

Glikoliza

Boris Mildner

Glukoza ima središnje mjesto u metabolizmu mnogih organizama

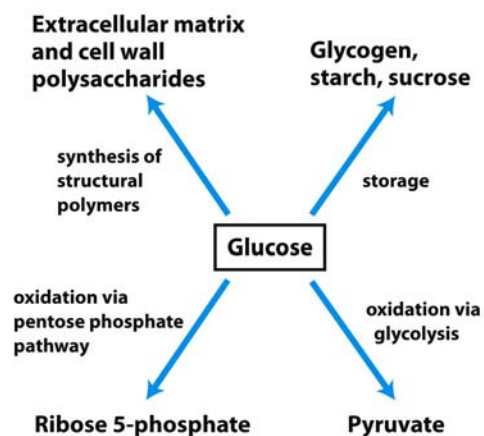


Figure 14-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Molekula glukoze ima relativno visoku potencijalnu energiju i potpuno iskorištenje glukoze (do CO_2) oslobađa $\Delta G = - 2840 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Organizmi koji ne mogu koristiti glukožu kao hranu, sami sintetiziraju glukožu.

Fotosintetski organizmi sintetiziraju glukožu tako da reduciraju atmosferski CO_2 u trioze, a nakon toga pretvaraju trioze u glukožu.

Nefotosintetski organizmi sintetiziraju glukožu putem glukoneogeneze.

Glikoliza

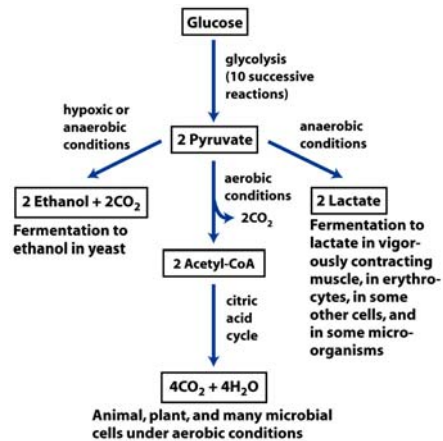


Figure 14-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Glikolizom se molekula glukoze razgrađuje do piruvata, molekule od 3-C atoma. Energija koja je pohranjena u molekuli glukoze, tijekom razgradnje glukoze oslobađa se u obliku ATP i NADH, a najvećim dijelom ostaje pohranjena u molekuli piruvata.

Glikoliza je gotovo univerzalni središnji metabolički put glukoze. Glikolitička razgradnja glukoze je jedini izvor metaboličke energije u nekim tkivima i stanicama sisavaca (eritrocitima, meduli bubrega, mozgu, spermi). Neke biljke koje su prilagođene za čuvanje škroba (gomolji krumpira), kao i neke vodene biljke, najveću količinu energije dobivaju putem glikolize. Mnogi anerobni mikroorganizmi u potpunosti su ovisni o glikolizi.

Glikoliza

Fermentacija je opći izraz za anaerobnu razgradnju glukoze ili drugih organskih molekula kako bi se dobila kemijska energija u vidu ATP.

Kako su organizmi prvo nastali u atmosferi bez kisika, anaerobna razgradnja glukoze vjerojatno je najstariji biološki mehanizam pomoću kojeg se dobiva energija iz organskih molekula.

Između vrsta, put razgradnje glukoze razlikuje se samo po nekim detaljima, kao i u metaboličkim pretvorbama piruvata.

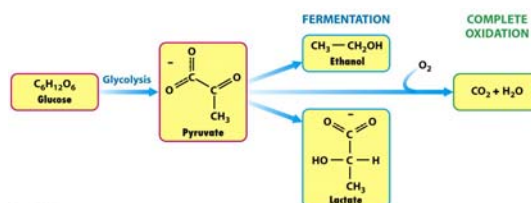


Figure 16-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Pregled reakcija glikolize (1)

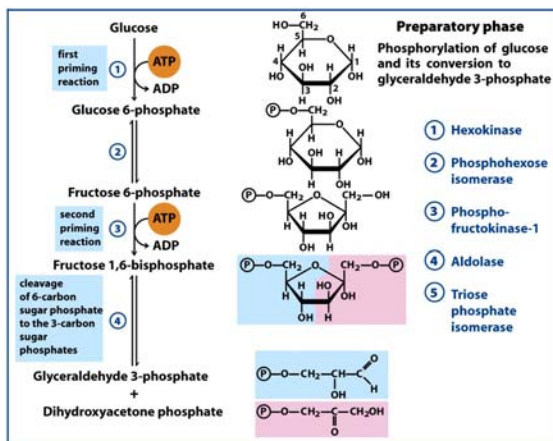


Figure 14-2a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Prve četiri reakcije su pripremne faze glikolize, u kojima se molekula glukoze "priprema" za cijepanje i oslobađanje energije.

S kemijskog stajališta, izomerizacija koju provodi fosfoheksoza izomeraza u reakciji (2) ključna je reakcija koja omogućava reakcije (3) i (4).

Cijepanje fruktoza 1,6-bisfosfata u gliceraldehid 3-fosfat i dihidroksiaceton fosfat je "liza" tj. reakcija po kojoj je put dobio ime.

Pregled reakcija glikolize (2)

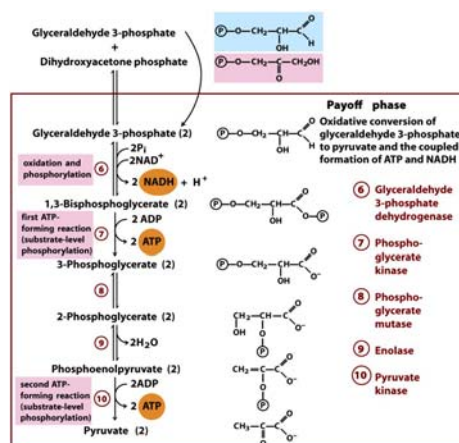


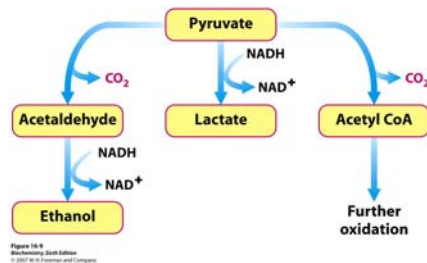
Figure 14-2b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Energija se dobiva u reakcijama 6. – 10.

U reakcijama glikolize razlikujemo tri vrste kemijskih reakcija:

- Razgradnju ugljikovog skeleta glukoze u piruvat;
- Fosforilaciju ADP u ATP pomoću spojeva koji imaju visoki potencijal za prijenos fosforilnih skupina, fosforilacije na razini supstrata;
- Prijenos hidronijevog iona (:H⁺) na NAD⁺, kako bi nastao NADH.

Sudbina piruvata



U aerobnim organizmima piruvat se dekarboksilira i pretvara u acetyl CoA koji se u potpunosti oksidira do CO₂ u citratnom ciklusu. Elektroni dobiveni ovom oksidacijom prenose se mitohondrijskim respiracijskim lancem na O₂, te nastaje H₂O. Energija koja se oslobađa prijenosom elektrona potiče sintezu ATP u mitohondrijima.

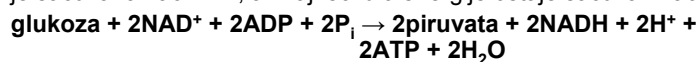
Drugi put pretvorbe piruvata je redukcija piruvata u laktat (mliječno kiselo vrenje). Ova se reakcija odvija u mišićima tijekom napornog rada. U ovim uvjetima piruvat se reducira do laktata te prihvaća elektrone s NADH pa nastaje NAD⁺ koji je neophodan za nastavak glikolize.

Treći put pretvorbe vodi do etanola, proces nazivamo i etanolnim vrenjem.

Oksidacija piruvata važan je katabolički proces, ali piruvat se uključuje i u anaboličke procese, jer može davati ugljikove skelete za sintezu aminokiselina ili za sintezu masnih kiselina.

