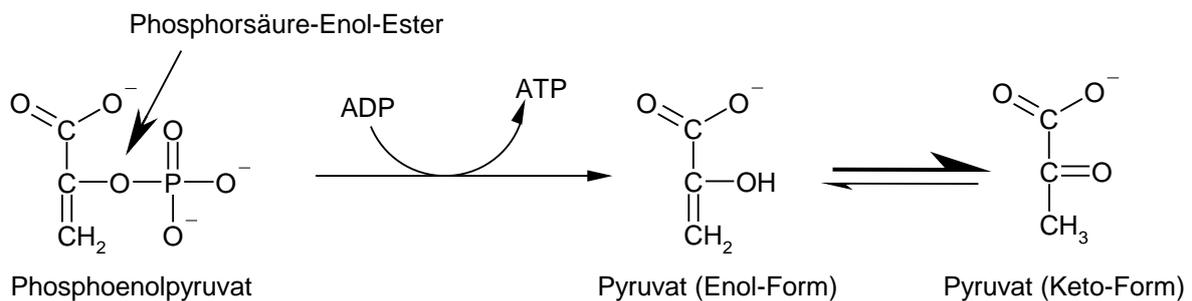


Exkurs: Die Bildung der äußerst energiereichen Verbindung Phosphoenolpyruvat ermöglicht den zweiten ATP-liefernden Schritt

Phosphoenolpyruvat ist eine der energiereichsten in der Biochemie bekannten Verbindungen. Da Phosphoenolpyruvat deutlich energiereicher ist als ATP, ist die ATP-Synthese durch die Übertragung der Phosphatgruppe auf ADP ohne weiteres möglich. Der Grund für den hohen Energiegehalt des Phosphoenolpyruvats ergibt sich aus dem Phänomen der Keto-Enol-Tautomerie. Als Tautomerie bezeichnet man allgemein das Auftreten von Konstitutionsisomeren (Strukturisomeren), die durch Verschiebung einzelner Gruppen hervorgehen. Bei den in der Biochemie relevanten Beispielen handelt es sich um die Verschiebung von Wasserstoffresten. Allgemein liegen Ketone in wässriger Lösung in einem Gleichgewicht zwischen der Keto-Form und der Enol-Form vor.



Beim Pyruvat ist der Anteil der Enol-Form sehr gering (wie bei den meisten Ketonen). Das Gleichgewicht liegt also stark auf der Seite der Keto-Form, die der allgemein üblichen Strukturformel des Pyruvats entspricht. Das Phosphoenolpyruvat stellt die mit einem Phosphorsäurerest veresterte Enol-Form des Pyruvats dar. Dieser Phosphatrest verhindert die spontane Umwandlung in die Keto-Form. Erst nach der an die ATP-Synthese gekoppelten Abgabe der Phosphatgruppe kann die wesentlich stabilere Keto-Form angenommen werden. Die treibende Kraft für das hohe Phosphatgruppen-Übertragungspotential des Phosphoenolpyruvats ist also das Bestreben der Enol-Form des Pyruvats in die Keto-Form überzugehen.



Die Reaktionen der Gluconeogenese

Folgende Reaktionen sind für die Gluconeogenese spezifisch und stellen keine Umkehrreaktionen der Glycolyse dar:

- (1) die Umwandlung von Pyruvat in Phosphoenolpyruvat
- (2) die Umwandlung von Fructose-1,6-bisphosphat in Fructose-6-phosphat
- (3) die Umwandlung von Glucose-6-phosphat in Glucose.

Der Grund, warum die Umwandlung von Pyruvat in Phosphoenolpyruvat nicht durch Umkehr der glycolytischen Reaktion möglich ist, wird offensichtlich, wenn man bedenkt, dass Phosphoenolpyruvat deutlich energiereicher ist als ATP. Es muss also mehr Energie aufgewandt werden, als durch den Verbrauch eines ATP-Moleküls freigesetzt würde. In der Gluconeogenese wird daher das Pyruvat zunächst durch Anlagerung eines CO_2 -Moleküls unter ATP-Verbrauch zu Oxalacetat carboxyliert. Anschließend wird das CO_2 -Molekül unter GTP-Verbrauch wieder abgespalten. Dabei entsteht Phosphoenolpyruvat. Da ATP und GTP energetisch gleichwertig sind, werden zwei ATP-Äquivalente verbraucht. Die durch die ATP-Spaltung frei werdende Energie des ersten Teilschritts wird in der relativ labilen Carboxylgruppe des Oxalacetats zwischengespeichert. Die Abspaltung dieser Carboxylgruppe als CO_2 im zweiten Teilschritt bei gleichzeitiger Spaltung von GTP ermöglicht die Bildung des Phosphoenolpyruvats.

