5 Metabolismus sacharidů

5.1 Metabolismus

Aby mohl živý organismus přežít, musí se svým okolím neustále vyměňovat energii a různé látky. Energie je následně využita k přeměně přijatých látek na látky tělu vlastní.
Pojem **metabolismus**[1] (látková přeměna) **zahrnujeme pochody, při kterých organismus využívá a produkuje energii** (jedná se o souhrn všech reakcí probíhajících v organismu).

Hlavní úlohy metabolismu jsou:

a) zajištění energie (**děje katabolické = rozkladné**)
b) syntéza molekul (**děje anabolické = skladné**)

Oba typy reakcí jsou na sobě **závislé** – hovoříme o tzv. **energetickém spřažení** (viz dále).

Podle typu metabolismu rozdělujeme organismy:

a) podle zdroje energie na
   - **fototrofy** (využívají sluneční energii; např. zelené rostliny)
   - **chemotrofy** (energii získávají oxidací živin)
b) podle zdroje stavebního materiálu na
   - **autotrofy** (samoživné organismy – dokážou syntetizovat organické látky z anorganických zdrojů, např. sirné, či nitrifikační bakterie)
   - **heterotrofy** (organické látky vytvářejí z jednodušších látek organických)

Organismy jsou **otevřené systémy**. Z prostředí přijímají látky o **vysoké entalpii** (energii) a **nízké entropii** (mají složitou strukturu). Tyto látky, obecně nazývané živiny, se přeměňují na **odpadní produkty** s **nízkou entalpií** (energií) a **vysokou entropií** (mají jednoduchou strukturu).
Při přeměně živin na odpadní látky se uvolňuje **Gibbsova energie**, která udržuje v běhu biochemické pochody a zajišťuje vysoce organizovanou buněčnou strukturu. Bohužel není možné využít veškerou uvolněnou energii – její část se vždy přemění na nevyužitelnou formu = **teplo**.
Gibbsovu energii (ΔG) můžeme definovat jako **maximální množství užitečné energie, která může být při reakci získána za konstantního tlaku a teploty**. Pro reakci **A + B → C + D** ji lze matematicky vyjádřit:

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + R \cdot T \cdot \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

S ohledem na Gibbsovu energii můžeme v organismu rozlišit dva různé druhy dějů:

a) děje **exergonické**
b) děje **endergonické**

Endergonické děje (**ΔG>0**) mohou probíhat jen ve **spřažení** s reakcemi exergonickými (**ΔG<0**).
K přenosu energie z jednoho procesu k jinému probíhá pomocí **energeticky bohatých molekul** – nejčastěji bývá využíváno **ATP** (energie, uvolněná při určitém procesu, je přenášena pomocí **fosforylové skupiny $-PO_3^{2-}$** na jiné látky).

---

[1] Metabolismus je regulován na různých úrovních: **regulace aktivity enzymů** (allosterické vlivy, inhibice produktem, dostupnost substrátu), **kovalentní modifikace enzymů** (např. fosforylace zajistí aktivaci/deaktivaci enzymu), **regulace syntézy enzymů**, **kompartmentace a orgánová specializace**, **hormonální regulace.**
Různé metabolické dráhy jsou ovlivňovány **i stavem organismu** (po jídle x při hladovění, klid x zátěž…)

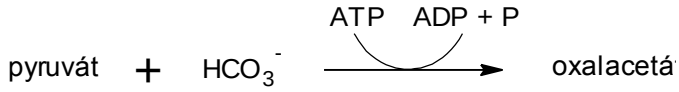
Příklady:

Tvorba glukosa-6-fosfátu

glukosa + P_i → glukosa-6-fosfát + H_2O	ΔG°´= + 13,8 kJ/mol
ATP + H2O → ADP + P_i	ΔG°´= – 30,5 kJ/mol
glukosa + ATP → glukosa-6-fosfát + ADP	ΔG°´= – 16,7 kJ/mol

Reakce, při níž vzniká glukosa-6-fosfát je reakce endergonní – samovolně by neproběhla. Její spřažením s hydrolýzou ATP dodá potřebnou energii a umožní jí proběhnout. Fosforylová skupina $–PO_3^{2-}$ je přenáše na pomocí enzymu kinasy nejprve z ATP na vlastní enzym a následně na glukosu.

Karboxylace pyruvátu



Výše uvedená reakce probíhá v několika krocích:

a) Aktivace HCO_3^- na **fosfokarbonát**

HCO_3^- + ATP → $^-$**OCO–P–PO$_3^{2-}$** + ADP

b) Reakce fosfokarbonátu s kofaktorem

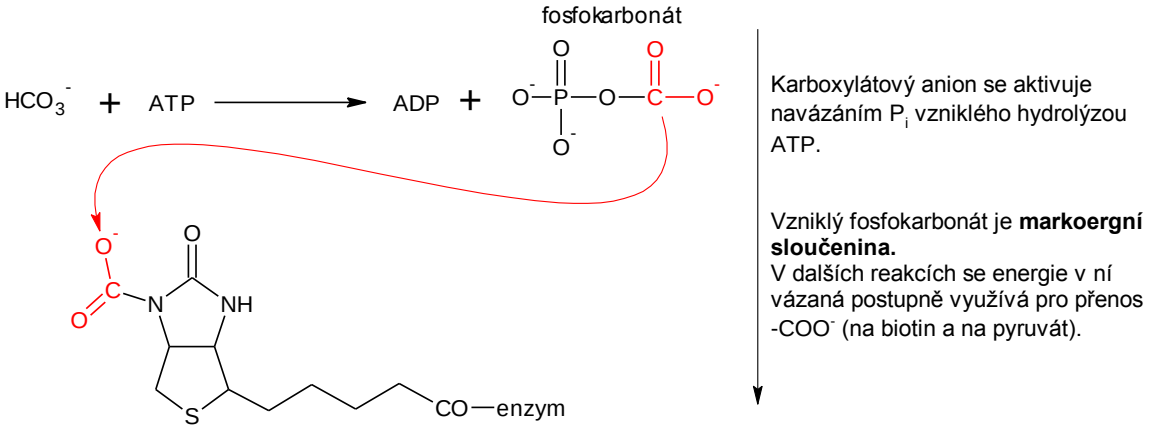
$^-$OCO–O–PO_3^{2-} + biotin → $^-$OOC-biotin + P_i

c) Vznik oxalacetátu

$^-$OOC-biotin + pyruvát → oxalacetát + biotin

} ΔG < 0

Podrobnější pohled:



Karboxylátový anion se aktivuje navázáním P_i vzniklého hydrolýzou ATP.

Vzniklý fosfokarbonát je **markoergní sloučenina.**
V dalších reakcích se energie v ní vázaná postupně využívá pro přenos $-COO^-$ (na biotin a na pyruvát).

Makroergní sloučeniny

Makroergní sloučeniny („vysokoenergetické sloučeniny“, „energeticky bohaté sloučeniny“) jsou **sloučeniny, které obsahují takové vazby, jejichž hydrolýza poskytne přibližně stejnou nebo vyšší energii než je ΔG°´ pro hydrolýzu ATP**.

Nejčastěji se jedná o deriváty kyseliny fosforečné – její zbytek bývá navázán nejčastěji vazbou:

- anhydridivou (ATP)
- amidovou (fosfokreatin)
- enolesterovou (např. fosfoenolpyruvát)

! Estery kyseliny fosforečně NEjsou makroergní sloučeniny !

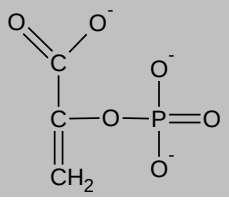
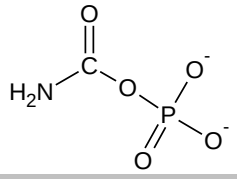
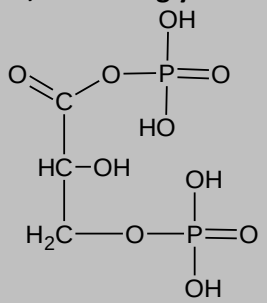
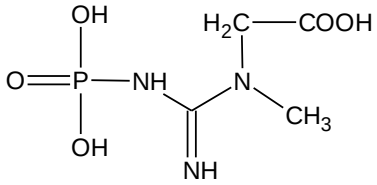
Univerzální fosfátovou makroergní sloučeninou je **adenosintrifosfát (ATP)**. Jeho hydrolýza (**enzymově katalyzovaná**) může probíhat do dvou stupňů:

- $ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$ $\Delta G^{\circ\prime} = -30{,}5$ kJ/mol
- $ADP + H_2O \rightarrow AMP + P_i$ $\Delta G^{\circ\prime} = -32{,}0$ kJ/mol

Obdobným způsobem je možné získat energii i z látek jako GTP, UTP, či CTP.

Kromě ATP se v metabolismu setkáme s makroergními sloučeninami uvedenými v tabulce níže. Jejich reakce s ADP nám může poskytnout ATP (hovoříme o tzv. **substrátové fosforylaci**[2]).

Tabulka 1 - Makroergní sloučeniny

Sloučenina	ΔG° [kJ/mol]	Typ sloučeniny	Děj
Fosfoenolpyruvát 	– 62	enolester	glykolýza
Karbamoylfosfát 	– 52	smíšený anhydrid	metabolismus močoviny
1,3-bisfosfoglycerát 	– 50	smíšený anhydrid	glykolýza
kreatinfosfát 	– 43	amid	metabolismus ve svalové tkáni

Výše uvedené makroergní sloučeniny v metabolismu vznikají **spalováním živin**. Živiny obsažené v potravě lze rozdělit na lipidy, sacharidy a proteiny. Tyto látky obsahují uhlík s **nízkým oxidačním stupněm**. Hlavní reakcí při spalování živin je **oxidace**, která probíhá formou **dehydrogenace**. Postupnou dehydrogenací vznikají různé intermediáty, uvolňuje se CO_2, elektrony a vodíky (protony). Vodíky spolu s elektrony jsou přenášeny na oxidačněredukční kofaktory a transportovány do dýchacího řetězce.

[2] Při substrátové fosforylaci se ATP účastní reakce jako jeden ze substrátů:
např. 1,3-bisfosfoglycerát + ADP → 3-fosfoglycerát + ADP
Druhým způsobem získávání ATP je fosforylace **oxidativní (aerobní)**, ke které dochází v terminálním dýchacím řetězci. Jedná se o přímou reakci ADP s P_i katalyzovanou enzymem **ATP-synthasou**. Energie pro její průběh je zajištěna **spřažením s dýchacím řetězcem**.

5.2 Zdroje glukosy v potravě

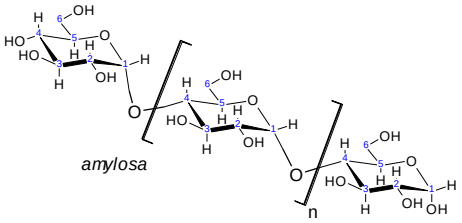
Glukosa může být z potravy přijímána:

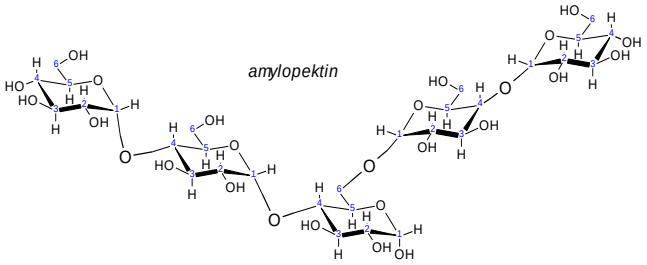
a) **volná**
b) **chemicky vázaná**

Volnou glukosu získáváme např. z hroznů (glukosa = **hroznový cukr**) a jiného ovoce (resp. ovocných šťáv) a z medu.

Chemicky vázaná může být glukosa v **polysacharidech** a v **disacharidech**.
Hlavním zdrojem glukosy v potravě je škrob. Jedná se o polysacharid tvořený glukosovými podjednotkami. Rozlišujeme jeho dvě části:

a) **amylosu** = nevětvená
b) **amylopektin** = větvený





Kromě své struktury se tyto dvě části liší i svým **biologickým efektem**. Tuto odlišnost popisuje veličina zvaná **glykemický index**. Glykemický index souvisí s tím, **jakou rychlostí dochází k nárůstu krevní glukosy** – čím nižší je tento index, tím je daná potravina **„lepší“** (glukosa se z ní uvolňuje pomaleji, což se projeví v menších nárocích na slinivku a na produkci insulinu).

Zdroje škrobu jsou např. **brambory** (v naší stravě hlavní zdroj), dále pečivo, rýže, těstoviny, kukuřice ad. Významným zdrojem škrobu jsou též **luštěniny**, které mají tu výhodu, že obsahují hodně nevětvené amylosy (z té se glukosa odštěpuje pomaleji) a tudíž mají **nízký glykemický index**.

Dalšími zdroji glukosy kromě polysacharidů jsou disacharidy:

a) sacharóza
b) laktosa
c) maltosa

Z potravy je možné dále přijímat **volnou fruktosu**.

5.3 Katabolismus glukosy v buňkách

A) Vstup glukosy do buněk

Aby mohl metabolismus glukosy probíhat, je potřeba, aby se glukosa dostala do buněk. Glukosa je **molekula výrazně polární**, a proto není možné, aby difundovala hydrofobní vrstvou membrán. V membráně se proto vyskytují **specifické glukosové transportéry**. Glukosové transportéry jsou **transmembránové bílkoviny**. Rozlišujeme dva typy:

a) **typ GLUT 1-14** (**GLU**cose **T**ransporter)
b) **typ SGLT** (**S**odium-coupled **GL**ucose **T**ransporter)

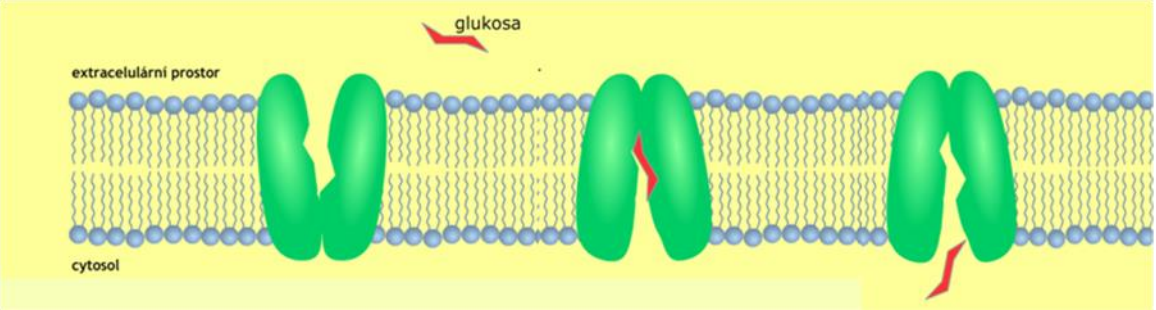
Přenašeče typu **GLUT**
Mechanismus přenosu: **usnadněná difuze** (po koncentračním spádu, nepotřebuje energii)

Všechny přenašeče typu GLUT mají podobnou strukturu – jedná se o bílkoviny složené cca z 500 různých AK tvořící 12 transmembránových helixů.
Rozlišujeme celkem **14 druhů** přenašečů GLUT označovaných čísly GLUT 1 – GLUT 14. Velká rozmanitost ve struktuře receptorů odráží **různé metabolické nároky buněk** – např. přenašeče typu GLUT 4 jsou charakteristické pro buňky svalové a tukové (v jiných buňkách je nenalezneme a jsou to jediné GLUT transportery, které jsou regulované **inzulinem**).
Různé typy mají **různou afinitu ke glukose**, **mohou být určitým způsobem regulovány** a **vyskytují se v určitých typech tkání**.
Následující tabulka uvádí charakteristiku vybraných transporterů typu GLUT.

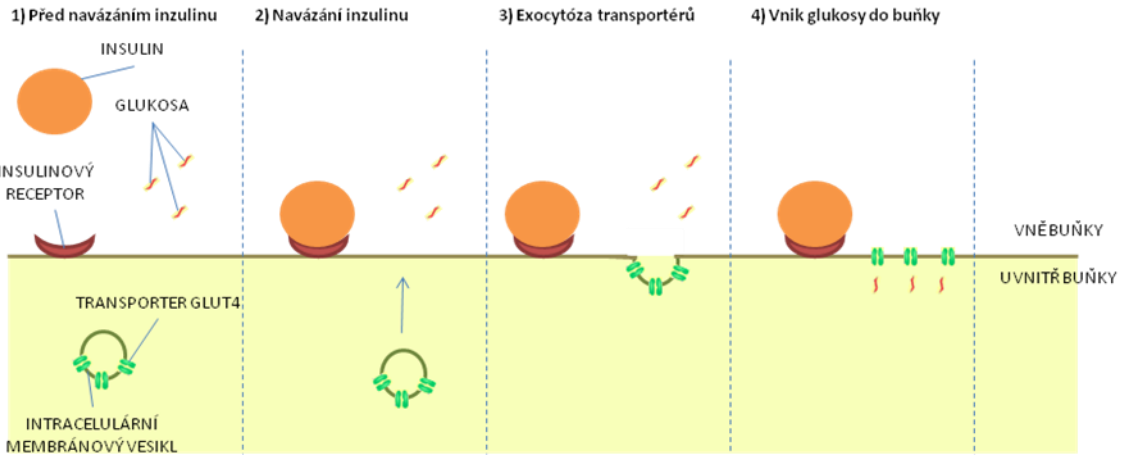
Tabulka 2 - Charakteristika transporterů typu GLUT

Typ	Charakteristika
GLUT 1	Nacházejí se ve většině buněk (např. erytrocyty, svalové buňky za klidových podmínek, krevní cévy v mozku i jinde, atd.)
GLUT 2	Nacházejí se v játrech, β-buňkách pankreatu a ledvinách
GLUT 3	Nacházejí se v nervových buňkách, placentě i jinde
GLUT 4	Výskyt **pouze ve svalech a adipocytech**, závislé na **inzulinu**
GLUT 5	Zajišťují **transport fruktosy**, např. v tenkém střevě
GLUT 7	Zajišťují intercelulární transport v játrech

Typ GLUT 1 – nejběžnější typ transporteru
Transportery typu GLUT 1 fungují čistě na principu usnadněné difuze, jsou nejběžnějšími transportery v těle.
Při transportu se glukosa navazuje do **vazebného místa**. Její navázání **vyvolá konformační změnu v molekule transporteru**. Následně je glukosa z vazebného místa uvolněna a transportér se vrací do původní konformace.



Typ GLUT 4 – transportery závislé na inzulinu



Popis:

1) Nepotřebují-li svalové a tukové buňky glukosu (nevykonávají svou činnost, či je glukosa potřeba někde jinde ≈ fáze hladovění), jsou transportery uschovány v intracelulárních vesiklech.
2) Nastane-li změna metabolického stavu organismu (např. se najíme), dojde k sekreci inzulinu a jeho navázání na svůj receptor. To způsobí pohyb vesiklů směrem k membráně.
3) Po té, co se váčky přiblíží membráně dostatečně blízko, dojde k exocytóze – transportery se tak dostávají na povrchu membrány.
4) Přes nyní již aktivní receptory dojde k transportu glukosy do buňky.

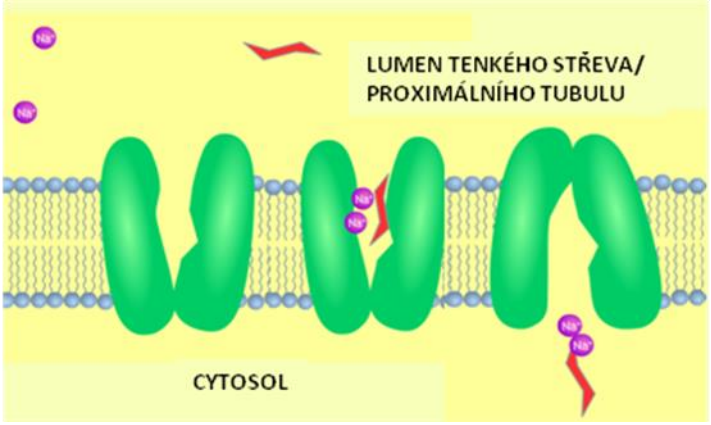
Vliv insulinu tedy spočívá ve **zvýšení počtu GLUT4 transporterů** na povrchu buněčné membrány. K tomuto ději dochází především po jídle.

Přenašeče typu SGLT

Mechanimus přenosu: sekundární aktivní transport → kontransport se sodíkem

S typem transportérů SGLT se můžeme setkat v **buňkách střevní sliznice a ledvinových tubulů** – slouží k „vychytávání“ glukosy.

Transportery nemají vazebné místo pouze pro glukosu, ale i pro dva ionty Na^+. Na^+ je hlavním **extra**celulárním iontem – jeho koncetrace v buňce je tedy velmi malá a koncentrační gradient je vysoký – tohoto vysokého gradientu se využívá k transportu glukosy do buňky.



Na druhém konci buňky (serózní strana) dochází k následujícím dějům:

a) Na^+ je pomocí sodíko-draslíkové pumpy (Na^+/K^+-ATPasy) transportován ven z buňky (jinak by docházelo k jeho hromadění). Pro vykonání tohoto děje je potřebné dodat **energii v podobě ATP** (proto hovoříme o **sekundárním** aktivním transportu - energie se spotřebovává až sekundárně)

b) Glukosa přes transportéry typu GLUT 2 opouští buňku (pasivní transport)

B) Fosforylace glukosy

Glukosa, která se dostala do buňky, je ihned po svém vstupu fosforylována na **glukosa-6-fosfát** (*dále glc-6-P*), tohoto děje se mohou účastnit dva enzymy – **hexokinasa** nebo **glukokinasa**.

Fosforylace slouží jako **„past" na glukosu** – již jednou fosforylovaná glukosa nemůže být defosforylována a tudíž nemůže opustit buňku. Jedině hepatocyty a buňky tubulů ledvin mají enzym **glukosa-6-fosfatasu**, který umí glc-6-P rozštěpit zpět na fosfát a glukosu.

Další význam této reakce tkví v tom, že glc-6-P **neovlivňuje koncentrační gradient** glukosy (jedná se o jinou látku) – nedochází tak k hromadění glukosy uvnitř buňky a buňky mohou glukosu dále přijímat.

Navíc je **glc-6-P „lépe uchopitelný pro enzymy"** (fosfát nese záporný náboj, který může přitahovat kladně nabitý enzym apod.)

