

Kapitola 7 Sacharidy

Sacharidy jsou aldehydy nebo ketony polyhydroxyalkoholů. Nejjednodušší sacharidy, *monosacharidy*, se podle počtu uhlíků dělí na triózy, tetřózy, pentózy atd., podle přítomnosti aldehydové či ketonové skupiny pak na aldózy a ketózy. Monosacharidy již nemohou být hydrolyzovány na sacharidy jednodušší, složitější cukry ano. Disacharidy poskytují hydrolyzou dvě monosacharidové jednotky, oligosacharidy dvě až deset, polysacharidy více jak deset monosacharidových jednotek.

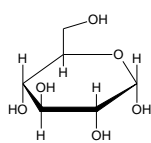
Sacharidy jsou hojně rozšířeny jak v rostlinné, tak v živočišné říši. Plní zde úlohu strukturní i metabolickou. Nejrozšířenější a biomedicínsky nejdůležitější monosacharid, glukóza, vzniká u rostlin fotosyntézou z oxidu uhličitého a vody. Glukóza je ukládána ve formě škrobu nebo je přeměňována na celulózu, která tvoří základ rostlinného pletiva. U živočichů, i když mohou některé sacharidy syntetizovat z tuku a bílkoviny, je většina sacharidů odvozena z rostlin.

Mnoho monosacharidů tvoří meziproducty při metabolismu glukózy (triózy, tetřózy, pentózy, sedoheptulóza). Fyziologicky významné jsou i mnohé deriváty glukózy (např. kyselina glukuronová aj.), a také některé disacharidy (maltóza, sacharóza, laktóza) a zásobní formy glukózy (glykogen u živočichů, škrob u rostlin).

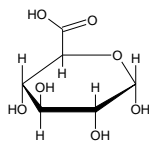
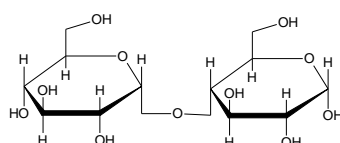
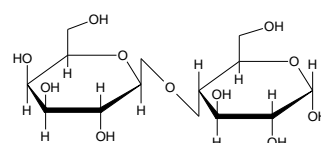
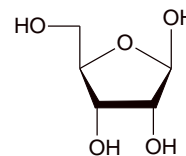
Velmi důležité jsou pentózy ribóza a deoxyribóza jejich estery s kyselinou fosforečnou, které tvoří základ nukleotidů, což jsou nejenom jsou skladebné kameny nukleových kyselin (jak znáte z biochemie, případně z kapitoly 22 tohoto textu), ale mnohé z nich, např. ATP, představují významné sloučeniny z hlediska energetického metabolismu (jakýsi akumulátor chemické energie).

Ve formě glykosidů (tj. ve vazbě s dalším cukrem nebo s necukernou složkou, tzv. *aglykonem*) se cukry vyskytují v různých sloučeninách jako léčiva (kardiální glykosidy, některá antibiotika), různé aromatické látky, jsou i součástí živočišných tkání.

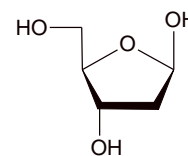
Nemoci týkající se sacharidů jsou zejména *diabetes mellitus*, *galaktosémie*, *nemoci ze střádání glykogenu* a *nesnášenlivost mléka*.



Glukóza

Kyselina
glukuronováMaltóza
(4-O-β-D-glukopyranosyl-D-glukopyranóza)Laktóza
(4-O-β-D-galaktopyranosyl-D-glukopyranóza)

ribóza



deoxyribóza

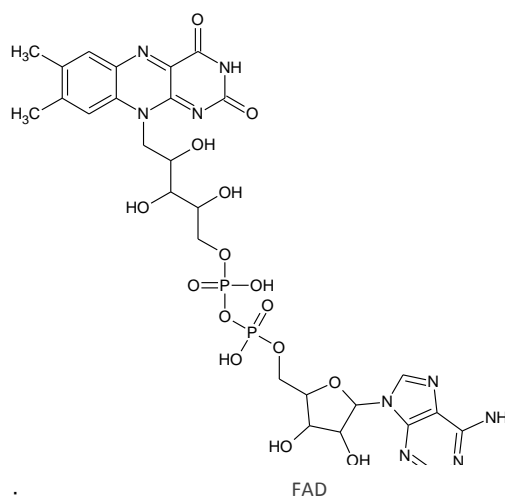
7.1. Glukóza

Podstatná část sacharidů se dostává v savčím organismu do krevního oběhu ve formě glukózy, a to buď přímou resorpcí z potravy, nebo přeměnou sacharidů na glukózu v játrech. V savčích tkáních (kromě přežvýkavců) je glukóza hlavním metabolickým palivem, je rovněž univerzálním metabolickým palivem plodu (fetu).

Glukóza je také prekursorem ostatních sacharidů vyskytujících se v těle, resp. ostatní cukry vyskytující se v těle se z ní mohou tvořit. Mnohé z nich mají vysoce speciální funkce: glykogen je zásobní formou glukózy, ribóza tvoří důležitou součást nukleotidů, nukleových kyselin a mnohých koenzymů, galaktóza je přítomná v laktóze v mléce, v některých komplexních lipidech či v kombinaci s bílkovinami v glykoproteinech a v proteoglykanech (*glykany* jsou polysacharidy, proteoglykany obsahují cca 5% proteinů a cca 95% sacharidů; jsou to polyanionty a tvoří základní součást pojivových tkání zajišťující viskoelastické vlastnosti). Krevní cukr *glukóza* představuje *okamžitý* energetický zdroj pro potřeby organismu (*zásobními* zdroji energie jsou, jak již bylo uvedeno, glykogen a především tuky).