Ebenfalls leicht verständlich ist, warum die Bildung von Fructose-6-phosphat aus Fructose-1,6-bisphosphat bzw. Glucose aus Glucose-6-phosphat nicht durch Umkehrreaktionen der Glycolyse erfolgen kann. Die formale Umkehrung der glycolytischen Reaktionen würde bedeuten, dass die an den Zuckern gebundenen Phosphatgruppen auf ADP übertragen würden, so dass ATP entstünde. Dies ist nicht möglich, da diese Phosphatgruppen als energiearme Phosphorsäureester gebunden sind. Daher werden in der Gluconeogenese die Phosphatgruppen durch Phosphatasen (Fructose-1,6-bisphosphatase und Fructose-6-phosphatase) hydrolytisch ohne Energiegewinn abgespalten. Die Bildung der freien Glucose im letzten Schritt der Gluconeogenese erfolgt im Endoplasmatischen Retikulum. Dazu gelangt Glucose-6-phosphat zunächst über einen Transporter in das Lumen des Endoplasmatischen Retikulums, wo es durch die mit der Membran assoziierte Glucose-6-phosphatase gespalten wird. Die Glucose kann so direkt in den Extrazellulärraum und schließlich ins Blut gelangen.

Der Cori-Cyclus

Bei intensiver Arbeit findet im Muskel zur Energieversorgung anaerobe Glycolyse statt (Abb. 2). Das gebildete Lactat (Milchsäuregärung) gelangt über das Blut in die Leber. Dort wird es über die Gluconeogenese in Glucose verwandelt. Die Glucose wird über das Blut wieder dem Muskel zur Verfügung gestellt. Diese Zusammenhänge werden nach den Entdeckern Gerty Cori und Carl Cori Cori-Cyclus genannt.

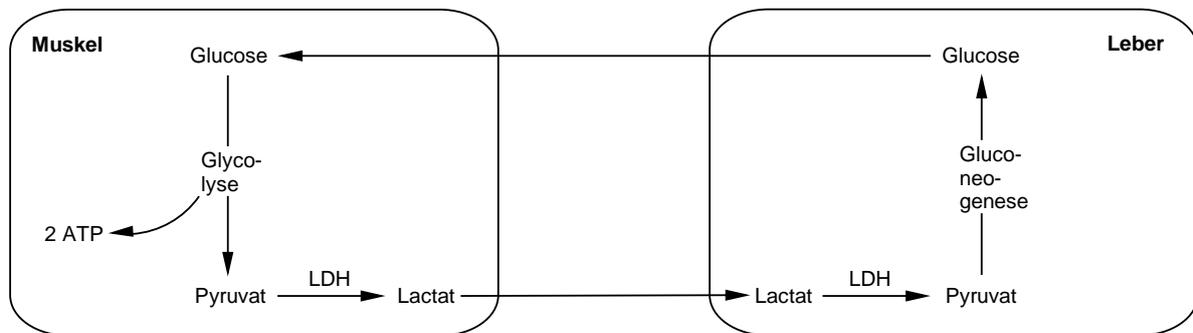
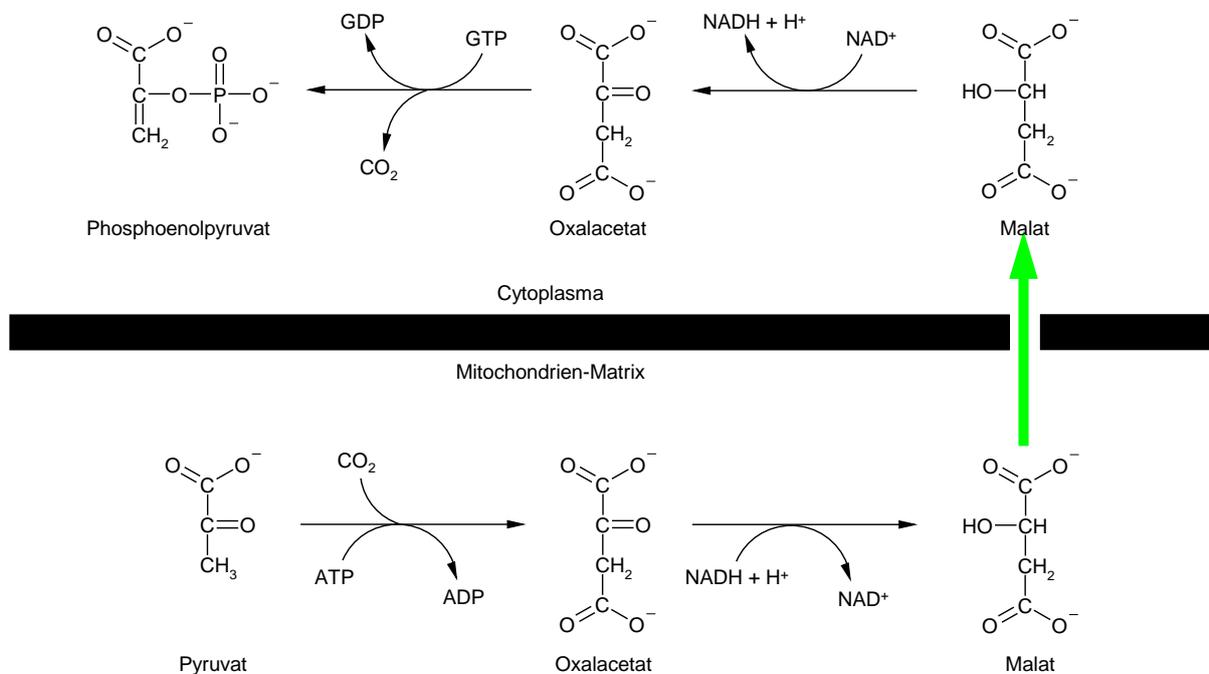