Nastanak ATP i NADH povezani su s glikolizom

Tijekom glikolize, energija koja je pohranjena u molekuli glukoze djelomično je sačuvana kao ATP, ali najveći dio energije ostaje sačuvan kao piruvat.



ako se reakcija podijeli u dvije reakcije:



$$\Delta G_1'^{\circ} = -146 \text{ kJ/mol}$$



$$\Delta G_2'^{\circ} = (2 \times 30,5) \text{ kJ/mol} = 61,0 \text{ kJ/mol}$$

Suma ukupne reakcije je $\Delta G'^{\circ} = \Delta G_1'^{\circ} + \Delta G_2'^{\circ} = -85,0 \text{ kJ/mol}$

U standardnim uvjetima, ali i u nestandardnim uvjetima kakvi su u stanici, **glikoliza je ireverzibilan** proces kojim se oslobađa velika količina slobodne energije. Većina energije koja se dobiva glikolizom sačuvana je u obliku piruvata. Kemijska energija sadržana u piruvatu u potpunosti će se osloboditi u citratnom ciklusu i narednom oksidacijskom fosforilacijom.

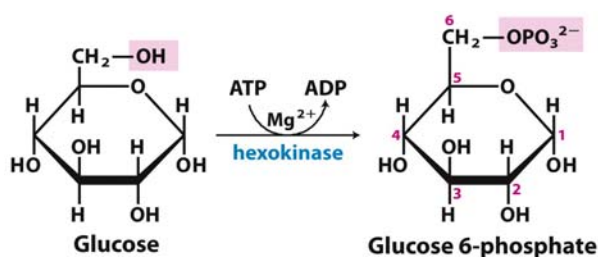
Važnost fosforiliranih međuprodukata

Svaki od 9. međuprodukata tijekom pretvorbe glukoze u piruvat je fosforiliran. Fosforilne skupine imaju tri funkcije:

1. Plazmatske membrane nemaju transportere koji bi prenosili fosforilirane šećere, pa fosforilirani šećeri ne mogu izaći iz stanice. Kada su jednom fosforilirani, više nije potrebna energija kako bi se ti fosforilirani međuprodukti zadržali u stanici uprkos tome što postoji velika razlika u njihovim intra- i ekstracelularnim koncentracijama.
2. Fosforilne skupine su ključne komponente tijekom enzimskog uskladištenja energije. Energija koja se oslobađa cijepanjem fosfoanhidridnih veza (ATP), djelomično se sačuva stvaranjem fosfatnih estera, kao što je glukoza 6-fosfat. Energijom bogati spojevi koji nastaju tijekom glikolize (1,3-bisfosfoglicerat i fosfoenol piruvat) doniraju fosforilne skupine ADP-u, te nastaje ATP.
3. Energija vezivanja koja nastaje vezivanjem fosfatnih skupina u aktivna središta enzima snižava energije aktivacija i povećava specifičnost enzimskih reakcija. Fosfatne skupine ADP, ATP kao i međuprodukata glikolize čine komplekse s Mg^{2+} , i to su vezna mjesta mnogih glikolitičkih enzima. Za većinu glikolitičkih enzima Mg^{2+} ioni potrebni su za aktivnost.

Glikoliza – reakcija (1)

Fosforilacijom glukoze s **heksokinazom**, glukoza-6-fosfat ostaje u stanici.



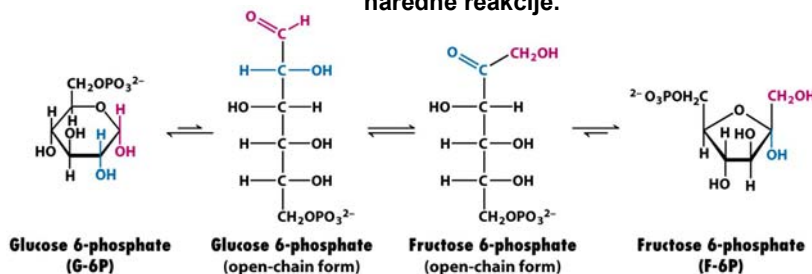
$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

Unnumbered 14 p532a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Prvu reakciju katalizira heksokinaza i to je ireverzibilna reakcija u stanici. Heksokinaze se nalaze u gotovo svim organizmima. Kod ljudi, postoji četiri različite heksokinaze (I – IV) i svi enzimi kataliziraju identičnu reakciju. Jedan od izoenzima, heksokinaza IV nalazi se u jetri, razlikuje se od ostalih heksokinaza i naziva se često glukokinazom.

Glikoliza – reakcija (2)

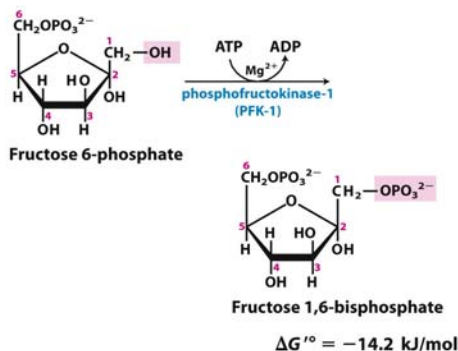
Fosfoheksoza izomeraza omogućava naredne reakcije.



Unnumbered figure pg 437
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

Ovo je ključna kemijska reakcija, jer je premještanje karbonylnih i hidroksilnih skupina na C-1 i C-2 nužno za sljedeće korake glikolize. U reakciji (3) glikolize, za fosforilaciju je nužno da se skupina na C-1 prvo pretvori iz karbonylne skupine u hidroksilnu skupinu, dok je za korak (4) glikolize, gdje se cijepa veza između C-3 i C-4, važno da je karbonylna skupina na C-2.

Glikoliza – reakcija (3) - **Fosfofrukto kinaza** katalizira odlučujući korak u glikolizi

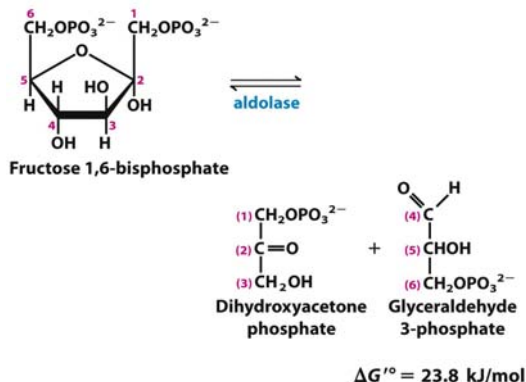


Unnumbered 14 p532c
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

Enzim koji katalizira stvaranje fruktoza 1,6-bisfosfata, nazivamo PFK-1 (fosfofrukto kinaza -1), kako bi ga se razlikovalo od PFK-2, koji katalizira nastanak fruktoza 2,6-bisfosfata. Reakcija koju katalizira PFK-1 je ireverzibilna reakcija i **prvi je odlučujući korak** u glikolitičkom putu. Glukoza 6-fosfatom kao i fruktoza 6-fosfatom mogu se još koristiti i drugi metabolički putovi, ali fruktoza 1,6-bisfosfat može se razložiti samo glikolitskim reakcijama.

Fosfofruktokinaza-1 je alosterički reguliran enzim. Aktivnost kinaze se povećava kada je razina ATP u stanici niska, odnosno kada su koncentracije ADP i AMP visoke. Enzim je inaktivan kada je u stanici mnogo ATP ili kada u stanici ima mnogo masnih kiselina. U nekim organizmima fruktoza 2,6-bisfosfat je alosterički inhibitor fosfofruktokinaze-1.

Glikoliza – reakcija (4) – **Aldolaza** cijepa heksozu u dvije trioze



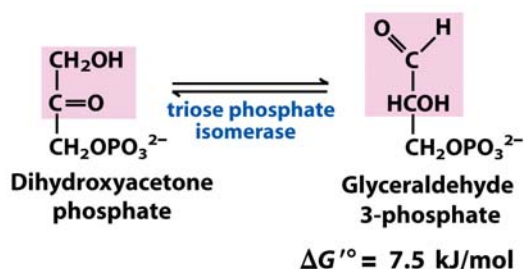
Unnumbered 14 p533
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Iako reakcija aldolaze ima veliku standardnu promjenu slobodne energije, u uvjetima kakvi vladaju u stanici, tj. kod niskih koncentracija trioza, pogotovo dihidroxiaceton fosfata, cijepanje fruktoza 1,6-bisfosfata na dvije trioze gotovo je reverzibilna reakcija.