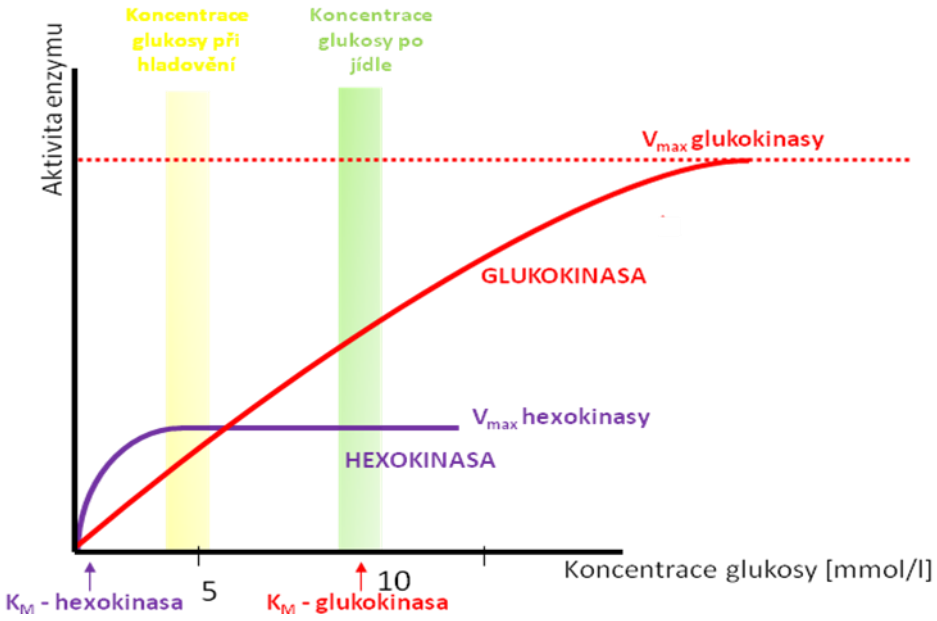
Enzymy, které se účastní této reakce, mají různé charakteristiky uvedené v tabulce níže:

Tabulka 3 - Porovnání glukokinasy a hexokinasy

Charakteristika	Hexokinasa	Glukokinasa
Výskyt	mnoho tkání	játra, pankreas
Specifita	široká (hexosy)	úzká (glukosa)
Inhibice	glc-6-P	není inhibována
afinita ke glukose	vysoká	nízká
Indukovatelnost	není	insulinem
K_M (mmol/l)	0,1	10

Z tabulky vidíme, že **hexokinasa** je typickým **konstitutivním enzymem** – její syntéza není nijak ovlivněna, produkuje se ve stále stejném množství. Zajímavostí je, že **je inhibována vlastním produktem (glc-6-P)**.
Glukokinasa je typickým **indukovatelným enzymem** – její syntézu lze indukovat (pomocí insulinu).

Při srovnání funkce obou enzymů můžeme vyjít z následujícího grafu:



Při hladovění (žlutý obdélník) je koncentrace glukosy cca **5,5 mmol/l**, tedy poměrně malá. Avšak právě při této malé koncentraci glukosy má **hexokinasa** nejvyšší aktivitu a uplatňuje se při fosforylaci glukosy více než glukokinasa.
Po jídle (zelený obdélník – *umístěn pouze orientačně*) je koncentrace glukosy vyšší – a i když hexokinasa pracuje svou maximální rychlostí (má dostatek substrátu), tak **glukokinasa** pracuje **rychleji**. Lze tedy říct, že po jídle se více uplatňuje **glukokinasa**.
Nutné je uvědomit si, že *glukokinasa* se vyskytuje pouze v **játrech a pankreatu**. V pankreatu má tento enzym navíc zvláštní význam – **v jeho β-buňkách slouží jako senzor hladiny glukosy v krvi**.

Fosforylací vzniklý glc-6-P může v buňce vstoupit do různých metabolických drah:

- **glykolýza**
- **syntéza glykogenu**
- **pentosový cyklus**
- **syntéza derivátů (např. glykoproteinů, proteoglykanů)**

C) Glykolýza

Sémantika slova: glykos = cukr; lysis = štěpení
Glykolýzou rozumíme přeměnu glukosy[3] na jednodušší látky. Při této přeměně je **získávána energie** v podobě ATP (substrátová fosforylace).
Glykolýza probíhá prakticky ve všech buňkách, konkrétně v jejich **cytosolu**.
Můžeme rozlišit dva druhy glykolýzy:

a) aerobní glykolýza probíhá za přístupu kyslíku, glukosa je přeměněna na pyruvát a ten následně na acetyl-CoA

[3] Glykolýza zahrnuje i metabolismus galaktosy a fruktosy

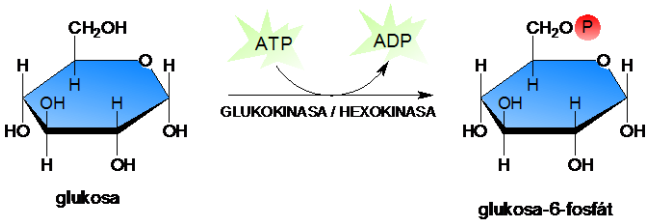
b) anaerobní glykolýza probíhá při nedostatku kyslíku, glukosa je přeměněna na pyruvát a ten následně na laktát

Glykolýza zahrnuje enzymově katalyzované reakce, z nichž většina je vratných (a lze je proto využít při glukoneogenezi) a pouze 3 jsou nevratné.

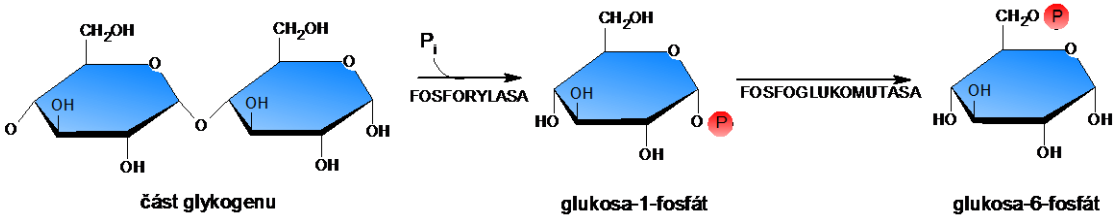
Jednotlivé reakce glykolýzy:

1) Tvorba glc-6-P

a. Fosforylací



b. Štěpením glykogenu

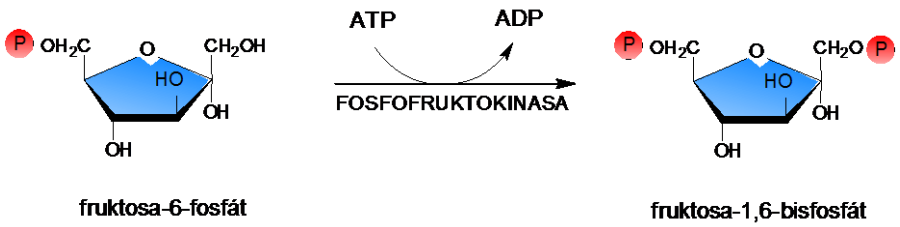


Tvorba glc-6-P je prvním krokem glykolýzy:

- vycházíme-li z glukosy přijaté potravou, je potřebné provést fosforylaci, při které se **spotřebovává ATP**
- vycházíme-li z glykogenu, je potřeba provést jeho fosforolýzu (štěpení fosfátem), při které se ATP nespotřebovává.

2) Izomerace glc-6-P na fruktosa-6-P

3) Vznik fruktosa-1,6-bisfosfátu



Fosfofruktokinasová reakce je **nejpomalejší reakcí celé glykolýzy** a určuje tedy její rychlost. Zároveň se jedná o klíčovou reakci – fosfofruktokinasa je **allosterický enzym**:

- **Allosterická inhibice** je prováděna ATP a citrátem (tedy „produkty“ citrátového cyklu – buňka tak říká fosfofruktokinase: „energie je dost, citrátový cyklus je přehlcen, neumožni další glykolýzu.“

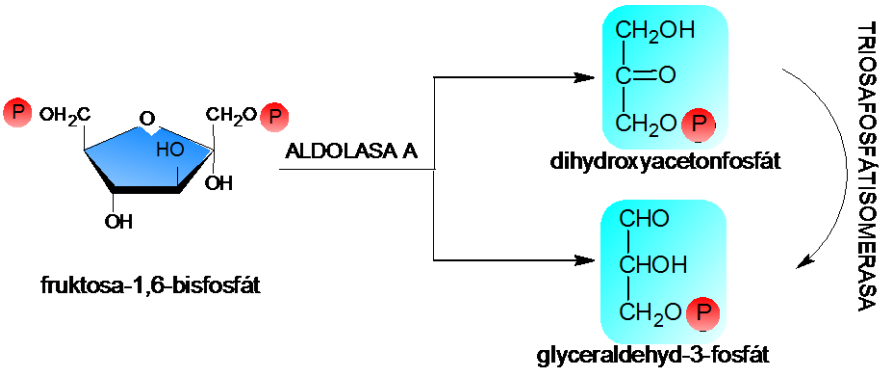
  Povšimněme si ale paradoxu – ATP, které je potřebné pro průběh reakce, je zároveň jejím inhibitorem.

➢ **Allosterická aktivace** je prováděna pomocí **AMP**, **ADP**, P_i, fruktosa-2,6-bisfosfátu[4] a fruktosa-1,6-bisfosfátu.

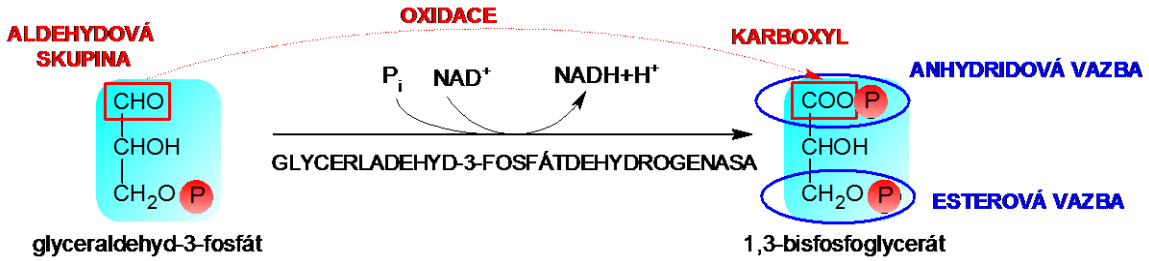
Zvýšená koncentrace ADP v buňce říká fosfofruktokinase: „buňka má málo energie, je načase začít s glykolýzou“. Pokud i tak fosfofruktokinasová reakce nezačne, ADP se spojí s dalším ADP v reakci: **ADP + ADP → ATP + AMP**. Vzniklé ATP je velmi rychle upotřebeno (protože má buňka málo energie) a **AMP** „*křičí*“ na fosfofruktokinasu: „v buňce je kriticky málo energie, začni už něco dělat!“.

Fosfofruktokinasa pracuje vždy při $\mathbf{V_{max}}$ – jediný způsob, jak reakci urychlit je tedy přidat více enzymu, ne substrátu (z toho vyplývá, že rychlost reakce není závislá na koncentraci substrátu). **Jedná se o irreverzibilní reakci**.

4) Vznik triosa-fosfátů



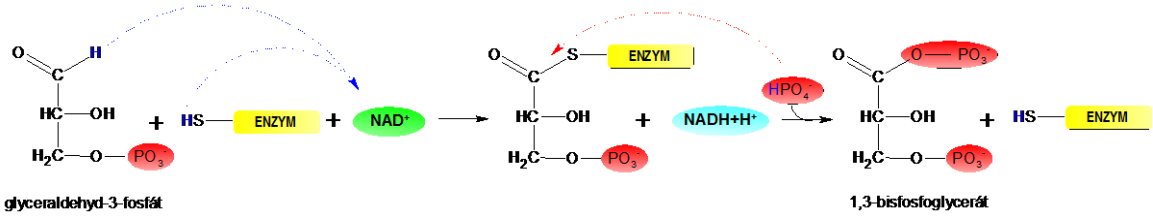
5) Oxidace a fosforylace glyceraldehyd-3-fosfátu



Glyceraldehyd-3-fosfát je oxidován a fosforylován na 1,3-bisfosfoglycerát, **energeticky bohatou sloučeninu**.

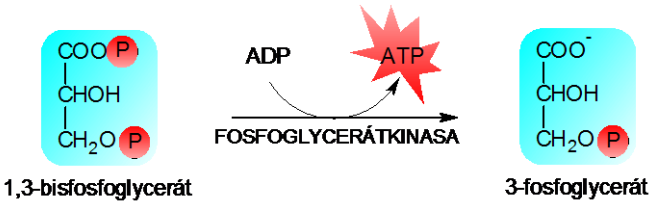
Aldehydová skupina je oxidována na karboxylovou skupinu za účasti NAD^+, **fosforylace probíhá <u>bez</u> účasti ATP!**

Podrobnější pohled (mechanismus oxidace a fosforylace glyceraldehyd-3-fosfátu)



[4] Fruktosa-2,6-bisfosfát vzniká v játrech a jeho vznik je regulován insulinem a glukagonem (vzniká zde tedy další možnost regulace glykolýzy). Kromě toho, že fruktosa-2,6-bisfosfát **aktivuje fosfofruktokinasu**, je zároveň **inhibitorem fruktosa-1,6-bisfosfatasy** (jeden z enzymů glukoneogeneze).

6) Tvorba 3-fosfoglycerátu a ATP



Při vzniku 3-fosfoglycerátu z 1,3-bisfosfoglycerátu vzniká **ATP** (na jednu glukosu **2 ATP**) na úrovni **substrátové fosforylace**. 1,3-bisfosfoglycerát, jak bylo uvedeno výše, je makroergní sloučenina (smíšený anhydrid) a při hydrolýze anhydridové vazby se uvolní dostatečné množství energie, která se využije k syntéze ATP.

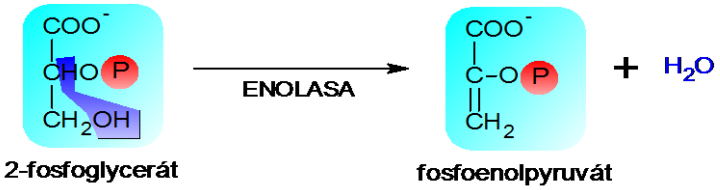
Vedlejší cesta vzniku 3-fosfoglycerátu v erytrocytech (přes 2,3-BPG)

Vlivem enzymu mutasy se fosfát přenese z anhydridové vazby do vazby esterové (esterová vazba již není energeticky bohatá) a při následném štěpení **nedochází ke vzniku ATP!!!**
2,3-BPG působí v erytrocytech jako **allosterický modifikátor Hb** (usnadňuje uvolnění O_2)

7) Tvorba 2-fosfoglycerátu

Jak přesně probíhá přeměna 3-fosfoglycerátu na 2-fosfoglycerát? (zajímavost)
Kofaktorem enzymu fosfoglycerátmutasy je 2,3-bisfosfoglycerát.
*Fosfoglycerátmutasa nejprve odštěpí fosfát ze **třetího uhlíku** svého 2,3-BPG a přenese jej na **druhý uhlík** 3-fosfoglycerátu vzniklého glykolýzou – čímž vznikne z původního 2,3-BPG 2-fosfoglycerát a z původního 3-fosfoglycerátu 2,3-BPG.*
Enzym následně pustí svůj 2-fosfoglycerát a umožní mu zapojit se do glykolýzy, ale na oplátku si sebere vzniklý 2,3-BPG, který mu slouží jako kofaktor pro další reakce.

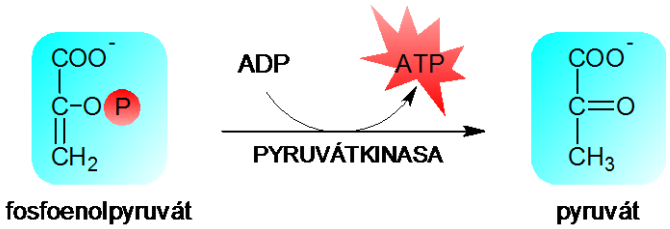
8) Tvorba fosfoenolpyruvátu



Fosfoenolpyruvát obsahuje ve své molekule **enolesterovou vazbu**, jejímž rozštěpením lze získat velké množství energie (jedná se o makroergní sloučeninu).

Enzym **enolasu** je možné inhibovat pomocí F^- iontů – proto, se při odběrů vzorků krve přidává do zkumavky NaF, který tak zastaví glykolýzu (kdyby glykolýza dál probíhala, všechna glukosa by se přeměnila na pyruvát a ovlivnilo by to výsledky vyšetření).

9) Vznik pyruvátu

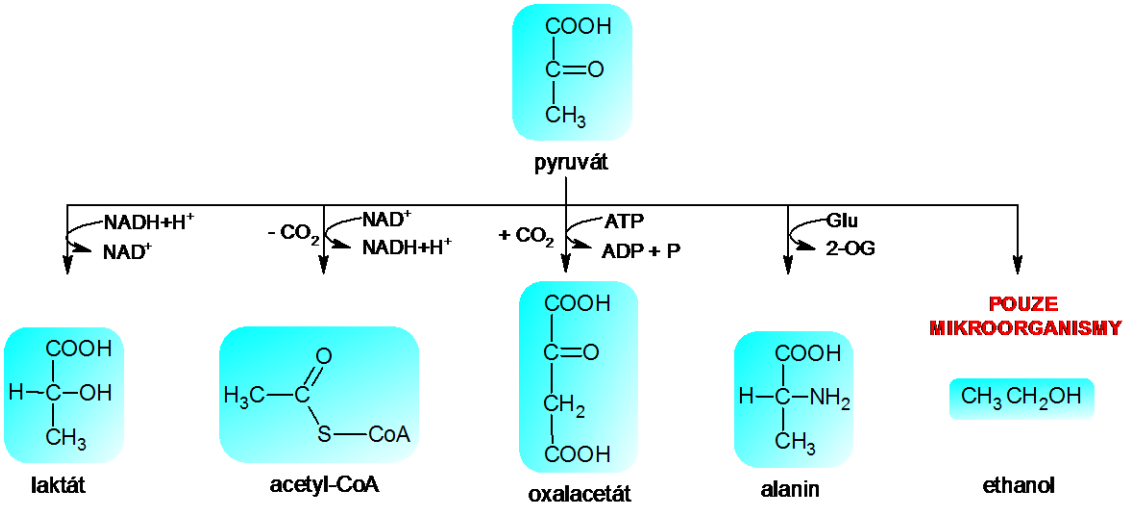


Při vzniku pyruvátu z fosfonolpyruvátu se uvolňuje energie (štěpení enolesterové vazby), která je využita k syntéze ATP (na jednu glukosu opět 2 ATP).

Enzym **pyruvátkinasa** je regulován:

- aktivavuje jej **fruktosa-1,6-bisfosfát**
- inhibujej jej **glukagon** (hormonální regulace)

D) Přeměny pyruvátu



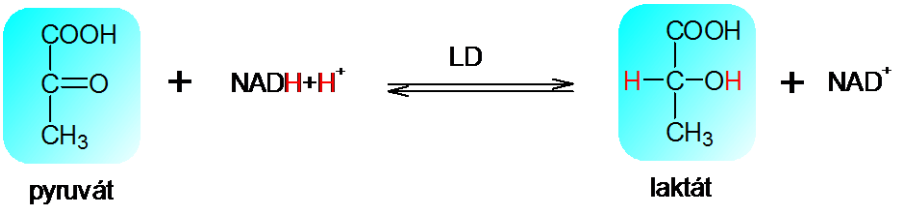
Pyruvát, jak naznačuje schéma výše, může podléhat různým přeměnám:

1) Při **anaerobní glykolýze** je pyruvát redukován na **laktát.**[5]
2) Při **aerobní glykolýze** (za přístupu vzduchu) následuje **oxidativní dekarboxylace pyruvátu**, který se tak přeměňuje na **acetyl-CoA**.
3) **Karboxylací** pyruvátu (jedna z **anaplerotických reakcí citrátového cyklu)** za spotřeby energie vzniká **oxalacetát**, který může být využit v různých drahách (přeměna na aspartát, CC ad.)
4) Transaminací pyruvátu získáme **alanin** – reakce se účastní glutamátu (Glu) a vzniká při ní 2-oxoglutarát (2-OG).

[5] K této reakci dochází při svalové práci na kyslíkový dluh. Intenzivní práce (např. sprint) na kyslíkový dluh může trvat zhruba 1 minutu. Po té je již ve svalu tolik laktátu, že dochází ke snížení pH a zastavení dalších přeměn. To se projevuje jako svalová únava. Význam: chrání sval před degradací.

5) Další možností odbourání pyruvátu je **alkoholové kvašení**, kterého jsou však schopny pouze mikroorganismy. V této reakci vzniká **ethanol**.

Tvorba laktátu (rce 1) podrobněji:



pyruvát laktát

K přeměně pyruvátu na laktát dochází pouze za nepřístupu vzduchu. Reakce probíhá proto, aby došlo k **regeneraci NADH+H⁺ na NAD⁺** (k této reakci normálně dochází v dýchacím řetězci, avšak bez přístupu kyslíku dýchací řetězec neprobíhá). Regenerované NAD^+ se může opět zapojit do glykolýzy (= regenerace zabraňuje zastavení glykolýzy).

Laktátdehydrogenasa (LD)

Reakce je katalyzována enzymem **LD = laktátdehydrogenasou** a je **obousměrná**.

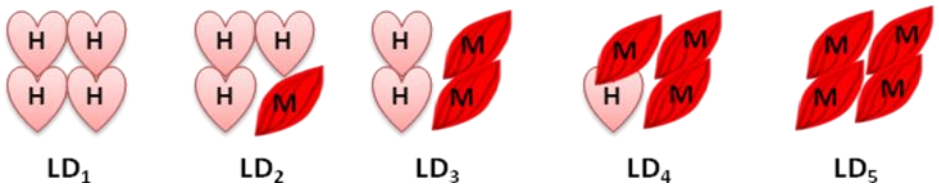
LD je enzym, který se skládá ze **čtyř podjednotek**. Tyto podjednotky mohou být dvojího druhu:

a) podjednotka **H** (od ***H**eart* = srdce)
b) podjednotka **M** (od ***M**uscle* = sval)

Oba typy podjednotek se liší (jen minimálně) svou strukturou. To, jaké podjednotky se zakomponují do enzymu, závisí na tom, v jaké tkáni enzym vzniká:

- vzniká-li enzym v srdeční tkáni, je složen z více H podjednotek (HHHH, HHHM, HHMM)
- vzniká-li enzym ve svalové tkáni, je složen z více M podjednotek (MMMM, HMMM, HHMM)

Z výše popsaného vyplývá, že rozlišujeme **pět izoenzymů** LD_1 (HHHH) – LD_5 (MMMM).



LD_1 LD_2 LD_3 LD_4 LD_5

U některých chorob dochází ke zvýšení hladiny LD v plazmě. Díky tomu, že existuje 5 izoenzymů, můžeme po biochemickém rozboru zjistit, o který izoenzym se jedná, a z toho pak odvodit, v jaké tkáni (např. srdeční nebo svalové) došlo k onemocnění.

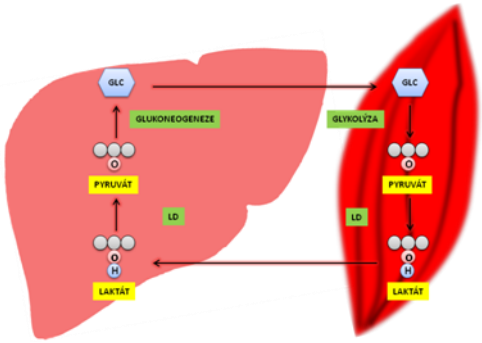
Tvorba laktátu v organismu:

Za den se v našem těle vytvoří průměrně **1,3 molu laktátu** (muž o hmotnosti 70kg)

- velké množství laktátu se tvoří v **intenzivně pracujícím svalu (14%)**
- velké množství laktátu se tvoří v **erytrocytech**, které nemají mitochondrie a neprobíhá v nich tudíž dýchací řetězec **(25%)**
- dalšími velkými producenty laktátu jsou **kůže (25%)** a **mozek (14%)**, dále pak **buňky střevní sliznice (8%)**

Koncentrace v krvi by se měla pohybovat okolo **1 mmol/l**, avšak při svalové práci může dosahovat (přechodně) až **30 mmol/l**.

Laktát, vytvořený ve svalech, může být **transportován do jater**, kde dochází k **jeho přeměně na pyruvát a glukosu**, která se může opět vrátit do svalu a sloužit jako zdroj energie. Tento cyklus nazýváme **Coriho cyklem**.