Hladina/koncentrace glukózy v krvi je pečlivě udržována složitými regulačními mechanismy, kde se významně uplatňují zejména hormon *inzulín* a jeho antagonisté, hormony *glukagon* a *kortisol* (podrobnosti v kapitole 17. *Hormony*, viz také *schéma principů regulace hladiny glukózy* na str. 17-33).

Precizní a přesné stanovení koncentrace glukózy v krvi (plazmě, séru, kapilární krvi) se řadí mezi základní analytické metody klinické biochemie a patří vedle rutinních a statimových i mezi *vitálně* důležité analýzy.



FAD

(viz průběh reakce u metody stanovení
GOD-POD na str. 7-2)

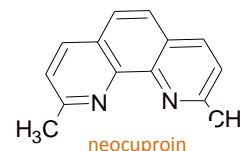
7.1.1. Metody stanovení glukózy

7.1.1.1. Neenzymové metody

Původní *neenzymové metody* mají pouze historický význam a dnes se nepoužívají.

Metody využívající redukčních vlastností glukózy (některé příklady **pro zvědavé studenty**):

- Oxidace glukózy pomocí Fe^{3+} (ferrikyanid) podle *Hagedorna a Jensena* (dříve nejrozšířenější): ferrikyanid draselný je glukosou redukován na ferrokyanid, který je vysrážen ve formě zinečnato draselné soli, zbývající ferrikyanid je kvantitativně redukován jodidem podle rovnice: $2\text{H}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 2\text{HI} = 2\text{H}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{I}_2$. Uvolněný jod je titrován tiosulfátem.
- Oxidace glukózy pomocí Cu^{2+} :
 - *Neocuproinová metoda*: měďné ionty (Cu^+) vzniklé reakcí Cu^{2+} s cukrem reagují s neocuproinem (2,9-dimethyl-1,10-fenanthrolin) za vzniku oranžového komplexu rozpustného v EtOH ($\lambda_{\text{max}} = 457 \text{ nm}$)
 - *Reakce podle Nelsona a Somogyiho*: měďné ionty (Cu^+) vzniklé reakcí Cu^{2+} s cukrem dále redukuje arsenomolybdenovou kyselinu na molybdenovou modř ($\lambda_{\text{max}} = 820 \text{ nm}$)



Kopulace s aromatickými aminy v kyselém prostředí

Reakce glukózy s aromatickými aminy (o-toluidin, benzokain a další) za tepla (var reakční směsi) na barevnou látku; nejčastěji se používal o-toluidin, dřívější rutinní, široce užívaná metoda.

Bývalá diagnostická souprava PLIVA-Lachema Diagnostika: Činidlo obsahovalo vedle o-toluidinu také koncentrovanou kyselinu octovou, thiomčovinu a kyselinu oxaloctovou (existují různé modifikace); v původním provedení se sérum deproteinovalo 5% kyselinou trichloroctovou, přídavek tetraboritanu sodného k reakční směsi tento stupeň analýzy odstranil.

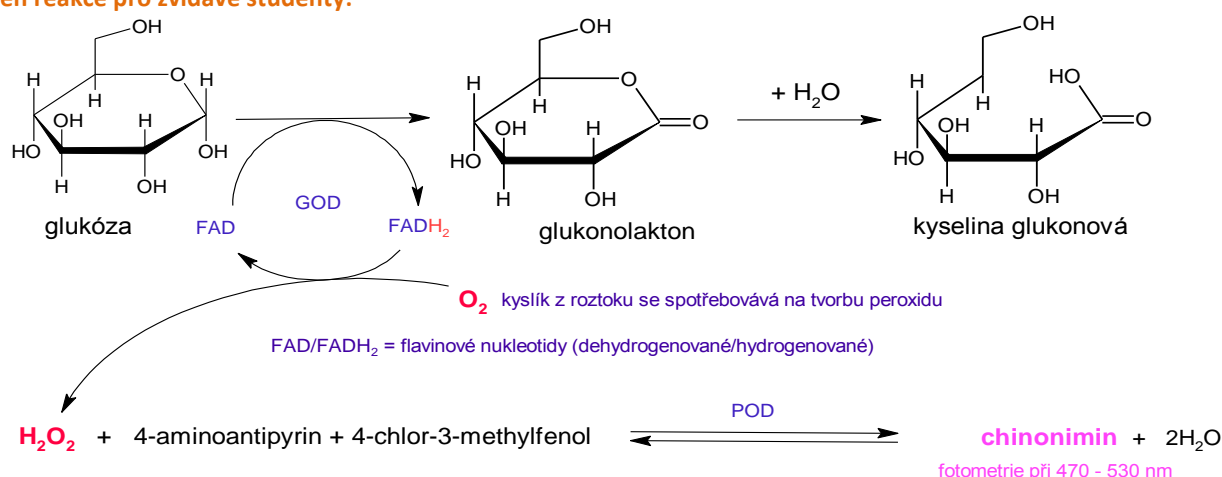
7.1.1.2. Metody enzymové

Moderní a široce používané enzymové metody byly vyvinuty zejména pro automatické analyzátoři, využívají se však v prakticky každém typu provozu (podobně jako řada dalších analytických metod).