Enzim fruktoza 1,6-bisfosfat aldolaza, a često se naziva aldolaza, katalizira razgradnju fruktoza 1,6-bisfosfata na dvije različite trioze, dihidroxiaceton fosfat (ketozu) i gliceraldehid 3-fosfat (aldozu).

Postoje dvije vrste aldolaza. Aldolaze tipa I nalaze se u životinjama i biljkama, a aldolaze tipa II koriste gljive i bakterije.

Glikoliza – reakcija (5) – **Trioza fosfat izomeraza** katalizira izomerizaciju dihidroxiaceton fosfata u gliceraldehid-3-fosfat.



Unnumbered 14 p534
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Dihidroxiaceton fosfat brzo se i reverzibilno pretvara u gliceraldehid 3-fosfat, a reakciju katalizira trioza fosfat izomeraza. Mehanizam reakcije sličan je mehanizmu kojim se pretvara aldoza u ketozu, tj. reakcija koju katalizira fosfoheksoza izomeraza (reakcija (2)).

Glikoliza – reakcije (4) i (5) – podrijetla ugljikovih atoma

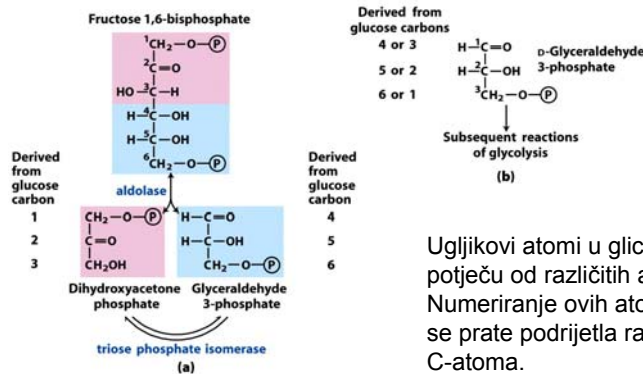
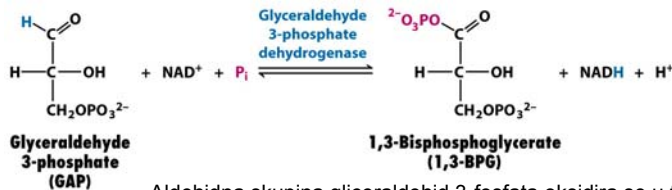


Figure 14-6
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Ugljikovi atomi u glicerinaldehid 3-fosfatu potječu od različitih atoma glukoze. Numeriranje ovih atoma je važno ukoliko se prate podrijetla radioaktivno obilježenih C-atoma.

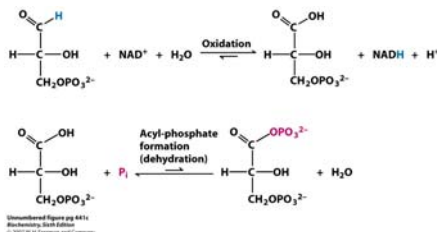
Iz jedne molekule glukoze nastaju dvije molekule glicerinaldehid 3-fosfata te se u narednim reakcijama obje polovice glukoze razlažu na identičan način.

Glikoliza reakcija (6) – **Glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaza** katalizira sintezu energijom bogatog acil-fosfata: **1,3-bisfosfoglicerata**

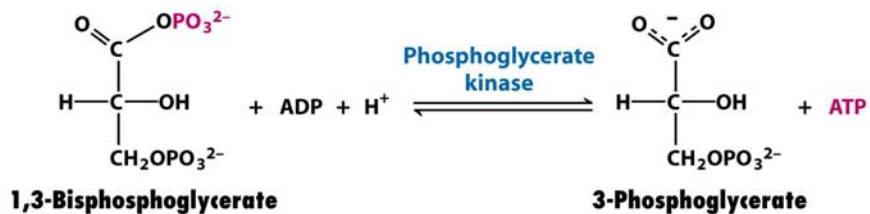


Unnumbered figure pg 441b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Aldehidna skupina glicerinaldehid 3-fosfata oksidira se u fosfoanhidrid karboksilne skupine, koji nazivamo acilni fosfat, spoj s vrlo velikom standardnom promjenom energije hidrolize ($\Delta G^\circ = -49,3 \text{ kJ/mol}$). Za reakciju je nužan NAD^+ . Količina NAD^+ u stanici je $< 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ i daleko je manja od količine glukoze. Glikoliza bi se zaustavila ukoliko u stanici ne bi postojao mehanizam obnove NAD^+ iz NADH .



Glikoliza reakcija (7) - **fosfoglicerat kinaza** prenosi energijom bogatu fosforilnu skupinu s 1,3-bisfosfoglicerata na ADP te nastaju ATP i 3-fosfoglicerat.

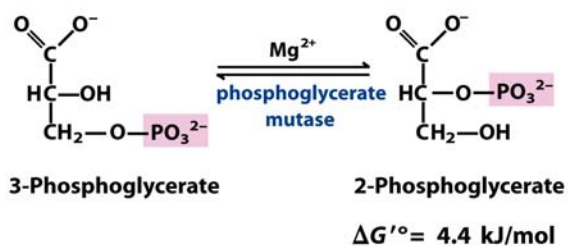


Unnumbered figure pg 443
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Enzim je dobio ime po tome što tijekom glukoneogeneze kao i tijekom asimilacije CO₂ u procesu fotosinteze katalizira reakciju u suprotnom smjeru. U glikolizi, reakcija se provodi u smjeru dobivanja ATP.

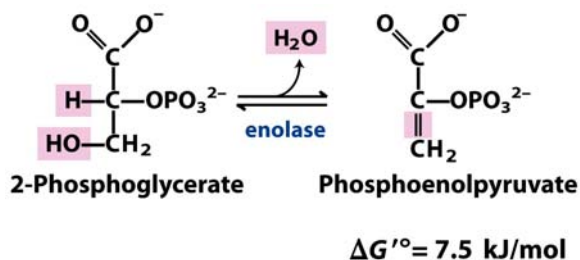
Sintezu ATP, prijenos fosforilne skupine na ADP, zbog toga što se fosforilna skupina prenosi sa supstrata, nazivamo **fosforilacijom na razini supstrata**. Ovaj se naziv koristi, kako bi ovu fosforilaciju razlikovali od fosforilacije koja je povezana s respiracijom (oksidacijskom fosforilacijom).

Glikoliza – reakcija (8) – reakciju katalizira **fosfoglicerat-mutaza** (priprema za sintezu energijom bogatog spoja)



Unnumbered 14 p537
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Glikoliza – reakcija (9) – **enolaza** katalizira sintezu energijom bogatog spoja

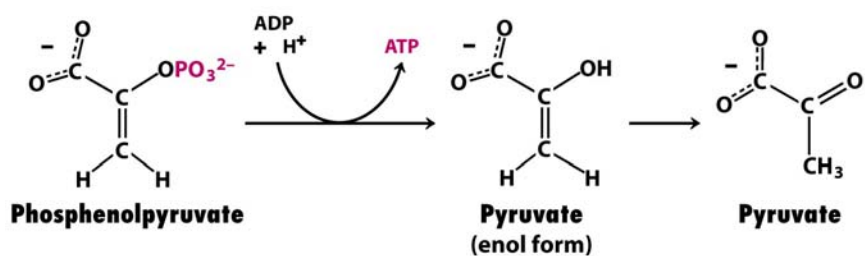


Unnumbered 14 p538a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Gubitkom vode, 2-fosfoglicerat se pretvara u fosfoenolpiruvat.

Ovom reakcijom iz gliceralehid 2-fosfata, spoja s relativno niskom standardom promjenom energije hidrolize ($\Delta G'^{\circ} = -17,6 \text{ kJ/mol}$), nastaje spoj fosfoenolpiruvat s visokim potencijalom za prijenos fosforilnih skupina, kojemu je standardna promjene energije hidrolize, $\Delta G'^{\circ} = -61,9 \text{ kJ/mol}$.

