

# Ukládání energie v lidském těle - metabolismus glykogenu a tvorba mastných kyselin a triacylglycerolů

## Náplň podkapitoly

1. Úvod do ukládání energie v lidském těle
2. Metabolismus glykogenu
3. Tvorba mastných kyselin a triacylglycerolů

## Úvod do ukládání energie v lidském těle

Energie v lidském těle se převážně ukládá ve dvou zásobních látkách – **triacylglycerolech (TAG)** a glykogenu. TAG jsou pro skladování výhodnější. Kompletní oxidací 1 g TAG se získá přibližně 38 kJ (9 kcal), z 1 g sacharidů či proteinů jen 17 kJ (4,1 kcal). Během hladovění se nejdříve odbourávají některé **plazmatické proteiny** (např. albumin) a také **svalové proteiny**.

Energetická zásoba muže o průměrné hmotnosti 70 kg na začátku hladovění je:

1. 400 000 kJ v TAG (asi 10,5 kg, tvoří kolem 15 % hmotnosti těla)
2. 100 000 kJ v proteinech (svaly)
3. 8 000 kJ v glykogenu (2 500 kJ v jaterním glykogenu a více než dvojnásobek ve svalovém glykogenu)
4. 170 kJ v glukóze

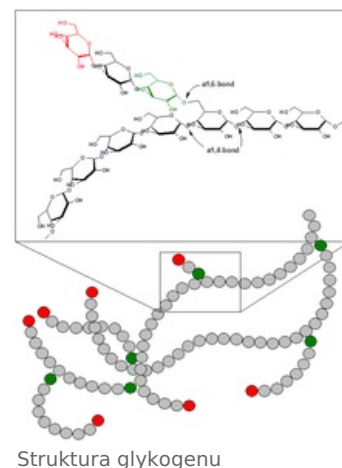
Pokud počítáme, že denně spotřebuje naše tělo přibližně **2 000 kcal**, vystačily by zásoby jaterního glykogenu a glukózy maximálně na **jeden den**. TAG ale dovedou tyto nároky krýt po dobu **týdnů**.

## Metabolismus glykogenu

Glykogen je **rozvětvený homopolymer** molekul glukózy. Většina glukózových zbytků je vázána pomocí  **$\alpha$  1→4 vazeb**. Každý dvanáctý glukózový zbytek je připojen k dalšímu zbytku pomocí  **$\alpha$  1→6 vazby** – vzniká místo rozvětvení molekuly glykogenu. Tyto větve jsou prodlouženy dalšími glukózovými zbytky spojenými  $\alpha$  1→4 vazbami. Vytvářejí se tak nerozpustné molekuly glykogenu připomínající svou strukturou větve stromu. Veškeré reakce při metabolismu glykogenu probíhají pouze na **neredukujících koncích** jeho molekuly – ty mohou být zkracovány či prodlužovány.

### Funkce glykogenu

Glykogen slouží u živočichů jako **zásobárna sacharidů**, ze které se mohou štěpením uvolňovat estery glukózy. Bohatě hydratovaná **glykogenová granula** se nachází v cytoplasmě **všech buněk**. Lidské tělo může skladovat přibližně 450 g glykogenu. Z tohoto množství se 80–100 g nalézá v játrech – tzv. **jaterní glykogen**, který se využívá pro udržování stálé hladiny glukózy v krvi (glykémie). Další 300 g je ve svalových buňkách – tzv. **svalový glykogen**. Ten slouží spíše jako interní svalová energetická zásoba při konání svalové práce. Svalové buňky **neobsahují glukóza-6-fosfatázu**, a proto svaly nemohou uvolňovat čistou glukózu do krevního oběhu. Zbytek (cca 50 g glykogenu) připadá na ostatní buňky lidského těla.



