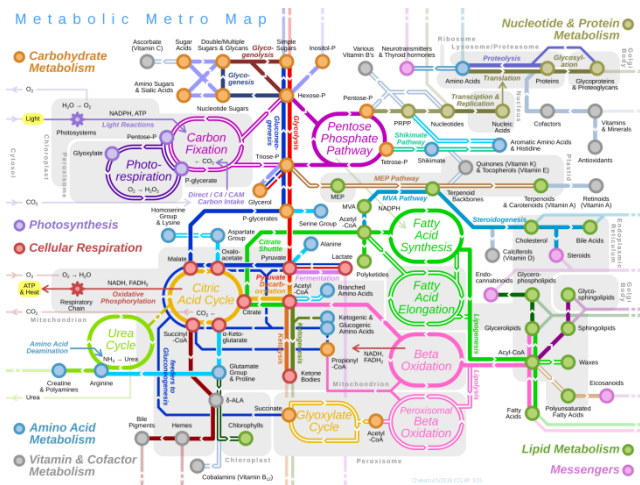


Metabolismus sacharidů

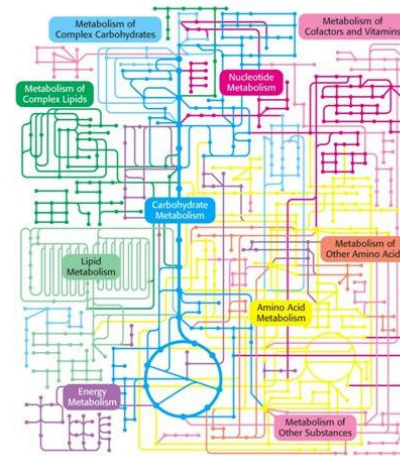
6/12





Metabolismus

Látková výměna



Metabolismus je souhrnem všech chemických reakcí v buňce. Tyto reakce umožňují růst a rozmnožování organismu.

Metabolické reakce lze rozdělit na:

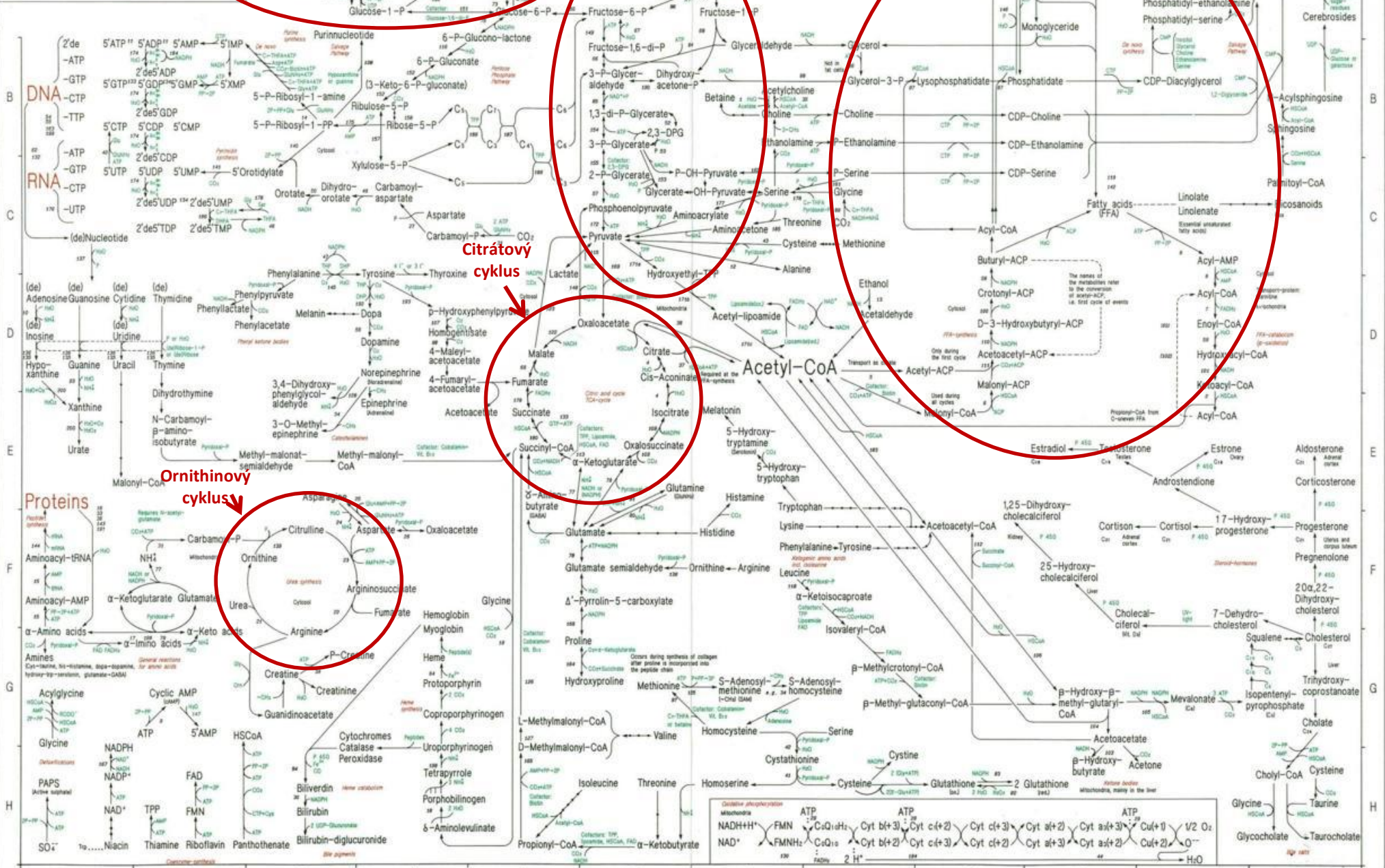
- **katabolické** - odbourávání a rozklad složitějších molekul na jednodušší, uvolnění energie, která byla uchována v chemických vazbách
- **anabolické** - výstavba a tvorba složitějších molekul, spotřeba energie pro vytvoření nových chemických vazeb

Biochemické procesy, které látkovou výměnu doprovází, jsou popsány pomocí metabolických drah. Jedná se o sled chemických reakcí často katalyzovaných enzymy.

Human Metabolism

2. Main Map

Per Heilberg Larsen & Jens Dilling Lundgren & Lars Helleberg & Mogens Sandberg Hansen
© Munksgaard 1987



Glykogen syntéza x glykogenólýza

Glukoneogeneze x glykólýza

Syntéza MK x β-oxidace MK

Citrátový cyklus

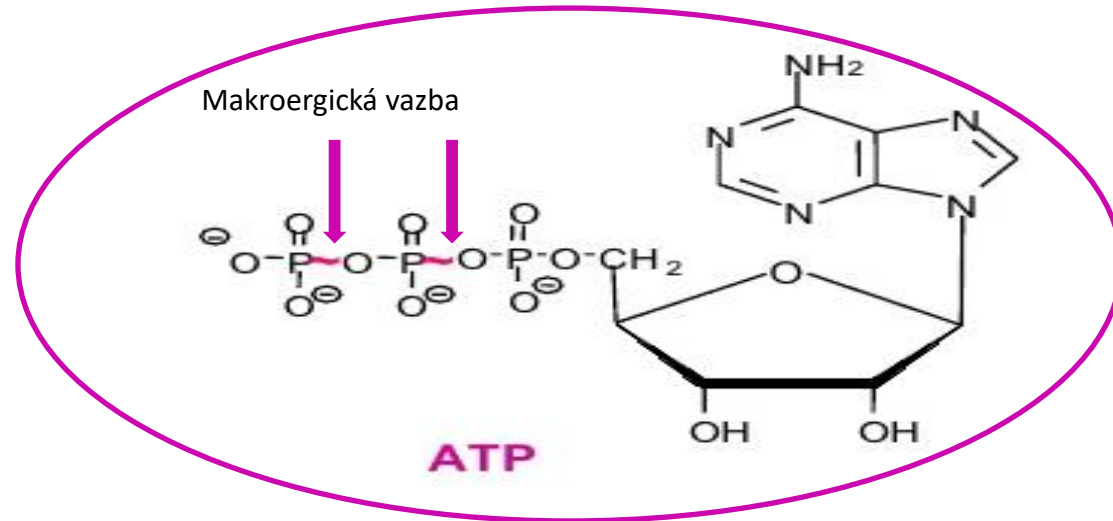
Ornitinový cyklus

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Makroergické sloučeniny

Chemická vazba drží atomy ve vzájemné blízkosti. K tomu, aby taková vazba byla roztržena, je třeba vyšší energie než vazebnou energii. Proto je velmi obtížné získat energii pouhým rozbitím vazby. *Některé molekuly dokáží při svém rozkladu uvolnit obrovské množství energie (trhaviny), ale ta je stále nižší než energie nutná k jejich syntéze.*

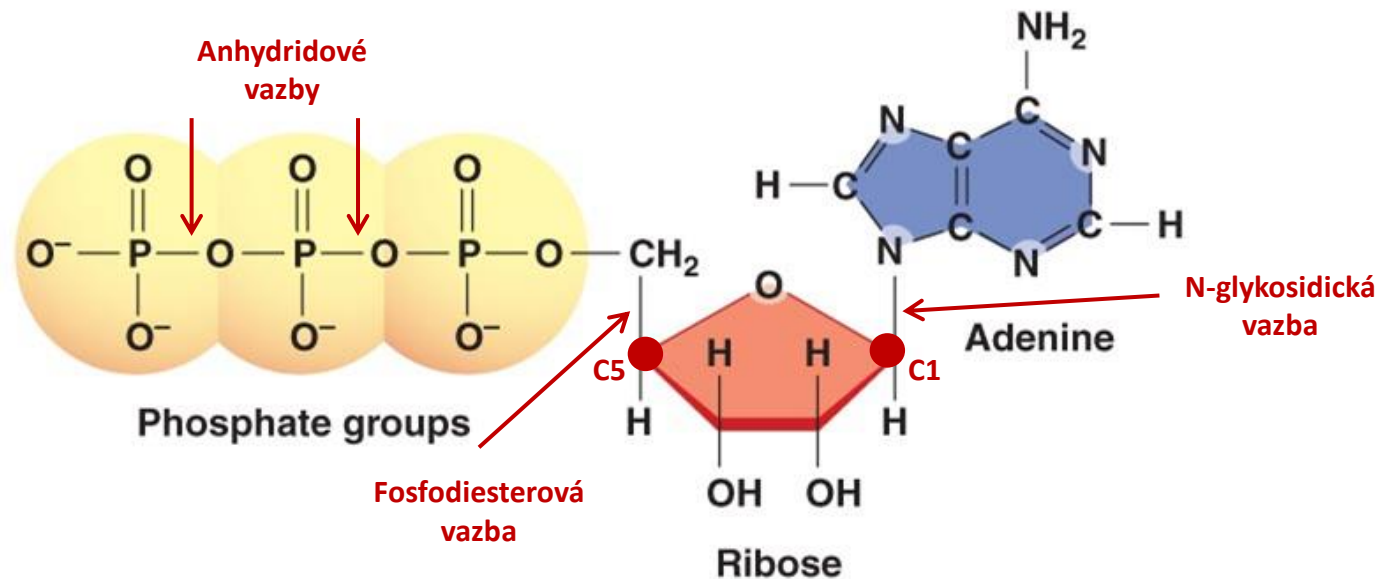
Přesto se některé vazby rozpadají snadněji než jiné. Příkladem může být nejdůležitější **makroergická sloučenina** – adenosintrifosfát (ATP).



Makroergická sloučenina

- Molekuly obsahující ve své struktuře makroergickou vazbu (značena „~“), které po svém štěpení uvolňují značné množství energie (nicméně tato energie **nesouvisí s energií samotné vazby!**).
- Sloučeniny, které obsahují makroergní vazby. Makroergní vazba je taková vazba, při jejímž **hydrolytickém štěpení** se uvolní velké množství energie.
- Příklady: ATP (adenosintrifosfát) a ADP (adenosindifosfát), GTP, CTP, UTP, acetyl-CoA, PEP (fosfoenolpyruvát),...
- Všechny tyto sloučeniny obsahují 2 nebo 3 za sebou vázané zbytky kyseliny fosforečné H₃PO₄ a jejich hydrolytickým štěpením se uvolňuje energie.

ATP

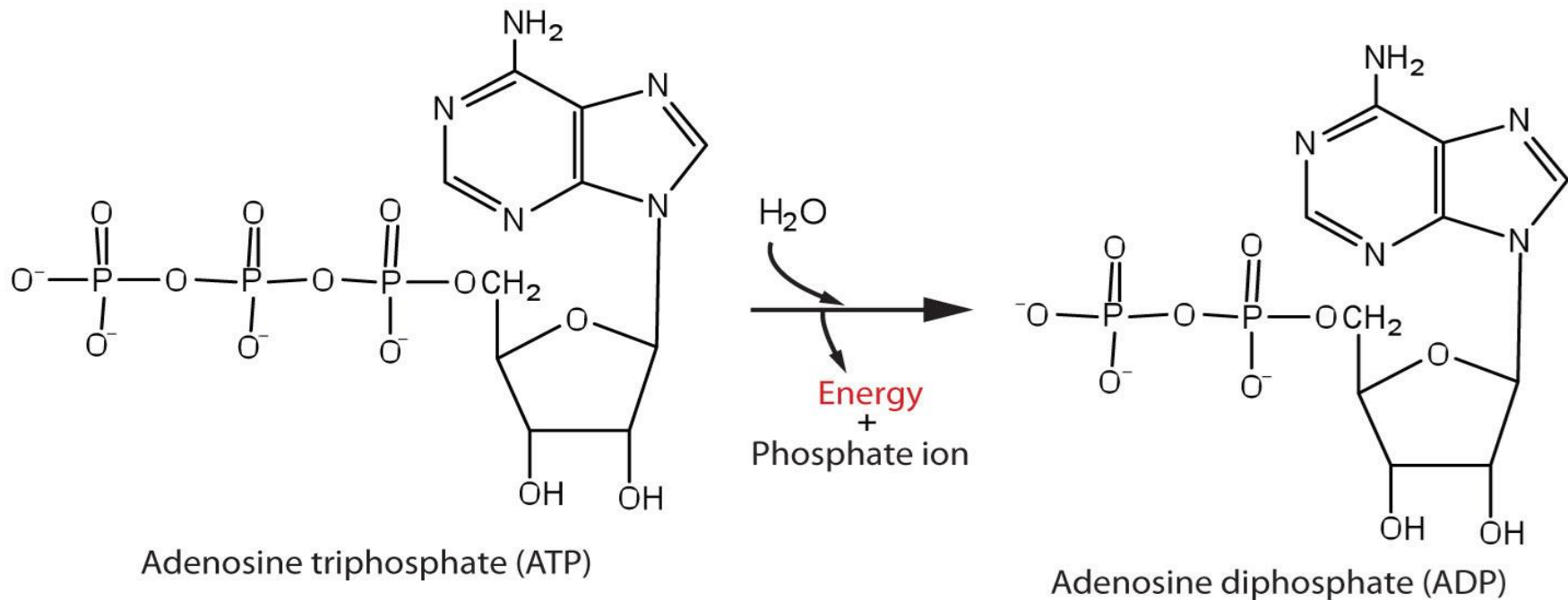


Na ribóze je vázán adenin přes C1 uhlík (N-glykosidická vazba) a tři fosfátové skupiny přes C5 uhlík (fosfodiesterová vazba).

Fosfátové skupiny jsou připojeny mezi sebou anhydridovými vazbami. Fosfáty v ATP (ADP, AMP) mají charakter rezonančních hybridů (dvojná vazba rezonuje mezi kyslíky).

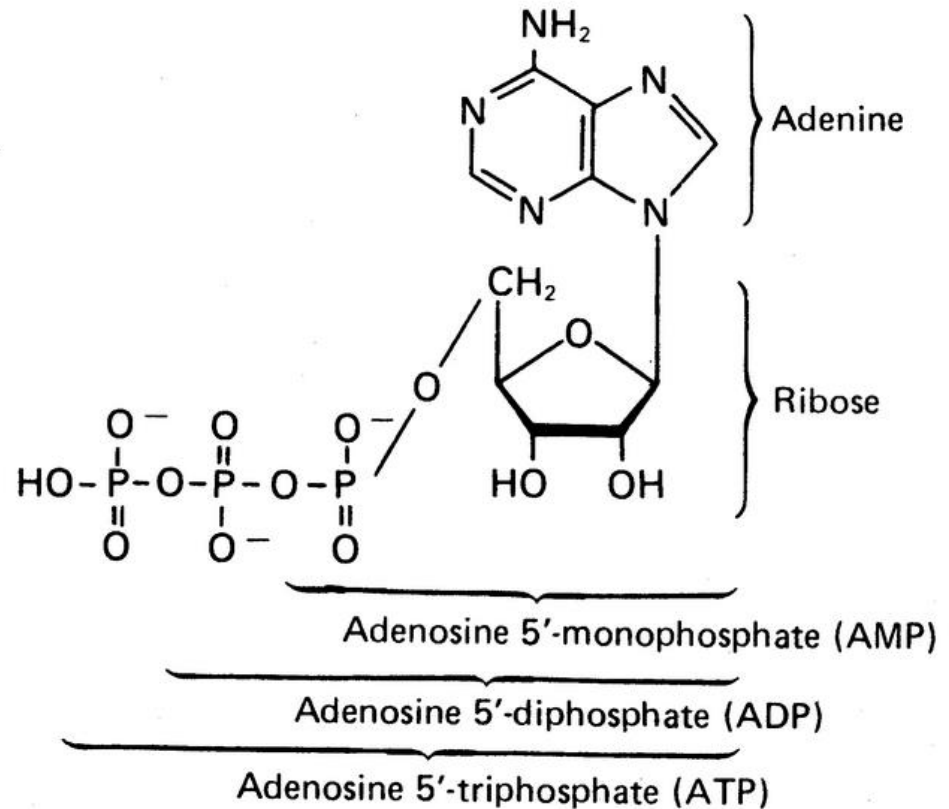
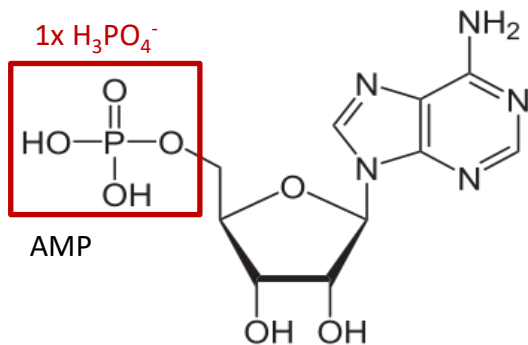
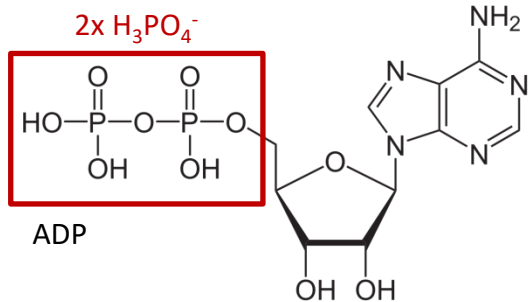
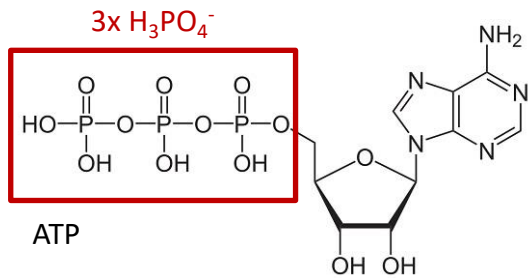
ATP slouží jako **palivo** v buňce. Podobně jako benzín je **termodynamicky nestabilní** (tzn. reakce jeho rozkladu probíhá velmi rychle a rovnováha chemické reakce je výrazně posunuta směrem k produktům). Také je **kineticky stabilní** (může koexistovat s dalšími substráty bez vzájemné reakce). Pro reakci vyžaduje impulz a tím je prostředí enzymu.

ATP je hydrolyzován v prostředí vody za uvolnění fosfátu (hydrolýza ATP) a uvolnění energie ($\Delta G = -7,5 \text{ Kcal/mol}$), která je využita k vazbě uvolněného fosfátu na substrát.



ADP (adenosindifosfát) vzniká hydrolýzou fosfátu z ATP.

AMP (adenosinmonofosfát) vzniká hydrolýzou pyrofosfátu (PPi) z ATP. Během této reakce dochází k uvolnění větší energie než hydrolýzou ATP na ADP.