Metoda s glukózaoxidázou a peroxidázou

Oxidace glukózy není zajištěna kovovými ionty, jako v předcházejících případech, ale enzymem *glukózaoxidázou*: glukóza je oxidována kyslíkem z roztoku (přes D-glukono-1,5-lakton) na kyselinu glukonovou, vzniklý peroxid vodíku je stanoven modifikovanou Trinderovou reakcí (viz kapitola 3, str. 3-19). Účast glukózaoxidázy (GOD) a peroxidázy (POD) je původcem zkratky názvu metody GOD/POD.

Průběh reakce pro zvědavé studenty:



Diagnostická souprava Erba-Lachema s.r.o.: Glukosa Liquid 1000, Glukosa GOD 1500: v Trinderově reakci je použit 3-methylfenol, výsledkem je růžové zbarvení fotometrovatelné v oblasti 490 – 540 nm.

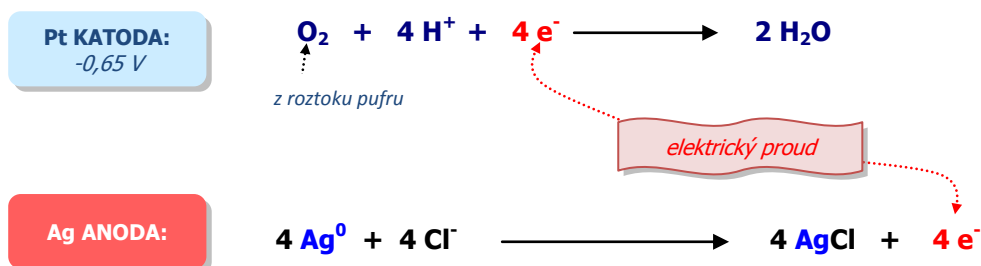
Referenční hodnota: FPG = <5,6 mmol/l

Kritické hodnoty u dospělých: <3,0 mmol/l a > 20,0 mmol/l (nový nález), 25 mmol/l (u diabetiků)

Poznámka I: označení fP-glukóza značí „glukóza stanovená z plazmy pacienta, který nejedl určitou dobu, lačnil“ – viz „Stanovení diagnózy z hodnoty glykémie (FPG)“ v kapitole 17, *Hormony*, kde jsou i podrobnosti k referenčním hodnotám; f = fast = nalačno.

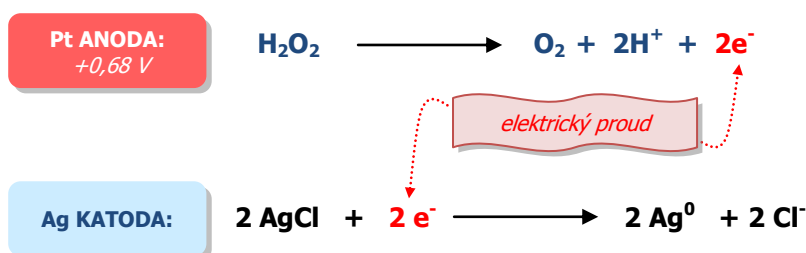
Reakce s glukózaoxidázou se využívá i v osobních glukometrech a jednoúčelových analyzátoch pro stanovení koncentrace glukózy v séru, v plazmě či v hemolyzátu, výsledek reakce je však zjišťován **amperometricky**, nikoliv fotometricky.

Prvním principem je amperometrické **stanovení úbytku kyslíku** v roztoku pufru, ve kterém probíhá glukózaoxidázová reakce. Kyslík přebírá na **platinové katodě Clarkovy elektrody** elektrony a tvoří se voda (viz obrázek a text níže a také na str. 8-33 v kapitole 8):

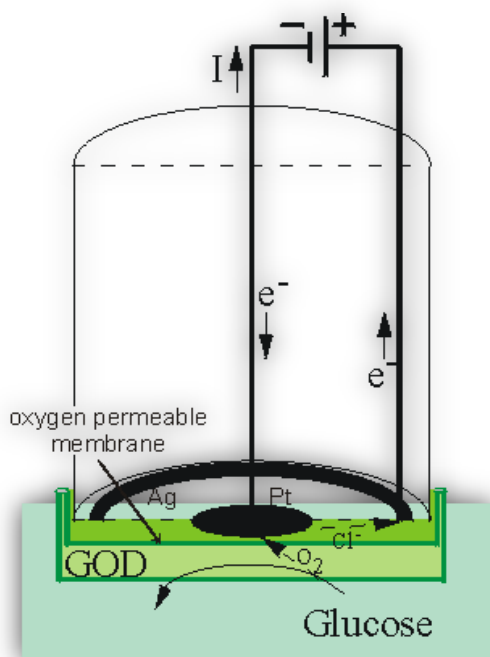


Elektrony ve výše uvedené reakci představují elektrický proud, který se měří, a který je úměrný koncentraci kyslíku v roztoku (čím větší úbytek kyslíku, tím vyšší koncentrace glukózy – kyslík se spotřebovává na tvorbu peroxidu a z roztoku ubývá → dojde k poklesu proudu).

