
Hoofdstuk 2

Metabolisme van koolhydraten

Koolhydraten (Suikers)

Koolhydraten zijn koolstofverbindingen die grote hoeveelheden hydroxylgroepen bevatten. De eenvoudigste koolhydraten bevatten ook ofwel een aldehyde deel (deze worden **polyhydroxyaldehyden** genoemd) of een keton deel (dit zijn de **polyhydroxyketonen**). Alle koolhydraten kunnen worden ingedeeld als **monosaccharides**, **oligosacchariden** of **polysaccharides**. Oligosacchariden hebben twee tot tien monosaccharide eenheden, gekoppeld door glycosidische verbindingen. Polysaccharides zijn veel groter, met honderden monosaccharide eenheden. De aanwezigheid van de hydroxylgroepen maakt het mogelijk koolhydraten om te interageren met de waterige omgeving en om deel te nemen aan waterstof binding, zowel binnen als tussen ketens. Enkele koolhydraten kunnen tevens stikstof, fosfaten en zwavelverbindingen bevatten. Koolhydraten kunnen ook combineren met lipiden om **glycolipiden** te vormen of met eiwitten om **glycoproteïnen** te vormen.

Metabolisme van koolhydraten

Monosacchariden

De monosaccharides worden ingedeeld op basis van het aantal koolstof dat ze in hun basisstructuur bevatten. De belangrijkste monosaccharides bij de mens bevatten vier tot zes koolstofatomen.

Tabel met koolhydratenclassificaties

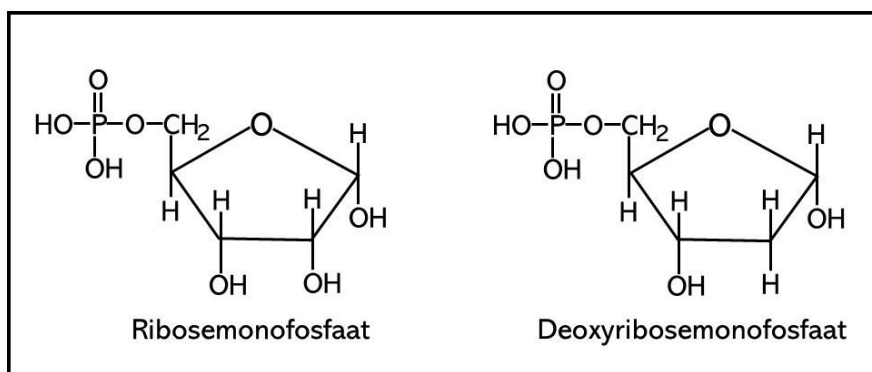
Basisstructuur Aantal koolstof	Categoriennaam	Relevante voorbeelden
3	Triose Triose	Glyceraldehyde, Dihydroxyaceton
4	Tetrose Tetrose	Erythrose Erythrose Erythrose
5	Pentose Pentose	Ribose, deoxyribose, Ribulose, Xylulose
6	Hexose	Glucose, Galactose, Mannose, Fructose
7	Heptose	Sedoheptulose
9	Nietose	Neuraminic zuur, ook wel sialic zuur

De aldehyde en keton delen van de koolhydraten met vijf en zes koolstof zullen spontaan reageren met alcoholgroepen die aanwezig zijn in naburige koolstofatomen om intramoleculaire hemiacetals of hemiketals te produceren, respectievelijk. Dit

Hoofdstuk 2

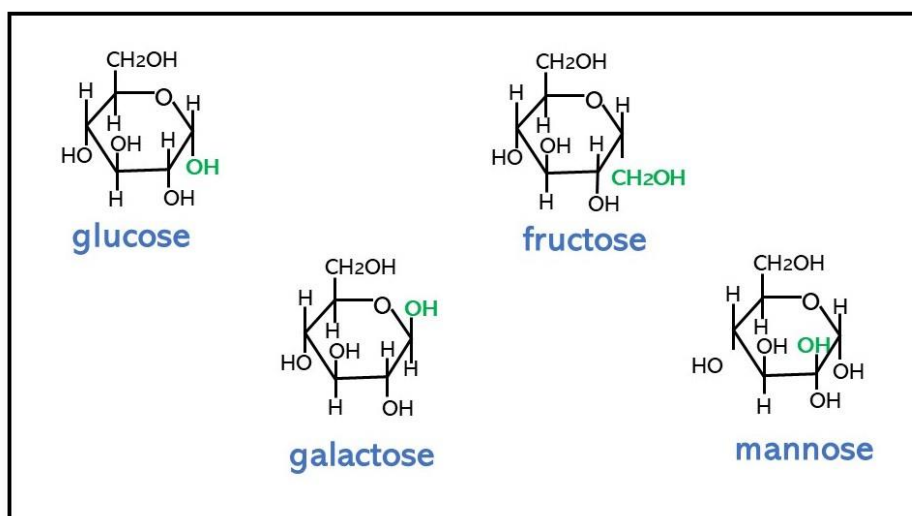
resulteert in de vorming van vijf- of zes ringstructuren. Omdat de vijf-achtige ringstructuur lijkt op het organisch molecuul **furaan**, worden derivaten met deze structuur ook **furanosen** genoemd. De zes-achtige ringstructuren lijken op het organisch molecuul **pyraan** en **pyranosen** worden genoemd.

Tot de furanosen behoren o.a de ribosen en deoxyribosen. Ze behoren als suikeronderdeel van nucleotiden tot bouwstenen van RNA en DNA.



Figuur 2.1 : Structuurformule van ribosemonofosfaat en deoxyribosemonofosfaat

Belangrijke pyranosen zijn glucose, fructose, galactose en maltose (figuur 2.2.)

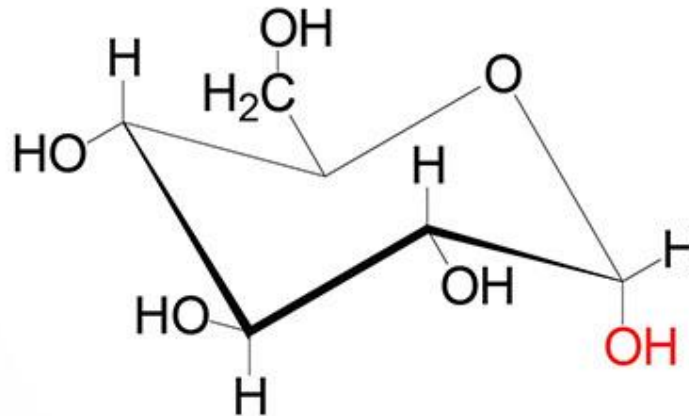


Figuur 2.2 : Structuurformule van glucose, fructose, galactose en mannose

Metabolisme van koolhydraten

Structurele modellen glucose.

De ruimtelijke vorm van de atomen van de furanose- en pyranoseringstructuren worden correcter beschreven door de twee conformaties die zijn geïdentificeerd als de **stoelvorm** en de **bootvorm**. De stoelvorm is de stabielste van de twee.

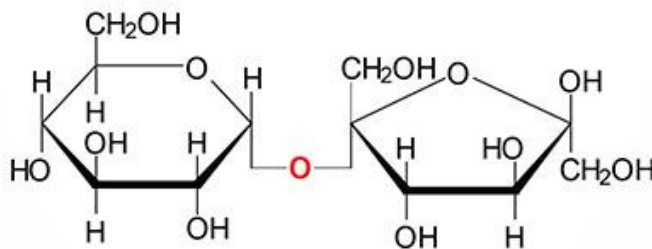


Figuur 2.3. : Stoelvorm van α -D-Glucose

Disacchariden

Covalente bindingen tussen de hydroxyl van een cyclische suiker en de hydroxyl van een tweede cyclische suiker worden **glycosidische bindingen** genoemd, en de resulterende moleculen zijn **glycosiden**. De koppeling van twee monosaccharides om disaccharides te vormen omvat een glycosidische binding.

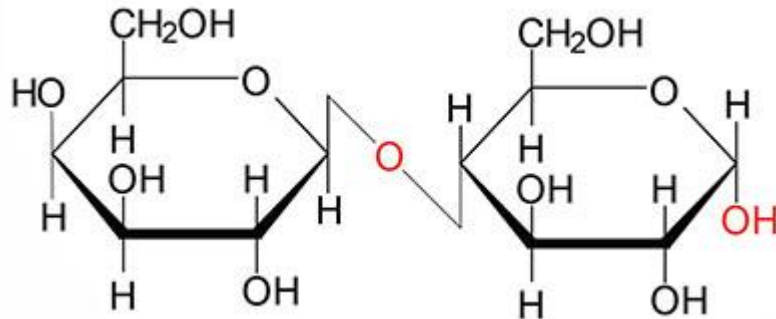
Fysiologisch belangrijke **disacchariden** zijn **sacharose**, **lactose** en **maltose**.



Figuur 2.4. : Structuurformule van sacharose

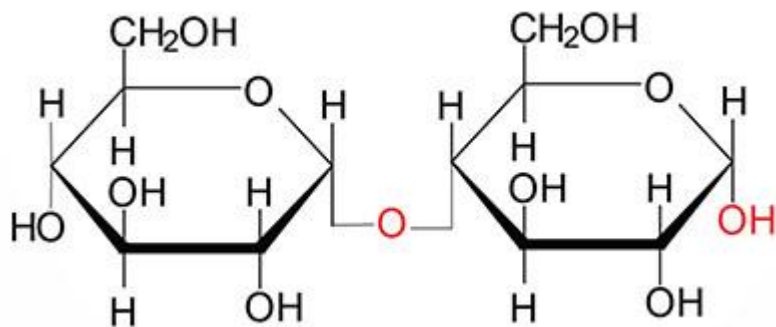
Hoofdstuk 2

Saccharose (rietsuiker): komt voor in suikerriet en suikerbieten. Het bestaat uit glucose en fructose, deze twee monosacchariden zijn gekoppeld door middel van een α -(1,2)- β -glycosidische binding.



Figuur 2. 5. : Structuurformule van lactose

Lactose: komt uitsluitend voor in de melk van zoogdieren en bestaat uit galactose en glucose, die aan elkaar gekoppeld zijn via een β -(1,4) glycosidische binding.



Figuur 2. 6. : Structuurformule van maltose

Maltose: het belangrijkste afbraakproduct van zetmeel. Het bestaat uit 2 glucosemonomeren die aan elkaar gekoppeld zijn via een α -(1,4) glycosidische binding.

Polysacchariden

De meeste koolhydraten, die in de natuur voorkomen, zijn polysacchariden met een hoog moleculaire massa. Hun bouwstenen, de monosacchariden, kunnen divers zijn; in alle gevallen is echter de monosaccharide die

Metabolisme van koolhydraten

in polysacchariden het meest wordt aangetroffen D-glucose. Wanneer een polysaccharide slechts uit één soort monosaccharide is opgebouwd, wordt het een **homopolysaccharide** genoemd. Polysacchariden die uit meer dan één soort monosaccharide bestaan, worden **heteropolysacchariden** genoemd.

Glycogeen

Glycogeen is de belangrijkste polysaccharide bij mens en bij dieren. Dit cruciaal molecuul is een homopolymeer van glucose moleculen, gebonden via α -(1,4) koppeling. Het is ook sterk vertakt. De vertakkingen verlopen via α -(1,6) koppelingen, die elk uit 8-10 residuen bestaan.

Glycogeen is een zeer compacte structuur die doordat polymeerketens zich oprollen. Deze compactheid maakt het mogelijk om grote hoeveelheden koolstofenergie op te slaan in een klein volume, met weinig effect op cellulaire osmolariteit.