Obrázek 1 - Coriho cyklus

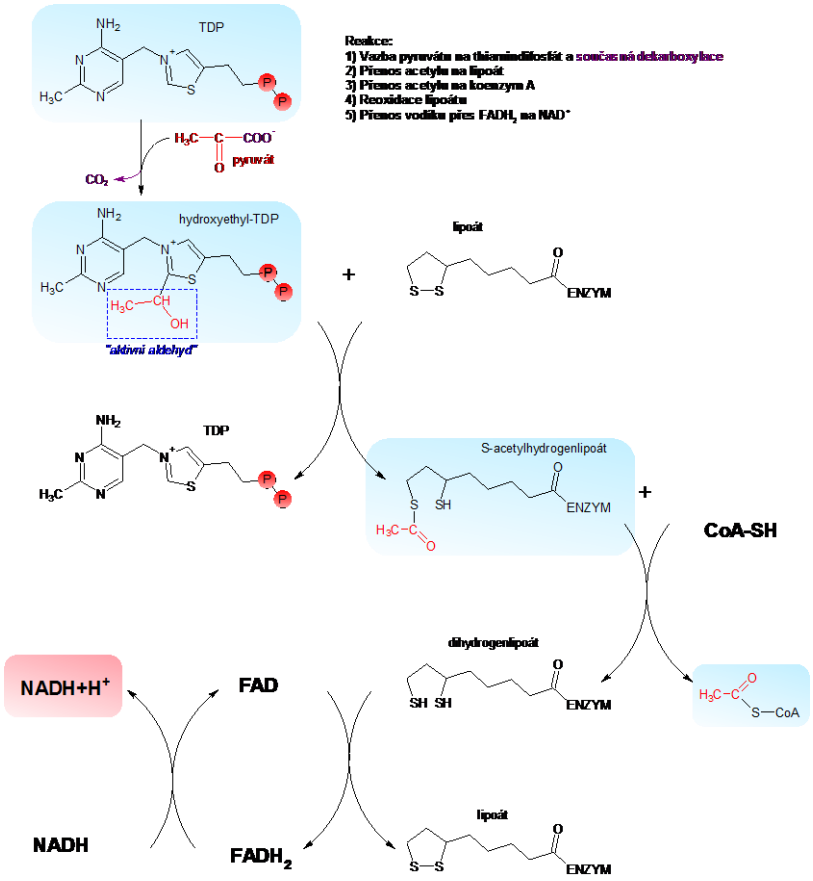
*Pozn. Coriho cyklus je významný (a zajímavý) i tím, že laktát stále koluje v krvi a je znovu a znovu přeměňován na glukosu. Kdyby probíhal typický aerobní metabolismus, dojde k přeměně pyruvátu nikoli na laktát, ale na acetyl-CoA – tato přeměna v sobě zahrnuje **dekarboxylaci**. Vzniklý oxid uhličitý vydechneme a „tudíž o něj přijdeme" – za to když vytvoříme laktát při anaerobním způsobu, můžeme jej využívat (díky tomuto cyklu) velmi dlouhou dobu.*
*Pozn. 2: V dalším textu se setkáme s cyklem **glukoso-alaninovým**. Laktát je v něm „nahrazen" alaninem.*

Oxidativní (oxidační) dekarboxylace pyruvátu (rce 2) „podrobněji":

Přeměna pyruvátu na **acetyl-CoA** probíhá v **mitochondriální matrix** (stejně jako navazující děj: Citrátový cyklus). Účastní se jí **pyruvátdehydrogenasový komplex** a dochází při ní k **dekarboxylaci** – vzniklý CO_2 je odstraněn z těla.

Reakce se účastní **5** kofaktorů: **thiamindifosfát**, **lipoát, CoA, FAD, NAD$^+$**

Dílčí reakce vzniku acetyl-CoA z pyruvátu:



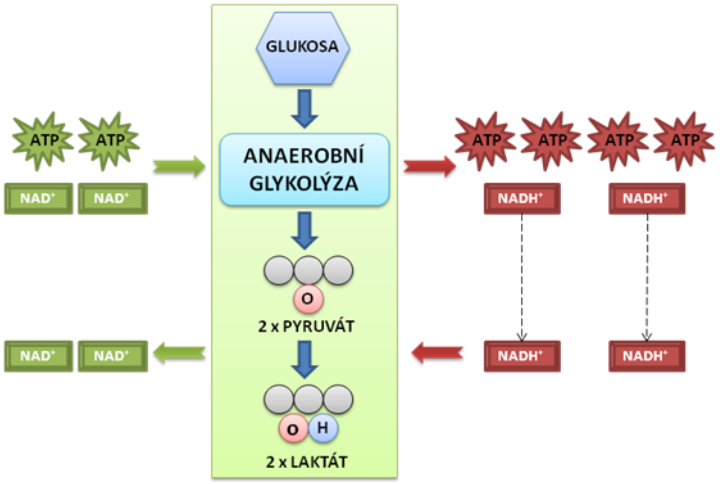
Ke schématu:

- *modrou barvou je podbarvena cesta vedoucí k **acetyl-CoA***
- *červenou barvou je zvýrazněno vznikající NADH+H$^+$*

E) Energetická bilance glykolýzy

Reakce glykolýzy (přeměna glukosy na pyruvát) nám v **substrátové fosforylaci poskytne 4 ATP**. Od těchto 4 ATP však **musíme 2 ATP odečíst**, protože jsme je spotřebovali při přeměně glukosy na glukosa-6-fosfát a při přeměně fruktosa-6-fosfát na frutkosa-1,6-bisfosfát.
Celkový zisk ATP **substrátovou fosforylací** (pro aerobní i anerobní děj): **2 ATP**

Zisk při **anaerobní glykolýze** tvoří **právě 2 ATP** vzniklá substrátovou fosforylací, další ATP z ní nezískáme.



V přeměně glyceraldehyd-3-P na 1,3-bisP-glycerát jsme sice získali 2 redukované koenzymy NADH+H⁺, ze kterých by mohla vzniknout energie, avšak při přeměně pyruvátu na laktát tyto koenzymy opět spotřebujeme – proto z nich nelze získat energii.

Pro přehled si energetickou bilanci **anaerobní glykolýzy** uvedeme v tabulkách:

Tabulka 4 - Zisk ATP při anaerobní glykolýze

Reakce	Zisk ATP
glukosa → glukosa-6-fosfát	– 1 ATP
fruktosa-6-fosfát → fruktosa-1,6-bisfosfát	– 1 ATP
2x (1,3-bisfosfoglycerát → 3-fosfoglycerát)	+ 2 ATP
2x (fosfoenolpyruvát → pyruvát)	+ 2 ATP
přeměny NADH+H⁺ v dýchacím řetězci	0 ATP (neprobíhají)
CELKEM	**+ 2 ATP**

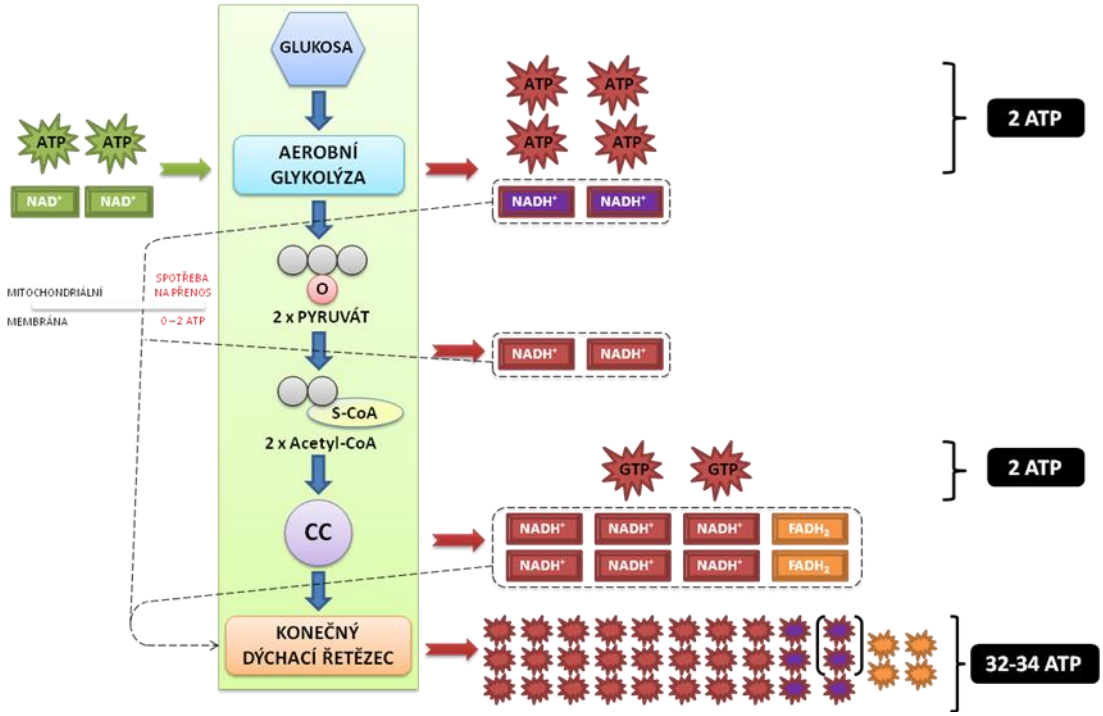
Tabulka 5 - Zisk NADH+H⁺ při anaerobní glykolýze

Reakce	Zisk NADH+H⁺
2x (glyceraldehyd-3-fosfát → 1,3-bisfosfoglycerát)	+ 2 NADH+H⁺
2x (pyruvát → laktát)	– 2 NADH+H⁺
CELKEM	0 NADH+H⁺

Při **aerobní glykolýze získáme 4 – 2 = 2 ATP** (uvedeným způsobem) a **2 NADH+H⁺**.
Následně dochází k přeměně **2 pyruváty → 2 Ac-CoA**, při které vznikají další **2 NADH+H⁺**.
Následná přeměna vzniklých 2 Ac-CoA v **citrátovém cyklu** nám poskytne **2 $FADH_2$, 2 GTP** a **6 NADH+H⁺** (podrobněji viz „Citrátový cyklus“).
Redukované koenzymy jsou následně využity v dýchacím řetězci pro vznik energie:

- z NADH+H⁺ vzniká množství energie ekvivalentní **3 ATP**
- z $FADH_2$ vzniká množství energie ekvivalentní **2 ATP**

Na 2 Ac-CoA tedy, prostřednictvím dýchacího řetězce a regeneraci redukovaných koenzymů, připadá **24 ATP (2 GTP = 2 ATP; 6 NADH+H⁺ = 18 ATP; 2 $FADH_2$ = 4 ATP)**.



*Jak je patrno ze schématu,existuje jistý **rozdíl** mezi NADH+H⁺ vzniklými v glykolýze a NADH+H⁺ vzniklými v ostatních částech odbourávání pyruvátu. **Glykolýza probíhá v cytosolu**, zatímco **dýchací řetězec**, ve kterém dochází k regeneraci redukovaných koenzymů a vzniku ATP, **probíhá v mitochrondrii.** NADH+H⁺ vzniklá glykolýzou je tedy potřeba přenést do mitochondrie – k tomu slouží různé typy přenašečů – některé **ne**spotřebovávají energii, jiné vyžadují za přenos 1 NADH+H⁺ „platbu“ 1 ATP.*
Ostatní děje odbourávání pyruvátu (oxidativní dekarboxylace a CC) již probíhají v mitochondrii a vzniklé NADH+H⁺ nemusí být nikam přenášeno (tudíž nemusíme při výpočtech odečítat 1 ATP na 1 molekulu NADH+H⁺)

Tabulka 6 - Zisk ATP a redukovaných koenzymů při aerobní glykolýze

Reakce	Redukované koenzymy	ATP
glukosa → glukosa-6-fosfát	---	– 1 ATP
fruktosa-6-fosfát → fruktosa-1,6-bisfosfát	---	– 1 ATP
2x (glyceraldehyd-3-fosfát → 1,3-bisfosfoglycerát)	+ 2 NADH+H⁺	+ 4 - 6 ATP
2x (1,3-bisfosfoglycerát → 3-fosfoglycerát)	---	+ 2 ATP
2x (fosfoenolpyruvát → pyruvát)	---	+ 2 ATP
2x (pyruvát →Ac-CoA)	+ 2 NADH+H⁺	+ 6 ATP
2x citrátový cyklus (substrátová fosforylace)	---	+ 2 GTP
2x citrátový cyklus (vznik redukovaných koenzymů)	+ 6 NADH+H⁺ + 2 $FADH_2$	+ 18 ATP + 4 ATP

CELKEM	36 – 38 ATP

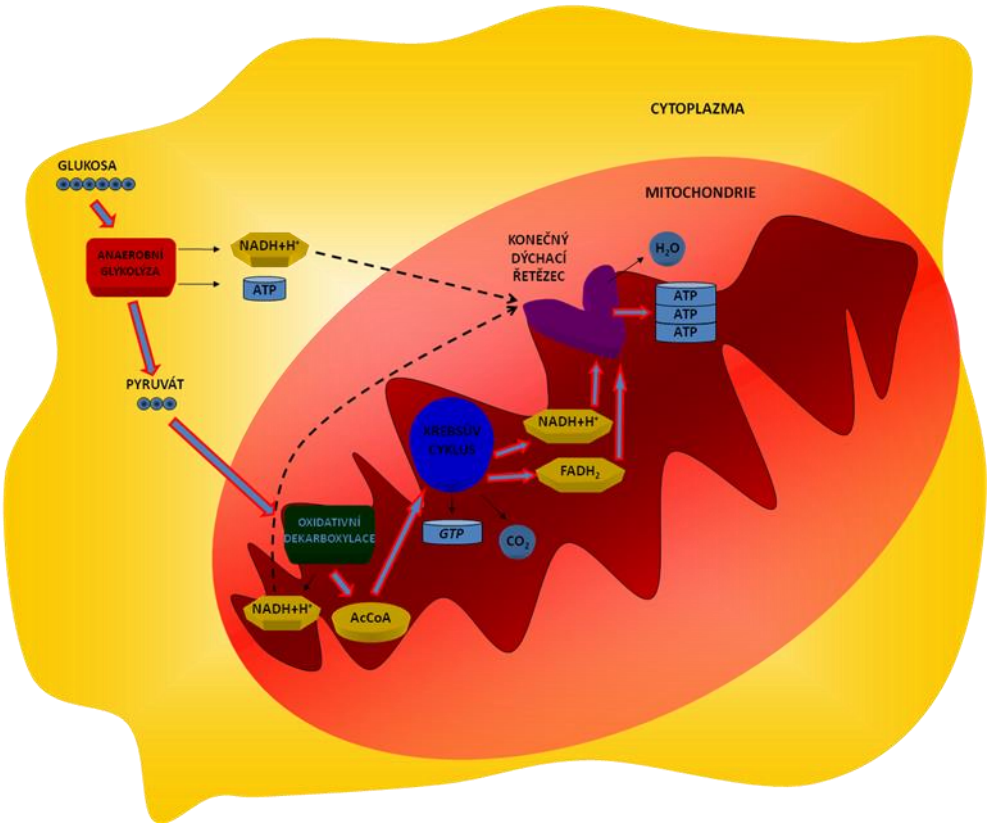
F) Pár slov na závěr ke katabolismu glukosy

Jak vidíme, je **aerobní cesta odbourávání glukosy (aerobní glykolýza) energeticky výnosnější**, než cesta anaerobní (anaerobní glykolýza), při níž se nám podaří využít jen malou část energie, která je skryta v molekule glukosy.

I přes tento fakt, je **anaerobní glykolýza velmi důležitým dějem**. Aby bylo možno glukosu odbourat *aerobně*, potřebuje buňka **mitochondrie** – existují však buňky, které **mitochondrie nemají** a **jsou proto odkázány na anaerobní metabolismus**, jedná se např. o **erytrocyty**[6] a **leukocyty**. Navíc může dojít k tomu, že **je přísun kyslíku do buněk omezen** – i v tomto případě se anaerobní cesta aktivuje.

Laktát vznikající při anaerobní glykolýze je rovněž velmi významnou látkou – **je jedním z hlavních substrátů pro glukoneogenezi**, o které bude pojednáno v následující část kapitoly 5.

G) Umístění jednotlivých dějů v buňce



Obrázek 2 - Rozmístění jednotlivých dějů katabolismu glukosy

K obrázku:

- *v obrázku nejsou zachována množství vznikajících látek (pouze názvy)*

[6] Při poškození jakéhokoliv enzymu glykolýzy (genetickou či jinou poruchou; nejčastěji se jedná o enzym **pyruvátkinasu**) dochází k **hemolytické anémii**. Děje se tomu tak proto, že erytrocyty jsou odkázány na anerobní glykolýzu – jiným způsobem energii získat nemohou. Zastaví-li se kvůli chybění enzymu glykolýza, erytrocyty umírají předčasně (způsobeno např. tím, že nedokážou udržet gradient iontů na membráně, ale důvodů jejich zániku je mnohem více), což vede k anémii (=snížení počtu erytrocytů).

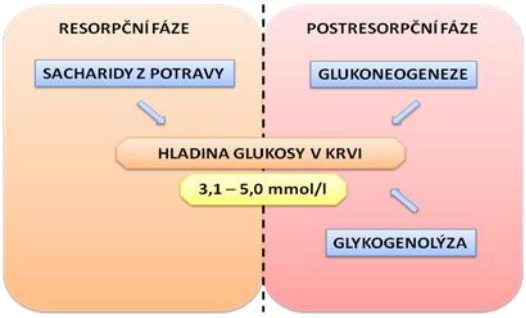
- *modročervené šipky ukazují hlavní směr metabolismu (glukosa – pyruvát – Ac-CoA – redukované koenzymy – ATP)*

5.4 Glukoneogeneze

A) Úvod

Glukosa **není esenciální látkou**. Lidské tělo si ji umí samo vyrobit pomocí sledu reakcí, které nazýváme **glukoneogeneze** (dále **GNG**).

GNG je jedním z faktorů, které v **postresorpční fázi** (= fázi hladovění) zajišťují **udržení hladiny glukosy** v krvi ve fyziologickém rozmezí **3,1 - 5,0 mmol/l**. Spolu s ní k tomu slouží **glykogenolýza** (hlavní faktor v postresorpční fázi) a **příjem sacharidů potravou** (hlavní faktor v **resorpční fázi** – fázi po jídle).



Metabolismus glukosy – a tím i její množství v krvi – **ovlivňují hormony**. Především se jedná o **insulin**, **glukagon**, **adrenalin** (hormon okamžitého stresu) a **kortisol** (hormon dlouhodobého stresu). Základní informace o jednotlivých hormonech uvádá tabulka.

Tabulka 7 - Hormony ovlivňující metabolismus glukosy

Hormon	Zdroj	Účinek na hladinu glukosy v krvi
INSULIN	β-buňky pankreatu	↓
GLUKAGON	α-buňky pankreatu	↑
ADRENALIN	dřeň nadledvin	↑
KORTISOL	kůra nadledvin	↑

Glukoneogeneze probíhá v **játrech** (v malé míře i v **ledvinách**), konkrétně v **cytosolu** buněk. Glukosa je syntetizovaná z **jednodušších necukerných látek**:

- laktát
- pyruvát
- glukogenní AK
- glycerol

B) Odlišné reakce GNG a glykolýzy

Pro syntézu glukosy **jsou užívány enzymy a reakce glykolýzy** – avšak **ne všechny**, protože **3 reakce glykolýzy jsou nevratné** a je potřeba je nahradit.

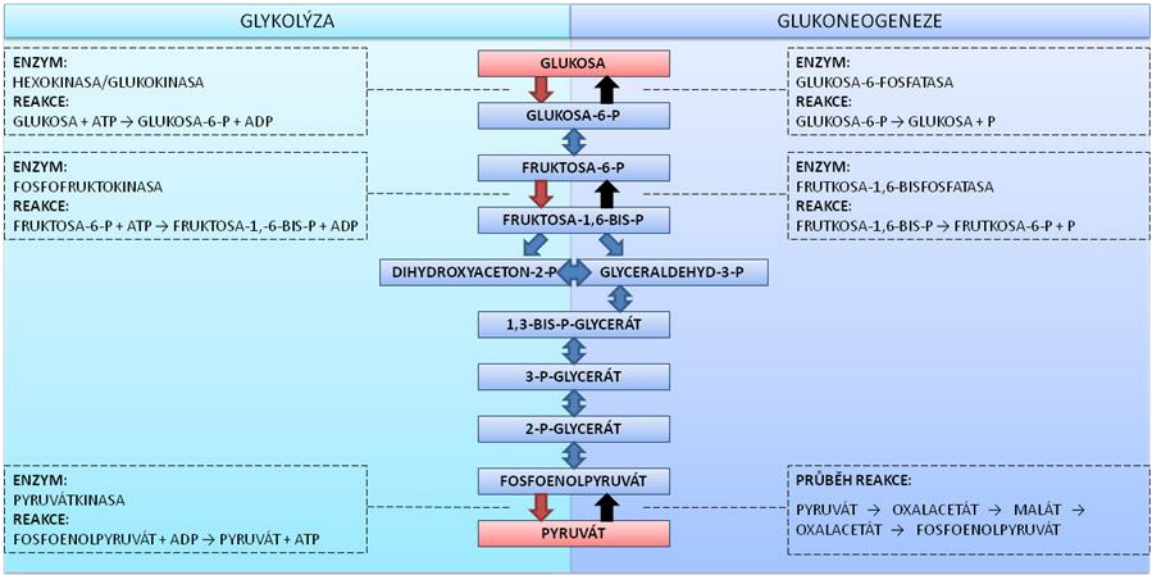
Jedná se o reakce:

1) glukosa + ATP → glukosa-6-fosfát + ADP
2) fruktosa-6-fosfát + ATP → fruktosa-1,6-bisfosfát + ADP
3) fosfoenolpyruvát + ADP → pyruvát + ATP

Uvedené reakce nemohou probíhat na druhou stranu z jednoduchého důvodu – při opačné reakci se v ani jednom z případů neuvolní dostatečné množství energie, aby vznikly uvedené produkty – např. kdyby reakce 1 měla probíhat

pozpátku, jednalo by se o substrátovou fosforylaci (vznikalo by ATP), ale průběh reakce není možný, neboť štěpení glukosa-6-fosfátu neposkytne dostatečné množství energie, potřebné k syntéze ATP.

Způsob, kterým jsou uvedené reakce nahrazeny, vystihuje následující schéma:



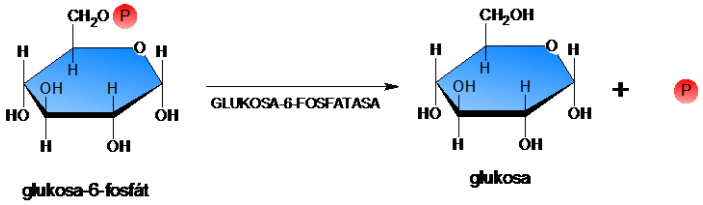
Ke schématu:

- *modré šipky jsou umístěny u reakcí obousměrných (probíhají v glykolýze i GNG stejně)*
- *červené a černé šipky jsou umístěny mezi reakcemi odlišnými*

Nyní se na **odlišné reakce glukoneogeneze podíváme podrobněji**.

AD1) Defosforylace glukosa-6-P

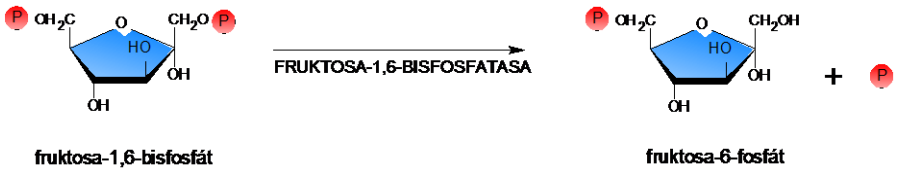
Oproti reakci glykolýzy je využit enzym **glukosa-6-fosfatasa**, který zajistí rozštěpení glukosa-6-P na **glukosu** a **fosfát**.



Enzym glukosa-6-fosfatasa se vyskytuje **pouze** v **endoplazmatickém retikulu jaterních buněk a buněk ledvin**! V jiných buňkách není možné glukosa-6-fosfát defosforylovat.

