

# I I. Metabolismus cukrů

## glykolýza a pentózový cyklus



- Sacharidy se podílí na látkové přeměně a produkci energie
- Strukturní složky mnoha významných metabolitů
- Polysacharidy a oligosacharidy jsou metabolizovány až po enzymatickém rozštěpení na monosacharidy
- Enzymy štěpící polysacharidy nazýváme polyasy, oligosacharidy jsou štěpeny olisasami a enzymy obecně štěpící glykosidové vazby se nazývají glykosidasy, nebo sacharidasy
- Příkladem je  $\alpha$ -amylasa, která katalyzuje hydrolýzu amylosy, amylopektinu a glykogenu (štěpí uvnitř molekuly)

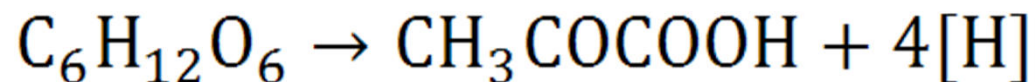


- Dále  $\beta$ -amylasa štěpící obdobné substráty, ale na jiné produkty – odštěpuje z volných konců glykosidových řetězců maltosové jednotky až po větvení 1→6
- Oligosacharidy jsou štěpeny např. sacharidasou, která štěpí  $\beta$ -fruktosidovou vazbu v sacharose
- Hydrolýzu  $\alpha$ -glukosidových vazeb katalyzuje  $\alpha$ -glukosidasa, nebo maltasa
- Celulasa štěpí celulosu a produkuje cellobiosu
- Cellobiosu pak štěpí cellobiasa
- Fyziologicky významná je i laktasa štěpící laktosu obsaženou v mateřském mléce
- Vzniklé monosacharidy jsou metabolizovány po transformaci na fosforečné estery



## GLYKOLÝZA

- Základní metabolický děj probíhající téměř ve všech buňkách savců
- Jeho úkolem je uvolnění energie uložené v glukóze
- Buňky zpracovávají 70 – 80% sacharidů přijatých v potravě



- Během štěpení glukózy se uvolní ještě 2 ATP (z krevní glukózy), nebo 3 ATP (z rezervního polysacharidu)
- Pyruvát je velmi hodnotným meziproduktem metabolismu, který v sobě skrývá ještě cca 75% z celkové energie hexosy



## MECHANISMUS GLYKOLÝZY

- Glykolýza probíhá v cytoplasmě a můžeme ji rozdělit do tří fází
- **1. Aktivace krevní glukózy a přeměna na glycerinaldehyd-3-fosfát**
  - Krevní glukóza musí být aktivována dvojnásobnou fosforylací pomocí 2 ATP, které se v dalších fázích glykolýzy získají zpět
  - I. První fosforylace produkuje D-glukóza-6-fosfát vznikající z krevní glukózy a ATP za katalýzy hexokinasou. Je-li výchozím substrátem rezervní polysacharid, tento krok probíhá bez spotřeby ATP. Glykogen je fosforolyticky štěpen na D-glukóza-1-fosfát za katalýzy glykogenfosforylasou (aktivátorem enzymu je AMP, inhibítorem je glukóza) a tento fosfát je fosfoglukomutasou izomerován na D-glukóza-6-fosfát

- II. Izomerace D-glukóza-6-fosfátu na  $\beta$ -D-fruktóza-6-fosfát pomocí enzymu glukózafosfátisomerasy
- III. Druhá fosforylace je nejpomalejší reakcí celé glykolýzy a celou glykolýzu reguluje, vzniká  $\beta$ -D-fruktóza-1,6-bisfosfát, reakce vyžaduje ATP a je katalyzována enzymem 6-fosfofruktokinasou (specifický allosterický enzym inhibovaný ATP, fosfoenolpyruvátem a citrátem, aktivovaný AMP a ADP) – je regulatorním enzymem celé glykolýzy
- IV. Štěpení fruktóza-1,6-bisfosfátu probíhá mechanismem obrácené aldolizace a je katalyzováno fruktózabisfosfátaldolasou (lyasa)
- Vzniklé triózafosfáty udržuje v rovnováze triózafosfátisomerasa (rovnováha se ustavuje při 4% glyceraldehyd-3-fosfátu a 96% dihydroxyacetonfosfátu), která umožňuje zpracování obou molekul triózafosfátů