Zetmeel

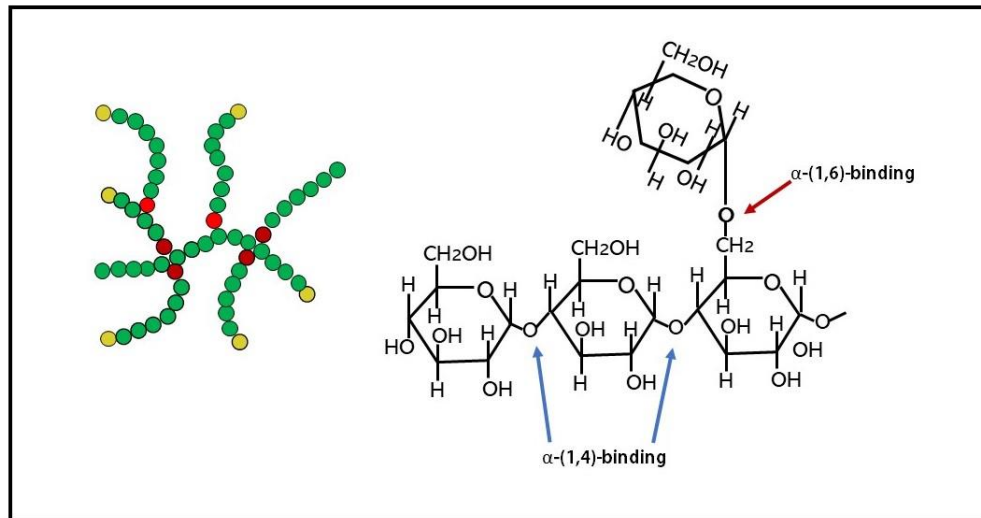
Zetmeel is de belangrijkste vorm van koolhydraten in plantencellen. De structuur is identiek aan die van glycogeen, met uitzondering van een veel lagere mate van vertakking. Onvertakt zetmeel heet **amylose**; vertakte zetmeel heet **amylopectine**.

Glycogeenstructuur

De glucosemonomeren zijn als gekleurde bolletjes weergegeven. De groene bolletjes stellen de glucosemoleculen voor die aan elkaar zijn gekoppeld via α -1,4 glycosidische bindingen. De rode bolletjes zijn de glucosemoleculen op de vertakkingspunten waar, er zowel α -1,4 als α -1,6 glycosidische bindingen zijn. De oranje ballen geven de reducerende uiteinden van de polymere ketens met α 1,4-gekoppelde glucose moleculen aan. Via de pijlen

Hoofdstuk 2

worden de α -1,4- als α -1,6 glycosidische koppelingen toegelicht.



Figuur 2.7 : Structuur van glycogeen

Inleiding tot Glycogeenmetabolisme

De lever is het belangrijke weefsel dat glucose vrijmaakt uit glycogeen en aflevert aan het bloed. Andere weefsels ook synthetiseren glycogeen en glucose afbreken uit glycogeen, maar dit glucose wordt gebruikt voor directe cellulaire energie behoeften. Twee andere primaire weefsels die glucose opslaan als glycogeen, te behoeve van energieopslag, zijn de skeletspier en de hersenen, voornamelijk astrocyten. De nier, hart, en vetweefsel kunnen ook glucose als glycogeen. De glucose in spier- en hersenglycogeen, en andere niet-leverweefsels, is echter niet beschikbaar voor andere weefsels.

Binnen de cellen is glycogeen gelokaliseerd in wat wordt aangeduid als de glycosoom, een complex van eiwitten en glycogeen. De in het glycosoom aanwezige glycogeenstructuren zijn opgebouwd in drie verschillende vormen die α -korrels, β -korrels en γ -deeltjes worden genoemd. Glycogeen β -korrels bestaan voornamelijk uit het glycogeen 'priming enzyme', bestaande uit glycogenine eiwit en

Metabolisme van koolhydraten

polymeren van glucose. Glycogeen α -korrels worden voornamelijk in de lever aangetroffen en worden gevormd uit verschillende β -korrels die zodanig zijn gerangschikt dat ze lijken op de roosjes van broccoli. De glycogeen β -korrels worden beschouwd als de snelle bron van glucose-energie, terwijl de α -korrels worden beschouwd als een langzamere bron van energie.

De belangrijkste plaats van het dagelijkse glucoseverbruik (75%) is de hersenen, via aërobe paden. Het grootste verbruik van de rest, geschiedt door erythrocyten, skeletspieren, en hartspeer. Het lichaam verkrijgt glucose rechtstreeks uit voedsel of uit aminozuren en lactaat via de gluconeogenese. Glucose verkregen uit deze twee primaire bronnen wordt opgelost in het lichaamsvloeistoffen ofwel opgeslagen glycogeen. Glycogeen wordt beschouwd als de belangrijkste opslagvorm van glucose.

Zoals vermeld wordt glycogeen voornamelijk in de lever aangetroffen, hoewel andere weefsels zoals skeletspieren, hersenen, nieren, hart en vetweefsel allemaal in staat zijn om glycogeensynthese en afbraak te krijgen. Met maximaal 10% van zijn gewicht als glycogeen heeft de lever het hoogste specifieke gehalte aan lichaamsweefsel. Spier heeft een veel lagere hoeveelheid glycogeen per eenheid massa van weefsel (1%-2%), maar omdat de totale massa van de spier is zo veel groter dan die van de lever, totale glycogeen opgeslagen in de spier is ongeveer twee keer die van de lever. De hoeveelheid glycogeen in de hersenen is op de orde van 0,1% van het totale weefselgewicht. Glycogeen in de lever worden beschouwd als de belangrijkste buffer van de bloedsuikerspiegel.

Glycogeen homeostase omvat de gecoördineerde regulering van de snelheid van glycogeensynthese (glycogenese) en de snelheid van glycogeenafbraak

(glucogenolyse). Deze twee processen zijn beiderzijds zodanig gereguleerd dat hormonen die glycogenolyse stimuleren (bijvoorbeeld glucagon, cortisol, epinephrinum, noradrenaline) tegelijkertijd glycogenese remmen. Omgekeerd stimuleert insuline, die het lichaam stuurt om overtollige koolstof op te slaan voor toekomstig gebruik, glycogenese en tegelijkertijd glycogenolyse remmen.

Glycogenolyse

Glycogeen Katabolisme in het cytosol

Afbraak van opgeslagen glycogeen, vindt plaats via twee metabole paden, cytosogeen en lysosomaal. De cytosolische route verloopt via de acties van twee enzymen, t.w. het glycogeen fosforylase (GP) en het glycogeen debranching enzym (GDE). Binnen het cytosolische compartiment, met name in skeletspieren, wordt glycogeen fosforylase activiteit gereguleerd door de toestand van fosforylatie, een reactie gekatalyseerd waarbij fosforylase kinase (PHK: ook wel glycogeen synthase glycogeen fosforylase kinase) is betrokken. De activiteit van PHK wordt zelf geregeld door fosforylatie en door zijn Ca^{2+} -bindende subunit, calmodulin. De associatie van glycogeenfolysysen en PHK op SR-membranen zorgt voor snelle glycogenolyse in reactie op spiercelactivering en afgifte van SR opgeslagen Ca^{2+} .

Mensen drukken drie genen uit die eiwitten coderen met glycogeenfolysfoylaseactiviteit. Een gen (PYGL) drukt de levervorm van het enzym uit, een tweede (PYGM) drukt de spiervorm (myophosphorylase) uit, en de derde (PYGB) drukt de hersenvorm uit.

Het PYGM-gen bevindt zich op chromosoom 11q13.1 en bestaat uit 20 exonen die twee splice variant mRNAs genereren. De twee verschillende PYGM-

Metabolisme van koolhydraten

eiwitten die resulteren worden aangeduid als isoform 1 (842 aminozuren) en isoform 2 (754 aminozuren).

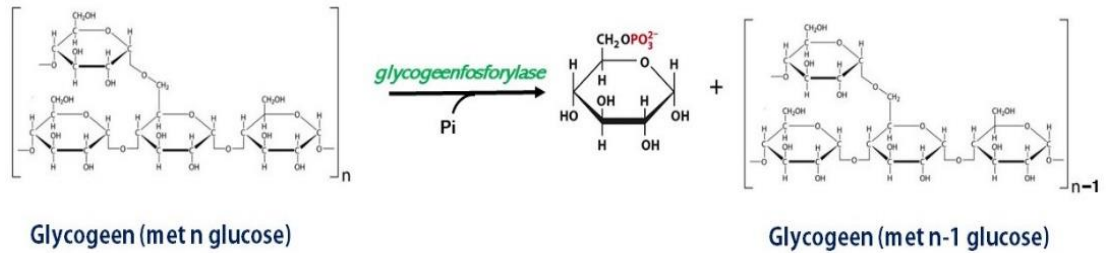
Het PYGL-gen bevindt zich op chromosoom 14q22.1 en bestaat, net als het PYGM-gen, uit 20 exonen die twee splice-variant mRNAs genereren. De twee verschillende PYGL-eiwitten die resulteren worden aangeduid als isoform 1 (872 aminozuren) en isoform 2 (813 aminozuren).

Het PYGB-gen bevindt zich op chromosoom 20p11.21 en bestaat ook uit 20 exonen die een eiwit van 843 aminozuren coderen. Hoewel bij voorkeur uitgedrukt in de hersenen, lage niveau expressie van het PYGB-gen wordt gezien in volwassen lever en skeletspier.

De enzymatische functies van de verschillende glycogeen fosforylase gen gecodeerde enzymen zijn identiek, maar hun mechanismen van regulering hebben weefsel specifieke kenmerken in aanvulling op een aantal gelijkenissen. Bovendien verklaren mutaties in specifieke glycogeenfosforylasegenen de weefsel specifieke aard van een aantal van de hieronder besproken glycogeenopslagziekten.

Biologisch actieve glycogeenfosforylase bestaat als homodimer. Elke subunit bindt de vitamine B6-afgeleide cofactor, pyridoxale fosfaat, PLP. Naast de PLP-bindende locaties en de katalytische plaatsen van homodimerisch glycogeenfosforylase, bevat het enzym allosterische regulerende locaties en fosforylatielocaties zoals beschreven in de onderstaande sectie betreffende verordening van Glycogeenkatabolisme. De meerderheid van glycogeen fosforylase is gebonden aan glycogeenkorrels via een domein dat de opslagplaats glycogeen wordt genoemd. De binding aan glycogeen maakt het mogelijk glycogeenfosforylase om opgeslagen glucose snel vrij te geven in reactie op fysiologische eisen.

Hoofdstuk 2



Figuur 2. 8 : Reactie gekatalyseerd door *glycogeenfosforylase*

De katalytische werking van fosforylase is het fosforolytisch verwijderen van enkele glucoseresten uit α -(1,4)-koppelingen binnen de glycogeenmoleculen. Het product van deze reactie is glucose-1-fosfaat en een glycogeenmolecuul met één glucoseresidu. Het voordeel van de reactie die door een fosforolytische stap gaat is dat:

1. De glucose wordt verwijderd uit glycogeen is een geactiveerde toestand, d.w.z. fosforylated en dit gebeurt zonder ATP hydrolyse.
2. De concentratie van P_i in de cel is hoog genoeg om het evenwicht van de reactie in de gunstige richting te drijven, omdat de vrije energieverandering van de standaardstaatreactie positief is.