Struktura glykogenu

### Glykogen jako zásobárna energie

Jak již bylo uvedeno výše, glykogen **není hlavní energetickou zásobou** organismu (jaterní glykogen se vyčerpá během 12–24 hodin hladovění). Jde totiž o **polární, bohatě hydratovanou molekulu** a vázaná voda jen „zabírá místo“ a nepřináší energetický zisk. Zásoba energie v tukové tkáni je mnohem úspornější – není totiž hydratovaná (TAG mají hydrofobní charakter) a současně jsou mastné kyseliny tvořeny redukovanejším uhlíkatým skeletem – $\text{CH}_2$ – proti sacharidům – $\text{CH}(\text{OH})$ –. Jejich oxidací se uvolní větší množství energie. Glykogen nicméně představuje zásobárnu glukózy, což je důležité například pro buňky na glukóze závislé (např. mozek, erytrocyty).

### Histochemický průkaz

V histochemii se jeho přítomnost dokazuje tzv. **PAS-reakcí** (oxidace sousedních dvou hydroxylových skupin kyselinou jodistou a následná reakce takto vzniklých aldehydových skupin se Schiffovým činidlem).

## Glykogeneze (syntéza glykogenu)

Proces syntézy glykogenu probíhá **v cytozolu**. Intenzivní je hlavně v játrech a kosterní svalovině. Syntéza glykogenu vychází z molekul glukózy a vyžaduje navíc tzv. **primer** – tj. molekulu, která obsahuje řetězec několika glukóz spojených glykosidovými vazbami (nejčastěji jím je zbytek glykogenu přítomný v buňce, případně protein **glykogenin**).

### Průběh

#### 1. Fosforylace glukózy na Glc-6-P

- v játrech katalyzuje tuto reakci **glukokináza**,
- ve svazech **hexokináza**.

#### 2. Přeměna Glc-6-P na Glc-1-P

- pomocí **fosfoglukomutasy**

#### 3. Glc-1-P reaguje s UTP

- za katalýzy UDP-glukózapyrofosforylázou,

vzniká **UDP-Glc**, neboli aktivovaná forma glukózy (UDP se váže na C1).

Tvorba glykosidových vazeb mezi molekulami glukózy je **endergonický proces**, a proto se vyžadují energeticky bohaté substráty. Přenos glukózových zbytků z UDP-Glc je přímý ( $\Delta G < 0$ ).

#### 4. UDP-Glc se svým C1 připojuje na C4 neredukujícího konce glykogenu

- za katalýzy enzymem **glykogensyntázou**, a zároveň uvolní UDP.

Vzniká tedy  $\alpha$  1→4 vazba O-glykosidová vazba.

#### 5. Jakmile dosáhne rostoucí řetězec určité délky (> 11 glukózových zbytků), dojde k větvení molekuly.

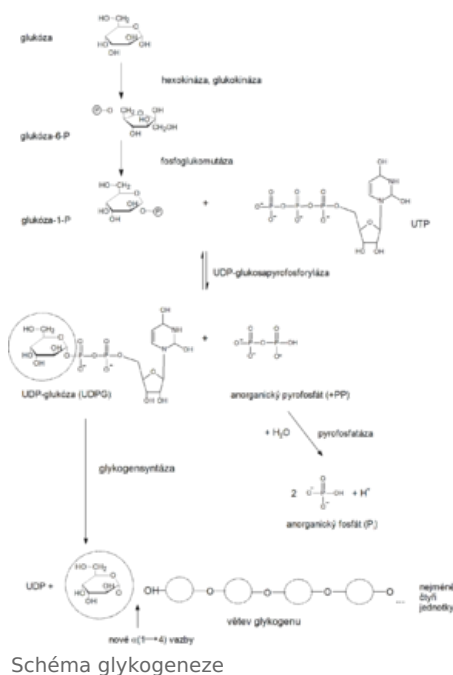
Z řetězce se pomocí tzv. **větvícího enzymu** (branching enzyme, amylo-(1,4-1,6)-transglykosyláza) odstraní oligosacharidový štěp složený ze 6–7 glukózových zbytků, který se následně připojí na –OH skupinu umístěnou na C6 molekuly glukózy lokalizované uvnitř řetězce glykogenu – vzniká  $\alpha$  1→6 vazba. Tyto větve mohou být nově prodlužovány pomocí akce glykogensyntázy (viz výše).