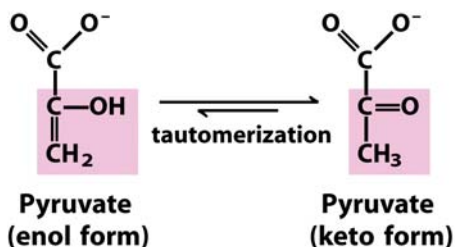
Glikoliza – reakcija (10) – ovu gotovo ireverzibilnu reakciju katalizira **piruvat kinaza**



Unnumbered figure pg 445
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Prijenos fosforilnih skupina s fosfoenolpiruvata na ADP katalizira piruvat kinaza. Za aktivnost ovog enzima potrebni su K^+ , te ili Mg^{2+} ili Mn^{2+} ioni.

Glikoliza – reakcija (10)



Unnumbered 14 p538c
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Tijekom reakcije fosforilacije na razini supstrata, koju katalizira piruvat kinaza, prvo nastaje piruvat u enolnom obliku koji tautomerizacijom prelazi u keto oblik.

Ova 10. reakcija ima veliku negativnu standardnu promjenu energije i to prvenstveno zahvaljujući spontanom prijelazu enolnog oblika piruvata u keto oblik. Oko polovice količine energije koja se oslobađa hidrolizom PEP ($\Delta G^{\circ} = -61,9$ kJ/mol) sačuvana je u obliku fosfoanhidridne veze ATP ($\Delta G^{\circ} = -30,5$ kJ/mol), a ostatak od $-31,4$ kJ/mol predstavlja potencijalnu energiju koja "gura" reakciju u smjeru sinteze ATP.

Tablični prikaz reakcija glikolize

TABLE 16.1 Reactions of glycolysis

Step	Reaction
1	Glucose + ATP → glucose 6-phosphate + ADP + H ⁺
2	Glucose 6-phosphate ⇌ fructose 6-phosphate
3	Fructose 6-phosphate + ATP → fructose 1,6-bisphosphate + ADP + H ⁺
4	Fructose 1,6-bisphosphate ⇌ dihydroxyacetone phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate
5	Dihydroxyacetone phosphate ⇌ glyceraldehyde 3-phosphate
6	Glyceraldehyde 3-phosphate + P _i + NAD ⁺ ⇌ 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H ⁺
7	1,3-Bisphosphoglycerate + ADP ⇌ 3-phosphoglycerate + ATP
8	3-Phosphoglycerate ⇌ 2-phosphoglycerate
9	2-Phosphoglycerate ⇌ phosphoenolpyruvate + H ₂ O
10	Phosphoenolpyruvate + ADP + H ⁺ → pyruvate + ATP

Note: ΔG , the actual free-energy change, has been calculated from ΔG° and known concentrations of reactants under typical physiological conditions. Glycolysis can proceed only if the ΔG values of all reactions are negative. The small positive ΔG values of three of the above reactions indicate that the concentrations of metabolites in vivo in cells undergoing glycolysis are not precisely known.

Table 16-1 part 1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Ukupna bilanca glikolize

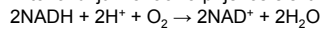
Bilancu glikolize možemo napraviti tako da pratimo:

- 1) Sudbinu ugljikovih atoma u glukozi;
- 2) Koliko P_i i ADP je potrebno za sintezu ATP;
- 3) Put elektrona u redoks reakcijama.
- 4) Stehiometrijska reakcija.

Tijekom glikolize:

- 1) iz jedne molekule glukoze nastaju dvije molekule piruvata (put ugljika).
- 2) iz dvije molekule ADP i dva P_i nastaju dvije molekule ATP (put fosforilnih skupina).
- 3) Četiri elektrona (kao dva hidronijeva iona) prenose se s dvije molekule gliceraldehid 3-fosfata na dvije molekule NAD^+ (put elektrona).
- 4) $glukoza + 2NAD^+ + 2ADP + 2P_i \rightarrow 2piruvata + 2NADH + 2H^+ + 2ATP + 2H_2O$

Dvije molekule NADH koje nastaju u citosolu u **aerobnim** uvjetima reoksidiraju se u NAD^+ tijekom prijenosa elektrona s NADH na lanac za prijenos elektrona koji je kod eukariota u mitohondriju. Lanac za prijenos elektrona predaje elektrone na O_2 .



Prijenos elektrona s NADH na O_2 , što se odvija u mitohondriju stvara energiju za sintezu ATP pomoću fosforilacija koje su povezane s respiracijom.

Fermentacije (vrenja) Sudbina piruvata u anaerobnim uvjetima

U aerobnim uvjetima, piruvat koji nastaje kao krajnji korak glikolize oksidira se u acetat (acetil CoA) koji ulazi u citratni ciklus te se oksidira u CO_2 i H_2O . NADH koji nastaje dehidrogenacijom gliceraldehid 3-fosfata reoksidira se u NAD^+ time što predaje elektrone na O_2 u mitohondrijskom respiracijskom lancu.

U hipoksiji, kao što je to u aktivnim mišićima, vodenim biljkama, tumorskom tkivu ili kod mliječno kiselog vrenja, NADH koji nastaje glikolizom ne može se oksidirati pomoću O_2 . Nemogućnost regeneracije NAD^+ ostavilo bi stanicu bez akceptora elektrona koji su potrebni tijekom oksidacije gliceraldehid 3-fosfata, te bi reakcije glikolize kojima stanica dobiva energiju prestale. Zbog toga je potrebno na neki način stvoriti NAD^+ .

Prve stanice živjele su u atmosferi gotovo bez kisika. Većina današnjih organizama zadržala je sposobnost da kontinuirano regeneriraju NAD^+ tijekom anaerobne glikolize tako da prenose elektrone s NADH na krajnje produkte kao što su to laktat ili etanol.

Fermentacijama se oksidira NADH

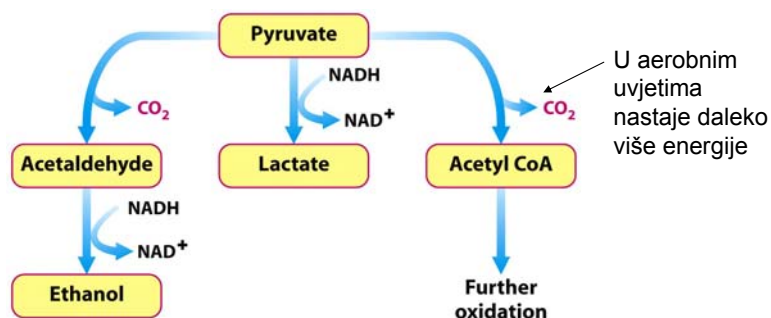
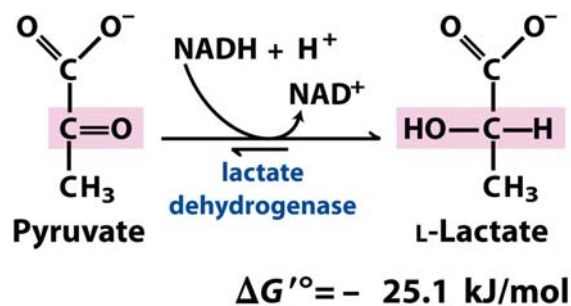


Figure 16-9
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Fermentacije su procesi u kojima se sintetizira ATP a organski spojevi koji su supstrati ujedno su i donori odnosno akceptori elektrona

Piruvat je akceptor elektrona u mliječno-kiselom vrenju

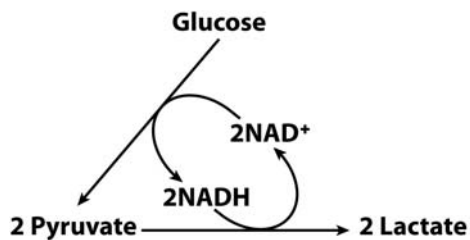
Kada nema dovoljno kisika, NAD^+ se regenerira iz NADH tako da se piruvat reducira u laktat. Neka tkiva i stanice (eritrociti, nemaju mitohondrije pa ne mogu oksidirati piruvat u CO_2) stvaraju laktat iz glukoze čak i u aerobnim uvjetima. Redukciju piruvata u laktat katalizira laktat dehidrogenaza:



Unnumbered 14 p547a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Piruvat je akceptor elektrona u mliječno-kiselom vrenju

Tijekom glikolize, dehidrogenacijom dvije molekule gliceraldehid 3-fosfata koje nastaju iz jedne molekule glukoze, nastaju dvije molekule NADH. Kako redukcijom 2 molekule piruvata u 2 molekule laktata dolazi do stvaranja 2 molekule NAD⁺, to nema promjene u molarnim koncentracijama NAD⁺ i NADH.