De glucose-1-fosfaat geproduceerd door de werking van fosforylase wordt omgezet in glucose-6-fosfaat door fosfoglucomutase (fosfohexosemutase): dit enzym, net als fosfoglycogeen mutase van glycolyse, bevat een gefosforyleerd aminozuur in de actieve plaats (in het geval van fosfoglucomutase het is een Serine residu). Het enzymfosfaat wordt overgebracht naar C-6 van glucose-1-fosfaat genererende glucose-1,6-bisfosfaat als tussenproduct. Het fosfaat op C-1 wordt vervolgens overgebracht naar het enzym regenererend actief enzym en glucose-6-fosfaat is het vrijgekomen product.

Metabolisme van koolhydraten

Er zijn vier verschillende fosfoglucomutase genen bij de mens geïdentificeerd als PGM1, PGM2, PGM3, en PGM5. Het eiwit gecodeerd door het PGM5-gen wordt fosfoglucomutase-achtig eiwit 5 genoemd. Het PGM1-gen wordt uitgedrukt in de meeste weefsels, terwijl PGM2-expressie de overhand heeft in rode bloedcellen.

Het PGM1-gen bevindt zich op chromosoom 1p31.3 en bestaat uit 13 exonen die drie alternatieve spliced mRNAs en drie isovormen van dit enzym genereren. Mutaties in het PGM1-gen worden geassocieerd met de aangeboren aandoening van glycosylatie, CDG1T (ooit aangeduid als glycogeen opslag ziekte type 14, GSD14). Het PGM2-gen bevindt zich op chromosoom 4p14 en bestaat uit 15 exonen die een eiwit van 612 aminozuren coderen. Het PGM3-gen bevindt zich op chromosoom 6q14.1 en bestaat uit 19 exonen die vier alternatieve spliced mRNAs en vier verschillende isovormen van dit enzym genereren. Het PGM5-gen bevindt zich op chromosoom 9q21.11 en bestaat uit 13 exonen die een eiwit van 567 aminozuren coderen.

Zoals hierboven vermeld, levert de fosforlyase het vrijkomen van glucose uit glycogeen een geladen glucoseresidu (glucose-1-fosfaat) op zonder de noodzaak van hydrolyse van ATP. Een extra noodzaak om fosforyleerde glucose vrij te geven uit glycogeen zorgt ervoor dat de glucoseresten niet vrij uit de cel verspreiden. In het geval van spiercellen is dit acuut duidelijk, omdat het doel bij glycogenolyse in spiercellen is om substraat voor glycolyse te genereren.

De omzetting van glucose-6-fosfaat in glucose vindt alleen plaats in de lever, nieren en darmen via de werking van glucose-6-fosfatase komt niet voor in andere weefsels die glycogeen synthetiseren (bijvoorbeeld skeletspieren en hersenen) omdat alle andere cellen dit enzym missen. Daarom zal elke vrije

glucose die vrijkomt uit glycogeenwinkels, door de werking van het debranching enzym, in skeletspieren en hersenen worden geoxideerd in de glycolytische route. In de lever maakt de werking van glucose-6-fosfatase glycogenolyse mogelijk om vrije glucose te genereren voor het handhaven van de bloedsuikerspiegel.

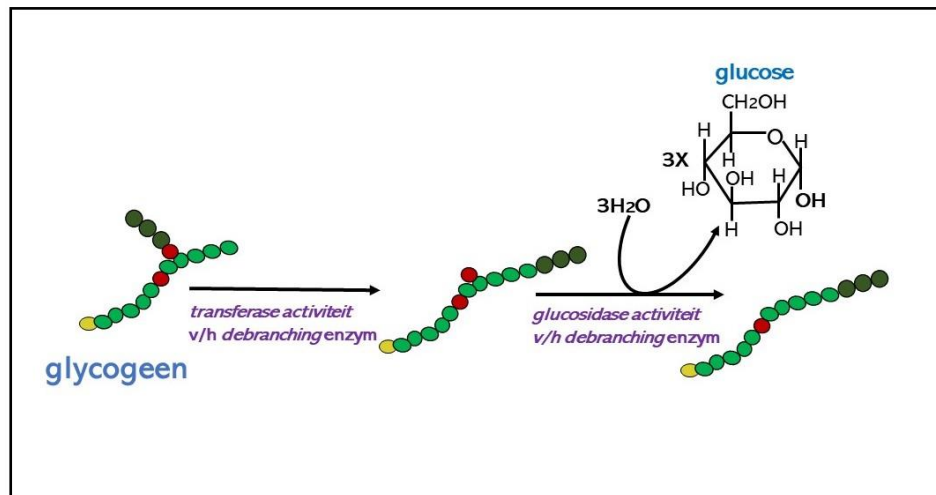
Glycogeenvertakking

Glycogeenfolysylelas kan geen glucoseresten verwijderen uit de vertakkingen(α -1,6-koppelingen) in glycogeen. De activiteit van fosforlase houdt ongeveer vier glucoseresiduen van het takpunt op. Het verwijderen van deze takpunt glucoseresiduen vereist de werking van glycogeen debranching enzym (GDE). De officiële naam van GDE is amylo-1,6-glucosidase, 4- α -glucanotransferase (gensymbool: AGL) die 2 activiteiten bevat: glucotransferase en glucosidase. Het AGL-gen bevindt zich op chromosoom 1p21.2 en bestaat uit 36 exonen die vijf alternatieve spliced mRNAs genereren die gezamenlijk twee verschillende isovormen (1 en 3) van het enzym coderen. Isoform 1 bevat 1532 aminozuren en isoform 3 bevat 1516 aminozuren.

De transferase activiteit van het glycogeenvertakkingverwijdering enzym. Aangeduid als *debranchingenzym* verwijdert de terminal drie glucose residuen van een tak en hecht ze aan een gratis C-4 einde van een tweede tak. De glucose in α -(1,6)-koppeling bij de tak wordt vervolgens verwijderd door de werking van glucosidase. Dit glucoseresidu is niet geladen omdat de glucosidase-gekatalyseerde reactie niet fosforytisch is. Dit betekent dat theoretisch glycogenolyse die in skeletspieren voorkomt, vrije glucose kan genereren die in de bloedstroom kan komen. De activiteit van hexokinase in de spier is echter zo hoog dat elke vrije glucose onmiddellijk wordt gefossyleerd en de glycolytische

Metabolisme van koolhydraten

route binnenkomt. Inderdaad, de precieze reden voor de tijdelijke verschijning van de vrije glucose uit glycogeen is de noodzaak van de skeletspiercel om energie op te wekken uit glucoseoxidatie, waardoor elke kans op de glucose die het bloed ingaat, uitsluit.



Figuur 2.9. : Reactie gekatalyseerd door debranchingenzym

Lysosomale glycogeenkatabolisme

Wanneer glycogeenkorrels niet worden aangeworven voor cytosolische afbraak worden ze doelwit voor verhoogde fosforylatie waardoor ze minder oplosbaar zijn om hun degradatie via het lysosomale pad op te wekken. Lysosomale glycogeenafbraak wordt gekatalyseerd door het enzym lysosomale α -glucosidase (ook wel acid maltase genoemd) dat wordt gecodeerd door het GAA-gen. De betekenis van dit pad voor glycogeen afbraak blijkt uit de dodelijke aandoening, de ziekte van Pompe, dat is het resultaat van mutaties in het GAA-gen. Lysosomale glycogeen is verrijkt met zeer grote korrels met moleculair gewicht. Het traject van lysosomale glycogeenafbraak vertegenwoordigt 5% van het totale spierglycogeen en 10% van de totale afbraak van leverglycogeen. Een belangrijke rol voor lysosomale glycogeen afbraak is in het neonaat waar leverlysosomale glycogeen afbraak is het product van glycogeen autofagie. Deze route voor pasgeboren glycogenolyse is waarschijnlijk

een mechanisme voor het verstrekken van extra glucose-afgeleide energie tijdens en na de geboorte.

Lysosomale glycogeenafbraak, hoewel gekatalyseerd door α -glucosidase, vereist ook de werking van de duale specificiteit fosfor, laforine, en een tweede enzym, een E3 ubiquitine ligase, gecodeerd door het NHLRC1 gen (NHL herhaling met E3 ubiquitine eiwitligase 1; ook bekend als EPM2B). Het NHLRC1 gecodeerde eiwit wordt malin genoemd. De precieze rol voor malin in het totale proces van glycogeen dephosphorylation is onduidelijk, maar laforin-malin interactie is een vereiste gebeurtenis voor het proces. De laforin-malin interactie is ook betrokken bij de regulering van de verwijdering van glycogeen-geassocieerde eiwitten niet alleen via de autofagie-lysosomale route, maar ook via de ubiquitine-proteasoom route. Malin is aangetoond dat het ubiquitylate verschillende glycogeen-geassocieerde eiwitten, waaronder laforine, glycogeen synthase, glycogeen debranching enzym, en de regulerende subunit van eiwit fosfatase 1 die vaak wordt aangeduid als eiwit gericht glycogeen (PTG). PTG in skeletspier wordt gecodeerd door het PPP1R3A (proteïn fosfatase 1 regulatory subunit 3A) gen. Lever PTG wordt gecodeerd door het PPP1R3B gen.

Glycogeensynthese

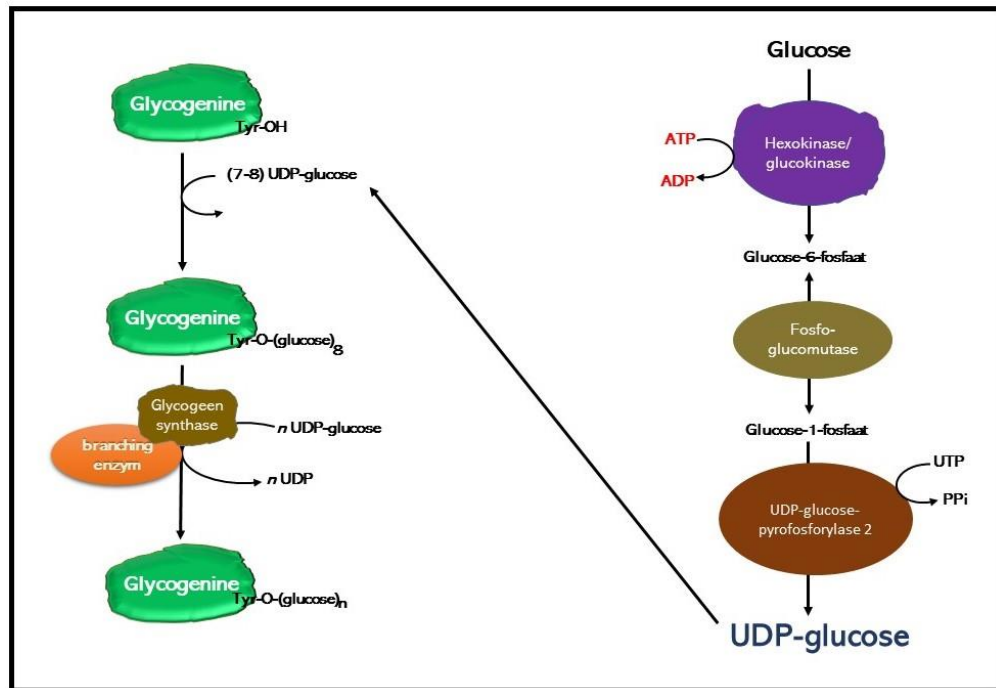
De novo Glycogeensynthese

Voor *de novo* glycogeen synthese om door te gaan de eerste paar glucose residuen zijn bevestigd aan een eiwit bekend als **glycogenine**. Glycogenine bindt aan actine filamenten through een domein in het C-terminus van het eiwit. De interactie van glycogenin met actinefilamenten is vereist om de synthese van glycogeen te starten. Glycogenin functioneert als een homodimeer en katalyseert zijn eigen glycosylation, waarbij C-1 van een UDP-glucose aan een

Metabolisme van koolhydraten

tyrosineresidu (Y194) op het enzym wordt bevestigd. Deze reactie wordt uitgevoerd door een subunit die de glucose toevoegt aan de andere subunit. Na de toevoeging van het eerste glucoseresidu voegt elke glycogenine subunit vervolgens nog eens 6-17 glucoseresidu toe in een intra-subunitreactie via $\alpha(1,4)$ glycosidische bindingen. De bijgevoegde glucose dient dan als de primer die glycogeen synthase (GS) nodig heeft om extra glucosemoleculen te bevestigen via het onderstaande mechanisme. Glycogenine bindt zich aan geconserveerde aminozuursequenties in het N-eindpunt van glycogeen synthase. Als het glycogeenmolecuul groeit op glycogenine, wordt glycogeen synthase vrijgegeven van glycogenine en bindt aan de verlenging polymeer via een glycogeen-bindende module in de C-terminus van het enzym.

