

# Embden-Meyerhof-Parnasova dráha

Glykolýza (neboli *Embden-Meyerhof-Parnasova dráha*) je základní metabolický děj probíhající v cytoplazmě všech buněk lidského těla. Řadí se mezi katabolické dráhy. Glykolýzou vznikají z jedné molekuly glukózy dvě tříuhlíkaté molekuly – pyruvát (Pyr) či laktát (Lac). Glykolýza plní mnoho funkcí, například získání energie či tvorbu acetyl-CoA jako substrátu pro syntézu lipidů.

Glykolýza probíhá jak za **aerobních**, tak i za **anaerobních podmínek**. Za aerobních podmínek se vytvářejí dvě molekuly pyruvátu, dvě molekuly ATP a dvě molekuly NADH. Za anaerobních podmínek podléhá pyruvát další reakci, která regeneruje kofaktor NAD<sup>+</sup> – produktem je pak laktát.

## Reakce glykolýzy

Celou glykolýzu můžeme souhrnně zapsat jako rovnici:



Glykolýza se dělí do několika fází:

1. Investice energie a současná aktivace molekul glukózy.
2. Štěpení hexózy na dvě triózy.
3. Oxidace trióz a současný získání energie.
4. Přeměna pyruvátu na laktát (za anaerobních podmínek).

## V následujícím přehledu popíšeme její jednotlivé reakce

### 1. Fosforylace glukózy

Po vstupu molekul glukózy do buněk dochází k jejich okamžité fosforylaci. Tato reakce přeměňuje neutrální molekulu glukózy na anion. Takto modifikovaná glukóza může být dále metabolizována a současně již **neprochází buněčnou membránou**. Zachycuje se tedy v cytosolu, kde je dále metabolizována.



Kromě jedné makroergní vazby molekuly ATP vyžaduje reakce i enzymovou katalýzu zprostředkovanou jedním ze dvou izoenzymů – *hexokinázou* či *glukokinázou*.

**Glukokináza** (neboli hexokináza typu IV) je lokalizována pouze v hepatocytech a v  $\beta$ -buňkách pankreatu, zatímco hexokináza je ve všech tkáních. Kromě lokalizace se liší i ve svých fyzikálně-chemických vlastnostech. Glukokináza má vysokou hodnotu  $K_M$  (10 mmol/l), a proto je aktivována až při vyšších koncentracích glukózy. Uplatňuje se převážně po jídle, kdy je koncentrace glukózy v portální krvi vysoká a je zapotřebí ji vychytávat játry (např. pro syntézu glykogenu).  $\beta$ -buňky pankreatu zároveň reagují na vyšší hladiny glykémie zvýšením sekrece inzulínu.

**Hexokináza** je za fyziologických podmínek vždy téměř plně aktivní, neboť její  $K_M$  je pouhých 0,1 mmol/l (srovnej s fyziologickým rozsahem glykémie 3,3–5,6 mmol/l). Její aktivita je tedy regulována jiným mechanismem a tím je inhibice svým vlastním produktem – Glc-6-P. Zjednodušeně se tedy dá říci, že hexokináza produkuje tolik Glc-6-P, kolik je buňka schopna využít ve svých drahách. Jakmile se začne **Glc-6-P hromadit**, dojde k **inhibici hexokinázy**. Kromě fosforylace glukózy umožňuje hexokináza i fosforylaci fruktózy.

### 2. Izomerizace Glc-6-P na Fru-6-P

Izomerizace Glc-6-P na Fru-6-P je reverzibilní reakce probíhající za katalýzy *hexosafosfátizomerázou*.

### 3. Fosforylace Fru-6-P za spotřeby ATP na Fru-1,6-bisP

Fosforylaci Fru-6-P na Fru-1,6-bisP katalyzuje enzym *6-fosfofrukto-1-kináza*. Jedná se o klíčový allosterický

