

POZNÁMKY K METABOLISMU SACHARIDŮ

Prof.MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.
Ústav lékařské biochemie 1.LF UK v Praze

Přehled hlavních metabolických cest

KATABOLISMUS

- Glykolysa
- Glykogenolysa
- Pentosový cyklus
- Oxidace mastných kyselin (beta-oxidace)
- Degradace aminokyselin
- Syntéza močoviny
- Degradace purinů a pyrimidinů
- Degradace hemu
- Degradace DNA a RNA
- Degradace proteinů

ANABOLISMUS

- Glukoneogenese
- Syntéza glykogenu
- Pentosový cyklus
- Syntéza mastných kyselin a lipidů
- Syntéza aminokyselin
- Syntéza purinů a pyrimidinů
- Syntéza hemu
- Syntéza DNA a RNA
- Syntéza proteinů

INTERMEDIÁRNÍ metabolisMUS

Citrátový cyklus

Úkoly metabolismu

- Hlavní úloha je oxidovat živiny a **uvolnit energii** na tvorbu ATP
- Molekuly živin jsou přeměňovány **na nové buněčné struktury** a podstatné vlastní složky organismu nebo ukládány **do zásobních forem**
- **Odpadní látky** jsou upravovány do forem nejvhodnějších k exkreci močí
- Některé specializované buňky novorozence mohou oxidovat živiny k **uvolnění tepla**. (Teplo je vždy vedlejším produktem metabolismu).

Uskladnění živin v těle

- Živočichové přijímají potravu v periodických intervalech
- Hodinu po jídle glukosa v krvi (glykémie) stoupne z 5 na 7.8 mmol/l
- Živiny jsou uloženy do různých buněk (orgánů), aby mohly být uvolněny později, v době hladovění.
- Během hladovění jsou živiny mobilizovány a přenášeny v těle tam, kde je třeba uvolnit energii a syntetizovat nové struktury.

Syntéza glykogenu

- Energie je do syntézy přenesena z ATP **hexokinasou** a **glukokinasou**
- **UDP-glukosa** jako aktivovaný donor glukosy přidá glukosylový zbytek k neredukujícímu konci glykogenu
- **Větvicí enzym** přenáší blok asi sedmi glukosylových jednotek na C6-OH glukosy začleněné v řetězci
- **Glykogensynthasa** je řízena hormonálně

Degradace (rozklad) glykogenu

- Degradace glykogenu probíhá na jeho neredukujících koncích (**fosforolysa**, nikoli **hydrolysa**)
- Je katalyzována **glykogenfosforylasou, která je řízena hormonálně**
- **Enzym odstraňující větvení (debranching enzyme)** přenáší tři glukosové jednotky z větvení na 4-OH jiného řetězce a odštěpuje též (hydrolysuje) glukosu v místě větvení (vazbu 1 → 6)
- Výsledný G-6-P je štěpen na fosfát a **volnou glukosu** enzymem **glukosa-6-fosfatasou**

Metabolismus glykogenu

- Syntéza a degradace glykogenu jsou dvě různé metabolické cesty a tudíž je možné řídit je nezávisle.
- Glukosa-6-fosfatasa je přítomna v játrech, nikoli ve svalech a tukové tkáni, které tedy nemohou uvolňovat glukosu do krve. Z ostatních tkání jsou tímto enzymem vybaveny jen ledviny.
- V extrahepatálních buňkách (stejně jako v jaterních) glukosa-6-fosfát je součástí metabolických cest oxidace glukosy.
- Insulin v buňkách aktivuje syntézu glykogenu a inhibuje jeho rozklad. Glukagon působí na buňky opačně.

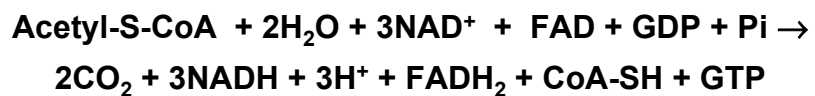
Uvolnění energie z potravin (stručný přehled)

- **Uvolnění energie z glukosy (oxidace glukosy)**
 - * Glykolýza
 - * Citrátový cyklus (cyklus trikarboxylových kyselin)
 - * Systém elektronového transportu
- **Uvolnění energie oxidací triacylglyceridů (neutrálních tuků) a aminokyselin**
- **Interkonvertibilita živin (sacharidů, lipidů a aminokyselin)**

Proč je v játrech glukokinasa a v ostatních orgánech a tkáních hexokinasa ???