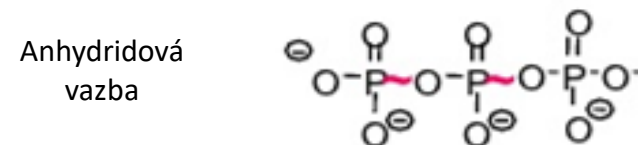
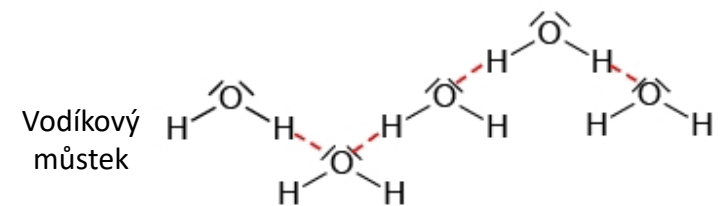
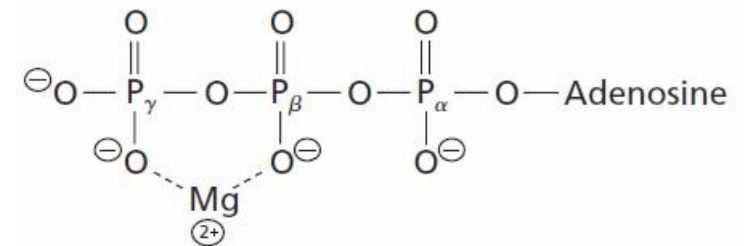
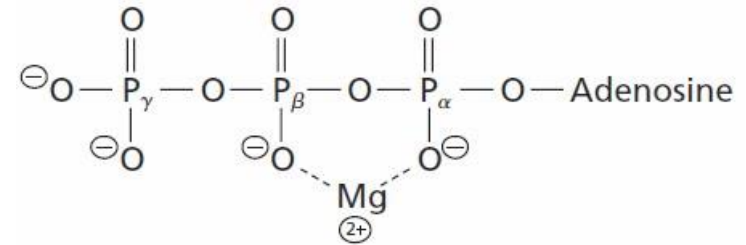


Fosfátové skupiny nesou záporný náboj a vzájemně se od sebe odpuzují. **Energie makroergické vazby ATP nepopisuje energii uvolněnou rozpadem chemické vazby, ale rozdíl energií hydrolýzy fosfátové skupiny a vzniku nové vazby na substrátu.**

ATP v čisté vodě není stabilní proto, že síla anhydridové vazby posledního fosfátu je slabší než u vodíkového můstku. Enzymy využívající ATP a cytosol buňky obsahují atomy Mg^{2+} nebo Ca^{2+} , které stabilizují negativní náboje fosfátových skupin a ATP aktivují.

Směr chemické reakce také ovlivňuje koncentrace jednotlivých složek. V buňce je mnohonásobně vyšší koncentrace ATP, než by byla potřeba pro vznik rovnovážného stavu. Buňka udržuje vysokou hladinu ATP a tím posouvá chemickou reakci k její hydrolýze.

Reakce, ve kterých dochází k hydrolýze ATP, se tak stávají nereverzibilní – není dostatek energie ke zpětné syntéze ATP. Nicméně hydrolýza jiných fosforylovaných molekul má mnohem vyšší energii a dokáže předat fosfát zpět na ATP (a tím regenerovat zásobu energie buňky).



Obnova ATP

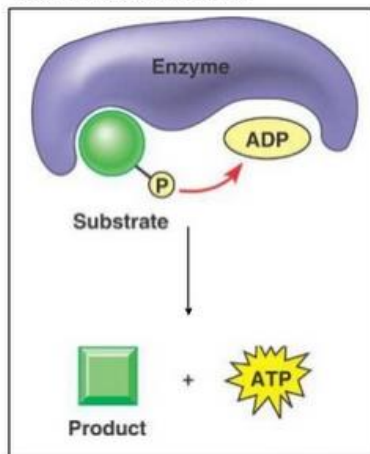
Fosforylace na substrátové úrovni

(substrate-level phosphorylation)

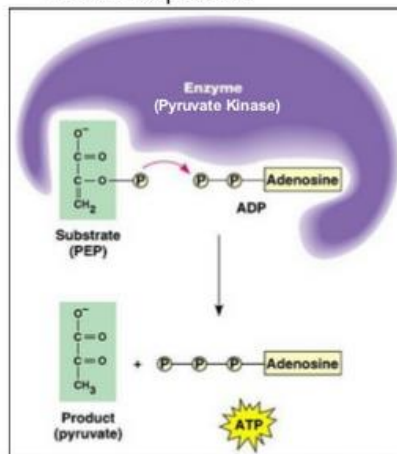
Jedná se o :

- přenos fosfátového zbytku z makroergického fosfátu (fosfoenolpyruvát, 1,3-bisfosfoglycerát, kreatinfosfát) na ADP pomocí enzymů z třídy transferas
- „obrácená“ reakce katalyzovaná ligasou (např. sukcinyl-CoA + GDP + Pi → sukcinát + CoA + GTP, reakce citrátového cyklu)

■ An enzyme transfers phosphate from substrate to ADP



■ Example from glycolysis in cellular respiration

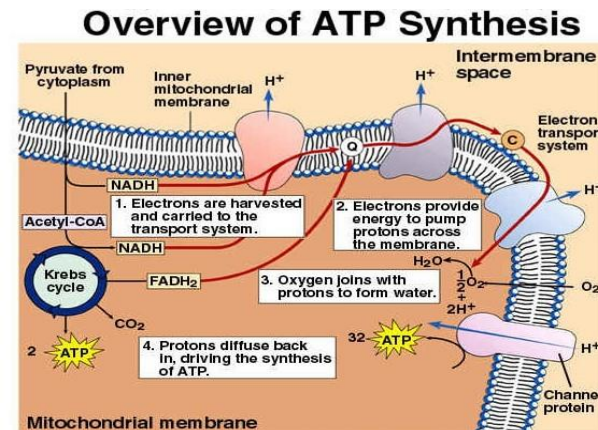
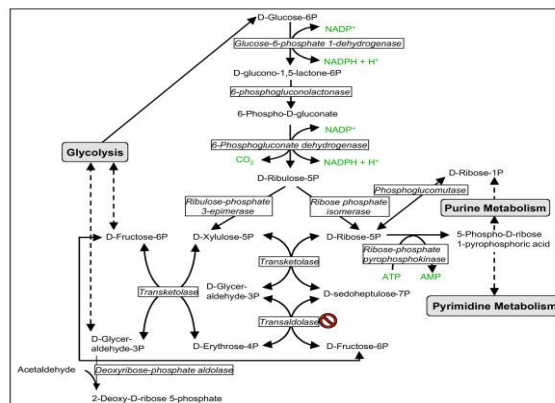


Adenylát kinázová reakce

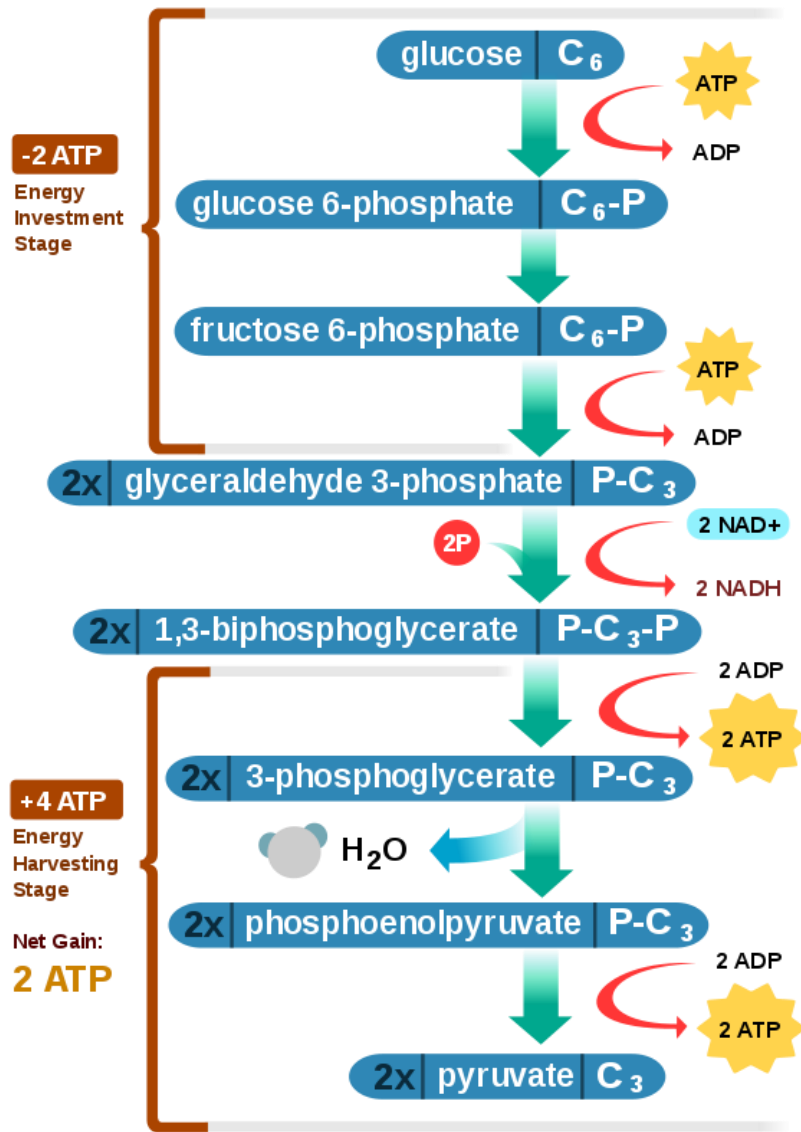
- AMP vznikající odštěpením difosfátu z ATP je převáděn na ADP reakcí, která je katalyzována enzymem **adenylát-kinázou**
- ADP je následně přeměněna na **substrátové úrovni oxidační fosforylací nebo fotofosforylací**.

Adenylate Kinase			
	$2 \text{ ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$		
At rest:	1.0 mM	5mM	0.2mM
Work :	1.5 mM	4mM	0.8mM

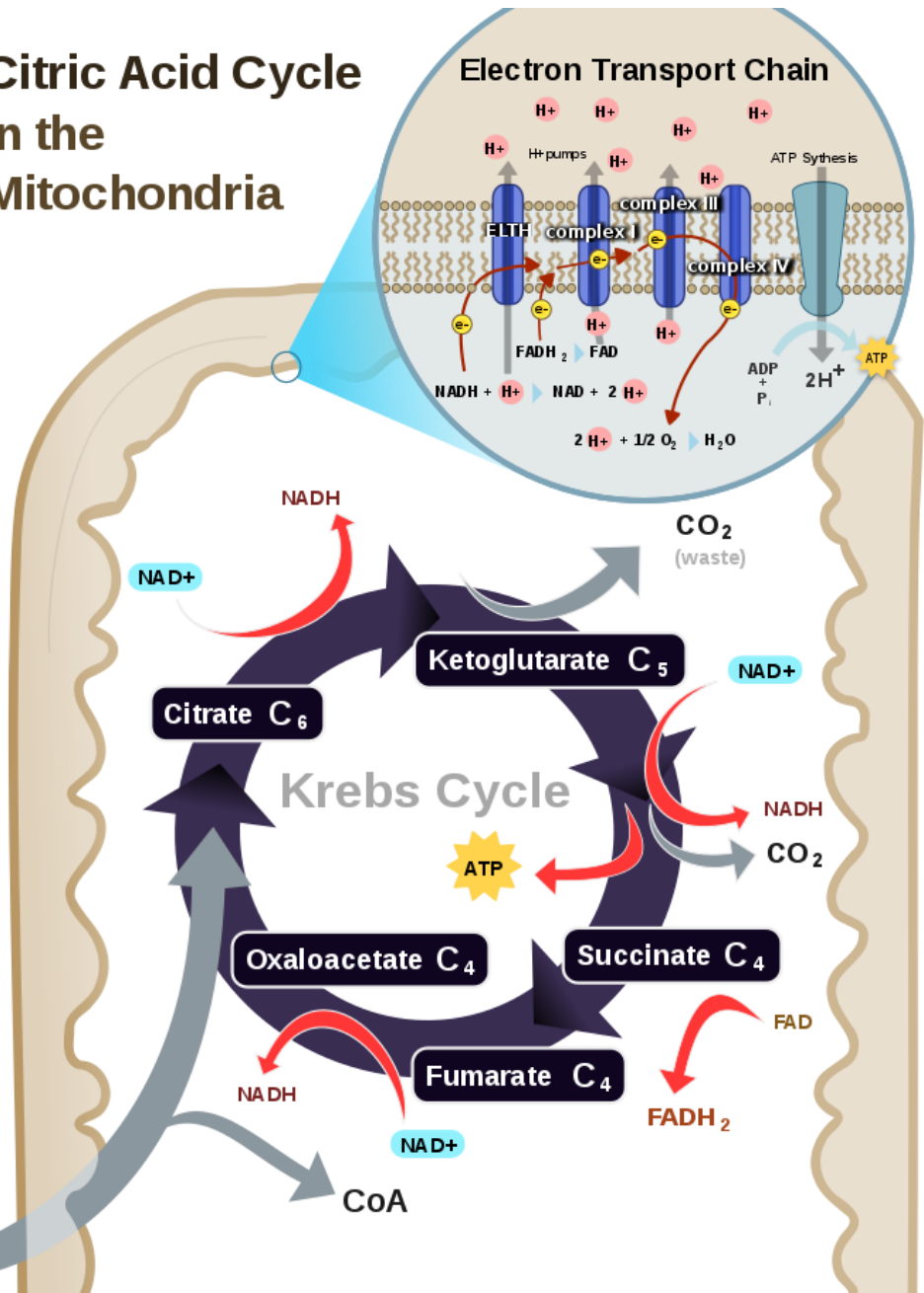
Energie potřebná pro syntézu ATP je dodávána metabolickým rozkladem složitějších molekul, které získáváme z potravy. V rámci enzymatických reakcí dochází jak k **přímé syntéze** ATP, tak i **nepřímé syntéze** ATP v **respiračním (dýchacím) řetězci** za pomoci **redoxního potenciálu** kofaktorů NAD^+ , NADPH a FAD .



Glycolysis in the Cytoplasm



Citric Acid Cycle in the Mitochondria



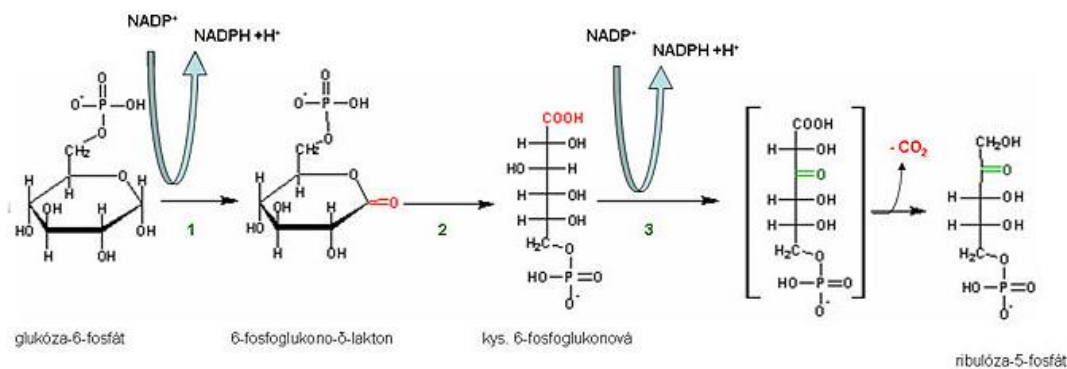
Jednou z takových metabolických drah je Pentózový cyklus.

Pentózový cyklus

Pentózový cyklus v těle generuje NADPH (v respiračním řetězci napomáhá syntéze ATP, navíc je důležitý v ochraně před oxidativním stresem).

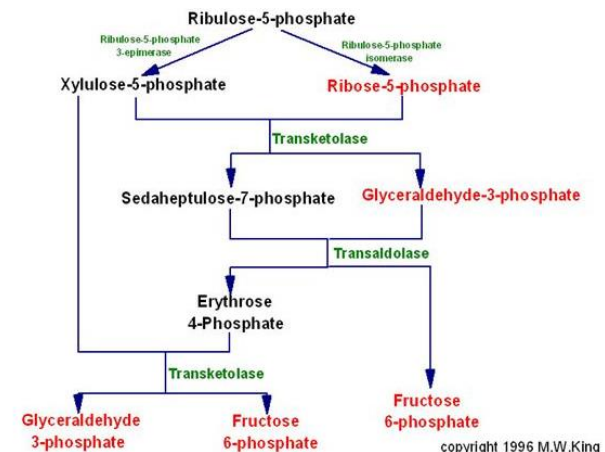
- transformuje 6C sacharidy (Glukózu – Glc, Fruktózu – Fru a Glaktózu – Gal) na 5C a 4C sacharidy.
- 5C Ribóza je velmi důležitý stavební prvek molekul jako je ATP, NAD+ nebo nukleotidy v DNA a RNA.
- 4C Erytróza je potřebná pro syntézu aromatických AMK a nebo ligninu u rostlin.

Pentózový cyklus u živočichů probíhá v cytosolu, u rostlin v cytosolu a plastidech buněk.



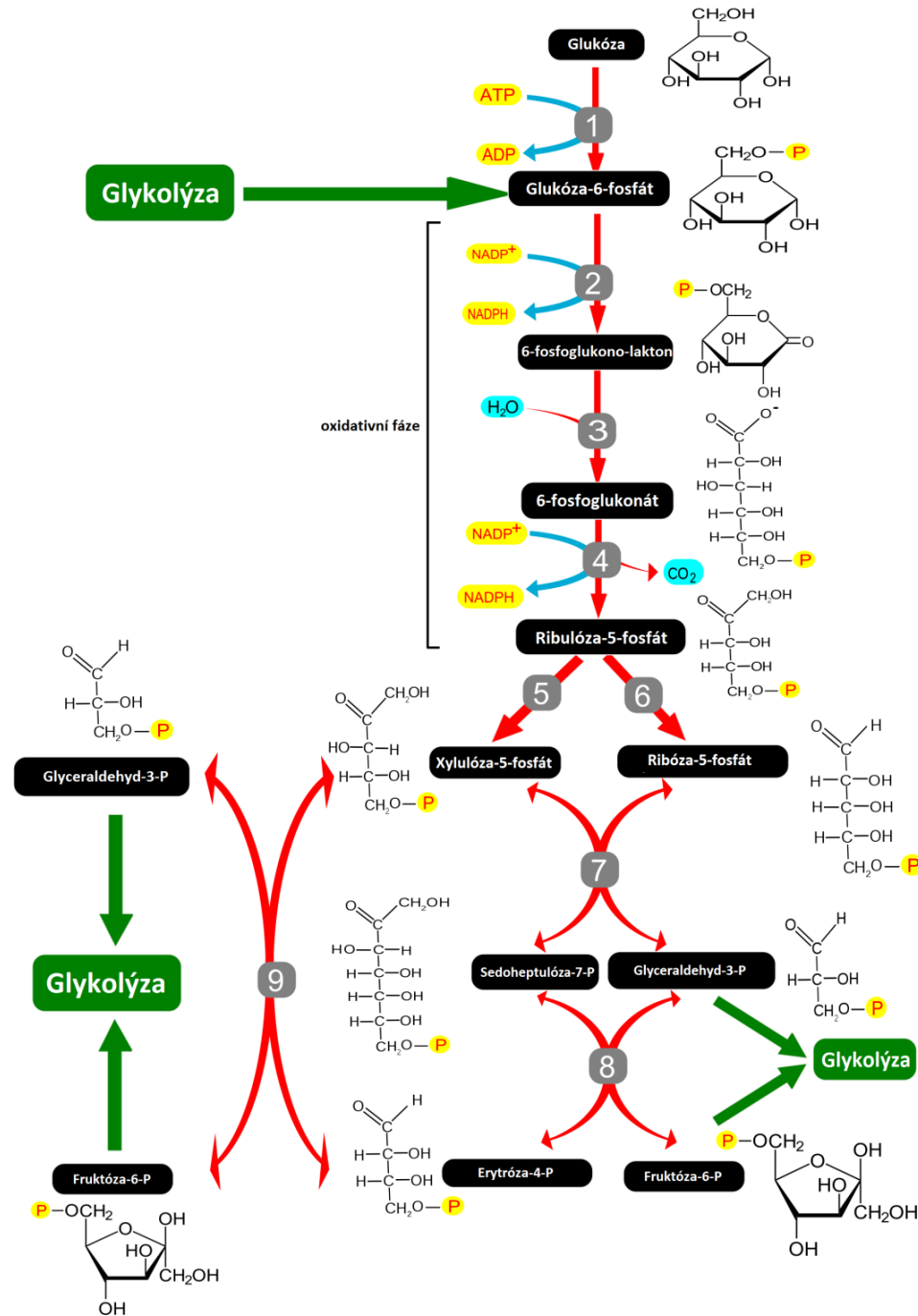
- 1 - glukóza-6-fosfát-dehydrogenáza
- 2 - 6-fosfo-gluconolaktonáza
- 3 - fosfoglukonátdehydrogenáza

1. fáze PC (oxidativní otevírání cyklických sacharidů)



2. fáze PC (ne-oxidativní přeměny sacharidů)

Pentózový cyklus lze rozdělit na dvě fáze – **oxidativní** a **neoxidativní**.