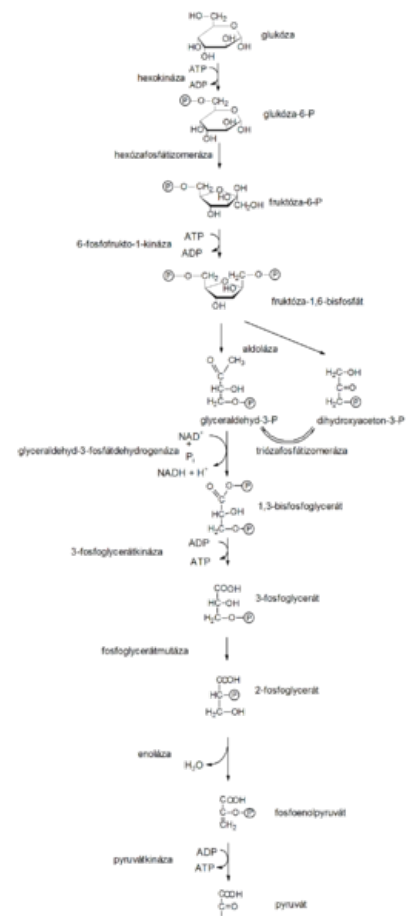
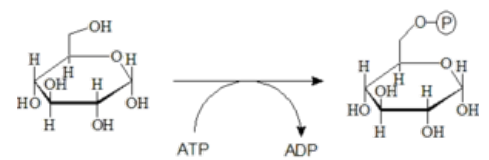


Schéma reakcí glykolýzy



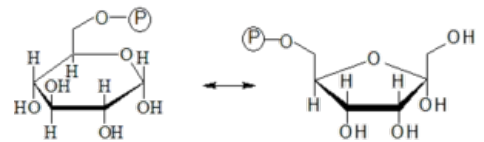
1. Fosforylace glukózy

regulační enzym glykolýzy.

V průběhu dosavadních tří kroků došlo k investici dvou molekul ATP na jednu molekulu glukózy.

#### 4. Aldolové štěpení Fru-1,6-bisP na dvě fosforylované triózy

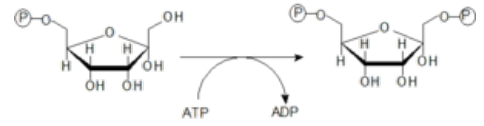
Fru-1,6-bisP se následně štěpí na dvě fosforylované triózy – glycerinaldehyd-3-P (Gra-3-P, aldóza) a dihydroxyaceton-3-P (DHA-3-P, ketóza). Katalýzu zajišťuje *aldoláza* spadající do třídy lyáz. Rozlišujeme její dva izoenzymy – *aldolázu A a B*.



2. Izomerizace Glc-6-P na Fru-6-P

#### 5. Izomerace trióz

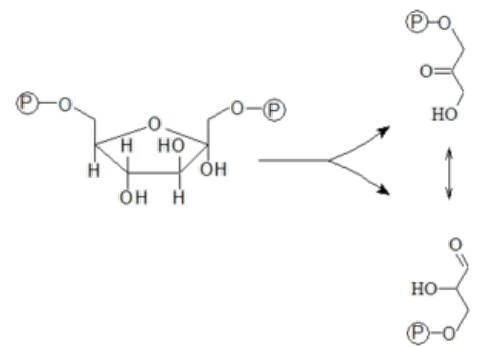
Glycerinaldehyd-3-P a dihydroxyaceton-3-P se mohou přeměnit jeden v druhý pomocí enzymu *triózafosfátizomerázy*. Těto reakci se příkládá velký význam, protože do další reakce glykolýzy se zapojuje jen glycerinaldehyd-3-P a tato izomerace kontinuálně doplňuje jeho cytosolický pool.



3. Fosforylace Fru-6-P za spotřeby ATP na Fru-1,6-bisP

#### 6. Oxidace glycerinaldehyd-3-P na 1,3-bisfosfoglycerát

Tato reakce je jedinou oxidační reakcí v celé glykolýze. Oxidaci katalyzuje *glycerinaldehyd-3-fosfátdehydrogenáza*. Reakcí vzniká 1,3-bisfosfoglycerát (energeticky bohatá sloučenina) a redukovaný kofaktor –  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Reakce je exergonní – na oxidaci nově vzniklou skupinu  $\text{COO}^-$  se naváže  $\text{P}_i$  makroergní anhydridovou vazbou.



4. + 5. Aldolové štěpení Fru-1,6-bisP na dvě fosforylované triózy a izomerace trióz

#### 7. Přeměna 1,3-bisfosfoglycerátu na 3-fosfoglycerát

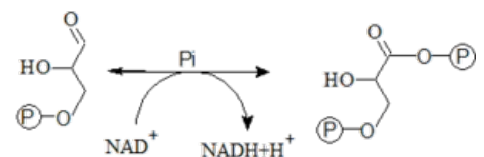
1,3-bisfosfoglycerát je hydrolyzován na 3-fosfoglycerát pomocí *fosfoglycerátkinázy*. Zároveň dojde k substrátové fosforylaci (fosforylace na substrátové úrovni) – z ADP se tvoří ATP.