- Při hladovění, když hlavním problémem je udržení hladiny glukosy v krvi, vstup glukosy do svalových buněk a buněk jiných tkání je omezen pro nedostatek insulinu, zatímco vstup glukosy do buněk mozku a do erytrocytů je volný, není závislý na insulinu.
- Řešení nelogické situace: Játra syntetizují glukosu z aminokyselin poskytnutých svalovou tkání, aby se udržela její hladina v krvi a tím byla zajištěna normální funkce mozku. **Byl by nesmysl, aby játra o tuto glukosu soutěžila s mozkem. Proto fosforylaci glukosy v játrech katalyzuje glukokinasa s vyšší K_m (nižší afinitou k substrátu) než hexokinasa.**

Stechiometrie citrátového cyklu



$$\Delta G^{\circ'} = -40 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Cyklus běží jen v jednom směru kvůli třem irreverzibilním reakcím:

- syntéza citrátu $\Delta G^{\circ'} = -32.2 \text{ kJ mol}^{-1}$
- dekarboxylace isocitrátu $\Delta G^{\circ'} = -20.9 \text{ kJ mol}^{-1}$
- dekarboxylace α -ketoglutarátu $\Delta G^{\circ'} = -33.5 \text{ kJ mol}^{-1}$

Vnitřní mitochondriální membrána

- * **Transport elektronů** serií redoxních přenašečů ve vnitřní membráně (*dýchací řetězec*) na kyslík.
- * **Čerpání protonů** z matrix na cytosolovou stranu vnitřní mitochondriální membrány (protonový gradient).
Protonmotivní síla = pH gradient + membránový potenciál
- * Protony proudí zpět skrz *ATP syntasu* a pohánějí **syntézu ATP**.

Bilance tvorby ATP na vnitřní mitochondriální membráně

- F_0 komplex má 12 c podjednotek u savců: jedno otočení znamená průchod 12 protonů.
- F_1 část má tři ATP-syntetizující místa: jedno otočení centrální osy znamená syntézu tří ATP z ADP + Pi
- ...4 H^+ musí být dýchacím řetězcem přečerpány z matrix na produkci 1 ATP
- Transport 2 elektronů z NADH na kyslík (komplexy I, III, IV) vypumpuje z matrix 10 protonů, z $FADH_2$ na kyslík (komplexy III, IV) 6 protonů.
- ...Oxidace 1 NADH produkuje 2.5 ATP ... P/O ratio
- ...Oxidace 1 $FADH_2$ produkuje 1.5 ATP ... P/O ratio
- Výkon cytoplazmatického NADH závisí na typu člunku !!
Produkuje 1.5 - 2.5 molekul ATP.

Zisk ATP z oxidace 1 molekuly glukosy na CO₂ a H₂O

- Glykolysa od volné glukosy 2 ATP na substrátové úrovni
- Glykolysa od volné glukosy 5 nebo 3 ATP z 2 NADH (člunky)

- Pyruvátdehydrogenasa 5 ATP z 2 NADH
- Citrátový cyklus 2 ATP ze sukcinyl-S-CoA
- Citrátový cyklus 15 ATP z 6 NADH
- Citrátový cyklus 3 ATP z 2 FADH₂

- **Celkem 30 - 32 ATP z 1 volné glukosy**

Syntéza glukosy (glukoneogenesa)

- Člověk umí syntetizovat glukosu **z laktátu, z většiny aminokyselin** a jiných látek,
NIKOLI z mastných kyselin nebo z acetyl-koenzymu A !
Acetyl-CoA nelze u živočichů přeměnit v pyruvát.
- Glukoneogenesa probíhá v játrech, v malé míře v ledvinách
- Hlavní význam – zajistit normální hladinu glukosy v mozku během hladovění – jinak koma a smrt.