Er zijn twee glycogenine genen bij de mens geïdentificeerd als GYG1 en GYG2. Het GYG1-gen bevindt zich op chromosoom 3q24 en bestaat uit 10 exonen die drie alternatieve spliced mRNAs genereren. Deze drie mRNAs produceren drie glycogenin-1 isovormen geïdentificeerd als isoform 1 (350 aminozuren), isoform 2 (333 aminozuren) en isoform 3 (279 aminozuren). Het GYG1-gen wordt voornamelijk uitgedrukt in spieren, maar wordt ook uitgedrukt in vele andere weefsels. Mutaties in het GYG1-gen worden geassocieerd met de onlangs (2010) gekenmerkte glycogeenopslagziekte geïdentificeerd als type 15 (GSD15). Het GYG2-gen bevindt zich op het chromosoom Xp22.33 en bestaat uit 14 exonen die vijf alternatieve spliced mRNAs genereren die leiden tot het genereren van meerdere glycogenin-2 isovormen. De GYG2 genexpressie beperkt tot de lever.



Figuur 2.10 : De rol van glycogenine

Rol van glycogenine in de synthese van glycogeen:

Te beginnen met vrije glucose, zijn verschillende reacties nodig om glycogeenpolymeren te initiëren en vervolgens te produceren. Glucose wordt eerst gefosfyleerd door hexokinases (bijvoorbeeld spier) of glucokinase (lever) tot glucose-6-fosfaat (G6P). G6P wordt vervolgens omgezet in glucose-1-fosfaat (G1P) via de werking van fosfoglucomutase (PGM). G1P wordt vervolgens geactiveerd voor glycogeen synthese via de toevoeging van uridine nucleotide gekatalyseerd door UDP-glucose pyrosforofosfolase 2 (UGP2). De resulterende UDP-glucose kan dan worden gebruikt als substraat voor de zelf-glucosylating reactie van glycogenine, of als pre-exisiting glycogeen polymeren bestaan, wordt de UDP-glucose gebruikt als substraat voor glycogeen synthase.

Glycogeensynthase in glycogeensynthese

Net als de werking van glycogenin, glycogeen synthase maakt gebruik van UDP-glucose als substraat. Glycogeensynthase voegt glucoseresten van UDP-glucose toe aan terminale glucose op glycogenine en aan de niet-reducerende eindglucose van een molecuul glycogeen. De reactie gekatalyseerd door glycogeen synthase resulteert in $\alpha(1,4)$ glycosidische koppeling (niet-vertakking) van de glucoseresiduen. De activering van glucose die moet worden gebruikt voor glycogeensynthese wordt uitgevoerd door het enzym UDP-glucose pyrofosfolase 2. Dit enzym wisselt het fosfaat uit op C-1 glucose-1-fosfaat voor UDP. De energie van de fosfolycosylbinding van UDP-glucose wordt gebruikt door glycogeen synthase om de opname van glucose in glycogeen te katalyseren. UDP wordt vervolgens vrijgegeven uit het enzym. Het menselijke UDP-glucose pyrofosfos 2 enzym is gecodeerd door het UGP2-gen dat zich bevindt op chromosoom 2p15 en bestaat uit 14 exonen die twee alternatief gespliceerde mRNAs genereren. Deze twee mRNAs coderen twee verschillende isovormen van het enzym, isoform a (508 aminozuren) en isoform b (497 aminozuren).

Er zijn twee verschillende glycogeen synthase enzymen bij de mens. Een is meer breed uitgedrukt en overheerst in skeletspieren, de andere overheerst in de lever. Het breed uitgedrukte enzym wordt gecodeerd door het GYS1-gen en het enzym lever, hart en alveesklier wordt gecodeerd door het GYS2-gen. Het GYS1-gen bevindt zich op chromosoom 19q13.33 en bestaat uit 16 exonen die twee alternatieve spliced mRNAs produceren die twee isovormen van het spierenzym coderen. Isoform 1 bestaat uit 737 aminozuren en isoform 2 bestaat uit 673 aminozuren. Het GYS2-gen bevindt zich op

chromosoom 12p12.1 en bestaat uit 18 exonen die een eiwit van 703 aminozuren produceren.

Glycogeenvertakking

De α -1,6 takken in glycogeen worden geproduceerd door amylo-(1,4 tot 1,6)-transglucosidase, ook wel het glycogeen vertakkingsenzymen (gensymbool: GBE1). Dit enzym brengt een eindfragment van 6-7 glucoseresiduen (van een polymeer van ten minste 11 glucoseresiduen lang) over naar een intern glucoseresidu op de C-6 hydroxylpositie. Het GBE1-gen bevindt zich op chromosoom 3p12.2 en bestaat uit 16 exonen die een eiwit van 702 aminozuren coderen.

Glycogeenfosforylatie

Normaal glycogeen heeft kleine hoeveelheden fosfaat, als fosfomonoesters, op de posities C2, C3 en C6 van de glucoseresiduen in het molecuul. Bewijs heeft aangetoond dat de fosfaten op C2 en C3 worden toegevoegd door glycogeen synthase, maar het precieze mechanisme voor de vorming van de C6 fosfomonoesters blijft ongrijpbaar. Verwijdering van de fosfaten uit glycogeen wordt gekatalyseerd door de dual specificiteit fosfatase gecodeerd door het EPM2A gen (EPM2A glucan fosfatase). De EPM2A van de genaam verwijst naar **Epilepsy, Progressive Myoclonus type 2A**. Het eiwit gecodeerd door het EPM2A-gen wordt laforine (ook bekend als laforine glycogeenfosfatase) genoemd, omdat verlies van het enzym wordt geassocieerd met de dodelijke neurodegeneratieve ziekte Lafora. Het fosfaatgehalte in skeletspierglycogeen is ongeveer 1 per 1.500 glucoseresiduen. Laforin dephosphorylaten glycogeen en deze dephosphorylation is nodig om de normale vertakking te vergemakkelijken. De sterk vertakte aard van glycogeen handhaaft het wateroplosbaarheid. De gevolgen van verlies-van-

Metabolisme van koolhydraten

functie van laforine is hyperfosfolysatie van glycogeen waardoor het onoplosbaar. De neerslag van hyperfosfolysaat glycogeen (histologisch aangeduid als Lafora lichamen), met name in neuronen, is de onderliggende cellulaire oorzaak van de pathologie van de ziekte van Lafora.

Regulering van Glycogeenkatabolisme

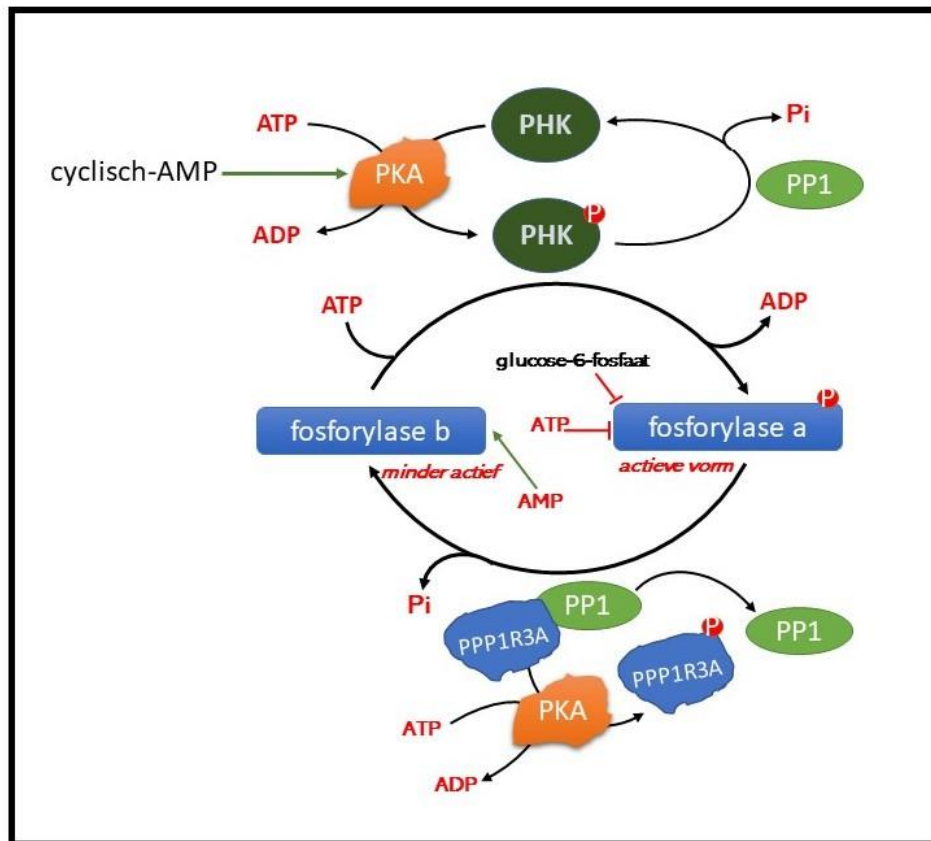
De behandeling van de regulatie van glycogeenkatabolisme (glycogenolyse) houdt weefsel-specifieke verschillen in de redenen voor de opslag van glucose als glycogeen en de weefsel-specifieke verschillen in de verschillende vormen van glycogeenfosforlyase in. Ondanks het expressieweefsel is functionele glycogeenfosforlyase een homodimerisch enzym dat bestaat in twee verschillende conformatietoestanden: de T-toestand (voor gespannen, minder actief; aangeduid als fosforlyase *b*) en de R-toestand (voor ontspannen, actiever; aangeduid als fosforlyase *a*).

Fosforlyase kan zich binden aan glycogeen wanneer het enzym zich in de R-toestand bevindt (fosforlyase *a*). De skeletspier fosforlyase *een* conformatie, maar niet leverfosforlyase, wordt versterkt door binding van AMP die dient als een allosterische activator. In lever- en skeletspieren wordt de activiteit van de fosforlyase *een* conformatie geremd door binding van de allosterische remmers ATP en glucose-6-fosfaat. Binnen hepatocyten fungeert glucose ook als een allosterische remmer, een effect dat niet wordt uitgeoefend op skeletspieren of fosforlyase in de hersenen.

