

Обмяна на въглехидрати

Цели

Цели на преподавателя:

Да се разгледат метаболитните пътища във въглехидратната обмяна и да се дадат примери за заболявания, произтичащи от дефекти в тази обмяна.

След работа с този раздел студентите ще могат да постигнат следните учебни цели:

А. Знания

1. Да дадат определение и примери за значението на всеки от пътищата във въглехидратната обмяна: гликолиза, глюконеогенеза, пентозо-фосфатен път, синтеза и разграждане на гликоген, обмяна на галактоза и обмяна на фруктоза;
2. За всеки от споменатите пътища да пишат с формули химичните реакции и да посочат ензимите, които ги катализират
3. Да изброят видовете совалки за пренос на водород и да опишат съставните им компоненти;
4. Да посочат кои са необратимите стъпала в гликолитичната верига и в глюконеогенезата;
5. Да посочат кои са регулаторните ензими за гликолиза и глюконеогенеза;
6. Да посочат общите метаболити за гликолиза и пентозофосфатен цикъл;

Б. Разбирания

1. Да обяснят защо гликолизата може да протича в анаеробни условия;
2. Да обяснят как се осигурява окислен НАД за окислителното фосфорилиране на глицералдеhid-3-фосфат в гликолизата;
3. Да сравнят и обяснят приликите и разликите между окислителното фосфорилиране на глицералдеhid-3-фосфат и енолазната реакция в гликолизата;
4. Да обяснят ролята на окислителното декарбоксилиране на α -кетокиселини за въглехидратната обмяна;
5. Да обяснят действието и значението на малатната и глицерол-фосфатната совалкови системи;
6. Да илюстрират с конкретни примери как се получава НАДФН, необходим за обезвреждане на свободни радикали;
7. Да обяснят разликите между хидролитно и фосфоролитично разграждане на гликоген;
8. Да обяснят причините, поради които може да възникне лактатна ацидоза;
9. Да разбират и обяснят последствията от недостатъчност на пируваткиназа, фруктозо-1,6-бисфосфатаза, глюкозо-6-фосфатаза, глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа, мускулна гликоген фосфорилаза, галактозо-1-фосфат уридилтрансфераза, галактокиназа;

В. Умения

1. Да разграничат в кои стъпала на гликолиза и цитратен цикъл се получават макроергични съединения, предшественици на АТФ и в кои стъпала се получава АТФ;
2. Да приложат познанията си върху макроергични съединения и да определят кои междинни метаболити, продукти или субстрати в гликолизата и цитратния цикъл са макроергични съединения;
3. Да посочат връзките между гликолиза и дихателните вериги;
4. Да посочат връзките между гликолиза и цитратен цикъл;
5. Да изчислят енергетичния добив при анаеробно разграждане на една молекула глюкоза до пируват и при аеробно разграждане до CO_2 и H_2O ;
6. Да изчислят енергетичните разходи за синтеза на една молекула глюкоза от лактат;
7. Да сравнят протичането на гликолиза в различни тъкани и да посочат особеностите за всяка тъкан (черен дроб, мозък, скелетни мускули, сърдечен мускул, еритроцити, мастна тъкан);
8. Да приложат познанията си върху алостерично повлияване, за да обяснят регулацията на гликолиза и глюконеогенеза;
9. Да илюстрират с примери защо глюкозо-6-фосфат е възлов метаболит.
10. Да приложат познанията си върху фосфорилиране-дефосфорилиране, за да обяснят реципрочно координираната регулацията на гликогенолиза и гликогеногенеза
11. Да представят молекулярния механизъм на заболявания като галактоземия и някои гликогенози
12. Да прилагат познанията си върху обмяна на въглехидрати за решаване на клинични случаи, свързани с нарушения (ензимни дефекти) в обмяната на глюкоза, галактоза, фруктоза, гликоген.

6.1 Гликолиза

6.1.1 Резюме

Гликолизата е катаболитна верига от десет реакции, в която 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пируват, съпроводено със синтеза на 2 молекули АТФ и редукция на 2 молекули NAD^+ до NADH .

В подготвителната фаза на гликолизата глюкозата се фосфорилира от хексокиназа (глюкокиназа в черния дроб) до глюкозо-6-фосфат. Последният се изомеризира до фруктозо-6-фосфат от хексозофосфат изомерата. Фруктозо-6-фосфатът се фосфорилира от фосфофруктокиназа до фруктозо-1,6-бисфосфат. Тези реакции консумират 2 молекули АТФ за 1 молекула глюкоза.

Фруктозо-1,6-бисфосфат се разгражда от алдолаза до триозите глицералдеhid-3-фосфат (ГАФ) и дихидроксиацетон фосфат (ДХАФ), които се превръщат една в друго под действие на триозофосфат изомерата. ГАФ под действие на глицералдеhid-3-фосфат дехидрогеназа

се подлага на окислително фосфорилиране до 1,3-бисфосфоглицерат. Последният се превръща в 3-фосфоглицерат от глицерат киназата, съпроводено със синтеза на АТФ. Под действие на фосфоглицерат мутаза 3-фосфоглицерат се превръща в 2-фосфоглицерат. В енолазната реакция 2-фосфоглицерат се превръща в фосфоенол пируват (ФЕП). Под действие на пируваткиназа ФЕП се превръща през енолпируват в пируват, съпроводено със синтеза на АТФ.

В глицераткиназната и пируваткиназната реакция се получават 4 молекули АТФ за 1 молекула глюкоза и общата енергетична равностметка при анаеробни условия е 2 молекули АТФ за молекула глюкоза.

В отсъствие на кислород пируват се редуцира до лактат, съпроводено с окисление на НАДН до НАД⁺. Така се регенерира НАД⁺, необходим за окислителното фосфорилиране на ГАФ. Лактат се получава както в усилено работещи мускули, така и при млечно-кисела ферментация. При алкохолна ферментация пируват през ацеталдехид дава етанол.

Вътрешната митохондрийна мембрана е непрониклива за цитоплазмения НАДН. Той предава водорода в митохондриите посредством совалки. Чрез малатната совалка се получават в дихателната верига теоретично 3 молекули АТФ за 1 молекула НАДН (или 2.5 съгласно корекциите на Hinkle). Чрез глицеролфосфатната совалка се получават 2 молекули АТФ (или по Hinkle 1.5) за 1 молекула НАДН.

При пълното аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза в гликолизата и цитратния цикъл до CO₂ и H₂O с участието на малатната совалка се получават общо 38 молекули АТФ (по Hinkle 32), а с участие на глицеролфосфатната совалка се получават 36 молекули АТФ (по Hinkle 30).

В повечето органи и тъкани глюкозата се разгражда аеробно. В мускулите при усилен натоварвания гликолизата протича анаеробно. Анаеробна гликолиза се извършва и в зрели еритроцити, които нямат митохондрии.

Реакциите, катализирани от хексокиназа, фосфофруктокиназа и пируваткиназа са необратими. Тези три ензима са регулаторните ензими на гликолизата. Главният регулаторен ензим фосфофруктокиназа се инхибира алостерично от АТФ и цитрат, а АМФ, АДФ и фруктозо-2,6-бисфосфат действат като активатори.

Гликолизата е свързана с цитратния цикъл посредством окислителното декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА, лигазното карбоксилиране на пируват до оксалацетат и редуktivното карбоксилиране на пируват до малат. Последните две реакции са анаплеротични (попълват резервоара от оксалацетат и малат), което е важно за поддържане интензитета на цитратния цикъл.

Лактатна ацидоза се получава при усилена мускулна работа, при шок, конвулсии и нарушения в кръвообръщението и белодробната функция. Обикновено се дава бикарбонат за контролиране на ацидозата, но съществено е да се установи и елиминира причината за свръхпроизводство и/или намаленото използване на лактат.

6.1.2 Определение и значение

Гликолизата е серия от реакции, протичащи в цитоплазмата, при които глюкоза се разгражда до пируват, съпроводено с отделяне и акумулиране на енергия (фиг. 6-1). Гликолитичната верига е най-древният механизъм за извличане на енергия от органични вещества. Това е основен обменен път, който има значение не само за разграждането на глюкоза и други въглехидрати, но и на голям брой други вещества.



Енергетична равностметка

$$-2 + 2 + 2 = 2 \sim \quad \text{за mol глюкоза}$$

при анаеробно протичане на гликолиза

Фиг. 6-1. Общ изглед на гликолиза.

Означението “-1 ~” показва, че 1 мол АТФ/мол глюкоза се разгражда за осигуряване на съответната реакция. Означението “+2 ~” показва, че при съответната реакция отделената енергия се акумулира в 2 мола АТФ/мол глюкоза. НАД^+ , необходим за окислителното фосфорилиране на глицералдехид-3-фосфат (т. 5.3.3), при анаеробни условия се доставя от редукцията на пируват до лактат посредством НАДН.

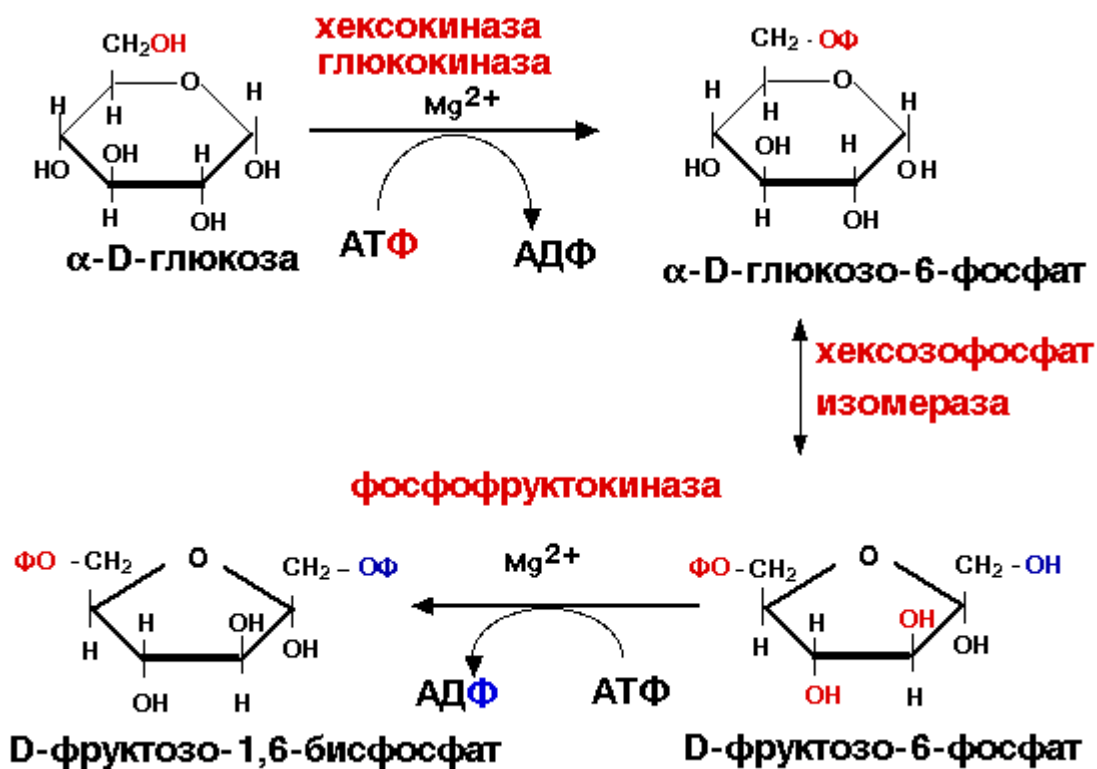
При анаеробни условия пируват се редуцира до лактат или превръща в други продукти, а при наличие на кислород пируват продължава своето разграждане чрез процесите на окислително декарбоксилиране и цитратен цикъл.

При анаеробна гликолиза се освобождава малка част от цялата енергия, съдържаща се в молекулата на глюкозата. Количественият принос за синтеза на макроергични съединения е малък в сравнение с този на дихателните вериги. Въпреки това, гликолизата е удивителен по своето съвършенство процес, чрез който дори в отсъствие на кислород, се извлича енергия от глюкозата. При някои митохондрични заболявания, или при инхибиране и разпрягане на дихателните вериги, гликолизата може да доставя АТФ на клетката, тъй като не се повлиява нито от инхибитори на електронния транспорт, нито от разпрягащи агенти.

6.1.3 Химизъм

6.1.3.1 Подготвителна фаза

На фиг. 6-2-1 са представени първите три реакции на гликолизата, които протичат на ниво хексозни молекули. Реактивни са само цикличните им форми. При тях хексозната молекула се подготвя за разграждане, като се активира за сметка на разграждане на АТФ.



Фиг. 6-2-1. Подготвителна фаза на гликолизата – активиране на глюкозната молекула до фруктозо-1,6-бисфосфат.

Активирането на глюкоза до глюкозо-6-фосфат с участието на АТФ (реакция 1) е фосфотрансферозна реакция. Тук се изразходва 1 макроергична връзка. Пренася се фосфатен радикал от макроергично на нормоергично ниво. Реакцията е необратима. Част от енергията, отделена при разграждане макроергичната връзка на АТФ се включва в новосъздадената естерна връзка, а остатъкът се разсейва като топлина.

Ензимът, катализиращ фосфорилирането на глюкоза, се нарича хексокиназа. Известни са 4 изоензими. Два от най-застъпените (хексокиназа I и IV) са сравнени в табл. 6-1 по отношение на застъпеност, специфичност, инхибиране от продукта на реакцията, афинитет към субстрата, активност, зависимост от концентрацията на кръвната глюкоза, влияние на инсулин и биологична роля.

Табл. 6-1. Сравнение на хексокиназа I и хексокиназа IV(глюкокиназа)

	Хексокиназа	Глюкокиназа
1) Название	Хексокиназа (преди смятана за един ензим; сега се знае че има 4	Глюкокиназа (хексокиназа IV)

	изоензима)	
2) Застъпеност	широко застъпена, вкл. и в черен дроб	преобладаващ ензим в черния дроб; има го и в островните клетки на панкреаса
3) Специфичност	по-малка специфичност - активира не само глюкоза, но и други хексози	Смяташе се, че е строго специфична към глюкоза, но в действителност по специфичност прилича на другите хексокинази
4) Инхибира се от	продукта на реакцията глюкозо-6-фосфат	не се инхибира от глюкозо-6-фосфат
5) Афинитет към глюкоза	висок ($K_m = 0.1 \text{ mM}$)	нисък ($K_m = 10 \text{ mM}$)
6) При нормална концентрация на глюкозата в кръвта 5 mM ензимът е	напълно наситен и работи с максимална ефективност	само частично наситен
7) Зависимост на V от концентрацията на глюкоза	правоъгълна хипербола	сигмоида, което е рядък случай за мономерен ензим с едно свързващо място за глюкоза
8) Активността зависи от концентрацията на глюкоза в кръвта	не	да
9) Синтезата на ензима се индуцира от инсулин	не (ензимът е конститутивен)	да (ензимът е индуцируем)
10) Биологична роля	да осигури поемане на глюкоза от тъканите дори при ниска глюкозна концентрация в кръвта	да осигури навлизане на глюкоза от кръвта в черния дроб и така да снижи нейната висока концентрация след нахранване

Алдозата глюкозо-6-фосфат се превръща в кетозата фруктозо-6-фосфат от глюкозо-фосфат изомеразата (реакция 2). Тази обратима изомеразна реакция протича като вътрешно-молекулна оксидо-редукция.

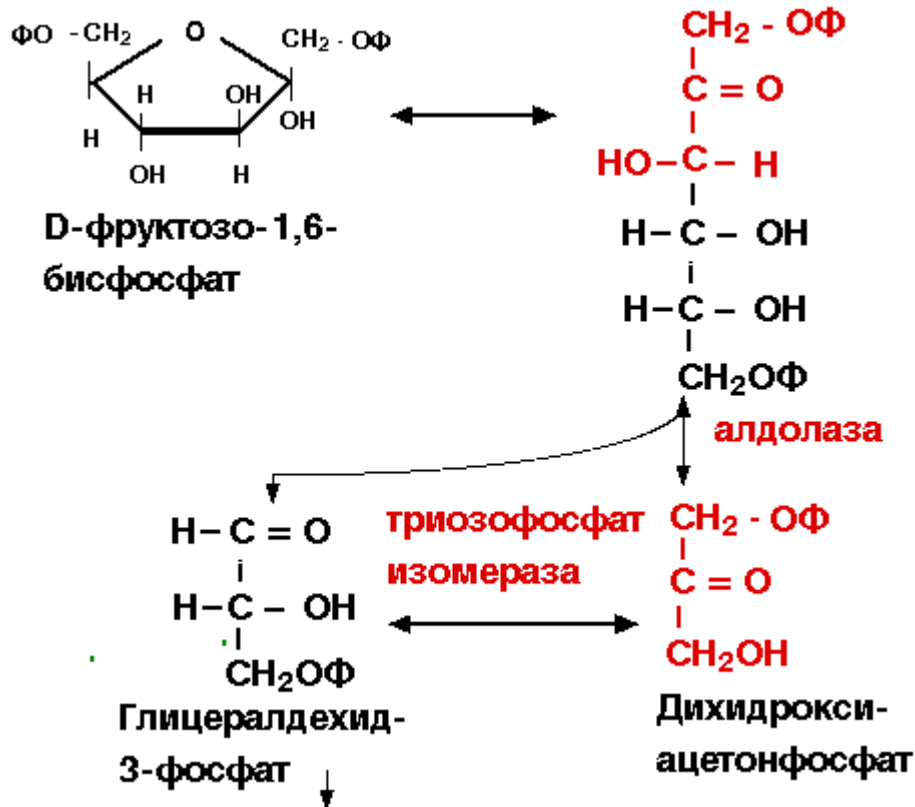
След това фруктозо-6-фосфат се активира допълнително до фруктозо-1,6-бисфосфат от фосфофруктокиназа за сметка на разграждане на още една молекула АТФ (реакция 3). Фосфофруктокиназата е също фосфотрансфераза като хексокиназата. Фосфофруктокиназата е най-важният регулаторен алостеричен ензим за гликолиза. Докато хексокиназата участва и в други обменни пътища, фосфофруктокиназата е първият специфичен само за гликолизата ензим.

С получаването на фруктозо-1,6-бисфосфат завършва подготвителната фаза в гликолизата.

6.1.3.2 Разграждане на хексозната молекула до триози

На фиг. 6-2-2 фруктозо-1,6-бисфосфат е представен и в отворената си форма, за да се види ясно как под действие на ензима алдолаза протича разграждането му до две триози: алдозата глицералдехид-3-фосфат и кетозата дихидроксиацетонфосфат (ДХАФ) (реакция 4).

Под действие на триозофосфат изомераза тези триози се превръщат обратимо една в друга (реакция 5). Глицералдехид-3-фосфат се изтегля в следващата реакция, което улеснява превръщането на ДХАФ в глицералдехид-3-фосфат.

