

# Metaboličke pogreške i bolesti razgradnje ugljikohidrata

---

Idek, Valentina

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:321845>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Valentina Idek

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **METABOLIČKE POGREŠKE I BOLESTI RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA**

**Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: doc.dr.sc. Marko Močibob

Neposredni voditelj rada: doc.dr.sc. Marko Močibob

Zagreb, 2020.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

10. srpnja 2020.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

25. rujna 2020.

Mentor rada: doc.dr.sc. Marko Močibob

Potpis:



## Sadržaj

<b>§ SAŽETAK.....</b>	<b>VI</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. METABOLIČKI PUTEVI RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Osnovna podjela ugljikohidrata .....</b>	<b>3</b>
<i>2.1.1. Monosaharidi i disaharidi .....</i>	<i>3</i>
<b>2.2. Glikoliza .....</b>	<b>7</b>
<i>2.2.1. Pripremna faza.....</i>	<i>9</i>
<i>2.2.2. Faza isplate.....</i>	<i>13</i>
<i>2.2.3. Metabolizam i razgradnja laktoze i galaktoze .....</i>	<i>17</i>
<b>2.3. Put pentoza fosfata.....</b>	<b>20</b>
<i>2.3.1. Oksidativna grana puta pentoze fosfata.....</i>	<i>22</i>
<b>§ 3. POREMEĆAJI RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Nasljedna netolerancija na fruktozu .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2. Galaktozemija.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Nasljedna deficijencija glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze .....</b>	<b>32</b>
<b>§ 4. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>36</b>

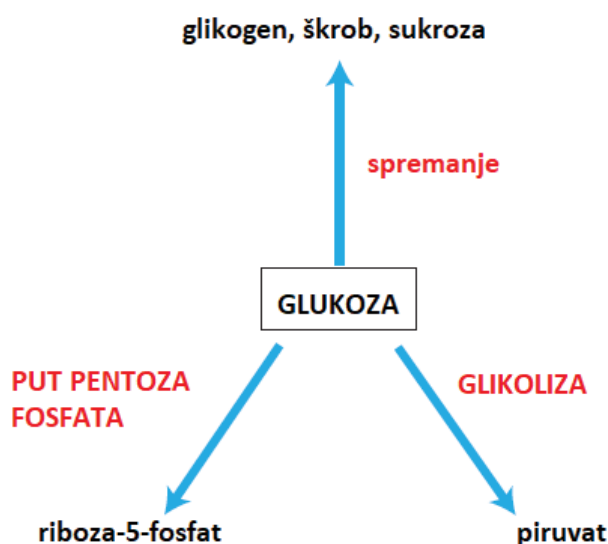


## § Sažetak

Ugljikohidrati su najzastupljenije biološke molekule i živim bićima najvažniji izvor energije, a dijele se na monosaharide, disaharide i polisaharide. Glikoliza je jedan od važnijih metaboličkih puteva razgradnje u koji ulazi glukoza i sve ostale heksoze oslobođene hidrolizom disaharida, prilikom čega se oslobađa ATP i nastaje piruvat. Uz glikolizu, put pentoza fosfata je također važan metabolički put za sintezu prekursora nukleotida riboze i NADPH. Reakcije glikolize i puta pentoze fosfata kataliziraju specifični enzimi, a deficijencije enzima uzrokovane mutacijama na genima za određeni enzim dovode do metaboličkih pogrešaka, nemogućnosti potpune razgradnje ugljikohidrata i nakupljanja štetnih produkata u organizmu. Kod ljudi se javljaju poremećaji kao što su netolerancija na fruktozu, galaktozemija te deficijencija glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze koja dovodi do hemolitičke anemije. Iako su poremećaji najčešće nasljedni, prehrana i način života uvelike utječu na razvoj i jačinu samog poremećaja i bolesti.