Jinou možností amperometrické indikace je **přímé stanovení vzniklého peroxidu vodíku** na **Pt anodě** (peroxid předává platinové anodě elektrony a dochází k jeho rozkladu, redukce peroxidu):



Na tomto principu pracuje např. analyzátor fy EKF Biosen C-Clinic



Clarkova elektroda

je galvanický článek tvořený zdrojem, centrální platinovou elektrodou a chloridostříbrnou (Ag/AgCl) elektrodou, která je situována kolem centrální Pt elektrody. Článek je vložený do vhodného prostředí (pufr s obsahem KCl). Podle toho jaké napětí se vloží na Pt elektrodu, bude tato katodou (-0,65 V) nebo anodou (+0,68 V) a bude probíhat první nebo druhý výše popsany děj. V prvním případě jsou elektrody s pufrům odděleny od prostředí s glukózaoxidázou polyetylénovou membránou propouštějící pouze kyslík. Na obrázku vlevo je příklad takového jednoduchého uspořádání.

Překlad k obrázku:

oxygen permeable membrane = membrána propustná pro kyslík

Poznámka: Glukózaoxidasa může být součástí reakčního roztoku (přístroje fy Beckman) nebo může být imobilizována na membráně na *Clarkově* elektrodě (glukometr EKF Biosen C-Clinic).

Elektrody s ukotvenými enzymy se nazývají *enzymové elektrody* nebo též *biosensory*, *chip sensors* apod.

Enzymové metody stanovení glukózy představují rovněž **principy reakcí diagnostických proužků** jak na stanovení glukózy v moči, tak pro tzv. *self-monitoring*, čili stanovení hladiny glykémie pacientem pomocí *osobního glukometru*. Zjištění výsledku u osobních glukometrů je amperometrické. Význam stanovení glukózy a použití osobních glukometrů bude diskutován v kapitole 17, od str. 17-24.



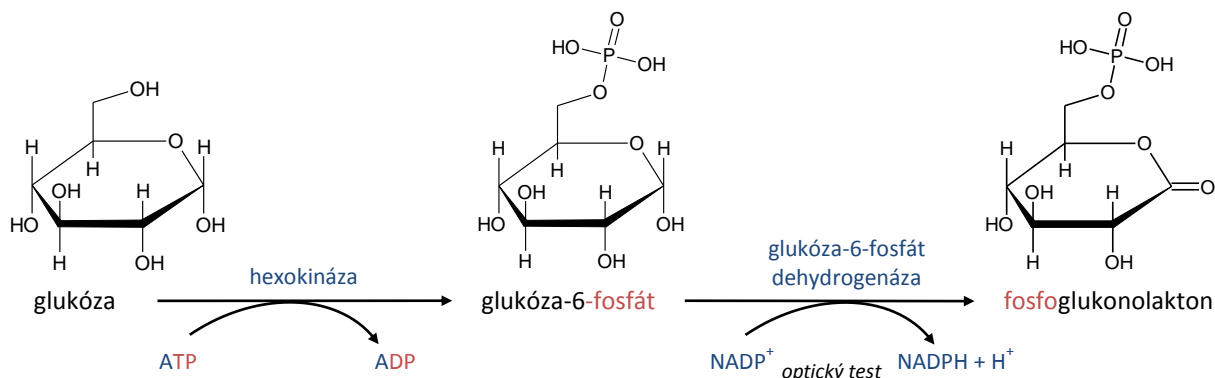
Glukometry fy Nova Biomedical: vlevo, přístroj pro nemocniční použití umožňující obousměrnou komunikaci v síti, opatřený čtečkou čárových kódů a dalšími funkcemi; vpravo, přístroj spíše pro domácí užití, bez možnosti napojení do sítě. Vlevo znázorněna čtyřvrstvá struktura diagnostického proužku – biosenzoru.

(<http://www.novabiomedical.com/>)

Metoda s hexokinázou

Stanovení glukózy pomocí enzymů *hexokinázy* a *glukóza-6-fosfát dehydrogenáz*. V tomto postupu je využito fosorylačních reakcí známých z biochemie cukrů, kdy je pomocí hexokinázy fosforylována glukóza na glukóza-6-fosfát, který je následně za katalýzy G6PD (glukóza-6-P dehydrogenáza) dehydrogenován na 6-P-glukonolakton. Koenzym reakce, NADP, je přitom hydrogenován. Sleduje se nárůst absorpance při 340 nm (optický test, viz kapitola 3, str. 3-20). Referenční metoda, používaná často i jako metoda rutinní.

Průběh reakce pro zvidavé studenty:



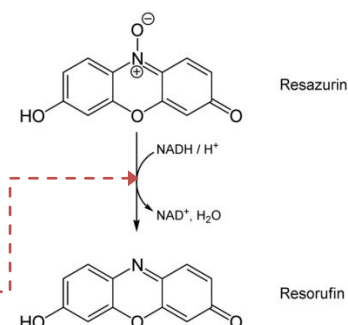
Poznámka:

Vzniklý lakton se spontánně nebo enzymaticky štěpí za vzniku kyseliny 6-fosfoglukonové.