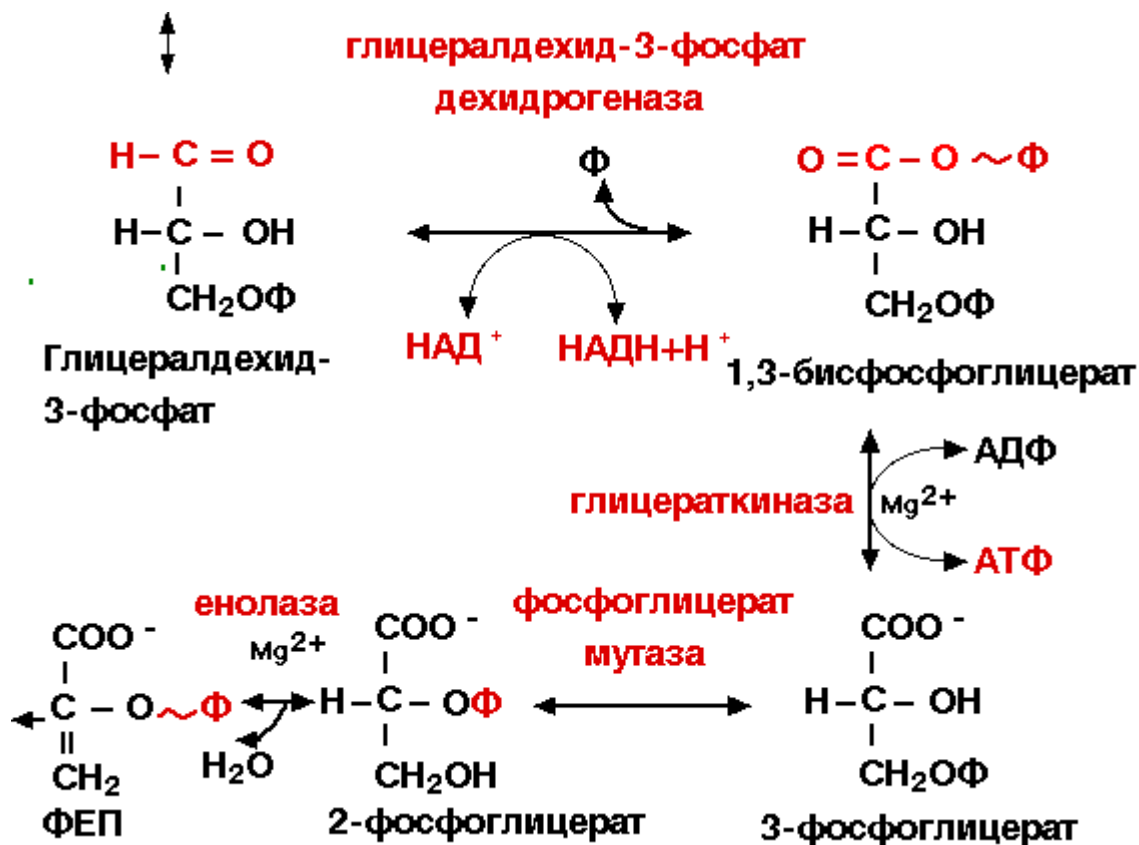


Фиг. 6-2-2. Разграждане на фруктозо-1,6-бисфосфат до триозите глицералдехид-3-фосфат и дихидроксиацетонфосфат и обратимото им превръщане една в друга. Равновесието се изтегля към глицералдехид-3-фосфат, тъй като той е субстрат за следващата реакция в гликолизата.

6.1.3.3 Окислително фосфорилиране на глицералдехид-3-фосфат, изомеризиране на 3-фосфо-глицерат в 2-фосфо-глицерат и енолазна реакция

Това е най-важният стадий в гликолизата. В него се извършват две окислителни фосфорилирания на субстратно ниво.

Молекулният механизъм на окислителното фосфорилиране на глицералдехид-3-фосфат е разгледан в т. 5.3.3 (фиг. 5-11) като пример за субстратно фосфорилиране. Тук на фиг. 6-2-3 този процес е даден по-обобщено чрез реакции 6 и 7.



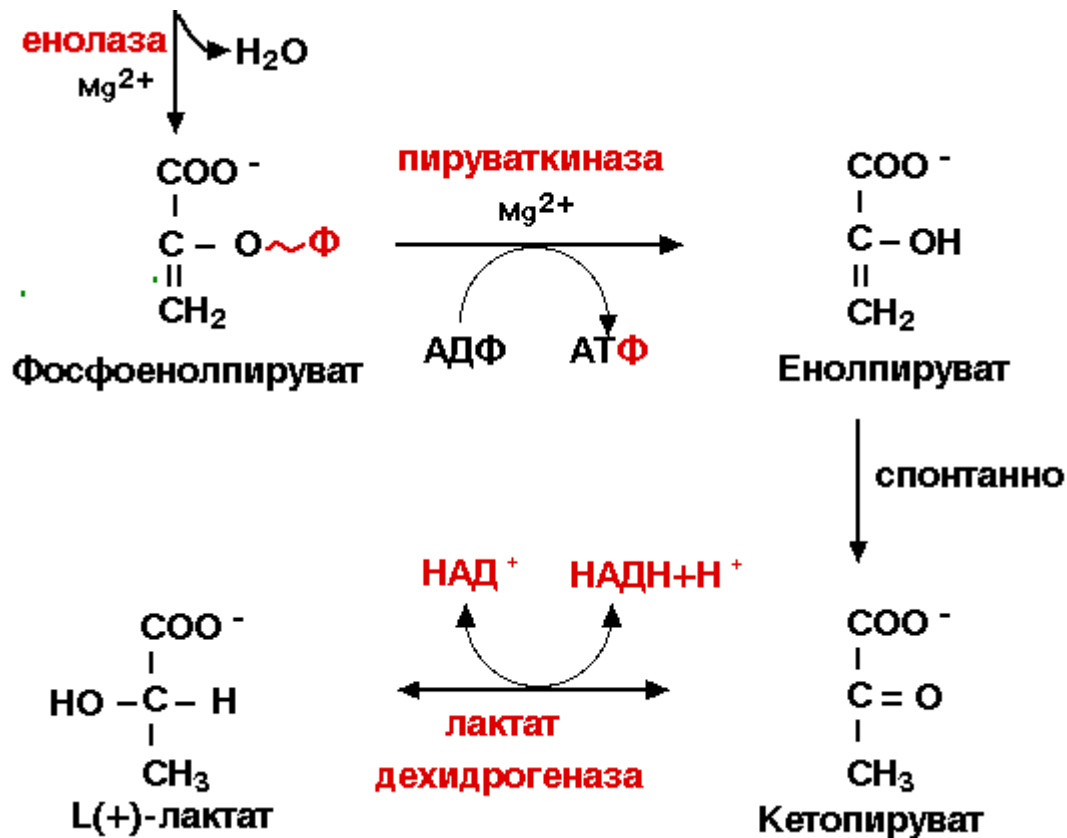
Фиг. 6-2-3. Окислителни фосфорилирания в гликолизата.

В реакция 6 алдехидната група на глицералдехид-3-фосфат се окислява до карбоксилна. Отделената енергия се акумулира в ацил-фосфатна макроергична връзка. Получава се макроергичен продукт – 1,3-бисфосфоглицерат. Ензимът глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназа е анаеробна дехидрогеназа, действаща съвместно с НАД^+ , който се редуцира.

В реакция 7 глицерат киназа пренся фосфатна група на високо макроергично ниво (от 1,3-бисфосфоглицерат върху АДФ). Натрупаната енергия в ацил-фосфатната връзка се пренася върху АДФ и се синтезира АТФ, а 1,3-бисфосфоглицерат се превръща в 3-фосфоглицерат. Последният е субстрат за фосфоглицерат мутаза, която го превръща обратно в 2-фосфо-глицерат (реакция 8).

Реакция 9, разгледана като енолазна реакция в т. 5.3.4, е също пример за субстратно фосфорилиране. Тук 2-фосфоглицерат се превръща без участие на външна редокс-система в макроергичния продукт фосфоенолпируват (ФЕП). Отделянето на вода протича като вътрешномолекулна оксидоредукция, съпроводена с отделяне на енергия. Тази енергия се акумулира в енолфосфатната връзка на ФЕП, предшественик на АТФ.

В реакция 10 пируват киназа превръща ФЕП в пируват (фиг. 6-2-4). Реакцията е необратима и силно екзергонична ($\Delta G^{0'} = -61.9 \text{ kJ/mol}$). Част от акумулираната енергия във ФЕП се ползва за синтеза на АТФ – пренася се фосфатен радикал на макроергично ниво от ФЕП върху АДФ, а останалата част се разсейва като топлина. За високата стойност на $\Delta G^{0'}$ допринася главно тавтомеризирането на енол-пируват в неговата кето-форма.



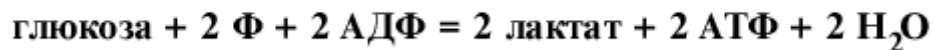
Фиг. 6-2-4. Превръщане на ФЕП в пируват и редукция на пируват до лактат.

При анаеробни условия, напр. в усилено работещи мускули, пируват се редуцира до лактат (реакция 11), като за тази редукция се използва НАДН, натрупан при окислителното фосфорилиране на глицералдеhid-3-фосфат в реакция 6. (фиг. 6-2-3). Получаването на НАД^+ е благоприятно за протичане на гликолизата. Именно връзката между тези две реакции позволява гликолизата да протича дори в отсъствие на кислород.

Получаването на лактат в бактерии вследствие на анаеробна гликолиза се означава като млечно-кисела ферментация, благодарение на която се произвежда кисело мляко и различни трушии. Известни са и други ферментации при микроорганизми – напр. алкохолна ферментация. При нея пируват първоначално се декарбоксилира до ацеталдеhid, а той се редуцира до етанол.

6.1.4 Енергетичен добив при анаеробни условия

При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули лактат в анаеробни условия се отделят 196 kJ/mol (фиг. 6-3). Част от тази енергия се акумулира под форма на 2 молекули АТФ за молекула глюкоза.



$$\Delta G^{\circ} = -196 \text{ kJ/mol}$$

За синтеза на 2 мол АТФ се изискват 61 kJ/mol.

$$\Delta G^{\circ} = 2 \times 30.5 = 61 \text{ kJ/mol}$$

$$\text{КПД} = \frac{61}{196} = 31\%$$

Фиг. 6-3. Сумарна реакция и енергетична равностметка при разграждане на глюкоза до лактат в отсъствие на кислород.

КПД - коефициент на полезно действие.

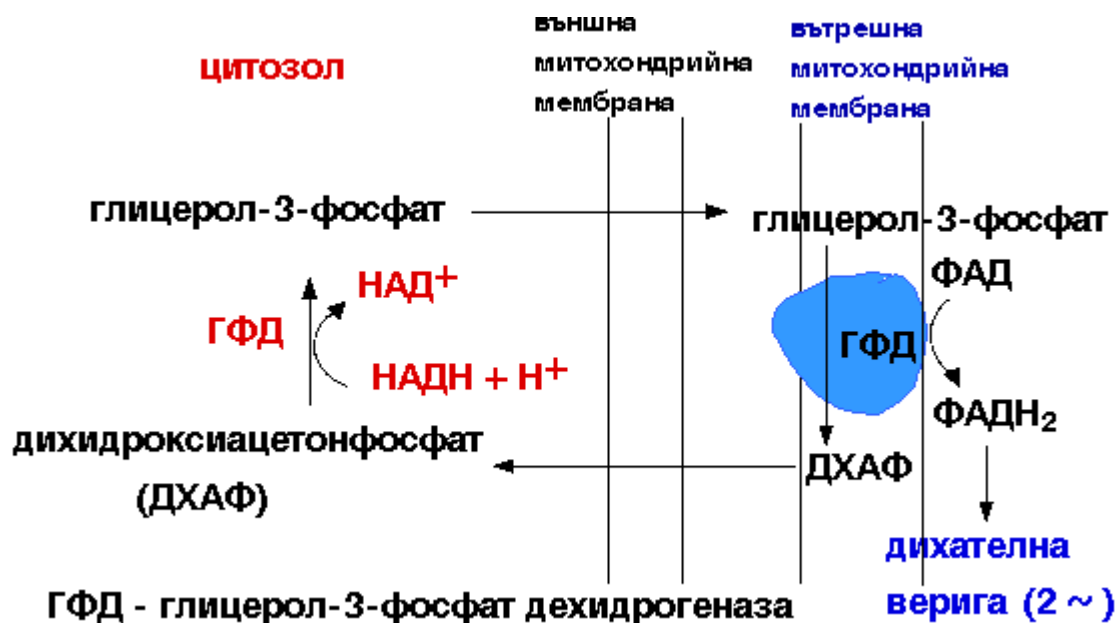
Коефициентът на полезно действие (КПД) е около 31 %. Т.е. 31 % от енергията, отделена при окисление на глюкоза при стандартни биохимични условия в отсъствие на кислород, е съхранена под форма на АТФ.

6.1.5 Връзки между гликолиза и дихателни вериги - совалкови системи за пренос на водород от цитоплазмата към митохондриите

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН. Затова водородът от тези две редоксисистеми се пренася посредством совалкови системи (фиг. 6-4 и фиг. 6-5). Те се състоят от цитозолна и митохондриална форма на специфична дехидрогеназа и двойка съединения - окислено (с кето-група) и редуцирано (с -ОН група).

Известни са два вида совалкови системи за пренос на водород:

1) Глицеролфосфатна совалка (фиг. 6-4)



Фиг. 6-4. Глицеролфосфатна совалка за пренос на водород от цитоплазмата в митохондрии, състояща се от:

- два изоензима на глицеролфосфат дехидрогеназата (ГФД): цитоплазмен с кофактор НАД и митохондриен с кофактор ФАД;
- дихидроксиацетонфосфат (ДХАФ) като окислено съединение;
- глицеролфосфат като редуцирано съединение.

Цитоплазменият изоензим катализира редуцията на ДХАФ от НАДН. Получава се глицеролфосфат, който минава през външната митохондрийна мембрана и достига до разположената във вътрешната мембрана глицеролфосфат дехидрогеназа. Този изоензим е един от свързаните с дихателната верига флавопротеини. Има за кофактор ФАД и катализира обратната реакция - дехидрогениране на глицеролфосфат до ДХАФ. Едновременно с това ФАД се редуцира до ФАДН₂. Така водородните атоми попадат в дихателната верига, където се получават теоретично 2 мола АТФ за всеки два внесени атома Н, а според Hinkle 1.5 мола АТФ (виж т. 5.4.5). ДХАФ се връща обратно в цитоплазмата. Тази совалка функционира в скелетни мускули и мозък.

2) Малатна совалкова система (фиг. 6-5).

Функционира в сърдечен мускул, черен дроб, мастна тъкан. Състои се от:

а) два изоензима на малат дехидрогеназа (МД): цитоплазмен и митохондриен.

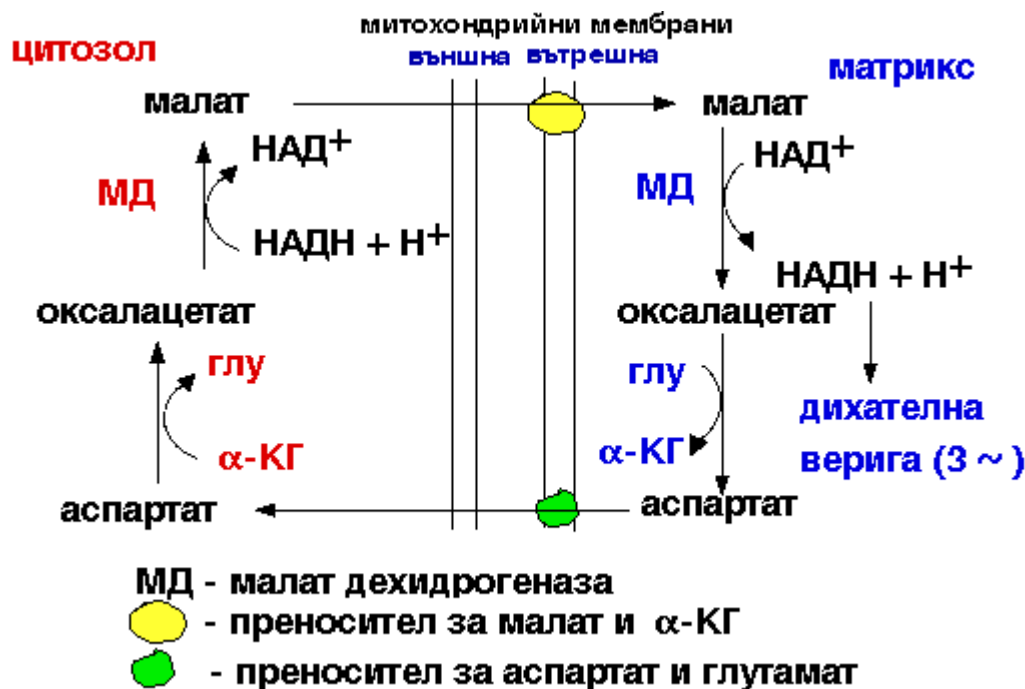
И двата действат с коензим НАД.

б) оксалацетат (окислено съединение с кето група)

в) малат (редуцирано съединение с -ОН група)

г) допълнителни компоненти -

(митохондрийна и цитоплазмена трансминази и мембранно разположени транслокази за малат и аспартат)



Фиг. 6-5. Малатна совалка за пренос на водород от цитоплазмата в митохондриите.

Цитоплазмената малатдехидрогеназа катализира редуцията на оксалацетат от НАДН до малат.

Малатът (с помощта на малат транслоказа) минава през митохондрийната мембрана.

Митохондрийната

малатдехидрогеназа катализира обратната реакция - окисление на малат до оксалацетат.

Водородът се поема от НАД⁺, който се редуцира. Редуцираният митохондриен НАД

предава водорода в дихателните вериги,

където се получават теоретично 3 мола АТФ за всеки 2 внесени водородни атома, а според

Hinkle корегираната стойност е 2.5 мола АТФ (виж т. 5.4.5). Оксалацетатът не може директно да излезе през мембраната, затова се превръща (чрез трансаминиране) в аспартат, който с помощта на аспартат транслоказа излиза в цитоплазмата, където пак чрез трансаминиране се превръща в оксалацетат.

6.1.6 Енергетичен добив при разграждане на глюкоза до CO_2 и H_2O в гликолиза и цитратен цикъл в аеробни условия

1) При разграждане на 1 молекула глюкоза до две молекули пируват

В табл. 6-2 е дадена енергетичната равнотежка при аеробна гликолиза. С отрицателен знак е даден броя на молекулите АТФ, разградени за началното активиране на глюкозата в хексокиназната и фосфофруктокиназната реакции. С положителен знак са означени молекулите АТФ, получени в глицераткиназната и пируваткиназната реакции. От всяка молекула глюкоза се получават 2 молекули триози. Ако се използва малатната совалка в дихателната верига теоретично се получават 3, а чрез глицеролфосфатната совалка 2 молекули АТФ за всеки два внесени водородни атоми. Съгласно корекциите на Hinkle [2] (т. 5.4.5) чрез малатната совалка ще се получат 5, а не 6 мола АТФ. Корегираната стойност за глицеролфосфатната совалка е 3 мола АТФ вместо 4.

Сумарно при разграждане на глюкоза до пируват в присъствие на кислород теоретично се получават 8(6) или по Hinkle 7(5) мола АТФ/мол глюкоза в зависимост от използваната совалка.

Табл. 6-2. Теоретични и корегирани по Hinkle [2] стойности за броя на молекулите АТФ, които се изразходват или получават при аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до пируват.

Реакция	Теоретични стойности	Коригирани стойности
Хексокиназна	- 1	- 1
Фосфофруктокиназна	- 1	- 1
Глицераткиназна	+ 2	+ 2
Пируваткиназна	+ 2	+ 2
Чрез совалките	+ 6 (4)	+ 5 (3)
Общо	8 (6)	7 (5)

2) При разграждане на глюкоза до CO_2 и H_2O

От всяка глюкозна молекула се получават 2 молекули ацетил-КоА. За всяка молекула ацетил-КоА в цитратния цикъл и свързаните с него дихателни верги се получават 12 молекули АТФ.