AD2) Defosforylace fruktosa-1,6-bisfosfátu

Oproti reakci glykolýzy je opět využit jiný enzym: **fruktosa-1,6-bisfosfatasa**. Reakce má obdobný průběh jako reakci již zmíněná.



Tato reakce je nejpomalejší reakcí GNG (stejně jako je odpovídající protichůdná reakce nejpomalejší reakcí glykolýzy) a je možné ji ovlinit různými způsoby. Např. jako **allosterický inhibitor slouží AMP,** jako **allosterický aktivátor slouží ATP** a jako **inhibitor slouží**

fruktosa-2,6-bisfosfát, jehož hladina je snižována glukagonem (tímto způsobem glukagon nepřímo ovlivňuje průběh GNG).

AD3) Syntéza fosfoenolpyruvátu

Oproti ostatním dvěma zvláštním reakcím GNG, není tato reakce upravena pouze změnou enzymu, nýbrž „obchvatem" přes zcela jiné sloučeniny.

Jak bylo zmíněno v poznámce výše, průběh zvratné reakce není možný, neboť reakce **fosfoenolpyruvát → pyruvát** poskytuje Gibbsovu energii o hodnotě **ΔG°´= – 61,9 kJ/mol** a reakce **pyruvát → fosfoenolpyruvát** (při které by došlo k hydrolýze ATP) poskytuje energii pouze **ΔG°´ = – 30,5 kJ/mol.** Energie vzniklá hydrolýzou ATP (-30,5 kJ/mol) tedy není dostačující pro syntézu fosfoenolpyruvátu, na kterou je potřeba dodat 61,9 kJ/mol.

Vznik fosfoenolpyruvátu můžeme rozložit do dvou stupňů:

a) **Vznik oxalacetátu karboxylací pyruvátu**[7]
   - Lokalizace: mitochondrie
   - Enzym: pyruvátkarboxylasa
   - Energie: spotřeba 1 ATP

b) **Přeměna oxalacetátu na fosfoenolpyruvát**
   - Lokalizace: cytoplazma i mitochondrie
   - Enzym: fosfoenolpyruvátkarboxykinasa
   - Energie: spotřeba 1 GTP

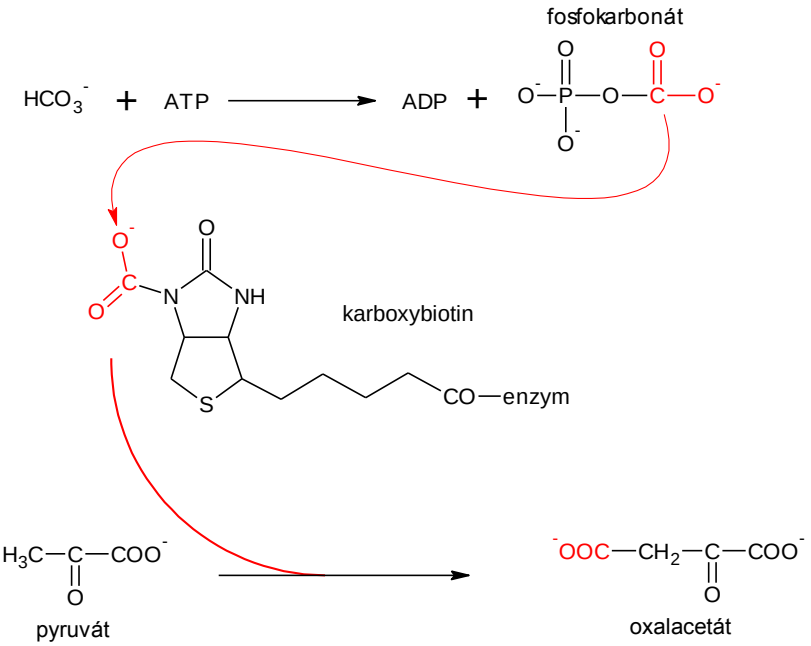
Oxalacetát vzniká v **matrix mitochondrie** **karboxylací pyruvátu**, dle souhrnné rovnice:

$$\textbf{pyruvát} + \textbf{HCO}_3^- + \textbf{ATP} \rightarrow \textbf{oxalacetát} + \textbf{ADP} + \textbf{P}_i$$

Podrobněji:

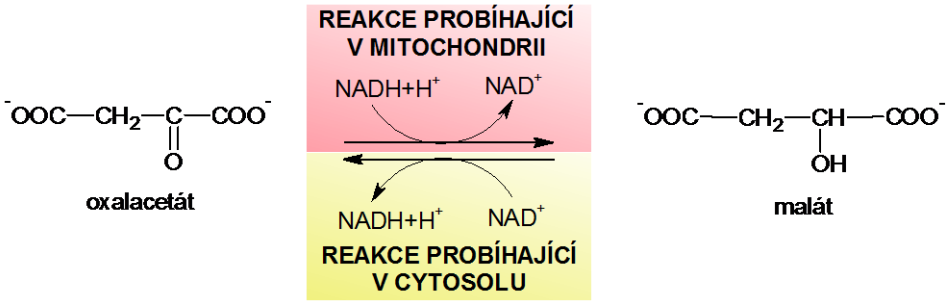
Hydrogenkarbonátový iont reaguje s ATP za vzniku **fosfokarbonátu**. Fosfokarbonát se následně přenáší na **biotin** v podobě $–COO^–$ za vzniku **karboxybiotinu**. $–COO^–$ skupina je pak přenesena na **pyruvát** za vzniku **oxalacetátu**.

[7] Oxalacetát vzniká v buňkách i jinými způsoby:
   a) **dehydrogenací malátu** (reakce citrátového cyklu)
   b) **transaminací aspartátu**

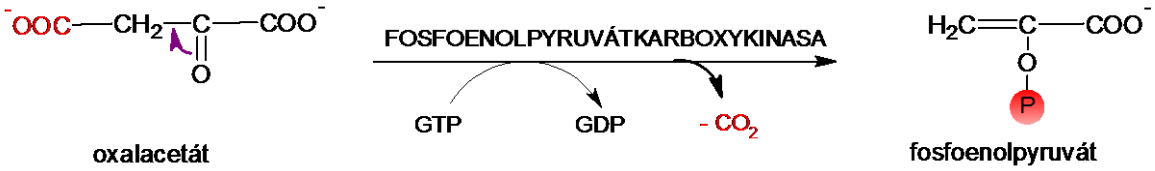


GNG probíhá v **cytosolu**. **Oxalacetát**, který potřebujeme pro syntézu fosfoenolpyruvátu, ale vznikl v **mitochondrii** a **nemůže být přenesen přes mitochondriální membránu**, protože ta pro něj není propustná!**[8]** Je proto potřeba jej přeměnit v látku, která přes membránu procházet může – touto látkou může být buď **malát**, nebo **aspartát[9].**

Přeměna na malát probíhá za účasti **NADH+H$^+$**. Po té, co je malát přenesen přes mitochondriální membránu, probíhá reakce v opačném směru – z malátu vzniká oxalacetát za účasti **NAD$^+$**.



Dekarboxylace oxalacetátu potřebuje pro svůj průběh energii, která je získána z **GTP. E**nzym katalyzující reakci nazýváme **fosfoenolpyruvátkarboxykinasou**.



Poznámka k reakci: fialová šipka naznačuje přesun dvojné vazby (tautomerie).

Lokalizace jednotlivých dějů vzniku fosfoenolpyruvátu:

[8] Navíc v mitochondrii začíná jistý „boj“ o oxalacetát – oxalacetát je výchozí látkou citrátového cyklu, buňka se tedy musí rozhodnout, zda oxalacetát přemění na citrát (a získá energii v citrátovém cyklu) nebo zda provede přeměnu na malát (a získá glukosu). Rozhodnutí se odvíjí od metabolického stavu buňky.

[9] *O přeměně na aspartát a jeho přenosu přes mitochondriální membránu bude pojednáno v kapitole o „Dýchacím řetězci v části o „Aspartát/malátovém člunku“.*

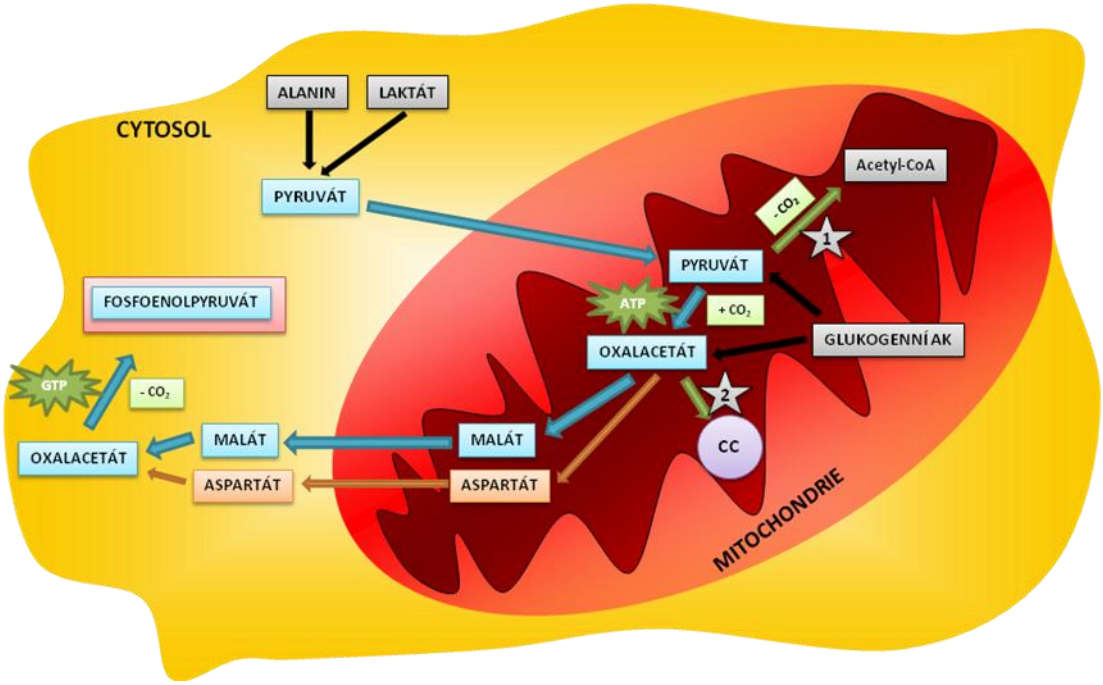


Schéma na předcházející stránce vyžaduje několik komentářů:

- **Modré šipky** naznačují hlavní trasu vzniku **fosfoenolpyruvátu z pyruvátu**.
  Začínáme u pyruvátu. Ten je přenesen do mitochondrie a **karboxylován na oxalacetát**. Oxalacetát nemůže opustit mitochondrii, proto je přeměněn na **malát**, v menší míře (naznačeno **oranžovou šipkou**) na **asparát**. Malát (nebo asparát) jsou přeneseny ven z mitochondrie, přeměněny na **oxalacetát** a ten je **dekarboxylován a fosforylován na fosfoenolpyruvát**.
  Na hlavní cestě vzniku fosfoenolpyruvátu vidíme **spotřebu energie ekvivalentní 2 ATP** (1 ATP a 1 GTP). Tato energie je využita při **karboxylaci pyruvátu** a **dekarboxylaci oxalacetátu**. O tomto jevu můžeme hovořit jako o **principu karboxylace a dekarboxylace**, který nám umožní průběh reakce, která je jinak **energeticky nevýhodná**, tedy přeměnu pyruvátu (s nízkou energií) na fosfoenolpyruvát (s vysokou energií).[10]
- **Černé šipky** nám ukazují, které látky slouží jako zdroje meziproduktů syntézy fosfoenolpyruvátu:
  - **pyruvát** získáváme z **alaninu, laktátu** a produktů odbourávání **glukogenních AK**
  - **oxalacetát** získáváme z meziproduktů odbourávání **glukogeních AK**
- **Zelené šipky** naznačují reakce, kterým daná látky rovněž může podléhat *(čísla níže odpovídají číslům v hvězdičkách)* :
  1) **De**karboxylace pyruvátu, vede ke vzniku **acetyl-CoA**, který je využit v citrátovém cyklu. To, že probíhá **karboxylace** (= vznik oxalacetátu) je zajištěno **glukagonem**, který buňkám říká: „je potřeba tvořit glukosu“ a také tím, že z tukové tkáně jsou uvolňovány MK, ty jsou transportovány do jater, kde probíhá jejich katabolismus (β-oxidace), kterým vzniká **acetyl-CoA**. Jaterní buňky tak mají dostatečně množství Ac-CoA, aby zajistily buňce energii, a není potřeba jej získávat **de**karboxylací pyruvátu.
     Přesněji řečeno, **zvýšená hladina Ac-CoA inhibuje pyruvátdehydrogenasu** (=nevzniká Ac-CoA) a **aktivuje pyruvátkarboxylasu** (= vzniká oxalacetát).

[10] K podobné reakci (karboxylaci a dekarboxylaci) dochází i při syntéze VMK.

2) **Oxalacetát** může být v mitochondrii zapojen do citrátového cyklu a přeměněn na citrát *(o této reakci jsme se zmínili již v poznámce výše)*.

C) Energetická bilance GNG

Z výše popsaného způsobu vzniku fosfoenolpyruvátu vidíme, že pro jeho vznik je potřeba energie odpovídající **2 ATP**, počítáme-li energii potřebnou na vznik jedné molekuly glukosy, tak **4 ATP** (reakce musí proběhnout dvakrát).
V dalších popsaných reakcích GNG energie potřebná nebyla, avšak v jedné z **nepopsaných reakcí** *(reakce nebyla popsána, protože je opakem dané reakce glykolýzy)*, a to v přeměně **3-fosfoglycerátu na 1,3-bisfosfoglycerát** je potřeba dodat **1 ATP** (**2 ATP** na vznik glukosy).

Tabulka 8 - Energetická bilance GNG

Reakce	ATP/glukosa
2x (pyruvát → oxalacetát)	– 2 ATP
2x (oxalacetát → fosfoenolpyruvát)	– 2 GTP
2x (3-fosfoglycerát → 1,3-bisfosfoglycerát)	– 2 ATP
CELKEM	– 6 ATP

Kdybychom chtěli GNG popsat **sumární rovnicí**, vypadala by takto:

$$2\ \text{pyruvát} + 4\ \text{ATP} + 2\ \text{GTP} + 2\ \text{NADH+2H}^+ \rightarrow \textbf{glukosa} + 2\ \text{NAD}^+ + 4\ \text{ADP} + 2\ \text{GDP} + 6\ \text{P}_i$$

D) Původ substrátů glukoneogenze

V úvodu kapitoly 5.4 byly zmíněny **hlavní substráty glukoneogeneze**, a to **pyruvát, laktát, glycerol a glukogenní AK**. Nyní se na jejich roli v GNG podíváme podrobněji.

Pyruvát
Pyruvát vzniká ve tkáních především dehydrogenací **laktátu**, v menší míře **transaminací z alaninu**. O jeho zapojení do GNG pojednávala část B) této kapitoly.

Laktát
Laktát vzniká jako odpadní produkt metabolismu různých tkání (především tkáně svalové). Z nich je transportován krví do jater (Coriho cyklus), kde dojde k jeho přeměně na pyruvát.

$$\text{laktát} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{pyruvát} + \text{NADH+H}^+$$

Vzniklý pyruvát se do GNG zapojí dle výše popsaného způsobu.

Glycerol
Glycerol vzniká **v adipocytech při štěpení triacylglycerolů,** následně je transportován krví do jater. **V cytoplasmě jaterních buněk** dochází k jeho přeměně na **dihydroxyacetonfosfát**, který se může zapojit do glukoneogeneze.[11]

$$\text{glycerol} + \text{ATP} \rightarrow \text{glycerol-3-fosfát} + \text{ADP}$$

$$\text{glycerol-3-fosfát} + \text{NAD}^+ \rightarrow \textbf{dihydroxyacetonfosfát} + \text{NADH+H}^+$$

Kdyby glukoneogeneze začínala u glycerolu, vyhneme se dvěma reakcím, které vyžadují energii:

[11] Může se zapojit i do glykolýzy – vše se opět odvíjí od metabolického stavu buňky.

- vzniku **fosfoenolpyruvátu z pyruvátu** (spotřeba 4 ATP na 1 glukosu)
- vzniku **1,3-bisfosfoglycerátu z 3-fosfoglycerátu** (spotřeba 2 ATP na 1 glukosu)

Místo 6 ATP, tedy **stačí dodat pouze 2 ATP** (ušetřili jsme 4 ATP).

Glukogenní AK

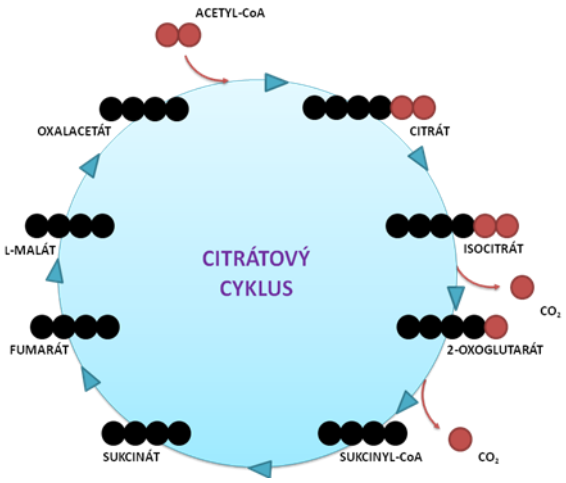
Glukogenní AK svým metabolismem **poskytují buď pyruvát**, nebo **meziprodukty citrátového cyklu**, které mohou být přeměněny na **oxalacetát**, který se do GNG zapojí popsaným způsobem. Nejvýznamnější glukogenní AK je **alanin**, který je v případě potřeby uvolňován ze svalů a transportován do jater (**viz glukoso-alaninový cyklus** v kapitole 6)

Poznámka:
*Povšimněme si, že GNG začínající u **laktátu a glycerolu** vyžaduje NAD^+ (zvýrazněno červeně). Je-li NAD^+ v buňce málo (poměr $NADH+H^+:NAD^+$ je vysoký), **dochází k zastavení GNG**. K tomuto stavu může dojít u **alkoholiků**, protože metabolismus alkoholu (alkoholdehydrogenasa) vyžaduje NAD^+. U alkoholiků proto může dojít až k **hypoglykemii**.*

E) Acetyl-CoA a GNG

Acetyl-CoA není přímým zdrojem pro glukoneogenezi!!!

Jelikož ještě neznáme průběh citrátového cyklu, vysvětlíme si tento fakt zjednodušeně – zaměříme se pouze na počet uhlíků v meziproduktech tohoto cyklu.



V průběhu citrátového cyklu dochází k **napojení Ac-CoA** (**2C**) na **oxalacetát (4C)** za vzniku **citrátu** (**6C**). Citrát je následně přeměněn na isocitrát (6C), který je **dekarboxylován na 2-oxoglutarát** (**5C**) – uhlík v uvolněném CO_2 pochází z Ac-CoA. 2-oxoglutarát je následně dekarboxylován na **sukcinyl-CoA** (**4C**) – uhlík v uvolněném CO_2 rovněž pochází z Ac-CoA. Sukcinyl-CoA pak dokončuje cyklus přes sukcinát (4C), fumarát (4C), L-malát (4C) až po **oxalcetát** (4C), který je zdrojem pro GNG. Je tedy patrné, že ani jeden uhlík z Ac-CoA nebyl zabudován do molekuly oxalacetátu a proto není Ac-CoA zdrojem pro glukoneogenezi.

F) Regulace glukoneogeneze

GNG je regulována:

- dostupností substrátů
- ovlivněním **nevratných reakcí allostericky a hormony**

Allosterické ovlivnění je **rychlé – působí bezprostředně**, zatímco **hormonální** ovlivnění může být i **rychlé** (působení přes druhého posla) **i pomalé** (hormon se napojí na receptor a vzniklý komplex hormon-receptor ovlivňuje dění v buňce po dobu hodin až dnů).
Zástupce alosterických aktivátorl, inhibitorů a hormonů jsou uvedeny pro větší přehlednost v tabulkách:

Tabulka 9 - Účinky aktivátorů a inhibitorů na enzymy GNG (a glykolýzy)

Enzym	Aktivátor	Inhibitor
HEXOKINASA	---	glukosa-6-fosfát
FOSFOFRUKTIKINASA	5´AMP, fruktosa-6-fosfát, fruktosa-2,6-bisfosfát	citrát, ATP, glukagon
PYRUVÁTKINASA	fruktosa-1,6-bisfosfát, insulin	ATP, alanin, glukagon, noradrenalin
PYRUVÁTDEHYDROGENASA	CoA, NAD^+, insulin, ADP, pyruvát	acetyl-CoA, $NADH+H^+$, ATP
PYRUVÁTKARBOXYLASA	acetyl-CoA	ADP
FOSFOENOLPYRUVÁTKARBOXYKINASA	glukagon?	---

Tabulka 10 - Účinky hormonů na expresi enzymů GNG (a glykolýzy)

Enzym	Induktor	Represor
GLUKOKINASA	insulin	glukagon
FOSFOFRUKTOKINASA	insulin	glukagon
PYRUVÁTKINASA	insulin	glukagon
PYRUVÁTKARBOXYLASA	glukokortikoidy, glukagon, adrenalin	insulin
FOSFOENOLPYRUVÁTKARBOXYKINASA	glukokortikoidy, glukagon, adrenalin	insulin
GLUKOSA-6-FOSFATASA	glukokortikoidy, glukagon, adrenalin	insulin

G) Glukoneogenese v ledvinách

Ledviny jsou po játrech jediným orgánem, který je schopen provádět **GNG** (mají ve svých buňkách mj. enzym glukosa-6-fosfatasu potřebnou pro její poslední krok – odštěpení fosfátu z glukosa-6-fosfátu).
Vzniklá glukosa může být uvolněna do krevního oběhu – k tomu dochází především v **postresorpční fázi (hladovění)** a při **acidózách**.
Jako substráty pro GNG v ledvinách slouží především laktát, glycerol a **glutamin** (oproti alaninu, který je hlavní AK v játrech).

5.5 Anabolismus (syntéza) a katabolismus (odbourání) glykogenu

Doposud jsme se bavili jen o metabolismu **glukosy**. O glukose se budeme bavit stále, avšak ne o glukose volné, ale **glukose vázané** ve formě **polysacharidu glykogenu**.