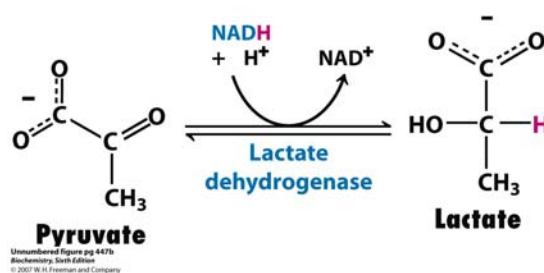


Unnumbered 14 p547b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Laktat koji nastaje u aktivnim skeletnim mišićima ili u eritrocitima može se reciklirati – prenosi se krvotokom u jetra gdje se pretvara u glukozu tijekom oporavka od napornog mišićnog rada. Kada nastaje mnogo laktata, zakisiljevanje (smanjenje pH), koje nastaje zbog ionizacije mliječne kiseline u mišićima i krvi, ograničava vrijeme napornog rada mišića.

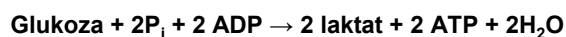
Iako pretvorba glukoze u laktat uključuje dvije reakcije oksidacije-redukcije, nema ukupne promjene u oksidacijskom stupnju ugljika: u glukozi C₆H₁₂O₆ i mliječnoj kiselini C₃H₆O₃ omjeri H:C su identični. Ovim procesom iskorištena je energija glukoze pretvorbom u laktat, tako da je ukupna bilanca 2 molekule ATP/molekuli glukoze. Fermentacija je proces kojim se sintetizira ATP, ali se ne koristi kisik ili promjena koncentracija NAD⁺/NADH.

Mnogi mikroorganizmi stvaraju laktat iz piruvata tijekom mliječno kiselog vrenja



Unnumbered Figure pg 447b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

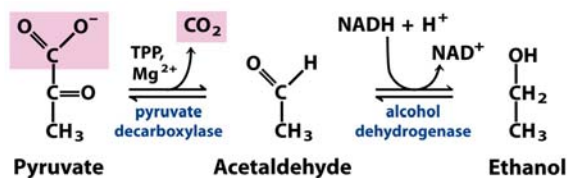
Sumarna stehiometrijska reakcija pretvorbe glukoze u laktat:



Kao i kod alkoholnog vrenja u sumarnoj reakciji se ne pojavljuje naznaka oksidacijsko-redukcijske reakcije iako se ona zbiva.

Etanol je reducirani produkt koji se dobiva alkoholnim vrenjem

Kvasci i drugi mikroorganizmi fermentiraju glukozu u etanol i CO₂. Glukoza se razgrađuje glikolizom do piruvata, a piruvat se pretvara u etanol i CO₂ u dva koraka:

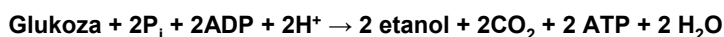


Unnumbered 14 p547c
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

U prvom koraku pretvorbe piruvata u etanol, tj. u reakciji dekarboksilacije koju katalizira piruvat dekarboksilaza, tiamin pirofosfat je kofaktor, koji nastaje iz vitamina tiamina (B₁). Drugi korak je redukcija aldehida u etanol što katalizira alkohol dehidrogenaza. Acetaldehid je u ovoj reakciji organski spoj koji prihvaća elektrone tijekom fermentacije etanola, a reakcijom se regenerira NAD⁺.

Održavanje redoks ravnoteže u fermentaciji alkohola

Ukupna reakcija pretvorbe glukoze u fermentaciji alkohola:



U ovoj reakciji NAD⁺ i NADH se ne javljaju – NADH koji nastaje oksidacijom glicerinaldehid-3-fosfata utroši se za redukciju acetaldehida u etanol.

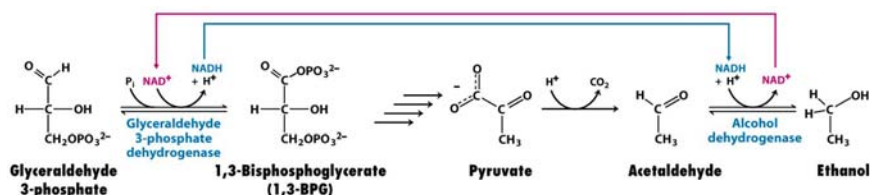


Figure 16-11
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Fermentacijama se dobiva korisna energija i u anaerobnom uvjetima

TABLE 16.2 Examples of pathogenic obligate anaerobes

Bacterium	Result of infection
<i>Clostridium tetani</i>	Tetanus (lockjaw)
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulism (an especially severe type of food poisoning)
<i>Clostridium perfringens</i>	Gas gangrene (gas is produced as an end point of the fermentation, distorting and destroying the tissue)
<i>Bartonella hensela</i>	Cat scratch fever (flu-like symptoms)
<i>Bacteroides fragilis</i>	Abdominal, pelvic, pulmonary, and blood infections

Table 16-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Fermentacijama dobivamo hranu i industrijske kemikalije

Lactobacillus bulgaricus → jogurt

Propionibacterium freudenreichii → propionska kiselina + CO₂ (sir)

Clostridium acetobutyricum + škrob → butanol + aceton

TABLE 16.3 Starting and ending points of various fermentations

Glucose	→	lactate
Lactate	→	acetate
Glucose	→	ethanol
Ethanol	→	acetate
Arginine	→	carbon dioxide
Pyrimidines	→	carbon dioxide
Purines	→	formate
Ethylene glycol	→	acetate
Threonine	→	propionate
Leucine	→	2-alkylacetate
Phenylalanine	→	propionate

Note: The products of some fermentations are the substrates for others.



Page 14-3 Figure 1
Larger Principles of Biochemistry, 6th Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Table 16-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Put glikolize strogo je kontroliran

Tijekom studija fermentacije glukoze u kvascu, Pasteur je otkrio da je brzina pretvorbe glukoze kao i potrošnja ukupne količine glukoze mnogostruko veća u aneobnim uvjetima nego u aerobnim. U skeletnim mišićima događa se slično. Biokemijska osnova "Pasteurovog efekta" je ATP. U anaerobnim uvjetima količina ATP koji nastaje glikolizom su dva ATP/glukozi, dok se u aerobnim uvjetima, gdje se glukoza razgrađuje do CO₂, iz jedne molekule glukoze dobiva se 30-32 molekula ATP. Zbog toga se u anaerobnim uvjetima mora utrošiti 15-16 puta više glukoze nego što je potrebno u aerobnim uvjetima kako bi se dobila jednaka količina ATP.

Protok glukoze kroz glikolitički put reguliran je uglavnom konstantnom razinom ATP. Promjene brzine glikolize dešavaju se potrošnjom ATP, regeneracijom NADH te alosteričkim regulacijama nekolicine glikolitičkih enzima, kao što su heksokinaza, PFK-1 i piruvat kinaza, kao i stalnim promjenama koncentracija ključnih metabolita koji održavaju staničnu ravnotežu između sinteze ATP i njegove potrošnje.