#### 8. Izomerace 3-fosfoglycerátu na 2-fosfoglycerát

Izomeraci katalyzuje *fosfoglycerátmutáza*.

#### 9. Dehydratace 2-fosfoglycerátu na fosfoenolpyruvát (PEP)

Dehydrataci 2-fosfoglycerátu katalyzuje enzym *enoláza*. Reakce vede ke vzniku makroergní sloučeniny fosfoenolpyruvátu, který obsahuje esterově vázanou fosfátovou skupinu.



6. Oxidace glycerinaldehyd-3-P na 1,3-bisfosfoglycerát

#### 10. Přeměna fosfoenolpyruvátu na pyruvát

Nejdříve probíhá odštěpení  $\text{P}_i$ , poté se nestabilní enol-pyruvát izomerizuje na stabilnější keto-pyruvát. Během této přeměny se uvolňuje velké množství volné energie. Tato reakce je tedy silně exergonická a prakticky nevratná. Uvolněná energie se využije k syntéze ATP z ADP – substrátová fosforylace.

Reakci katalyzuje regulační enzym *pyruvátkináza*.

Během 4.–10. reakce se vytvořily **dvě molekuly ATP** na jeden tříuhlíkatý fragment (Pyr). Energetická bilance celé glykolýzy je tedy +2 moly ATP na 1 mol glukózy (–2 ATP spotřebováno, +4 ATP vytvořeno).

#### Metabolické osudy pyruvátu

Pyruvát je větvicím bodem glykolýzy. Osud pyruvátu závisí na oxidačním stavu buňky – NADH musí být reoxidováno na  $\text{NAD}^+$ .

Za **aerobních podmínek** se pyruvát transportuje do matrix **mitochondrie**, kde se prostřednictvím pyruvátdehydrogenázové reakce mění na acetyl-CoA, který se může zapojit například do Krebsova cyklu. Redukovaný kofaktor NADH nemůže jednoduše přestoupit do matrix mitochondrie, kde by se měl zapojit do procesů v dýchacím řetězci, protože mitochondriální membrána je pro něj nepropustná. Proto se využívá k redukcí některých látek – např. cytoplazmatického oxalacetátu na malát či dihydroxyaceton-P na glycerol-3-P. Vzniklé produkty již vnitřní mitochondriální membránou procházejí a dopraví tak redukční ekvivalenty do mitochondrie. Hovoříme o tzv. **člunkovém mechanismu** či jednoduše o čluncích. Pro přestup NADH existují v buňce dva různé člunky (anglicky *shuttle*) – **glycerol-fosfátový** a **malát-aspartátový**. V mitochondrii proběhnou výše uvedené reakce opačným směrem:



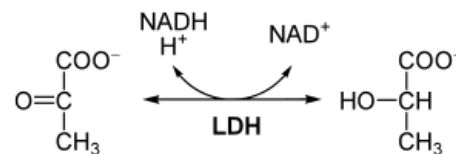


Získané redukované kofaktory následně mohou vstoupit do mitochondriálního **dýchacího řetězce**, kde jsou regenerovány – souběžně vzniká aerobní fosforylací ATP. Návrat oxalacetátu (OAA) zpět do cytosolu není přímý. Vyžaduje nejdříve **transaminaci na aspartát**, kterou katalyzuje aspartátaminotransferáza (AST). **V cytosolu proběhne opačná reakce - vzniká OAA.**

Za **anaerobních podmínek** (např. intenzivně pracující sval s nedostatečnou dodávkou kyslíku) či v erytrocytech se pyruvát přeměňuje na **laktát**, který je následně uvolněn z buňky do krevního oběhu. Zároveň dochází k regeneraci  $\text{NAD}^+$ . Reakci katalyzuje enzym laktátdehydrogenáza (LDH):



Touto reakcí vytvořené  $\text{NAD}^+$  je koenzymem pro glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenázu, bez níž by se glykolýza zastavila. Vznikající laktát se jednak může zapojit do Coriho cyklu, jednak může být oxidován v tkáních s aerobním metabolismem (srdce, játra) na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Kumulace laktátu podmiňuje pokles pH, který způsobí svalovou bolest a únavu.



Přeměna pyruvátu na laktát

Na tomto místě je třeba připomenout, že aerobní glykolýza produkuje mnohem více ATP na 1 mol glukózy než anaerobní glykolýza.