## § 1. UVOD

Ugljikohidrati spadaju u najzastupljenije biomolekule, nastaju fotosintezom i koriste se kao izvor energije. Dije se u tri skupine; monosaharidi, disaharidi i polisaharidi. Monosaharidi su jednostavni šećeri i u tu skupinu spadaju glukoza i fruktoza koji su ujedno i najčešći monosaharidi u prirodi. Kada glukoza dospije u krvotok, tri su najčešća puta kojima glukoza nastavlja (Slika 1). Kada je živim bićima potrebna energija, oslobađa se glukoza koja je uskladištena u obliku glikogena ili škroba i koristi se za proizvodnju ATP-a, anaerobnim ili aerobnim putem. Heksoze uključujući još galaktozu i manozu, prolaze kroz jedinstveni put razgradnje – glikolizu.<sup>1,2</sup>



Slika 1. Tri najčešća puta glukoze. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

Glikoliza je jedan od najbitnijih i jedini u potpunosti shvaćen i objašnjen metabolički put, koji živim bićima omogućuje egzistenciju. Sastoji se od deset enzimski kataliziranih reakcija u kojima sudjeluje deset specifičnih enzima. Osim glikolitičkog puta razgradnje, postoji još jedan, a to je put pentoza fosfata koji se sastoji od oksidativne i neoksidativne grane.<sup>1</sup>

Mutacije na genima za određeni enzim uzrokuju deficijenciju enzima, što sprječava završetak glikolize ili puta pentoze fosfata, te u konačnici dolazi do razvoja određenih poremećaja i bolesti. Upravo se tom temom bavi ovaj rad – proučavanjem kako metaboličke



pogreške i razgradnja ugljikohidrata mogu utjecati na razvoj poremećaja i bolesti – specifično na razvoj netolerancije na fruktozu, galaktozemije te hemolitičke anemije kao uzrok deficijencije glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze.

Cilj ovog rada je objasniti osnovnu podjelu ugljikohidrata, razraditi metaboličke puteve glikolize i puta pentoze fosfata, tj. pripadne reakcije i enzime koji ih kataliziraju, objasniti mehanizme ulaska ostalih heksoza u glikolitički put razgradnje te posljedice deficijencije određenih enzima koji sudjeluju u metaboličkim putevima razgradnje na ljudski organizam.

## § 2. METABOLIČKI PUTEVI RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA

### 2.1. OSNOVNA PODJELA UGLJIKOHIDRATA

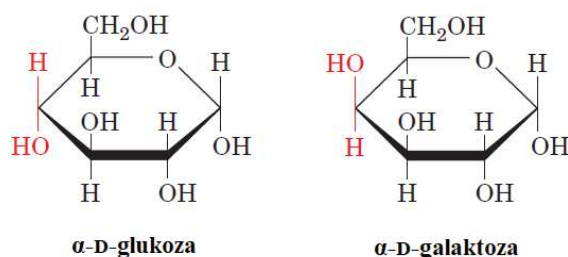
Ugljikohidrati imaju osnovnu podjelu na tri glavne skupine:

1. Monosaharidi ili jednostavni šećeri, dijele se prema prirodi karbonilne skupine i prema broju ugljikovih atoma koji čine njihovu okosnicu.
2. Disaharidi, šećeri koji su sastavljeni od dvije jedinice monosaharida povezane *O*-glikozidnom vezom.
3. Polisaharidi, ugljikohidrati sastavljeni od puno jedinica monosaharida povezani glikozidnom vezom, kao što su škrob, glikogen i celuloza.<sup>1</sup>