Put glikolize strogo je kontroliran

TABLE 14-2 Free-Energy Changes of Glycolytic Reactions in Erythrocytes		
Glycolytic reaction step	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1 Glucose + ATP \longrightarrow glucose 6-phosphate + ADP	-16.7	-33.4
2 Glucose 6-phosphate \rightleftharpoons fructose 6-phosphate	1.7	0 to 25
3 Fructose 6-phosphate + ATP \longrightarrow fructose 1,6-bisphosphate + ADP	-14.2	-22.2
4 Fructose 1,6-bisphosphate \rightleftharpoons dihydroxyacetone phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate	23.8	-6 to 0
5 Dihydroxyacetone phosphate \rightleftharpoons glyceraldehyde 3-phosphate	7.5	0 to 4
6 Glyceraldehyde 3-phosphate + P _i + NAD ⁺ \rightleftharpoons 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H ⁺	6.3	-2 to 2
7 1,3-Bisphosphoglycerate + ADP \rightleftharpoons 3-phosphoglycerate + ATP	-18.8	0 to 2
8 3-Phosphoglycerate \rightleftharpoons 2-phosphoglycerate	4.4	0 to 0.8
9 2-Phosphoglycerate \rightleftharpoons phosphoenolpyruvate + H ₂ O	7.5	0 to 3.3
10 Phosphoenolpyruvate + ADP \longrightarrow pyruvate + ATP	-31.4	-16.7

Note: $\Delta G'^{\circ}$ is the standard free-energy change, as defined in Chapter 13 (pp. 491–492). ΔG is the free-energy change calculated from the actual concentrations of glycolytic intermediates present under physiological conditions in erythrocytes, at pH 7. The glycolytic reactions bypassed in gluconeogenesis are shown in red. Biochemical equations are not necessarily balanced for H or charge (p. 501).

Table 14-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Put glikolize je strogo kontroliran

Kontrolu glikolize provode heksokinaza, fosfofruktokinaza i piruvat kinaza.

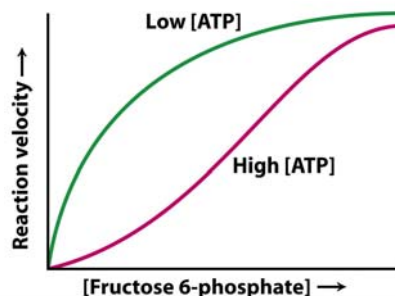
U sisavaca, najznačajniji regulacijski enzim glikolize je **fosfofrukto-kinaza**, koju alosterički regulira ATP. U mišiću smanjenje pH također inhibira aktivnost enzima.

Heksokinazu kontrolira glukoza-6-fosfat, a i

inhibicija fosfofruktokinaze dovodi

do inhibicije heksokinaze.

Piruvat kinazu reguliraju krajnji produkti: ATP i piruvat. ATP alosterički inhibira piruvat kinazu kako bi usporio glikolizu kada je u stanici visoki energetska nabo. Piruvat kinazu pozitivno regulira (stimulira) fruktoza-1,6-bisfosfat kako bi se ubrzala glikoliza.



Alosterička kontrola **fosfofruktokinaze**.

Visoke koncentracije ATP smanjuju afinitet za fruktoza-6-fosfat. AMP uklanja inhibični efekt ATP.

Prikaz kontrole glikolize u mišiću

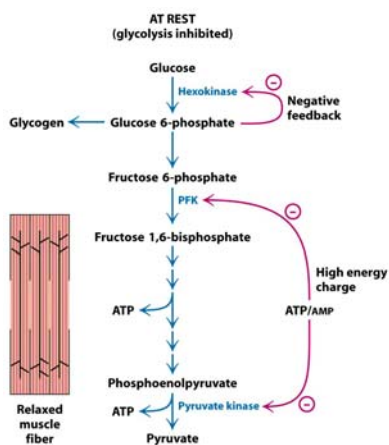


Figure 16-17 part 1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

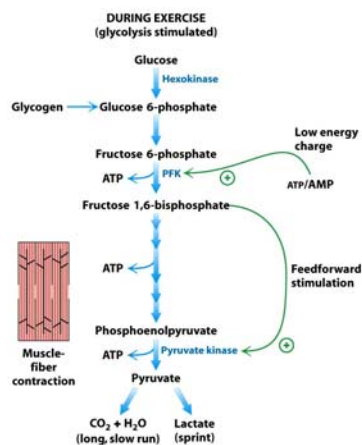


Figure 16-17 part 2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Put glikolize je strogo kontroliran

Glucose



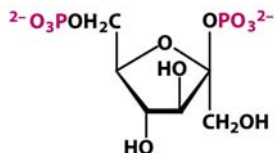
F-6P

F-2,6-BP
activates PFK

PFK ←



F-1,6-BP



Fructose 2,6-bisphosphate (F-2,6-BP)

U jetrima fosfofruktokinazu kontrolira i fruktoza-2,6-bisfosfat. Visoke koncentracije F-2,6-BP aktiviraju fosfofrukto kinazu.

Figure 16-19
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Prikaz aktivacije fosfofruktokinaze pomoću fruktoza-2,6-bisfosfata

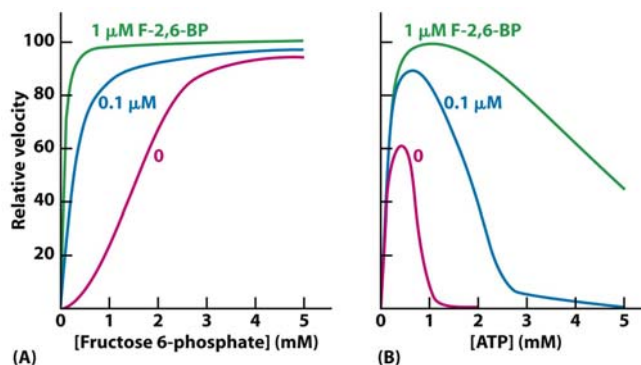


Figure 16-18
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Niske koncentracije ATP na početku stimuliraju aktivnost enzima, a veće koncentracije smanjuju aktivnost enzima. Negativni efekt ATP na aktivnost enzima umanjuju povećane koncentracije F-2,6-BP.

Piruvat kinaza je kontrolirana i alosterički i kovalentnim modifikacijama

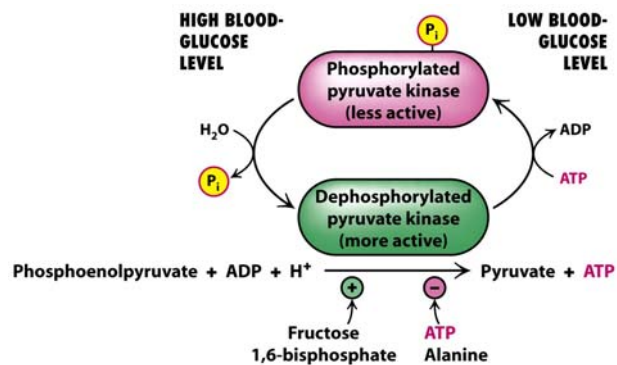


Figure 16-20
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Kada je koncentracija glukoze u krvi niska, glukagon stimulira putem cAMP fosforilaciju piruvat kinaze. Kada je koncentracija glukoze u krvi visoka, piruvat kinaza se defosforilira.

Transporteri glukoze također doprinose kontroli glikolize

TABLE 16.4 Family of glucose transporters

Name	Tissue location	K_M	Comments
GLUT1	All mammalian tissues	1 mM	Basal glucose uptake
GLUT2	Liver and pancreatic β cells	15–20 mM	In the pancreas, plays a role in the regulation of insulin In the liver, removes excess glucose from the blood
GLUT3	All mammalian tissues	1 mM	Basal glucose uptake
GLUT4	Muscle and fat cells	5 mM	Amount in muscle plasma membrane increases with endurance training
GLUT5	Small intestine	—	Primarily a fructose transporter

Table 16-4
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Put glikolize je strogo kontroliran

U nešto duljem vremenskom razdoblju, glikolizu reguliraju hormoni – glukagon, adrenalin i inzulin, kao i promjene ekspresije gena glikolitičkih enzima.