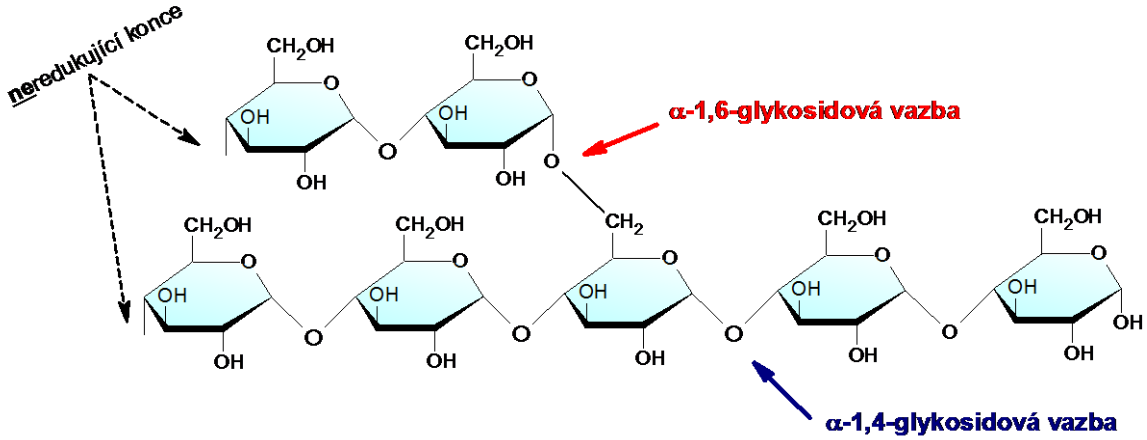
A) Glykogen

Glykogen je **zásobní formou glukosy v buňkách**. Jedná se o polysacharid velmi podobný škrobu, avšak oproti němu je **častěji větven (cca na každé 8. molekule)** – právě díky větvení je **velmi snadno dostupným** zdrojem glukosy v případě jejího nedostatku.
Syntéza (a odbourání) glykogenu probíhá ve většině buněk, v největší míře ale v **játrech a svalech**:

- ve svalech tvoří glykogen cca 1-2% hmotnosti svalu a k jeho odvourávání dochází **při těžké svalové práci a při stresu**
- v játrech tvoří glykogen zhruba 5-10% hmotnosti jater **po jídle** (po 24 hodinách hladovění pouze 0,1 % hmotnosti) a k jeho odbourávání dochází především **při poklesu hladiny glukosy v krvi**

Glykogen umožňuje uchovávat v buňce **velké množství molekul glukosy** (molekulová hmotnost glykogenu se pohybuje okolo 10^8). Kdyby tato glukosa nebyla vázaná, vzniklo by **hyperosmotické prostředí**, do buňky by přecházela voda a buňka by **praskla**.

V glykogenu rozlišujeme **dva typy vazeb: α-1,4-glykosidové vazby** a **α-1,6-glykysidové vazby**.



Molekula glykogenu má **díky větvení** několik **neredukujících konců** a **jeden** konec redukující.
Pozn. *na obrázku není redukující konec označen, jedná se o konec „vpravo" s volným poloacetalovým hydroxylem.*
Větší počet **neredukujících konců** je důležitý při štěpení glykogenu.

Nyní se podíváme na jednotlivé děje metabolismu glykogenu:

- **glykogeneze** (tvorbu glykogenu) umožňuje syntézu glykogenu z glukosy; vzniklý glykogen je následně uložen ve formě granul v buňkách
- **štěpení glykogenu** umožňuje z glykogenu uvolnit glukosu (enzymy glykogenolýzy se váží na povrch granul a postupně z nich oddělují molekuly glukosy)

Syntéza glykogenu není opakem jeho štěpení!!!

B) Syntéza glykogenu (glykogeneze)

Syntéza glykogenu probíhá po **jídle** – organismus má dostatek glukosy a je potřeba „schovat si ji na horší časy.“ Aktivace glykogeneze je **zajištěna inzulinem**.

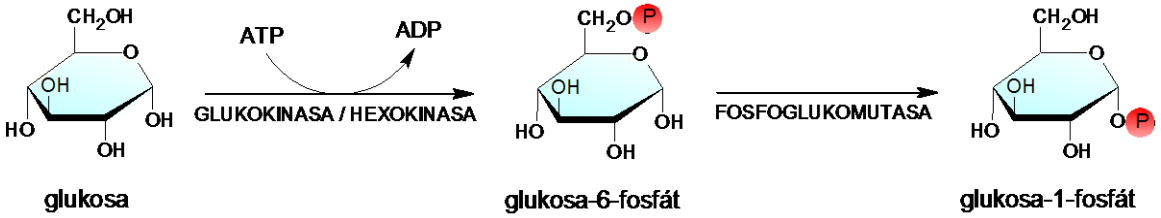
V syntéze glykogenu můžeme rozlišit 4 kroky:

1) aktivace glukosy na UDP-glukosu
2) přenos aktivovaných molekul UDP-glukosy k 4-konci již existujícího primeru nebo řetězce glykogenu
3) vznik α-1,4-glykosidových vazeb
4) větvení (vznik α-1,6-glykosidových vazeb)

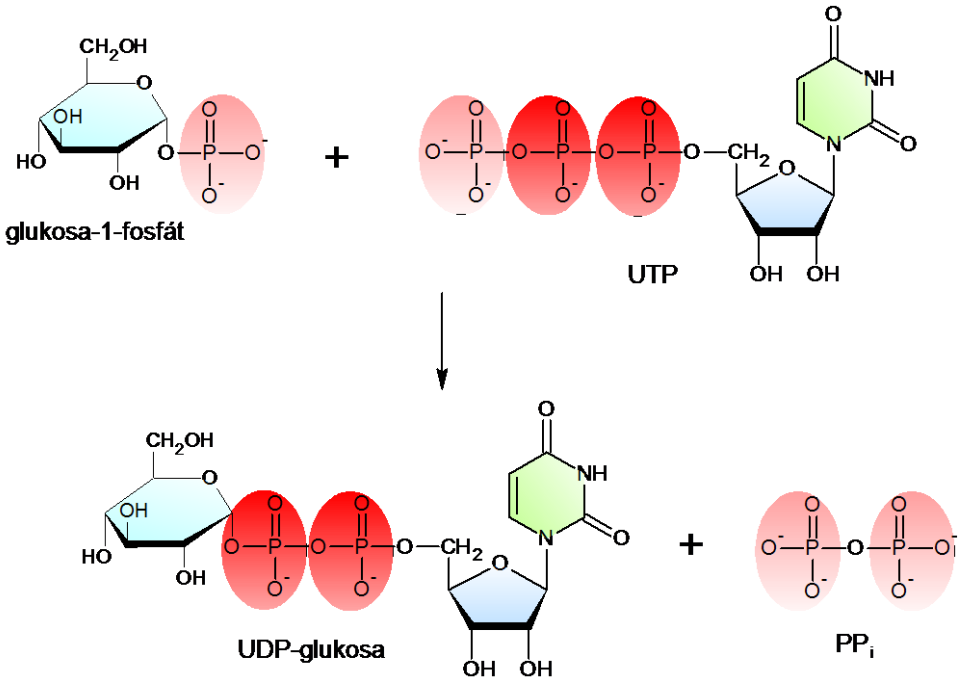
AD1) Syntéza UDP-glukosy

Glukosa jako taková je v příliš nízkém energetickém stavu, aby se mohla zúčastnit syntézy glykogenu – je potřebné ji **aktivovat**.

Při aktivaci je glukosa přeměna na glukosa-6-fosfát a následně izomerována na glukosa-1-fosfát, který následně reaguje s UTP.



Reakcí s UTP vzniká **UDP-glukosa**.



Poznámka:

Při vzniku UDP-glukosy vzniká difosfát (PP_i), který je po svém vzniku hydrolyticky rozštěpen na dva fosfáty:

$$PP_i + H_2O \rightarrow P_i + P_i$$

AD2) Přenos na primer

Aby mohl vznikat glykogen, je nutné přenést UDP-glukosu na **primer**, což je látka, na které se syntéza glykogenu začíná. Touto látkou může být:

a) **fragment glykogenu**
   Na fragmentu glykogenu začíná syntéza v případě, že všechen glykogen nebyl v buňce spotřebován.

b) protein **glykogenin**
   Glykogenin je **specifický protein**, který ve své molekule obsahuje **serin**. Na serinovém zbytku dochází k **autoglykosylaci** (glukosa je přenesena na –OH skupinu serinu; na navázanou první molekulu glukosy se mohou připojovat další za vzniku glykogenu)

AD3) Vznik α-1,4-glykosidových vazeb

Vzniku α-1,4-glykosidových vazeb se účastní enzym **glykogensynthasa**. Můžeme rozlišit dvě fáze vzniku α-1,4-glykosidových vazeb:

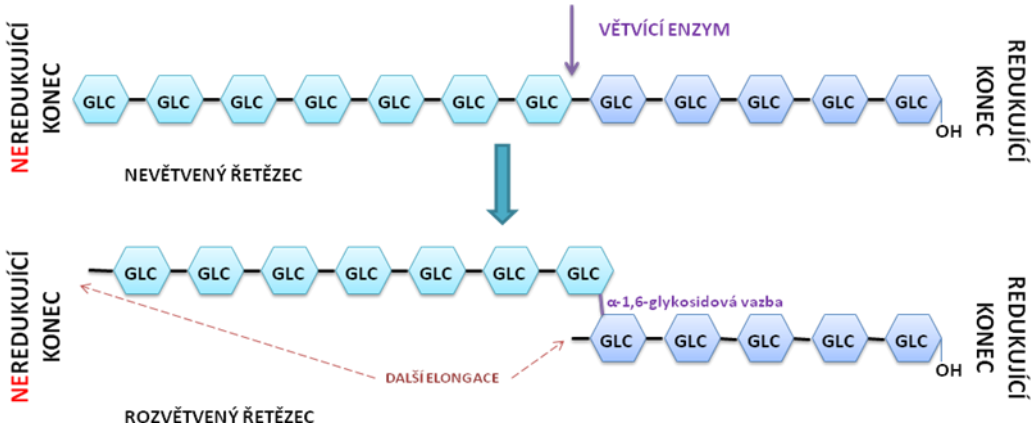
a) **Iniciace**
   Vznik první α-1,4-glykosidové vazby mezi **UDP-glukosou a primerem**

b) **Elongace**
   Připojování dalších molekul UDP-glukosy na již připojené molekuly za vzniku **nevětveného řetězce:**

$$\textbf{UDP-glukosa + [glukosa]}_n \rightarrow \textbf{[glukosa]}_{n+1} \textbf{ + UDP}$$

AD4) Větvení

Jakmile je původní řetězec (obsahující pouze α-1,4 vazby) dost dlouhý, nasedá na něj **větvící enzym**, který „utrhne“ **5-8 glukosových zbytků z <u>neredukujícího</u> konce** a napojí je na původní řetězec α-1,6-glykosidovou vazbou.



Následně dochází k **další elongaci** a po té, co je elongace dostatečná dochází k dalšímu **větvení**.

Větvení zajišťuje:

a) vznik více neredukujících konců**, tudíž zrychlení syntézy a odbourání**

b) **zvýšení rozpustnosti** glykogenu

C) Odbourání glykogenu – fosforolýza

K odbourávání glykogenu dochází při stresu (jaterní i svalový glykogen), při hladovění (jaterní glykogen) a při svalové práci (svalový glykogen).

Můžeme rozlišit 2 fáze:

1) **Fosforolytické štěpení α-1,4-glykosidových vazeb**
   Probíhá od **neredukujících konců** za účasti enzymu **fosforylasy**. Výsledkem toho štěpení je vznik **glukosa-1-fosfátů** (fosfát není poskytován z ATP ale přímo jako anorganický fosfát P_i)
2) **Odstranění větvení (odstranění α-1,6-glykosidových vazeb)**
   Přesněji bude znázorněno níže. Účastní se jej **odvětvovací enzym**.

AD1) Fosforolytické štěpení α-1,4 vazeb

Fosforylasa štěpí nevětvené části glykogenového řetězce – postupně odštěpuje z glykogenu po jedné molekule glukosy, které se však neuvolňují jako glukosy volné, ale ve formě **glukosa-1-P**:

$$[\text{glykogen}]_n + P_i \rightarrow [\text{glykogen}]_{n-1} + \textbf{glukosa-1-P}$$

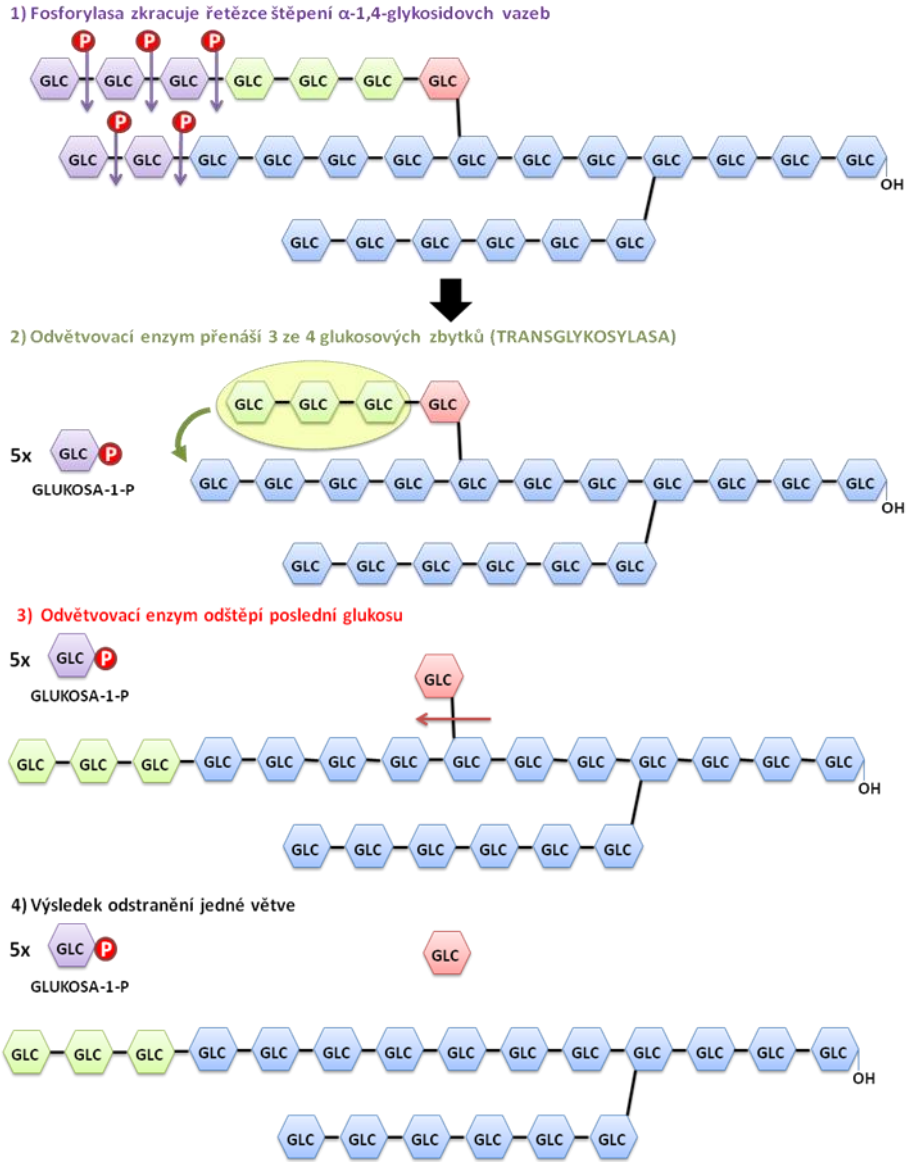
Zkracování probíhá tak dlouho, dokud se vedlejší větev (složená z mnoha molekul glukosy) nezkrátí na „větvičku“ o délce **4 glukosových zbytků**, kterou nazýváme **limitní dextrin** (*= 4 glukosové jednotky před α-1,6-vazbou*)

AD2) Odstranění větvení

Jakmile obsahují vedlejší řetězce pouze 4 molekuly glukosy, nastupuje **odvětvovací enzym**. Jeho funkce při odvětvování je dvojí:

a) Má **transferázovou (transglykosylásovou) aktivu** – tři ze čtyř molekul glukosy limitního dextrinu přenese na neredukující konec jiného delšího řetězce
b) Zbylou molekulu glukosy – díky své **glukosidasové aktivitě** – odštěpí ve formě **glukosy**, nikoliv ve formě glukosa-1-P!

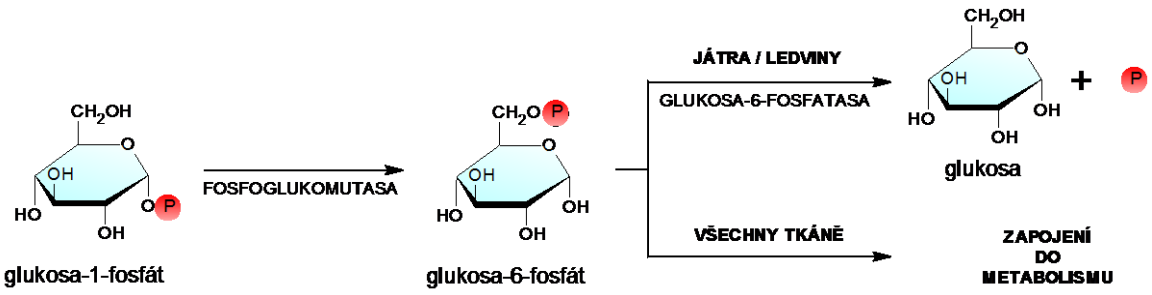
Oba výše popsané děje znázorňuje následující schéma:



Výsledkem odbourávání glykogenu je tedy **velké množství molekul glukosa-1-fosfátu** a **několik molekul samotné glukosy** (počet vzniklých glukos se rovná počtu větvení).

D) Osudy vzniklého glukosa-1-fosfátu

Glukosa-1-fosfát je po uvolnění z glykogenu přeměněn na **glukosa-6-fosfát**. Ten může být v jaterních buňkách (nebo buňkách ledvin) rozštěpen na **glukosu a fosfát** (játra a ledviny mají enzym glukosa-6-fosfatasu), pokud k tomuto štěpení nedochází (v ostatních tkáních) **je zapojen do metabolismu buněk**.



Po štěpení glykogenu **dochází v buňce k nárůstu koncentrace glukosa-6-fosfátu**. Glukosa-6-fosfát **nemůže procházet přes buněčnou membránu**, pokud není rozštěpen na glukosu a fosfát (glukosa přes membránu projít může). Z toho vyplývá, že **hladina glukosy v krvi je ovlivňována štěpením glykogenu pouze v játrech (ledvinách)**, nikoliv štěpením glykogenu ve svalové či jiné tkáni (v extrahepatálních tkáních je vzniklý glukosa-6-fosfát zapojen do glykolýzy).

E) Lysozomální odbourávání glykogenu

Kromě odbourávání glykogenu výše popsaným způsobem, dochází k jeho **štěpení i v lysozomech**, které obsahují enzym s názvem **lysozomální kyselá glukosidasa (**pH optimum 4). Při jeho absenci vzniká **Pompeho choroba** (viz dále).

Lysozomální kyselá glukosidasa **odbourává** α-1,4-glykosidové vazby od neredukujícího konce a uvolňuje **samostatnou glukosu**.

Tímto způsobem je odbouráno 1-3% buněčného glykogenu.

F) Regulace metabolismus glykogenu

Regulace glykogenu spočívá především s ovlivňování dvou protichůdných enzymů:

a) **glykogensynthasy**, která je aktivní po jídle a jejíž činností vzniká glykogen
b) **glykogenfosforylasy**, která je aktivní za hladovění a jejíž činností je z glykogenu uvolňována glukosa

K ovlivňování jejich funkce slouží dva systémy – **allosterická regulace** a **hormonální kontrola.**

(Stejně jako u glykolýzy, GNG a většiny dějů, které probíhají v organismu).

Hormony, které se podílí na regulaci syntézy a odbourání glykogenu, jsou vypsány v tabulce níže:

Tabulka 11 - Hormony ovlivňující metabolismus glykogenu

Hormon	Syntéza	Odbourání
INSULIN	↑	↓
GLUKAGON	↓	↑
ADRENALIN	↓	↑

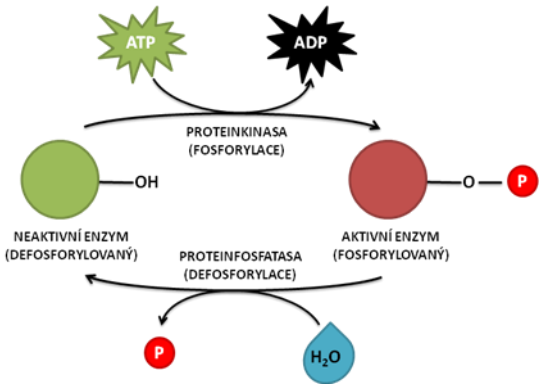
Při regulaci metabolismu glykogenu, hraje velkou roli **fosforylace a defosforylace proteinů (enzymů)**:

- fosforylaci zajišťují **kinasy** (s pomocí **ATP**)
- defosforylaci zajišťují **fosfatasy**

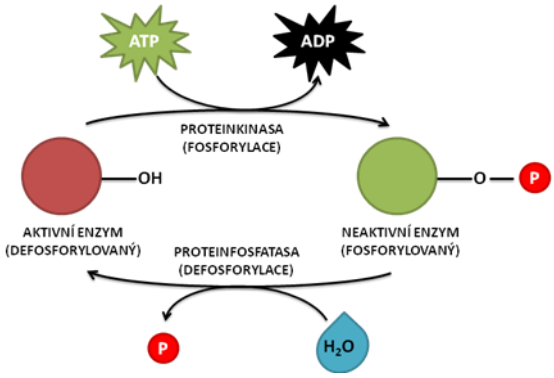
Obecně může mít fosforylace a defosforylace dvojí vliv – buď při nich dochází k **aktivaci** enzymu, nebo k jeho **deaktivaci**.

Důležité je uvědomit si, že jeden enzym může být **fosforylací aktivován** a **defosforylací inaktivován** a jiný enzym může být **fosforylací inaktivován** a **defosforylací aktivován**.

Tyto situace znázorňují následující schémata:



Obrázek 3 - Aktivace fosforylací



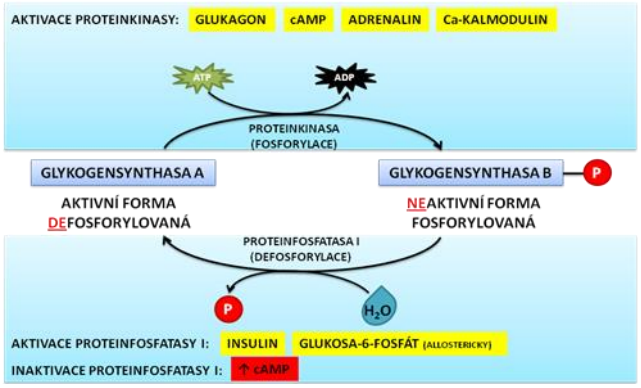
Obrázek 4 - Deaktivace fosforylací

ADa) Regulace **syntézy glykogenu** (ovlivnění **glykogensynthasy**)

Glykogensynthasa se v organismu vykytuje ve dvou formách:

- **glykogensynthasa a**
- **glykogensynthasa b**

„Glykogensynthasa a“ je **aktivnější** forma glykogensynthasy a je **defosforylovaná**. Její **fosforylací** dochází k **inaktivaci** a vzniku „glykogensynthasy b“.



Ke schématu:

Aktivní **de**fosforylovaná „glykogensynthasa a“ je pomocí enzymu proteinkinasy fosforylována do své **ne**aktivní formy „glykogensynthasy b“. Opačnou reakci – aktivaci spojenou s defosforylací – zajišťuje enzym proteinfosfatasa I.

- proteinkinasa je inhibována pomocí glukagonu, cAMP, adrenalinu a Ca-kalmodulinu
- proteinfosfatasa I je aktivována insulinem a allostericky pak glukosa-6-fosfátem; k její inhibici vede zvýšená hladina cAMP

Poznámka:

Kontrola ve svalu je **komplexnější** než v játrech, protože se odvíjí i **od aktuálního obsahu glykogenu**.