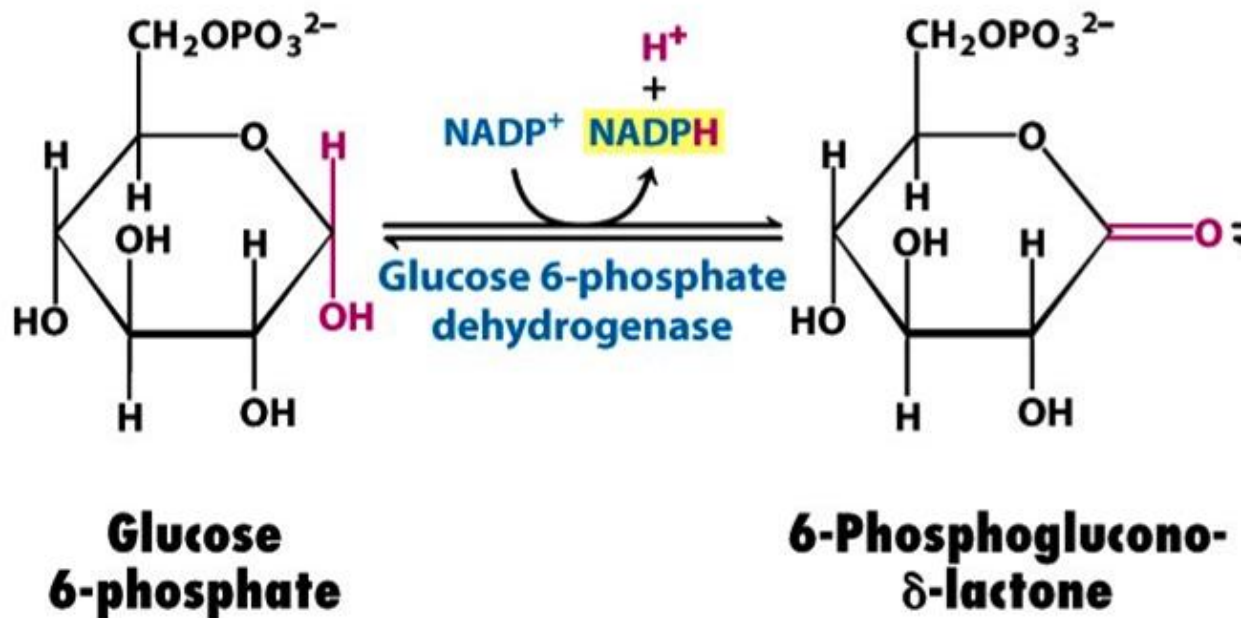


Oxidativní fáze

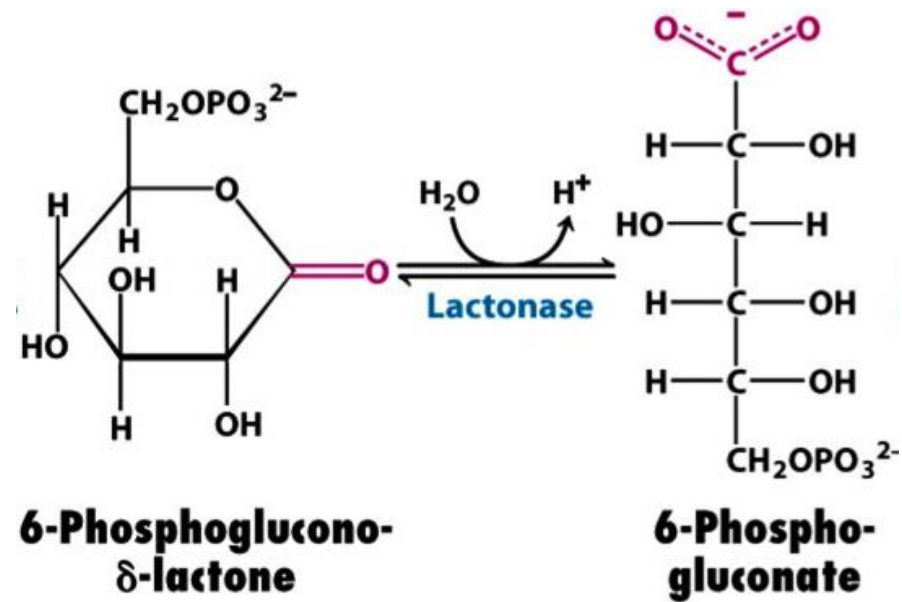
Dochází k:

- redukcí NAD^+ na NADPH
- konverzi glukózy-6-fosfátu (Glc-6P) na ribulóza-5P (5C sacharid).

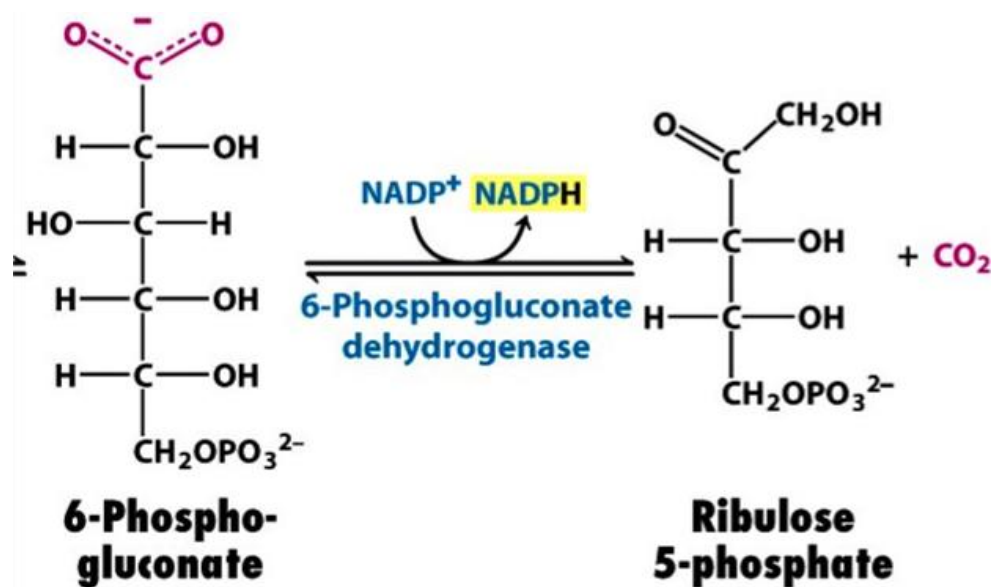
Na začátku je Glc-6P redukována pomocí **Glc-6P dehydrogenázy** na 6-fosfoglukono- γ -lakton. Z reakce se uvolní H^- (sloužící k redukcí NADPH) a volný H^+ (proton).



Enzym **6-fosfoglukono- γ -laktonáza** katalyzuje následnou hydrolýzu molekuly a rozštěpení cyklické molekuly. Dojde ke vzniku 6-fosfoglukonátu (disociované formy glukonové kyseliny). V reakci dochází k uvolnění dalšího protonu.



Následně **6-fosfoglukonát dehydrogenáza** vygeneruje další molekulu NADPH. Redukcí molekuly cukru dojde k destabilizaci molekuly a zániku vazby mezi karboxylovou skupinou a sousedním uhlíkem – uvolní se CO_2 . Sacharid tak přichází o jeden uhlík a vzniká 5C ribulóza-5P.

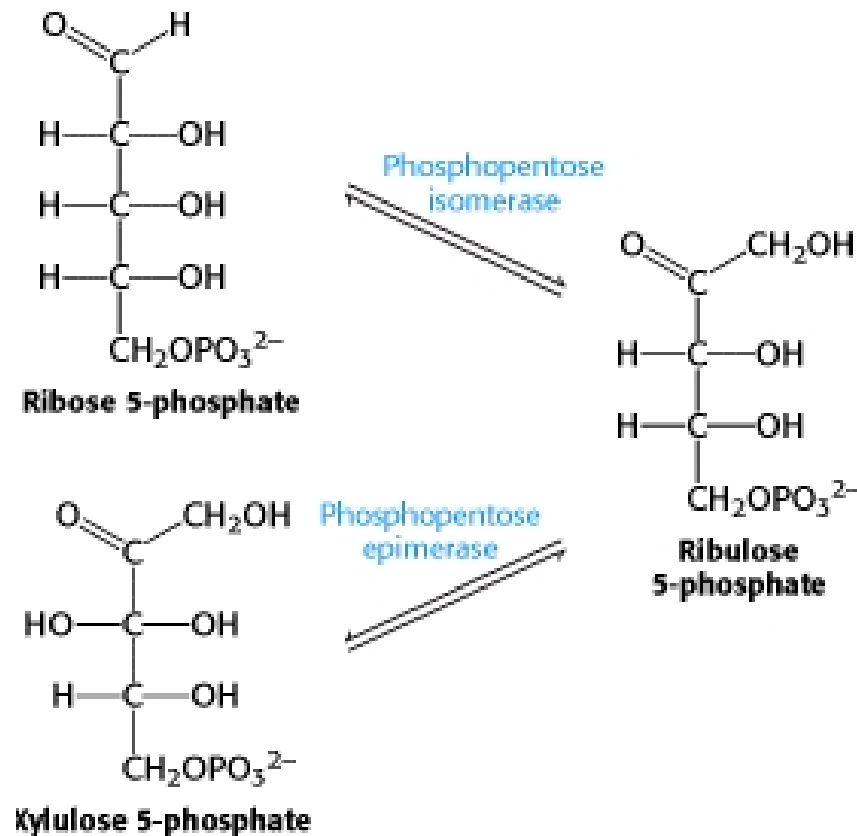


Neoxidativní fáze

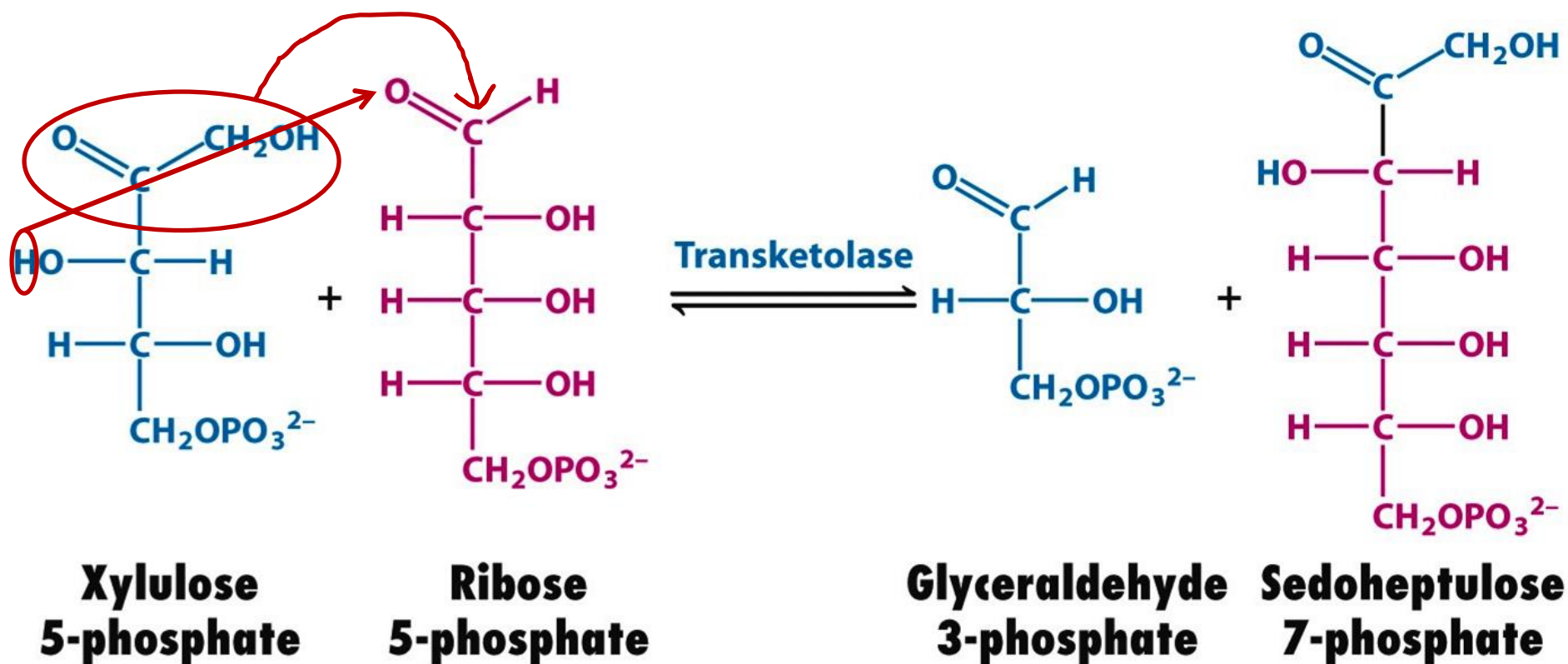
Dochází k:

- transformaci (izomeraci a translokaci uhlíků) mezi jednotlivými sacharidy

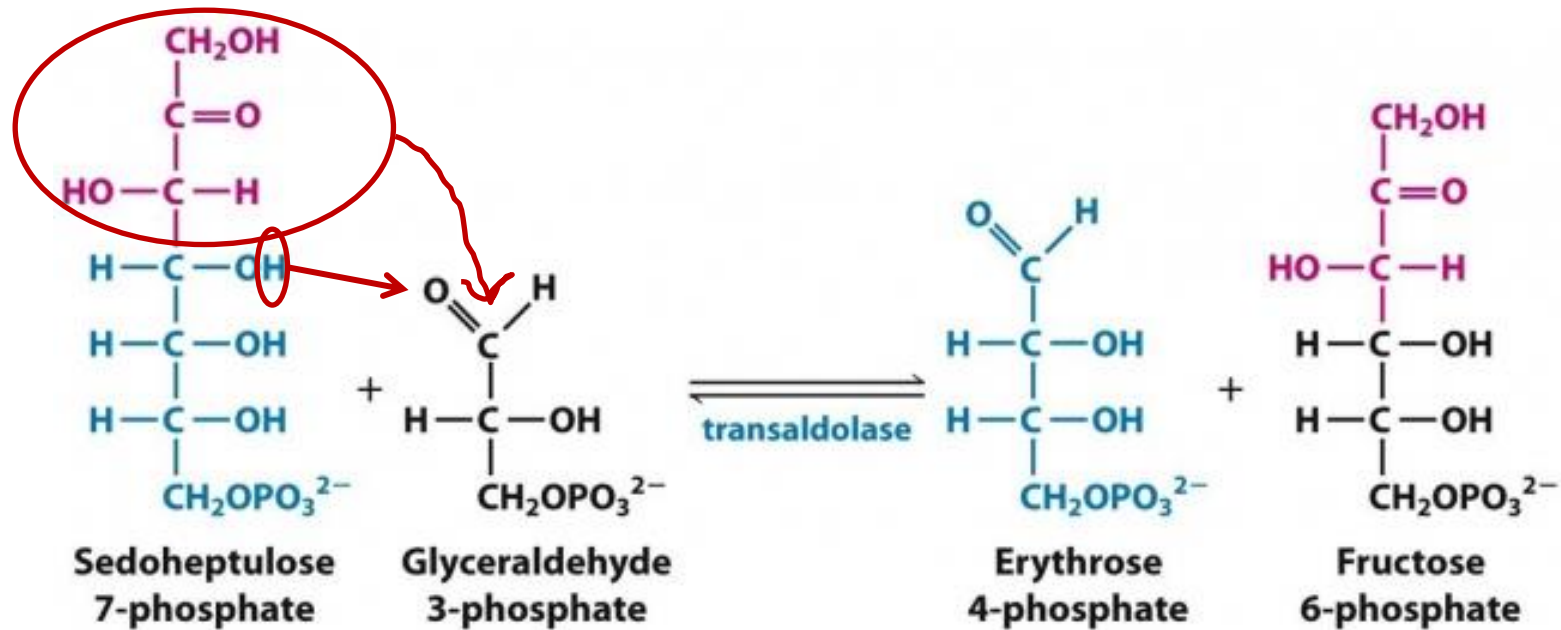
Ribulóza-5P může být **fosfopentóza izomerázou** transformována na ribózu-5P (dojde k přesunu karbonylové skupiny v molekule) nebo **fosfopentóza epimerázou** na xylulóza-5P (změnou konformace OH- skupiny).



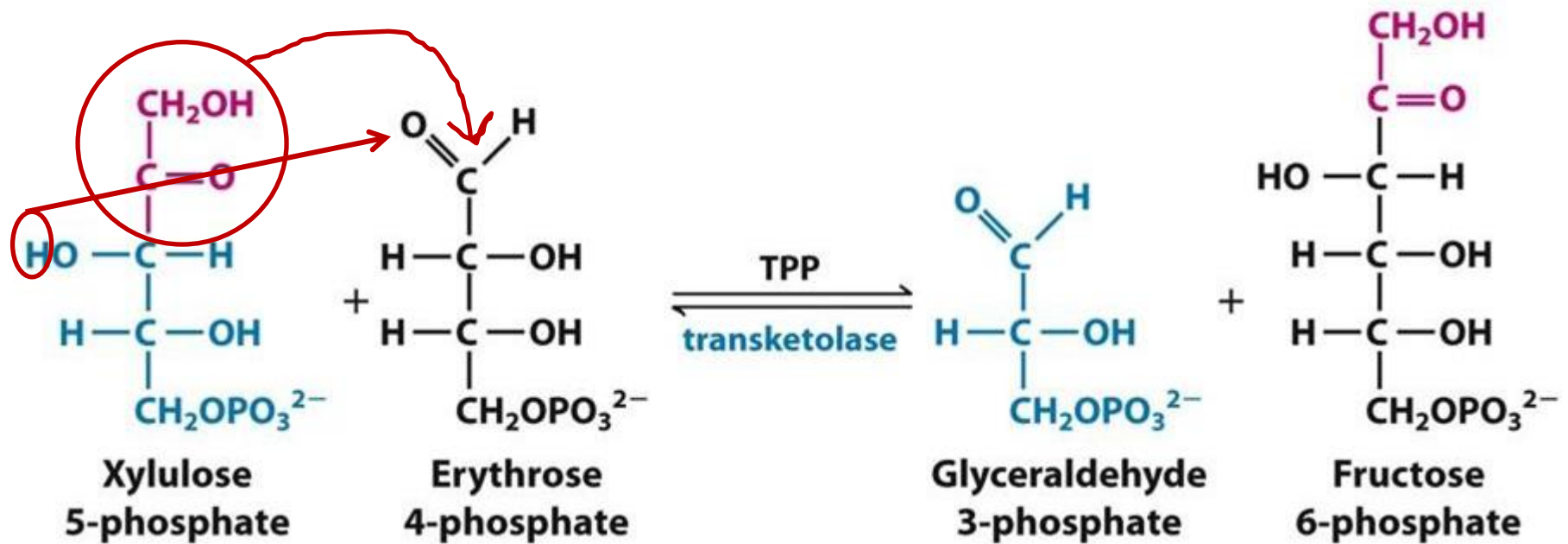
Ribóza-5P a xylulóza-5P jsou substráty následné enzymatické reakce, ve které dojde k přenosu dvojhlíkatého zbytku z jedné molekuly na druhou (pomocí enzymu **transketolázy**). Vzniká 7C sedoheptulóza-7P a 3C glycerinaldehyd-3P.