Zjištění výsledku

1. *Spřažení s další reakcí kdy výsledkem je barevný či fluorescenční produkt, měřitelný foto- či fluorimetricky (příslušná látka je redukována pomocí NADPH₂):*

- ▶ jodnitrotetrazoliová violeť + fenaziniummethosulfát (fotometrie)
- ▶ fenaziniummethosulfát + resazurin (fluorimetrie)
- ▶ resazurin + NADH₂ (UV-test, pokles absorpance při 340 nm) - - - - -



2. **Optický test** (přímo se proměřuje redukce NADP \Rightarrow sledování nárůstu absorpance při 340 nm - viz rovnici výš).

Poznámka: Optický test je analyticky správnější postup. V tomto provedení se jedná o *referenční* (analytickou) metodu.

Pro zvidavé studenty: Jsou popsány i metody s *glukózadehydrogenázou* (EC 1.1.1.47), která má jako koenzym systém NAD(P)/NAD(P)H₂, takže využití optického testu je zřejmé. Systematický název enzymu je *beta-D-glukóza:NAD(P)⁺1-oxidoreduktáza*. Tento enzym redukuje pouze β -formu glukózy, výsledkem dehydrogenace glukózy je D-glukono-1,5-lakton a redukovaný koenzym. Průběh reakce je tedy velmi podobný reakci s glukózaoxidázou (EC 1.1.3.4), ale glukózadehydrogenáza má jiný koenzym, využitelný v optickém testu. Glukózadehydrogenáza se využívá i u glukometrů, kde je ovšem indikace amperometrická.

Průkaz a stanovení glukózy v moči a jejich význam, jsou dostatečně popsány v kapitole 5, na str. 5-11 a 5-12. Kvantitativní stanovení glykosurie je (až na biologický materiál) totožné se stanovením glykémie.

7.1.2. Klinické poznámky

Organismus může být **neschopen využít (utilizovat) glukózu**, což vede ke stavu obdobnému hladovění. Dochází ke ztrátě tukové tkáně a vzrůstu koncentrace meziproductů a metabolitů tvořících se při tukovém a proteinovém metabolismu, tj. dojde k nárůstu

- *ketolátek a mastných kyselin* – ze štěpení tuků
- *aminokyselin a peptidů* – ze štěpení proteinů
- *močoviny* – z metabolismu aminokyselin a peptidů.

Draselný kation se přesouvá z buněk do mimobuněčné tekutiny.

Naměří se *hyperglykémie*, stav je přítom charakteristický pro *hypoglykémii*.

Tento stav může nastat krátkodobě při **pouřazovém šoku**, dlouhodobě při onemocnění **diabetes mellitus**. O této chorobě je pojednáno podrobně v kapitole 17. *Hormony*, v části věnované hormonu *inzulínu* ([str. 17-22](#) a následující). Jsou tam rovněž uvedena všechna potřebná laboratorní vyšetření, související s diabetem, včetně preanalytické fáze. Doporučuji, abyste se na příslušné stránky podívali hned teď, protože podrobně o dané problematice budeme hovořit až za rok.

Nebezpečné AGEs

Glykace je neenzymatická adice cukerného zbytku na proteinové aminoskupiny.

Rychlost glykace je dána koncentrací reagujících složek; protože koncentrace bílkovin v krvi je v podstatě konstantní, závisí výsledek na koncentraci glukózy v krvi. V první fázi vzniká kondenzační produkt, reakce je vratná a po odeznění přechodné hyperglykémie se glukóza z vazby zase uvolní. Při dlouhodobé hyperglykémii dochází k intramolekulárnímu přesmyku a vzniká *ketoamin* (tzv. *Amadoriho produkt*), který je derivátem fruktozaminu. Reakce je nevratná, molekula cukru zůstává navázána na molekulu bílkoviny po celou dobu její existence. Ketoamin pak může reagovat několika dalšími způsoby. Konečné produkty se nazývají *Advanced Glycation End products (AGEs)*, tj. koncové produkty pokročilé glykace. AGEs se velmi pravděpodobně podílejí na rozvoji či zhoršení stavu mnoha degenerativních chorob, jako jsou diabetes, ateroskleróza, chronické ledvinové selhání a Alzheimerova choroba. V organismu se kumulují a „vytvrzují tepny, zakalují čočky a narušují neuronové vazby v mozku“. Stanovení glykovaného podílu hlavních krevních bílkovin umožňuje posoudit stav „zátížení“ organismu sacharidy (a potažmo AGEs) a rutinně se používá (nejen) pro hodnocení dlouhodobé kompenzace diabetu, tj. průměrné glykémie za delší časové období (podrobnosti v kapitole 17).