Glycogeen fosforlyase is ook onderworpen aan covalente modificatie door fosforlyatie als middel om zijn activiteit te reguleren. De belangrijkste plaats voor deze regelgevende fosforlyatie is Ser 14 op beide subeenheden van het homodimerische enzym. De basale

Hoofdstuk 2

activiteit van het ongewijzigde fosforylaseenzym (fosforylase *b*) is voldoende om voldoende glucose-1-fosfaat te genereren, voor het binnenbrengen in glycolyse, voor de productie van voldoende ATP om de normale rustactiviteit van de cel te behouden. Dit geldt zowel in lever, hersenen, en skeletspiercellen.



Figuur 2.11 : Regulering van glycogeenfosforylase

Trajecten die betrokken zijn bij de regulering van glycogeen fosforylase in skeletspieren. Zie de tekst voor meer informatie over de regelgevingsmechanismen. PKA is cAMP-afhankelijke eiwitkinase, PHK is fosforylase kinase. Groene pijlen duiden positieve effecten op elk enzym. Rode T-lijnen geven remmende acties aan. Kortom, fosforylase b (de minder actieve vorm) wordt fosforylated op Ser 14, en zeer actief gemaakt, door PHK. Fosforylase kinase is zelf fosforylated, wat leidt tot verhoogde activiteit, door PKA (zelf geactiveerd door receptor-gemedieerde mechanismen). PKA fosforylfeert ook

Metabolisme van koolhydraten

het PPP1R3A gecodeerde eiwit (ook wel PTG voor eiwit gericht glycogeen) dat dient als een regulerende subunit van fosforfospaansficatypo (PP1) binnen skeletspieren. Het ppp1R3B gecodeerde eiwit is de regulator van PP1-activiteit in hepatocyten, vaak aangeduid als lever PTG. PKA-gemedieerde fosforylatie van PPP1R3A resulteert in de dissociatie van de katalytische PP1-activiteit, waarvan de gevolgen remming van fosfaatverwijdering zijn waardoor de geactiveerde enzymen (fosforylase a en PHK) dit langer kunnen blijven. Calciumionen kunnen fosforlase kinase activeren, zelfs als het enzym niet wordt gefossyleerd. Dit maakt het bijvoorbeeld mogelijk, neuromusculaire stimulatie door acetylcholine te leiden tot verhoogde glycogenolyse bij afwezigheid van G-eiwit gekoppeld receptor (GPCR) stimulatie. Het is ook belangrijk op te merken dat, hoewel deze figuur alleen de regulatie van skeletspier glycogeen fosforylase toont, alle enzymen van glycogeenafbraak en glycogeensynthese in alle weefsels worden geassocieerd in een groot complex waardoor hun snelle regulatie mogelijk is (hieronder besproken).

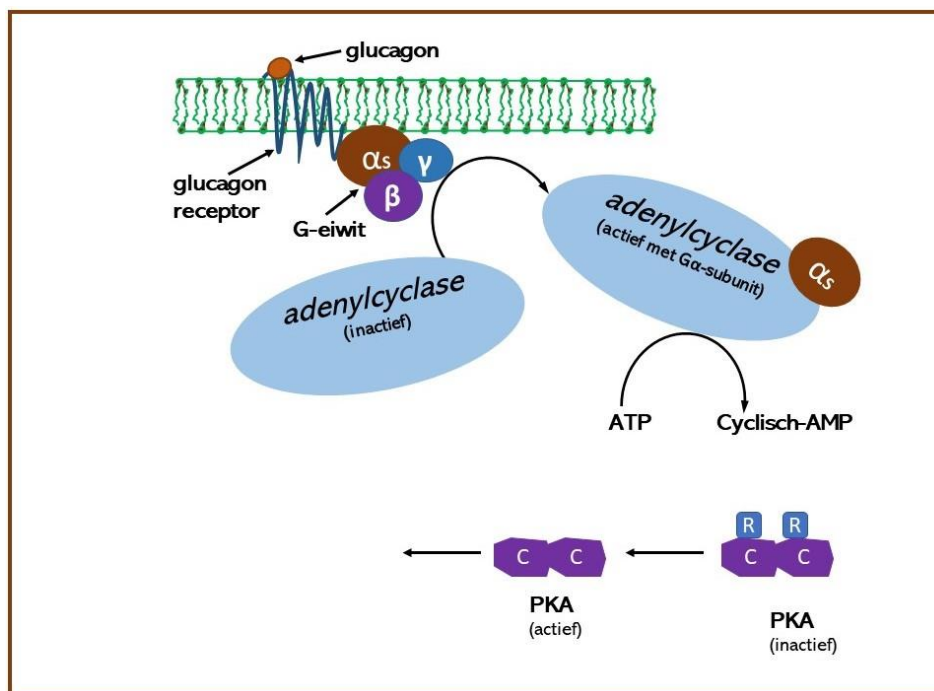
In reactie op verlaagde bloedglucose de α cellen van de alveesklier afscheid glucagon die bindt aan celoppervlak receptoren die voornamelijk worden gevonden op hepatocyten. Glucagon receptoren zijn ook aanwezig op witte adipocyten en cardiomyocyten, maar op aanzienlijk lagere niveaus dan die gezien op hepatocyten. Vanwege deze verdeling van receptoren is het gemakkelijk te begrijpen waarom levercellen het primaire doelwit zijn voor de werking van glucagon.

De glucagon receptor is een G_s gekoppelde GPCR. De reactie van cellen op de binding van glucagon op de celoppervlakreceptor is daarom de activering van het enzym adenyfaatcyclase. Activering van adenyfaatcyclase leidt tot een grote toename van de

Hoofdstuk 2

vorming van cAMP die zich vervolgens bindt aan en activeert het enzym, cAMP-afhankelijke eiwitkinase (PKA: zie figuur hieronder). Het oorspronkelijke model van cAMP-gemedieerde activering van PKA betrof de binding van cAMP aan de regelgevende subeenheden van PKA die leiden tot de vrijgave van de regelgevende subeenheden en de daaropvolgende activering van de katalytische subeenheden. Onlangs is aangetoond dat de release van de regelgevende subeenheden niet nodig is voor cAMP-gemedieerde activering van PKA. Bij activering van de katalytische subeenheden fosforyleert een aantal doeleiwitten op serine en threonine residuen.

Representatieve route voor de activering van cAMP-afhankelijke eiwitkinase (PKA). In dit voorbeeld bindt glucagon aan zijn receptor in het plasmamembraan van hepatocyten, waardoor de receptor wordt geactiveerd. Activering van de receptor is gekoppeld aan de activering van de receptor-gekoppelde heterotrimeric G_s -type G-eiwit.



Bij activering scheidt de α subunit zich van de $\beta\gamma$ -subeenheden en bindt het aan en activeert het

Metabolisme van koolhydraten

adenylaatcyclase. Adenylaatcyclase zet ATP vervolgens om in cyclisch-AMP (cAMP). De aldus geproduceerde cAMP bindt zich vervolgens aan de regelgevende subeenheden van PKA, wat leidt tot dissociatie van de bijbehorende katalytische subeenheden. De katalytische subeenheden zijn inactief totdat ze van de regelgevende subeenheden zijn gescheiden. Eenmaal vrijgekomen, de katalytische subeenheden van PKA fosforyleren talrijke substraten met behulp van ATP als de fosfaatdonor. De fosforylatie van fosforlase kinase (PHK) activeert het enzym dat op zijn beurt de minder actieve *b*-vorm van fosforlase fosforyleert. Fosforylatie van fosforlase *b* verbetert zijn activiteit in de richting van glycogeen afbraak sterk. Het gemodificeerde enzym heet fosforlase *a*. Het nettoresultaat is een extreem grote inductie van glycogeenafbraak in reactie op glucagon binding aan zijn receptoren op hepatocyten.

Van belang voor deze discussie is de PKA-gemedieerde fosforylatie van fosforlase kinase (PHK) zoals weergegeven in de figuur hierboven. Er zijn drie isovormen van fosforylase kinase, men wordt voornamelijk uitgedrukt in skeletspieren, een voornamelijk uitgedrukt in de lever, en een voornamelijk uitgedrukt in de hersenen. Alle drie de isovormen van fosforlase kinase zijn enzymen met meerdere subeenheden (hexadecameric) bestaande uit vier kopieën van elk van de unieke subeenheden: α , β , γ en δ . Het verschil tussen de skeletspier (evenals hart), lever, en hersenen isoforms is het resultaat van twee verschillende α eiwitten en twee verschillende γ eiwitten, die elk worden gecodeerd door verschillende genen. De α en β subeenheden zijn de regelgevende subeenheden die fosforylated zijn. De γ subunit is de katalytische subunit. De δ subunit is calmodulin (hieronder beschreven) die kan worden gecodeerd door een van de drie calmodulin genen; KALM1, CALM2, CALM3.

Hoofdstuk 2

De twee verschillende α subeenheden van fosforylase kinase worden gecodeerd door de PHKA1 (hoewel niet exclusief wordt aangeduid als de spiervorm) en PHKA2 (hoewel niet exclusief wordt aangeduid als de levervorm) genen. Het PHKA1-gen bevindt zich op chromosoom Xq13.1 en bestaat uit 32 exonen die drie alternatieve mRNAs genereren die gezamenlijk drie distince eiwit isovormen coderen. Een van de PHKA1 isovormen (geïdentificeerd als α') mist een interne 59 aminozuren, in vergelijking met de langste isoform, en overheerst in cardiale myocyten en slow-twitch skeletspiercellen. Het PHKA2-gen bevindt zich op chromosoom Xp22.13 en bestaat uit 34 exonen die een eiwit van 1235 aminozuren coderen. De twee verschillende γ subeenheden zijn gecodeerd door de PHKG1 (hoewel niet exclusief wordt aangeduid als de spiervorm) en PHKG2 (hoewel niet exclusief wordt aangeduid als de levervorm) genen. Het PHKG1-gen bevindt zich op chromosoom 7p11.2 en bestaat uit 13 exonen die drie afwisselend gespleten mRNAs genereren die gezamenlijk drie verschillende eiwit-isovormen coderen. Het PHKG2-gen bevindt zich op chromosoom 16p11.2 en bestaat uit 10 exonen die twee alternatieve spliced mRNAs die isoform 1 (406 aminozuren) en isoform 2 (374 aminozuren) genereren. De gemeenschappelijke β subunit wordt gecodeerd door het PHKB-gen dat zich bevindt op chromosoom 16q12.1 en bestaat uit 35 exonen die alternatieve splicing ondergaan op twee locaties wat resulteert in eiwitten met verschillende interne segmenten van 28 aminozuren en verschillende N-termini. Deze verschillen worden gezien in de skeletspier β subunit die zich onderscheidt van de vorm uitgedrukt in de hersenen en verschillende andere weefsels.

Mutaties in het PHKA2-gen resulteren in de X-gebonden leverglycogeenopslagziekten die zijn geïdentificeerd als de typen 9a1 en 9a2 (GSD9A1 en

Metabolisme van koolhydraten

GSD9A2). Mutaties in het PHKB-gen resulteren in de autosomaal recessieve lever- en spierglycogeenopslagziekte geïdentificeerd als type 9B (GSD9B). Mutaties in het PHKG2-gen veroorzaken de leverglycogeenopslagziekte die is geïdentificeerd als type 9C (GSD9C). Mutaties in het PHKA1-gen veroorzaken de X-gebonden spierglycogeenopslagziekte die is geïdentificeerd als type 9D (GSD9D). De verschillende Glycogen Storage ziekten staan aan het einde van deze pagina in de tabel.