### Regulace syntézy glykogenu

Syntéza glykogenu probíhá v době, kdy má organismus **dostatečný přísun energetických substrátů** z potravy, tj. může tvořit energetické zásoby na horší časy. Hlavním regulačním enzymem je **glykogensyntáza**. Její aktivita se reguluje pomocí fosforylace – pokud je enzym fosforylován, inaktivuje se, defosforylace naopak vede k aktivaci enzymu. Fosforylaci ovlivňuje **poměr inzulin / glukagon** (např. skrze intracelulární koncentraci cAMP). Zvýšení poměru aktivuje syntézu glykogenu (inzulin je anabolický hormon). Snížení poměru či katecholaminy ji naopak inhibují.

## Glykogenolýza (degradace glykogenu)

Glykogen **není nikdy úplně degradován**, jeho degradace probíhá v cytosolu buněk. Děje se tak postupně formou tzv. fosforolytického štěpení (fosforolýza, navázání anorganického fosfátu), kdy se pomocí **enzymu glykogenfosforylázy** (zkráceně fosforyláza) z neredukujících konců uvolňují jednotlivé monomerní jednotky glukózy ve formě **Glc-1-P** – tzv. **Coriho ester**. Při štěpení molekuly glykogenu tedy rovnou vzniká fosforylovaná glukóza, a to **bez spotřeby ATP**:

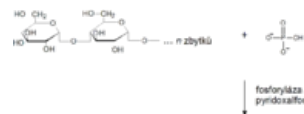


Bohatě rozvětvená molekula glykogenu má mnoho neredukujících konců, a proto se **glykogen odbourává rychle**. Na tomto místě je užitečné zmínit, že štěpení polysacharidů v trávicím traktu probíhá zcela odlišně. Polysacharidy jsou zde nejdříve štěpeny uvnitř svých řetězců za vzniku kratších poly- a oligosacharidů. Následně se uvolňuje volná (nikoli fosforylovaná) glukóza.

## Průběh glykogenolýzy

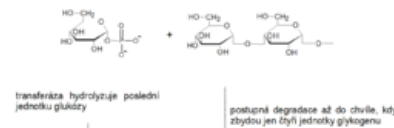
### 1. Glykogenfosforyláza dovede štěpit pouze $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 glykosidové vazby.

Začíná štěpit glykogen od neredukujícího konce a vznikají Glc-1-P.



### 2. Glc-1-P se přeměňuje na Glc-6-P

- činností **fosfoglukomutázy**.



### 3. Odbourávání glykogenu

- zastaví se u 4. glukózového zbytku před místem větvení, kde se vyskytuje  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 6 vazba.

### 4. Tzv. odvětovací enzym (glukanotransferáza, transglykosidáza)

oddělí od postranního řetězce štěp tvořený třemi glukózovými zbytky a přenesੇ jej na konec lineárního (hlavního) řetězce. Tam ho napojí pomocí  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4 vazby.

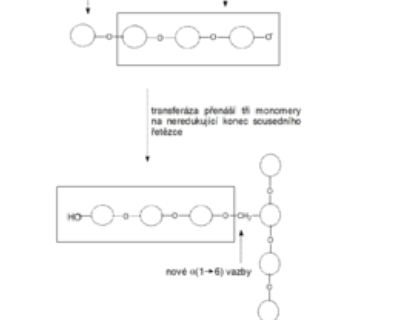


Schéma glykogenolýzy

### 5. V místě původního větvení zbývá již jen jeden zbytek vázaný $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6 vazbou

- je odštěpen pomocí enzymu **amyló- $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6-glukosidázy**.