### 2,3-BPG shunt

V **erytrocytech** hraje významnou roli odbočka glykolýzy nazývaná 2,3-BPG shunt. 1,3-bisfosfoglycerát se při ní přeměňuje na 2,3-bisfosfoglycerát. Tento meziprodukt již neobsahuje makroergicky vázaný fosfát, a při jeho další přeměně na 3-fosfoglycerát se tedy nesyntetizuje ATP – uvolní se jen anorganický fosfát. Erytrocyt tak při tomto průběhu glykolýzy získá méně ATP. Význam odbočky ale spočívá v tom, že **2,3-bisfosfoglycerát snižuje afinitu hemoglobinu ke kyslíku**, tj. podílí se na regulaci transportu kyslíku na hemoglobinu.

### Regulace glykolýzy

Regulačními body v glykolýze jsou tři enzymy:

1. 6-fosfofrukto-1-kináza;
2. pyruvátkináza;
3. hexokináza.

Tyto enzymy katalyzují nevratné exergonní reakce.

#### 6-fosfofrukto-1-kináza (PFK-1)

**Fosfofruktokináza**, allosterický enzym regulovaný několika aktivátory a inhibitory, je hlavním regulačním bodem glykolýzy:

##### 1. Zvýšení poměru ATP / AMP vede k inhibici glykolýzy

Glykolýza je děj směřující ke tvorbě ATP.

ATP je substrátem a současně i allosterickým inhibitorem tohoto enzymu. AMP se oproti tomu chová jako aktivátor enzymu. Při nadbytku ATP se tedy zastaví další spotřeba glukózy jako živiny.

##### 2. Citrát inhibuje glykolýzu

Pokud jsou oxidovány mastné kyseliny, vzniklý acetyl-CoA inhibuje PDH.

Vznikající pyruvát směřuje do karboxylace na oxalacetát. Je-li současně dostatek acetyl-CoA i oxalacetátu, syntetizuje se citrát, který se hromadí před enzymem isocitrátdehydrogenázou. **Citrát uniká do cytoplazmy**, kde blokuje regulační enzym glykolýzy. Signalizuje totiž, že v mitochondrii je dostatek substrátů Krebsova cyklu, a tudíž není zapotřebí tvořit další.

##### 3. Fruktóza-2,6-bisfosfát (Fru-2,6-P)

Fruktóza-2,6-bisfosfát, aktivátor glykolýzy, funguje jako prodloužená ruka inzulínu – jeho koncentrace se zvyšuje, pokud je poměr inzulín / glukagon zvýšený. Vzniká z fruktóza-6-P reakcí katalyzovanou **6-fosfofruktokinázou-2 (PFK-2)**.

##### 4. Glykolýzu aktivuje inzulín a inhibují ji kontraregulační hormony

Vzestup poměru inzulín / glukagon snižuje intracelulární koncentraci cAMP; tím nastává převaha defosforylačních dějů. Pokles poměru a působení dalších kontraregulačních hormonů vyvolá naopak vzestup koncentrace cAMP – převažují fosforylační děje. 6-fosfofrukto-1-kináza je aktivní v defosforylované formě.

##### 5. Inhibice kyselým pH

6-fosfofrukto-1-kináza je inhibována protony. Jak **pyruvát**, tak **laktát** jsou poměrně silné kyseliny a jejich

významná akumulace by mohla ohrozit buňku. Proto jejich zvýšené koncentrace vedou skrze protony k inhibici regulačního enzymu.

Zbylé enzymy mají menší význam, proto je popíšeme jen velmi stručně. Jak jsme již uvedli, hexokinázu jednak inhibuje její produkt – Glc-6-P, jednak ji aktivuje inzulin. Pyruvátkinázu reguluje kovalentní modifikace pod vlivem poměru inzulin / glukagon.

#### **Klinické korelace**

Mezi poměrně časté enzymatické defekty patří **vrozený deficit pyruvátkinázy**. Postiženy jsou převážně erythrocyty, v nichž se tvoří méně ATP. Z toho vyplývá jejich nižší schopnost udržet integritu své membrány (aktivní membránové transporty) a svůj tvar. Důsledkem je jejich zvýšený rozpad – rozvíjí se hemolytická anémie. Při nedostatečném okysličování tkání (**hypoxii**) se ve zvýšené míře tvoří **laktát**, který jako poměrně silná kyselina způsobuje okyselení těla – tomuto poklesu pH se říká **laktátová acidóza**.