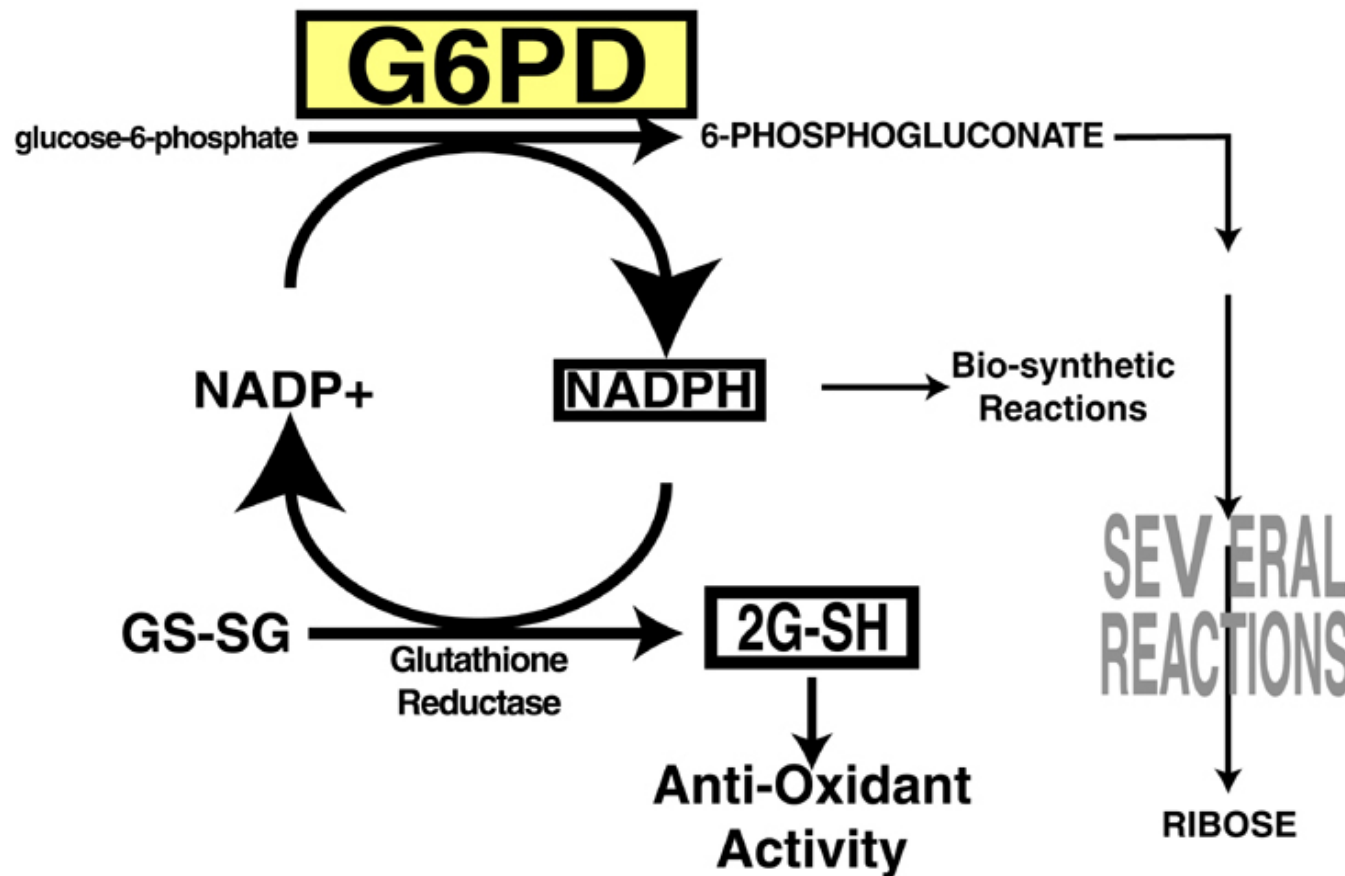
Transaldoláza naopak přenáší pouze 3C zbytky. Z 7C a 3C cukru nasyntetizuje 4C erythroza-4P a 6C Fru-6P. Ty mohou vstoupit do jiných metabolických drah.



Xylulóza-5P a erythroza-4P nejsou příliš organizmem využívány, proto je **Transketoláza** může transformovat na 3C glycerinaldehyd-3P a 6C Fru-6P.



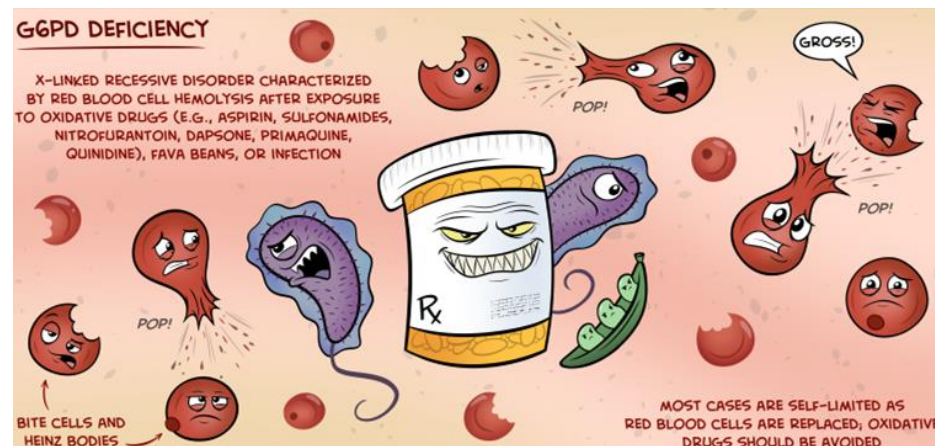
Pentózový cyklus je regulován enzymem **Glc-6P dehydrogenázou**. Enzym je kompetitivně a allostericky inhibován svým produktem NADPH, naopak aktivován NADP⁺. NADPH je v buňce v nadbytku, proto je pentózová dráha aktivována společně s anabolickými dráhami, které NADPH oxidují na NADP⁺.

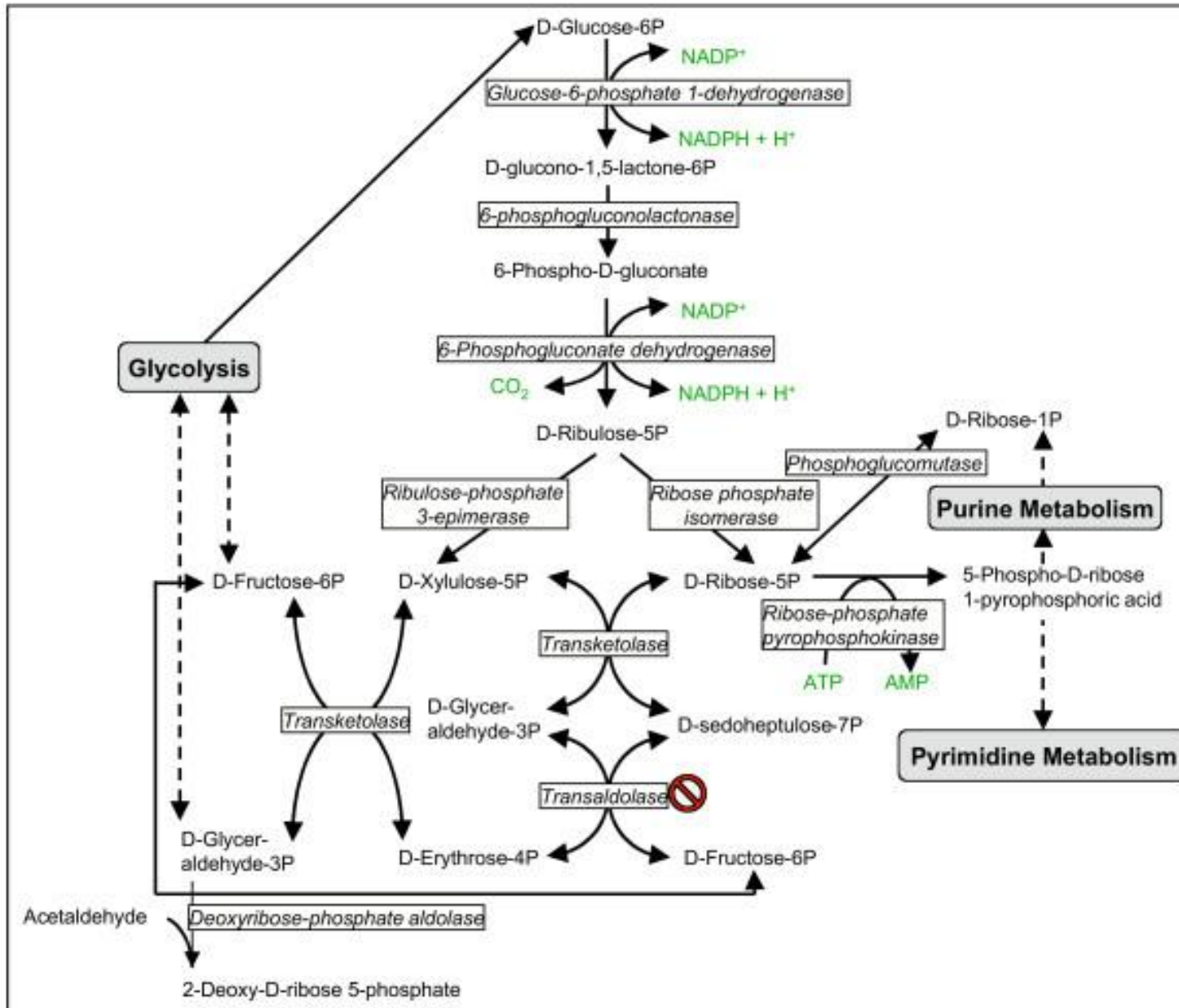
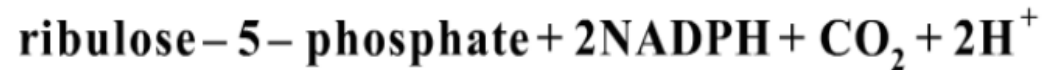
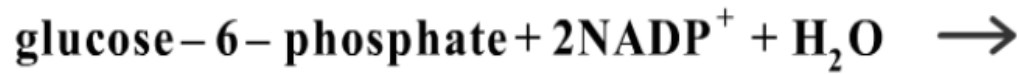


Zajímavost

Deficience Glc-6P dehydrogenázy vede k onemocnění známému favismus. Je to nejčastější enzymatický defekt u lidí (vyskytující se převážně u středomořské a africké populace). Defekt enzymu vede ke zvýšenému rozpadu červených krvinek. To je způsobeno tím, že NADPH slouží k redukci antioxidantu glutathionu. Ten vychytává volné radikály a pomocí NADPH se regeneruje. Pentózový cyklus je jediný způsob jak si může erytrocyt NADPH vyrobit – jeho nedostatek vede k nárůstu oxidativního stresu a narušení buněčné struktury.

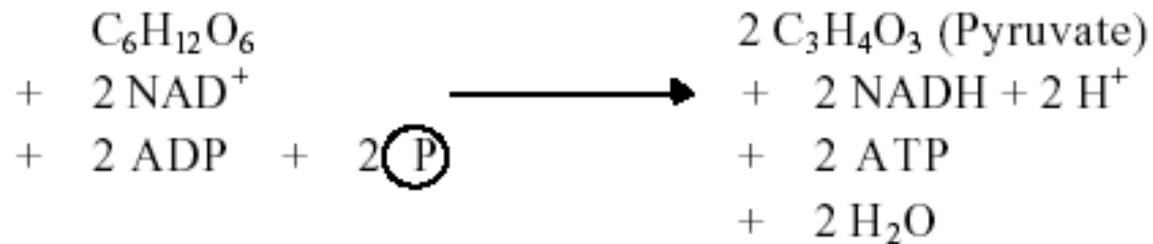
Favismus napomáhá proti malárii. Parazit vyvíjející se v erytrocytu díky nepříznivému prostředí není schopen přežít.





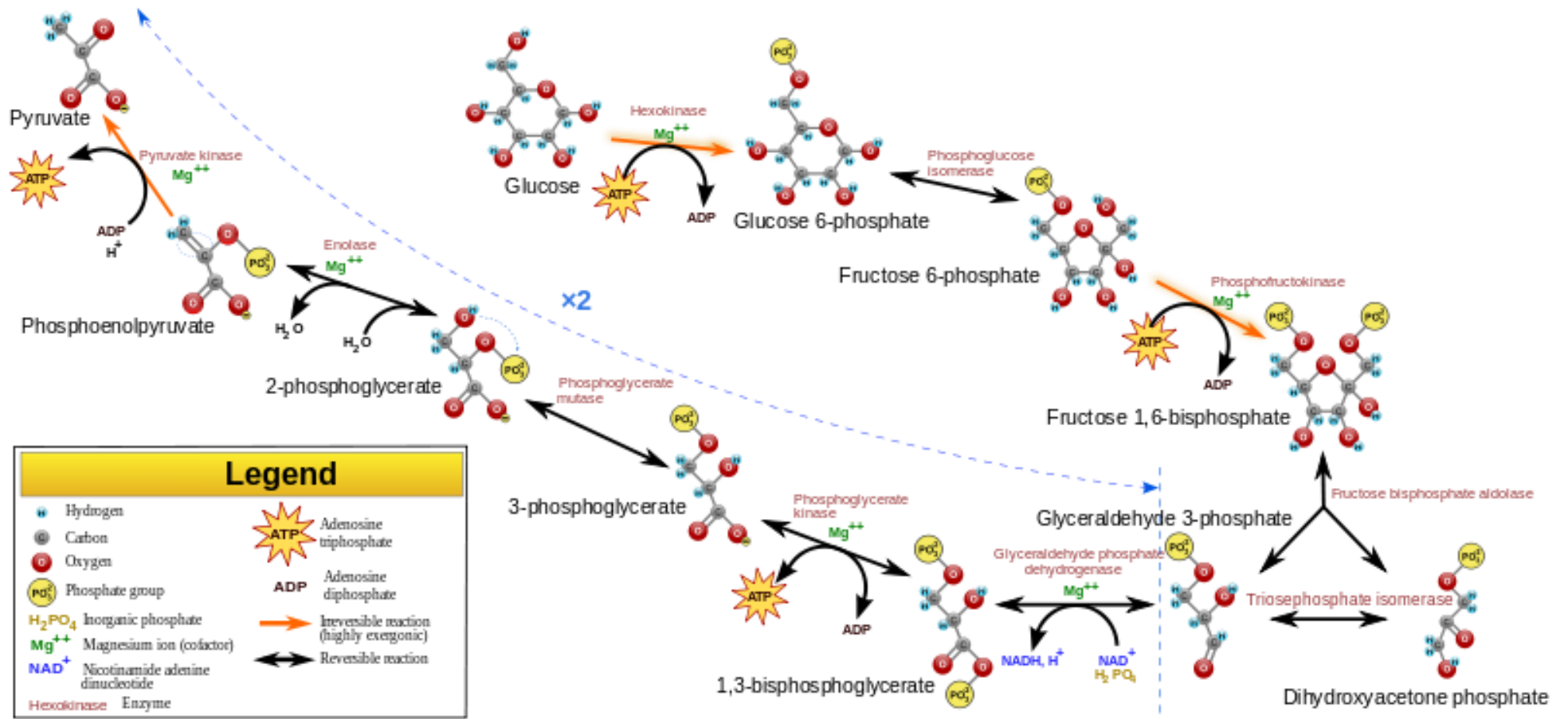
Glykolýza

Metabolická cesta, ve které dochází ke konverzi glukózy na pyruvát, uvolňují se protony a syntetizují se makroergické molekuly – ATP a NADH. Glykolýza je anaerobní proces (neúčastní se jí volný molekulární kyslík). Celková bilance glykolýzy je:

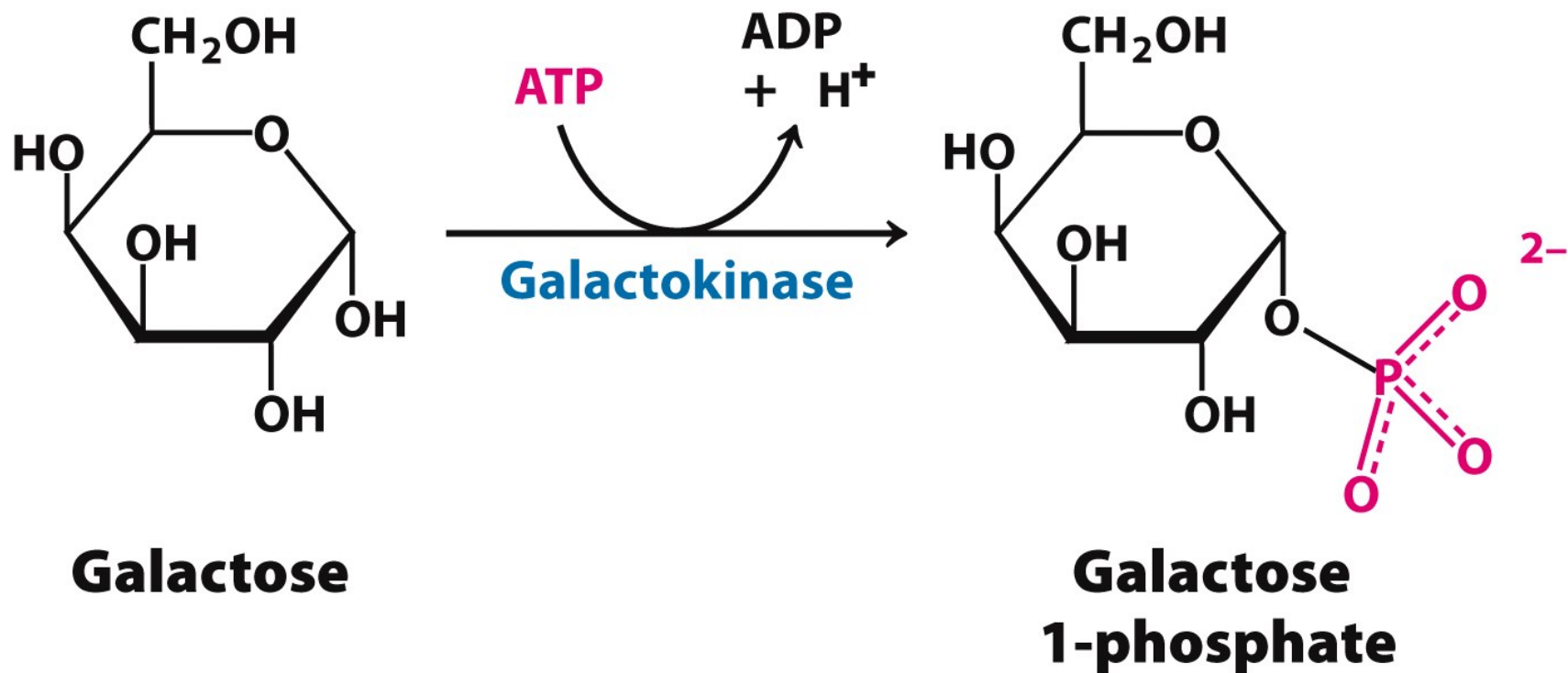


Výsledný pyruvát je následně využíván v **respiračním cyklu (aerobní)** nebo v **mléčném a alkoholovém kvašení (anaerobní)**.

Probíhá v *cytosolu buněk*. Glykolytických drah je několik, nejvyužívanější je Embden-Meyerhof-Parnasova dráha.

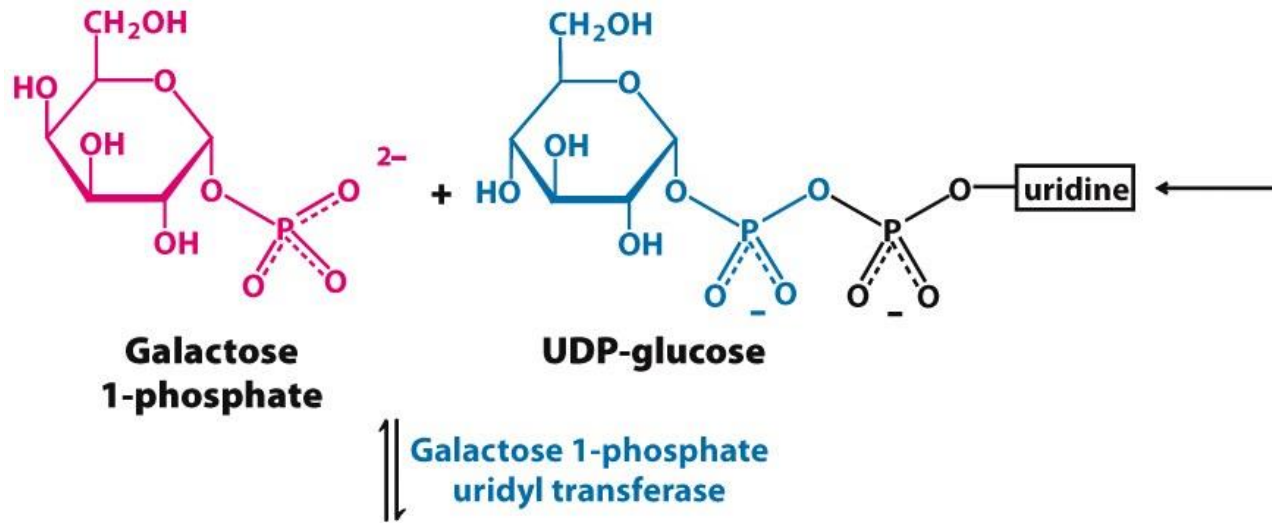


Do glykolýzy jsou zahrnuty všechny 6C cukry, které tělo vstřebává. Galaktóza je fosforylována na Gala-1P enzymem **galaktokináza**.