Výsledně se vytváří **nerozvětvený řetězec** s možností dalšího štěpení prostřednictvím glykogenfosforylázy.

### 6. Glc-6-P se přeměňuje na glukózu

- pomocí **glukóza-6-fosfatázy** (katalyzuje odštěpení fosfátu).

Tento enzym se vyskytuje v jaterních a ledvinných buňkách a v enterocytech, kde se váže na membrány hladkého endoplazmatického retikula.

### 7. Glc-6-P

- je do ER transportována pomocí enzymu **translokázy**.

Toto oddělení do ER slouží k tomu, aby vznikající glukóza nebyla ihned zpětně fosforylována na Glc-6-P.

### 8. Volná glukóza je následně vypuštěna do krve, kde může sloužit jako zdroj energie.

## Regulace glykogenolýzy

Klesne-li koncentrace glukózy v krvi, dochází ke **snížení poměru inzulín/glukagon** v plazmě. Jaterní glykogen je za těchto podmínek odbouráván. Sníží-li se při hladovění nebo za stresových podmínek organismu obsah glykogenu v játrech, je glukóza syntetizována de novo reakcemi **glukoneogeneze z necukerných zdrojů**. Hlavním regulačním enzymem glykogenolýzy je glykogenfosforyláza, patřící mezi ty enzymy, jejichž aktivitu reguluje kovalentní modifikace molekuly. Přitom platí, že **fosforyláza je aktivní fosforylovaná**.

- Aktivovaná fosforyláza se označuje jako **fosforyláza a**.

- Neaktivní fosforylázu (nemá navázanou fosfátovou skupinu) nazýváme **fosforyláza b**.

Fosforylaci glykogenfosforylázy katalyzuje enzym **fosforylázakináza**, defosforylaci oproti tomu katalyzují **proteinfofatázy**. Glykogenolýzu aktivují **kontraregulační hormony – glukagon, katecholaminy a glukokortikoidy** (např. kortizol), inzulin ji oproti tomu inhibuje.

Ve svalových buňkách se regulace glykogenolýzy spojuje i se **změnou koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  iontů**. Zvýšení jejich intracelulární koncentrace vyústí v aktivaci fosforylázakinázy a glykogenfosforylázy – aktivace glykogenolýzy. Prostředníky jejich účinku jsou jednak vazebná bílkovina **kalmodulin**, jednak kalmodulin-dependentní proteinkinázy.

## Klinická korelace

Vrozené poruchy metabolismu glykogenu se nazývají **glykogenózy**. Dochází při nich ke hromadění glykogenu v buňkách (hlavně v jaterních a svalových), což může vyústit v pestré spektrum příznaků – např. zvětšení jater, hypoglykémie či zaostávání ve vývoji. Jejich incidence činí přibližně 1 : 10 000. Nejznámějším typem je typ I – tzv. **von Gierkeho choroba**, kdy je defektní glukóza-6-fosfatáza.

## Shrnutí regulací metabolismu glykogenu

Z výše uvedeného jasně vyplývá, že regulace obou procesů, syntézy i degradace glykogenu, je protichůdná. Jednotlivé efekty shrnuje následující tabulka:

| Regulační enzym                     | Aktivace  | Inhibice                          |
|-------------------------------------|---|-----------------------------------|
| Glykogenfosforyláza (glykogenolýza) | Glukagon, adrenalin (fosforylace), snížení poměru ATP/AMP $\text{Ca}^{2+}$ (ve svalu) | Zvýšení poměru ATP/AMP<br>Inzulin |
| Glykogensyntáza (syntéza glykogenu) | Inzulin (indukce)   | Glukagon, adrenalin (fosforylace) |

## Tvorba mastných kyselin a triacylglycerolů

**Tvorbu mastných kyselin** a triacylglycerolů vnímáme jako energeticky vysoce náročný proces lokalizovaný převážně v buňkách jater, tukové tkáni, CNS či laktující mléčné žlázy. Probíhá především v postprandiálním období.