В табл. 6-3 е дадена енергетичната равностетка при пълното аеробно разграждане на глюкоза в гликолизата и цитратния цикъл.

Табл. 6-3. Теоретични и коригирани по Hinkle стойности за броя на молекулите АТФ, които се изразходват или получават при аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO_2 и H_2O в присъствие на кислород.

Реакция	Теоретични стойности	Коригирани стойности
От глюкоза до пируват	8 (6)	7 (5)
Окислително декарбоксилиране	6	5
Цитратен цикъл	24	20
Общо	38 (36)	32 (30)

6.1.7 Тъканна специфичност

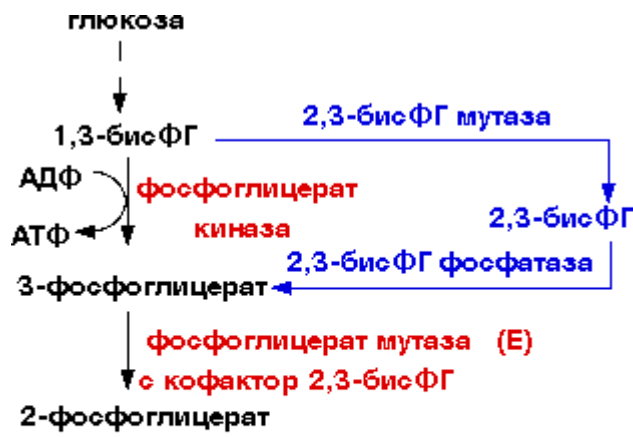
Мускулите използват както анаеробна, така и аеробна гликолиза, участвайки активно и в цикъла на Кори (виж. т. 6.6.3). Еритроцитите нямат митохондрии - те доставят необходимата енергия само чрез анаеробна гликолиза. В сърдечен мускул и в мозък пируват се декарбоксилира окислително до ацетил-КоА, който постъпва в цитратния цикъл.

Туморните клетки натрупват значителни количества лактат дори при наличие на кислород. Вероятно при тях не работи нормално глицеролфосфатната совалка и цитоплазменият НАДН не предава водород в митохондриите.

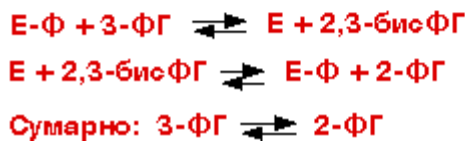
Особености на гликолизата в еритроцити

В глицераткиназната реакция 1,3-бисфосфоглицерат се превръща в 3-фосфоглицерат, съпроводено със синтеза на АТФ.

В еритроцитите 1,3-бисфосфоглицерат може да се превръща в 3-фосфоглицерат и чрез едно отклонение от гликолизата (фиг. 6-6) под действие на два допълнителни ензима: 2, 3-бисфосфоглицерат мутаза и 2, 3-бисфосфоглицерат фосфатаза. Като междинно съединение се получава 2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ).



Фиг. 6-6. 2,3-бисфосфатно отклонение от гликолитичната верига в еритроцити.



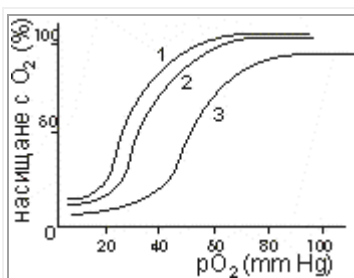
Както се вижда от фиг. 6-6, 2,3-бисфосфоглицерат е необходим за действието на фосфоглицерат мутазата (E). Повечето клетки съдържат 2,3-бисфосфоглицерат в минимални (каталитични) количества като кофактор на фосфоглицерат мутазата.

Но червените кръвни клетки са специален случай. В тях 2,3-бисфосфоглицерат се натрупва във високи концентрации и функционира като физиологично важен алостеричен ефектор върху свързването на кислород с хемоглобин. От 15 до 25 % от глюкозата, превърната в лактат в еритроцитите, минава по този БФГ-шънт. При това АТФ не се получава.

Неполучаването на АТФ при превръщането на 1,3-бисфосфоглицерат в 3-фосфоглицерат в еритроцити е предимство, тъй като това осигурява протичане на гликолизата дори при минимални изисквания за АТФ. Образуването на 2,3-бисфосфоглицерат във високи концентрации улеснява отдаването на кислород от хемоглобина, тъй като 2,3-бисфосфоглицерат се свързва с хемоглобина, измества оксихемоглобиновата дисоциационна крива надясно и с това снижава афинитета на Hb към кислород (виж също т. 2.3.2.2 и 2.3.2.3).

Наследствени дефекти в гликолитични ензими променят афинитета на Hb към кислород (фиг. 6-7). При недостатъчност на хексокиназа, катализираща първата реакция в гликолизата, концентрациите на всички гликолитични метаболити са ниски, вкл. и на 2,3-БФГ. Това води до увеличен афинитет на Hb към кислорода - крива 1 на фиг. 6-7.

При недостатъчност на пируват киназа, катализираща последната реакция в гликолиза, натрупването на гликолитични метаболити води до увеличение на 2,3-БФГ, и следователно до намален афинитет на Hb към кислород (крива 3 на фиг. 6-7).



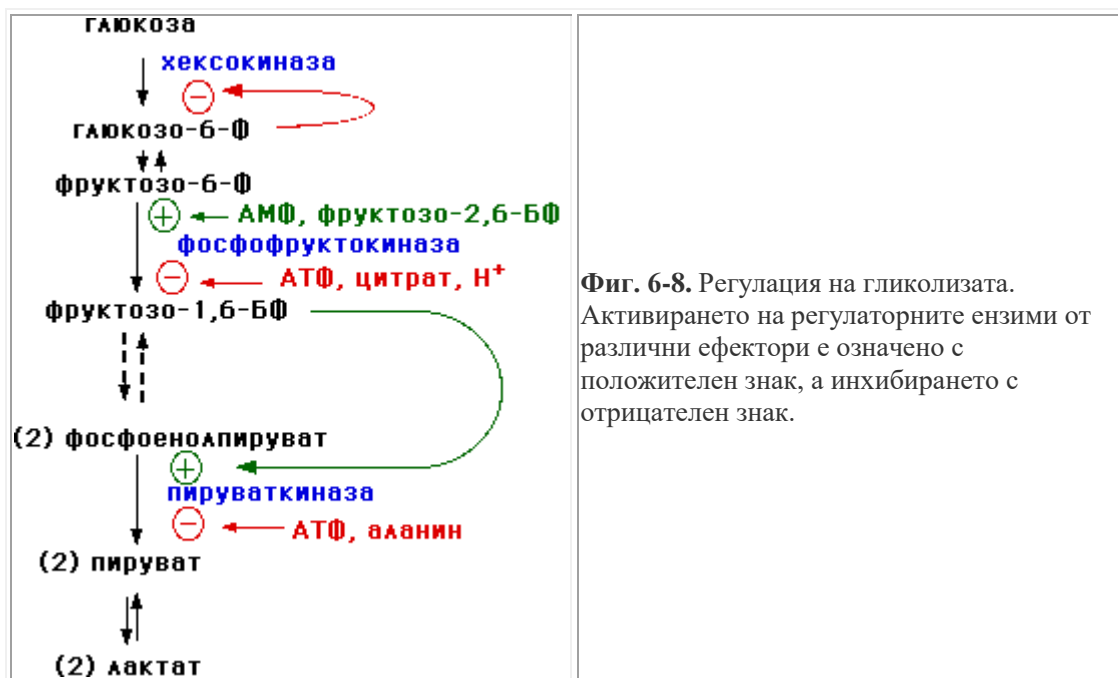
Фиг. 6-7. Криви на асоциация-дисоциация на хемоглобин при наследствени дефекти на гликолитични ензими в еритроцити [3].

1 - хексокиназна недостатъчност; 2 - нормални ензими; 3 - пируваткиназна недостатъчност.

6.1.8 Регулация на гликолиза

В зависимост от променящите се условия в клетките, скоростта на гликолиза се променя. Отделните реакции, с изключение на три, са обратими. Необратимите реакции имат значение за регулацията на гликолизата. Това са реакциите, катализирани от хексокиназата, фосфофруктокиназа и пируват киназа (фиг. 6-8).

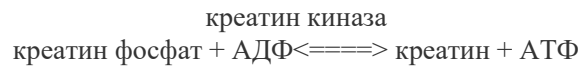
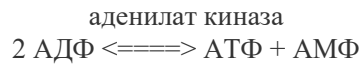
Трябва да се има предвид, че когато източник на глюкозо-6-фосфат е гликоген, а не глюкоза, хексокиназата не е необходима. Хексокиназата участва и в други обменни пътища. Пируват киназата пък катализира последната реакция и очевидно не може да повлиява цялостно гликолизата. Така че с най-голямо значение е първият специфичен за гликолизата ензим - фосфофруктокиназата. Тя е главният регулаторен ензим.



Фиг. 6-8. Регулация на гликолизата. Активирането на регулаторните ензими от различни ефектори е означено с положителен знак, а инхибирането с отрицателен знак.

Фосфофруктокиназата е тетрамерен ензим с две конформационни състояния: R и T, които са в равновесие. АТФ е едновременно субстрат и алостеричен инхибитор на фосфофруктокиназата. Всяка субединица има две свързващи места за АТФ - субстратно и инхибиторно. Субстратното място свързва АТФ еднакво добре и в двете конформационни състояния. Инхибиторното място свързва АТФ предимно в T-състоянието. Другият субстрат фруктозо-6-фосфат се свързва с предпочитание към R-състоянието. При високи концентрации на АТФ, той се свързва към T-състоянието, измествайки равновесието към T-състоянието. Така се намалява афинитета към фруктозо-6-фосфат (подобно на действието на 2,3-бисфоглицерат да понижи афинитета на хемоглобин към кислород). При ниски концентрации на АТФ гликолизата се усилва и се синтезира АТФ.

Интересно е, че концентрацията на АТФ *in vivo* варира само около 10 % в покой и при усилена работа, тъй като АТФ се попълва от аденилат киназната и креатин киназната реакция:



Метаболитният поток през гликолизата обаче може да се променя стократно. Това показва, че освен алостеричното повлияване на фосфофруктокиназата от АТФ, има и друг механизъм.

АДФ, АМФ и фруктозо-2,6-бисфосфат снемат инхибиторния ефект на АТФ. Те са активатори на ензима.

Друг мощен алостеричен активатор на ензима е фруктозо-2,6-бисфосфат (виж също т. 6.2.4).

Цитратът, когато е в излишък, действа като алостеричен инхибитор на фосфофруктокиназата - блокира гликолизата.

Фруктозо-1,6-бисфосфат е алостеричен активатор на пируват киназата, а АТФ и аланин са алостерични инхибитори за същия ензим.

Фруктозо-1,6-бисфосфат е алостеричен активатор на пируват киназата, а АТФ и аланин са алостерични инхибитори за същия ензим.

Ефект на Пастър

Ефектът на Пастър е характерен за клетки, които могат да разграждат глюкозата както еиробно, така и анаеробно. При въвеждане на кислород към клетъчната суспензия се наблюдава намалено използване на глюкоза. Спира образуването на лактат. Обяснява се с:

- 1) алостерично инхибиране на фосфофруктокиназата от цитрат и АТФ - когато има кислород работят цитратният цикъл и дихателните вериги.
- 2) по-голям афинитет на глицеролфосфатната совалка към цитоплазмения НАДН в сравнение с лактат дехидрогеназата.

6.1.9 Връзки с цитратния цикъл

Както вече бе показано на фиг. 5-32 в т. 5.6.7, пируват може да се превръща в три различни метаболита:

- 1) ацетил-КоА чрез окислително декарбоксилиране;
- 2) оксалацетат чрез лигазно карбоксилиране;
- 3) малат чрез редуктивно карбоксилиране.

Чрез тези три реакции се осъществяват връзки между гликолизата и цитратния цикъл.

Първата осигурява субстрат за цитратния цикъл. Втората е попълваща (анаплеротична реакция, осигуряваща при необходимост достатъчно оксалацетат за цикъла. Третата реакция има подобна роля. Увеличаването на концентрациите на оксалацетат и малат при необходимост позволява повишаване интензитета на цитратния цикъл.

6.1.10 Приложение на познанията в медицината

6.1.10.1 Лактатна ацидоза

Лактатната ацидоза е най-често срещаната форма на метаболитна ацидоза. Характерно е увеличено ниво на лактат в кръвта, обикновено над 5 mM, едновременно с намалено рН на кръвта и намалена концентрация на бикарбоната. Може да е следствие от свръхпродукция от лактат, или намалено използване на лактат, или и двете.

Обикновено продукцията на лактат се балансира с изразходването му, така че лактатът в кръвта в норма не надвишава 1.2 mmol/L. Всички тъкани могат да образуват лактат чрез анаеробна гликолиза. Повечето от тях обаче не образуват лактат в големи количества, защото много повече АТФ се получава при пълното аеробно окисление на пируват.

Всички тъкани отговарят с увеличение на лактат при недостиг на кислород. Намалението на АТФ поради намалено окислително фосфорилиране в дихателната верига води до увеличение на фосфофруктокиназната реакция и анаеробната гликолиза се усилва.

Лактатна ацидоза се получава при усилена мускулна работа, при всички форми на шок, при конвулсии и всички болести, предизвикващи нарушения в кръвообръщението и белодробната функция.

Обикновено се дава бикарбонат за контролиране на ацидозата, но съществено е да се установи и елиминира причината за свръхпроизводство и/или намаленото използване на лактат.

6.1.10.2 Хемолитична анемия, предизвикана от недостатъчност на пируват киназа

Зрелите еритроцити получават АТФ единствено при протичане на гликолизата. АТФ е необходим за йонните помпи, особено за Na, K -АТФаза, поддържаща биконкавната форма на еритроцитите, която позволява те да се плъзгат през капилярите при доставяне на кислород в тъканите.

Без АТФ клетките набъбват и настъпва лизис. Анемията, дължаща се на това усилено разграждане на еритроцити, се нарича хемолитична анемия.

При намалена активност на пируват киназата до 5-25 % от нормалната [4], протичането на гликолизата е силно затруднено и това води до значимо снижение в концентрацията на АТФ. Натрупват се метаболити, предхождащи пируваткиназната реакция, а концентрацията на пируват и лактат намаляват.

За разлика от зрелите еритроцити, в ретикулоцити (незрели еритроцити) са установени нормални нива на АТФ в пациенти с това заболяване. Въпреки, че са дефицитни на пируват киназа, тези незрели червени клетки имат митохондрии и могат да генерират АТФ чрез окислително фосфорилиране. Превръщането на ретикулоцитите в зрели еритроцити води до загуба на митохондриите и до пълната им зависимост от гликолизата за производство на АТФ.

Тъй като гликолизата не може да протича нормално, зрелите клетки бързо излизат от кръвообръщението. Възниква анемия, защото еритроцитите не могат бързо да бъдат

заместени от нови чрез еритропоеза.

6.2 Глюконеогенеза

6.2.1 Резюме

Глюконеогенезата е път за синтеза на глюкоза от невъглехидратни източници, които първо се превръщат в оксалацетат. Протича в черния дроб и в по-слаба степен в бъбреци. Включва се, когато храната не съдържа глюкоза и са изчерпани запасите от гликоген в черния дроб.

Глюконеогенезата ползва обратимите реакции на гликолиза. За заобикаляне на трите необратими екзергонични реакции на гликолизата има допълнителни, специфични за глюконеогенезата ензими.

Пируваткиназната реакция се заобикаля от пируват карбоксилаза и фосфоенолпируват карбоксикиназа. Фруктозо-1,6-бисфосфатаза заобикаля фосфофруктокиназната реакция. Глюкозо-6-фосфатаза заобикаля хексокиназната реакция.

Глюконеогенезата се регулира от промени в ензимната синтеза и чрез алостерични ефектори. Фруктозо-2,6-бисфосфат (Ф-2,6-БФ) инхибира фруктозо-1,6-бисфосфатазата и активира фосфофруктокиназата. Синтезата на (Ф-2,6-БФ) зависи от фосфорилирането на бифункционалния ензим фосфофруктокиназа-2/фруктозо бисфосфатаза-2.

6.2.2 Общ поглед и значение

Глюконеогенезата е път, в който се синтезира глюкоза от невъглехидратни предшественици (лактат, пируват, метаболити от цитратния цикъл и въглеродните скелети на аминокиселините с изключение на левцин и лизин. Всички тези предшественици първо трябва да се превърнат в оксалацетат. Ацетил-КоА, получаващ се при разграждане на лизин и левцин, а също и в други катаболитни пътища, не може да се превърне в оксалацетат в животните и човека.

Глюконеогенезата действа в черния дроб и в по-малка степен в бъбреците. Включва се, когато храната не съдържа глюкоза и са изчерпани запасите от гликоген в черния дроб.

Глюконеогенезата е път, обратен на гликолизата. Всички обратими реакции от гликолизата са част от глюконеогенеза в обратна посока на тази в гликолизата. Само трите необратими реакции в гликолизата, при които ΔG° има високи отрицателни стойности, се заместват от реакции, които правят синтеза на глюкоза термодинамично възможно. Тези специфични за глюконеогенезата реакции се катализират от следните ензими: пируват карбоксилаза и фосфоенолпируват карбоксикиназа вместо пируват киназа, фруктозо-1,6-бисфосфатаза вместо фосфофруктокиназа и глюкозо-6-фосфатаза вместо хексокиназа.

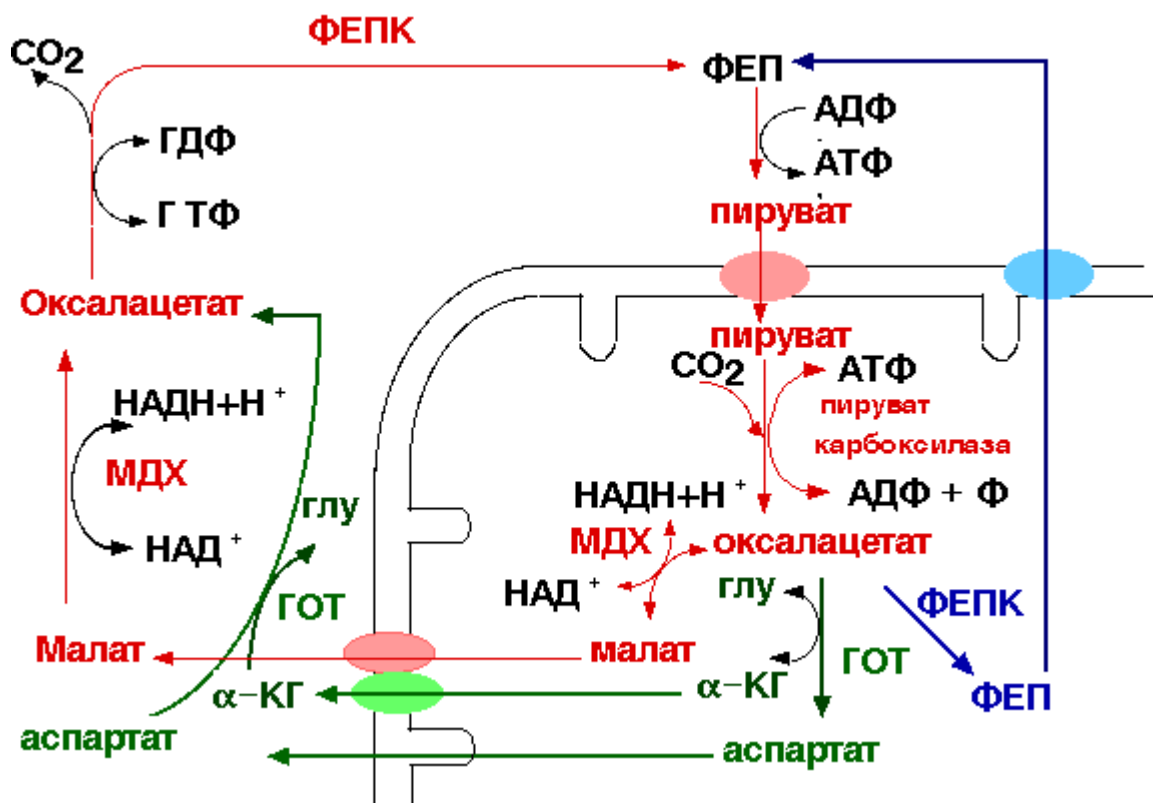
6.2.3 Преодоляване на необратимата гликолитична реакция от пируват до фосфоенолпируват

Както бе показано в т. 5.3.4 и 6.1.3.3 пируваткиназната реакция, в която фосфоенолпируват (ФЕП) се превръща в пируват, е силно екзергонична и необратима. За да протече реакцията в обратна посока от пируват към ФЕП, са необходими:

1) енергия под форма на митохондриен АТФ и цитоплазмен ГТФ;

- 2) два ензима: пируват карбоксилаза и ФЕП карбоксикиназа;
- 3) метаболитен транспорт между митохондриите и цитоплазмата.