- **2. Dehydrogenace glyceraldehyd-3-fosfátu**

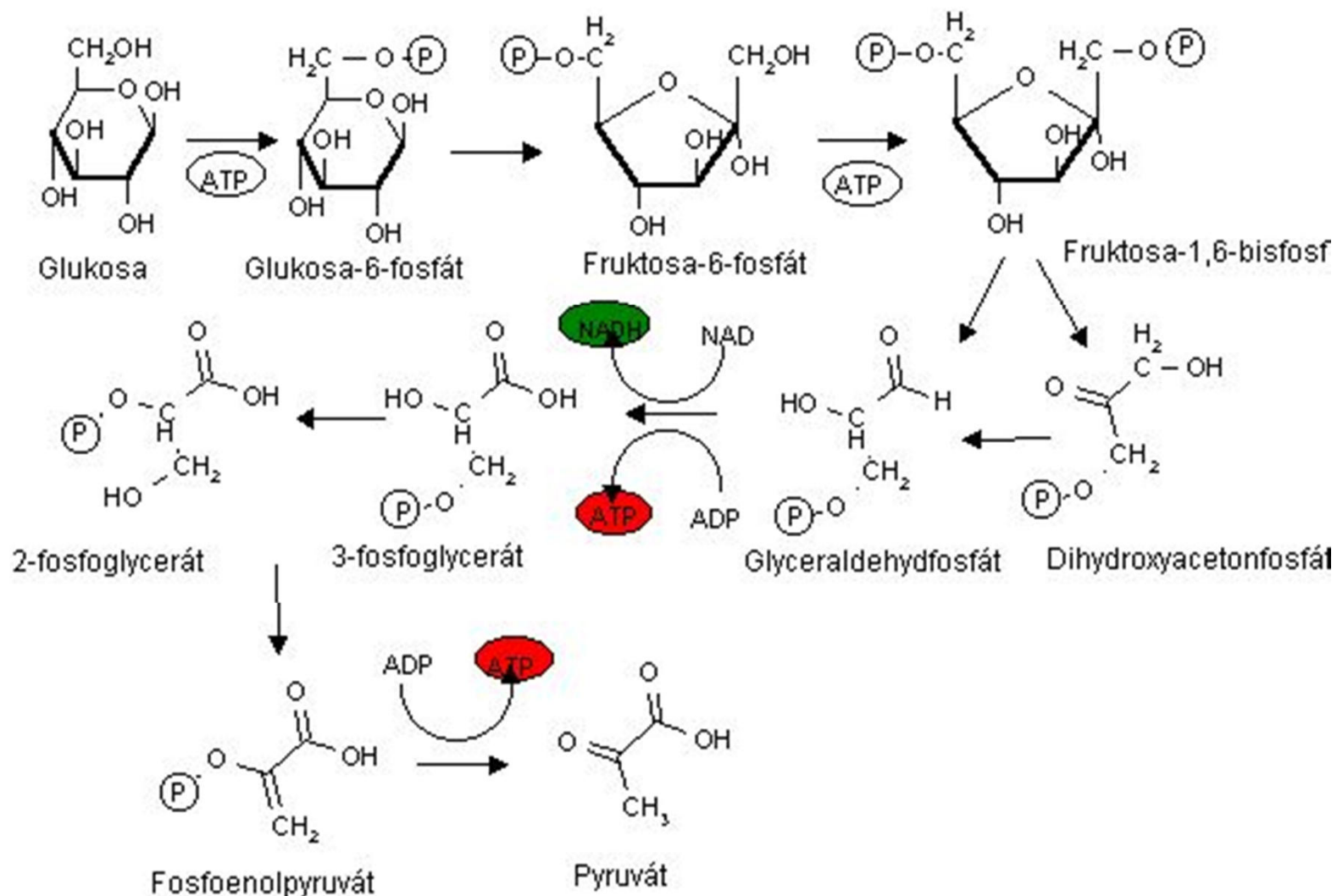
- Jediná oxidační reakce celé glykolýzy
- V anaerobním metabolismu oxidace probíhá odstěpením atomů vodíku, kyslík a další atomy poskytuje kyselina fosforečná
- Energie reakce se ukládá do vzniklého 1,3-bisfosfoglycerátu (Dehydrogenaci katalyzuje enzym glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasa s kofaktorem  $\text{NAD}^+$  a aktivované vodíky jsou odštěpovány po jednom ze substrátu a z kyseliny fosforečné), který v další reakci substrátově fosforyluje ADP na ATP a přechází na 3-fosfoglycerát
- Redukovaný kofaktor  $\text{NADH} + \text{H}^+$  je oxidativně regenerován v dýchacím řetězci, nebo fermentačně v různých reakcích