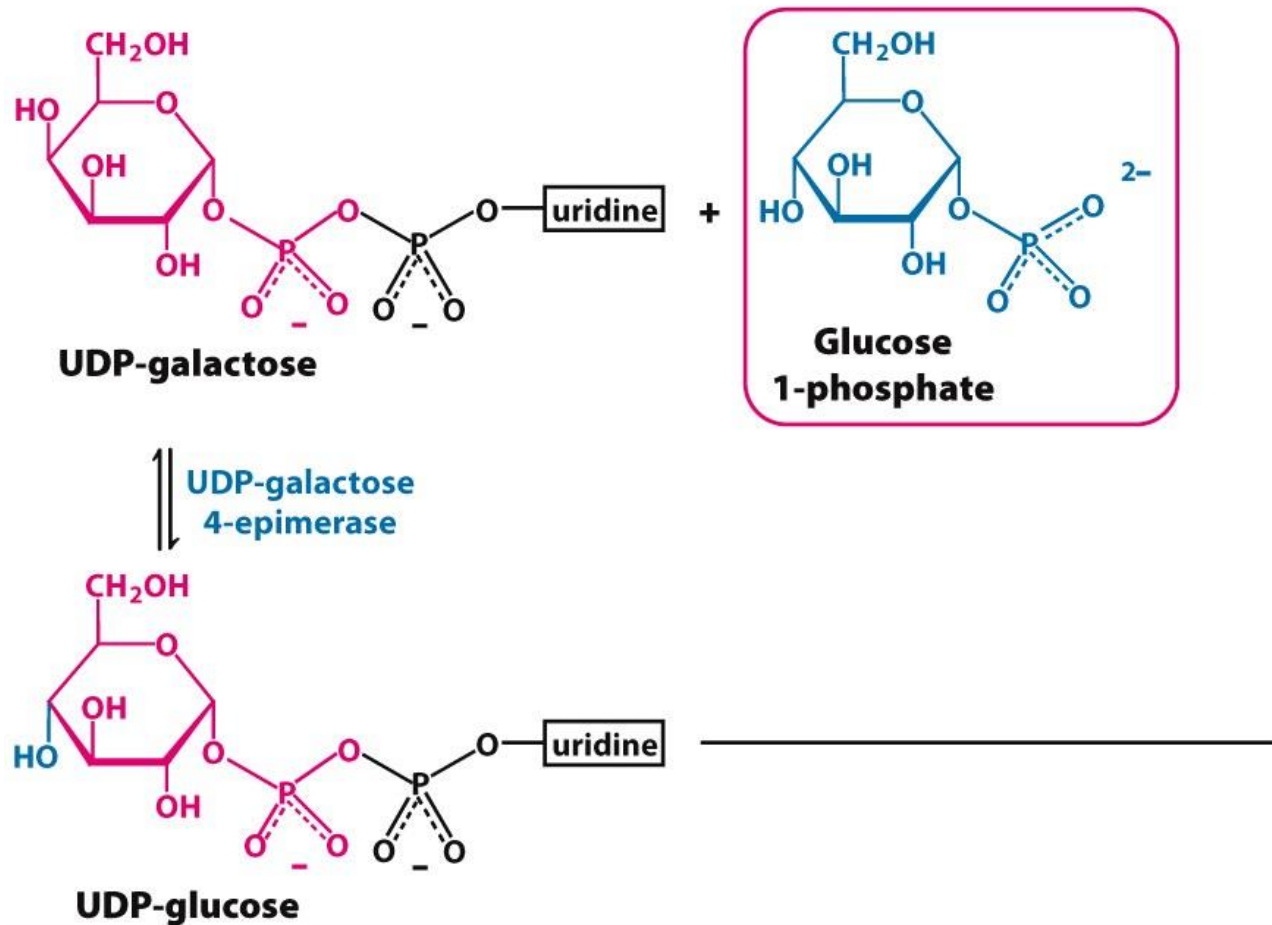
Gala-1P je pak přenesena na Uridildifosfát (UDP) pomocí **Gala-1P uridyltransferázy**.

Gala-UDP je následně transformována na UDP-Glu-1P enzymem **epimerázou**. UDP je nakonec recyklován vazbou další Gala-1P.

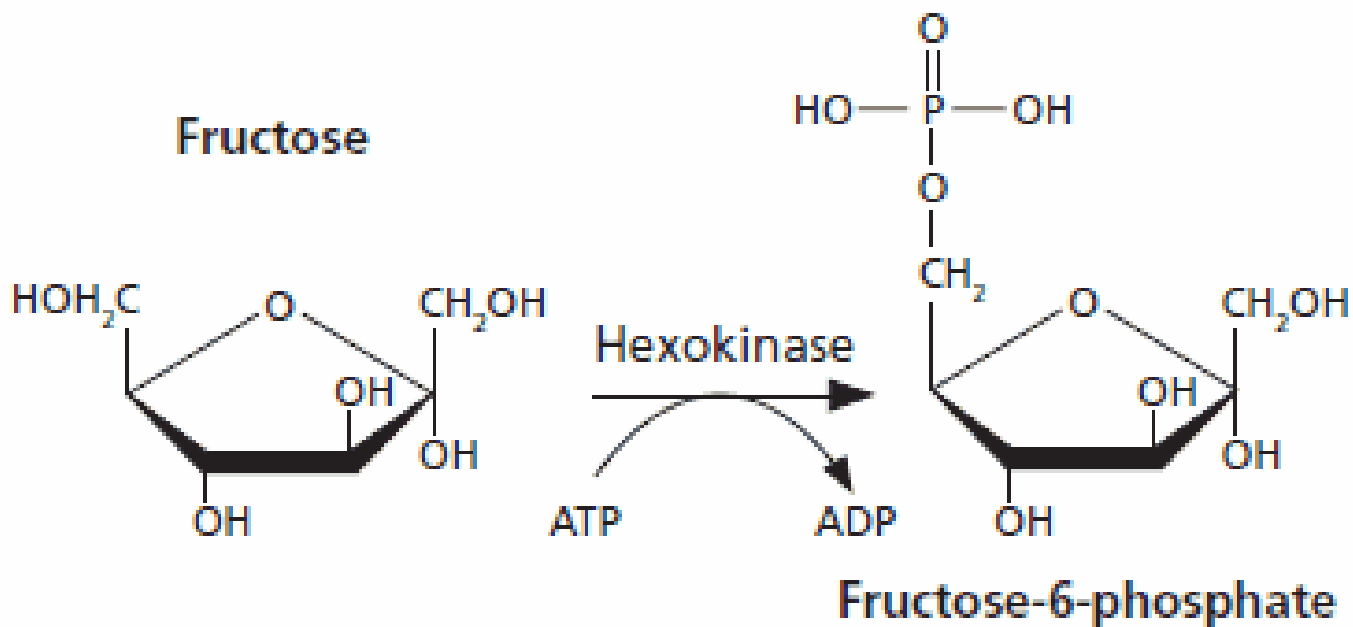


Fosforylace je podobně jako u syntézy glykogenu přenesena na C6 uhlík Glu-6P.

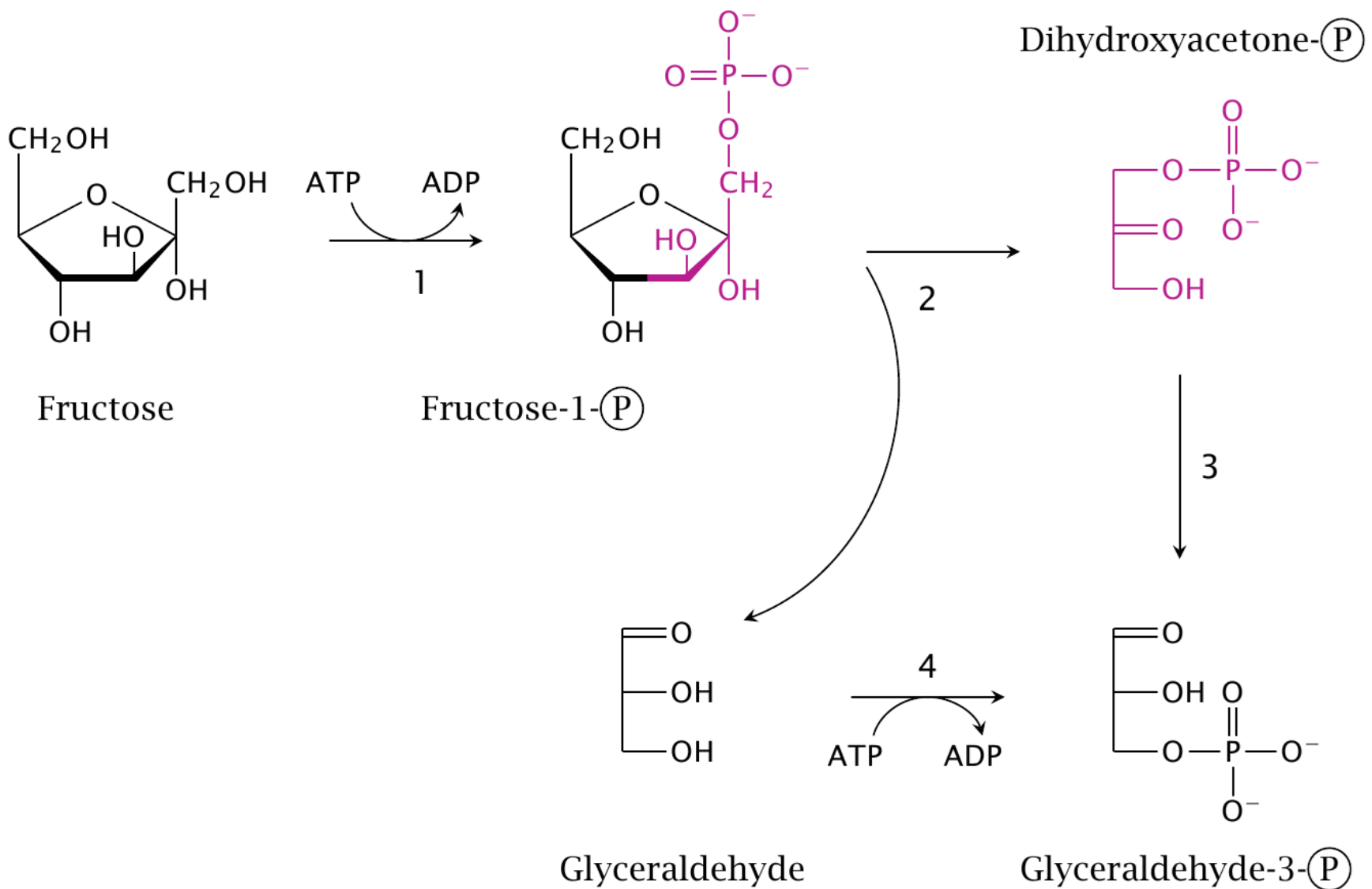
Reakce je katalyzována **Fosfoglukomutázou**. **Glu-6P** je vstupním substrátem do *glykolýzy*.



U fruktózy je to složitější. Fruktóza je transportována pouze do buněk jater, kosterního svalstva, ledvin, mozku a adipocitů. Ve svalech je fosforylována přímo na **Fru-6P hexokinázou**. Ta vstupuje přímo do glykolýzy.

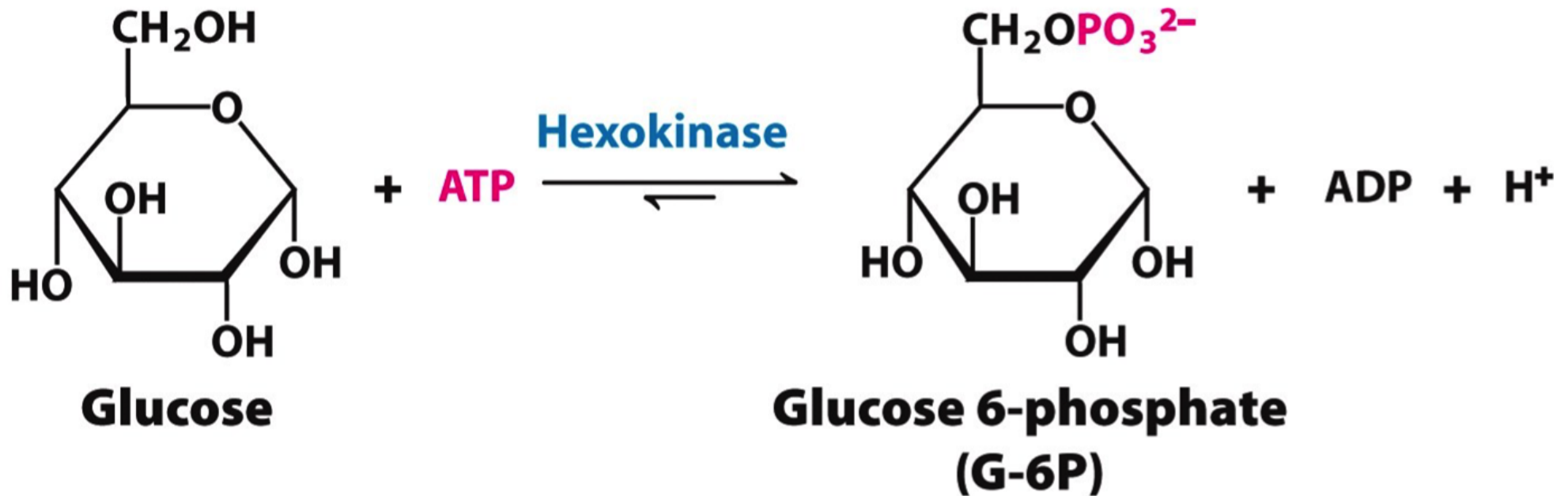


Ale v játrech enzym **fruktokináza** fosforyluje Fru na Fru-1P. Enzym **aldoláza** následně rozštěpí Fru-1P na glyceraldehyd a dihydroxyaceton-3P. Glyceraldehyd je pak fosforylován **glyceraldehyd kinázou** na glyceraldehyd-3P. Dihydroxyaceton-3P je **triózafosfát izomerázou** převeden také na glyceraldehyd-3P. *Glyceraldehyd-3P* pak vstupuje do *glykolýzy*.



Samotná Glykolýza začíná u molekuly glukózy.

V prvním kroku je Glu fosforylována na Glu-6P **hexokinázou**. V reakci je využita hydrolýza ATP. Fosforylace je důležitá, protože snižuje koncentraci Glu v buňce a neblokuje tak funkci glukózových transportérů (které mohou dále nasávat glukózu dovnitř buňky). Navíc fosforylace zabraňuje úniku Glc-6P ven z buňky difúzí, protože získává náboj a hůře proniká hydrofobní vrstvou cytoplazmatické membrány.



První reakce může být katalyzována dvěma enzymy – **hexokinázou** a **glukokinázou** (hepatocyty, β -bunky pankreatu).

Glukokináza je specifická pro glukózu, ale má pro ní **nižší afinitu** než **hexokináza**. To ji znemožňuje fosforylovat glukózu při její nízké koncentraci.

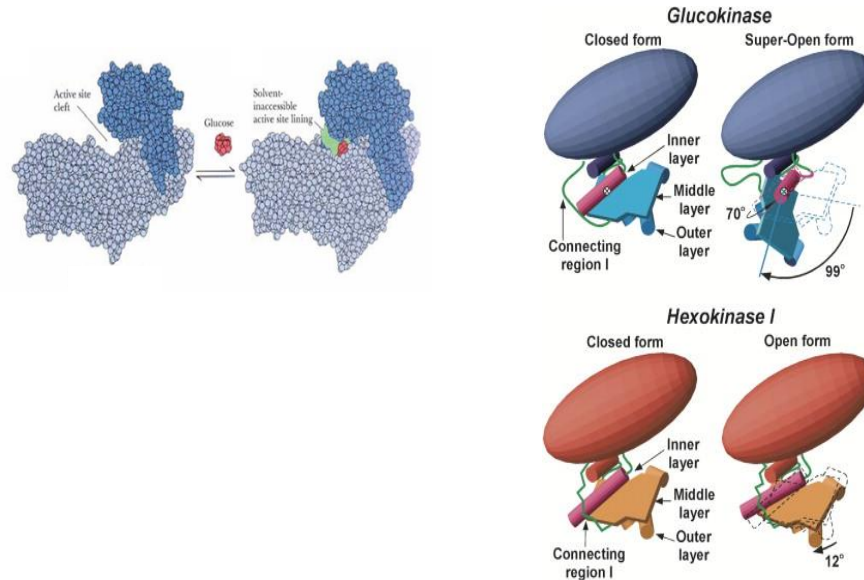
Dalším rozdílem je, že **hexokináza** je kompetitivně inhibována svým produktem – Glc-6P. **Glukokináza** je naopak inhibována až produktem v dalším kroku glykolýzy, Fru-6P.

Hexokináza

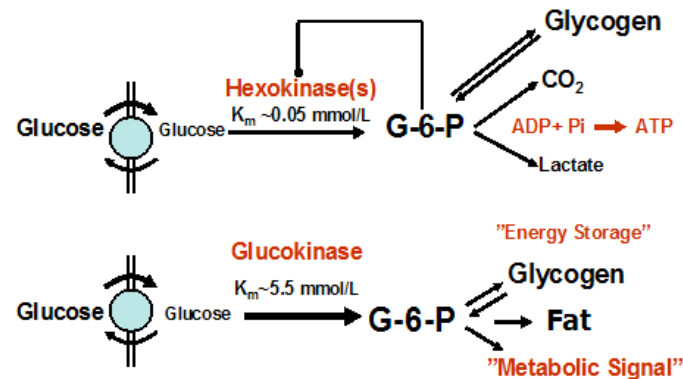
Enzym je maximálně aktivní při dolní hranici normální **glykémie** (3,5 mmol/l).

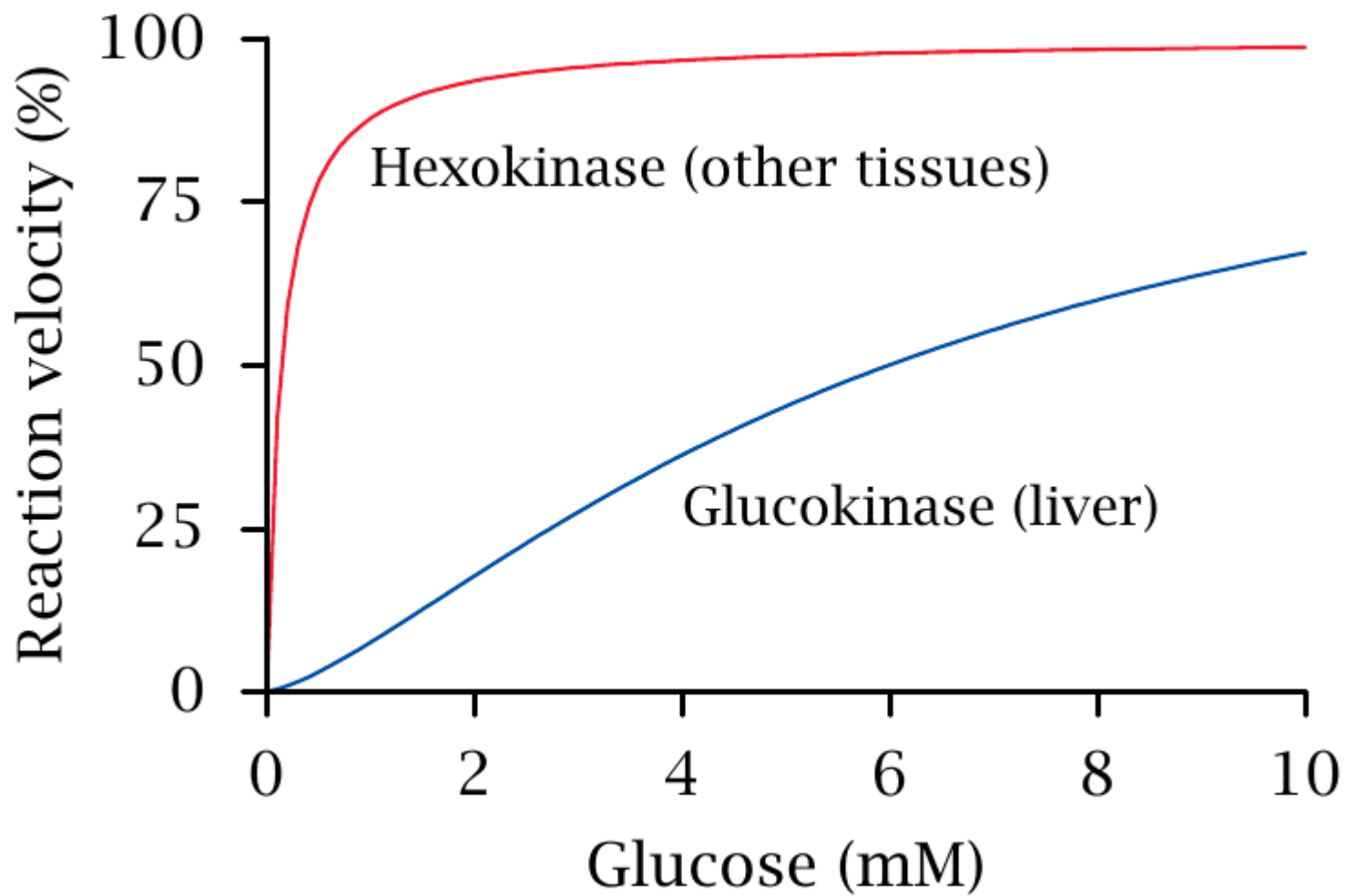
Glukokináza

Receptor hladiny glukózy v krvi, protože do jaterních buněk se glukóza transportuje nezávisle na inzulínu. Při **vysoké koncentraci glukózy** je glukokináza aktivní a začne produkovat velké množství **Glc-6P** – které je potřebné pro syntézu glykogenu. **Fru-6P** narůstá při nízké koncentraci glukózy, kdy je aktivita glukokinázy omezena.