Цялостният процес на превръщането на пируват във фосфоенолпируват е показан на фиг. 6-9.



Фиг. 6-9. Превръщане на цитоплазмения пируват в цитоплазмен фосфоенолпируват с помощта на митохондрични ензими и транспортъори. Пируват карбоксилазата е вътрешно-митохондриен ензим, а ФЕП карбоксикиназата се намира и в митохондриите (син цвят), и в цитозола (червен цвят). Оксалацетат се превръща във фосфоенолпируват чрез декарбоксилиране и фосфорилиране с ГТФ. Оксалацетат излиза от митохондриите под форма на малат или аспартат, които в цитоплазмата се превръщат обратно в оксалацетат. Показани са разположените по вътрешната митохондрична мембрана преносители за пируват, ФЕП, малат и аспартат.

Пируват карбоксилазата е локализирана само в митохондриите. Това налага постъпването на цитоплазмения пируват в митохондриите посредством специален преносител. Там пируватът се подлага на лигазно карбоксилиране до оксалацетат.

От химична гледна точка превръщането на оксалацетат във ФЕП се свежда до декарбоксилиране и едновременно фосфорилиране с ГТФ като донатор на фосфатната група.

В зависимост от локализацията на ФЕП карбоксикиназата полученият в митохондриите оксалацетат има различни възможности за превръщане в цитоплазмен ФЕП:

- 1) В някои видове ФЕП карбоксикиназата е вътрешно митохондриен ензим, който превръща оксалацетат в ФЕП. Специален преносител изнася ФЕП в цитоплазмата.

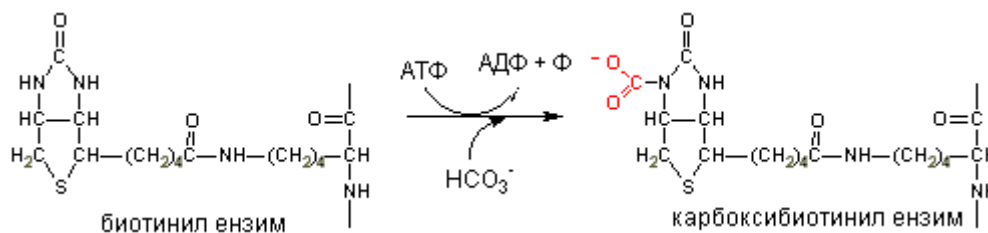
2) В други видове ФЕП карбоксикиназа е цитозолен ензим, а мембраната е непрониклива за оксалацетат и в двете посоки. В такъв случай оксалацетатът трябва да бъде изнесен от митохондриите в цитоплазмата. Това може да стане по два начина:

- а) чрез редукция до малат (представена в червен цвят на фиг. 6-09), или
- б) чрез превръщането му в аминокиселината аспартат (трансаминиране, представено в зелен цвят и разгледано подробно в т. 8.1.3). За малат и за аспартат има преносители, така че тези вещества лесно преминават през мембраната. Реакциите оксалацетат-малат и оксалацетат-аспартат са напълно обратими. В цитозола малат се дехидрогенира до оксалацетат, а аспартат чрез трансаминиране с α -кетоглутарат дава оксалацетат и глутамат.

Цитоплазменият оксалацетат се декарбоксилира и едновременно фосфорилира с ГТФ до фосфоенолпируват под действие на ФЕП карбоксикиназа.

В човека ФЕП карбоксикиназата е равномерно разпределена между митохондриите и цитозола.

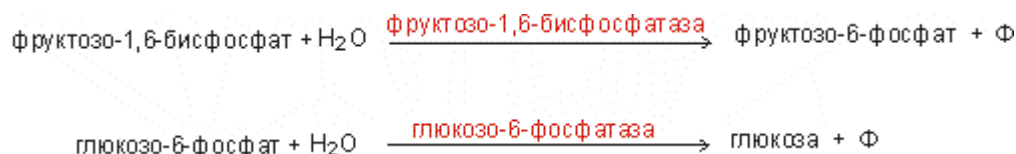
На фиг. 6-10 е детайлизирано карбоксилирането на пируват до оксалацетат. Пируват карбоксилазата е тетрамер. Всяка от четирите субединици съдържа **биотин** (витамин Н) като простетична група. Неговата странична верига е свързана чрез ковалентна пептидна връзка към лизилов остатък от ензима (фиг. 6-10). По този начин биотиновият пръстен е в края на дълга, гъвкава "ръка", която го пренася между двата активни центра на ензима. Първоначално с участието на АТФ и бикарбонат се получава активен CO_2 , който се свързва към биотинил-ензима. Получава се карбоксибиотинил-ензим. След това карбоксибиотинил-ензим пренася CO_2 върху пируват, при което се получава оксалацетат.



Фиг. 6-10. Карбоксилиране на биотинил-ензим до карбоксибиотинил-ензим с участие на бикарбонат и АТФ.

6.2.4 Преодоляване на необратимите гликолитични реакции: фруктозо-1,6-бисфосфат --> фруктозо-6-фосфат и глюкозо-6-фосфат --> глюкоза

В гликолизата хексокиназната и фосфофруктокиназната реакция са необратими и екзергонични. И хексокиназата, и фосфофруктокиназата са от групата на фосфотрансферазите. За да протекат в обратна посока тези реакции, необходими са други ензими от групата на хидролазите. С участието на вода фруктозо-1,6-бисфосфат хидролизира до фруктозо-6-фосфат под действие на фруктозо-1,6-бисфосфатаза (фиг. 6-11). Глюкозо-6-фосфат хидролизира до глюкоза и неорганичен фосфат под действие на глюкозо-6-фосфатаза (фиг. 6-11).



Фиг. 6-11. Преодоляване на необратимите стъпала: от фруктозо-1,6-бисфосфат до фруктозо-6-фосфат и от

глюкозо-6-фосфат до глюкоза

6.2.5 Енергетични разходи

За синтеза на една молекула глюкоза от две молекули пируват се изразходват общо 6 макроергични връзки, както следва:

2 молекули АТФ - за карбоксилиране на пируват до оксалацетат;

2 молекули ГТФ - за превръщане на оксалацетат във фосфоенол пируват в карбоксикиназната реакция;

2 молекули АТФ - за превръщане на 3-фосфоглицерат в 1,3-бисфосфоглицерат в глицераткиназната реакция.

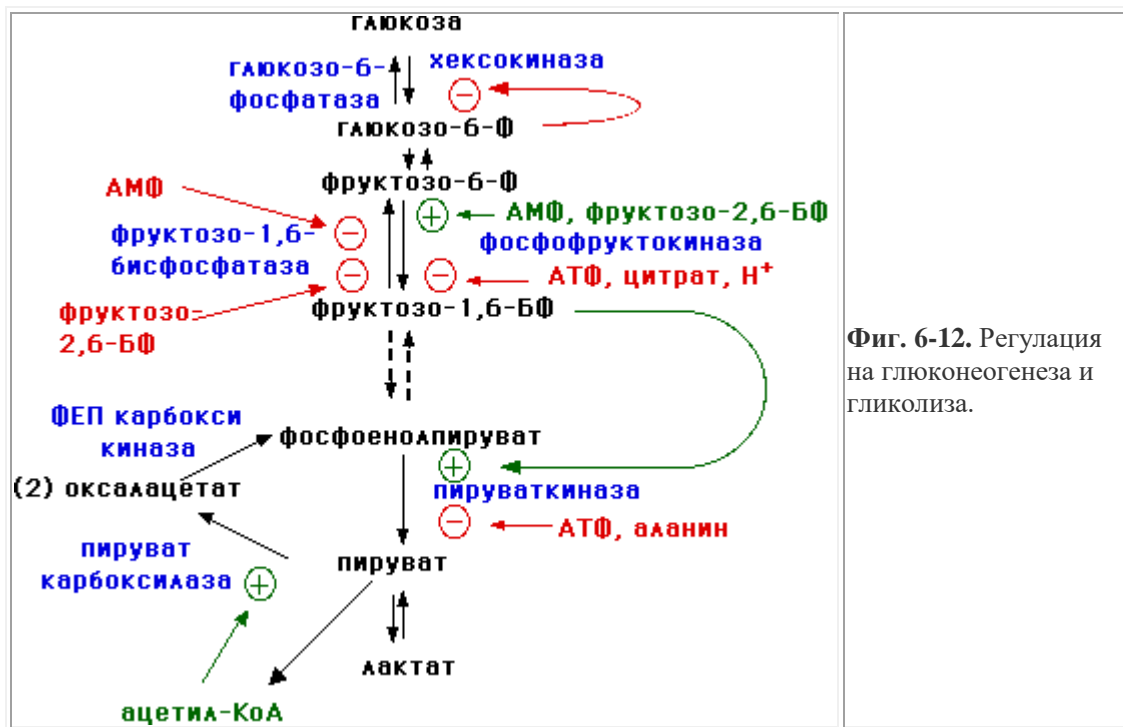
Енергетичният добив от разграждане на една молекула глюкоза до две молекули пируват е 2 молекули АТФ.

Тези разходи са необходимата цена за поддържане на два противоположни пътя - гликолиза и глюконеогенеза.

6.2.6 Регулация

Противоположните пътища гликолиза и глюконеогенеза не протичат едновременно *in vivo*, а се регулират реципрочно в зависимост от нуждите на организма.

Регулаторните ензими за глюконеогенеза са пируват карбоксилаза и ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бисфосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (фиг. 6-12). Катализираните от тях реакции са екзергонични и необратими.



Фиг. 6-12. Регулация на глюконеогенеза и гликолиза.

Най-важният регулаторен ензим на глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бисфосфатазата. В каква посока ще се изтегли обмяната на глюкоза - към гликолиза или глюконеогенеза зависи от концентрацията на фруктозо-2,6-бисфосфат. Това съединение е мощен алостеричен инхибитор на фруктозо-1,6-бисфосфатазата и активатор на фосфофруктокиназата.

Концентрацията на фруктозо-2,6-бисфосфат зависи от скоростта на синтеза и разграждане на фосфофруктокиназа-2 и фруктозо-бисфосфатаза-2. Тези две различни активности се намират в два различни домена на един и същи ензим. Този бифункционален ензим се регулира от различни алостерични ефектори и чрез фосфорилиране (с протеин киназа А)-дефосфорилиране (с фосфопротеин фосфатаза). Т. е. балансът между гликолиза и глюконеогенеза е под хормонален контрол.

При ниско ниво на глюкоза глюкагон стимулира образуване на цАМФ в чернодробни клетки. Това активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и да фосфорилира фруктозо-бисфосфатаза 2 (активиране). В резултат се намалява концентрацията на фруктозо-2,6-бисфосфат. Това води до инхибиране на фосфофруктокиназата и активиране на фруктозо-1,6-бисфосфатазата. Това измества баланса в полза на глюконеогенезата.

При високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава се концентрацията на фруктозо-2,6-бисфосфат и това стимулира гликолизата.

Цикъл на Кори

Цикълът на Кори се свежда до образуване на лактат от глюкоза в скелетните мускули и ресинтеза на глюкоза чрез глюконеогенеза в черния дроб.

6.2.7 Приложение на познанията в медицината

6.2.7.1 Недостатъчност на фруктозо-1,6-бисфосфатаза

При генетично обусловена недостатъчност на фруктозо-1,6-бисфосфатазата [5] се блокира глюконеогенезата. Лактат и други гликогенни субстрати не могат да се превърнат в глюкоза в черния дроб. Това води до възникване на лактатна ацидоза и хипогликемия.

Това е сериозен дефект в глюконеогенезата. При непоемане на храна поддържането на концентрацията на кръвната глюкоза зависи от гликогенолизата и от глюконеогенезата. След 8-12 часово гладуване през нощта гликогеновите запаси са изчерпани, а глюконеогенезата не работи.

Състоянието може да се контролира чрез поемане на храна, богата на въглехидрати с изключение на фруктоза и захароза и като се избягват гладуване.

6.2.7.2 Хипогликемия и недоносени бебета

Недоносени и с поднормено тегло новородени са по-податливи към хипогликемия в сравнение с доносени и с нормално тегло бебета поради няколко причини [6, 7].

1) По начало децата са по-податливи на хипогликемия от възрастните. Поради по-голямото съотношение мозък/тяло при новородените мозъкът консумира повече глюкоза отколкото цялото тяло.

2) Новородените нямат голяма възможност за ползване на други запаси освен глюкоза. Слабо работят важни пътища от липидната обмяна. Транспортът на дълговерижните мастни киселини в черния дроб на новородени е слабо развит. Съответно не се извършва разграждане на мастни киселини, не се синтезират и кетонни тела, които мозъкът би могъл да използва.

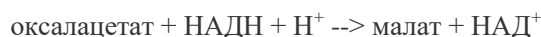
3) Новородените имат ограничени възможности да синтезират глюкоза чрез глюконеогенеза. Това е така, тъй като скорост-определящият ензим фосфоенолпируват карбоксикиназа е в много ниско количество в първите часове след раждането. Необходими са няколко часа, за да се индуцира синтезата на този ензим до ниво, което да предотвратява хипогликемията по време на периодите без храна.

4) Недоносените имат по-малки запаси от чернодробен гликоген. Те се изчерпват по-бързо отколкото при доношените деца и зависят изцяло от глюконеогенезата.

6.2.7.3 Хипогликемия и алкохолно отравяне

Консумацията на алкохол, особено на фона на общо недохранване или след тежка физическа работа, може да предизвика хипогликемия [8, 9]. И в двата случая хипогликемията е резултат от инхибиторния ефект на етанол върху чернодробната глюконеогенеза в условията на изчерпани гликогенови запаси.

При обезвреждането на алкохол се натрупва НАДН (виж т. 4.2.10.2), който не може да бъде метаболиран достатъчно бързо от черния дроб. Допълнителните редуциращи еквиваленти изместват равновесието в реакцията пируват-лактат в посока към лактат и в реакцията оксалацетат-малат в посока към малат, както следва:



Изтеглянето на тези реакции в посока към лактат и малат намалява количеството на пируват и оксалацетат, необходими за пируват карбоксилазната и ФЕП карбоксикиназната реакции от глюконеогенезата.

По същата причина аланин през пируват се превръща в лактат. Всичко това довежда до лактатна ацидоза, макар и обикновено по-лека.

Ниски дози алкохол влошават двигателните и интелектуалните прояви. Високи дози алкохол имат депресиращ ефект, което може да доведе до запек и анестезия. Ниските кръвни нива на глюкоза допринасят за тези ефекти на алкохола. Хипогликемията може да доведе до необратими увреждания на централната нервна система.

Деца са силно зависими от глюконеогенезата, когато не поемат храна, и в случай на поемане на алкохол, могат да получат тежка хипогликемия.

6.3 Пентозо-фосфатен път

6.3.1 Резюме

Пентозофосфатният път (ПФП) е алтернативен път за разграждане на глюкоза, който се отклонява от гликолитичната верига на нивото на глюкозо-6-фосфат и след серия от

окислителни, изомеразни и трансферазни реакции отново се свързва с гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат.

Главното значение на този път е производството на:

1) редуциран НАДФ, необходим за редукционни биосинтези и за осигуряване на редуциран глутатион при обезвреждане на активни кислородни производни и запазване целостта на клетъчната мембрана, особено в еритроцити.

2) рибозо-5-фосфат, необходим за синтеза на нуклеотиди и нуклеинови киселини.

НАДФН е резултат от действието на двата окислителни ензими в ПФП: глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа и 6-фосфоглюконат дехидрогеназа. Рибозо-5-фосфат се получава при окислителното декарбоксилиране на 6-фосфоглюконат под действие на 6-фосфоглюконат дехидрогеназа.

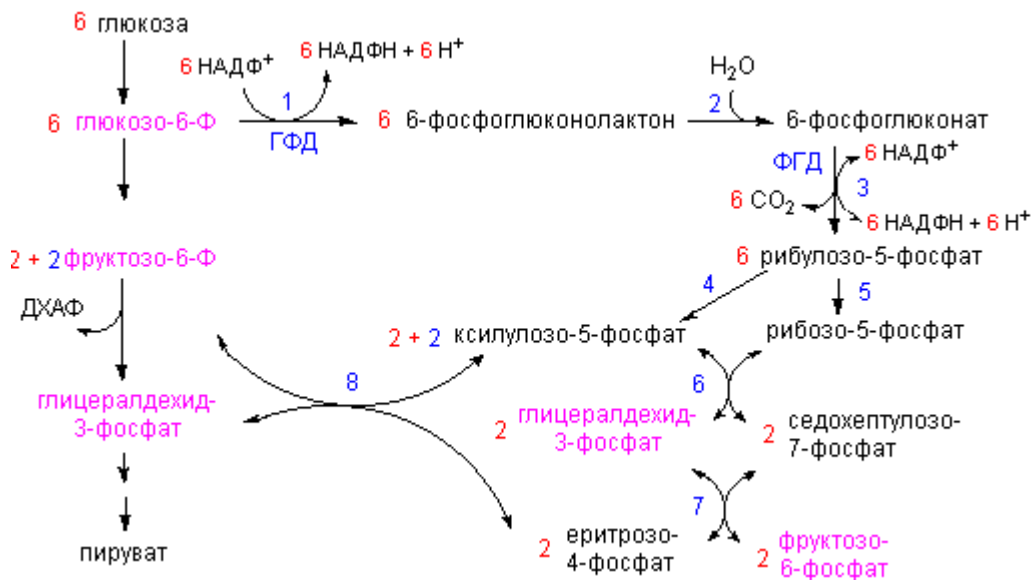
Чрез трансферазните ензими на ПФП транскетолаза и трансалдолаза се осигурява лесно превръщане на монозахариди с дължина на веригата от 3 до 7 С атоми. В зависимост от нуждите на клетката метаболити от гликолизата могат да се насочват към образуване на рибозо-5-фосфат (важно за бързо делящи се клетки) или пък когато се изискват по-големи количества НАДФН, излишните пентози се насочват към фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. Последните могат да се използват както за гликолиза, така и за глюконеогенеза.