- **3. Vznik pyruvátu**

- 3-fosfoglycerát je fosfoglyceromutasou izomerován na 2-fosfoglycerát
- Ten je enolázou dehydratován na 2-fosfoenolpyruvát, který za katalýzy pyruvátkinasy fosforyluje ADP v procesu substrátové fosforylace na ATP
- Tato reakce je nevratná a uzavírá cestu zpětné syntézy glukózy z pyruvátu
- Tím je umožněna regulace syntézy a odbourání sacharidů
- Vzniklý enolpyruvát se spontánně a velmi rychle tautomerizuje na keto formu – pyruvát





<http://www.viviente.cz/images/clanky/glykolyza-sacharidy.jpg>



## ENERGETICKÁ BILANCE GLYKOLÝZY

- 2 ATP se spotřebují na aktivaci glukózy, ovšem 2 ATP vznikají při fosforylacích a navrch získáváme i 2 NADH+H<sup>+</sup> a 2 molekuly pyruvátu (ty jdou do CC) → 8 ATP
- Z citrátového cyklu: 12 ATP
- Pyruvát na AcCoA: NADH+H<sup>+</sup> 3 ATP
- 15 ATP x 2
- molekuly
- 30 ATP + 8 ATP
- Z jedné molekuly glukózy tedy získáme 38 molekul ATP



## ZAČLENĚNÍ FRUKTÓZY DO GLYKOLÝZY

- Glukóza je hexokinasou přeměňována 10x rychleji než fruktóza → jiný způsob fosforylace
- Enzym fruktosakinasá – vzniká fruktóza-1-fosfát
- Ten se pomocí nespecifické aldolasy přeměňuje na dihydroxyacetonfosfát a glycerinaldehyd
- Glycerinaldehyd je dále fosforylován na glycerinaldehyd-3-fosfát



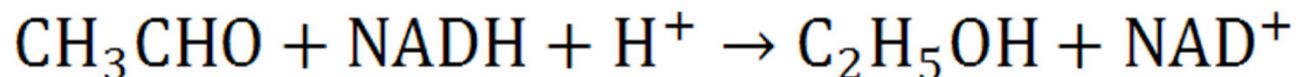
## ZAČLENĚNÍ GALAKTÓZY DO GLYKOLÝZY

- Pomocí galaktokinasy (+ kofaktor ATP) je galaktóza fosforylována na galaktóza-1-fosfát
- V následujícím kroku štěpí enzym galaktosa-1-fosfát-uridylyltransferasa za účasti UDP-glukózy edukt na dva produkty: UDP-galaktózu a glukózu-1-fosfát
- Pomocí enzymu fosfoglukomutasy může být glukóza-1-fosfát přeměněn na glukóza-6-fosfát
- Enzym UDP-glukosa-4-epimerasa se stará o to, aby z UDP-galaktosy mohla být obnovena UDP-glukosa



## ETHANOLOVÁ GLYKOLÝZA

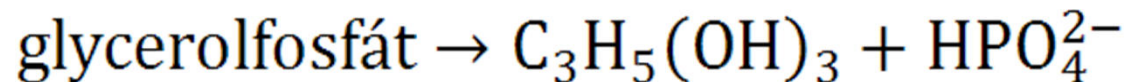
- Anaerobní organismy nemohou provádět oxidativní regeneraci redukovaného  $\text{NADH} + \text{H}^+$  v dýchacím řetězci
- Např. kvasinky používají k reoxidaci acetaldehyd vzniklý dekarboxylací pyruvátu za katalýzy pyruvátdekarboxylasy s koenzymem thiamindifosfátem