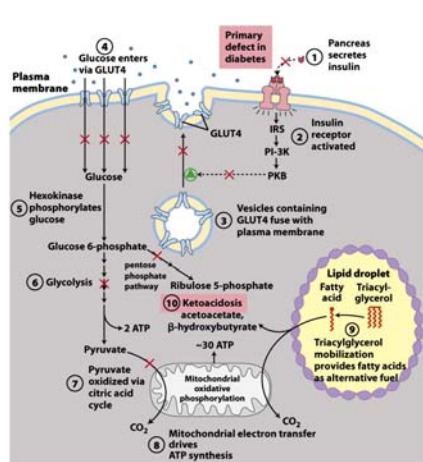
Interesantna je neuobičajena regulacija glikolize u tumorima. Warburg je primijetio da gotovo sve vrste tumora provode glikolizu daleko brže nego zdrave stanice čak i u uvjetima kada ima dovoljno kisika.

Kod sisavaca, metabolizam glukoze kontroliraju brzina unosa glukoze u stanicu te fosforilacija glukoze u stanici koju provodi heksokinaza. Unos glukoze iz krvotoka u stanice provode transporteri glukoze koji pripadaju porodici GLUT proteina.

Transporteri u hepatocitima (GLUT1 i GLUT2) kao i transporteri u neuronima mozga (GLUT3) uvijek se nalaze na površini plazmatskih membrana.

Za razliku od toga, transporteri glukoze u stanicama skeletnih mišića, mišića srca te u adipocitima (GLUT4) nalaze se u malim vesikulama unutar stanica, a na površinu plazmatske membrane dolaze na podražaj inzulinom. Zbog toga, u stanicama mišića kao i u adipocitima unos glukoze ovisi o sekreciji inzulina iz β -stanica pankreasa koji se događa kao odgovor β -stanica na povišenu koncentraciju glukoze u krvi.

Kontrola unosa glukoze u stanice sisavaca



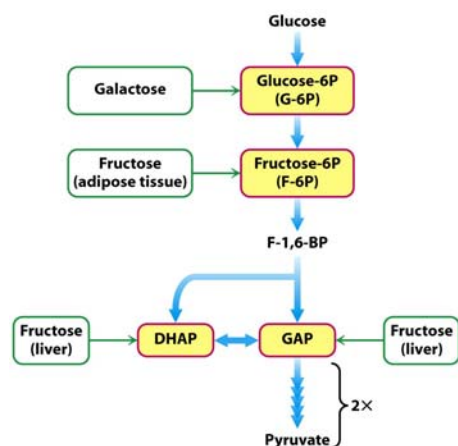
Utjecaj diabetesa tipa I na metabolizam ugljikohidrata i masnih kiselina u adipocitima.

Pacijenti s diabetes mellitus tipa I, imaju premalo β -stanica te ne mogu izlučiti dovoljno inzulina kako bi započeo unos glukoze u stanice mišića i adipocita. Zbog toga se nakon obroka koncentracija glukoze u krvi povećava. Kako ne mogu unijeti glukozu, stanice mišića i adipociti koriste masne kiseline kao metaboličko gorivo. U jetri, acetil CoA koji nastaje razgradnjom masnih kiselina pretvara se u "ketonska tijela"- acetoacetat i β -hidroksibutirat. Ketonska tijela krvotokom se prenose do drugih tkiva koja ih onda koriste kao gorivo. Kod ne liječenog dijabetesa tipa I, velike količine acetoacetata sakupljaju se u krvi pa dolazi do snižavanja pH krvi, odnosno dolazi do ketoacidoze. Unosom inzulina dolazi do obrata slijeda događaja: GLUT4 dolazi na površinu stanica a glukoza se unosi u stanicu i fosforilira. Povećanjem količine inzulina dolazi do snižavanja koncentracije glukoze u krvotoku a time i do smanjene sinteze ketonskih tijela.

Diabetes mellitus ima veliki utjecaj na metabolizam i ugljikohidrata i na metabolizam masti.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

Osim glukoze i drugi monosaharidi se razgrađuju glikolitičkim putem.



Sažetak unosa monosaharida u glikolitički put.

Figure 16-13
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Putovi unosa supstrata u glikolizu

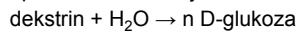
Polisaharidi i disaharidi iz hrane razgrađuju se u monosaharide.

Za većinu ljudi, škrob je glavna namirnica kojom se polisaharidi unose hranom. Razgradnja škroba započinje u ustima, gdje α -amilaza u slini hidrolizira ($\alpha 1 \rightarrow 4$) glikozidne veze škroba te nastaju kratki polisaharidni lanci ili oligosaharidi. U želucu, α -amilaza se inaktivira zbog niskog pH, ali drugi izoenzim α -amilaze, kojeg luči pankreas, nastavlja razgradnju oligosaharida u tankom crijevu. Djelovanjem α -amilaze pankreasa nastaju uglavnom maltoza i maltotriosa (di- i tri-saharidi glukoze), te granični dekstrini, dijelovi amilopektina koji sadrže ($\alpha 1 \rightarrow 6$) grane. Maltoza i dekstrini razgrađuju se do glukoze u crijevnim epitelnim stanicama. Glikogen koji dobivamo hranom ima gotovo identičnu strukturu kao škrob, te se razgrađuje na identičan način.

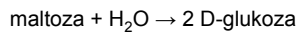
Putovi unosa supstrata u glikolizu

Hidroliza disaharida u monosaharide

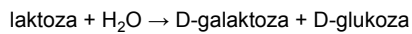
Disaharidi se moraju hidrolizirati u monosaharide prije nego što uđu u stanicu. U crijevu, disaharide i dekstrine hidroliziraju enzimi koji se nalaze na vanjskoj površini epitelnih stanica crijeva.



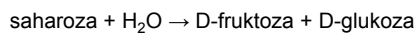
dekstrinaza



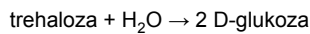
maltaza



laktaza



saharaza



trehalaza

Monosaharidi koji nastaju ovim reakcijama aktivno se transportiraju u epitelne stanice crijeva te nakon toga ulaze u krvotok te se prenose do različitih tkiva u kojima se fosforiliraju te time ulaze u glikolitički put.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

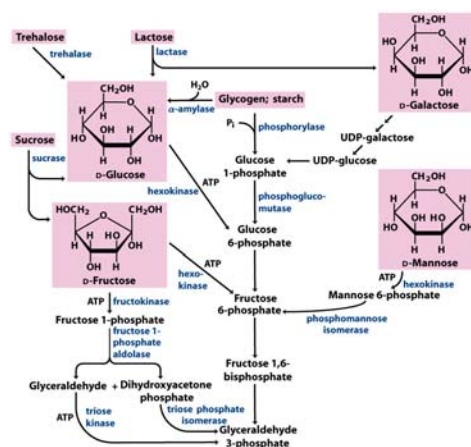


Figure 14-10
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Pored glukoze i mnogi drugi šećeri razgrađuju se glikolitičkim putem nakon što se metaboliziraju do jednog od međuprodukata metaboličkog puta. Najznačajniji supstrati glikolize su polisaharidi koji služe kao stanične rezerve i to glikogen i škrob. Ovi polisaharidi glikolitički se razgrađuju ili kao endogene stanične rezerve ili nakon što se unesu hranom. Prehranom se unose disaharidi maltoza, laktoza, trehaloza kao i monosaharidi fruktoza, manoza i galaktoza.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

Endogeni glikogen i endogeni škrob razgrađuju se fosforolizom

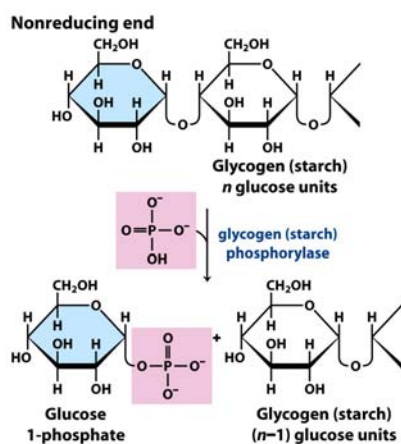


Figure 14-11
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Glikogen kao i škrob koji se čuvaju u stanici kao rezerve, a razgrađuju se u tom istom tkivu reakcijom **fosforolize**. Fosforolizom se sačuva dio energije koji je pohranjen u glikozidnoj vezi i to kao ester glukoza 1-fosfat.