Abb. 2. Cori-Cyclus. LDH = Lactat-Dehydrogenase.

Exkurs: Oxalacetat entsteht in den Mitochondrien und wird als Malat ins Cytoplasma exportiert

Die Umwandlung von Pyruvat in Phosphoenolpyruvat erfordert bei detaillierterer Betrachtung zwei weitere Teilreaktionen. Da die Pyruvatcarboxylase ein mitochondriales Enzym ist, muss das gebildete Oxalacetat ins Cytoplasma ausgeschleust werden. Dazu wird das Oxalacetat zu Malat reduziert, das die innere Mitochondrienmembran durch einen spezifischen Transporter passieren kann. Die äußere Mitochondrienmembran enthält große Poren und stellt daher keine Diffusionsbarriere für kleine Moleküle dar. Im Cytoplasma wird das Malat wieder zu Oxalacetat oxidiert. Da bei der intramitochondrialen Reduktion von Oxalacetat zu Malat NADH verbraucht und bei der cytoplasmatischen Oxidation von Malat zu Oxalacetat NADH freigesetzt wird, hat dieser Exportmechanismus zur Folge, dass in der Stoffbilanz NADH aus den Mitochondrien in das Cytoplasma transportiert wird, wo es für die Umwandlung von 1,3-Bisphosphoglycerat in Glycerinaldehyd-3-phosphat benötigt wird.



Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese in der Leber

Allgemeine Prinzipien

In der Leber werden Glycolyse und Gluconeogenese abhängig von der aktuellen Stoffwechselsituation so reguliert, dass innerhalb einer Zelle im Wesentlichen nur einer der beiden Wege abläuft. Kontrollpunkte sind die charakteristischen irreversiblen Reaktionen. Der wichtigste Mechanismus ist die **allosterische Regulation** der entsprechenden Enzyme. Als weiterer Mechanismus wird die Aktivität eines Teils dieser Enzyme hormonabhängig durch Phosphorylierung beeinflusst (**Interkonversion**). Ebenfalls hormonabhängig kann die Konzentration der aktuell benötigten Enzyme durch Aktivierung der Genexpression erhöht werden (**Induktion**). Allosterische Regulation, Interkonversion und Induktion wirken typischerweise innerhalb von Millisekunden, wenigen Sekunden bzw. Stunden.