Индивиди с глюкозо-6-фосфат дехидрогеназна недостатъчност са податливи на хемолитична анемия при поемане на медикаменти, действащи като окислителни и изискващи повече НАДФН, отколкото мутантният ензим може да осигури.

6.3.2 Общ поглед, особености и значение

Пентозо-фосфатният път (ПФП) е алтернативен на гликолизата път за разграждане на глюкоза. Това разграждане се съпровожда не с натрупване на АТФ, а с натрупване на редуциращи еквиваленти под форма на НАДФН.

Както се вижда на фиг. 6-13, отклонението от гликолизата започва от глюкозо-6-фосфат. Това съединение е общ метаболит за двата пътя. След серия от окислителни (1-3), изомеразни (4 и 5) и трансферазни (6-8) реакции се получават други два метаболита, общи за гликолизата и ПФП. Това са фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. Така ПФП затваря с гликолизата цикъл. Затова се нарича и пентозофосфатен цикъл. Нарича се още пряко окислително разграждане на глюкозата или хексозофосфатен шънт, тъй като за разлика от гликолизата окислението и разграждането (окислително декарбоксилиране) започва не на ниво триози, а на ниво хексози.



Фиг. 6-13. Общ поглед върху пентозофосфатния път като отклонение от гликолизата.

Общите метаболити за този път и гликолизата са глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат и глицералдеhid-3-фосфат (виолетов цвят). За отделяне на 6 молекули CO_2 (формално съответстващо на разграждане на 1 мол глюкоза), в цикъла трябва да навлезат едновременно 6 хексозни молекули. От тях след окисление, декарбосилиране, изомеразни и трансферазни реакции се получават 4 хексозни молекули (фруктозо-6-фосфат) и 2 триозни молекули (глицералдеhid-3-фосфат). Номерата на реакциите от 1 до 8 са в син цвят. С червен цвят е даден броят на участващите молекули. При реакция 4 се получават 4 молекули ксилулозо-5-фосфат. Две от тях реагират в реакция 6, а другите две в реакция 8.

ГФД - глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; ФГД - 6-фосфоглюконат дехидрогеназа.

При едновременното навлизане на 6 хексозни молекули в ПФП се отделят 6 молекули CO_2 в реакция 3, което формално съответства на разграждане на 1 молекула хексоза (макар и не индивидуална, както става в комбинацията гликолиза плюс цитратен цикъл. Докато в гликолиза и цитратен цикъл са необходими 7 окислителни ензими, ПФП е много по-икономичен - тук има само два окислителни ензими ГФД и ФГД.

При разграждане на 6 молекули глюкозо-6-фосфат, ако водородът от 12 мола цитоплазмен НАДФН, натрупан в окислителните реакции 1 и 3, се предаде посредством трансхидрогеназната реакция и малатната, напр. совалка, то хипотетично в дихателната верига биха се получили $12 \times 3 = 36$ мола АТФ, което е съпоставимо с енергетичния добив при комбинацията гликолиза плюс цитратен цикъл. Трябва да се подчертае обаче, че в действителност това не става, тъй като ПФП е локализиран в цитоплазмата, където са и редукционните синтези.

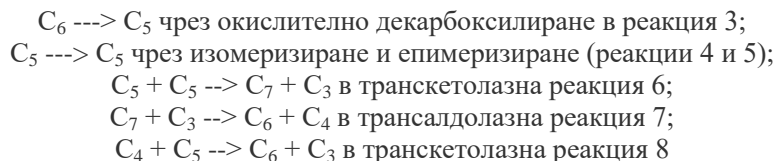
Така че, докато главното предназначение на гликолизата и цитратния цикъл са окисление и акумулиране на освободената енергия в АТФ, то главното предназначение на ПФП е:

1) производство на НАДФН, необходим за редукционни синтези. Затова и ПФП е застъпен в цитоплазмата на клетки в тъкани, където се извършва усилено липидна биосинтеза и е необходим НАДФН за техните редукционни стъпала. В еритроцити НАДФН е нужен за редукция на глутатион като част от обезвреждането на H_2O_2 .

2) получаване на рибозо-5-фосфат в реакция 5, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини;

3) Пренасочване на метаболити в различни направления

В ПФП лесно и бързо се превръщат едни в други монозахариди с дължина на веригата от 3 до 7 C атоми, както следва:



Благодарение наличието на общ монозахариден резервоар в клетките чрез реакции 4-8 на ПФП метаболити от гликолизата (фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат) могат да се изтеглят към синтеза на рибозо-5-фосфат за нуклеотиди и нуклеинови киселини. Ако за клетките е необходим повече НАДФН отколкото рибозо-5-фосфат, то излишъкът от него чрез трансферазните реакции на ПФП се превръща във фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат, които могат да се използват както в гликолиза, така и в глюконеогенеза в зависимост от нуждите на клетките.

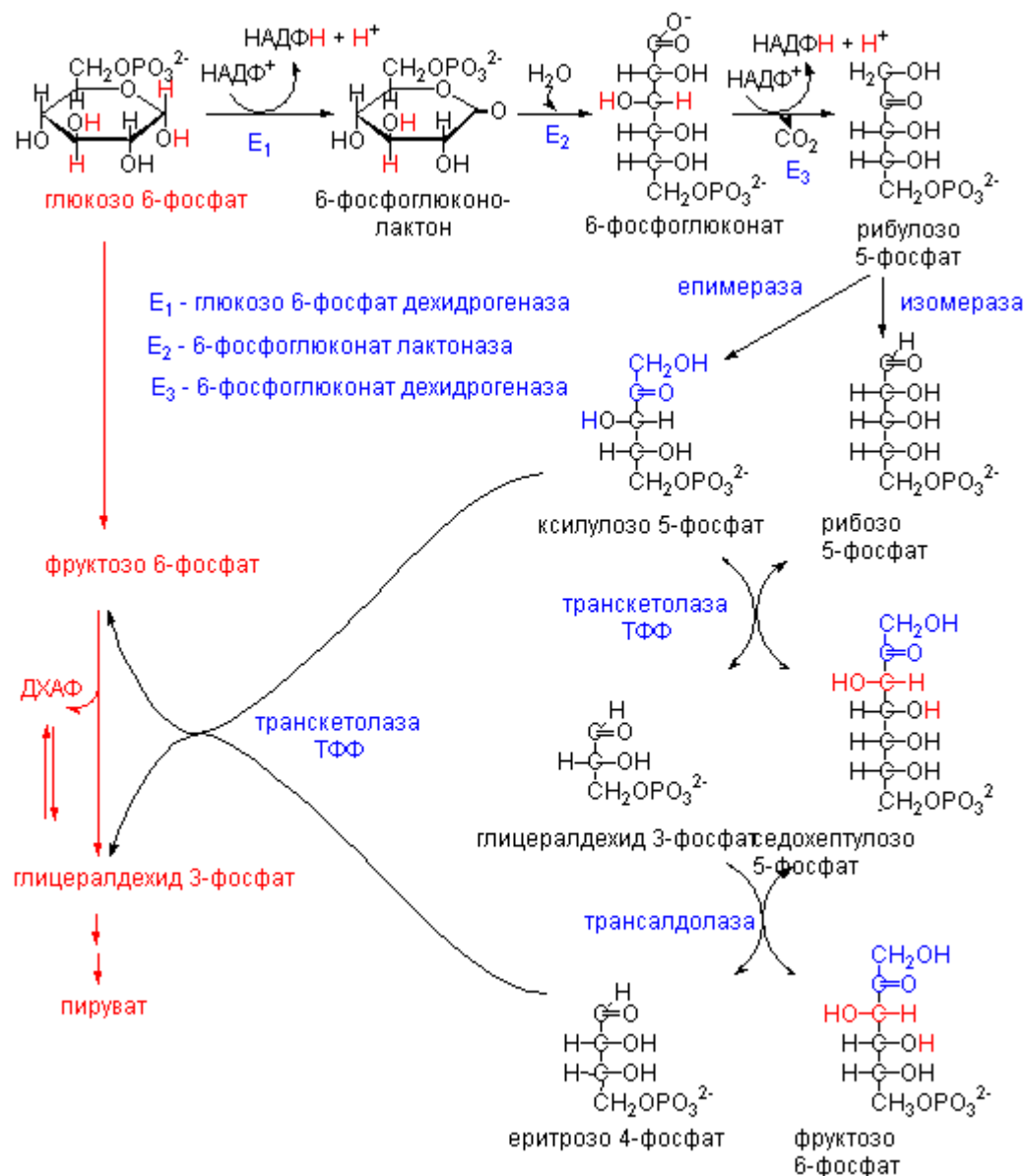
4) Наред с гликолиза ПФП доставя триозата глицералдехид-3-фосфат за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан, където липсва глицерол киназа. Там глицерол-3-фосфат е необходим за синтеза на триацилглицероли

6.3.3 Химизъм

На фиг. 6-14 са дадени химичните превръщания в ПФП. За да се разглежда процеса като цикъл необходимо е едновременно навлизане на поне 3 молекули глюкозо-6-фосфат. Тогава 3 C атома се отделят като CO_2 , т.е. все едно $1/2$ молекула хексоза се разгражда. Съответно, при навлизане на 6 молекули глюкозо-6-фосфат в ПФП, формално 1 молекула хексоза се разгражда.

Първата реакция (дехидрогениране на глюкозо-6-фосфат до 6-фосфоглюконо- δ -лактон) се катализира от глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа с кофактор $НАДФ^+$. Този ензим катализира пренос на хидриден йон от C_1 на субстрата върху $НАДФ^+$, при което се получава 6-фосфоглюконо- δ -лактон. Ензимът е специфичен за $НАДФ^+$ и се инхибира от НАДФН.

Глюкозо-6-фосфат може да се получи в хексокиназната реакция на гликолизата или от разграждането на гликоген.



Фиг. 6-14. Химични реакции в пентозо-фосфатния цикъл, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO₂, 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. В ляво вертикално във виолетов цвят е представена опростено гликолизата. C₂-фрагментите, пренасяни от транскетолазата в реакции 6 и 8, са в син цвят. Пренасяният C₃-фрагмент от трансалдолазата е в синьо и червено.

Втората реакция (хидролиза на 6-фосфоглюконо-δ-лактон до 6-фосфоглюконат) може да протича и спонтанно, но се ускорява от 6-фосфоглюконолактоназа.

В третата реакция под действие на 6-фосфоглюконат дехидрогеназа с кофактор НАДФ⁺ се извършва окислително декарбосилиране на β-хидроксикиселината 6-фосфоглюконат до рибулозо-5-фосфат, аналогично на окислителното декарбосилиране на изоцитрат до α-кетоглутарат в цитратния цикъл. Дехидрогенирането на β-С атом улеснява отделянето на CO₂. С това завършва окислителният стадий в ПФП. Резултатът е 3 CO₂, 3 рибулозо-5-фосфат и 6 НАДФН (по 2 НАДФН за всяка молекула глюкозо-6-фосфат, навлязъл в ПФП).

В следващия стадий рибулозо-5-фосфат се изомеризира до рибозо-5-фосфат и епимеризира до ксилулозо-5-фосфат в различно съотношение, в зависимост от нуждите на клетките. В бързо делящи се клетки, синтезиращи ДНК, се получава повече рибозо-5-фосфат. Ако ПФП

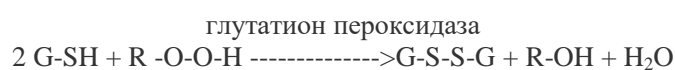
се използва само за получаване на НАДФН, обикновено съотношението на ксилулозо-5-фосфат към рибозо-5-фосфат е 2:1.

В третия стадий се извършват три трансферазни реакции. Първата от тях (пренос на C₂-фрагмент от ксилулозо-5-фосфат върху рибозо-5-фосфат) се катализира от транскетолаза с кофактор тиамин пирофосфат (фиг. 5-14 в т. 5.3.6.2). Получават се триозата глицералдехид-3-фосфат и седохептулозо-7-фосфат. Тези продукти взаимодействат помежду си под действие на трансалдолаза. Ензимът пренася C₃-фрагмент от седохептулозо-7-фосфат върху глицералдехид-3-фосфат. Получават се фруктозо-6-фосфат и еритрозо-4-фосфат. Първият продукт е метаболит от гликолизата, а вторият взаимодейства с втората молекула ксилулозо-5-фосфат във втора транскетолазна реакция. Под действие на транскетолаза отново се пренася C₂-фрагмент от ксилулозо-5-фосфат върху еритрозо-4-фосфат. Получава се фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат, които са метаболити от гликолизата.

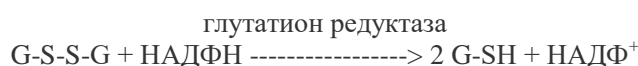
6.3.4 Приложение на познанията в медицината: Недостатъчност на глюкозо-6-фосфат-дехидрогеназа

В еритроцитите глюкозо-6-фосфат-дехидрогеназата има важна роля - осигурява НАДФН, който е необходим за поддържане редуцираната форма на глутатион (G-SH) (фиг. 5-9-2 в т. 5.2.6.5). Главната функция на редуцирания глутатион е необходим за обезвреждане на H₂O₂ и други органични пероксиди, които като активни кислородни производни необратимо увреждат хемоглобин и други белтъци, мембранните фосфолипиди и нуклеиновите киселини (виж т. 5.5.4).

Пероксидите се елиминират в следната реакция:



Редуциран глутатион се регенерира при редукцията на окисления глутатион с НАДФН под действие на глутатион редуктаза.



При еритроцитите натрупването на пероксиди води до хемолиза. Така че НАДФН е жизнено важен за осигуряване целостта на еритроцитната мембрана.

В индивиди с недостатъчност на глюкозо-6-фосфат-дехидрогеназата еритроцитите са особено чувствителни към окислителен стрес при поемане на различни медикаменти - например антimalарийния препарат примакин (primaquin) или когато ядат бакла (Vicia faba). Примакин и токсични гликозиди в баклата стимулират образуване на пероксиди, повишавайки необходимостта от НАДФН до ниво, което еритроцитите с мутантна глюкозо-6-фосфат-дехидрогеназата не могат да осигурят.

Счита се, че главната причина за ниската ензимна активност е увеличената скорост на разграждане на мутантния ензим. Това обяснява защо пациенти със сравнително мека форма на ензимопатията, първоначално след поемане на примакин развиват хемолитична анемия, но след седмица се възстановяват, въпреки продължаващото лечение с примакин. Лизисните продукти стимулират освобождаване на млади незрели еритроцити - ретикулоцити, които съдържат повече ензим и се справят по-добре със стреса, причинен от примакин. Зрелите еритроцити не съдържат ядро, рибозоми и други органели и не могат да синтезират нов ензим.

Известни са над 300 генетични варианти на глюкозо-6-фосфат-дехидрогеназата [10].

6.4 Обмяна на гликоген

6.4.1 Резюме

Гликогенът представлява главната резервна форма на въглехидратите в организма - в черния дроб и в мускулите.

В черния дроб главната му функция е да обслужва другите тъкани чрез образуване на кръвната глюкоза. В мускулите той обслужва нуждите само на мускула като непосредствен източник на метаболитно гориво.

Гликогенът е хомополизахарид, изграден от глюкозни остатъци, свързани чрез α -1,4-О-гликозидни връзки, като на всеки 8-14 остатъка има разклонения, свързани към главната верига чрез α -1,6-О-гликозидни връзки. Гликоген има един редуциращ край (със свободна НО-група при C_1) и много нередуциращи краища (със свободни НО-група при C_4).

Хидролитното разграждане на гликоген и скорбяла в храносмилателния тракт става под действие на амилази (слюнчена и панкреатична), които разкъсват α -1,4-О-гликозидни връзки във вътрешността на веригата и от деразклоняващ ензим, късач α -1,4- и α -1,6-връзки. Получаващите се олигозахариди се разграждат от малтаза и други хидролази до глюкоза. Глюкозата се абсорбира в тънките черва и се транспортира по кръвен път към органи и тъкани.

Фосфоролитичното разграждане на гликоген глюкоза става чрез четири ензими. Гликоген фосфорилазата откъсва един по един глюкозни остатъци от нередуциращ край на гликоген и ги пренася върху фосфат. Полученият глюкозо-1-фосфат се превръща в глюкозо-6-фосфат от фосфоглюкомутаза. Деразклоняващият ензим чрез двете си активности (глюкан трансферазна и α -1,6-гликозидазна) премахва разклоненията и отделя глюкоза. В черния дроб глюкозо-6-фосфат се хидролизират от глюкозо-6-фосфатаза до глюкоза за експорт към тъканите. В мускулите глюкозо-6-фосфат се разгражда в гликолизата, тъй като липсва глюкозо-6-фосфатаза.

Синтезата на гликоген е различен път от разграждането. Субстрат е глюкоза, която се активира с АТФ до глюкозо-6-фосфат, изомеризира се в глюкозо-1-фосфат и допълнително активира при участие на УТФ до УДФ-глюкоза. Тирозин гликозилтрансфераза гликозилира Тир194 в гликогенин, който след това автокаталитично се гликозилира до получаване на фрагмент от 7-8 глюкозни остатъци. Тези прикрепени към гликогенин остатъци са зародишът, към който гликоген синтазата може да добавя глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращи краища и така да удължава веригите. Разклоняващият ензим образува разклонения като пренася фрагмент от 7 остатъци от нередуциращия край на главната верига към C_6 -ОН група от глюкозен остатък от същата ири друга верига.

Гликоген фосфорилазата е регулаторният ензим на гликогенолизата, а гликоген синтазата - на синтезата на гликоген. И двата ензима катализират неравновесни необратими реакции. И двата се регулират чрез алостерично повлияване и чрез ковалентно фосфорилиране-дефосфорилиране.

АМФ е алостеричен активатор на фосфорилаза b, глюкоза е алостеричен инхибитор на фосфорилаза a. Като алостеричен активатор на неактивната гликоген синтаза b действа глюкозо-6-фосфат.

Обратимото ковалентно фосфорилиране-дефосфорилиране на двата ензима измества равновесието

активна форма a \rightleftharpoons неактивна форма b

и променя чувствителността им към алостерични ефектори.

Гликоген фосфорилазата се активира от фосфорилиране, докато гликоген синтазата се активира от дефосфорилиране. Отношението активна фосфорилаза а към неактивна фосфорилаза b зависи от активността на киназата на фосфорилазата и активността на фосфопротеин фосфатазата. Киназата на фосфорилазата от своя страна се регулира от цАМФ-зависима протеин киназа А

Хормони като глюкагон и адреналин, които генерират цАМФ като вторичен посредник или сигнали, които увеличават вътреклетъчния Ca^{2+} , който се свързва към калмодулиновата субединица на киназата на фосфорилазата, активират гликогенолизата. Обратно, инсулин стимулира синтеза на гликоген чрез активиране на фосфопротеин фосфатазата.