#### 2.1.1. Monosaharidi i disaharidi

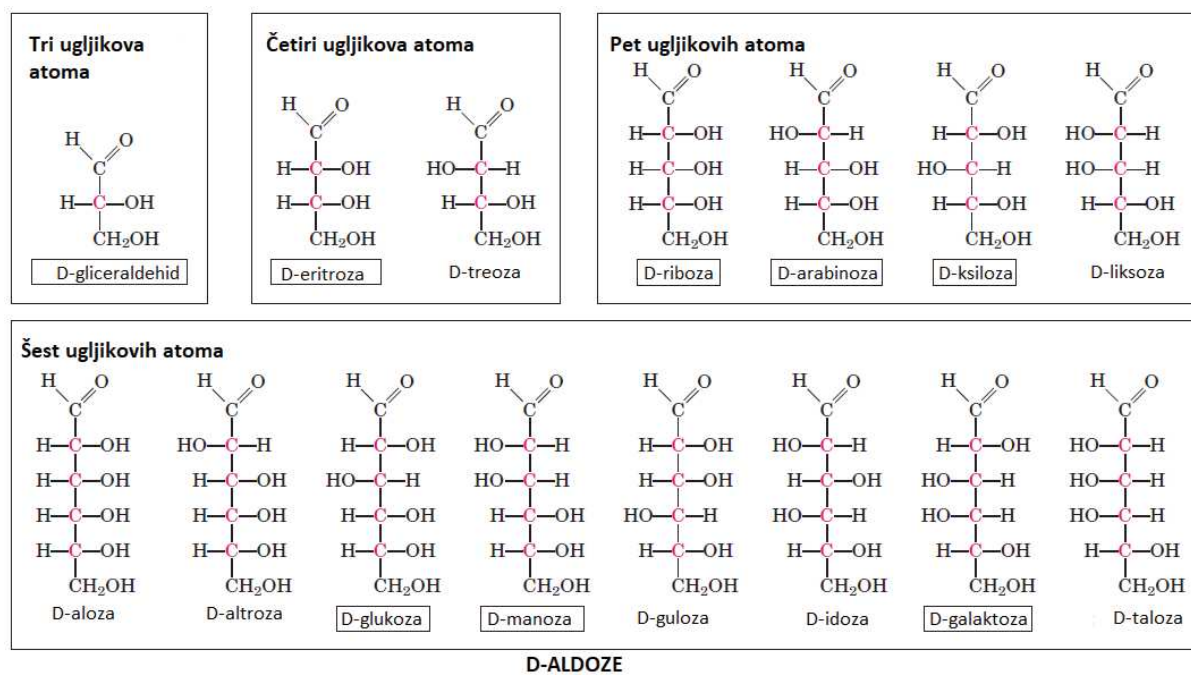
Monosaharidi ili jednostavni šećeri s obzirom na kemijsku prirodu karbonilne skupine mogu biti aldoze ili ketoze. Ako je karbonilna skupina na šećeru dio aldehidne funkcionalne skupine šećer je aldoza, a ako je karbonilna skupina na šećeru dio ketonske funkcionalne skupine šećer je ketoza. S obzirom na broj ugljikovih atoma, monosaharidi se dijele na trioze, tetroze, pentoze, heksoze, heptoze. Prema podjeli na aldoze, ketoze i podjeli prema broju ugljikovih atoma, monosaharidima se pridružuju još i nazivi aldotrioze, aldotetroze, aldopentoze, aldoheksoze, aldoheptoze ili ketotrioze, ketotetroze, ketopentoze, ketoheksoze, ketoheptoze.<sup>1</sup>

Monosaharidi koji se razlikuju samo u konfiguraciji na ugljikovom atomu nazivaju se epimeri, tako je D-manoza epimer glukoze na C-2 atomu, a D-galaktoza epimer glukoze na C-4 atomu. D -manoza i D-galaktoza se razlikuju u konfiguraciji na dva ugljikova atoma, stoga, oni nisu epimeri.<sup>2</sup>