Louis Camille Maillard
1878 – 1936

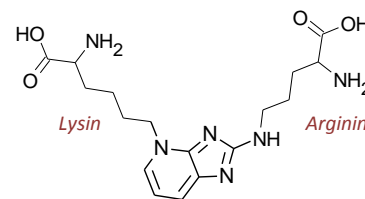
Pro zvědavé studenty: Tuto reakci (glykaci) poprvé popsal v roce 1912 Louis Maillard (*Maillardova reakce*), který pozoroval hnědnutí bílkovin při jejich zahřívání s cukry. Do roku 1971 byla tato reakce zajímavá zejména pro potravinářské chemiky (produktem Maillardovy reakce je např. sójová omáčka). V roce 1971 popsali autoři Trivelli, Ranney a Lai v časopise *The New England Journal of Medicine*, že glykace probíhá v každém živém organismu, zejména u stavů se zvýšenou koncentrací cukrů v krvi, jakými jsou *diabetes mellitus* nebo *galaktosemie*. V lidském organismu jsou bílkoviny glykovány zejména prostřednictvím lysinových zbytků. Na lysin jsou nejbohatší histony, bazické proteiny jádra, důležité pro organizaci a ochranu DNA. Produktem glykace histonu je *N(6)-Karbokymetylyzín (CML)*, což je asi nejužívanější marker výskytu AGEs v potravinách.

Maillardova reakce má tři fáze – iniciaci, propagaci a terminaci.

V první fázi (iniciace) vzniká přes nestabilní kondenzační produkt (*Schiffova báze*) stabilnější *Amadoriho* (také *Heynsův*) produkt. Amadoriho komplexy podléhají různým změnám, jejichž směr ve značné míře závisí na pH prostředí, ale výsledkem je vždy nějaká forma tzv. *deoxyglukosonu*, což jsou velmi reaktivní sloučeniny, které opět reagují (propagace) s volnou aminoskupinou a tím propagují *Maillardovu reakci* a způsobují tak nevratné molekulární změny proteinů tvorbou heterocyklických produktů a inter- a intramolekulárních můstků. Produkty reakcí glukosonů jsou např. *furfuraldehydy*, *reduktony* nebo *pyrazony*, *pyrroly*, *pyrrolinony* a *pyrrolinonreduktony*. Tyto produkty mohou dále reagovat s aminy na hnědé, fluoreskující sloučeniny, jejichž struktura je málo známá; jsou stabilní a ukončují *Maillardovu reakci* (terminace, tvorba AGEs).

„AGEs“ (čti *ejdžís*) jsou konečné produkty pokročilé glykace. Název je zkratkou *Advanced Glycation End products*, koncové „P“ je vynecháno, protože *age* = anglicky *věk* a tak zkratka současně evokuje povědomí, že těchto látek přibývá postupně se stářím organismu. Jednou z těchto sloučenin je *pentosidin* (viz vzorec na str. 7-6), odvozený z pentosy ribózy, tvořící fluoreskující *cross-linky* (můstky) mezi argininovými a lysinovými zbytky v kolagenu. Používá

se jako *biomarker* ke zhodnocení kumulativního poškození proteinů látkami AGE a jako marker stárnutí. Poslední studie navíc naznačují, že pentosidin je součástí procesů neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerova choroba, vaskulární demence) a předpokládá se, že by zvýšená hladina této látky mohla být spojena s chronickým zánětlivým procesem přítomným u roztroušené sklerózy. Proto se usuzuje, že by pentosidin mohl být novým markerem pro roztroušenou sklerózu. Pentosidin se stanovuje gradientovou HPLC v reverzní fázi s fluorescenční detekcí.



Pentosidin

AGEs jsou vychytávány receptorem RAGE (*Receptor for Advanced Glyaction End products*), který se vyskytuje na mnoha buňkách, včetně buněk hladkého svalstva, endoteliálních buněk a buněk imunitního systému mnoha tkání. Má se za dokázané, že např. za většinu komplikací diabetu (katarakta, urychlená ateroskleróza, neuropatie) mohou právě produkty *Maillardovy reakce*. AGEs jsou uváděny jako příčina mnoha zdravotních potíží i u nediabetiků, od onemocnění ledvin přes demenci, aterosklerózu, astma, infarkt myokardu až po různé typy rakoviny aj. Je to díky tomu, že mimo jiné podporují oxidaci LDL částic, obecně podporují oxidační stres, zvyšují vaskulární permeabilitu, inhibují vaskulární dilataci a indukují sekreci různých cytosinů. Uvažuje se, že patogenese zánětlivých onemocnění typu aterosklerózy, astmatu, artritidy, srdečního infarktu, nefropatie, retinopatie, periodontitidy a nefropatie má svůj původ v aktivaci nukleárního faktoru *kappa B (NF-κB)*, ke které dojde po navázání AGEs na receptor RAGE. AGEs se v organismu nejen tvoří, ale jsou do něho i přiváděny zvenčí potravou. Exogenní AGEs mají v podstatě stejné účinky jako AGEs endogenní a v potravinách vznikají při jejich smažení, pečení nebo grilování (teploty >280 °C). Novější výzkumy naznačují, že vznikají dokonce i při nižších teplotách, než je 280 °C. Na faktu, že *Maillardova reakce* může vysvětlit stárnutí „dlouho-žijících“ molekul, je založena nová teorie stárnutí.

Galaktosemie

je autosomálně recesivní metabolická porucha metabolismu galaktózy (srovnej kap.8, str.8-17), způsobená mutací v genu kódujícím *galaktóza-1-fosfát uridytransferázu*. Projevuje se již u novorozenců, protože mateřské mléko obsahuje značné množství galaktózy. Postiženého jedince provází nevolnost, zvracení, zvětšení jater, žloutenka, později může dojít až k otoku mozku a smrti.

Léčba: Vyloučení galaktózy z diety.