ADb) Regulace **odbourávání glykogenu** (ovlivnění **glykogenfosforylasy**)

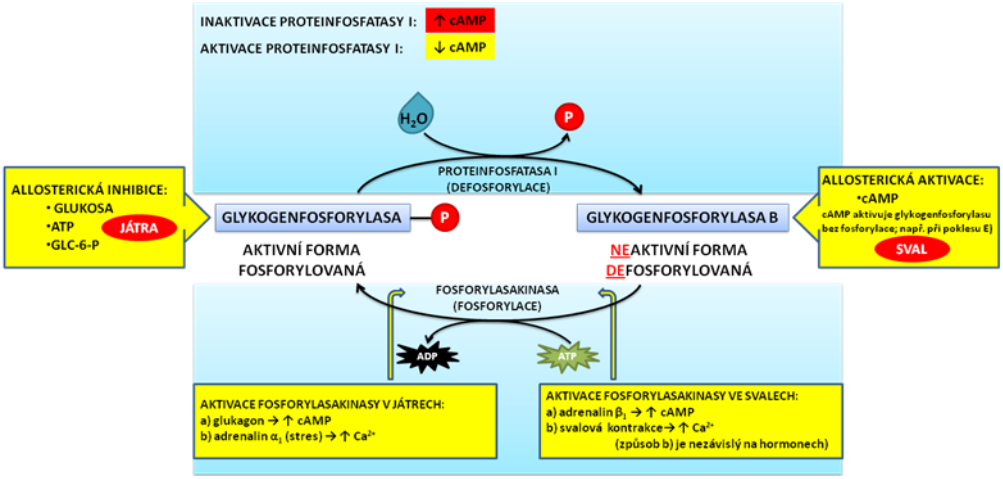
Podobně jako glykogensynthasa, nachází se i **glykogenfosforylasa** ve dvou formách:

- **glykogenfosforylasa a**

➢ **glykogenfosforylasa b**

Její aktivace a inaktivace **probíhá přesně opačně, než je tomu u glykogensynthasy**. „Glykogenfosforylasa a" je **aktivní formou**, která je **fosforylovaná**, „glykogenfosforylasa b" je **neaktivní formou,** která je **defosforylovaná**.

Celou situaci ovlivnění funkce tohoto enzymu navíc komplikuje fakt, že **aktivace enzymu fosforylasakinasy** (=enzym, který zajišťuje fosforylaci glykogenfosforylasy) **se liší v játrech a ve svalech.**



Ke schématu:

Fosforylovaná aktivní „glykogenfosforylasa a" je vlivem proteinfosfatasy I převedena do své neaktivní deforforylované formy „glykogenfosforylasy b". Opačná reakce – fosforylace pod vlivem **fosforylasakinasy** – vede k aktivaci.

Štěpení glykogenu je regulováno mnohem složitěji, než jeho syntéza (jak lze poznat ze schématu). Nyní se zaměříme na jednotlivé enzymy a možnosti jejich ovlivnění:

a) **„glykogenfosforylasa a"** může být ve svalech **inhibována glukosou**, **ATP** nebo **glukosa-6-P** (= ve svalu je dost glukosy i energie, je zbytečně štěpit glykogen)

b) **„glykogenfosforylasa b"** může být **allostericky aktivována** vlivem **cAMP**

c) **„proteinfosfatasa I"** je inhibována zvýšenou hladinou cAMP, při nižší hladině cAMP je naopak aktivována

d) „fosforylasakinasa" je **aktivována** ve svalech a v játrech různými způsoby:

a. V **játrech** najdeme dvě **neaktivní** formy fosforylasakinasy:

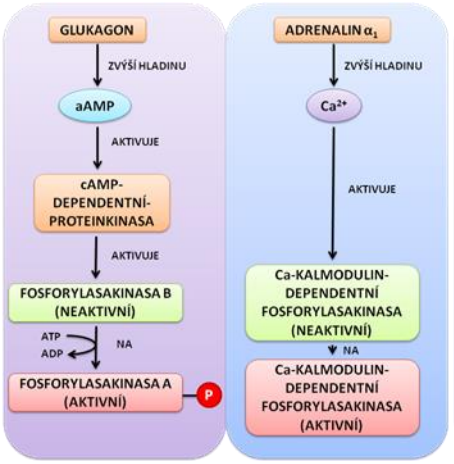
„neaktivní fosforylasakinasu b"

„neaktivní Ca-kalmodulin-dependentní-fosforylasakinasu"

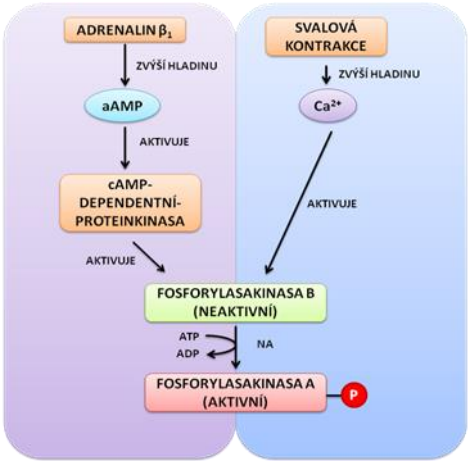
Vlivem **glukagonu** dojde ke **zvýšení hladiny cAMP**. Zvýšená hladina cAMP vede k **aktivaci „cAMP-dependentní-proteinkinasy"**. Tato **proteinkinasa aktivuje „fosforylasakinasu b"** a přemění ji na **„fosforylasakinasu a"**, která je **aktivní a fosforylovaná**. Fosforylovaná „fosforylasakinasa a" může nyní fosforylovat glykogenfosforylasu.

Vlivem **adrenalinu**, který se naváže na ***α₁-receptory*** (při stresu), dochází k **zvýšení koncentrace Ca^{2+}** v játrech. Zvýšená koncentrace Ca^{2+} **zvýší koncentraci Ca^{2+}-kalmodulinu**, který **aktivuje „neaktivní Ca-kalmodulin-dependentní-fosforylasakinasu"** na **„aktivní Ca-kalmodulin-dependentní fosforylasakinasu"**. Fosforylasakinasa nyní může fosforylovat glykogenfosforylasu.

b. Ve svalech najdeme jen jednu **neaktivní formu fosforylasakinasy** a to **„neaktivní fosforylasakinasu b“**. Její aktivace ale může probíhat dvěma způsoby:
Vlivem **adrenalinu**, který se naváže na ***β_1-receptory***, dochází ke zvýšení hladiny **cAMP**. Zvýšená hladina cAMP **aktivuje „cAMP dependentní-proteinkinasu“**. Tato **proteinkinasa aktivuje „fosforylasakinasu b“** a přemění ji na **aktivní „fosforylasakinasu a“.**
Po dobu trvání **svalové kontrakce** dochází ke **zvýšení koncentrace Ca^{2+} iontů**. Aniž by byla potřeba fosforylace, působí zvýšená koncentrace Ca^{2+} iontů na „fosforylasakinasu b“ a stimuluje její aktivaci na „fosforylasakinasu a“.



Obrázek 5 - Situace v JÁTRECH



Obrázek 6 - Situace ve SVALU

Kdybychom měli výše popsané způsoby ovlivnění **fosforylasakinasy** shrnout, vypadal by výsledek našeho snažení následovně:

- JÁTRA
  a. Vliv hormonů:
    i. **glukagon** působí na hladinu cAMP
    ii. **adrenalin** působí na koncentraci Ca^{2+}
- SVAL:
  a. Vliv hormonů:
    i. **Adrenalin** působí na hladinu cAMP
  b. Allosterická regulace:
    i. zvýšená hladina Ca^{2+} vyvolaná svalovou kontrakcí

G) Glykogenózy

Enzymy, které hrají roli v metabolismu glykogenu, jsou velmi často nějakým způsobem poškozené – většinou se jedná o **vrozené deficience enzymů**. Tyto deficience se projevují různými způsoby – záleží na tom, o který konkrétní enzym se jedná a také na tom, o kterou jeho konkrétní izoformu se jedná (poruchy tedy mohou být *tkáňově specifické* – např. izoforma ve svalech bude poškozena a metabolismus glykogenu ve svalu bude narušen, ale izoforma v játrech bude v pořádku, tudíž metabolismus glykogenu v nich bude probíhat normálně).

Tabulka 12 - Glykogenózy

Typ	Enzymový defekt	Orgán	Charakteristika
0	glykogensynthasa	játra	hypoglykemie; **fatální**

I	glc-6-fosfatasa	játra, ledviny	zvětšená játra, ledviny; hypoglykemie buňky jsou přeplněny glykogenem
II	lysozomální α-glukosidasa	srdce, svaly	hromadění glykogenu v lysozomech; **fatální**
III	odvětvovací enzym	játra, svaly, srdce	hromadění charakteristicky větveného polysacharidu
IV	větvící enzym	játra	hromadění nevětveného polysacharidu; **fatální**
V	svalová glykogenfosforylasa	sval	vysoký obsah glykogenu ve svalu, snížená schopnost tělesné námahy
VI	jaterní glykogenfosforylasa	játra	vysoký obsah glykogenu v játrech, sklon k hypoglykemii
VII	fosfofruktokinasa	srdce, svaly	vysoký obsah glykogenu ve svalu, snížená schopnost tělesné námahy (jako typ V)

Glykogenosa typu I = Von Gierkeho choroba

Nejběžnější z glykogenóz, která je způsobena deficitem glukosa-6-fosfatasy nebo absencí transportéru pro glukosa-6-fosfát.

Chybění tohoto enzymu vede k **hypoglykemii již při krátkém hladovění**, **k laktacidemii** a občas k **hyperlipidemii a hyperurikemii**.

Výše popsané projevy jsou způsobeny tím, že glukosa-6-fosfát nemůže být z jater ani ledvin uvolňován ve formě glukosy do krve (a udržovat tak hladinu krevní glukosy) a musí se tedy zapojit do metabolismu těchto buněk (a jelikož ho je hodně, dochází k jeho přeměně na glykogen).

Glykogenosa typu II = Pompeho choroba

Choroba způsobená **deficitem lysozomální α-1,4-glukosidasy**. Glykogen tak nemůže být v lysozomech odbouráván a dochází k jeho hromadění. Lysozomy přeplněné glykogenem nemohou plnit svou funkci.

To, že lysozomy nemohou pracovat vede k poškození svalů (svalové slabosti) a dalších orgánů, především částí respiračního systému a srdce.

Glykogenosa typu V = McArdlova choroba

Choroba způsobená **deficitem svalové glykogenfosforylasy**. Chybí-li tento enzym, není možné štěpit glykogen a využívat tak jeho zásoby pro produkci energie – sval tedy není schopen trvalejší práce a snadno dochází k jeho poškození (což vede k vyplavení myoglobinu do krve, což má další následky…)

5.6 Pentosofosfátová dráha

A) Úvod

Doposud popisované děje se týkaly metabolismus glukosy, avšak pouze těch jeho částí, při kterých **buňka získávala energii**. Pentosofosfátová dráha je rovněž jednou z **metabolických drah glukosy**, avšak nevede k zisku energie.

Probíhá ve velkém rozsahu v **játrech, tukové tkáni** (až 50% metabolismus glukosy)**, erytrocytech** (velmi významný zdroj NADPH+H$^+$), **štítné žláze, laktující mléčné žláze** a dalších tkáních. Obecně lze říci, že probíhá v tkáních, **v nichž probíhají redukční syntézy**. V ostatních tkáních jsou využívány jen určité části této dráhy.

Co se týče buněčné lokalizace, probíhá pentosofosfátová dráha v **cytosolu**.

Pentosofosfátová dráha:

- je významným **zdrojem NADH+H$^+$**, který je využíván k redukčním syntézám, redukci glutathionu a dále pak oxygenasami se smíšenou funkcí
- je zdrojem **ribosa-5-fosfátu**, který slouží k **syntéze NK** a **nukleotidů**
- umožňuje **zapojení pentos** přijatých potravou do metabolismu (např. přímou přeměnou na nukleotidy, nebo jejich přeměnou na hexosy).

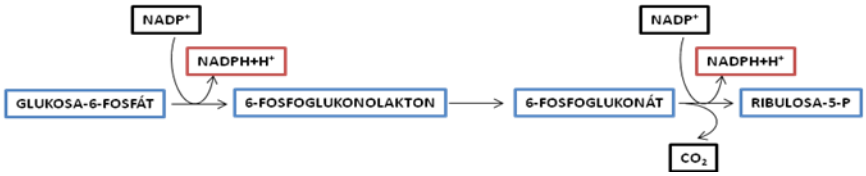
Jak bylo řečeno v úvodu, **není tato dráha zdrojem energie**, navíc **energii přímo nespotřebovává**.

Můžeme rozlišit dvě části pentosofosfátové dráhy:

- **oxidační část**, ve které probíhají **nevratné reakce**
- **regenerační (neoxidační) část**, která se skládá z **vratných reakcí**

B) Oxidační část pentosofosfátové dráhy

Oxidační část pentosofosfátové dráhy obsahuje 3 přeměny. Ve dvou z nich **vzniká NADPH+H$^+$**, navíc dochází k dekarboxylaci (z hexosy vzniká pentosa).

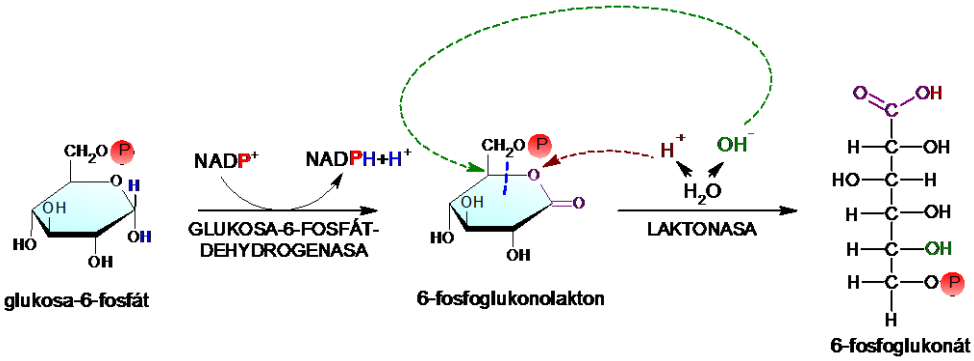


Vznikající NADPH+H$^+$ **je zároveň regulátorem reakce** – při zvýšení jeho hladiny v buňce dochází k inhibici této části pentosofosfátového cyklu (tzv. „**inhibice produktem**“).

Nyní se na jednotlivé reakce ze schématu podíváme podrobněji:

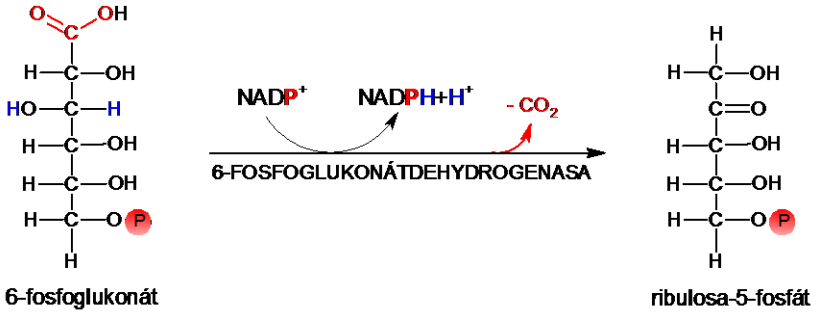
a) Vznik 6-fosfoglukonátu

Glukosa-6-fosfát (cyklická sloučenina) je nejprve oxidována na **6-fosfoglukonolakton**, což je také **cyklická sloučenina**. Její hydrolýzou dojde k narušení kruhu a vzniku **6-fosfoglukonátu**.



b) Vznik ribulosa-5-fosfátu

6-fosfoglukonát podléhá **dehydrogenaci** (na **třetím** uhlíku) a **dekarboxylaci** (na **prvním** uhlíku) za vzniku ribulosa-5-fosfátu.



Výsledkem **oxidační části pentosového cyklu** jsou:

- **2 NADPH+H$^+$**
- **pentosa-fosfát** (ribulosa-5-fosfát)

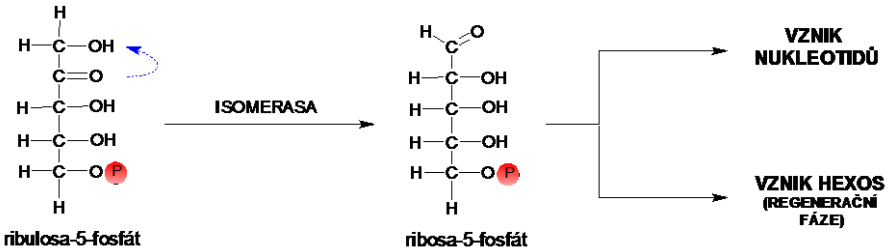
C) Regenerační fáze pentosofosfátového cyklu

V oxidační části jsme z **hexosa-fosfátu** (glukosa-6-P) získali **pentosa-fosfát** (ribulosa-5-P). Regenerační fáze umožňuje vzniklé pentosy přeměnit **zpět na hexosy.**

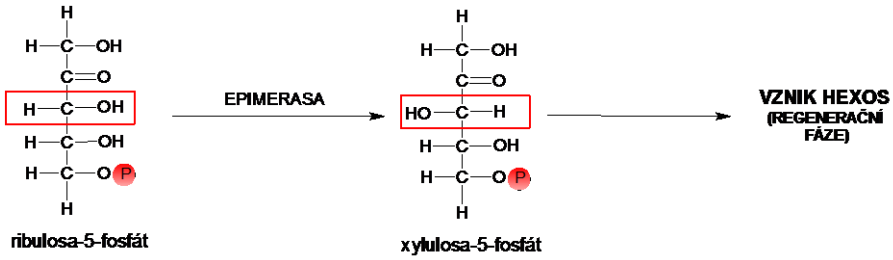
Vyvstává otázka, **proč vůbec probíhá regenerační fáze**, neboli proč vůbec vynakládá buňka snahu vytvářet pentosy, když je následně přemění zpět na hexosy. Důvod je prostý – některé buňky **potřebují mnoho NADPH+H$^+$** pro svoji běžnou činnost a pentosofosfátový cyklus je jeho hlavním zdrojem. **Vzniklé pentosy**, kterých je v některých buňkách velké množství, **se** tedy **nevyužijí k syntéze nukleotidů** (buňka tolik nukleotidů nepotřebuje) a jsou přeměněny zpět na **hexosy**. Ty se mohou zapojit **znovu do pentosofosfátového cyklu** a poskytnout buňce další NADPH+H$^+$ nebo **do dalších reakcí metabolismu** (a poskytnout buňce např. energii).

Prvním krokem regenerační fáze je přeměna **ribulosa-5-fosfátu** na:

- **ribosa-5-fosfát (enzym: isomerasa**; přesun dvojné vazby**)**



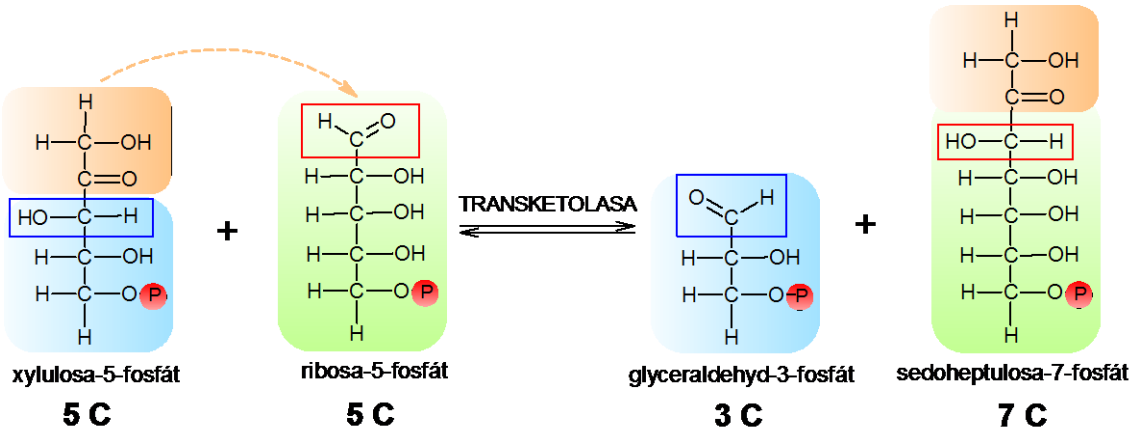
➢ **xylulosa-5-fosfát (enzym: epimerasa**; „přehození“ –OH a –H**)**



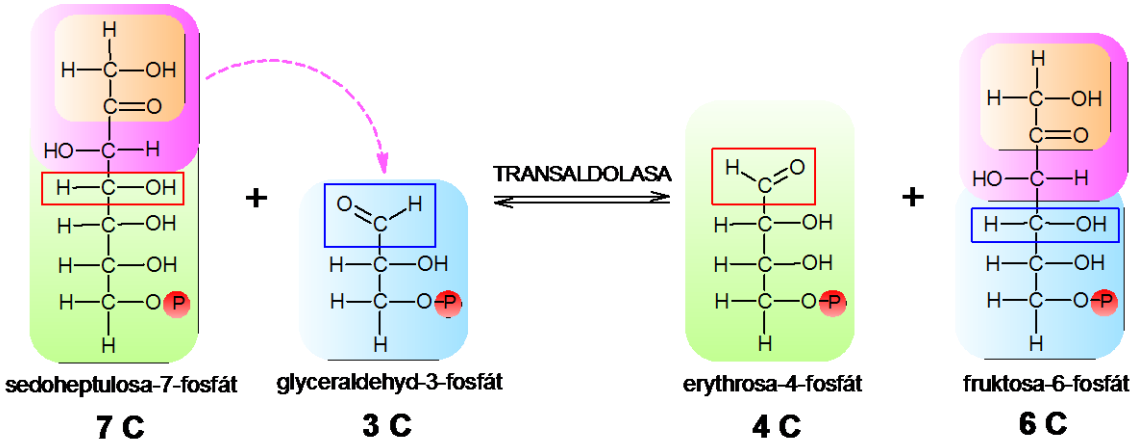
Ribosa-5-fosfát se může zapojit do **syntézy nukleotidů** (je-li jich potřeba) nebo se spolu s **xylulosa-5-fosfátem** podílí na vzniku **hexos**.

Po té, co jsme získali ribosu-5-fosfát i xylulosu-5-fosfát, může pokračovat regenerační fáze. Na další reakci se **podílí enzym transketolasa**, která **přenáší dvouuhlíkatý zbytek**. Tento zbytek pochází z **xylulosa-5-fosfátu**, ze které tak vzniká **glyceraldehyd-3-fosfát** a je přenášen na **ribosu-5- fosfát**, ze které tak vzniká **sedoheptulosa-7-fosfát**.[12]

Kofaktorem reakce je **thiamindifosfát**.

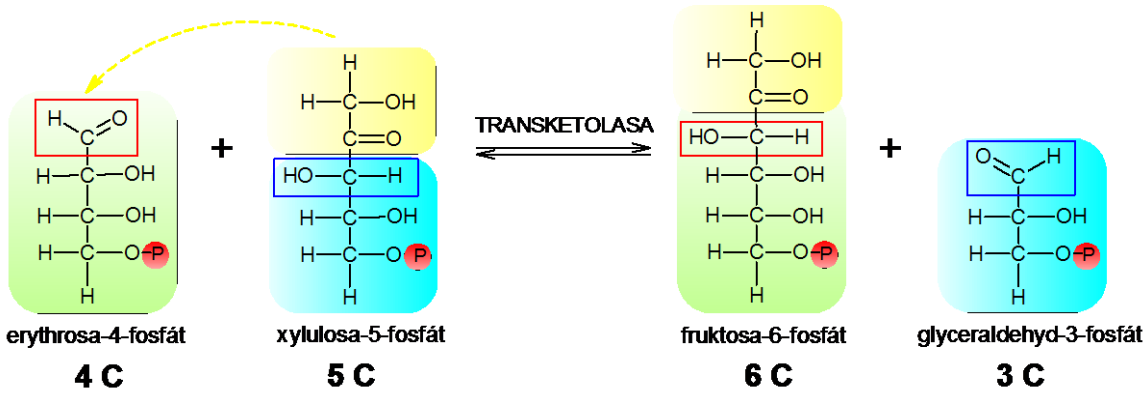


Následující reakci katalyzuje enzym **transaldolasa**, která přenáší **tříuhlíkatý zbytek.** Tento zbytek pochází ze **sedoheptulosa-7-fosfátu**, ze kterého po odrtžení vzniká **erythrosa-4-fosfát**, a je přenesen na **glyceraldehyd-3-fosfát**, ze kterého tak vzniká **první hexosa: fruktosa-6-fosfát**.