Proces tvorby mastných kyselin je v mnoha ohledech obrácenou  $\beta$ -oxidací – namísto oxidace probíhá redukce, podobně hydratace je nahrazena dehydratací. Nejde však o přesné obrácení dějů, oba procesy se v mnoha významných ohledech odlišují. Tyto odlišnosti si ukážeme dříve, než si popíšeme jednotlivé reakce.

### Rozdíly mezi odbouráváním a syntézou mastných kyselin

- Syntéza MK probíhá **v cytoplasmě**, odbourávání v matrix mitochondrie.
- Meziprodukty syntézy MK jsou **vázány** na tzv. *acyl carrier protein* (ACP, protein přenášející acyly), meziprodukty degradace na molekulu koenzymu A.
- Enzymy syntézy MK jsou spojeny do **multienzymového komplexu** zvaného *syntáza MK*, enzymy degradace jsou uloženy volně v matrix.
- Řetězec mastné kyseliny se **prodlužuje vždy o dva** uhlíkové atomy – výchozím substrátem je AcCoA (aktivovaným donorem je malonyl~CoA).
- Redukčním činidlem syntézy je **NADPH**, oxidačními činidly degradace jsou FAD a  $\text{NAD}^+$ .
- Prodlužování řetězce na syntáze MK končí tvorbou palmitátu ( $\text{C}_{16}$ ), další prodlužování řetězce a tvorba nenasycených kyselin probíhá účinkem jiných enzymů v ER a v mitochondriích.

Nyní se podíváme na jednotlivé reakce syntézy mastných kyselin.

### Tvorba malonyl~CoA

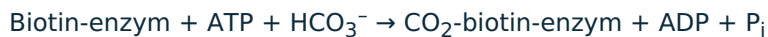
#### 1. Vstupní látkou pro syntézu mastných kyselin je AcCoA.

V prvním kroku dochází za spotřeby ATP k jeho **karboxylaci na malonyl-CoA**:

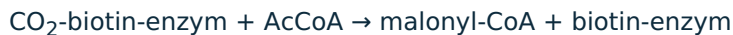


Tuto reakci katalyzuje regulační enzym **AcCoA-karboxyláza**, jejímž kofaktorem je **biotin** – vitamin H čili  $\text{B}_7$  (obecně jde o kofaktor karboxyláz).

Tvorba malonyl~CoA se odehrává ve dvou stupních. Nejdříve probíhá ATP-dependentní **karboxylace biotinu**:



## 2. Následně dojde k přenosu karboxylu na acetyl-CoA



Biotin je s enzymem spojen amidovou vazbou mezi karboxylem biotinu a  $\epsilon$ -aminoskupinou lysinu.  $\text{CO}_2$  se z molekuly opět odstraní při kondenzaci s rostoucím řetězcem mastné kyseliny.

## Syntéza mastných kyselin

**Syntéza mastných kyselin** u savců má strukturu homodimeru složeného ze dvou identických podjednotek (260 kDa). Každá podjednotka sestává ze **tří domén** spojených pohyblivými regiony:

1. **Doména 1** – vstup substrátu a kondenzační jednotka – obě transferázy (acetyltransferáza a malonyltransferáza) a  $\beta$ -ketoacylsyntáza (kondenzační enzym – CE).
2. **Doména 2** – redukční jednotka – obsahuje ACP,  $\beta$ -ketoacylreduktázu, dehydratázu a enoylreduktázu.
3. **Doména 3** – thioesteráza odštěpující palmitát.