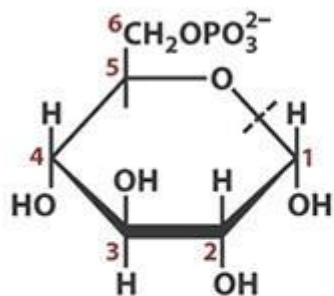
Glucose Phosphorylation Enzymes are Specific



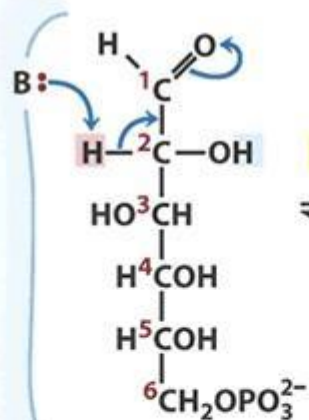


V druhém kroku je Glc-6P přeměněna na Fru-6P pomocí **Glc-6P izomerázy**.
 Reakce je reverzibilní – dopředu je hnána nízkou koncentrací produktu, který je zkonsumován dalšími kroky glykolýzy. Při vysoké koncentraci Fru-6P reakce běží opačně.

Glucose 6-phosphate

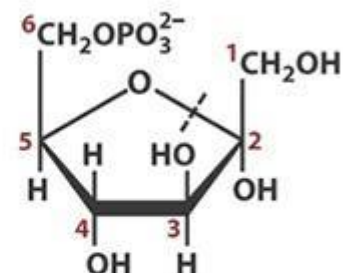


① binding and ring opening

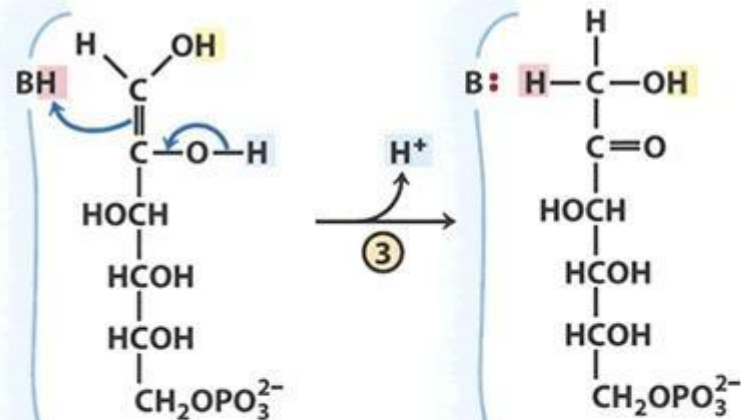


Phosphohexose isomerase

Fructose 6-phosphate

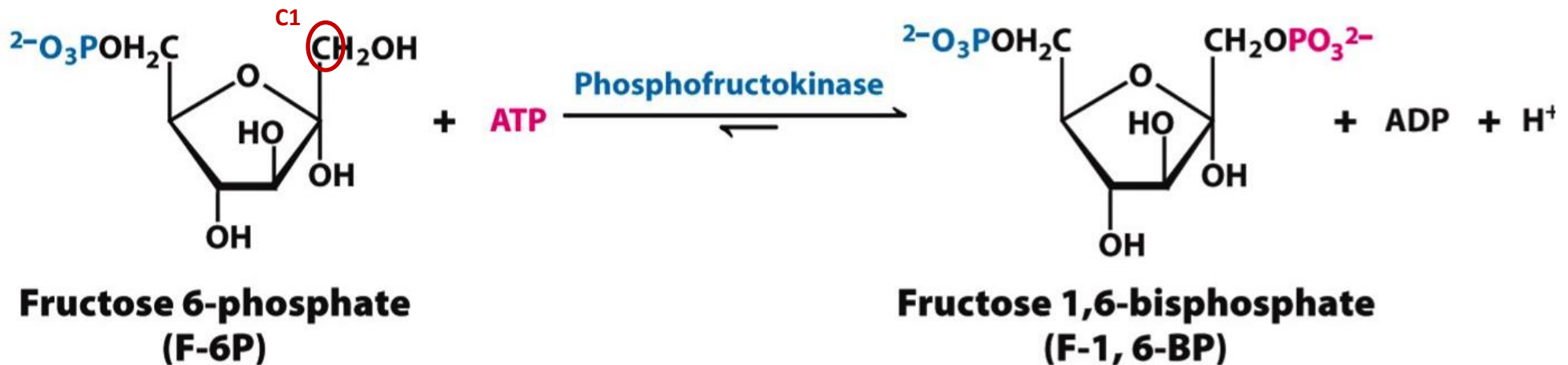


④ ring closing and dissociation

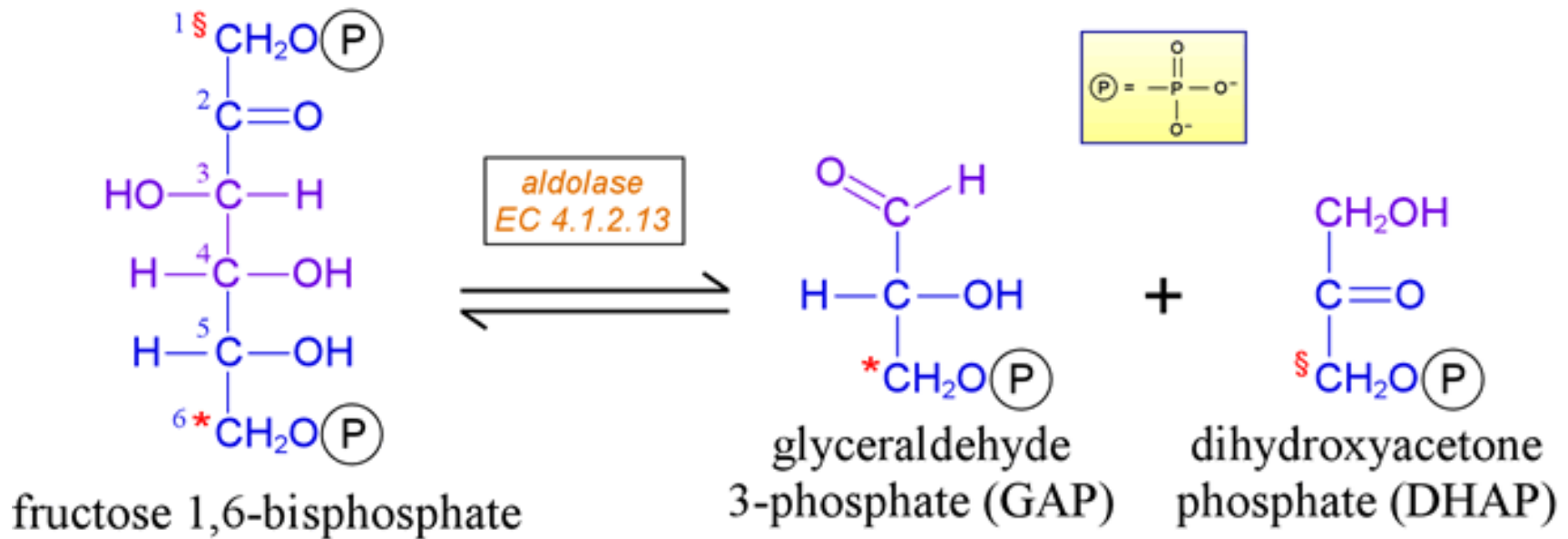


cis-Enediol intermediate

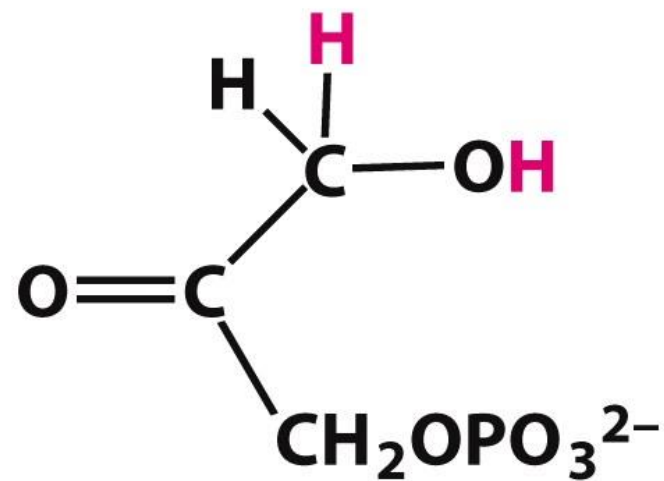
Fru-6P je fosforylována na C1 uhlíku **fosfofruktokinázou**. Vzniká 1,6-bisfosfo-Fru. Je zde využita další molekula ATP a díky tomu je reakce nevratná. Přidáním druhého fosfátu dochází k destabilizaci molekuly, které se budou v dalším kroku štěpit. Je potřeba, aby obě byly nabitě a neunikaly ven z buňky difúzí.



Destabilizace 1,6-bisfosfo-Fru umožňuje rozpad molekuly na 2 triózy (dihydroxyaceton-P a glyceraldehyd-3P) pomocí enzymu **aldoláza**.

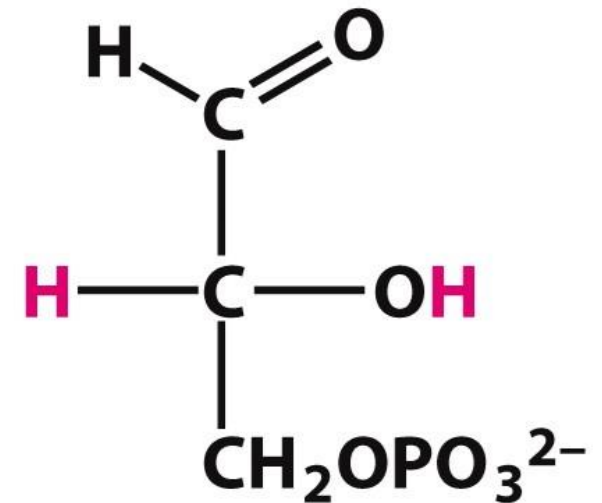


V dalším kroku je dihydroxyaceton-P transformován na druhý glyceraledhyd-3P pomocí **triosafosfát isomerázy**.



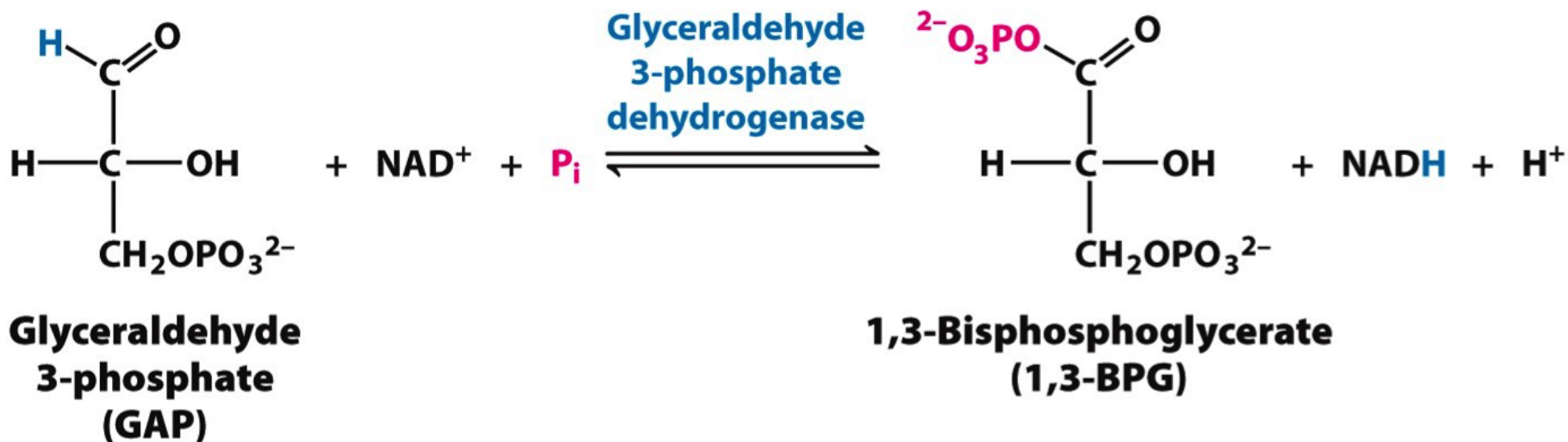
**Dihydroxyacetone
phosphate**

**Triose phosphate
isomerase**



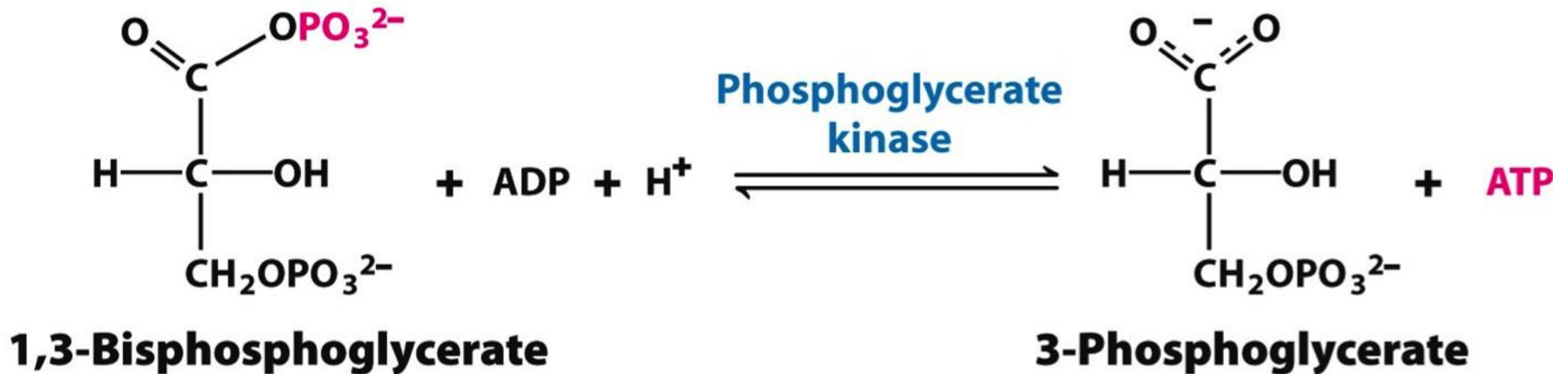
**Glyceraldehyde
3-phosphate**

Dvě molekuly glyceraldehyd-3P jsou deprotonovány **glyceraldehyd-P dehydrogenázou** s NAD⁺ kofaktorem. Navíc dochází k vazbě dalšího fosfátu (který tentokrát pochází z hydrogenfosforečnanového aniontu z roztoku, nikoliv z ATP).

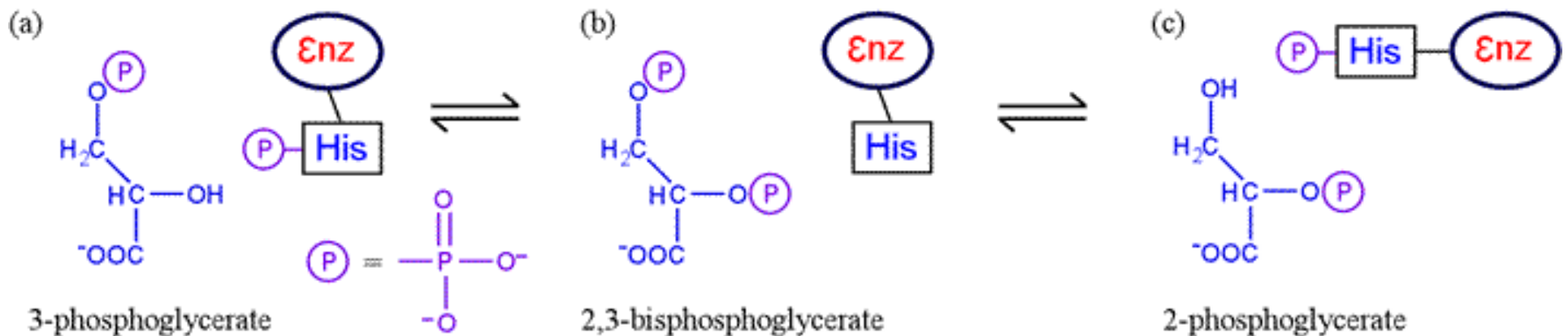
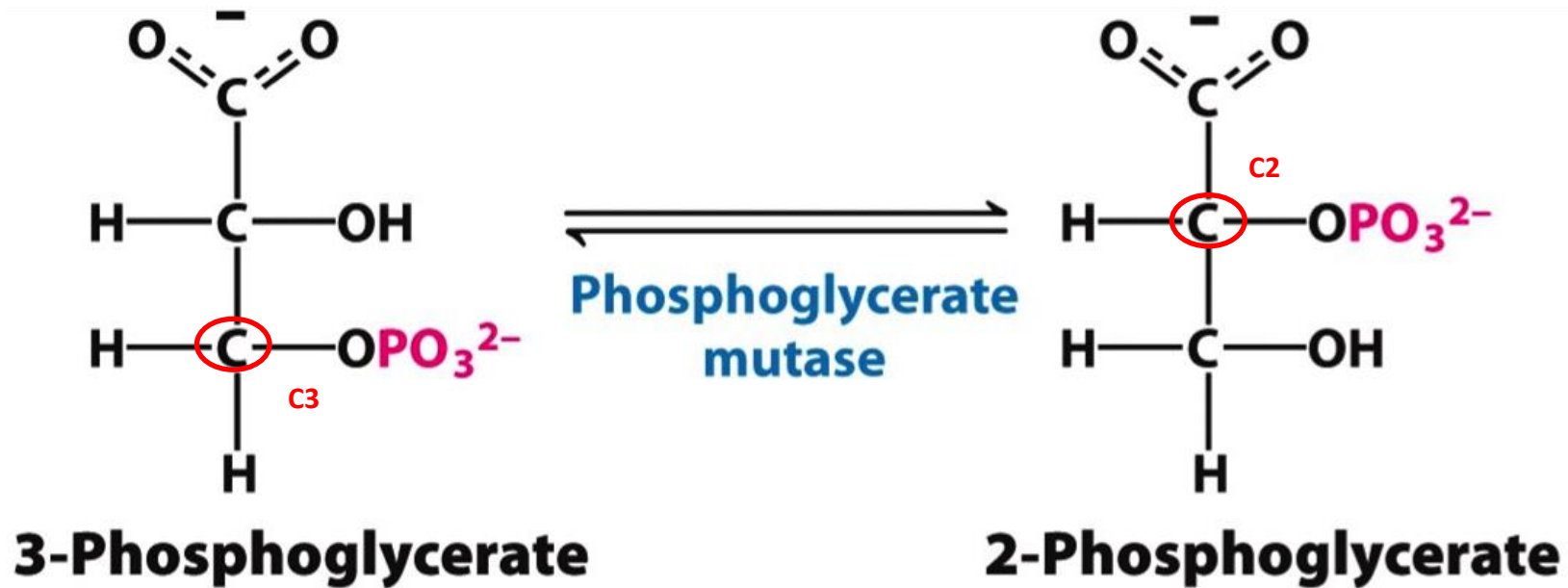


Fosfátová skupina se přenáší na ADP enzymem **fosfoglycerátkinásou**. Vzniká ATP a 3-fosfoglycerát. Tento krok je citlivý na hladinu ADP v buňce, pokud má buňka velký přebytek ATP, tak reakce neproběhne.

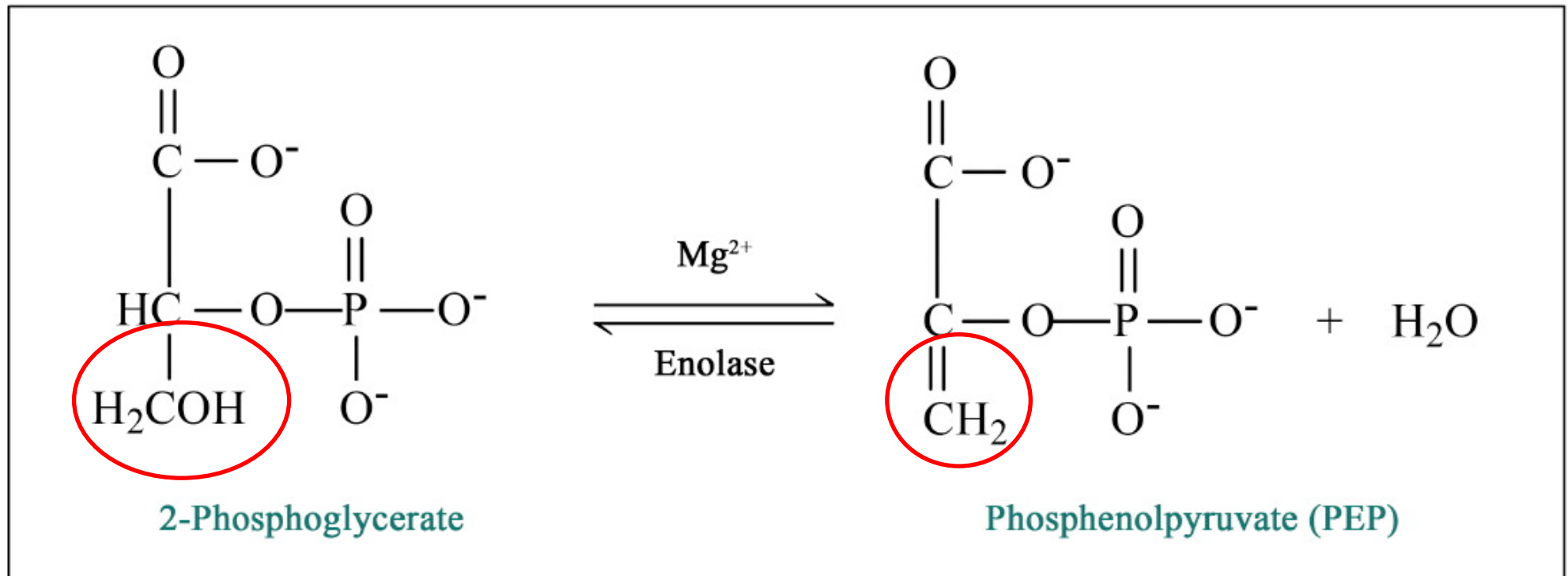
(2 molekuly = 2ATP)



Fosfoglycerát mutáza katalyzuje vznik 2-fosfoglycerátu (přenesení fosfátu z C3 na C2 uhlík).