Do další reakce se **opět zapojuje transketolasa** přenášející **dvouuhlíkatý zbytek**. Tento zbytek pochází z molekuly **xylulosa-5-fosfátu**, ze které jeho odštěpením vznikne **glyceraldehyd-3-fosfát**, a je přenesen na **erythrosa-4-fosfát** za vzniku **druhé hexosy: fruktosa-6-fosfátu**.

[12] Povšimněme si zajímavosti – i když se lokátor fosfátu (3-fosfát ; 5-fosfát; 7-fosfát) stále mění, poloha fosfátu je stále stejná – pouze se mění délka řetězce.



Souhrnná bilance regenerační fáze pentosofosfátové dráhy:

ribulosa-5-P ⇌ ribosa-5-P

2x ribulosa-5-P ⇌ 2x xylulosa-5-P

xylulosa-5-P + ribosa-5-P ⇌ glyceraldehyd-3-P + sedoheptulosa-7-P

sedoheptulosa-5-P + glyceraldehyd-3-P ⇌ erythrosa-4-P + **fruktosa-6-P**

xylulosa-5-P + erythrosa-4-P ⇌ glyceraldehyd-3-P + **fruktosa-6-P**

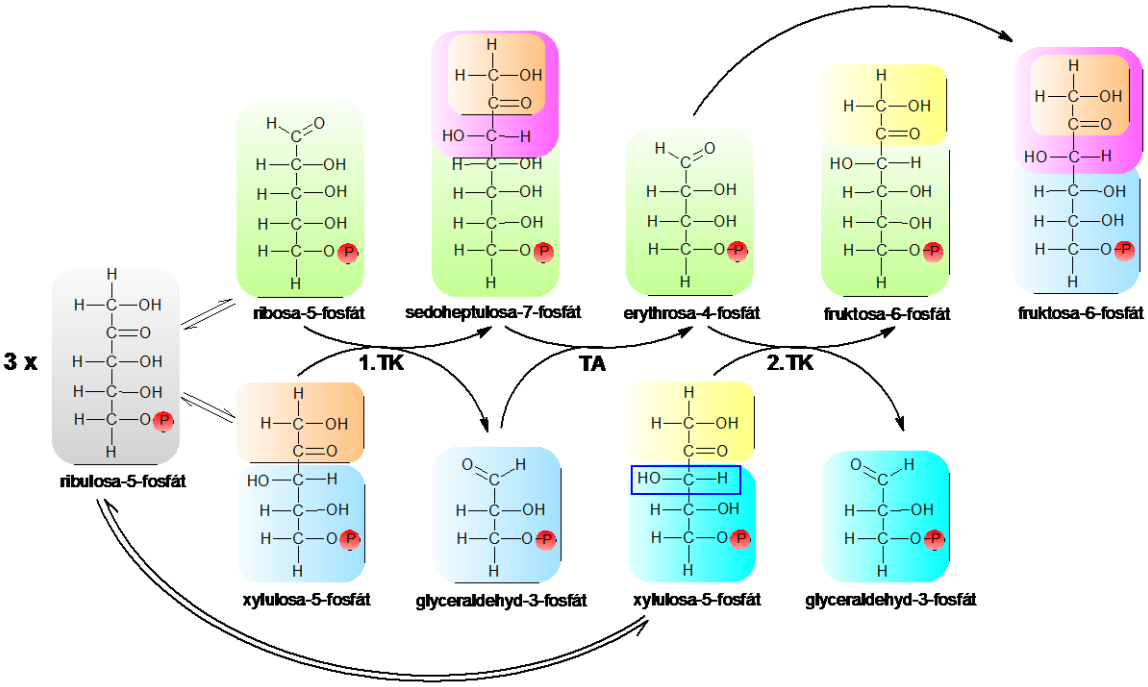
---

3 x ribulosa-5-P ⇌ **glyceraldehyd-3-P + 2 x frutkosa-6-P**

3x 5C **3C + 2 x 6C**

Vidíme, že do reakcí pentosofosfátové dráhy vstupují 3 pentosy, které se z ní po různých přesunech dvou a tříuhlíkatých zbytků. Vystupují jako 2 hexosy a 1 triosa.

Schematicky:



*Ke schématu: **1.TK** = 1. transketolasová reakce; **TA** = transaldolasa; **2.TK** = 2. transketolasová reakce*

D) Pentosofosfátový cyklus opačným směrem

Díky tomu, že jsou **jednotlivé reakce regenerační fáze zvratné**, je možné **produkovat pentosy i bez produkce NADPH+H$^+$**, např. **z meziproduktů glykolýzy**.
Řečeno jinak: obrátíme-li sled reakcí, může pentosofosfátový cyklus probíhat ve směru **hexosy → pentosy**, čímž se vyhneme oxidační fázi a vzniku NADPH+H$^+$.

Průběh jednotlivých opačných reakcí:

a) **2. transketolasová reakce** v opačném směru
Z **fruktosa-6-fosfátu** (vzniklého glykolýzou) je možné v reakci s **glyceraldehyd-3-fosfátem** (rovněž vzniklý glykolýzou) získat **erythrosu-4-fosfát** a **xylulosu-5-fosfát** (pentosu):

fruktosa-6-P + glyceraldehyd-3-P ⟷ erythrosa-4-P + **xylulosa-5-P**

b) **transladolasová reakce** v opačném směru
Z **erytrosy-4-fosfátu** (vzniklé reakcí *a)*) a **fruktosa-6-fosfátu** (vzniklého glykolýzou) je možné získat **sedoheptulosu-7-fosfát** a **glyceraldehyd-3-P**:

erythrosa-4-P + fruktosa-6-P ⟷ sedoheptulosa-7-P + glyceraldehyd-3-P

c) **1. transketolasová** reakce v opačném směru
Ze **sedoheptulosy-7-P** (vzniklé reakcí *b)*) a **glyceraldehyd-3-P** (vzniklého glykolýzou nebo výše uvedenou reakcí) můžeme získat **ribosu-5-fosfát** a **xylulosu-5-fosfát** (2 pentosy):

sedoheptulosa-7-P + glyceraldehyd-3-P ⟷ **ribosa-5-P** + **xylulosa-5-P**

E) Regulace pentosofosfátové dráhy

Rychlost pentosofosfátové dráhy se odvíjí od:

a) **úvodních nevratných reakcí oxidační fáze**
b) **dostupnosti substrátu (NADP$^+$)**
c) **množství vzniklého NADPH+H+ (inhibice produktem!)**
d) **indukce tvorby enzymů pomocí insulinu**[13]

Směr pentosofosfátové dráhy se odvíjí od **potřeb buňky** (viz tabulka)

Tabulka 13 - Potřeby buňky

Potřeba buňky	Směr dráhy
POUZE NADPH+H$^+$	oxidativní větev produkuje NADPH+H$^+$ regenerační větev konvertuje pentosy na glukosa-6-P
NADPH+H$^+$ A RIBOSA-5-P	oxidativní větev produkuje NADPH+H$^+$ vzniklá ribulosa-5-P je pomocí izomerasy přeměněna na ribosu-5-P
POUZE RIBOSA-5-P	oxidativní větev neprobíhá regenerační větev probíhá pozpátku (fruktosa-6-P a glyceraldehyd-3-P jsou konvertovány na ribosa-5-P)
NADPH+H$^+$ A PYRUVÁT *(alternativa potřeby 1)*	oxidativní větev produkuje NADPH+H$^+$ regenerační větev přeměňuje ribosa-5-P na fruktosa-6-P a glyceraldehyd-3-P glykolýza produkuje pyruvát

[13] Proč zrovna insulin? Insulin je hlavním hormonem v **resorpční fázi** (fázi po jídle). V této fázi má buňka **dostatek hexos** (glukosy), aby z nich mohla vytvářet pentosy. Insulin tedy indukuje syntézu enzymů pentosofosfátové dráhy.

F) NADPH+H$^+$

V pentosofosfátové cyklu vzniká **NADPH+H$^+$**, lze říci, že tento cyklus je jeho hlavním producentem. Je tedy vhodné zmínit pár slov o tomto kofaktoru.

Jemu strukturně velice blízkou sloučeninou je NADH+H$^+$. Srovnání těchto látek uvádí tabulka na následující stránce. Hlavní rozdíl je asi v tom, že **NADP$^+$ se vyskytuje především v anabolismu** a **NAD$^+$ v katabolismu**.

Tabulka 14 - Srovnání NADH+H$^+$ a NADPH+H$^+$

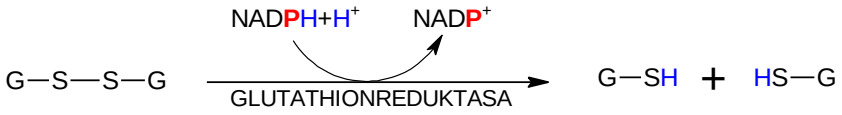
Charakteristika	NADH+H$^+$	NADPH+H$^+$
vznik	převážně při dehydrogenacích substrátů v katabolických dějích	převážně při dehydrogenaci substrátů v dějích jiných než katabolických
využití	převážně v dýchacím řetězci	redukční syntézy (viz dále) detoxikační reakce **(nemůže být oxidován v dýchacím řetězci)**
forma převažují v buňce	NAD$^+$ (oxidovaná forma)	NADPH+H$^+$ (redukovaná forma)

NADPH+H$^+$ Je nezbytný pro průběh následujících reakcí:

- **redukce** (regenerace) **oxidovaného glutathionu** (G-S-S-G → G-SH + G-SH)
- **monooxygenázové reakce** s **cytochromemP450** (probíhají v játrech, střevech a plicích; jedná se o reakce, kdy jsou cizorodé látky = xenobiotika = převáděny z méně polární na více polární formu, což umožní jejich lepší vyloučení z organismu)
- **respirační vzplanutí** v leukocytech
- **redukční syntézy:**
  - syntéza mastných kyselin
  - elongace mastných kyselin
  - syntéza cholesterolu
  - syntéza nukleotidů
  - syntéza NO z argininu

G) Pentosofosfátová dráha a erytrocyty

Ve většině buněk je možné NADPH+H$^+$ syntetizovat i jinými cestami než pomocí pentosofosfátové dráhy – v **erytrocytech je to jediná možnost vzniku NADPH+H$^+$**, což se projevuje i v tom, že 5-10% glukosy (glc-6-P) v erytrocytu vstupuje do pentosofosfátové dráhy.
Hlavní význam vznikajícího NADPH+H$^+$ je v **regeneraci glutathionu**, NADPH+H$^+$ slouží jako kofaktor enzymu **glutathionreduktasy**.



Erytrocyty jsou buňky, které se dostávají do přímého kontaktu se vzdušným kyslíkem (nacházejí se v oxidačním stresu). Vznikají v nich proto škodlivé látky jako **peroxid vodíku H-O-O-H a různé organické peroxidy R-O-O-H**, které jsou odbourávány právě **pomocí glutathionu**. Kdyby nedocházelo k odbourávání peroxidů a **došlo by k jejich nahromadění v buňce**, **způsobilo by to hemolýzu**.

2 GSH + H-O-O-H → G-S-S-G + 2 H_2O
2 GSH + R-O-O-H → G-S-S-G + ROH + H_2O

Velký problém nastává v erytrocytech v okamžiku, kdy **je pentosofosfátový cyklus narušen**. Nejčastěji je tomu tak kvůli **deficitu glukosa-6-P-dehydrogenasy** (první enzym oxidační větve).

Tento deficit je podmíněn **dědičně** (vrozená choroba) **bodovými mutacemi** v genu nacházejícím se na **chromosomu X**. Bylo objeveno kolem 400 mutací tohoto genu.
V některých populacích (středomoří, Afrika) je výskyt těchto mutací častější, než v jiných. V současné době se odhaduje, že mutací v tomto genu trpí asi 400 milionů lidí.
Deficit glukosa-6-P-dehydrogenasy způsobuje, že **erytrocyty**[14] nemají dostatečně množství **redukovaného glutathionu** (nemají enzym, který by vytvořil NADPH+H$^+$ potřebný pro glutathionreduktasu).
Většinou se deficit nijak neprojevuje – to je dáno tím, že H-O-O-H a R-O-O-H nevzniká v organismu nikdy tolik, aby došlo ke smrti všech erytrocytů najednou (navíc jsou erytrocyty každých 120 dní vyměňovány za nové). **Deficit se projeví hemolytickou anémií** až v okamžiku, kdy se do organismu dostane **infekce**, **určité druhy léků** (skupina AAA = antimalarika, antibiotika, antipyretika) nebo **větší množství favových bobů** (druh: *Vicia favia*, jejich velké množství vyvolává oxidační stres). Pokud dojde k poslední situaci (konzumace velkého množství favových bobů) hovoříme o **favismu**.
Erytrocyty organismu postiženého deficitem glukosa-6-P-dehydrogenasy je možné poznat v mikroskopu – vyskytují se v nich tzv. **Heinzova tělíska**. Tvorba těchto tělísek souvisí s vysokou hladinou H-O-O-H a R-O-O-H, které způsobují **částečnou denaturaci proteinů**. Tyto proteiny se tak stávají **nerozpustnými** a jsou **přichyceny k membráně** v podobě tělísek. Tvorba tělísek vede k tomu, že **erytrocyt ztrácí svou pružnost** a stává se **z něj rigidní struktura**.[15]

[14] Postiženy jsou samozřejmě všechny buňky, nejen erytrocyty, ale erytrocyty nemají jinou možnost syntézy NADPH+H$^+$, proto se postižení projevuje nejvíce na nich.
[15] Tím, že se z erytrocytů stanou rigidní struktury, je jim znemožněno procházet kapilárami o průsvitu užším, než je jejich vlastní průměr. Takovéto erytrocyty jsou ihned označeny na „poškozené“ a jsou odstraněny pomocí makrofágů.

5.7 Metabolismus fruktosy

A) Úvod

Fruktosa je po glukose velmi hojným monosacharidem vyskytujícím se v potravě – můžeme ji přijmout především z **ovoce** a **medu**, ve formě disacharidu pak jako **sacharosu**.

Denně přijímáme asi **7g fruktosy**, v USA (především kvůli **slazení nápojů, kečupů a omáček kukuřičným sirupem**[16]) až **60 g**.

Hlavní rozdíly mezi glukosou a fruktosou vystihuje následující tabulka:

Tabulka 15 - Rozdíly mezi glukosou a fruktosou

Charakteristika	Glukosa	Fruktosa
Resorpce ve střevě	rychlejší (kotransport se sodíkem)	pomalejší (usnadněná difuze)
Metabolismus	pomalejší („složitěji“ ovlivňován)	rychlejší (ovlivňován v menší míře)
Poločas v krvi (čas, za který počátečná množství klesne na polovinu)	43 minut	18 minut
Místo metabolismu	většina tkání	především játra, ledviny a enterocyty
KM pro hexokinasu	0,1 mmol/l	3 mmol/l
KM pro fruktokinasu	---	0,5 mmol/l
Vliv insulinu	↑ hladiny v krvi (závislé na insulinu)	--- (nezávislé na insulinu)

Zásadní rozdíly mezi těmito monosacharidy ještě zmíníme slovně.

Fruktosa je metabolizována hlavně v játrech pomocí enzymu **fruktokinasy**[17], hexokinasa se uplatňuje pouze při opravdu vysokých koncentracích fruktosy. Z hodnot poločasu v krvi vidíme, že **játra metabolizují fruktosu rychleji** než glukosu – to je dáno tím, že **fruktokinasa <u>není nijak hormonálně ani zpětně ovlivňovaná</u>** (tzn., že pokud je co fosforylovat, fosforyluje; oproti tomu je činnost hexokinasy zpomalena zvýšením koncentrace glukosa-6-fosfátu).

Fruktosa samotná **nevyvolá uvolnění insulinu**, avšak její metabolismus vede ke vzniku glukosy, která může **zpětně vyvolat zvýšení hladiny insulinu**.

B) Průběh metabolismu fruktosy

Průběh metabolismu fruktosy je odlišný od metabolismu glukosy.

Vlivem enzymu **fruktokinasy** (méně často hexokinasy) je **fruktosa přeměněna na fruktosa-1-fosfát**. Ten se pod vlivem enzymu **aldolasy B** štěpí na **glyceraldehyd** a **dihydroxyacetonfosfát**[18]**. Glyceraldehyd** může být vlivem **triosakinasy** fosforylován na **glyceraldehyd-3-fosfát**, stejnou látku získáme z **dihydroxyacetonfosfátu** působením enzymů

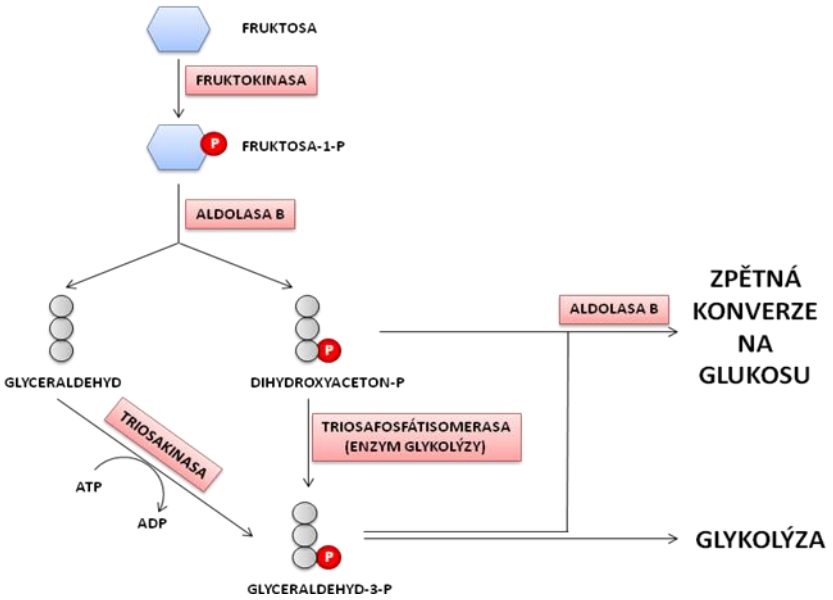
---

[16] Kukuřičný škrob se vyrábí z **inulinu**. Ten je pomocé různých biotechnologií konvertován na fruktosu, která je **sladší než sacharosa** a je tedy možné jí využívat méně (čímž se ušetří peníze…)

[17] **K_M fruktokinasy je o hodně menší** než K_M hexokinasy, **afinita fruktokinasy k fruktose je tedy o hodně vyšší** než afinita hexokinasy.

[18] Povšimněme si, že jen **jeden ze štěpných produktů nese fosfát**. V glykolýze se štěpí fruktosa-1,6-bisP a proto nesou fosfát oba tříuhlíkaté štěpy.

triosafosfátisomerasy, se kterým jsme se již setkali v glykolýze. Glyceraldehyd-3-P nyní může vstoupit **do glykolýzy**, nebo se spojit s dihydroxyacetonfosfátem a vytvořit novou molekulu **glukosy**[19] (tedy vstoupit do glukoneogeneze).
Výše popsané děje shrnuje následující schéma:



C) Ovlivnění metabolismu fruktosy

Metabolismu fruktosy **se účastní enzymy**, které **nejsou zpětně ani hormonálně regulovány**. Jedná se především o **aldolasu B**[20] a **fruktokinasu**.
To, že tyto enzymy nejsou organismem kontrolovány vede k tomu, že **je fruktosa velmi rychle odbourána** a **slouží nám jako rychlý** (oproti glukose **na inzulinu nezávislý**) **zdroj energie**. To je ale asi jediná výhoda, kterou fruktosa má.
Tím, že není možné její metabolismus kontrolovat, dochází k následujícím negativním jevům:

- rychlý nárůst poměru **$NADH+H^+$ >>> NAD^+**
  Buňka nestíhá zpracovat $NADH+H^+$ v dýchacím řetězci, což vede ve výsledku k tomu, že $NADH+H^+$ je regenerováno na NAD^+ přeměnou pyruvátu na laktát, a to vede k **acidóze**
- rychlé odčerpávání fosfátu (P_i)
  Buňka má jen omezené množství anorganického fosfátu. Tím, že vzniká velké množství fruktosa-1-fosfátu, se jeho hladina v buňce zmenšuje a buňka jej tak nemá dost **pro syntézu ATP**.
  Tento stav, kdy buňka nemá dost fosfátu na syntézu ATP, může vyústit až do tzv. **otravy fruktosou** (není dost fosfátu → netvoří se ATP → buňka nemá energii → zpomalení metabolismu…)
- zvýšená tvorba mastných kyselin
  Glyceraldehyd-3-P se může zapojit do GNG nebo do glykolýzy. Jeho nadměrným zapojením do glykolýzy vzniká mnoho pyruvátu, z něj mnoho acetyl-CoA. Tím, že je moc Ac-CoA, dochází k překročení kapacity Krebsova cyklu a Ac-CoA je přeměněn na mastné kyseliny. Ty se následně ukládají do tukové tkáně a my tloustneme.

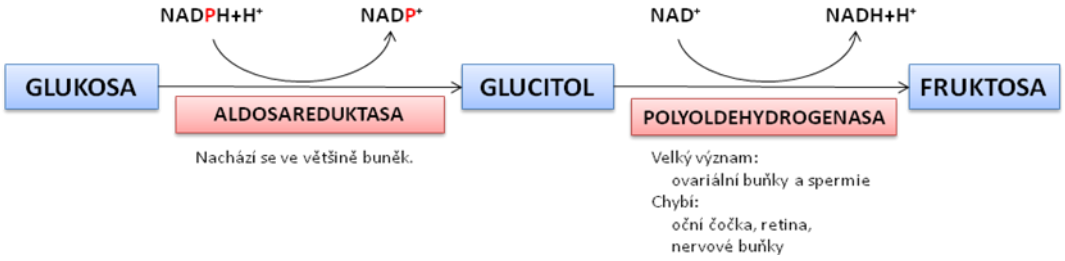
[19] Jak vidíme, je možné z fruktosy „vytvořit" glukosu.
[20] Existuje i enzym aldolasa A, se kterým jsme se setkali v glykolýze (katalyzoval štěpení fruktosa-1,6-bisP na glyceraldehyd-3-P a dihydroxyaceton-P

Proto, že je metabolismus fruktosy **ne**závislý na inzulinu, bývala fruktosa dříve doporučována **diabetikům jako neškodné sladidlo**. Toto doporučení dnes již neplatí v celém svém rozsahu:

a) **v malém množství** (v ovoci, medu) je fruktosa neškodná
b) **slazení větším množstvím fruktosy** (nebo její jiný vyšší příjem, např. infuzí) může **způsobovat problémy** a proto není doporučeno (jak jsme viděli ze schématu, je možné přeměnit fruktosu na glukosu, jejíž metabolismus je na inzulinu závislý).

D) Polyolová metabolická dráha

Polyolová metabolická dráha se **týká mj. metabolismu glukosy**. Jedná se o **její přeměnu na glucitol a jeho přeměnu na fruktosu**. *(viz schéma)*



Chybění (malá aktivita) enzymu **polyoldehydrogenasy** způsobuje **pozdní komplikace diabetu**. Nastane-li u diabetika diabetická hyperglykémie, vstupuje glukosa do buněk, které mají na svém povrchu receptory nevyžadující přítomnost inzulinu. V těch je následně odbourávána na glucitol a na fruktosu. Jenže některé buňky nemají **polyoldehydrogenasu** nebo jí mají tak málo, že její práce není dost efektivní (oční čočka, retina, nervové buňky), a proto se glucitol v buňkách hromadí (buněčná membrána pro něj není propustná). Zvýšení koncentrace glucitolu vede ke zvýšení osmotického tlaku, a ten vyvolá různé poruchy buněk (v oku to vede k **diabetické kataraktě** a různým **retinopatiím**, v nervové tkáni pak k **neuropatiím**).