Zdroje pyruvátu používané v játrech k syntéze glukosy

- Aminokyseliny svalů (**alanin**)
- **Laktát** ze svalů
- **Glycerol** z hydrolysy triacylglycerolů

Pentosový cyklus Hexosamonofosfátový zkrat

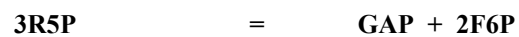
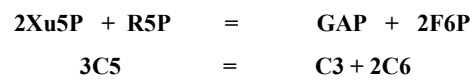
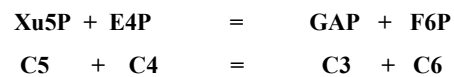
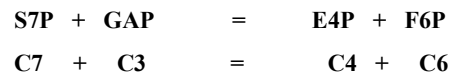
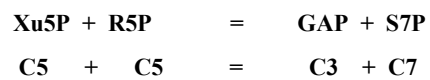
- Obstarává **ribosa-5-fosfát** pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin
- Tvoří **NADPH** pro syntézu lipidů (játra, tuková tkáň) a pro ochranné antioxidační reakce (erytrocyty, redukce glutathionu, redukce methemoglobinu)
- Poskytuje cestu pro využití nadbytku pentos z potravy v základním metabolismu glukosy
- Proces má dvě části, oxidativní (přeměna hexosy na pentosu a redukce NADP^+ na NADPH) a neoxidativní část (mezipřeměny C3, C4, C5, C6 and C7 monosacharidů (enzymy **transaldolasa** a **transketolasa**)).

Syntéza glukosy (glukoneogenesa)

- Výchozím metabolitem je **pyruvát**. Acetyl-CoA nemůže být přeměněn na pyruvát a tak nemohou být mastné kyseliny převedeny na glukosu
- **Tři reakce glykolysy jsou irreverzibilní** (hexokinasová, fosfofruktokinasová a pyruvátkinasová). Nemohou být použity v glukoneogenesi.
- Syntéza fosfoenolpyruvátu vyžaduje 2 fosfáty s vysokým potenciálem přenosu v **pyruvátkarboxylasové a PEP karboxykinasové** reakci.

Pentosový cyklus Hexosamonofosfátový zkrat

- Obstarává **ribosa-5-fosfát** pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin
- Tvoří **NADPH** pro syntézu lipidů (játra, tuková tkáň) a pro ochranné antioxidační reakce (erytrocyty, redukce glutathionu, redukce methemoglobinu)
- Poskytuje cestu pro využití nadbytku pentos z potravy v základním metabolismu glukosy
- Proces má dvě části, oxidativní (přeměna hexosy na pentosu a redukce NADP^+ na NADPH) a neoxidativní část (mezipřeměny C3, C4, C5, C6 and C7 monosacharidů (enzymy **transaldolasa a transketolasa**)).



Řízení metabolismu sacharidů a lipidů

- Potřeba energie organismu kolísá v různých situacích
- Metabolické cesty musí pracovat jiným směrem po jídle, kdy se metabolity ukládají do zásob a mezi jídly, kdy se ze zásob uvolňují a použijí

Jak jsou enzymy řízeny ?

- změnami v **množství** enzymu (syntéza nových molekul enzymu) ... pomalé
- změnami rychlosti katalýzy enzymem (allosterické řízení nebo kovalentní modifikace enzymu – **fosforylace**) rychlé

Allosterické řízení

- Ligand (allosterický efektor nebo moderátor s rozdílnou strukturou od substrátu) se naváže na vazebné místo odlišné od vazebného místa pro substrát (“allo” = jiný) a tím mění aktivitu enzymu.
- Tudíž: Allosterický efektor (metabolit) nemusí mít žádný vztah k substrátu enzymu, který řídí (a obvykle ho nemá). To znamená, že jakákoli metabolická cesta může být regulačně spojena s jinou metabolickou cestou.

Řízení enzymové aktivity fosforylací

Kovalentní modifikace enzymu : fosforylace skupiny -OH serinu nebo threoninu (ATP, proteinkinasa). Následkem toho se změní konformace enzymu a tím i jeho aktivita (stoupne nebo klesne).

Dvě třídy řízení metabolických cest

Vnitřní řízení (v buňce) – převážně allosterické. To je automatické řízení, při kterém metabolity signalizují (dávají informaci) části své vlastní metabolické cesty i jiné metabolické cestě, což umožňuje hladký chod chemického „stroje“ (bez výrazných metabolických výkyvů či nedostatků).