Poruchy ze střádání glykogenu, glykogenózy.

Existuje několik typů glykogenóz (I – VIII), průvodním znakem je hromadění, střádání glykogenu v buňkách různých orgánů (jater, ledvin), případně v různých organelách buňky, např. u dále zmíněné *Pompeho choroby* je to střádání glykogenu v lysosomech.

Pro zvědavé studenty: *Glykogenóza typ II (Pompeho choroba)*, lysosomální porucha metabolismu glykogenu, autosomálně recesivní genetické onemocnění s poruchou v genu kódujícím *α-1,4-glukosidázu*. Klinické projevy jsou různé, existuje několik stupňů závažnosti této choroby. Dochází k svalové hypotonii i k poškození svaloviny srdeční (kardiomyopatie).

Léčba: Dodání chybějícího enzymu.

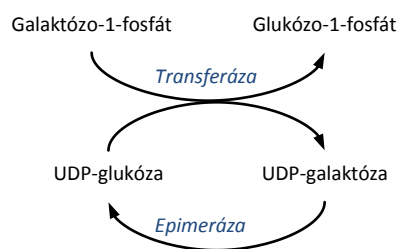
Nesnášenlivost mléka, intolerance laktózy

(nutno odlišit od *alergie na mléčnou bílkovinu*). Na vině intolerance laktózy je laktáza, přesněji *β-galaktosidáza, EC 3.2.1.23*, enzym, který rozkládá mléčný cukr (laktózu) ve střevech.

Příčin může být několik: vrozený deficit enzymu, sekundárně snížená aktivita enzymu, primárně snížená aktivita enzymu.

Důsledky nejsou ani tak nebezpečné, jako nepříjemné: protože laktóza nemůže být (dostatečně) štěpena na glukózu a galaktózu, zvyšuje nerozštěpená laktóza osmotický tlak, což organismus vyrovnává zvýšeným obsahem vody ve střevním obsahu, urychluje se průchod tenkým střevem, což dále zhoršuje vstřebávání laktózy. Pokud se dostane do tlustého střeva, je zde laktóza zkvašována za anaerobních podmínek střevními bakteriemi na vodík, metan, oxid uhličitý (plynatost) a krátké mastné kyseliny (na které mohou být někteří jedinci citliví).

Léčba: Úprava diety s vyřazením mléčných výrobků, případně se zařazením výrobků neobsahujících laktózu, užívání potravinových doplňků s obsahem laktázy.



Napojení metabolismu galaktózy na metabolismus glukózy.

Chybí-li příslušná transferáza, nemůže organismus galaktózu využít a ta se hromadí.

7.2. Stručné shrnutí obsahu kapitoly

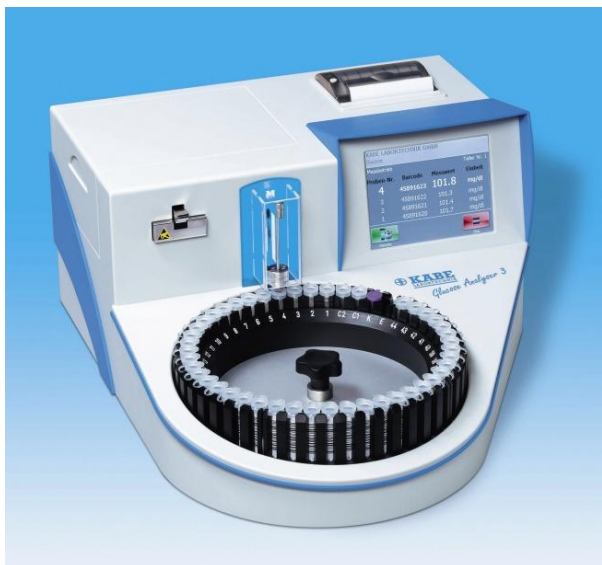
- Sacharidy u člověka slouží jako zdroj energie (glukóza) i jako součást různých struktur (důležité nukleotidy, DNA, RNA, postranlační vazba sacharidů na bílkoviny, tj. modifikace proteinů, aj.). Energetickou rezervou je glykogen.
- Nemoci týkající se sacharidů jsou zejména *diabetes mellitus*, *galaktosémie*, *nemoci ze střádání glykogenu* a *nesnášenlivost mléka*.
 - Neschopnost organismu využít glukózu může nastat krátkodobě při pouhazovém šoku, dlouhodobě u onemocnění *diabetes mellitus*. Dochází k nárůstu meziproductů a metabolitů tvořících se při tukovém a proteinovém metabolismu, tj. ketoláték a mastných kyselin, aminokyselin, peptidů a močoviny, zvyšuje se i koncentrace draselného kationtu v plazmě. Tento stav je charakteristický pro hypoglykémii, ve skutečnosti se naměří hyperglykémie. Neléčený DM vede ke smrti.
 - *Galaktosemie* je autosomálně recesivní metabolická porucha metabolismu galaktózy, způsobená mutací v genu kódujícím *galaktóza-1-fosfát uridylyltransferázu*. Postiženého jedince provází nevolnost, zvracení, zvětšení jater, žloutenka, později může dojít až k otoku mozku a smrti.
 - Průvodním znakem *glykogenózy* je hromadění, střádání glykogenu v buňkách různých orgánů (jater, ledvin), případně v různých organelách buňky.
 - *Nesnášenlivost mléka*, je způsobena vrozeným deficitem enzymu laktázy, nebo jeho primárně či sekundárně sníženou aktivitou. Nutno odlišit od *alergie na mléčnou bílkovinu*.
- Moderní enzymové metody pro stanovení glukózy byly vyvinuty zejména pro automatické analyzátory, využívají se však v prakticky každém typu provozu.
- Reakce s *glukozaoxidázou* může být zakončena modifikovanou Trinderovou reakcí, tj. tvorbou fotometrovatelné barevné látky. Tato indikace výsledku reakce se využívá v automatických analyzátorech i při manuální fotometrii. Stejně zakončení (tvorba barevné sloučeniny) je použito i v diagnostických proužcích pro průkaz glukózy v moči.
- Zakončení této reakce může být i amperometrické, pomocí *Clarkovy elektrody*, které má dvojitý provedení
 - stanovení úbytku kyslíku z roztoku pufru, ve kterém probíhá reakce
 - stanovení peroxidu vodíku, který se při této reakci tvoří.