E) Poruchy metabolismus fruktosy

Nejběžnějšími poruchami jsou **hereditární (dědičně) deficience fruktokinasy a aldolasy B**.

Chybění fruktokinasy

Chybění tohoto enzymu vede k **esenciální fruktosurii**. Fruktosa, protože nemůže být fosforylována a tedy dále upravována, se hromadí v krvi a je vylučována močí. Díky tomuto projevu je možné poruchu diagnostikovat (nejprve se provede **redukční zkouška moči;** vyjde-li **pozitivně**, prokazuje se **glukosa**, a je-li ta **negativní**, znamená to, že se v moči vyskytuje fruktosa).

Léčba: Dieta bez fruktosy (málo ovoce, medu…)

Chybění aldolasy B

Chybění tohoto enzymu způsobuje **hereditární fruktosovou intoleranci** (AR choroba). Fruktosa se sice dostane do buněk a je fosforylována na frc-1-P, ale ten již není možné dále rozštěpit, proto dochází k jeho hromadění v buňkách a to vede k **hypoglykémii**.[21]

Chorobu je nutné včas odhalit.

[21] Hypoglykémie nastává proto, že vysoká hladina frc-1-P **inhibuje glykogenolýzu a GNG** (inhibice obou dějů vede k tomu, že buňka netvoří glukosu).

Léčba: dieta bez fruktosy a sacharosy

5.8 Metabolismus galaktosy

A) Úvod

Galaktosa se do našeho organismus dostává především **z disacharidu laktosy**, jehož hlavním zdrojem je **mléko** (je zajímavé, že ostatní mléčné výrobky jako kefíry, tvarohy a síry laktosu neobsahují). Po rozštěpení v trávicím traktu je do buněk střevní sliznice **transportována stejně jako glukosa**, tedy **kotransportem se sodíkem**.

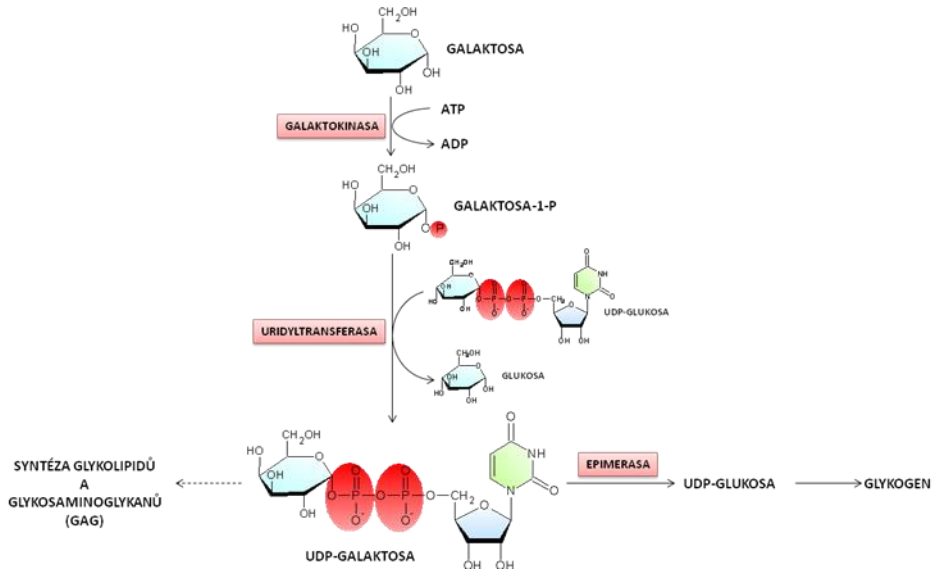
B) Vlastní metabolismus galaktosy

a) Po té, co se galaktosa dostane do buněk střevní sliznice, je **fosforylována na galaktosa-1-P**

b) Aby mohl organismus dále zapojit galaktosu do metabolismu, musí ji **aktivovat na UDP-galaktosu.** Galaktosa nemůže reagovat přímo s UTP, proto reaguje s **UDP-glukosou**.

c) Vzniklá UDP-galaktosa může být následně využita na **syntézu glykolipidů** (součást buněčných membrán), či **glykosaminoglykanů** (součást amorfní hmoty pojivových tkání), nebo je možné ji **přeměnit** (enzymem **epimerasou**) na **UDP-glukosu**, která se následně zapojí do syntézy glykogenu. Reakce katalyzovaná **epimerasou je vratná** a je tedy možné ji využívat v obou směrech.

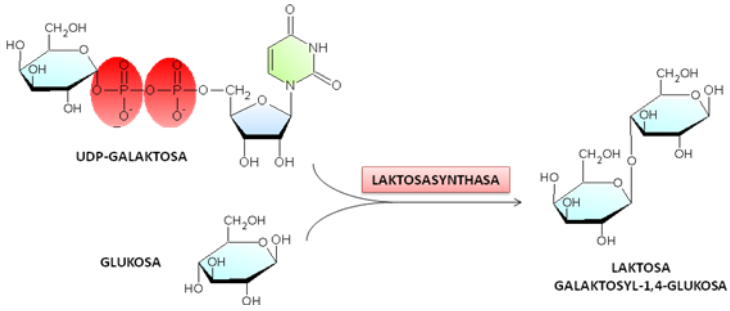
Výše popsané vystihuje následující schéma:



C) Význam galaktosy (biosyntéza laktosy)

Galaktosa je významnou složkou mnoha různých sloučenin (**glykolipidy, proteoglykany, glykoproteiny…**), u **laktujících žen** je nezbytná pro syntézu **laktosy**.

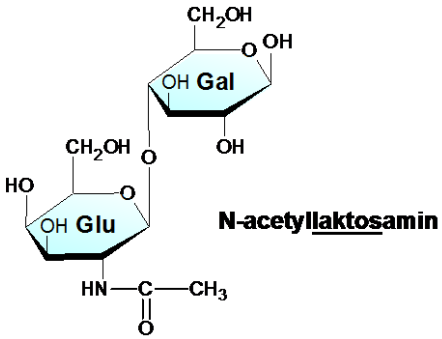
Při syntéze laktózy dochází k spojení **galaktosy** (ve formě **UDP-galaktosy**) a **glukosy**:



Enzym, katalyzující tuto reakci se nazývá **laktosasynthasa** a jedná se o **komplex dvou proteinů:**

a) **galaktosyltransferasa** (nachází se v mnoha tkáních; přenáší galaktosu z UDP na glukosu)
b) **α-laktalbumin** (vyskytuje se pouze v **mléčné žláze** a **jen při laktaci**; syntéza tohoto proteinu je aktivována **hormonem prolaktinem**)

V tkáních, které neobsahují **α-laktalbumin** (tedy ve všech ostatních mimo mléčné žlázy) je galaktosa **přenášena na N-acetylglukosamin**, čímž vzniká **N-acetyllaktosamin**, který je komponentou již výše zmíněných **glykoproteinů**.



D) Galaktosemie

Chyběním různých enzymů účastnících se metabolismu galaktosy – nejčastěji se jedná o **uridyltransferasu**, méně často o **galaktokinasu**, či **epimerasu** – vznikají onemocnění nazývaná **galaktosemie**.

Kvůli chybění enzymů, dochází ve tkáních k hromadění **galaktosy a galaktosa-1-P**. Tyto látky pro svou strukturní podobnost s glukosou a fruktosou ovlivňují metabolismus těchto sloučenin. Dále hromaděním galaktosy v těle dochází k přeměně galaktosa→galaktikol, přičemž vzniklý galaktikol může způsobovat v oku **vznik katarakty**.

Galaktosemie jsou nebezpečně především pro **novorozence** (jejich hlavní zdroj potravy – mateřské mléko – obsahuje hodně galaktosy), proto se provádí **novorozenecký screening, aby došlo k jejich včasnému zachycení**. Pokud není nemoc odhalena, dítě neprospívá, zvrací, nechce přijímat potravu…

Není-li galaktosemie léčena delší dobu, vede to k **poškození jater**, **ledvin** a **mozku**.

Léčba: **restrikce mléka a mléčných výrobků**

5.9 Metabolismus glukuronové kyseliny; syntéza L-askorbátu

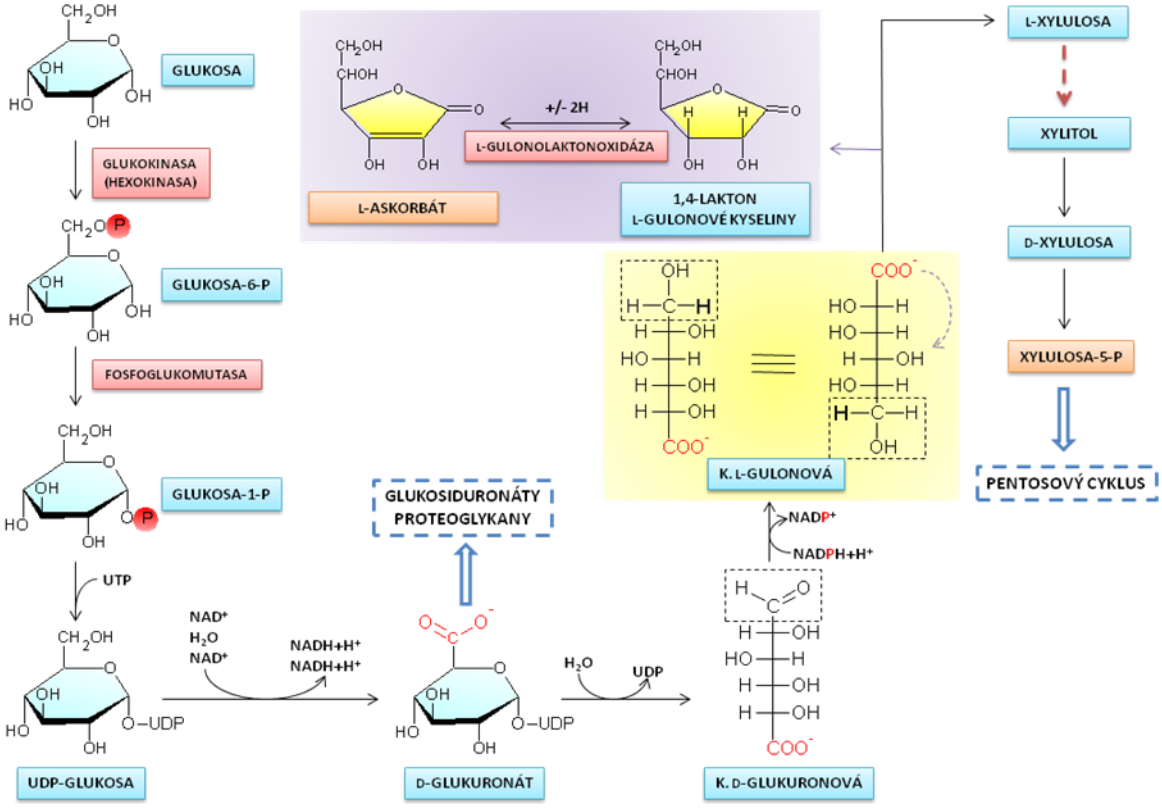
Kyselina glukuronová je významnou složkou **glukosiduronátů** a **proteoglykanů**. U všech živočichů, kromě **člověka, primátů a morčete**, je jedním z mezikroků při syntéze vitaminu C (tedy L-askorbátu).

Naše tělo si ji umí vyrobit z glukosy.

Po té, co je glukosa fosforalována na glukosa-6-fosfát je fosfát přenesen z polohy 6 do polohy 1, čímž získáme glukosa-1-fosfát. Tak reaguje s UTP za vzniku UDP-glukosy. UDP-glukosa je následně **dvojnásobně oxidována** (z alkoholové skupiny na šestém uhlíky, se nejprve stane aldehydová skupina a ve výsledku **karboxylová skupiona**), tato oxidace potřebuje 2 molekuly NAD^+.

UDP-glukuronát je následně možné využít k syntéze výše zmíněných látek (glukosiduronáty, proteoglykany), nebo jej začít odbourávat. Odbourávání vede ke vzniku L-gulonátu. Z toho je u člověka, primátů a morčete postupně vytvořen xylulosa-5-P, který se může zapojit do pentosového cyklu, u ostatních živočichů je možné L-gulonát přeměnit v L-askorbát, tedy ve vitamin C.

Podrobněji jsou výše popsané přeměny znázorněny na schématu:



Ke schématu:

*Glukosa je postupně přeměněna na glukuronovou kyselinu. Z té se stává kyselina **gulonová**. U většiny obratlovců se přeměňuje na L-askrobát, u člověka, primátů a morčete (protože nemají aktivní enzym gulonolaktonoxidázu; viz dále) dochází k přeměně na xylulosa-5-P. Červená šipka v této přeměně značí, že enzym, který se kroku L-xylulosa→xylitol účastní, bývá poškozen (nebo úplně chybí), což se **projeví jako esenciální pentosurie** (nadbytek xylulosy v moči).*

L-gulonolaktonoxidáza

Jedná se o enzym nezbytný pro tvorbu vitaminu C (kys. askorbové), který je bohužel **neaktivní u primátů** (člověka), **morčete,** ale i u ryb a ptáků; aktivitu si však zachovává u většiny dalších skupin živočichů.

U primátů je jeho nefunkčnost způsobena **důsledkem ztrátové mutace** (kterou zapříčinily buď volné radikály, nebo virová infekce), která proběhla asi před 25 miliony lety u našeho předchůdce z podřádu *Anthropoidea*.

U morčete došlo k jiné chybě – jeho genom obsahuje jiné zbytky genu pro gulonolaktonoxidázu než náš. Ke ztrátě genu došlo asi před 20 miliony let.

Kyselina askorbová a její význam

Kyselina askorbová je velmi důležitým **antioxidantem**, který najdeme především v **polymorfonukleárech**, **nadledvinách** a v **oční čočce**. Účastní se velkého množství **redoxních reakcí**. Její redoxní potenciál se pohybuje **okolo nuly** (+ 0,08 V), proto může oxidovat kyslík a cytochromy (a,c). **V některých reakcích je nenahraditelná** (např. **hydroxylace prolinu při syntéze kolagenu)**!

Nedostatek vitaminu C, se projeví jako **kurděje (skorbut). Skorbut** se projevuje jako následek **zastavení hydroxylace prolinu**, čímž dojde k **zastavení syntézy kolagenu**. Buňky tak nejsou schopny tvořit kolagen – pokud už nějaký vytváří, je nestabilní, není schopný se agregovat do více uspořádaných struktur. To se projeví v kvalitě všech tkání – jsou postiženy bazální membrány, stěny cév, vazy, kosti…

Historie vitaminu C (pro zajímavost)

- *1754: James Lind vydává knihu „A Treatise on Scurvy", v níž navrhuje citrony jako prevenci proti kurdějím*
- *1761: Východoindická společnost doporučuje používat na svých lodích citrony a pomeranče*
- *1795: Zavádí se preventivní podávání citronové šťávy na lodích britského válečného námořnictva*
- *1911: Kazimir Funk přichází s hypotézou, že příčinou některých závažných chorob může být nedostatek určitých nezbytných stopových látek (vitaminů) ve výživě. Prvními nemocemi, jejichž příčina byla hledána v avitaminóze byla **xeroftalmie (šeroslepost)**, **beri-beri** a **kurděje**, k nim odpovídající hypotetické vitaminy byly označeny jako A, B, **C**.*
- *1928: Albert von Szent-Györgyi izoloval kyselinu askorbovou z papriky (Nobelova cena: 1937)*
- *1933: Tadeus Reichstein vyřešil chemickou syntézu kyseliny L-askorbové*
- *1957: J .J. Burns objasnil biochemickou příčinu, proč člověk, opice a morče (na rozdíl od řady jiných obratlovců) nejsou schopni syntetizovat vitamin C*

5.10 Metabolismus aminocukrů

Glukosa po vstupu do organismu prochází celou řadou metabolických přeměn – v této kapitole jsme se věnovali glykolýze, GNG, syntéze a odbourávání glykogenu a dalším metabolickým drahám. Většina z nich vedle k zisku energie.

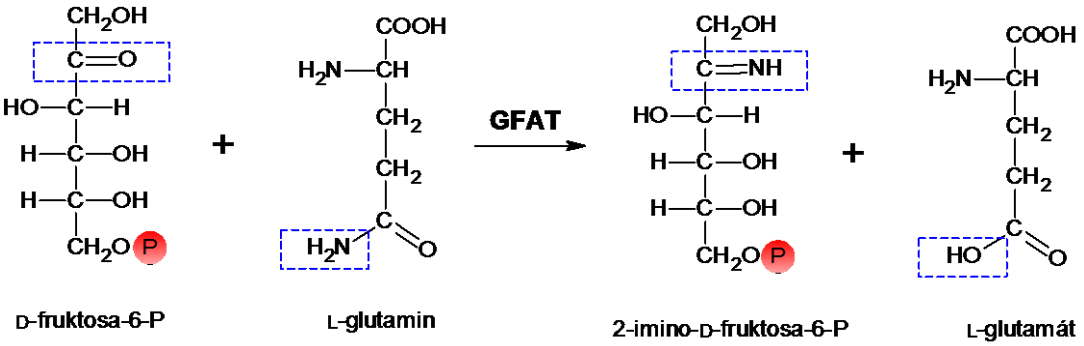
Nyní se zaměříme na metabolickou dráhu glukosy, jejíž výsledné produkty hrají **určitou roli v buněčné komunikaci,** tedy na přeměnu **glukosy na aminocukry**.

Mluvíme o tzv. **hexosaminové biosyntetické dráze** (HBP – **h**exosamine **b**iosynthetic **p**athway). Účastní se jí zhruba 1-3% glukosy v těle.

Začátek HBP je stejný jako u glykolýzy – glukosa je **fosforylována na glukosa-6-P**, který je následně izomerován na **fruktosa-6-P**. Od fruktosa-6-P však další reakce probíhají zcela jinak.

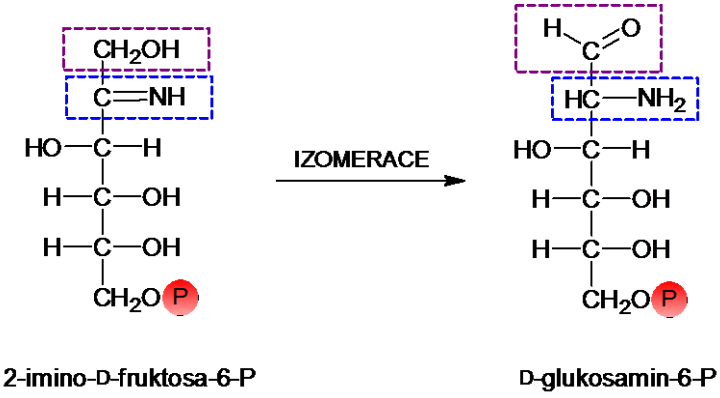
Fruktosa-6-P ve své struktuře obsahuje **>C=O** skupinu[22]. Díky ní je možné provést reakci **s glutaminem**, který daruje fruktose svůj **dusík** a přijme od ní kyslík (tím se z něj stane glutamát).

[22] Protože metabolismus aminocukrů začíná většinou od **fruktosy**, která obsahuje **>C=O skupinu v pozici 2**, není možné najít dusík (-NH_2 skupinu) u aminocukrů v jiné pozici, než v pozici 2.

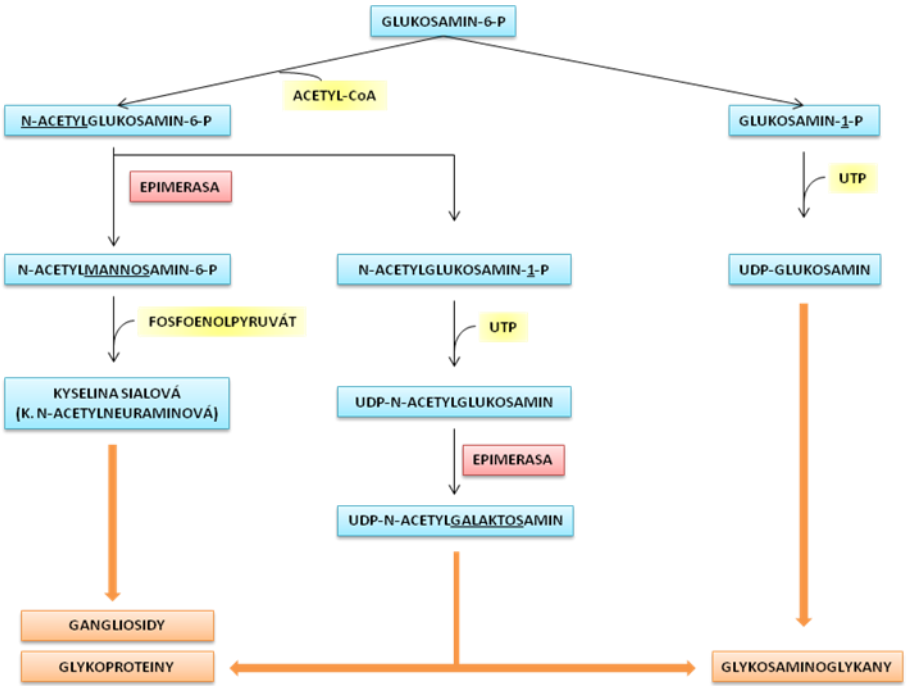


Enzym katalyzující tuto reakci se nazývá **glutamin:fruktosa-6-fosfát-amidotransferasa**, zkráceně **GFAT** a patří do skupiny **aminotransferas**.

Následuje **izomerační reakce** (přesmyk), při které se z 2-imino-D-fruktosy-6-P stane **D-glukosamin-6-P**, který je výchozí látkou pro syntézu mnoho dalších látek.

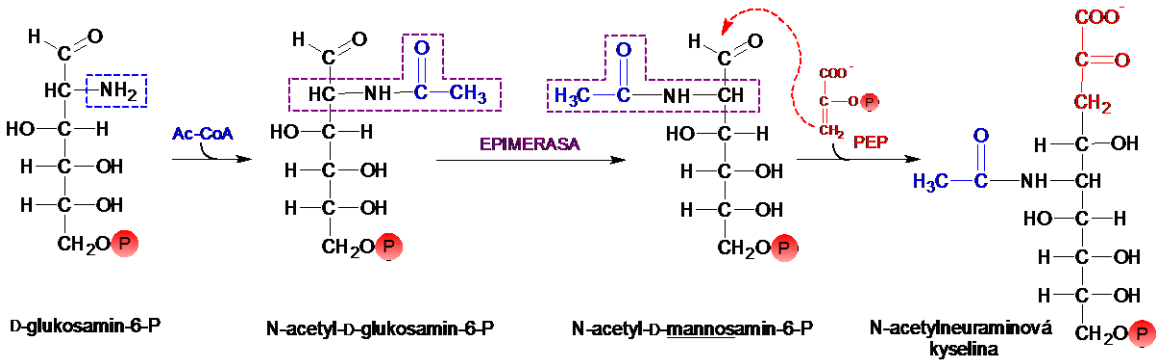


To, jaké látky mohou vzniknout z glukosaminu naznačuje následující schéma:



Podrobněji se podíváme na reakce vedoucí ke vzniku **kyseliny sialové**.

Na glukosamin-6-P se připojí **acetyl** (přes dusík). Následně dojde k epimeraci a poté k připojení **PEP** (fosfoenolpyruvátu) za vzniku **kyseliny sialové (9 C)**.


Ac-CoA
EPIMERASA
PEP
D-glukosamin-6-P
N-acetyl-D-glukosamin-6-P
N-acetyl-D-mannosamin-6-P
N-acetylneuraminová kyselina