Im Detail ist die Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese der Leber ausgesprochen komplex und nicht vollständig verstanden. Die übergeordneten Prinzipien der Regulation spiegeln die besondere Aufgabe der Leber bei der Homöostase des Blutglucosespiegels wider. Bei hohem Blutglucosespiegel findet praktisch keine Gluconeogenese statt, und die Glycolyse wird stimuliert. Das entstehende Pyruvat kann in Acetyl-CoA und weiter in Fettsäuren umgewandelt werden, die nach Veresterung zu Triacylglyceriden mit den Lipoproteinen sehr geringer Dichte (VLDL) über das Blut u.a. ins Fettgewebe exportiert werden. Gleichzeitig wird die Glycolyse durch verschiedene Rückkopplungsmechanismen so weit gedrosselt, dass kein übermäßiger Glucoseverbrauch stattfindet und das Anlegen von Glycogenspeichern ermöglicht wird. Bei geringem Blutglucosespiegel überwiegt die Gluconeogenese, so dass aus verschiedenen Metaboliten Glucose gebildet und ans Blut abgegeben werden kann.

Die allosterische Regulation erlaubt eine schnelle Reaktion auf die Verfügbarkeit von Substraten, den Bedarf an Produkten und den Energiestatus innerhalb einer Zelle. Eine Anpassung an die physiologische Situation des Gesamtorganismus ist durch die hormonabhängigen Mechanismen gewährleistet. Glucagon, Adrenalin und Cortisol hemmen die Glycolyse der Leber und aktivieren die Gluconeogenese. Als Gegenspieler aktiviert Insulin die Glycolyse und hemmt die Gluconeogenese.

Glucagon wird als Hungersignal gebildet und dient in allererster Linie der Erhöhung des Blutglucosespiegels. Zielorgan des Glucagons ist fast ausschließlich die Leber. **Adrenalin** zeigt zum Teil sehr unterschiedliche Wirkungen an verschiedenen Organen mit dem übergeordneten Zweck, den Organismus kurzfristig in eine erhöhte Leistungsfähigkeit zu versetzen. Die molekulare Wirkung von sowohl Glucagon als auch Adrenalin in den Leberzellen erfolgt über eine Erhöhung der cAMP-Konzentration. Durch cAMP wird die Proteinkinase A aktiviert, die wiederum bestimmte Enzyme phosphoryliert (Interkonversion). Außerdem existieren cAMP-abhängige Mechanismen, die zu einer erhöhten Expression der Gene führen, die für die Enzyme der Gluconeogenese codieren (Induktion). Eine der vielen Funktionen des **Cortisols** als Hormon zur längerfristigen Anpassung an Belastungssituationen besteht in der Steigerung der Gluconeogenese zur Stabilisierung des Blutglucosespiegels trotz Nahrungsmangels. Cortisol wirkt wie alle Steroidhormone primär über die Induktion der Zielenzyme. Die Funktion des **Insulins** besteht darin, die mit einer Mahlzeit aufgenommenen Nährstoffe einer Verwertung zum Aufbau von Körperstrukturen bzw. zum Anlegen von Speichern (Fett, Glycogen) zuzuführen. Der molekulare Wirkmechanismus des Insulins besteht u.a. in einer Verringerung der cAMP-Konzentration, so dass sich ein zu Glucagon und Adrenalin antagonistischer Effekt ergibt. Außerdem wirkt Insulin über Induktion der Schüsselenzyme der Glycolyse.

Erster Kontrollpunkt: Hexokinase, Glucokinase, Glucose-6-phosphatase

Die Reaktion von Glucose zu Glucose-6-phosphat wird in allen Geweben durch das Enzym **Hexokinase** katalysiert (Abb. 3). Die Regulation der Hexokinase erfolgt durch negative Rückkopplung, indem das Enzym durch sein Produkte (Glucose-6-phosphat) gehemmt wird (**feedback-Hemmung**). Charakteristisch für die Leber ist das zusätzliche Vorkommen eines zweiten Enzyms, der **Glucokinase**, das die selbe Reaktion katalysiert. Die Substratspezifität der Hexokinase ist gering, so dass neben Glucose auch andere C₆-Zucker (Hexosen) phosphoryliert werden können. Dagegen akzeptiert die Glucokinase nur Glucose als Substrat. Außerdem ist der K_M -Wert der Glucokinase wesentlich höher (ca. 50fach) als der K_M -Wert der Hexokinase. Als weiterer Unterschied wird die Glucokinase nicht durch Glucose-6-phosphat gehemmt. Stattdessen existieren für die Glucokinase kompliziertere Regulationsmechanismen unter Beteiligung des sog. Glucokinase-regulierenden Proteins (hier nicht beschrieben). Als Folge dieser doppelten Enzymausstattung findet in der Leber bei niedrigem Blutglucosespiegel nur eine niedrige glycolytische Basisaktivität vorwiegend über die Hexokinase statt. Dadurch können bei knappem Glucoseangebot zuerst das Gehirn und andere Organe versorgt werden. Erst bei hohen Blutglucosespiegeln kommt die Aktivität der Glucokinase zum Tragen, so dass größere Mengen Glucose durch die Leber umgesetzt und zur Fettsäure- und Glycogensynthese genutzt werden können. Im Gegensatz zur Hexokinase ist die Glucokinase durch Insulin induzierbar. Die **Glucose-6-phosphatase** wird durch Glucagon, Adrenalin und Cortisol induziert.