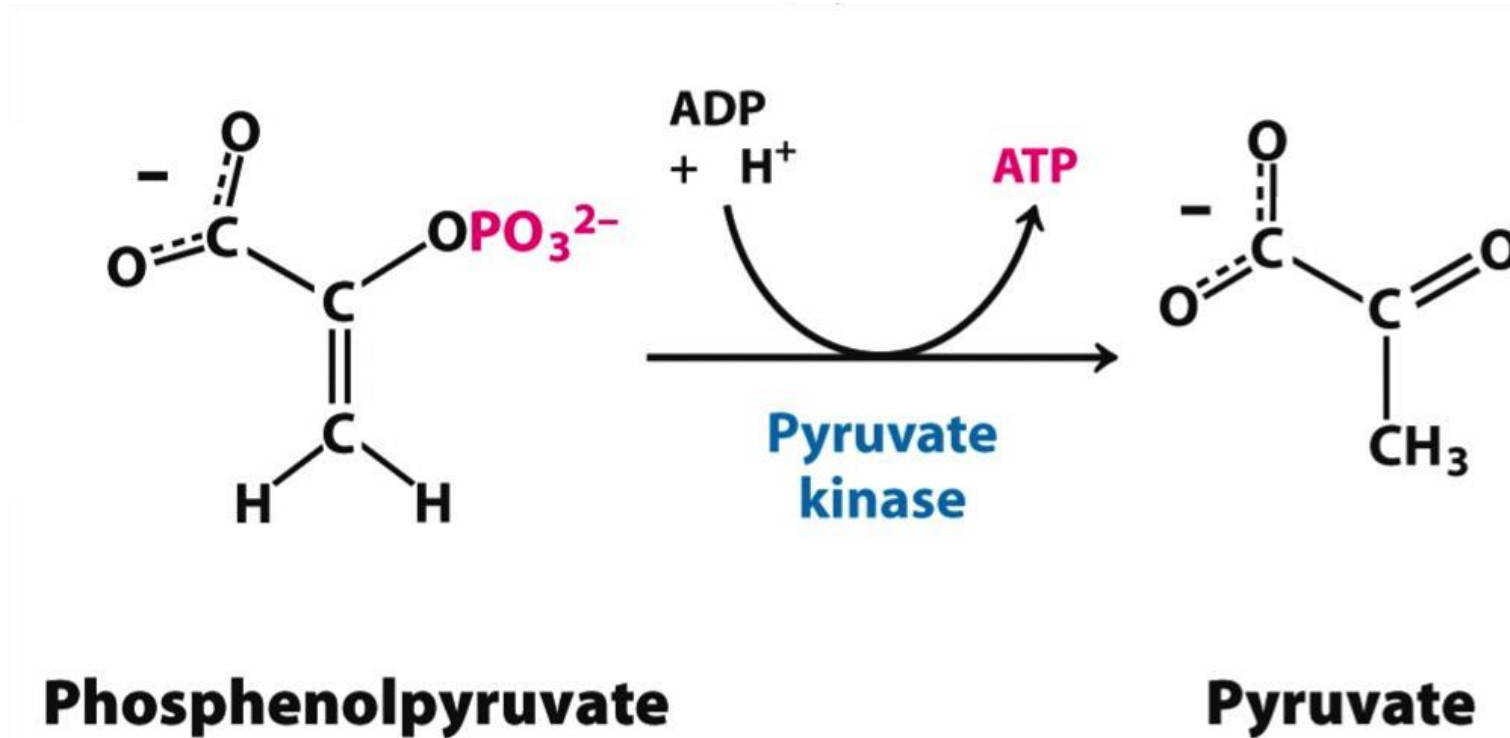


Enzym **enoláza** dehydratuje 2-fosfoglycerát a dochází ke vzniku dvojné vazby ve fosfoenolpyruvátu.



Pyruvátkináza přeneše zbývající fosfát na další molekulu ADP. Vzniká pyruvát, který je zpracován v dalších metabolických reakcích.

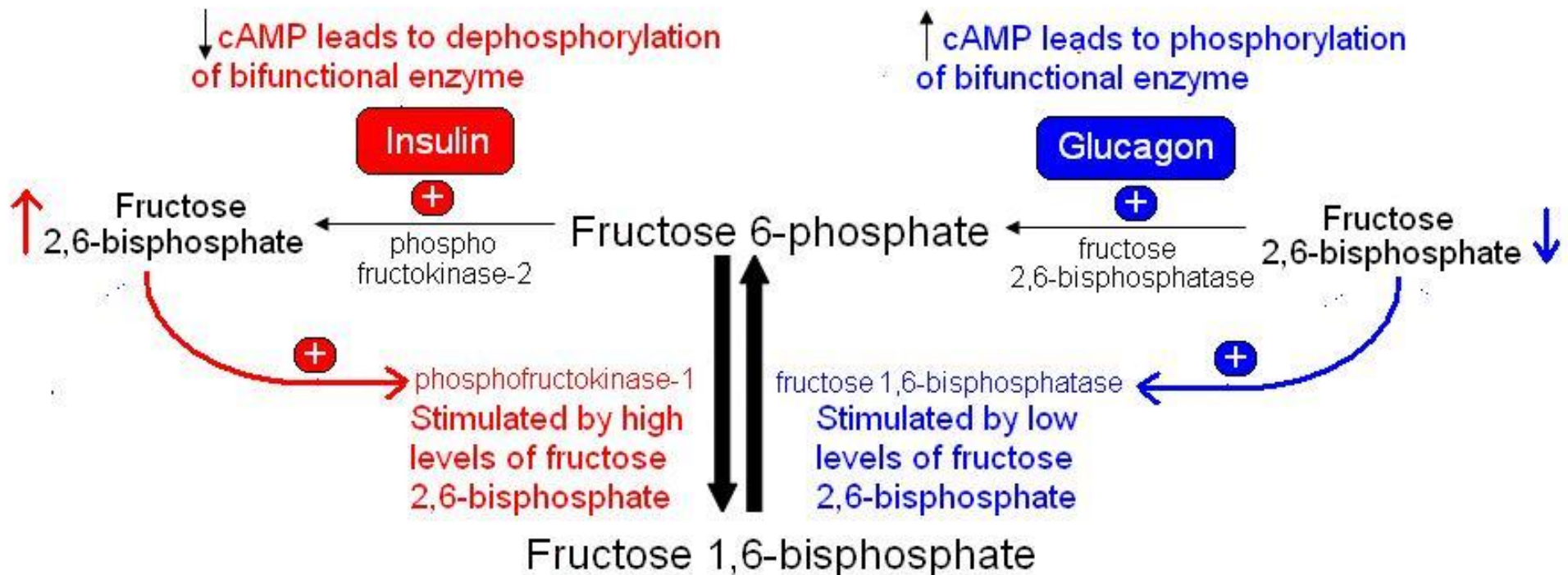
(2 molekuly = 2ATP)

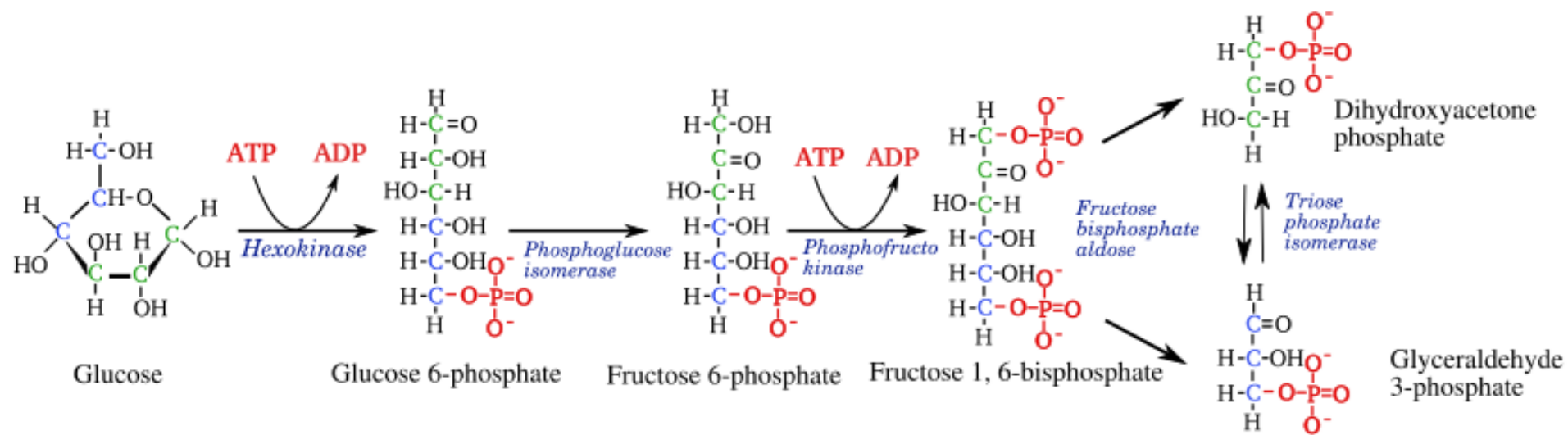


Regulace glykolýzy.

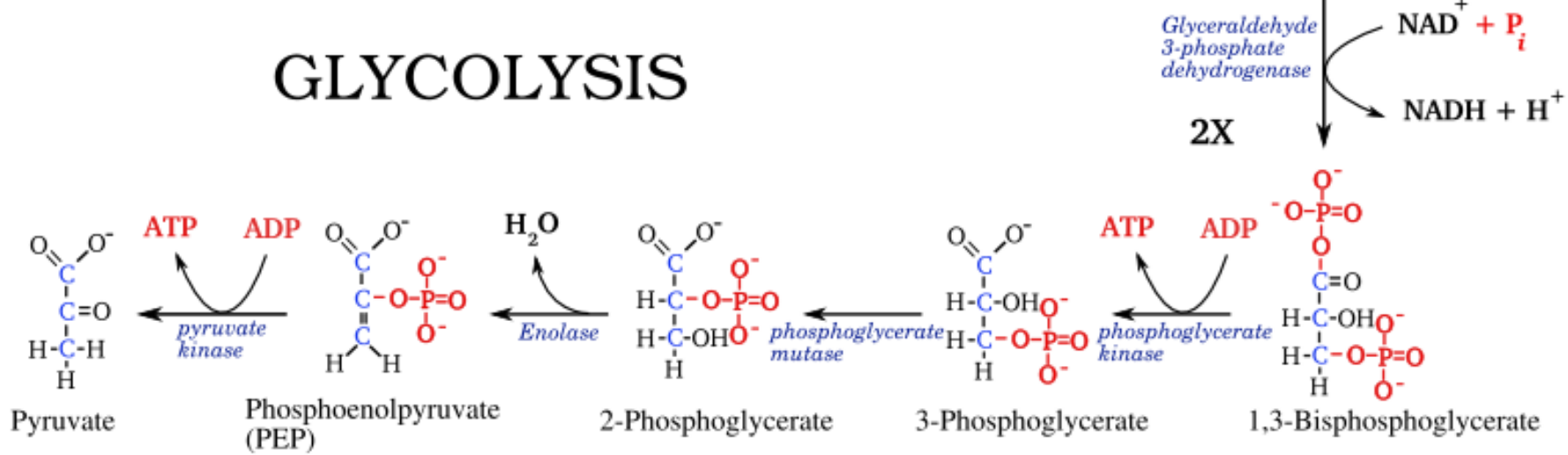
Hexokináza, glukokináza – rozhodují zda glukóza bude využita pro tvorbu energie nebo uskladněna v glykogenu.

2,6-bisfosfo-Fru – aktivátor fosfofruktokinázy katalyzovaný **fosfofruktokinázou 2**. Ta je regulovaná hormonálně inzulínem/glukagonem. Snížená hladina vede ke snížení aktivity fosfofruktokinázy. Naopak dochází ke zvýšené aktivitě enzymu katalyzující opačnou reakci (defosforylaci).





GLYCOLYSIS



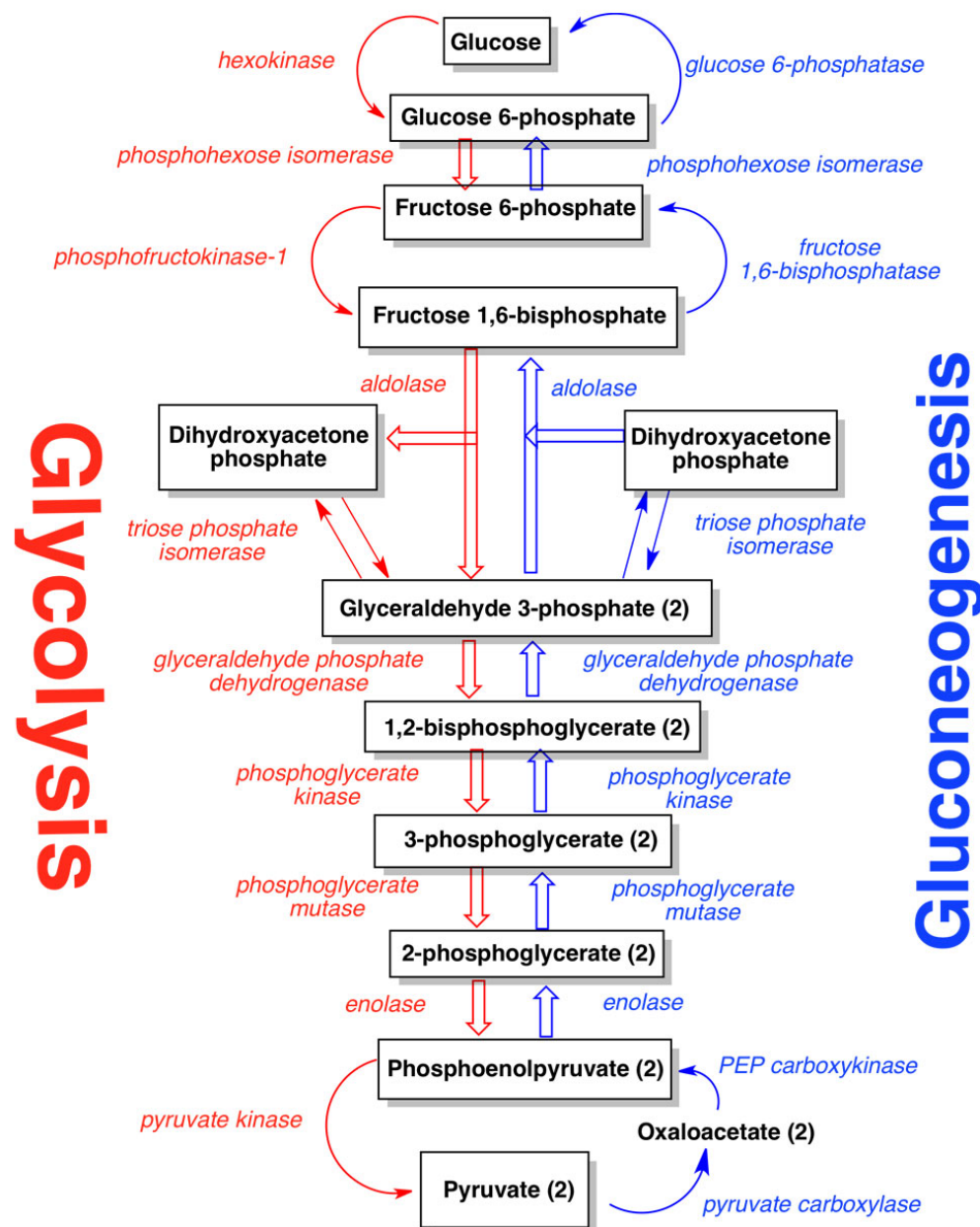
Glukoneogeneze x glykolýza

Pokud je nedostatek glukózy v krvi, játra jsou schopna *obrátit směr* glykolýzy a začít **glukózu syntetizovat**. Tento proces se nazývá **glukoneogeneze**. Játra tak udržují stabilní hladinu glukózy v krvi. Kromě **jater** je glukoneogeneze přítomná i ve **dřeni ledvin**.

Glukóza je syntetizována z necukerných molekul

- pyruvátu, glycerolu (vznikající degradací lipidů), laktátu a některých AMK.

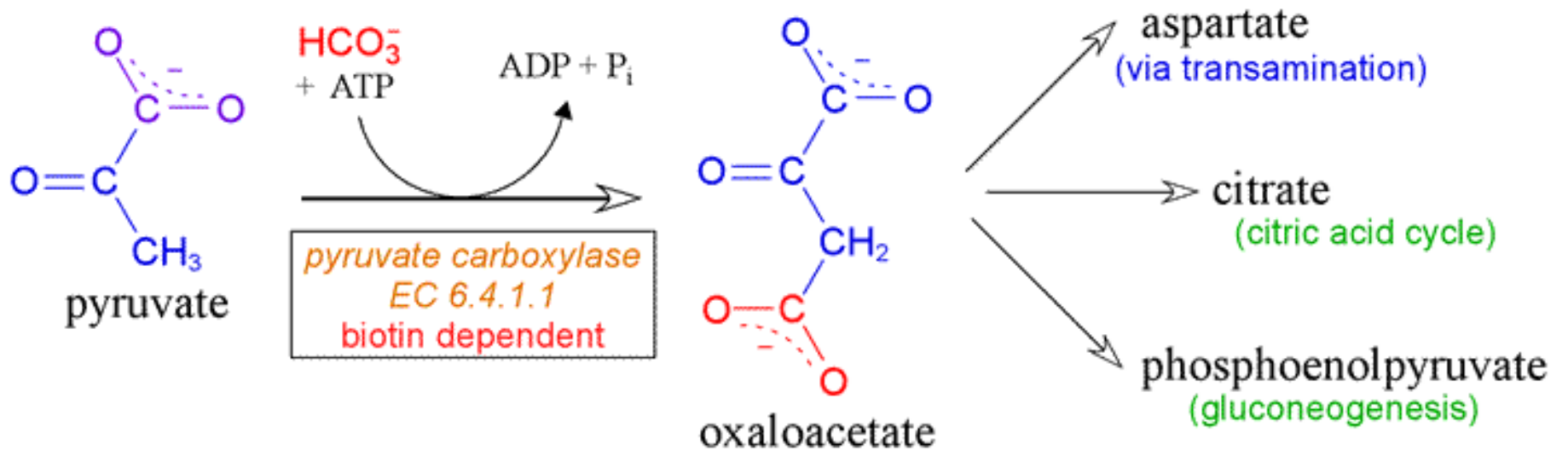
Při glukoneogenezi jsou spotřebovávány **ATP a GTP**.



Glukoneogeneze

Prvním krokem glukoneogeneze je karboxylace pyruvátu (vazba HCO_3^-) na oxalacetát. Tato reakce probíhá v *mitochondriích* a je katalyzována **pyruvát karboxylázou**. Během reakce dochází k hydrolýze ATP. Pokud je v mitochondrii vysoká hladina ADP nebo glukózy, je enzym inhibován.