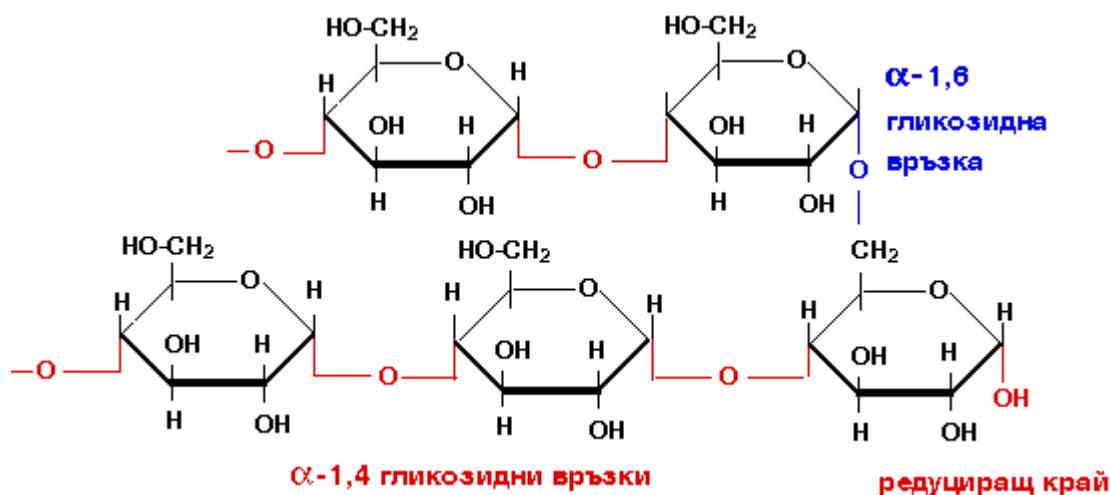
Гликогенозите са група наследствени заболявания (10 типа - виж табл. 6-2), при които гликогенът е с променено качество или количество [10]. Дължат се на дефекти в различни ензими, участващи в метаболизма на гликоген.

6.4.2 Резервни полизахариди: гликоген и скорбяля

Гликогенът е хомополизахарид, изграден от глюкозни остатъци, свързани, чрез α -1,4-О-гликозидни връзки, като на всеки 8-14 остатъка има разклонения, свързани към главната верига чрез α -1,6-О-гликозидни връзки (фиг. 6-15). Гликогеновата молекула съдържа около 120 000 глюкозни остатъци. Гликоген има един редуциращ край (със свободна НО-група при С1) и много нередуциращи краища (със свободни НО-група при С4).

Гликогенът е резервен полизахарид в животни и човек, гъби и бактерии. В човека и животните присъства във всички клетки, но най-значими гликогенови запаси има в черния дроб (около 10 % от теглото му) и в скелетни мускули (около 1 - 2 % от теглото им).

С електронна микроскопия е установено, че гликогеновите сфероподобни молекули (с диаметър 10 до 40 nm) изграждат гранули съвместно с ензимите за разграждане и синтеза на гликоген, както и белтъци, регулиращи тези процеси.



Фиг. 6-15. Структура на част от молекулата на гликоген. Дадени са α -1,4- и α -1,6-О-гликозидни връзки.

Скорбялата е резервен полизахарид в растенията и главният въглехидратен източник в храната на човека. Скорбялата е смес от α -амилоза и амилопектин.

α -Амилозата е линеен полимер от няколко хиляди глюкозни остатъци, свързани чрез α -1,4-О-гликозидни връзки. Веригата образува ляво въртяща спирала.

Амилопектинът, съдържащ около 10^6 глюкозни остатъци, прилича на гликоген, но разклоненията са по-нарядко - през 24-30 остатъка.

Съхраняването на глюкоза под форма на полимери силно намалява вътреклетъчното осмотично налягане, което би съществувало, ако се съхраняваше в мономерна форма, тъй като осмотичното налягане е пропорционално на броя на разтворимите молекули в даден обем.

6.4.3 Хидролитно разграждане на гликоген и скорбяла

Тези полизахариди се разграждат в храносмилателния тракт първоначално от слюнчената α -амилаза, която като ендохидролаза разкъсва α -1,4-О-гликозидните връзки във вътрешността на веригата, без да въздейства на α -1,6-гликозидните връзки. В резултат от амилозата се получават по-къси линейни фрагменти, а от амилопектина и гликогена - смес от линейни и разклонени фрагменти. Последните се наричат декстрини. В стомаха поради значително по-ниското рН (1-2) ензимът се денатурира и прекратява действието си.

В тънките черва линейните фрагменти под действие на панкреатичната α -амилаза (с действие като слюнчената) се разграждат до дизахариди (малтоза) и тризахариди (малтотриоза). Тези олигозахариди и декстрините се разграждат по-нататък от:

- 1) α -1,4-глюкозидаза (малтаза), която като екзоензим хидролитно отделя по един глюкозен остатък от веригата, късайки α -1,4-връзки;
- 2) деразклоняващ ензим, премахващ разклоненията (разкъсва хидролитно α -1,6- и 1,4-връзки).

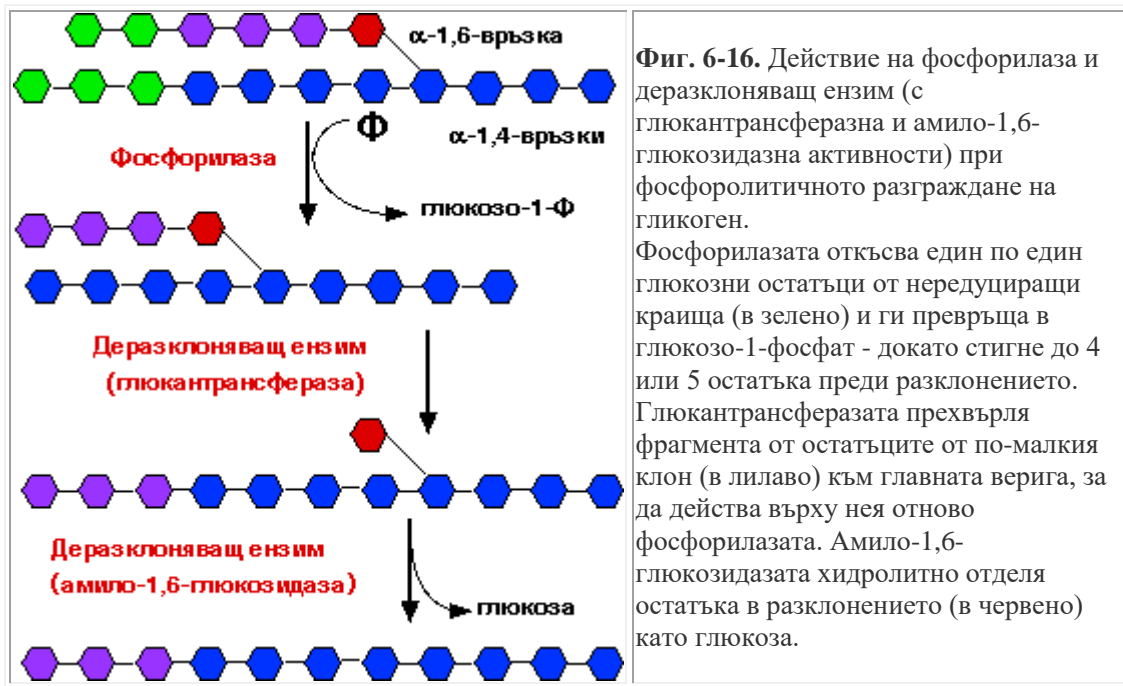
Получените глюкозни молекули се абсорбират в тънките черва и транспортират чрез кръвообращението. При постъпването им в клетките за активирането на всяка глюкозна молекула до глюкозо-6-фосфат се изразходва една молекула АТФ.

6.4.4 Фосфоролитично разграждане на гликоген

Вътреклетъчното разграждане на гликоген (гликогенолиза) се извършва под действие на 3 ензима:

- 1) гликоген фосфорилаза
- 2) деразклоняващ ензим, действащ като глюкантрансфераза и амило-1,6-глюкозидаза
- 3) фосфоглюкомутаза.

На фиг. 6-16 е представено действието на първите два ензима. Гликоген фосфорилазата (или просто фосфорилаза) действа като екзо-ензим и отделя фосфоролитично един по един глюкозни остатъци от нередуциращи краища (представени в зелено) като разкъсва α -1,4-гликозидна връзка и пренася тези остатъци върху неорганичен фосфат. Получава се глюкозо-1-фосфат. Ензимът действа докато до разклонението останат 4 или 5 остатъци.



Фиг. 6-16. Действие на фосфорилаза и деразклоняващ ензим (с глюкантрансферазна и амило-1,6-глюкозидазна активности) при фосфоролитичното разграждане на гликоген. Фосфорилазата откъсва един по един глюкозни остатъци от нередуциращи краища (в зелено) и ги превръща в глюкозо-1-фосфат - докато стигне до 4 или 5 остатъка преди разклонението. Глюкантрансферазата прехвърля фрагмента от остатъците от по-малкия клон (в лилаво) към главната верига, за да действа върху нея отново фосфорилазата. Амило-1,6-глюкозидазата хидролитно отделя остатъка в разклонението (в червено) като глюкоза.

Гликоген фосфорилазата е димер от 2 еднакви субединици. Катализира скорост-определящата реакция в гликогенолизата. Регулира се от алостерични взаимодействия и фосфорилиране-дефосфорилиране (т. 4.4.3.).

Фосфорилираната форма на ензима по Сер 14 (фосфорилаза а) е активна).

Дефосфорилираната форма (фосфорилаза b) е неактивна.

Във вдлъбнатина между гликоген свързващото място и активния център се разполагат не повече от 4 или 5 глюкозни остатъци в линейна верига, но не се побират разклонения. Това обяснява защо ензимът прекратява действието си когато до разклонението останат 4-5 остатъка.

Фосфорилазата действа съвместно с простетичната група пиридоксал фосфат (ПФ), производно на витамин В₆, чиято структура ще бъде разгледана в т. 8.1.3 - фиг. 8-4. За действието на фосфорилазата е необходима фосфатната група на ПФ.

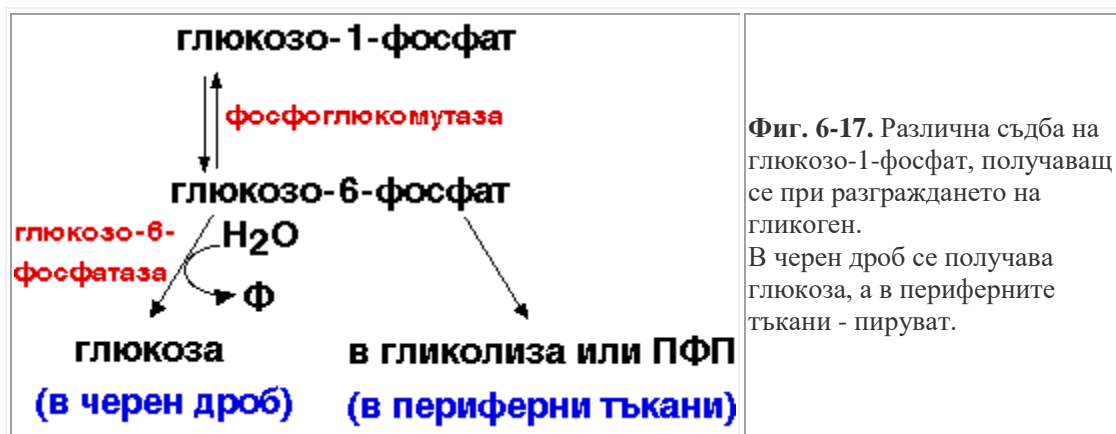
Деразклоняващият ензим има две ензимни активности. Когато фосфорилазата спре да действа, се включва първата му активност - глюкан трансферазната. Използва се и названието амило-[α -1,4 \rightarrow α -1,4]-трансглюкозидаза. Ензимът пренася оставащите до разклонението α -1,4 свързани остатъци (представени в лилаво) върху нередуциращ край на съседен клон, като с това удължава линейната верига и създава възможност отново да действа фосфорилазата.

Втората активност на деразклоняващия ензим е амило-1,6-глюкозидазна. Чрез нея ензимът хидролитно разкъсва 1,6-връзката, при което глюкозният остатък в разклонението (представен в червено) се отделя като глюкоза. Около 10% от остатъците в гликоген са в разклоненията и дават глюкоза, а не глюкозо-1-фосфат. Получената неразклонена верига се разгражда от фосфорилазата.

Съдбата на глюкозо-1-фосфат, получаващ се под действие на фосфорилазата, е представена на фиг. 6-17. В черния дроб под действие на фосфоглюкомутаза глюкозо-1-фосфат изомеризира до глюкозо-6-фосфат. Реакцията е обратима. Глюкозо-6-фосфат може да се използва:

- 1) в гликолизата или в пентозо-фосфатния път; или
- 2) под действие на глюкозо-6-фосфатаза може да се превърне в глюкоза в зависимост от нуждите на клетката и на организма. Получената глюкоза може да бъде отделена в кръвта за транспорт до нуждаещите се органи, и най-вече - мозък и еритроцити.

Мускулите и други тъкани нямат глюкозо-6-фосфатаза, така че там глюкозо-6-фосфат не може да се превърне в глюкоза, която да излиза в кръвта.



Фиг. 6-17. Различна съдба на глюкозо-1-фосфат, получаващ се при разграждането на гликоген. В черен дроб се получава глюкоза, а в периферните тъкани - пируват.

6.4.5 Синтеза на гликоген

Синтезата на гликоген (гликогеногенеза) не е просто обръщане на гликогенолизата, а отделен път с други ензими. При физиологични условия гликогенолизата е екзергоничен процес и той не може да бъде обърнат без разход на енергия.

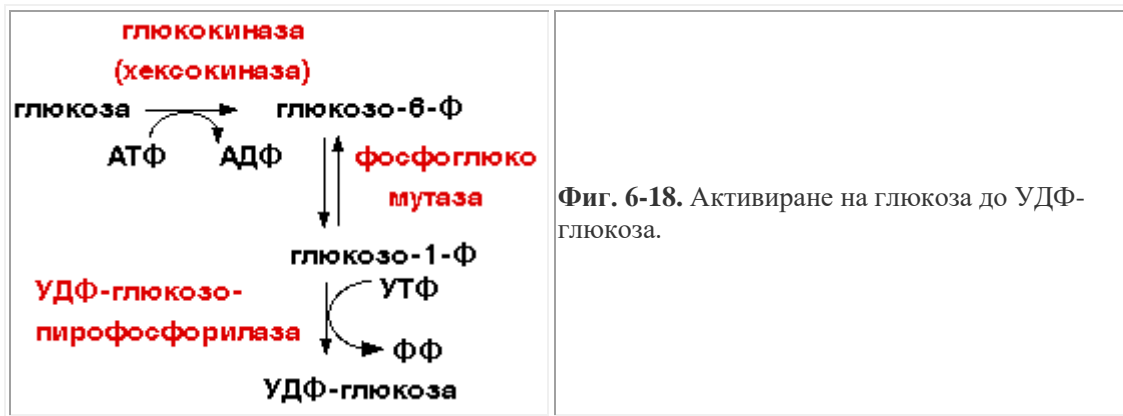
Изследванията върху едно наследствено заболяване (болест на McArdle, разгледано в т. 6.4.6) са потвърдили, че разграждането и синтезата на гликоген протичат в отделни пътища. Засегнатите от тази болест имат дефектна мускулна фосфоорилаза, но в мускулите им има нормален гликоген в увеличено количество.

Синтезата на гликоген започва с активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза (фиг. 6-18). То протича, както следва:

Хексокиназа в мускулите или глюкокиназа в черния дроб активират глюкозата до глюкозо-6-фосфат като пренасят фосфатна група и част от енергията на АТФ върху глюкозата (формулите са дадени в т. 6.1.3.1).

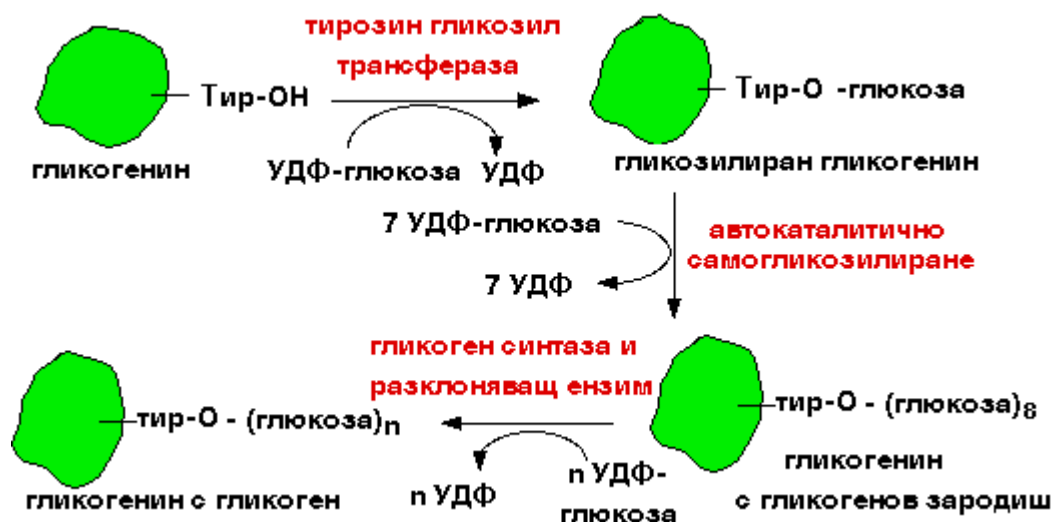
Фосфоглюкомутаза превръща глюкозо-6-фосфат в глюкозо-1-фосфат (обратима реакция - виж 6-18 в т. 6.4.4).

Уридиндифосфат-глюкозо пирофосфоорилаза (съкратено УДФ-глюкозо пирофосфоорилаза) активира допълнително глюкозния остатък. Директното превръщане на глюкозо-1-фосфат в гликоген и фосфат е ендергонична реакция. Тя може да стане термодинамично възможно, ако се съчетае с друга екзергонична реакция или реакции. За целта УДФ-глюкозо пирофосфоорилазата катализира взаимодействието между глюкозо-1-фосфат и УТФ (фиг. 6-18). Получават се УДФ-глюкоза и пирофосфат. (ΔG° е около 0 kJ/mol) и би трябвало да е обратима реакция, но тъй като последващата хидролиза на пирофосфат под действие на **пирофосфатаза** е силно екзергонична реакция, тя осигурява протичането на цялостния процес.



За синтеза е необходим зародиш (къса олигозахаридна верига от поне 7 глюкозни остатъци, свързани чрез α -1,4-гликозидни връзки. Този зародиш се образува с помощта на два ензима: тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим).