- Ethanol kvasinkám do koncentrace cca 15% nevadí
- Vyšší koncentrace ethanolu již i na ně působí toxicky a usmrcuje je
- Energetický zisk se rovná pouze 2 ATP na molekulu glukózy a produkce ethanolu je podmíněna kyselým prostředím

## GLYCEROLOVÁ GLYKOLÝZA

- Při nedostatku acetaldehydu se stává akceptorem aktivovaných H dihydroxyacetonfosfát, ze kterého vzniká glycerolfosfát a následnou hydrolýzou katalyzovanou fosfatázami je produkován glycerol
- $$\text{dihydroxyacetonfosfát} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{glycerolfosfát} + \text{NAD}^+$$



- Redukci dihydroxyacetonfosfátu na glycerol lze vyvolat přidavkem činidel reagujících se vznikajícím acetaldehydem (hydrogensířičitan sodný), který vytvoří bisulfitovou sloučeninu neschopnou reakce s  $\text{NADH} + \text{H}^+$
- Tento pochod byl používán při průmyslové výrobě glycerolu sulfitovou metodou v kyselém prostředí



## SMÍŠENÁ GLYKOLÝZA

- V alkalickém prostředí dochází k rychlé dismutaci dvou molekul acetaldehydu na ethanol a kyselinu octovou
- Acetaldehyd není k reoxidaci  $\text{NADH} + \text{H}^+$  k dispozici
- Aktivované vodíky jsou proto opět předávány na dihydroxyacetonfosfát, ze kterého vzniká glycerol
- V tomto případě vzniká směs všech tří produktů (ethanol, kyselina octová i glycerol)



## PENTÓZOVÝ CYKLUS

- K získu aktivovaných vodíků určených k biochemickým redukcím –  $\text{NADPH} + \text{H}^+$
- V cytoplasmě a pomocí  $\text{NAD(P)}^+$  - transhydrogenasy je spojen se systémem  $\text{NADH} + \text{H}^+$
- Umožňuje úplnou oxidaci glukózy na  $\text{CO}_2$  bez zapojení citrátového cyklu a dýchacího řetězce
- Poskytuje také ribózafosfát pro syntézy nukleových kyselin a nukleotidových kofaktorů
- Amfibolický děj
- Doplnkový cyklus – převážně v jaterních buňkách savců
- V rostlinných buňkách zpracovává 20 – 30% vyrobených sacharidů