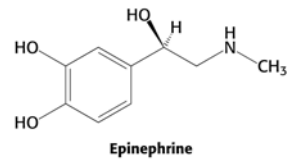
Zevní řízení (zevně vzhledem k buňce, vnitřně vzhledem k organismu). Signály (hormony, neurotransmitery) instruuji buňky jakým hlavním směrem má metabolismus ubíhat – má-li se skladovat zásobní látky nebo uvolňovat.

Zevní (hormonální) řízení metabolismu sacharidů a lipidů v organismu

Insulin – malý peptid secernovaný B-buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu při zvýšené glykémii (po jídle)

Glukagon (hormon hladu, peptid) je tvořen A- buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu, při nízké hladině glukosy v krvi.

Adrenalin (derivát tyrosinu) se uvolňuje z dřene nadledvin při stresu.



Noradrenalin (derivát tyrosinu) se uvolňuje ze zakončení sympatických nervů (příprava k boji, k obraně).

Glukagon (hormon hladu, peptid) podporuje odbourávání zásob živin a uvolňování energie.

Insulin působí opačně – podporuje uskladnění glukosy a tuků.

Přehled řízení glykogenfosforylasy

- V nepřítomnosti hormonální stimulace je fosforylasy v nefosforylované formě 'b', která je neaktivní, pokud není allostericky (částečně) aktivována přítomností AMP (nikoli cAMP !!). Tato aktivace není zprostředkována fosforylací.

- Za normální svalové kontrakce jsou do cytosolu uvolněny ionty Ca^{2+} na základě signálu přicházejícího motorickým nervem a tyto ionty allostericky aktivují fosforylasakinasy 'b'; to způsobí částečnou aktivaci fosforylasy. Na rozdíl od aktivace fosforylasakinasy 'b' vyvolané cyklickým AMP (cAMP), aktivace tohoto enzymu ionty Ca^{2+} nezahrnuje fosforylací a trvá pouze po dobu kontrakce, protože ionty Ca^{2+} jsou ihned odčerpány, je-li zrušen nervový signál.

Přehled řízení glykogenfosforylasy. (pokrač.)

- Adrenalin ve svalu zvyšuje hladinu cAMP.

- cAMP allostericky aktivuje PKA, která pak aktivuje fosforylasa-b-kinasu. Ta fosforyluje fosforylasu 'b' na aktivní formu 'a', která k aktivaci nepotřebuje AMP. Proces je amplifikující signální kaskáda.

- Fosfoproteinfosfatasa 1 je schopna měnit formu 'a' zpět na formu 'b', to však není možné, dokud je přítomná proteinkinasa A (PKA) aktivovaná cyklickým AMP. PKA totiž aktivuje inhibitor fosfoproteinfosfatasy (inhibitor 1), takže fosforylasy může být inaktivována až po zrušení hormonálního signálu.

Řízení glykolysy ve svaích

PFK₁ ve svalu nesmí být inhibována uvolněným adrenalinem, protože (na rozdíl od jater) je zde třeba při obraně a boji maximální glykolysa. V přítomnosti adrenalinu byl pozorován vzestup fruktosa-2,6-bisfosfátu ve svalu.

Spekulace: Vzestup je asi způsoben vzestupem hladiny fruktosa-6-fosfátu (substrátu pro PFK₂) jako následek cAMP-indukované degradace glykogenu. Je známo, že fruktosa-6-fosfát aktivuje PFK₂.

Vnitřní řízení citrátového cyklu a transportu elektronů v dýchacím řetězci

Hlavním vnitřním řídícím faktorem je dostupnost NAD⁺ a ADP jako substrátů. Uplatňuje se i allosterická kontrola.

Vysoký poměr NADH/ NAD⁺ inhibuje dehydrogenasy citrátového cyklu.

Když je poměr ADP/ATP nízký, transport elektronů v dýchacím řetězci je inhibován, protože oxidace a fosforylace je těsně svázána. Tento vztah se nazývá **respirační kontrola**.

Kromě tohoto řízení ATP inhibuje citrátsynthasu a ATP inhibuje a ADP stimuluje isocitrátdehydrogenasu.

Sukcynyl-CoA a NADH inhibují 2-oxoglutarátdehydrogenasu (α -ketoglutarátdehydrogenasu).

Podle:

Elliott W.H., Elliott D.: Biochemistry and Molecular
Biology, Oxford University Press, 2001.

Lodish H. et al.: Molecular Cell Biology, páté vydání,
W.H.Freeman and Co., New York, 2003