Deze identieke cascade van voorvallen, die verantwoordelijk is voor de regulering van glycogeen fosforylaseactiviteit bij hepatocyten, komt ook voor in skeletspiercellen en hersenstrococyten. Echter, in skeletspiercellen de inductie van de cascade is het resultaat van epinephrinum binding aan adrenerge receptoren op het oppervlak van spiercellen of als gevolg van acetylcholine bindende nicotinic acetylcholine receptoren op een neuromusculaire kruising. Epinephrinum wordt vrijgegeven van de bijnieren in reactie op sympathische zenuwstelsel uitstroom uit de hersenen wat wijst op een onmiddellijke behoefte aan verbeterde glucose gebruik in de spier, de zogenaamde **fight-or-flight reactie**. Spiercellen missen glucagon receptoren en reageren daarom op geen enkele manier op pancreaseffecten van lage bloedglucose. De aanwezigheid van glucagon receptoren op spiercellen zou toch zinloos zijn, omdat de rol van glucagon release is het verhogen van de bloedglucose concentraties en spierglycogeen winkels kunnen niet bijdragen aan de bloedsuikerspiegel.

De regulering van de kinaseactiviteit van fosforlase wordt ook uitgevoerd door twee verschillende mechanismen waarbij Ca^{2+} ionen betrokken zijn. Het vermogen van Ca^{2+} ionen om fosforylase kinase te reguleren is door de functie van een van de

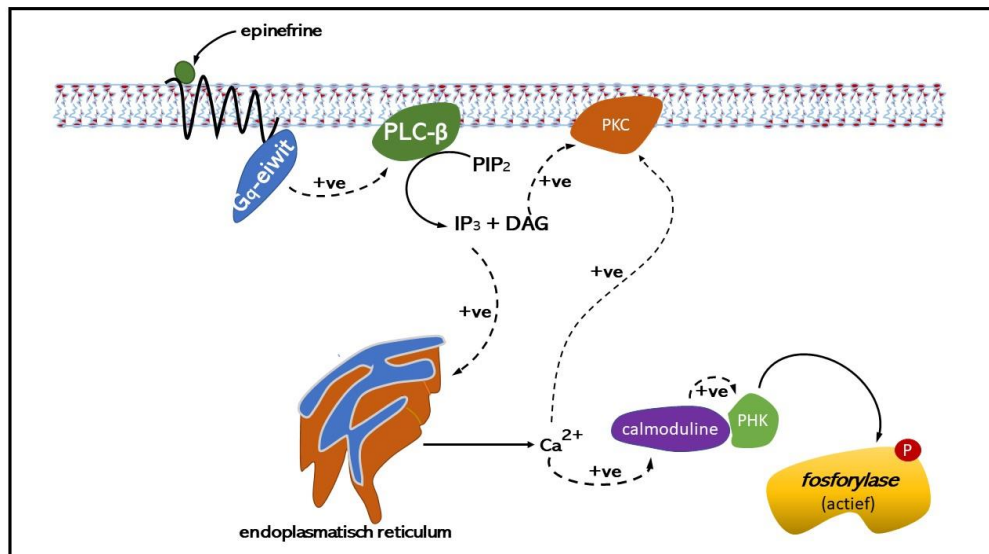
subeenheden van dit enzym, met name de γ subunit. De γ subunit van fosforylase kinase is het alomtegenwoordige eiwit, calmodulin. Zoals hierboven aangegeven, zijn er drie verschillende calmodulin genen, waarvan er een de γ subunit van fosforylase kinase kan coderen. Calmodulin is een calciumbindingeiwit en de binding van Ca^{2+} veroorzaakt een conformatieverandering in calmodulin die op zijn beurt de katalytische activiteit van fosforylase kinase naar het substraat, phosphorylase *b*. Deze activiteit is cruciaal voor de verbetering van glycogenolyse in spiercellen waar spiercontractie wordt veroorzaakt via acetylcholine stimulatie op de neuromusculaire kruising. Het effect van acetylcholine release van zenuwterminals op een neuromusculaire verbinding is het depolariseren van de spiercel leidt tot verhoogde afgifte van sarcoplasmatisch reticulum opgeslagen Ca^{2+} , waardoor fosforylase kinase activeren. Dus, niet alleen de verhoogde intracellulaire calcium verhogen de snelheid van spiercontractie het verhoogt glycogenolyse die de spiercel voorziet van de glucose die het nodig heeft om te oxideren om te voldoen aan de verhoogde ATP het nodig heeft voor contractie.

De tweede Ca^{2+} ion-gemedieerde route naar fosforylase kinase activering is door activering van α_1 -adrenerge receptoren door epinephrinum of noradrenaline zoals beschreven in de volgende figuur.

Trajecten die betrokken zijn bij de regulering van glycogeenfolysylan door epinephrinumactivering van α_1 -adrenerge receptoren. Zie de tekst hieronder voor details van de adrenaline-actie in glycogeen homeostase. PLC- β is fosfopase C- β . Het substraat voor PLC- β is fosfatidylinositol-4,5-bisfosfaat, (PIP_2) en de producten zijn inositol trisfosfaat, IP_3 en diacylglycerol, DAG. GS-GP kinase is glycogeen synthase-glycogeen fosforylase kinase, beter bekend als phosphorylase kinase (PHK). Soortgelijke

Metabolisme van koolhydraten

kalmeodulin-gemedieerde activering van PHK fosforylaties leiden tot remming van glycogeen synthase.



In tegenstelling tot β -adrenerge receptoren die gekoppeld zijn aan activering van adenylaatcyclase, worden α_1 -adrenerge receptoren gekoppeld via G_q-type G-eiwitten die fosfopase-C activeren β (PLC β). Het is echter belangrijk op te merken dat α_2 -adrenergereceptoren koppelen aan een G_i-type G-eiwit en, als gevolg van ligand binding aan deze klasse van receptor, remmen de activering van adenylaat cyclase. Activering van PLC β leidt tot verhoogde hydrolyse van membraanfosfafolinosietol-4,5-bisfosfaat (PIP₂), waarvan de producten inositol-1,4,5-trisfosfaat (IP₃) en diacylglycerol (DAG) zijn. DAG bindt aan en activeert eiwit kinase C (PKC), een enzym dat talrijke substraten fosforylfaat, waarvan er een glycogeen synthase is (zie hieronder). IP₃ bindt aan een van de verschillende receptoren op het oppervlak van het endoplasmatische reticulum dat leidt tot het vrijkomen van opgeslagen Ca²⁺ ionen. De Ca²⁺ ionen werken vervolgens samen met de calmodulin subeenheden van fosforylase kinase wat resulteert in de activering ervan. Daarnaast activeren de Ca²⁺ ionen PKC in combinatie met DAG.

Hoofdstuk 2

Mensen uiten drie verschillende IP₃-receptoren gecodeerd door de ITPR1, ITPR2 en ITPR3-genen. Het ITPR1-gen dat zich bevindt op chromosoom 3p26.1 en bestaat uit 63 exonen die drie alternatieve spliced mRNAs genereren die drie verschillende isovormen van de receptor coderen. ITPR1 isoform 1 is een 2710 aminozuur eiwit, isoform 2 is een 2695 aminozuur eiwit, en isoform 3 is een 2743 aminozuur eiwit. Het ITPR2-gen bevindt zich op chromosoom 12p11.23 en bestaat uit 62 exonen die een 2701 aminozuureiwit coderen. Het ITPR3-gen bevindt zich op chromosoom 6p21.31 en bestaat uit 60 exonen die een 2671 aminozuureiwit coderen. Elk van de IP₃-receptoren bezit een cytoplasmatisch N-terminal ligand-bindend domein en bestaat uit zes membraan-verspreide helices die de kern van de ionenpori vormen.

Om de activiteit van de enzymen van de glycogeen fosforylase activering cascade te beëindigen, zodra aan de behoeften van het lichaam is voldaan, moeten de gemodificeerde enzymen ongewijzigd blijven. In het geval van Ca²⁺ geïnduceerde activering, zal het niveau van Ca²⁺ ion release uit spierwinkels eindigen wanneer de inkomende zenuwimpuls ophouden. De verwijdering van de fosfaten op fosforlase kinase en fosforlase *a* wordt uitgevoerd door een familie van enzymen die als fosforfoproteïnefosfatase-1 (PP1) zijn geïdentificeerd. Elke functionele PP1 is een heterodimerisch enzym dat bestaat uit een katalytische subunit en een regelgevende subunit. Mensen drukken drie verschillende PP1 katalytische subunit genen geïdentificeerd als PPP1CA, PPP1CB, en PPP1CC. Er zijn ten minste 29 PP1 regulerende subeenheden genen uitgedrukt in het menselijk genoom. Een aantal van de regelgevende subeenheden zijn ook betrokken bij de targeting van PP1 op glycogeen. Deze regelgevende subeenheden worden ook vaak aangeduid als eiwittargeting op glycogeen, PTG (zie figuur hieronder). De PTG regulator

Metabolisme van koolhydraten

van de spier isoform van PP1 is gecodeerd door het eiwit fosfatase 1, regelgevende subunit 3A gen gelegen op chromosoom 7q31.1 (gensymbool: PPP1R3A). De spier PTG eiwit wordt ook vaak aangeduid als PP1G. De PTG regulator van de levervorm van PP1 wordt gecodeerd door het PPP1R3B-gen op chromosoom 8p23.1. De PPP1R3B gecodeerde eiwit was de oorspronkelijk geïdentificeerde PTG activiteit.

Om te voorkomen dat de fosfaatresiduen die door PKA en fosforlase kinase (PHK) op verschillende enzymen worden geplaatst, niet onmiddellijk worden verwijderd, moet ook de activiteit van PP1 worden gereguleerd. Binnen skeletspier wordt dit bereikt door de interactie van PP1 katalytische subeenheden met de regulerende subeenheden gecodeerd door het PPP1R3A-gen (het PTG-eiwit). Aangezien het eiwit gecodeerd door dit gen remt de activiteit van PP1 het ooit werd genoemd fosfoproteïne fosfatase remmer 1 (PPI-1) of PP1 remmer. Het PPP1R3A gecodeerde eiwit (PTG) wordt door PKA op Ser65 gefosforyleerd waardoor PP1 zich distantieert van het PTG-complex, waardoor glycogeensynase niet wordt gedephosforylated waardoor het in de minder actieve toestand blijft. Omgekeerd leidt insuline-gemedieerde signalering tot fosforylatie van het PPP1R3A-eiwit bij Ser46, wat resulteert in een verhoogde activiteit van PP1, verwijdering van het remmende fosfaat uit glycogeensynase en een daaropvolgende toename van de glycogeensynthese.

Regulering van Glycogeensynthese

Glycogeen synthase is een tetramerisch enzym bestaande uit vier identieke subeenheden. De lever en spier glycogeensynthase eiwitten zijn afgeleid van verschillende genen en delen slechts 46% aminozuur identiteit. Zoals hierboven aangegeven, wordt de leverglycogeen synthase gecodeerd door het GYS2-

gen, terwijl de spiervorm (evenals die uitgedrukt in verschillende andere weefsels) wordt gecodeerd door het GYS1-gen. Ongeacht het expressieweefsel wordt de activiteit van glycogeensynase gereguleerd door zowel allosterische effectoren als door fosforylatie van serineresten in de subeenhedeneiwitten.