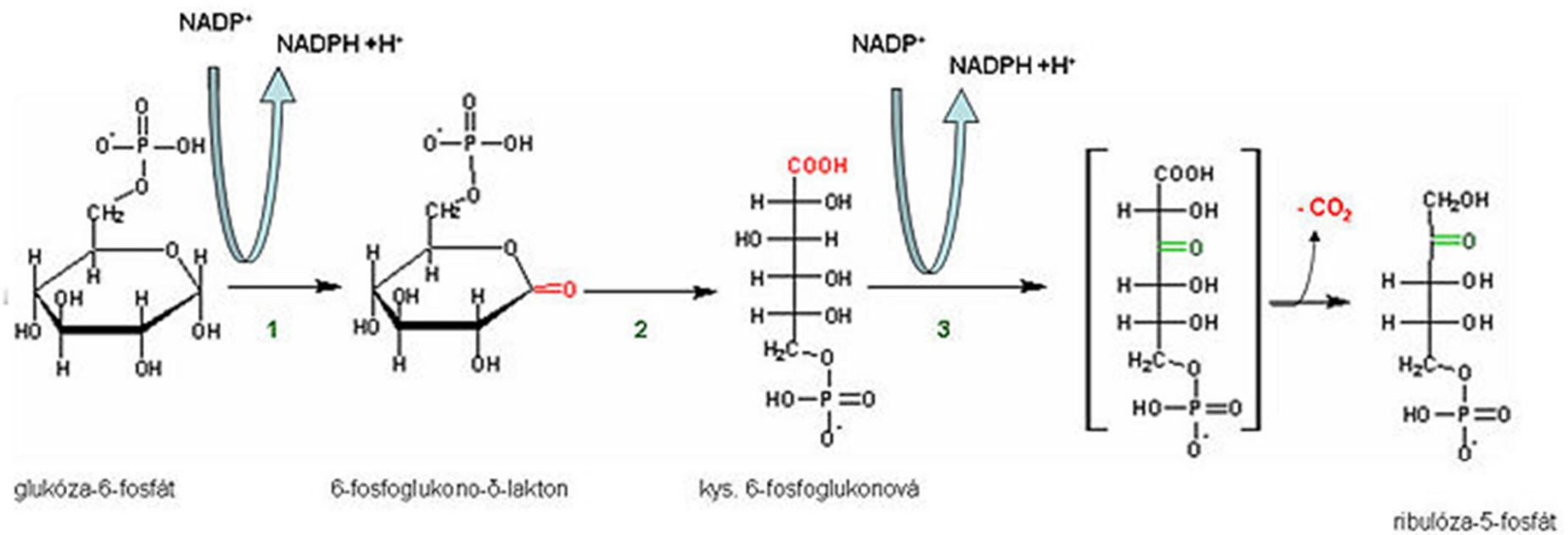


# MECHANISMUS PENTÓZOVÉHO CYKLU

## • 1. Oxidační fáze

- Glukóza-6-fosfát se za katalýzy glukóza-6-fosfátdehydrogenasy s kofaktorem  $\text{NADP}^+$  oxiduje na 6-fosfoglukonolakton
- Ten se v další reakci hydrolyzuje specifickou laktonasou na 6-fosfoglukonát
- Působením fosfoglukonátdehydrogenasy opět s kofaktorem  $\text{NADP}^+$  se oxiduje  $\text{C}_3$  uhlík 6-fosfoglukonátu za vzniku 3-oxo-6-fosfoglukonátu ( $\beta$ -ketokyselina), který samovolně a rychle dekarboxyluje na D-ribulózu-5-fosfát
- Větší část D-ribulóza-5-fosfátu se účinkem ketoisomerasy převádí na D-ribózu-5-fosfát – k syntéze nukleotidů
- Zbytek D-ribulóza-5-fosfátu se epimerasou převede na D-xylulóza-5-fosfát, který je zpracováván v regenerační fázi
- Výsledkem je získání 2  $\text{NADPH} + \text{H}^+$



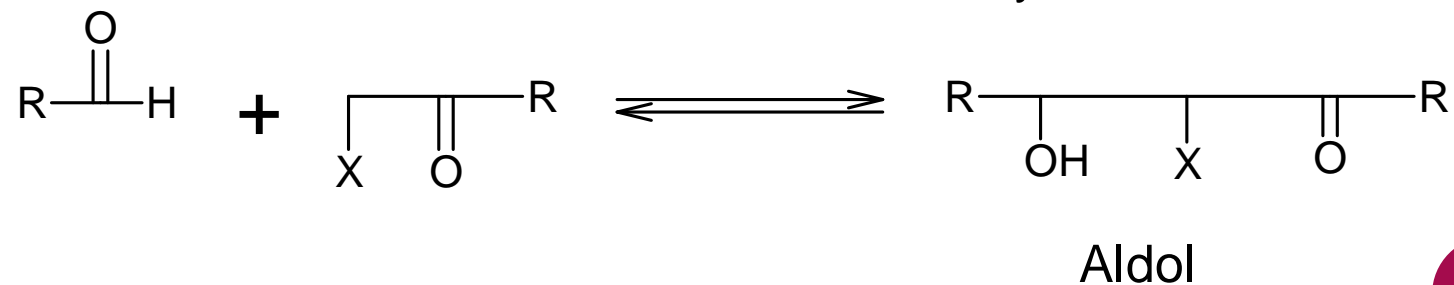
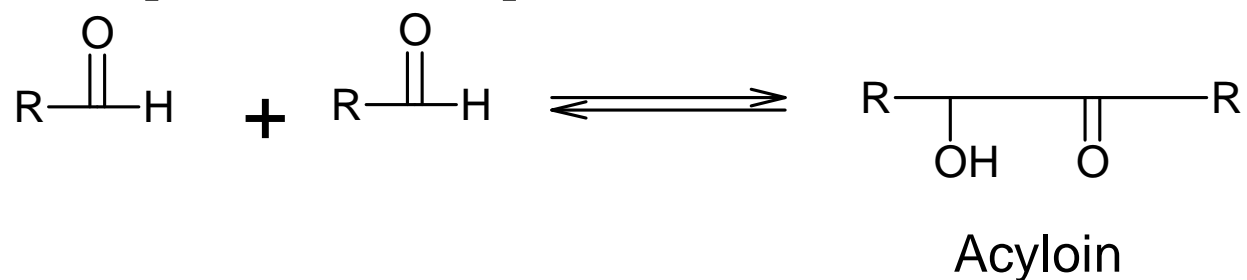