Außer in der Leber kommt die Glucokinase auch in den β -Zellen der Bauchspeicheldrüse vor. Dadurch findet in den β -Zellen erst bei hohen Glucosekonzentrationen ein intensiver glycolytischer Umsatz statt. Der resultierende Anstieg der ATP-Konzentration ist ein Auslöser der Insulin-Ausschüttung.

Zweiter Kontrollpunkt: Phosphofruktokinase 1, Phosphofruktokinase 2, Fruktose-1,6-bisphosphatase

Die Phosphorylierung von Fructose-6-phosphat zu Fructose-1,6-bisphosphat durch die Phosphofruktokinase 1 ist der erste irreversible Schritt, der ausschließlich bei der Glycolyse stattfindet. Im Gegensatz dazu wird das in der Hexokinase- bzw. Glucokinase-Reaktion erzeugte Glucose-1-phosphat auch als Ausgangssubstanz für die Glycogensynthese und den Pentosephosphatweg benötigt. Allgemein wird die erste irreversible Reaktion, die für einen Stoffwechselweg charakteristisch ist, als **Schrittmacherreaktion** (*committed step*) bezeichnet. Das Enzym, das die Schrittmacherreaktion katalysiert, ist in der Regel der wichtigste Kontrollpunkt. Eine zentrale Rolle bei der Regulation der **Phosphofruktokinase 1** spielt das Signalmolekül **Fruktose-2,6-bisphosphat**. Außer der Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese sind keine weiteren Funktionen dieses Moleküls bekannt. Fruktose-2,6-bisphosphat wird mit Hilfe eines speziellen Enzyms, der **Phosphofruktokinase 2**, durch Phosphorylierung von Fructose-6-phosphat gebildet. Daher ist die Konzentration von Fruktose-2,6-bisphosphats ein Maß für die Verfügbarkeit von Fructose-6-phosphat. Fruktose-2,6-bisphosphat ist ein allosterischer Aktivator der Phosphofruktokinase 1. Einen derartigen Regulationsmechanismus, bei dem ein Metabolit ein Enzym aktiviert, das einen späteren Schritt in der Reaktionsfolge katalysiert, bezeichnet man als **feedforward-Aktivierung**. (Dieses Beispiel ist allerdings ungewöhnlich kompliziert, da die *feedforward*-Aktivierung der Phosphofruktokinase 1 durch Fructose-6-phosphat indirekt über Fruktose-2,6-bisphosphat geschieht.)

Die Phosphofruktokinase 2 der Leber wird unter der Wirkung von Glucagon oder Adrenalin phosphoryliert (Interkonversion). Dadurch verliert das Enzym seine Kinase-Aktivität und gewinnt eine Phosphatase-Aktivität, so dass es die Dephosphorylierung von Fructose-2,6-bisphosphat zu Fructose-6-phosphat katalysiert und damit indirekt die Glycolyse hemmt. Deshalb wird die **Phosphofruktokinase 2** auch als **Phosphofruktokinase-2/Fructose-2,6-bisphosphatase** oder einfach nur „**das Bifunktionelle Enzym**“ bezeichnet. Außer durch Fructose-2,6-bisphosphat wird die Phosphofruktokinase 1 durch AMP als Signal für eine niedrige Energieladung der Zelle aktiviert. Gehemmt wird die Phosphofruktokinase 1 durch Moleküle, die eine hohe Energieladung anzeigen, nämlich ATP und Citrat. Das in der Gluconeogenese aktive Enzym **Fructose-1,6-bisphosphatase** wird durch die selben Signalmoleküle reguliert wie die Phosphofruktokinase 1, allerdings im umgekehrten Sinn.