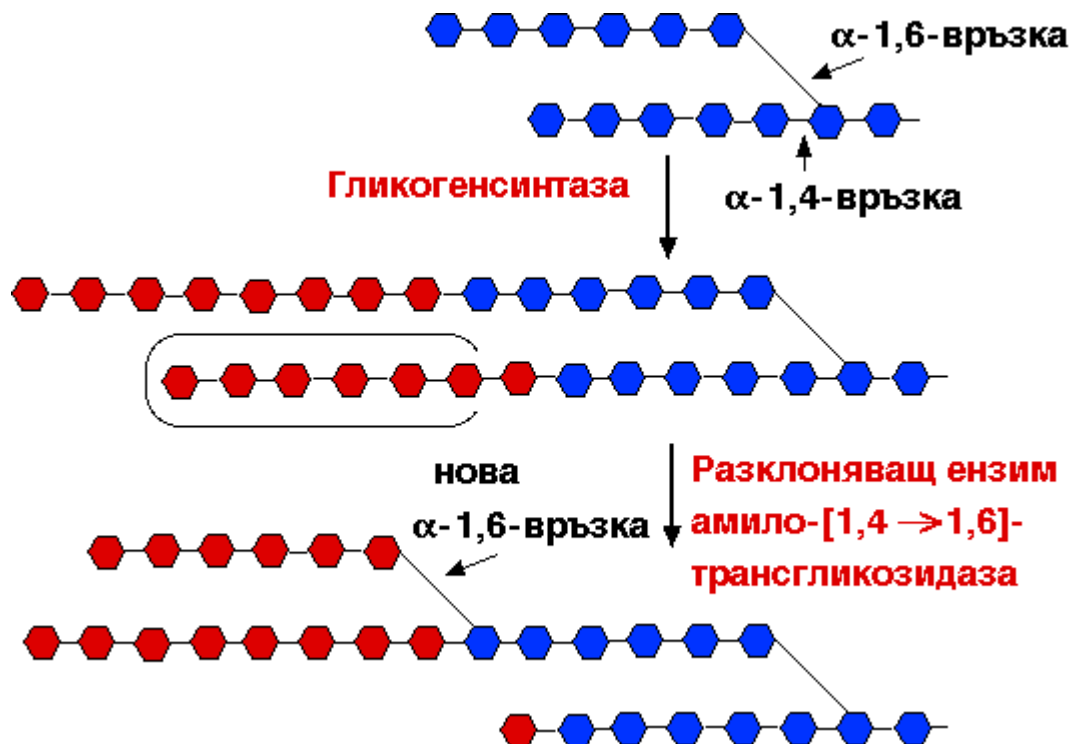
Тирозин гликозилтрансфераза пренася глюкозен остатък от УДФ-глюкоза върху фенолната група на Тир194 в специален белтък гликогенин и с това поставя началото на образуване на гликогенов зародиш (фиг. 6-19). След това **гликогенин**, който е самогликозилиращ се ензим автокаталитично добавя още няколко (до 7) глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза. Полученият къс фрагмент е именно зародишът, необходим за действие на гликоген синтазата. В скелетни мускули гликогенин остава свързан в центъра на гликогеновата молекула. В черния дроб гликогеновите молекули са много повече от гликогениновите и се предполага, че гликогенинът се отделя и използва неколкократно.



Фиг. 6-19. Образуване на гликогенов зародиш (праймер) с участието на тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин. Действието на гликоген синтазата и разклоняващия ензим е описано по-долу.

Гликоген синтазата удължава веригата като добавя един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуцирания край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (фиг. 6-20).

Когато веригата нарасне до 11 остатъци, разклоняващият ензим (амило-[1,4-->1,6]-трансгликозидаза) пренася фрагмент от 7 остатъци от края на веригата към С6-ОН група на глюкозен остатък от същата или друга верига.

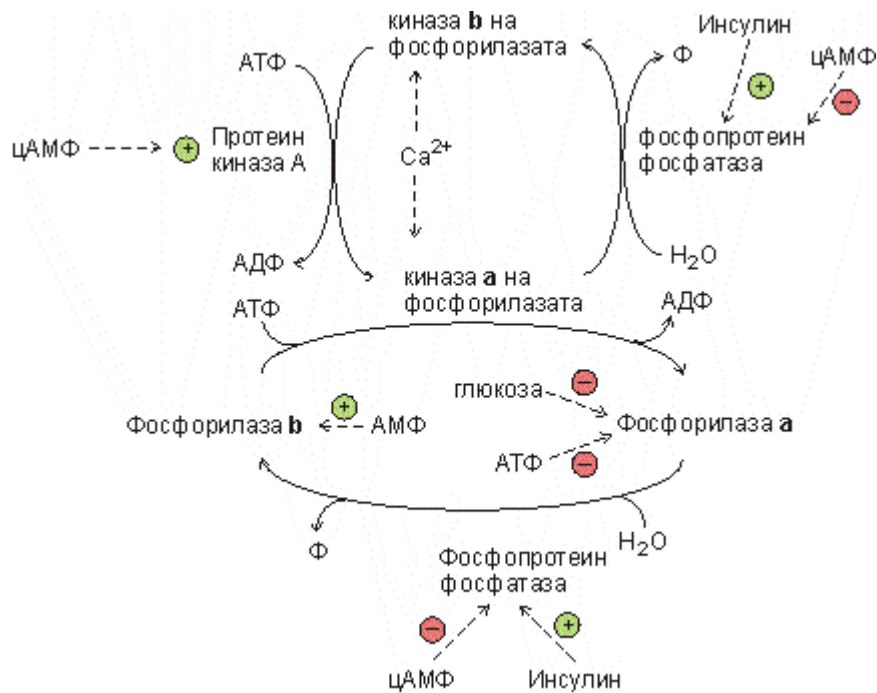


Фиг. 6-20. Действие на гликоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-[1,4->1,6]-трансгликозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращ край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъци от главната верига към С6-ОН на глюкозен остатък от същата или друга верига.

6.4.6 Регулация на гликогенолиза и гликогеносинтеза

Гликоген фосфорилазата е регулаторният ензим на гликогенолизата, а гликоген синтазата - на синтезата на гликоген. И двата ензима катализират неравновесни необратими реакции. И двата се регулират чрез алостерично повлияване и чрез ковалентно фосфорилиране-дефосфорилиране, описано в т.4.4. (4.4.1, 4.4.2, 4.4.3 с фиг. 4-33).

На фиг. 6-21 е дадена регулацията на гликоген фосфорилазата. Фосфорилаза а е активната форма, а фосфорилаза b - неактивната. Като алостерични ефектори действат АМФ (активатор на фосфорилаза b) и глюкоза (инхибитор на фосфорилаза а).



Фиг. 6-21. Регулация на обмяната на гликоген чрез алостерично повлияване и обратимо ковалентно модифициране (фосфорилиране-дефосфорилиране) на гликоген фосфорилазата.

Фосфорилаза b преминава във фосфорилаза a под действие на киназа на фосфорилаза a. Самата киназа на фосфорилазата също се регулира чрез фосфорилиране-дефосфорилиране. Протеин киназа A активира киназата на фосфорилазата, а фосфопротеин фосфатаза я инактивира.

Киназата на фосфорилазата е голям ензимен комплекс, изграден от 16 субединици: $\alpha_4\beta_4\gamma_4\delta_4$. Каталитични функции има γ -субединицата, а останалите упражняват регулаторен контрол. α - и β -субединиците се фосфорилират-дефосфорилират от протеин киназа A. δ -Субединицата е Ca^{2+} -свързващ регулаторен белтък, наречен калмодулин. Той се среща и като свободен белтък, и като участник в ензимни комплекси. Действа като рецептор на Ca^{2+} в клетката, отговаряйки на промени в концентрацията му и повлиявайки активностите на голям брой ензими. Тук свързването на Ca^{2+} към калмодулиновата субединица на киназата на фосфорилазата променя конформацията на комплекса - прави го по-активен да фосфорилира фосфорилазата.

Ca^{2+} активира и двете форми (a и b).

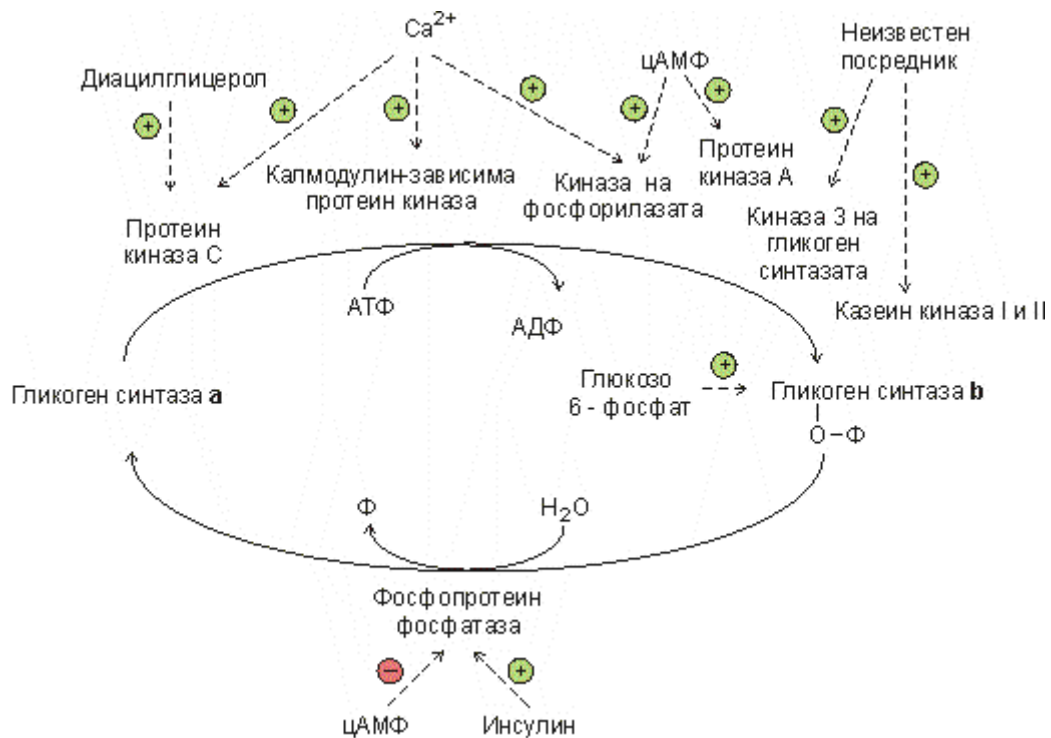
Фосфопротеинфосфатазата, която дефосфорилира фосфорилазата и киназата на фосфорилазата, също е подложена на регулация - инхибиране от цАМФ и активиране от инсулин.

Хормони като глюкагон и адреналин, които увеличават [цАМФ], предизвикват активиране на гликоген фосфорилазата чрез активиране на киназата на фосфорилазата и инхибиране на фосфопротеин фосфатазата. Обратно, инсулин има обратен ефект върху фосфорилазата чрез активиране на фосфопротеин фосфатазата.

Тази сложна неколкостепенна регулация осигурява амплификация от 1 до 100 млн пъти на изходния хормонален сигнал.

На фиг. 6-22 е дадена регулацията на гликоген синтазата. Като алостеричен активатор на неактивната гликоген синтаза b действа глюкозо-6-фосфат. За разлика от фосфорилазата,

която се активира само от протеин киназа А, то гликоген синтазата се фосфорилира и инактивира от няколко различни кинази, всяка от които от своя страна се регулира от вторични посредници на хормони като цАМФ, Ca^{2+} , диацилглицерол и други.



Фиг. 6-22. Регулация на обмяната на гликоген чрез алостерично повлияване и обратимо ковалентно модифициране (фосфорилиране-дефосфорилиране) на гликоген синтазата.

Фосфопротеин фосфатазата, която дефосфорилира и активира гликоген синтазата, се инхибира от цАМФ и активира от инсулин.

Така координирано и реципрочно се регулират регулаторните ензими на двата противоположни пътя - разграждане и синтеза на гликоген. Когато фосфорилазата е в активната си фосфорилирана форма, фосфорилираната гликоген синтаза е неактивна и обратно.

6.4.7 Приложение на познанията в медицината: гликогенози

Гликогенозите са група наследствени заболявания (10 типа - виж табл. 6-2), при които гликогенът е с променено качество или количество [11]. Дължат се на дефекти в различни ензими, участващи в метаболизма на гликоген. Повечето са от тези ензими участват в разграждането на гликоген. Гликогенозите, които засягат главно черния дроб, предизвикват хепатомегалия (увеличен черен дроб) и хипогликемия (ниска кръвна глюкоза). Гликогенозите, които засягат мускулите, предизвикват мускулни крампи и слабост. И в двата случая може да има сърдечно-съдови и бъбречни увреждания.

Табл. 6-2. Сравнение на десетте типа гликогенози.

Тип	Название: Болест на	Ензимна недостатъчност	Засегнат орган	Структура на гликоген	Количество на гликоген
I	von Gierke	глюкозо-6-	черен дроб	нормална	увеличено

		фосфатаза			
II	Pompe	α -1,4-глюкозидаза	всички лизозоми	нормална	увеличено
III	Cori	амило-1,6-глюкозидаза от деразклоняващия ензим	всички органи	липсващи или много къси външни вериги	увеличено
IV	Andersen	разклоняващ ензим	черен дроб и други органи	много дълги неразклонени вериги	нормално
V	McArdle	гликоген фосфорилаза	мускули	нормална	увеличено
VI	Hers	гликоген фосфорилаза	черен дроб	нормална	увеличено
VII	Tarui	фосфофруктокиназа	мускули	нормална	увеличено
VIII	-	киназа на фосфорилазата	черен дроб	нормална	увеличено
IX	-	киназа на фосфорилазата	всички органи	нормална	увеличено
0	-	гликоген синтаза	черен дроб	нормална	намалено

Някои от тези гликогенози са разгледани по-долу.

Болест на фон Гирке (гликогеноза тип I)

Това е най-разпространената гликогеноза. При нея има недостатъчност на глюкозо-6-фосфатаза в черен дроб, бъбреци и чревна мукоза. Клиничните прояви включват хипогликемия сутрин на гладно, лактатна ацидемия, хиперлипидемия (хиперурицемия и подагрен артрит).

Хипогликемията сутрин на гладно се обяснява с недостига на глюкозо-6-фосфатазата, необходима за получаване на глюкоза чрез гликогенолиза и глюконеогенеза. Натрупва се глюкозо-6-фосфат, който е активатор на гликоген синтазата и на УДФ-глюкозо-пирофосфорилазата (глюкозо-6-фосфат е в равновесие с глюкозо-1-фосфат - субстрат за последния ензим). Черният дроб на такива пациенти освобождава малко глюкоза с помощта на амило-1,6-глюкозидазата (деразклоняващ ензим).

Лактатна ацидемия има, защото черният дроб не може да използва лактата ефикасно за глюконеогенеза.

Хиперлипидемия има поради увеличената достъпност на лактат за липогенеза и увеличената липидна мобилизация от мастната тъкан, причинена от високите глюкагонови нива в отговор на хипогликемията.

Хиперурицемията може да се дължи на увеличено навлизане на глюкозо-6-фосфат в пентозо-фосфатния път, увеличено образуване на рибозо-5-фосфат, усилено образуване на пуринови нуклеотиди и увеличеното им разграждане в черния дроб до пикочна киселина (uric acid).

Лечението включва редовно поемане на въглехидратна храна, за да се избегне хипогликемията, подаване на въглехидрати по време на сън в стомаха чрез сонда, хирургическо преместване на порталната вена и чернодробна трансплантация.

Болест на Помпей - гликогеноза тип II

Това е най-тежката гликогеноза. Дължи се на недостатъчност на лизозомалната алфа-1,4-

глюкозидаза. В лизозомите на всички органи се натрупва гликоген с фатални последици. Развива се масивна кардиомегалия и смъртта настъпва поради сърдечно-дихателна недостатъчност рано, обикновено преди 1 година от раждането.

Болест на Кори - гликогеноза тип III

Дължи се на недостатъчност на амило-1,6-глюкозидазната активност от деразклоняващия ензим. Гликоген се натрупва, защото само най-външните клонове могат да бъдат разграждани от фосфорилазата. Настъпва хепатомегалия. Клиничните прояви са близки, но по-меки от тези при болестта на Фон Гирке, тъй като глюконеогенезата не е засегната и хипогликемията и нейните усложнения не са така изразени. По неизвестни засега причини понякога симптомите изчезват в пубертета.

Болест на Андерсен - гликогеноза тип IV

Липсва разклоняващият ензим. Натрупва се полизахарид почти без разклонения. Смъртта настъпва още първата година след раждането поради сърдечно или чернодробно увреждане.

Болест на Мак Ардл - V тип гликогеноза

Липсва мускулна фосфорилаза. Пациентите страдат от болки в мускулите, не могат да извършват усилена физическа работа, защото мускулните гликогенови запаси не са достъпни за работещите мускули. Поради това в мускула не се образува лактат и няма увеличение на плазмения лактат при работа. Мускулите се увреждат поради недостатъчното снабдяване с енергия и натрупване на гликоген. Недостигът на АТФ се отразява на интегритета на клетъчните мембрани. Поради влошеното състояние на мембраните често срещано явление е освобождаване на мускулни ензими като креатинфосфокиназа и алдолаза, а също и миоглобин. Увеличеното им ниво в кръвта, а дори появата им в урината е признак за смущения в мускулите.

6.5 Обмяна на други захари

6.5.1 Резюме

Наред с глюкозата, хексозите фруктоза, галактоза и маноза са важно метаболитно гориво. От храносмилателния тракт по кръвен път те достигат до различни тъкани, където се активират и превръщат в метаболити на гликолизата и се доразграждат в нея или използват за други обменни пътища.

Галактозата се активира от галактокиназа до галактозо-1-фосфат, след което галактозо-1-фосфат уридил трансферазата пренася уридилова група от УДФ-глюкоза към галактозо-1-фосфат. Получава се глюкозо-1-фосфат и УДФ-галактоза. УДФ-галактозо-4-епимеразата превръща УДФ-галактоза в УДФ-глюкоза.

Фруктозата в мускули се активира от хексокиназа до фруктозо-6-фосфат. В черен дроб посредством седем ензима фруктозата дава триозите глицерабдеhid-3-фосфат и ДХАФ. С изключение на черен дроб, фруктоза може през сорбитол да се превърне в глюкоза.

Манозата се активира от хексокиназа до манозо-6-фосфат, който фосфоманозо-изомеразата превръща във фруктозо-6-фосфат.

Уридиловите производни на монозахаридите имат значение, не само за превръщането на галактоза в глюкоза, но и за синтеза на дизариди, полизахариди, гликопротеини, гликолипиди и протеоглигани.

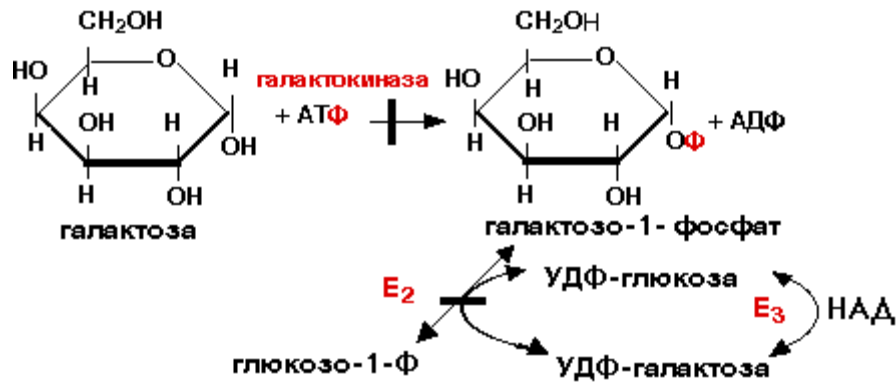
При дефекти в ензимите от метаболизма на тези три захари възникват наследствени заболявания. Галактоземия е заболяване, при което поради недостатъчност на галактозо-1-фосфат уридил трансферазата или галактокиназата, галактозата не може да се превръща в

глюкоза. При недостатъчност на чернодробната алдолаза В възниква фруктозна непоносимост.

6.5.2 Обмяна на галактоза

Галактозата е изомер на α -D-глюкозата. Отличава се от нея по това, че на 4- място хидроксилната група е над равнината на пръстена. Галактоза се получава при хидролизата на млечна захар (лактоза) в тънките черва.

Разграждането на галактоза се извършва в черния дроб (фиг. 6-23). То започва с активиране на галактозата до галактозо-1-фосфат под действие на галактокиназа. Този ензим е от групата на фосфотрансферазите. Фосфатната група се доставя от АТФ. При взаимодействие с уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза) се получава глюкозо-1-Ф и УДФ-галактоза. Тази обратима реакция се катализира от галактозо-1-фосфат уридил трансфераза. В рамките на УДФ-производното галактозата се превръща в глюкоза под действие на ензима УДФ-галактозо-4-епимераза.