Allosterische regulatie van glycogeensynaseactiviteit wordt uitgevoerd door glucose-6-fosfaat en ATP waarbij glucose-6-fosfaat een positief effector en ATP is een remmende effector. Het is aangetoond dat fosforylatie van glycogeensynase op ten minste negen verschillende serineresiduen optreedt en deze fosforylaties worden uitgevoerd door tal van verschillende kinases. Fosforylatie van glycogeen synthase vermindert zijn activiteit naar UDP-glucose. Wanneer in de fosforyleerde toestand, glycogeen synthase remming kan worden overwonnen door de aanwezigheid van de allosterische activator, glucose-6-fosfaat. De twee vormen van glycogeen synthase worden geïdentificeerd door dezelfde nomenclatuur als gebruikt voor glycogeen fosforylase. De ongefosforyeerde en meest actieve vorm is glycogeen synthase *a* en de fosforyleerde, minder actieve vorm is glycogeen synthase *b*.

Talrijke kinases zijn aangetoond dat fosforylaat en reguleren zowel lever- en spiervormen van glycogeen synthase. De meeste gedetailleerde analyses van glycogeen synthase fosforylatie zijn uitgevoerd met behulp van enzym geïsoleerd uit skeletspieren, maar gerelateerde bevindingen met lever glycogeen synthase zijn ook aangetoond. Ten minste negen locaties van fosforylatie zijn geïdentificeerd in glycogeen synthase en deze negen sites zijn geclusterd in vier fosforylatiedomeinen die aanwezig zijn in de N-terminal en C-terminal uiteinden van het enzym. Fosforylatie van glycogeen synthase vindt plaats door de activiteiten van ten minste tien

Metabolisme van koolhydraten

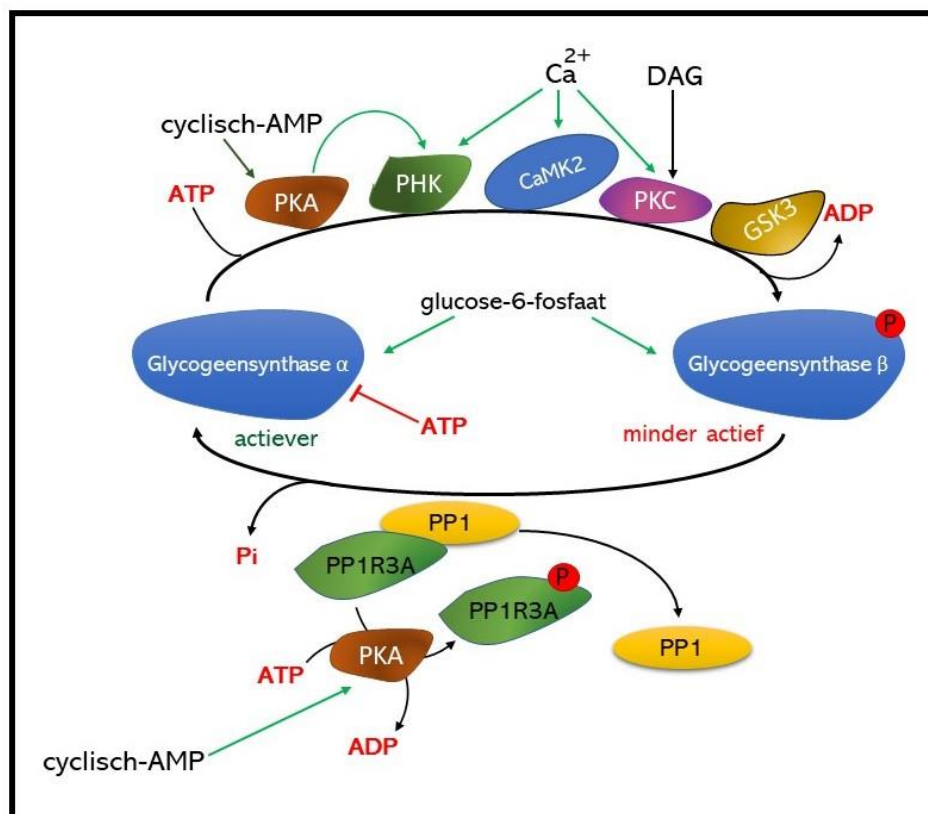
verschillende kinases. De fosforylatiesites in glycogeensynase worden geïdentificeerd als site 1a, 1b, 2, 2a, 3a, 3b, 3c, 4 en 5 met sites 2, 2a, 3a en 3b als belangrijkste met betrekking tot de regulering van enzymactiviteit.

Regulatie van glycogeensynthase door fosforylatie vindt plaats via zowel primaire als secundaire fosforylatiegebeurtenissen. De tien kinases die glycogeen synthase activiteit reguleren zijn PKA, PKC, glycogeen synthase kinase-3 β (gecodeerd door het GSK3B-gen), fosforylase kinase (PHK), een calcium/calmodulin-afhankelijke eiwitkinase 2 familielid kinase (CAMK2 of CAMKII), een lid van de casein kinase 1 (CK1) familie, casein kinase 2 (CK2), AMPK, PAS-domein met serine/threonine kinase (PASK), dual specificiteit tyrosine fosforylatie gereguleerd kinase 2 (DYRK2) en p38MAPK (gecodeerd door het MAPK14-gen). Mensen drukken 11 genen uit in de Ca²⁺/calmodulin-afhankelijke eiwitkinasefamilie waarbij het functionele CAMKII-enzym bestaat uit vier verschillende subeenheden, α , β , δ en γ die zijn gecodeerd door respectievelijk de CAMK2A, CAMK2B, CAMK2D en CAMK2G-genen. De CK1 familie van kinases bestaat uit zeven monomeere enzymen.

Recente studies tonen aan dat de associatie van AMPK en PHK met de levervorm van glycogeen synthase niet significant is of niet optreedt. Primaire fosforylatie gebeurtenissen reguleren spierglycogeen fosforylase activiteit worden geïnitieerd door PKA, PKC, CaMPK2, PHK, en CK2. Secundaire fosforylatie gebeurtenissen zijn het resultaat van GSK3 en CK1. Wanneer glucagon zijn receptor op hepatocyten bindt, leidt de resulterende toename van de activiteit van PKA tot verhoogde fosforylatie van glycogeensynthase rechtstreeks door PKA. De regelgevende fosforylatie sites in glycogeen synthase gericht door PKA zijn 1a, 1b, en 2. Binnen leverglycogeen fosforyllase

Hoofdstuk 2

fosforylatie van plaats 2 is aangetoond dat het de belangrijkste is ten opzichte van de regulering ervan. Geactiveerd pka leidt ook tot fosforylatie en activering van fosforylase kinase die ook glycogeen synthase op plaats 2 fosforylaceert. Bovendien heeft glucagon-signalering een toename van de activiteit van CK2. Het netto-effect van glucagon-actie op hepatocyten is dus activering van drie verschillende kinasen die fosforylaat en glycogeensynase remmen.



Trajecten die betrokken zijn bij de regulering van glycogeensynthase door verschillende kinasen:

Zie de tekst voor details van de regelgevingsmechanismen. PKA is cAMP-afhankelijke eiwitkinase. PPI-1 is fosfoproteïne fosfatase-1 remmer. Groene pijlen duiden op positieve effecten op elk aangegeven enzym. Rode T-lijnen geven remmende acties aan. Kortom, glycogeen synthase is fosforylated, en veel minder actief gemaakt en vereist glucose-6-fosfaat om enige activiteit te hebben op alle. Fosforylatie van glycogeen synthase

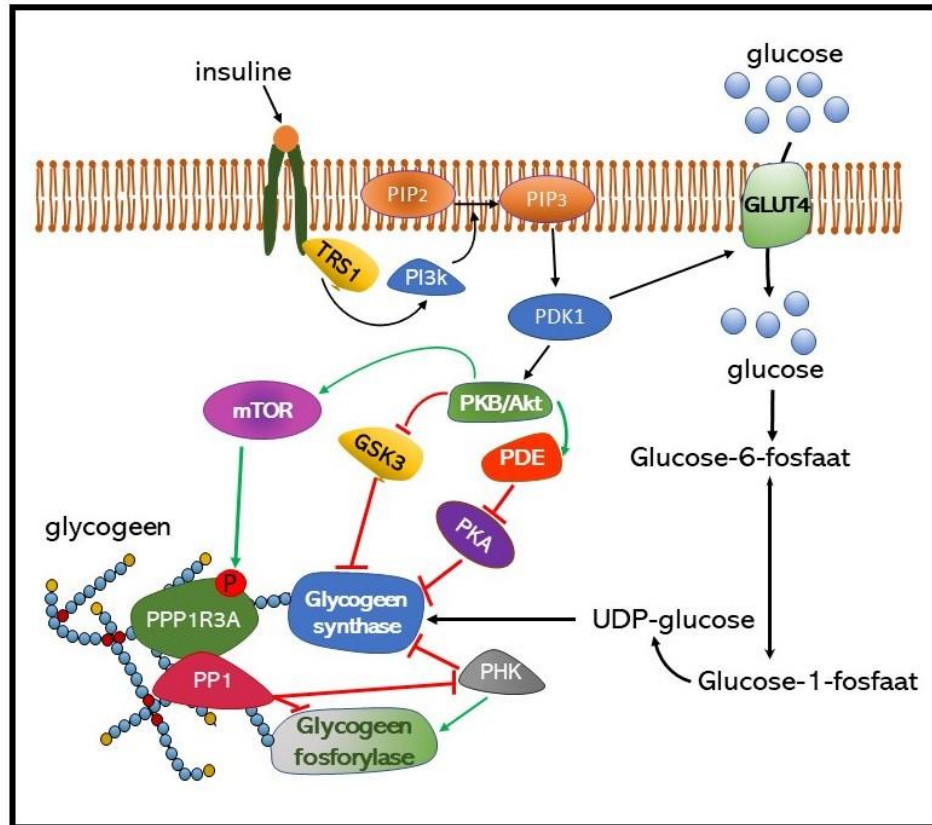
Metabolisme van koolhydraten

wordt bereikt door verschillende enzymen. Een belangrijke glycogeen synthase is hetzelfde enzym dat verantwoordelijk is voor fosforylatie (en activering) van glycogeen fosforylas genaamd fosforylase kinas, PHK. PKA (zelf geactiveerd door receptor gemedieerde mechanismen) ook fosforylates glycogeen synthase direct. De effecten van PKA op PPI-1 zijn dezelfde als de hierboven beschreven effecten voor de regulering van glycogeenfosforylas. De andere enzymen die rechtstreeks aan glycogeensynase worden getoond, zijn eiwitkinase C (PKC), calmodulin-afhankelijke eiwitkinase 2 (CaMPK2), glycogeen synthase kinase-3 (GSK3). Het enzym PKC wordt geactiveerd door Ca^{2+} ionen en fosfolipiden, voornamelijk diacylglycerol, DAG. DAG wordt gevormd door receptorgemedieerde hydrolyse van membraanfosfatidylinositol-4,5-bisfosfaat (PIP_2).

Aangezien insuline en glucagon tegenregulerende hormonen zijn, moet het duidelijk zijn dat ze tegengestelde effecten zullen uitoefenen op de snelheid en het niveau van glycogeensynthese. Zoals hierboven beschreven, wanneer glucagon zijn receptor bindt op hepatocyten is er een resulterende stijging van cAMP en een gelijktijdige toename van de activiteit van PKA. PKA is aangetoond dat het fosforylaat glycogeen synthase op ten minste drie verschillende sites (sites 1a, 1b, en 2). Bovendien leidt de PKA-activiteit tot een toename van de activiteit van fosforylase kinas, die op zijn beurt glycogeensynase fosforylaceert op een van dezelfde locaties als PKA (site 2). De werking van insuline, op het niveau van PKA, is het verhogen van de activiteit van fosfodiesterase die cAMP naar AMP hydrolyzes waardoor het niveau van actieve PKA wordt verminderd. Insuline oefent ook een negatief effect op de activiteit van GSK3 zodanig dat er een verminderd niveau van fosforylatie van glycogeen synthase door deze kinase. Binnen skeletspier GSK3

Hoofdstuk 2

fosforylates sites 3a, 3b, 3c, en 4 in glycogeen synthase. Om meer te zien over de werking van insuline op het niveau van GSK3 bezoek de Insuline actie pagina.