Místa **vazby meziproductů** na syntázu MK představují:

- **Thiolová skupina cysteinu CE**
- **Thiolová skupina fosfopanteteinu**, který se váže na serin v ACP. Fosfopanteteinové raménko nalezneme i v molekule koenzymu A. Toto flexibilní raménko umožňuje přesun meziproductů mezi jednotlivými katalytickými místy syntázy

## Jednotlivé kroky syntézy mastných kyselin

### 1. Syntéza malonyl-CoA

- katalyzována acetyl-CoA karboxylázou – neprobíhá na syntáze MK

### 2. Navázání AcCoA na CE

- acetyltransacyláza

### 3. Navázání malonyl-CoA na ACP

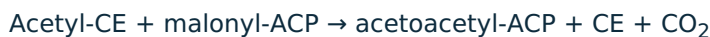
- malonyltransacyláza

### 4. Kondenzační reakce

- kondenzační enzym

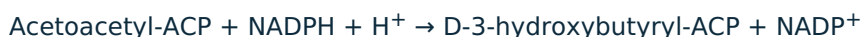
### 5. Syntéza MK funguje jako dimer.

V tomto kroku dochází ke kondenzaci mezi malonylem zavěšeným na ACP jedné podjednotky a acetylem na kondenzačním enzymu druhé podjednotky. Nový acyl zůstává navázán na ACP:



### 6. První redukce

- $\beta$ -ketoacylreduktáza



### 7. Dehydratace

- 3-hydroxyacyldehydratáza



## 8. Druhá redukce

- enoylreduktáza



## 9. Přenos řetězce z ACP na SH skupinu kondenzačního enzymu stejné podjednotky

## 10. Nový malonyl se váže na ACP druhé podjednotky.

Následně dojde ke kondenzaci na protilehlou podjednotku dimeru, než bylo při první kondenzaci. Podjednotky se tedy při syntéze pravidelně střídají.

## Další postup syntézy MK

Postupně dochází k **prodlužování řetězce** nové syntetizované mastné kyseliny. Při délce  $\text{C}_{16}$  nastává ukončení – koncovým produktem syntézy MK je tedy **palmitát**. Thioesteráza ho odštěpí z vazby na ACP (hydrolyza thioesterové vazby na fosfopanteteinu).

**Tvorba palmitátu** souhrnně vyžaduje 8 molekul AcCoA, 14 molekul NADPH a 7 molekul ATP:



AcCoA vzniká v **matrix mitochondrie**, syntéza MK probíhá v **cytoplazmě**. Vnitřní mitochondriální membrána ale je pro AcCoA nepropustná, do cytoplazmy se proto transportuje **ve formě citrátu** (viz dále). 8 molekul NADPH se získá transportem citrátu do cytoplazmy, zbylých 6 v pentózovém cyklu.

## Citrát jako nositel acetylů z matrix mitochondrie do cytosolu

Pokud je v matrix mitochondrie dostatek AcCoA, reaguje s OAA za vzniku citrátu (katalyzuje citrátsyntáza).

Ten se transportuje do cytoplazmy, kde je štěpen pomocí ATP-citrátlyázy (spotřeba ATP):



Do cytosolu tak spolu vstoupí AcCoA i OAA. AcCoA se využije v cytoplazmě, kdežto OAA se musí zpětně navrátit do matrix. Jaký je jeho osud?

Vnitřní membrána mitochondrie pro něj znamená **nepropustnou hráz**. OAA je proto redukován za účasti NADH na malát **cytosolovou malátdehydrogenázou**:



Malát je následně **oxidačně dekarboxylován**  $\text{NADP}^+$ -malátovým enzymem (tzv. **jablečný enzym**) na pyruvát:



**Pyruvát může vstoupit do mitochondrie**, kde je karboxylován pyruvátkarboxylázou:



## Sumární rovnice transportu:



## Regulace tvorby MK

Syntéza mastných kyselin probíhá za situace, kdy tělo disponuje **dostatkem substrátů i dostatkem energie**. Klíčovou regulační roli hraje AcCoA-karboxyláza:

- Inzulin stimuluje syntézu MK aktivací karboxylázy.
- Citrát ji aktivuje – značí dostatek stavebních jednotek a energie.
- Glukagon a adrenalin mají opačný účinek – **inhibují karboxylázu** (skrze její fosforylaci).
- Palmitoyl-CoA ji inhibuje – je produktem syntézy MK, a pokud není odváděn, není potřeba tvořit další – **feedback inhibice**.
- AMP ji inhibuje.