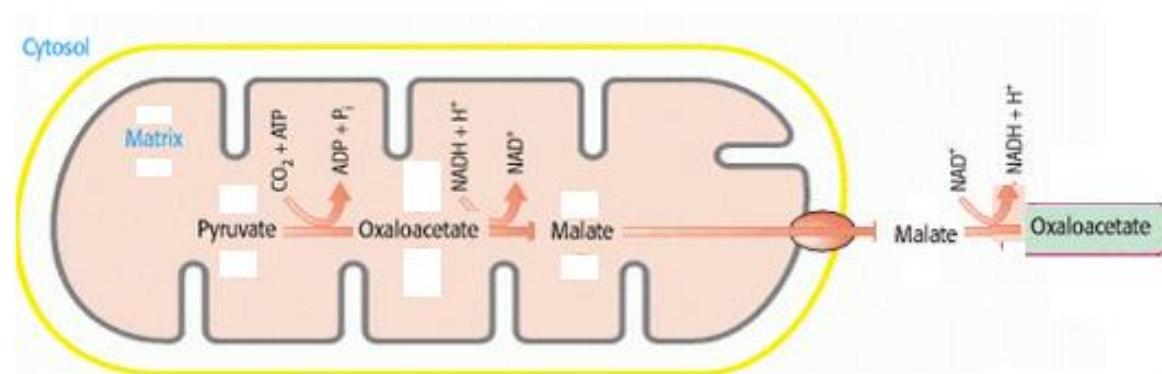
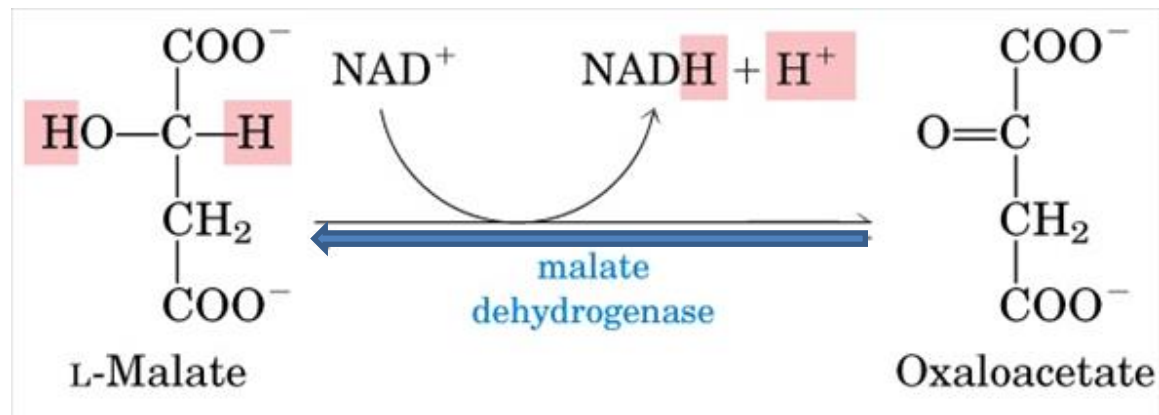
(Na jednu glukózu jsou třeba 2 molekuly pyruvátu!)



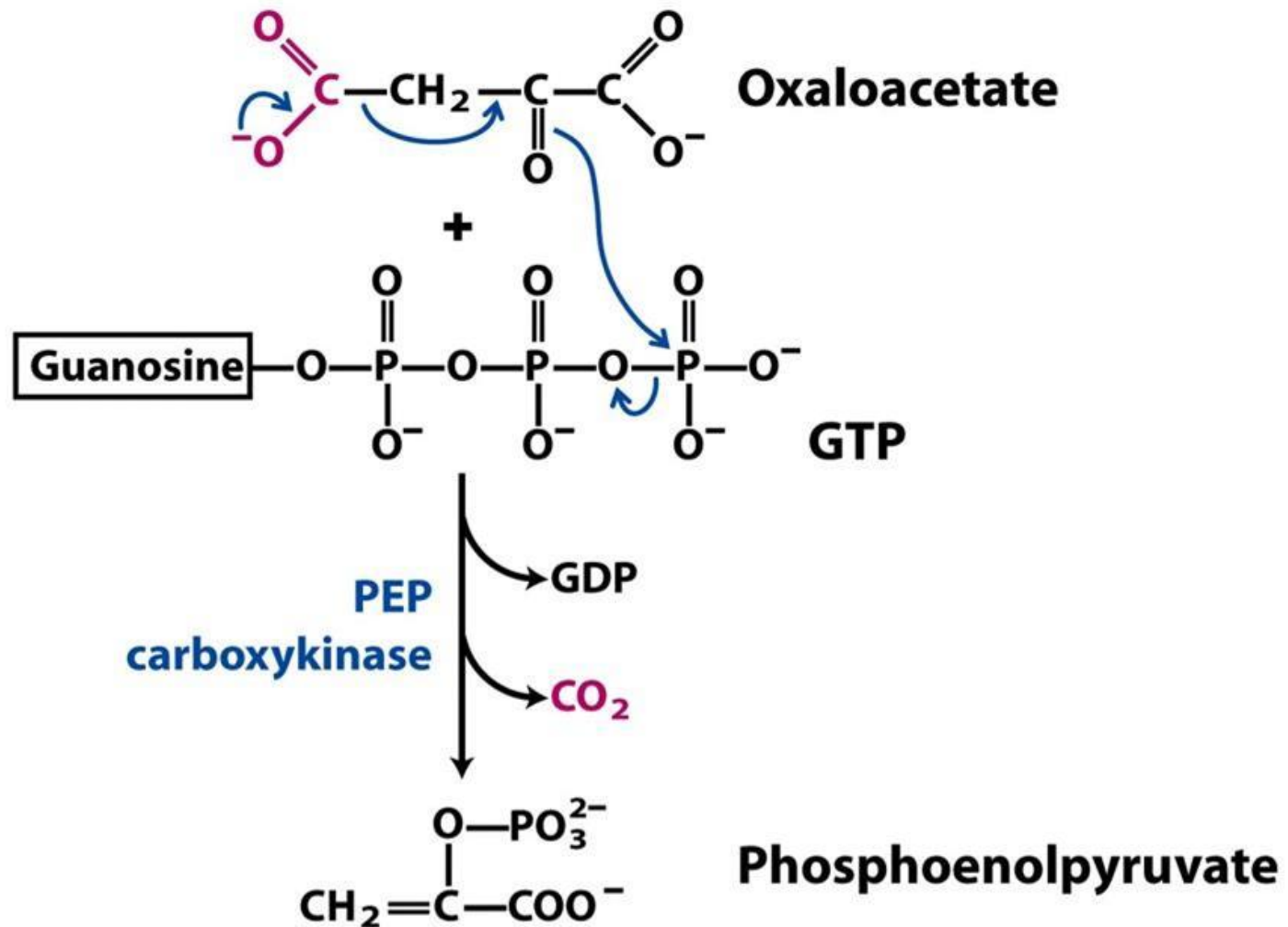
Oxalacetát se potřebuje dostat ven z mitochondrií do cytosolu, kde se nachází další enzymy. Proto je redukován na malát enzymem **malát dehydrogenázou**.

Mitochondrie má na své membráně proteiny (malátový můstek), které transportují malát do cytosolu.

V cytosolu je malát pomocí NAD^+ oxidován zpět na oxalacetát (opět **malát dehydrogenázou**).



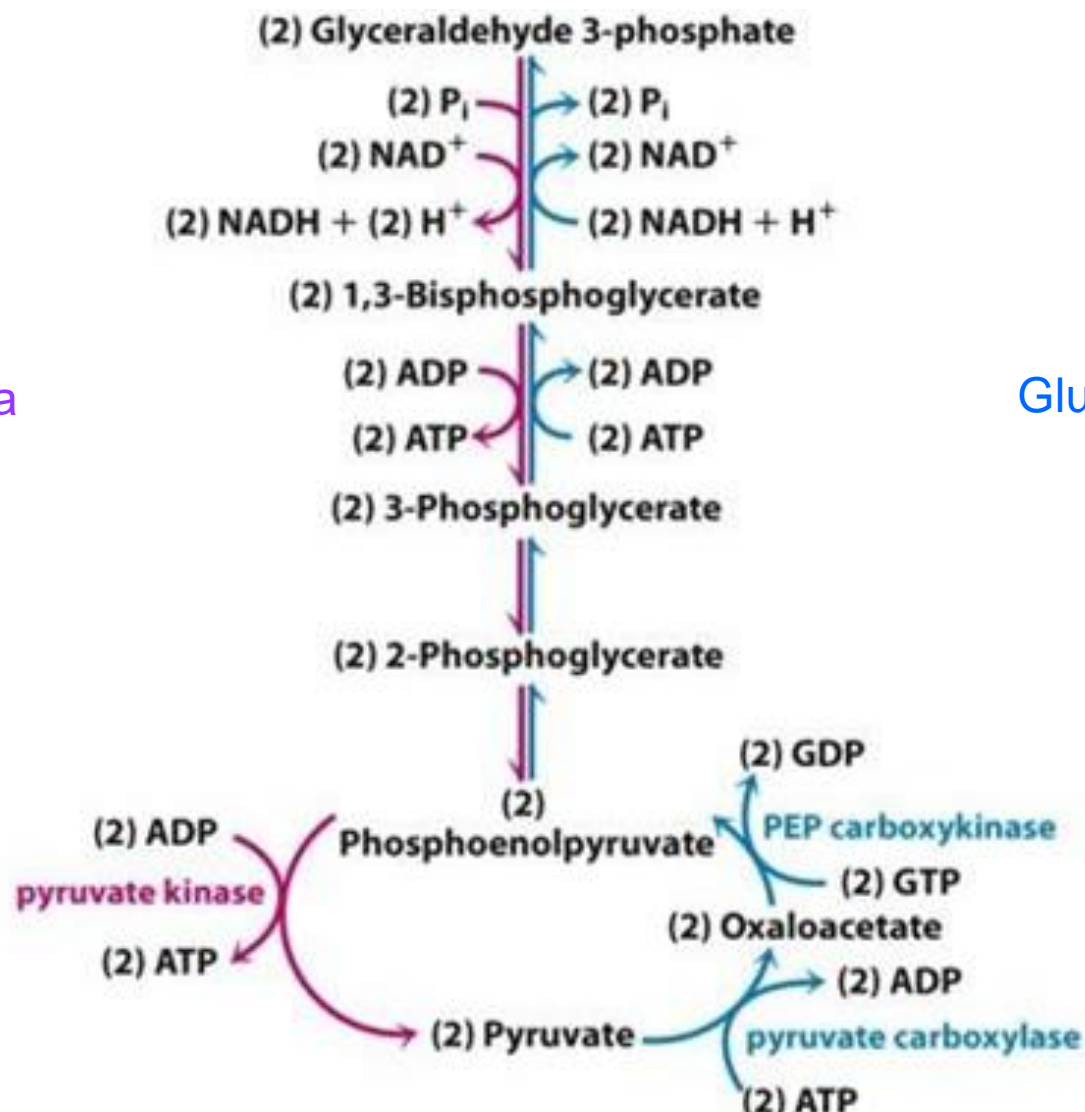
Oxalacetát je pak dekarboxylován a fosforylován enzymem fosfoenolpyruvát karboxykinázou. Jako zdroj fosfátu enzym nevyužívá ATP, ale **GTP**.



Následné kroky jsou podobné s glykolýzou (ta probíhá obráceným směrem). Fosfoenolpruvát je konvertován na glyceraldehyd-3-P a dihydroxyaceton-P.

Glykolýza

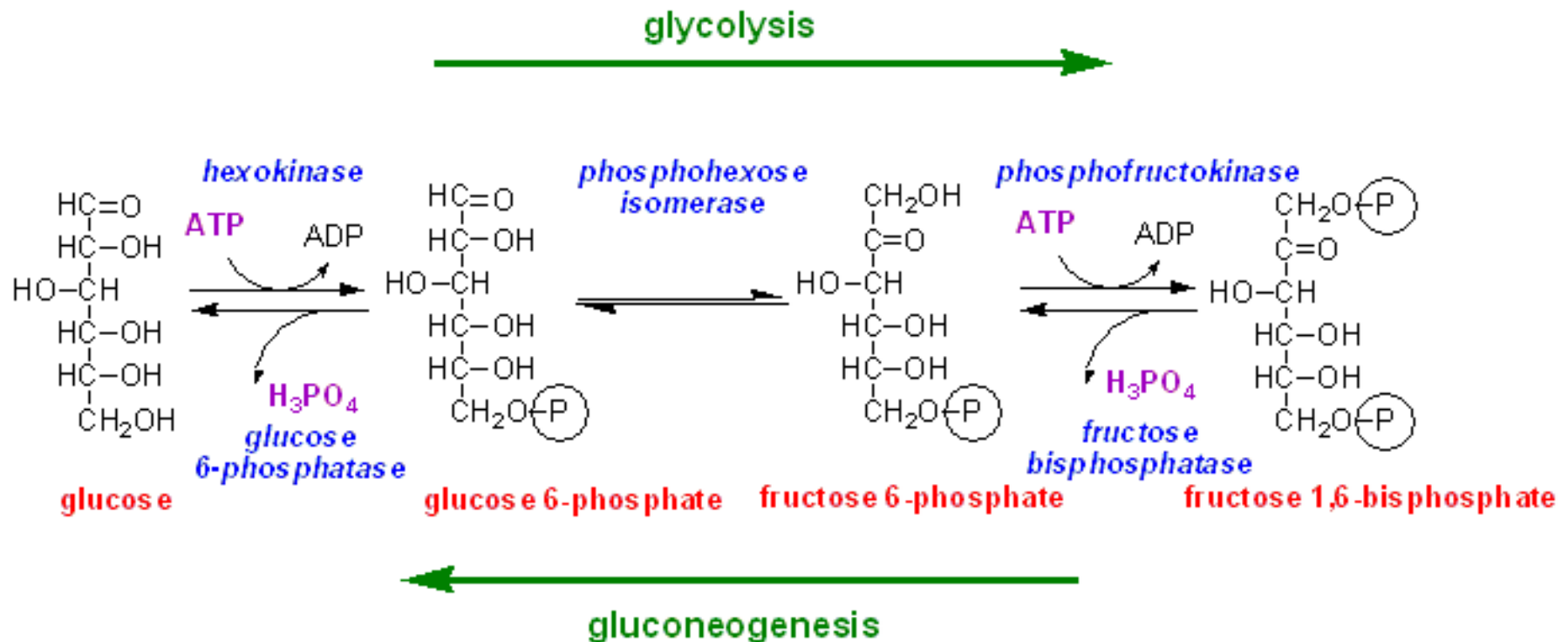
Glukoneogeneze



Aldoláza spojí **3C sacharidy** a vzniká 1,6 – Fru-bisfosfát.

Enzymy hydrolyzující ATP v enzymatické reakci nejsou schopny zpětné reakce. Proto jiný enzym, **1,6 – Fru-bisfosfátáza** katalyzuje odštěpení fosfátu z C1 uhlíku. Fosfatáza je regulována přes malou molekulu, cAMP (cyklický monofosfát), jehož produkce je zvýšena přes hormonální regulaci glukagonem/inzulínem.

Fosfogluukoizomeráza pak transformuje fruktózu na Glc-6P. Ta je další fosfatázou (**Glc-6P fosfatáza**) defosforylována a glukóza může být uvolněna do krevního oběhu.

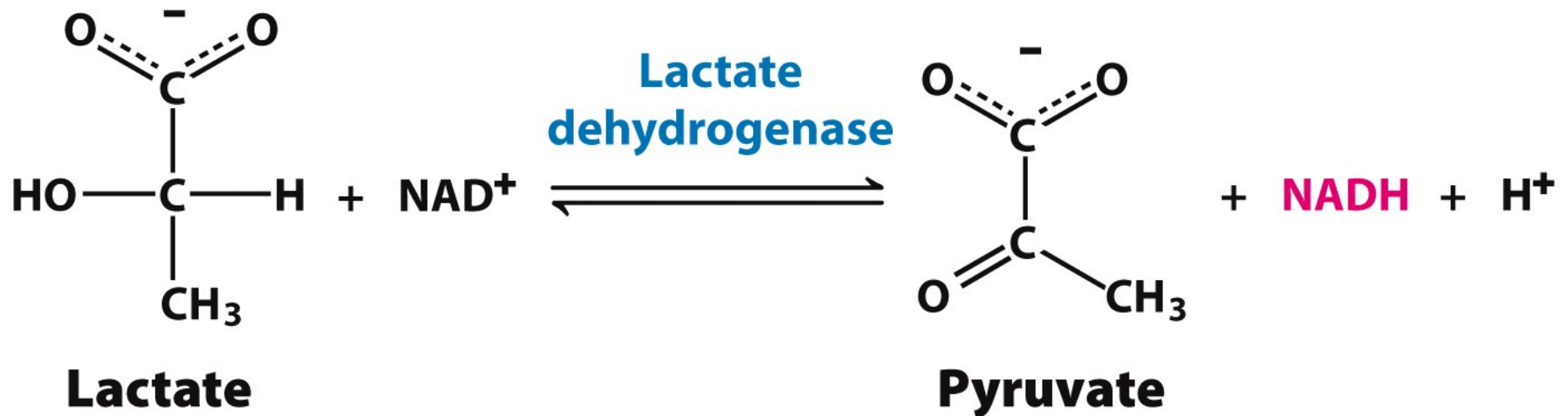


Mléčné kvašení

Jednou z látek, ze kterých lze vytvořit glukózu je laktát. Ten vzniká z pyruvátu v buňkách, které mají nízkou hladinu kyslíku (např. svalové buňky při sprintu).

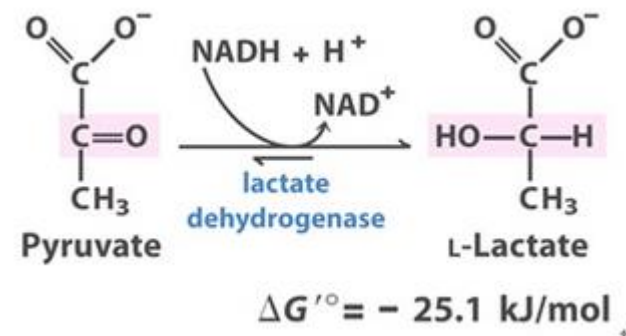
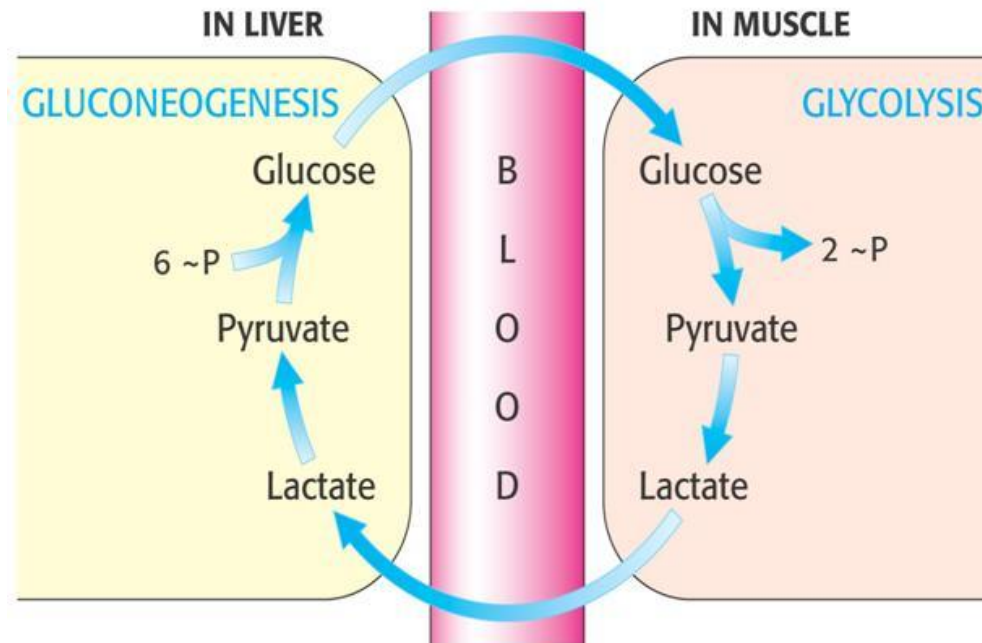
Kyslík (v respiračním cyklu) je důležitý pro regeneraci kofaktoru dehydrogenáz, NAD^+ . Ten je v glykolýze redukován na NADH . Pokud by NAD^+ nebylo regenerováno, dojde k zástavě glykolýzy.

Mechanismu, který krátkodobě dokáže hladinu NAD^+ navýšit je redukce pyruvátu na laktát pomocí enzymu **laktát dehydrogenáza** (v tzv. mléčném kvašení).



Mléčné kvašení se běžně vyskytuje a využívá u bakterií. Reakce je součástí vzniku mléčných produktů – jogurtů a zakysané smetany. Zde laktát snižuje pH natolik, že zamezuje růstu patogenních bakterií a také mění chuť mléka.

Ve svalech vzniká při krátkodobé zátěži. Laktát se ve svalech neukládá, ale je transportován do krve a vychytáván játry. Zde se pomocí **laktát dehydrogenázy** oxidují zpátky na pyruvát. Výměna laktátu mezi svalovou a jaterní buňkou se nazývá **Coriho cyklus**.



Alkoholové kvašení

- bakterie a kvasinky
- využíváno k přípravě alkoholických nápojů nebo pečiva

Funkce podobná jako u mléčného kvašení – regenerace NAD⁺.

V prvním kroku je pyruvát dekarboxylován na acetaldehyd pomocí **acetaldehyd dehydrogenázy**. Následně dochází k redukci acetaldehydu na ethanol (během níž dochází k přenosu H⁻ z NADH na substrát) **alkoholdehydrogenázou**.

Alkoholové kvašení nepotřebuje kyslík, některé kvasinky této dráze dávají přednost před respiračním cyklem i za jeho přítomnosti.