Glukoza 1-fosfat koji nastaje tijekom reakcije glikogen fosforilaze pretvara se u glukoza 6-fosfat pomoću fosfoglukomutaze:

Glukoza 1-fosfat ↔ glukoza 6-fosfat

Fosforolizom se štedi energija – troši se samo jedan ATP za sintezu fruktoza 1,6-bisfosfata, pa u procesu glikolize iz glukoza 6-fosfata nastaju 3 molekule ATP.

Razgradnjom polisaharida u probavnom traktu pomoću reakcije fosforolize, umjesto hidrolize, ne bismo uštedjeli energiju jer se fosfati šećera ne transportiraju u stanice već se moraju defosforilirati u slobodne šećere prije nego što se unose u stanice.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

U većini organizama, heksoze koje se razlikuju od glukoze ulaze u glikolizu nakon što se pretvore u fosforilirani derivat. D-fruktozu koja se nalazi u voću ili koja nastaje hidrolizom saharoze u tankom crijevu kralješnjaka fosforilira heksokinaza:



Na ovaj način fruktoza ulazi u glikolitički put u mišićima i bubregu.

U jetrima, fruktoza ulazi u glikolitički put putom fruktoza-1-fosfata

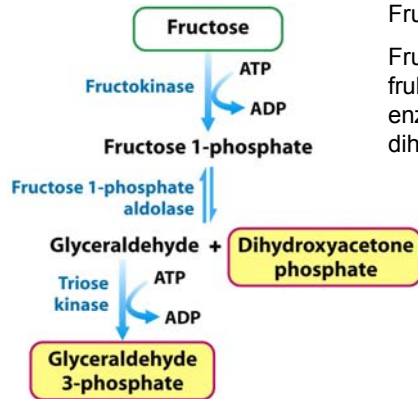


Figure 16-14
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

U jetrima, fruktokinaza (neglikolitički enzim) fosforilira fruktozu na C-1, a ne na C-6:
 $\text{Fruktoza} + \text{ATP} \rightarrow \text{fruktoza 1-fosfat} + \text{ADP}$

Fruktoza-1P može se direktno razlagati fruktoza-1-fosfat aldolazom (neglikolitički enzim) te nastaju glicerinaldehid i dihidroksiaceton fosfat.

Dihidroksiaceton fosfat prelazi u glicerinaldehid 3-fosfat pomoću glikolitičkog enzima trioza fosfat izomeraze.

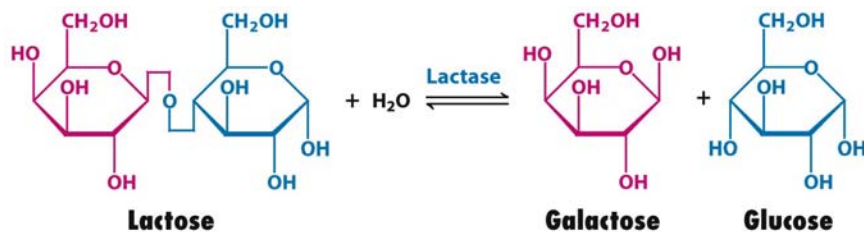
Glicerinaldehid se uz pomoć ATP i trioza kinaze (neglikolitički enzim) pretvara u glicerinaldehid 3-fosfat:

$\text{Glicerinaldehid} + \text{ATP} \rightarrow \text{glicerinaldehid 3-fosfat} + \text{ADP}$

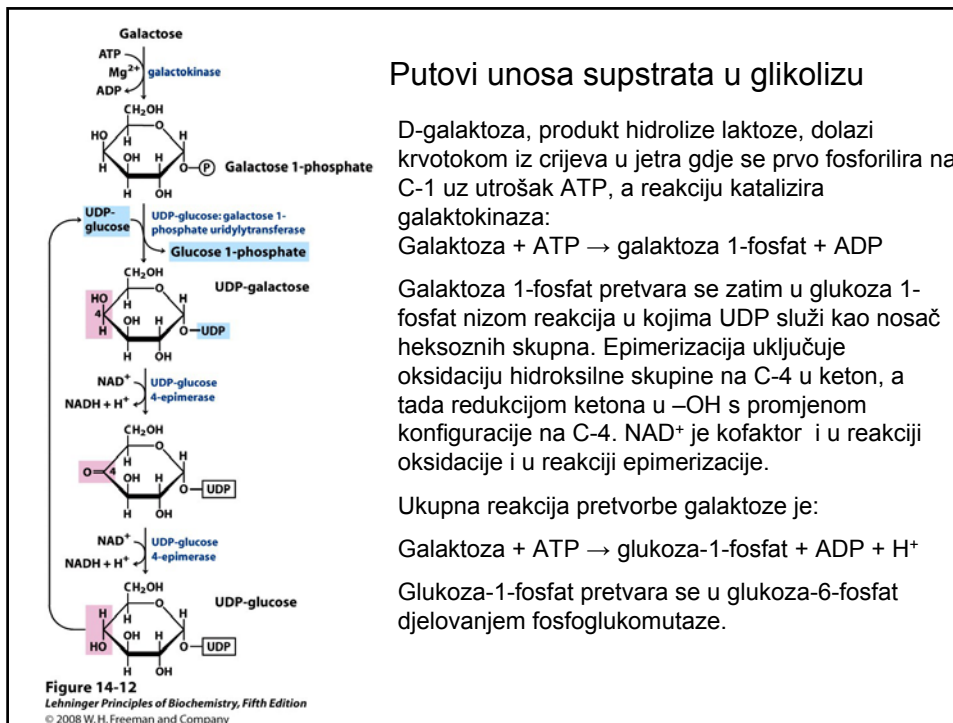
Od glicerinaldehid-3-fosfata, razgradnja fruktoze slijedi glikolitičke reakcije.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

Razgradnja laktoze:

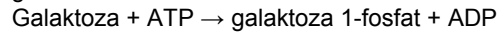


Unnumbered figure pg 451a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company



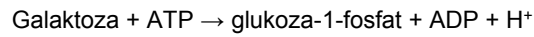
Putovi unosa supstrata u glikolizu

D-galaktoza, produkt hidrolize laktoze, dolazi krvotokom iz crijeva u jetra gdje se prvo fosforilira na C-1 uz utrošak ATP, a reakciju katalizira galaktokinaza:



Galaktoza 1-fosfat pretvara se zatim u glukoza 1-fosfat nizom reakcija u kojima UDP služi kao nosač heksoznih skupna. Epimerizacija uključuje oksidaciju hidroksilne skupine na C-4 u keton, a tada redukcijom ketona u –OH s promjenom konfiguracije na C-4. NAD⁺ je kofaktor i u reakciji oksidacije i u reakciji epimerizacije.

Ukupna reakcija pretvorbe galaktoze je:

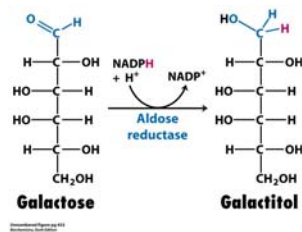


Glukoza-1-fosfat pretvara se u glukoza-6-fosfat djelovanjem fosfoglukomutaze.

Putovi unosa supstrata u glikolizu

Defekt bilo kojeg enzima na putu pretvorbe galaktoza 1-fosfata u glukoza 1-fosfat uzrokuje galaktozemiju. Kada nema, ili je defektna galaktokinaza, visoke koncentracije galaktoze nalaze se u krvi i urinu. Bolesnici dobivaju katarakte već u djetinstvu koje nastaju zbog odlaganja metabolita galaktoze, galacitola, u leći oka.

Nedostatak drugih enzima očituje se za po život neopasnim simptomima koji se mogu liječiti kontroliranom prehranom (bez unosa galaktoze).



Odlaganjem galacitola u leći oka dolazi do zamućenja leće odnosno do stvaranja katarakta.