Insulinedeemedeerde effecten op glycogeen homeostase in skeletspieren: Insuline activeert de synthese van glycogeen, terwijl tegelijkertijd glycogenolyse wordt geremd, via de gecoördineerde effecten van verschillende insulinerceptiegeactiveerde trajecten. Getoond in deze figuur zijn de belangrijkste insuline-gereguleerde activiteiten en hoe ze snel kunnen hun effecten uit te oefenen, omdat alle activiteiten nauw verbonden zijn door middel van eiwit-eiwit en eiwit-glycogeen interacties. Zoals hierboven aangegeven is de activiteit die oorspronkelijk werd geïdentificeerd als eiwitgericht glycogeen (PTG) eigenlijk een regelgevende subunit van de heterotetrameric PP1. Er is een spierspecifieke regelgevende subunit (gecodeerd door het PPP1R3A-gen) en een

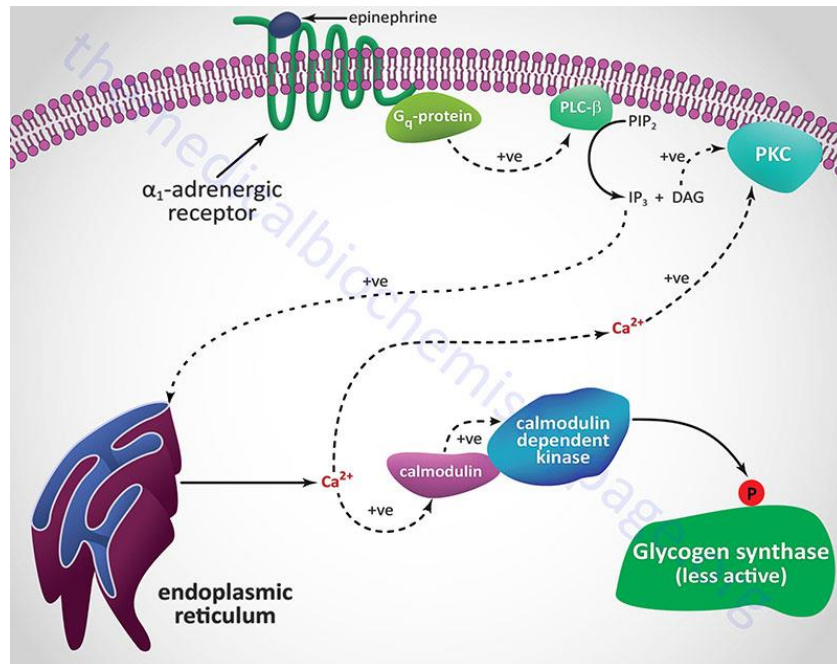
Metabolisme van koolhydraten

leverspecifieke regelgevende subunit (gecodeerd door het PPP1R3B-gen). Insulinegeïnduceerde signaaltransductie resulteert in fosforylatie van het PPP1R3A-eiwit op Ser46, wat resulteert in verbeterde PP1-katalytische activiteit. Ook diagram is de reactie van skeletspiercellen op insuline op het niveau van glucosetransport naar cellen via GLUT4-translocatie naar het plasmamembraan. PDK1: PIP₃-afhankelijk eiwit kinase 1. PHK: fosforlase kinase. PP1: eiwitfosfatase-1. PDE: fosfodiesterase. Pijlen geven de richting van de stroom of positieve effecten aan, rode T-lijnen vertegenwoordigen remmende effecten.

Hormonen en neurotransmitters die resulteren in het vrijkomen van opgeslagen intracellulaire Ca²⁺ ook leiden tot negatieve regulering van glycogeen synthase activiteit. Zoals hierboven beschreven, Ca²⁺ ionen binden aan de calmodulin subunit van fosforlase kinase (PHK: calmodulin is een onderdeel van vele enzymen die reageren op Ca²⁺) en resulteren in deactivering leidt tot verhoogde fosforylatie en remming van glycogeen synthase. Wanneer α₁-adrenerge receptoren worden gestimuleerd, is er een toename van de activiteit van PLC-β met een resulterende toename van PIP₂ hydrolyse. De producten van PIP₂ hydrolyse zijn DAG en IP₃. Zoals hierboven beschreven voor glycogeen phosphorylase, DAG, samen met de Ca²⁺ ionen vrijgegeven door IP₃, activeren PKC die fosforyleert en inactieveert glycogeen synthase. Fosforylatie van glycogeensynase door PKC komt voor in hetzelfde domein van het enzym dat een van de doellocaties is voor PKA-fosforylatie, namelijk site 2. Bijkomende reacties op calcium zijn de activering van leden van de calmodulin-afhankelijke eiwitkinasefamilie geïdentificeerd als CaMK2 (Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase 2; ook aangewezen CAMKII) die ook glycogeen synthase fosforylaceert. Mensen drukken vier CaMK2-genen uit die zijn geïdentificeerd als

Hoofdstuk 2

CAMK2A (CaMK2 alpha), CAMK2B (CaMK2 beta), CAMK2D (CaMK2 delta) en CAMK2G (CaMK2 gamma) die elk meerdere verschillende eiwitvormen genereren als gevolg van alternatieve mRNA-splicing. Fosforylatie van glycogeen synthase door CaMK2 vindt plaats op de sites 1b en 2.



Trajecten die betrokken zijn bij de regulering van glycogeen synthase door epinephrinum:

Epinephrinum (of noradrenaline) activering van α_1 -adrenerge receptoren resulteert in de activering van PLC β . Zie de tekst voor meer informatie over de regelgevingsmechanismen. PKC is eiwit kinase C. PLC β is fosfolipase C β . Het substraat voor PLC β is fosfatidylinositol-4,5-bisfosfaat (PIP₂) en de producten zijn IP₃ en DAG. +ve verwijst naar positieve effecten.

De netto-effecten van de verschillende fosforylaties van glycogeen synthase resulteren in:

1. verminderde affiniteit van het enzym voor UDP-glucose.

Metabolisme van koolhydraten

2. verminderde affiniteit van het enzym voor glucose-6-fosfaat.
3. verhoogde affiniteit van het enzym voor ATP en P_i .

Reconversie van glycogeen synthase *b* naar glycogeen synthase *a* vereist dephosphorylation. Dit wordt voornamelijk uitgevoerd door de serine/threonine fosfatase die eerder werd beschreven, PP1. Dit is natuurlijk dezelfde fosfatase die betrokken zijn bij de dephosphorylation van glycogeenfosforyllas hierboven beschreven. Hoewel een andere serine/threonine fosfatase, namelijk eiwitfosfatase-2A (PP2A), is aangetoond dat het glycogeen synthase *in vitro* dephosphorylate, zijn rol *in vivo* aanzienlijk minder is dan die van PP1.

De activiteit van PP1 wordt ook beïnvloed door insuline zoals beschreven zodanig dat de effecten van insuline een tegengesteld effect uitoefenen op dat van glucagon en epinephrinum op de algehele glycogeen homeostase. Dit moet duidelijk lijken, omdat de rol van insuline is om de opname van glucose uit het bloed te verhogen en op te slaan als glycogeen.

Nucleaire glycogeenmetabolisme en controle van genexpressie

Hoewel de cytosol de belangrijkste plaats is van glycogeenaccumulatie, wordt het molecuul ook gevonden in de kern, in de mitochondriën, en geassocieerd met het endoplasmatische reticulum, ER (of het sarcoplasmatische reticulum in de spier). De aanwezigheid van glycogeen in de kern suggereert dat er waarschijnlijk een nucleair specifiek glycogeen metabolisch pad(en) zal zijn. Er is geen bekend mechanisme voor het vervoer van glycogeen over celmembranen en gezien het feit dat glycogeen

Hoofdstuk 2

synthase is gevonden in de kern, is voorgesteld dat glycogeen synthase is waarschijnlijk *optreden de novo* in de kern. Naast glycogeen synthase (gecodeerd door de GYS1 en GYS2 genen), zijn UDP-glucose pyrofosfolase 2 (gecodeerd door het UGP2-gen) en de glucose-6-fosfaattransporter, G6PT1 (gecodeerd door het SLC37A4-gen) gevonden in de kern. Er is aangetoond dat glucose-6-fosfaat (G6P) het substraat is voor de integratie van glucose in nucleair glycogeen. Naast enzymen van glycogeenmetabolisme, zijn alle glycolytische enzymen (met uitzondering van hexokinase) en het pyruvaat dehydrogenase complex (PDHc) ook te vinden in de kern. Inderdaad, nucleaire PDHc regelt histon acetylatie.

Een van de belangrijkste functies van nucleair glycogeen is om te dienen als een koolstofpool die de metabole substraten levert voor histonmodificatie die onafhankelijk is van cytoplasmische metabolieten van glycogeen en glucose. Er is aangetoond dat nucleï's glucose-6-fosfaat metaboliseren aan de glycolytische tussenproducten, waaronder fructose-6-fosfaat (F6P), 3-fosfolyceraat (3PG) en pyruvaat. Kernen zetten echter geen vrije glucose om in glycolytische tussenproducten. Metabolisme van nucleair glycogeen wordt versterkt door de aanwezigheid van de E3 ubiquitine ligase, malin (gecodeerd door de NHLRC1 (NHL herhaling met E3 ubiquitine eiwit ligase 1) gen), en vereist de aanwezigheid van glycogeen fosforylase. Een belangrijke functie voor het nucleaire glycogeenmetabolisme is waarschijnlijk de productie van nucleair gelokaliseerd pyruvaat, die dan kan dienen als bron van het nucleaire acetaat dat nodig is voor histonacetylatie. In *in vitro* experimenten, waar malin is overuitgedrukt, bleek dat er verhoogde eiwitacetylatie in de kern en dat dit de aanwezigheid van glycogeen fosforylase vereist. Malin overexpressing cellen hebben verhoogde acetylatie van tal van histonen, waaronder H1.4, H2A1, H2A3,

Metabolisme van koolhydraten

H3, en H4. Histon acetylatie is direct geassocieerd met veranderingen in transcriptie. Inderdaad, in malin overexpressing cellen verhoogde expressie van genen die betrokken zijn bij trajecten van gladde spiercontractie, DNA-methylatie, DNA-demethylatie, en DNA alkylation is gedocumenteerd, terwijl verminderde expressie van genen die betrokken zijn bij chromosoom segregatie, cel proliferatie, en cellulaire katabole processen werden ook gevonden.

Nucleaire glycogenolyse draagt bij aan de pyruvaatpool en vervolgens aan histonacetylatie. Dit proces is significant, niet alleen voor normale cellen, maar draagt ook bij aan het ontstaan van vele vormen van kanker. Kankers die de expressie van het NHLRC1-gen hebben verminderd, vertonen de regulering van glycogenolyse als gevolg van de rol van malin in nucleair gelokaliseerd glycogeen fosforylase. De vermindering van het nucleaire glycogeenmetabolisme leidt tot een gebrek aan substraat voor histonacetylatie en draagt bij aan het veranderde epigenetische landschap bij veel kankers.