Dritter Kontrollpunkt: Pyruvatkinase, Pyruvatcarboxylase, PEP-Carboxykinase

Die **Pyruvatkinase** wird durch Fructose-1,6-bisphosphat aktiviert, so dass auch dieses Enzym über eine *feedforward*-Aktivierung reguliert wird. Außerdem unterliegt die Pyruvatkinase einer *feedback*-Hemmung durch ATP und Alanin als Indikatoren für eine hohe Energieladung. Alanin steht über eine reversible Reaktion (eine Transaminierungsreaktion) im Gleichgewicht mit Pyruvat und ist daher auch eine wichtige Ausgangssubstanz der Gluconeogenese. Unter der Wirkung von Glucagon oder Adrenalin wird die Pyruvatkinase der Leber durch Phosphorylierung (Interkonversion) inaktiviert.

Die beiden in der Gluconeogenese aktiven Enzyme **Pyruvatcarboxylase** und **PEP-Carboxykinase** werden durch ADP als Signal für eine niedrige Energieladung gehemmt. Die Pyruvatcarboxylase wird außerdem durch Acetyl-CoA aktiviert. Acetyl-CoA entsteht aus Pyruvat in einer irreversiblen Reaktion durch die Pyruvatdehydrogenase und wird in den Citratcyclus eingespeist. Außerdem wird Acetyl-CoA beim Abbau von Fettsäuren gebildet. Acetyl-CoA (neben ATP und NADH) hemmt die Pyruvatdehydrogenase, so dass insbesondere bei vorherrschendem Fettabbau Pyruvat für die Gluconeogenese genutzt werden kann.

Die Pyruvatdehydrogenase-Reaktion wird nicht als Teil der Glycolyse angesehen, ist aber im Zusammenhang mit der Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese interessant.