- 1 - glukóza-6-fosfát-dehydrogenáza
- 2 - 6-fosfo-glukonolaktonáza
- 3 - fosfoglukonátdehydrogenáza



## ○ 2. Regenerační fáze

- D-xylulóza-5-fosfát se převádí pomocí transketolas a transaldolas na glukóza-6-fosfát
- Mechanismus využívá acyloinovou reakci, kterou katalyzují transketolasy a aldolizační reakci, kterou katalyzují transaldolasy
- První 3 reakce probíhají dvojnásobně
- Z šesti pentóz vzniká pět hexóz



- a) Prvá reakce

- D-xylulóza-5-fosfát reaguje s D-ribulózou-5-fosfátem za katalýzy transketolasou, která přenáší dvojici uhlíků ( $C_1$  a  $C_2$ ) z D-xylulóza-5-fosfátu ve formě glykolaldehydu na  $C_1$  uhlík D-ribulóza-5-fosfátu za vzniku D-sedoheptulóza-7-fosfátu a glyceraldehyd-3-fosfátu.

- b) Druhá reakce

- Oba produkty první reakce spolu zreagují za katalýzy transaldolázou, která přenáší trojici uhlíků ( $C_1 - C_3$ ) z D-sedoheptulóza-7-fosfátu ve formě dihydroxyacetonu na glyceraldehyd-3-fosfát za vzniku D-fruktóza-6-fosfátu a D-erythróza-4-fosfátu.



- c) Třetí reakce

- D-xylulóza-5-fosfát reaguje s D-erythrózou-4-fosfátem za katalýzy transketolasou, která přenáší dvojici uhlíků ( $C_1$  a  $C_2$ ) z D-xylulóza-5-fosfátu ve formě glykolaldehydu na  $C_1$  uhlík D-erythróza-4-fosfátu za vzniku D-fruktóza-6-fosfátu a glycerinaldehyd-3-fosfátu
- Těmito reakcemi vznikly 2 molekuly D-fruktóza-6-fosfátu a 1 molekula glycerinaldehyd-3-fosfátu
- Po opakovaném proběhnutí prvních tří reakcí vzniknou celkem 4 molekuly D-fruktóza-6-fosfátu a 2 molekuly glycerinaldehyd-3-fosfátu



- d) Čtvrtá reakce
  - Jedna molekula glycerinaldehyd-3-fosfátu se pomocí triosafosfátizomerasy izomeruje na dihydroxyacetonfosfát.
- e) Pátá reakce
  - Dihydroxyacetonfosfát reaguje za katalýzy transaldolasou s glycerinaldehyd-3-fosfátem za vzniku D-fruktóza-1,6-bisfosfátu
- f) Šestá reakce
  - D-fruktóza-1,6-bisfosfát je hydrolyzován na pátou molekulu D-fruktóza-6-fosfátu.
- g) Sedmá reakce
  - Pět molekul D-fruktóza-6-fosfátu je fosfoglukosaisomerasou izomerováno na pět molekul D-glukóza-6-fosfátu





## ZDROJE

- Mathews, Ch. K. – Halde, K. E. – Ahern, K. G., *Biochemistry*, 3. vydání, San Francisco, Benjamin Cummings, 1999, 1186 s., ISBN 99-043683
- Voet, D. – Voet, J. G. – Pratt, Ch. W., *Fundamentals of Biochemistry: life at the molecular level*, 2. vydání, USA, Willey, 2006, 1264 s., ISBN 0-471-21495-7