Tato indikace výsledku reakce se využívá v glukometrech, ať již laboratorních, nebo osobních. *Clarkova elektroda* je galvanický článek, který má v prvním případě na Pt katodě vloženo napětí - 0,65 V (vylučovací napětí kyslíku), v druhém případě má na Pt anodě vloženo napětí +0,68 V (rozklad peroxidu).

- Reakce s *hexokinázou* je zakončena UV testem, tj. sledováním nárůstu absorbance při 340 nm, způsobeného hydrogenací NADP, který je koenzymem glukosa-6-fosfát dehydrogenázy, součástí reakční směsi. Je to referenční metoda, stále častěji používaná jako metoda rutinní.
- Glykace je neenzymová adice cukerného zbytku na proteinové aminoskupiny. Rychlost glykace je dána koncentrací reagujících složek; protože koncentrace bílkovin v krvi je v podstatě konstantní, závisí výsledek na koncentraci glukózy v krvi. Při dlouhodobé hyperglykémii se původně vratná reakce stává nevratnou a vzniklý *ketoamin* pak může reagovat několika různými způsoby. Výsledkem jsou *Advanced Glycation End products*, *AGE*, koncové produkty pokročilé glykace, které se velmi pravděpodobně podílejí na rozvoji či zhoršení stavu mnoha degenerativních chorob, jako jsou diabetes, ateroskleróza, chronické ledvinové selhání a Alzheimerova choroba. Glykované proteiny lze stanovit. Typickým představitelem je *glykovaný hemoglobin*.

7.3. Dodatky

Příklady některých laboratorních analyzátorů glukózy



Analyzátor glukózy GA3 firmy KABE LABORTECHNIK. Vzorkem je hemolyzát plné krve



Analyzátor glukózy Biosen C-Line Clinic firmy EKF s biosenzorem (čipem, biočipem, v podstatě enzymovou elektrodou). Vzorkem je hemolyzát plné krve. Může obsahovat i senzor na stanovení laktátu. Srovnej též s popisem na str. 7- 3.



Klasický analyzátor glukózy firmy Beckman s Clarkovou elektrodou, enzym přítomný v roztoku (srovnej s popisem na str. 7-3). Vzorkem je sérum nebo plazma.



Další z „klasických“ analyzátorů glukózy Super GL2 firmy Dr. Müller, s enzymovou elektrodou (enzym součástí elektrodové membrány).



Super GL easy, fa Müller, navazuje na Super GL2.

7.4. Kontrolní otázky

1. Co jsou sacharidy po stránce chemické?
2. V jakých formách se vyskytují v přírodě?
3. Jaký je význam cukrů pro člověka?
4. Jaké jsou hlavní nemoci týkající se sacharidů?
5. Vyjmenuj základní charakteristiky nemocí týkajících se sacharidů.
6. Jaký význam pro člověka má glukóza?
7. V jakých formách se vyskytuje glukóza v lidském organismu?
8. Jaké jsou moderní metody stanovení glukózy?
9. Obsahuje metoda s hexokinázou oxidaci?
10. Co je to Clarkova elektroda?
11. Jaké jsou principy elektrochemického stanovení výsledku glukózaoxidázové reakce?
12. Ve kterých přístrojích nacházejí principy z otázky 9 uplatnění?
13. Co jsou to kritické hodnoty (testu, analýzy)?
14. Co je to glykace a jaký je její význam?
15. Které hormony se zúčastňují regulace hladiny glukózy v krvi?

OBSAH:

Kapitola 7 Sacharidy	7-1
7.1. Glukóza	7-1
7.1.1. Metody stanovení glukózy	7-2
7.1.1.1. Neenzymové metody	7-2
7.1.1.2. Metody enzymové	7-2
Metoda s glukooxidázou a peroxidázou	7-2
Metoda s hexokinázou	7-4
7.1.2. Klinické poznámky	7-5
Glykace	7-5
Galaktosemie	7-6
Poruchy ze střežení glykogenu, glykogenózy	7-6
Nesnášenlivost mléka, intolerance laktózy	7-6
7.2. Stručné shrnutí obsahu kapitoly	7-7
7.3. Dodatky	7-8
7.4. Kontrolní otázky	7-9