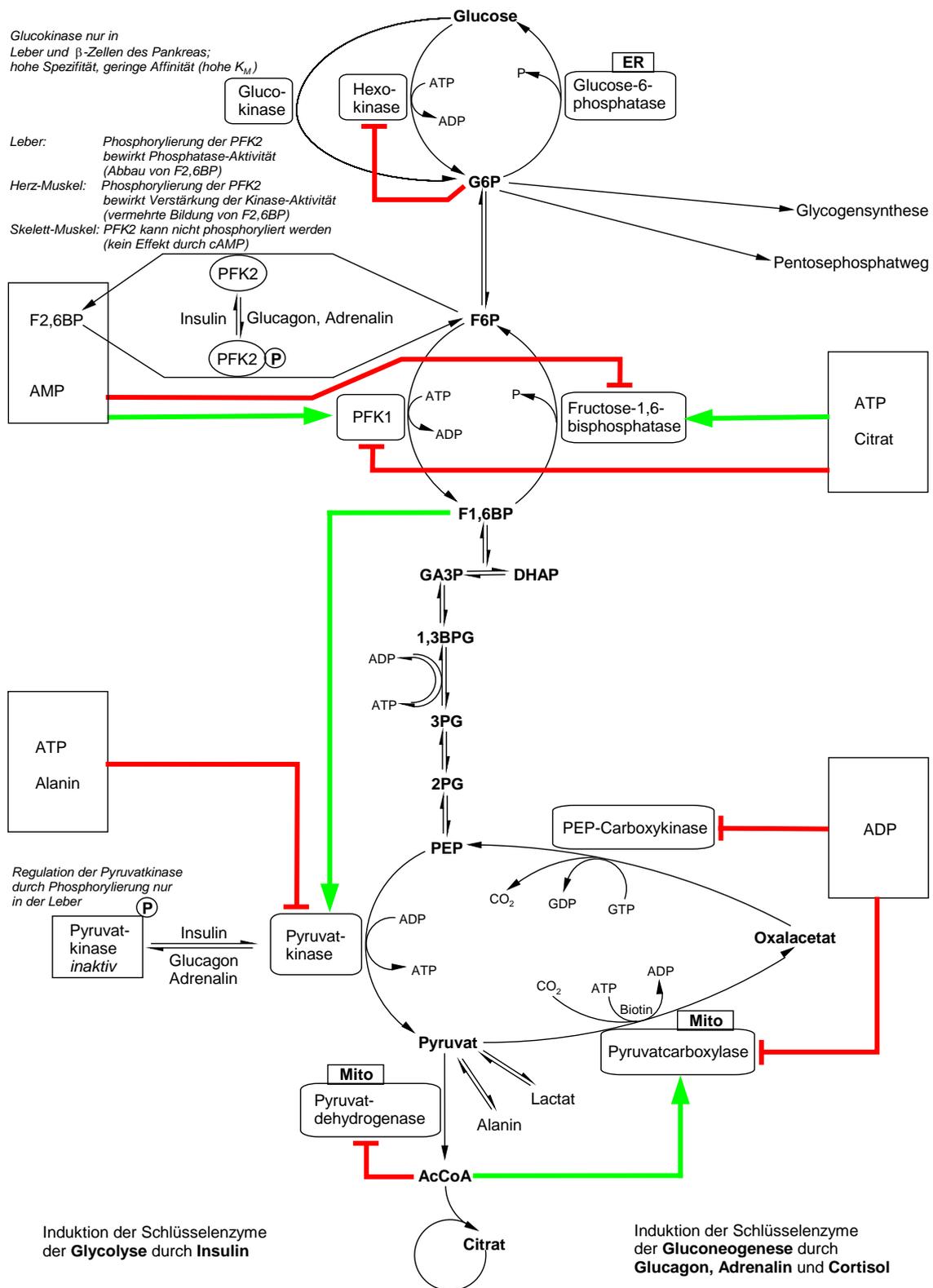


Abb. 3. Regulation der Glycolyse und Gluconeogenese.

Regulation der Glycolyse in den Skelettmuskeln und im Herzmuskel

Auch in den Skelettmuskeln und im Herzmuskel ist die Glycolyse durch Mechanismen, die im Detail noch Gegenstand aktueller Forschung sind, reguliert. Die Gluconeogenese spielt in diesen Geweben keine wichtige Rolle. Die allosterische Regulation erfolgt nach ähnlichen Mechanismen wie in der Leber. Offensichtliche Unterschiede gibt es vor allem bei der hormonellen Regulation, insbesondere durch Adrenalin. In der Leber bewirkt Adrenalin eine Hemmung der Glycolyse und eine Aktivierung der Gluconeogenese, so dass Glucose ans Blut abgegeben und den Muskeln als Energielieferant zur Verfügung gestellt wird. Um die Glucose für den Energiegewinn nutzen zu können, darf die Glycolyse in den Muskelzellen nicht gehemmt werden. Dies wird dadurch erreicht, dass im Muskel eine Variante der Phosphofruktokinase 2 vorkommt, die nicht phosphoryliert werden kann und daher unter Adrenalinwirkung nicht den Abbau von Fructose-2,6-bisphosphat katalysiert. Ebenso kann die Pyruvatkinase des Muskels nicht durch Phosphorylierung inaktiviert werden. Wegen der Nichtexistenz dieser negativen Regulationsmechanismen und dem erhöhten Glucoseangebot wird die Glycolyse im Muskel unter Adrenalinwirkung effektiv stimuliert. Im Herzmuskel kommt eine weitere Variante der Phosphofruktokinase 2 vor, die unter Adrenalinwirkung an einer anderen Stelle phosphoryliert wird als das entsprechende Enzym der Leber. Als Folge kommt es zu einer Erhöhung der Kinaseaktivität, so dass vermehrt Fructose-2,6-bisphosphat gebildet und die Glycolyse stimuliert wird.

Allgemein bezeichnet man Enzyme, die dieselben Reaktionen katalysieren, sich jedoch in ihren kinetischen Eigenschaften (V_{\max} , K_M) und/oder ihrer Regulierbarkeit durch verschiedene Effektormoleküle unterscheiden, als **Isoenzyme** oder **Isozyme**. Oft entstehen Isoenzyme durch alternatives Spleißen des Transkripts eines einzigen Gens oder durch Expression verschiedener Gene, die evolutionär durch Genduplikationen entstanden sind. Isoenzyme werden meist gewebs- oder organellspezifisch oder in unterschiedlichen Entwicklungsphasen gebildet.

Quellen:

Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L. Biochemie. 6. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Elsevier GmbH, München 2007.

Löffler, G.; Petrides, P. E.; Heinrich, P. C. Biochemie und Pathobiochemie. 8. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2007.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, Michels PA, Rousseau GG, Hue L. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J. 2004 Aug 1;381(Pt 3):561-79.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Glykolyse>, abgerufen am 14.04.2013