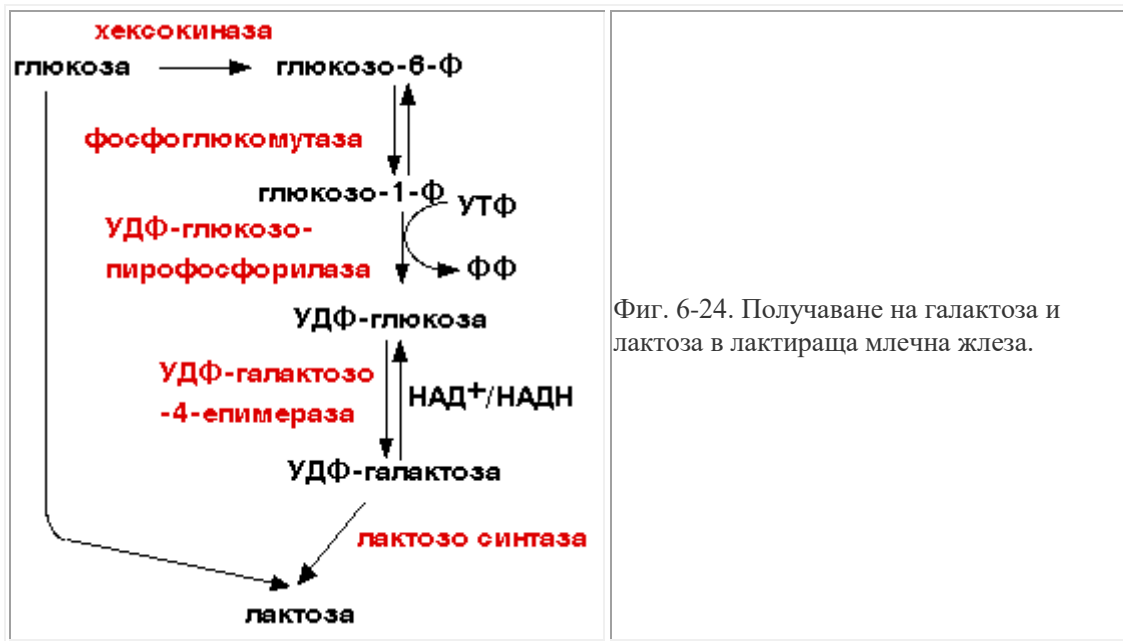
Фиг. 6-23. Разграждане на галактоза в черен дроб.

E₁ - галактокиназа; E₂ - галактозо-1-фосфат уридил трансфераза; E₃ - УДФ-галактозо-4-епимераза. С плътна черна линия са показани ензимните блокове при недостатъчност на E₁ и E₂.

Галактоземията е наследствено заболяване, при което галактозата не може да се превръща в глюкоза. В повечето случаи се дължи на недостатъчност на галактозо-1-фосфат уридил трансферазата и по-рядко на галактокиназа. Лечението се свежда до отстраняване на лактозата и галактозата от храната - виж. т. 6.5.6.1.

Синтеза на галактоза и лактоза в лактираща млечна жлеза

Обратимостта на епимеразната реакция позволява в лактираща млечна жлеза глюкозата да се превръща в галактоза в рамките на УДФ-производни (Фиг. 6-24).



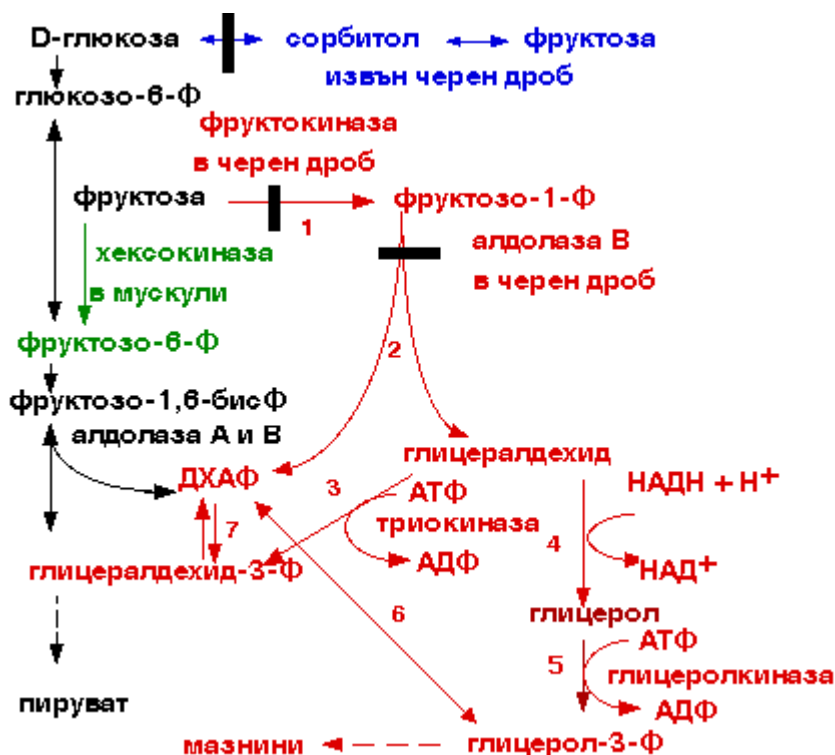
Фиг. 6-24. Получаване на галактоза и лактоза в лактираща млечна жлеза.

Под форма на УДФ-производно галактозата се използва за синтеза на лактоза, галактозамин, гликофинголипиди или гликопротеини. Тяхната синтеза, следователно, не зависи от приемането на галактоза с храната.

6.5.3 Разграждане на фруктоза

Кетозата фруктоза се съдържа в значителни количества в плодовете и в храни, подсладени със захароза (дизахарид на глюкоза и фруктоза).

Фруктозата се включва по различен начин в гликолитичната верига в различните органи (фиг. 6-25).



Фиг. 6-25. Обмяна на фруктоза.

В мускули фруктоза се включва в гликолизата като фруктозо-6-фосфат (зелен цвят); В черен дроб фруктозата се включва в гликолизата на ниво триози чрез 7 реакции, представени с червен цвят; В извънчернодробни тъкани фруктозата обратимо се превръща в глюкоза през сорбитол (зелен цвят, за подробности виж фиг. 6-26). При недостатъчност на фруктокиназа в черен дроб се развива фруктозурия, а при недостатъчност на чернодробната алдолаза В - фруктозна непоносимост (виж т. 6.5.6.2). Реакцията глюкоза - сорбитол не протича в черен дроб поради липса на алдозо-редуктаза.

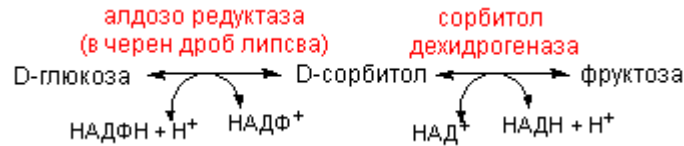
В мускулите едностъпално под действие на хексокиназа фруктозата се фосфорилира до фруктоза-6-фосфат, който е метаболит от гликолизата.

В черния дроб включването на фруктоза в гликолизата на ниво дихидроксиацетонфосфат (ДХАФ) и глицералдеhid-3-фосфат става с участието на седем ензима.

- 1) Фруктозата се активира от фруктокиназа до фруктозо-1-фосфат (реакция 1 на фиг. 6-24).
- 2) Фруктозо-1-фосфатът се разгражда от фруктозо-1-фосфат алдолаза (алдолаза В) до триозите ДХАФ (метаболит от гликолизата) и глицералдеhid (реакция 2).
- 3) Глицералдеhid може да се фосфорилира до глицералдеhid-3-фосфат от глицералдеhid киназа, която изисква АТФ като донатор на фосфатната група и енергията (реакция 3).
- 4) Освен това глицералдеhid може да се редуцира до глицерол от алкохол дехидрогеназа с кофактор НАДН (реакция 4).
- 5) Глицеролът се активира до глицерол-3-фосфат от глицерол киназа с АТФ като донатор на енергия и фосфатната група (реакция 5, аналогична на реакция 3).
- 6) Глицерол-3-фосфат се дехидрогенира до ДХАФ от глицерол дехидрогеназа с кофактор НАД⁺ (реакция 6). ДХАФ е член на гликолизата.
- 7) ДХАФ се превръща в глицералдеhid-3-фосфат от триозофосфат изомераза (реакция 7).

Съществува и друга връзка между обмяната на фруктоза и глюкоза чрез т.н. сорбитолов път (фиг. 6-26). По този път се получава фруктоза за спермалната течност в сперматозоиди. Под

действие на алдозоредуктаза с кофактор НАДФН глюкозата се редуцира до сорбитол. Сорбитол се окислява до фруктоза от сорбитол дехидрогеназа с кофактор НАД⁺. Двете реакции са обратими с изключение на черния дроб. В него липсва алдозо-редуктаза и сорбитоловият път не работи.



Фиг. 6-26. Сорбитолов път за обратимо превръщане на глюкоза във фруктоза.

Фруктозата е главният енергетичен източник в сперматозоиди. Концентрацията на фруктоза в сперма е над 10 mM. Сперматозоидите съдържат митохондрии и и разграждат фруктозата аеробно.

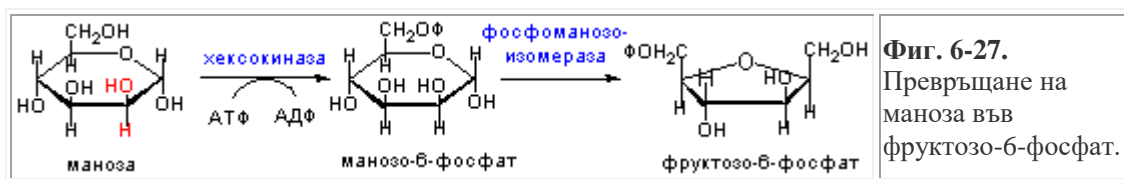
Сорбитолът не дифундира лесно през клетъчните мембрани. Натрупването му води до осмотични увреждания.

Увеличени нива на фруктоза и сорбитол в лещите при диабет водят до катаракт. Интересно е, че инхибитори на алдозоредуктазата предпазват от диабетични катаракти в плъхове.

6.5.4 Обмяна на маноза

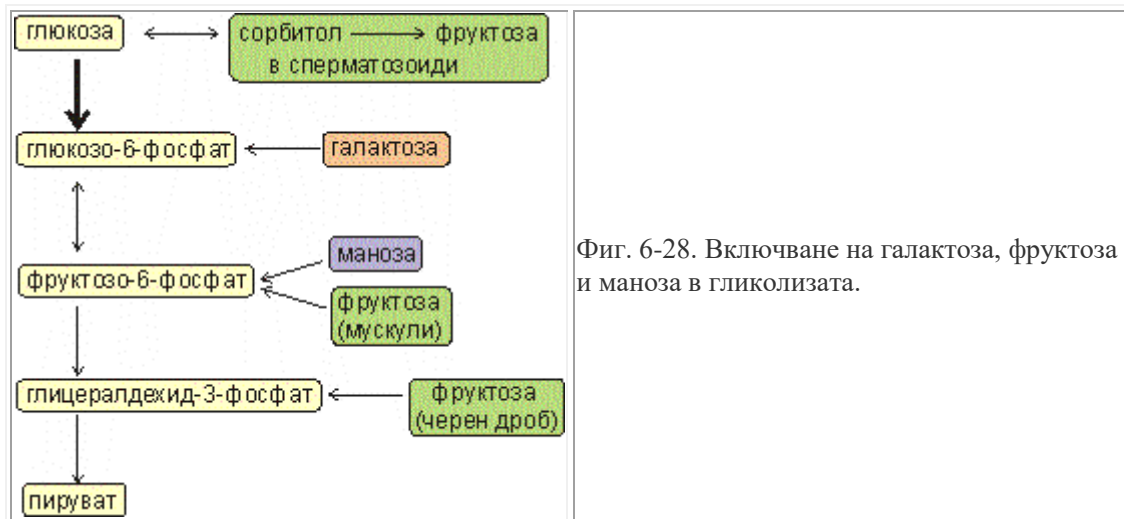
Манозата е C₂-епимер на глюкозата - хидроксилната група при C₂ е над равнината на пръстена (фиг. 6-27). Манозата се получава при разграждане на полизахариди и гликопротеини. Включва се в гликолитичната верига на ниво фруктозо-6-фосфат чрез два ензима:

- 1) Хексокиназата активира маноза до манозо-6-фосфат с АТФ като донатор на енергия и фосфатната група.
- 2) Алдозата манозо-6-фосфат се превръща в кетозата фруктозо-6-фосфат от фосфоманозоизомеразата, аналогично на превръщането на глюкозо-6-фосфат до фруктозо-6-фосфат.



Фиг. 6-27. Превръщане на маноза във фруктозо-6-фосфат.

6.5.5 Общ поглед върху обмяната на галактоза, фруктоза и маноза



Фиг. 6-28. Включване на галактоза, фруктоза и маноза в гликолизата.

Наред с глюкозата, хексозите фруктоза, галактоза и маноза са важно метаболитно гориво. От храносмилателния тракт по кръвен път те достигат до различни тъкани, където се активират и превръщат в метаболити на гликолизата и се доразграждат в нея или използват за други обменни пътища. На фиг. 6-28 е обобщено включването на хексозите в гликолизата в различни тъкани.

Уридиловите производни на монозахаридите имат значение, не само за превръщането на галактоза в глюкоза, но и за синтеза на дизариди, полизахариди, гликопротеини, гликолипиди и протеогликани.

6.5.6 Приложение на познанията в медицината

6.5.6.1 Галактоземия

При недостатъчност на галактозо-1-фосфат уридилтрансфераза се развива галактоземия от класически тип или тип I. Натрупват се галактозо-1-фосфат и галактоза. В страничен път галактозата може да се редуцира до алкохола галактитол. Метаболитните промени водят до катаракти, увреждане на мозъка, бъбреците, черния дроб, и дори до смърт в най-тежките случаи.

Според литературни данни галактоземия от класически тип се среща с честота 1:40000. Съществуват три алелни варианта на гена за галактозо-1-фосфат уридилтрансферазата: GT⁺ (нормален), GTD (обуславящ ензим с активност 1/2 от нормата) и GTG (обуславящ напълно неактивен ензим). Поради това заболяването се проявява с различна тежест. В леките случаи се наблюдава само слаба гастроинтестинална свръхчувствителност - повръщане и разстройство при поемане на мляко. В тежките случаи болестта се проявява веднага след раждането с диария, повръщане, жълтеница. Развитието на цироза причинява смъртта на детето. Катарактите са често явление. Освен черния дроб и очните лещи се засягат и мозък, слезка, бъбреци, сърце и др.

При дефект в галактокиназата заболяването протича по-меко (галактоземия тип II) и се ограничава с развитие на ранни катаракти. В България се среща предимно този тип, главно сред деца от ромски произход.

Галактоземията трябва да се установи още в ранна детска възраст, най-добре още в родилния дом. Единственото ефикасно лечение при галактоземия е изключването на галактозата от храната. Това позволява детето да се развие нормално.

Подходящи са бебешките храни "Нутрамиген", "Хумана SL" и "Прегомин".

6.5.6.2 Дефекти във фруктозния метаболизъм [4]

Есенциална фруктозурия

Това наследствено заболяване се проявява при липса на чернодробна фруктокиназа (виж фиг. 6-25 в т. 6.5.3).

Фруктозна непоносимост

При липса на чернодробна алдолаза В (алдолаза А е в останалите тъкани), която разгражда фруктозо-1-фосфат до ДХАФ и глицералдеhid се развива наследствена фруктозна непоносимост (виж фиг. 6-25 в т. 6.5.3). Когато такива хора консумират фруктоза, натрупва се фруктозо-1-Ф, а намаляват неорганичният Ф и АТФ в черния дроб. Свързването на неорганичния фосфат под форма на фруктозо-1-фосфат прави невъзможно образуването на АТФ в чернодробни митохондрии чрез окислително фосфорилиране. Крайно ниското ниво на АТФ не позволява да се извършват нормално чернодробните функции. Голяма част от клетките са увредени, тъй като е невъзможно да се поддържат нормалните йонни градиенти чрез АТФ-зависимите катионни помпи. Клетките набъбват и губят своето вътрешно съдържание чрез осмотичен лизис.

Опитите да се използва фруктозата, както и ксилитолът, и сорбитолът парентерално, като заместители на глюкозата, са показали, че интравенозното вкарване на големи количества от тези захар води до тежко чернодробно увреждане и не трябва да се използва парентерално.

И за двата случая са полезни диети с ниско фруктозно съдържание.

Ако освен фруктозна непоносимост, има и недостатъчност на фруктозо-1,6-бисфосфатазата, фруктозата може да индуцира тежка хипогликемия, въпреки че има големи запаси от гликоген. Очевидно, натрупването на фруктозо-1-фосфат и фруктозо-1,6-бисфосфат инхибира активността на чернодробната фосфорилаза по алостеричен механизъм.

6.6 Регулация на концентрацията на кръвната глюкоза

6.7 Насоки за самостоятелна работа

6.7.1. Изберете главната страница на "Интерактивни тестове". От нея изберете реалния тест: "Обмяна на въглехидрати" в желан от Вас режим.

6.7.2. Симулация на клиничен случай

Изберете Симулации на клинични случаи. От там изберете реалния случай Румен.

6.7.3. Симулация на клиничен случай

Изберете Симулации на клинични случаи. От там изберете реалния случай Чарли.

6.8 Литература

1. Cornish-Bowden, A. and Cardenas, M. L. TIBS 16, 1991, 281-282. Textbook Errors. Hexokinase and 'glucokinase' in liver metabolism.

2. Hinkle, P. C., Kumar, M. A., Resetar, A. and Harris, D. L. Biochemistry, 30, 1991, 3576-3582. Mechanistic stoichiometry of mitochondrial oxidative phosphorylation.

3. In Voet, D., Voet J.G. Pratt, C. W. Fundamental of Biochemistry, 1999, Wiley & Sons, p. 398. Oxygen saturation curves after Delivoria-Popadopoulos, M., Oski, E. A. and Gottlieb, A. J. Science 165, 1969, 601.
4. Paglia, D. E. Pyruvate kinase and other enzymopathies of the erythrocyte. In: Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B. and Frederickson, D. S., eds. The Metabolic and molecular bases of inherited disease, 7th edn., pp. 3485 - 3511, McGraw-Hill, 1995.
5. Gitzelmann, R. et al. Disorders of fructose metabolism. In Scriver, C. R. et al, eds.:The metaboloc and molecular bases of inherited disease, ed. 7, New York, 1995, McGraw-Hill, pp.903-934.
6. Ballard, F. J. Biochem. J. 124, 1971, 265. The development of gluconeogenesis in rat liver: controlling factors in the newborn.
7. Newsholme, E. A. and Leech, A. R. Biochemistry for the Medical Sciences, New York, Wiley, 1983.
8. Krebs, H. A., Freedland, R. A., Hems, R. and Stubbs, M. Biochem. J. 112, 1969, 117. Inhibition of hepatic gluconeogenesis by ethanol.
9. Service, F. J. Med. Clin. North Am. 79, 1995, 1. Hypoglycemia.
10. Lazzatio, L. and Metha, A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B. and Frederickson, D. S., eds. The Metabolic and molecular bases of inherited disease, 7th edn., pp. 3367 - 3398, McGraw-Hill, 1995.
11. Chen, Y.-T and Burchell, A., Glycogen Storage Disease, In Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B. and Frederickson, D. S., eds. The Metabolic and molecular bases of inherited disease, 7th edn., chapter 24. McGraw-Hill, 1995.