**Tip: Inzulin stimuluje syntézu MK aktivací karboxylázy**

Inzulin dává signál, aby se tělo za každou cenu zbavilo glukózy. Když nestačí glykolýza ani tvorba glykogenu, je přebytek glukózy přeměněn na pyruvát, jež pyruvátdehydrogenázovou reakcí nevratně změním na AcCoA. Z toho se tvoří mastné kyseliny. Inzulin posiluje i aktivitu pyruvátdehydrogenázového komplexu.

## Elongace a desaturace mastných kyselin

Syntáza MK dovede nasyntetizovat **jen palmitát**. Ostatní MK se syntetizují prostřednictvím jiných enzymů. Prodlužování řetězce (elongace) a tvorba nenasyčených MK (desaturace) probíhá na straně **membrány ER** přivrácené do cytosolu a **v mitochondriích**.

Popis přesného průběhu elongace přesahuje rozsahové možnosti tohoto textu. Omezíme se jen na konstatování, že je katalyzován elongázami.

Desaturázy zavádějí **dvojně vazby** do řetězce MK (v konfiguraci cis). Savci postrádají enzymy katalyzující vstup dvojně vazby za C9 mastné kyseliny. Nové dvojně vazby jsou vždy zaváděny mezi již existující dvojnou vazbou a karboxylovou skupinou. Savci tedy **nemohou syntetizovat kyselinu linolovou** (18:2 cis Δ9, Δ12, patří mezi ω-6 MK) ani **α-linolenovou** (18:3 cis Δ9, Δ12, Δ15, patří mezi ω-3 MK) – obě jsou esenciální. Naopak dovedeme syntetizovat kyselinu arachidonovou (20:4 cis Δ5, Δ8, Δ11 a Δ14, ω-6 kyselina – vzniká desaturací a elongací kyseliny linolové), kyselinu eikosapentaenovou (20:5 cis Δ5, Δ8, Δ11, Δ14a Δ17, ω-3 – vzniká z kyseliny linolenové) či kyselinu dokosahexaenovou (22:6 cis Δ4, Δ7, Δ10, Δ13, Δ16a Δ19, ω-3 – vzniká opět z kyseliny linolenové).

Jako příklad si můžeme uvést tvorbu oleoyl-CoA (cis Δ9) ze stearoyl-CoA:



Popis přesného průběhu opět přesahuje rámec tohoto textu.

## Syntéza triacylglycerolů

Aby mohly nově nasyntetizované mastné kyseliny plnit úlohu energetických zásob, musí být nejdříve převedeny na **triacylglyceroly**. Podobně jako v případě mastných kyselin se většina TAG tvoří v **buňkách jater a v adipocytech**. K jejich syntéze potřebuje jednak **aktivovaný glycerol – glycerol-3-P**, jednak aktivované mastné kyseliny. Tvorba se uskutečňuje **na endoplazmatickém retikulu**.

Glycerol-3-P vzniká převážně redukcí dihydroxyacetonfosfátu, reakci katalyzuje glyceraldehyd-3-P-dehydrogenáza. Druhým zdrojem může být glycerol uvolněný lipolýzou. Ten je aktivován fosforylací katalyzovanou glycerolkinázou. Glycerol-3-P se následně postupně spojí se dvěma molekulami acyl-CoA (katalyzují acyltransferázy), tvoří se kyselina fosfatidová. Z ní se odštěpí fosfátová skupina za vzniku 1,2-diacylglycerolu, který se esterifikuje pomocí poslední molekuly acyl-CoA – vzniká triacylglycerol. TAG vytvořené v játrech se transportují do tukové tkáně zabalené v lipoproteinových částicích VLDL.