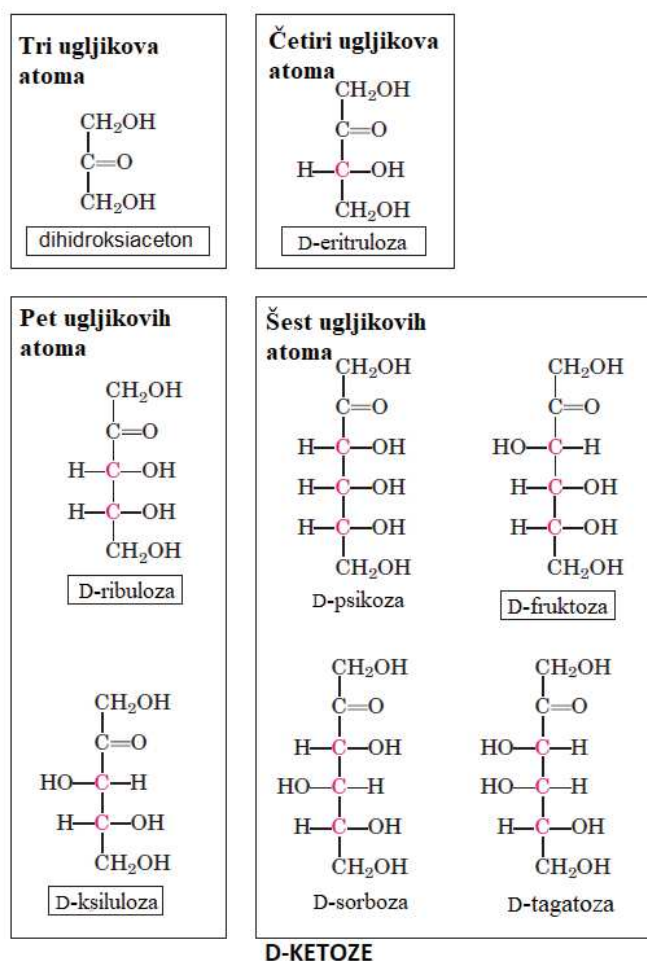


Slika 2. Strukturne formule  $\alpha$ -D-glukoze i  $\alpha$ -D-galaktoze. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

Emil Fischer je napravio podjelu aldoza i ketoza, te objasnio njihovu sterekemiju Fischerovim projekcijskim formulama (Slika 1 i Slika 2). Ustanovio je da postoje D- i L- šećeri, koji se odnose kao zrcalne slike, tj. razlikuju se samo u apsolutnoj konfiguraciji oko ugljikovog atoma. D- šećeri kao što su D-glukoza, D-gliceraldehid, D-riboza, D-manoza i D-galaktoze su bitne komponente većih bioloških molekula, dok su L- šećeri puno manje zastupljeni.<sup>1</sup>

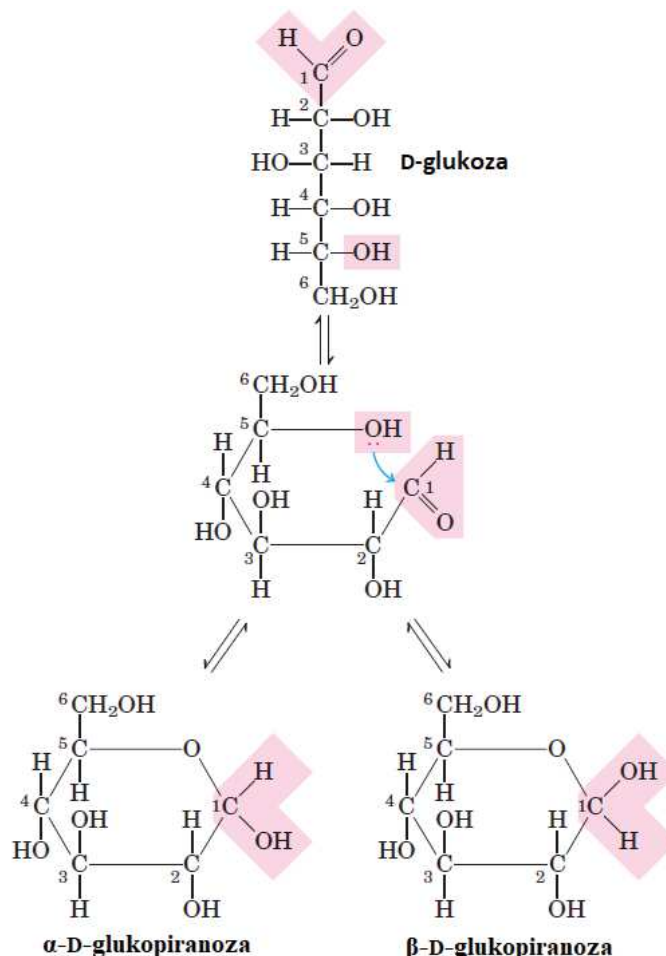


Slika 3. Prikaz podjele aldoza prema broju ugljikovih atoma Fischerovim projekcijskim formulama. Crveno su označeni kiralni, asimetrično supstituirani ugljikovi atomi. Uokvireni nazivi aldoza označavaju aldoze koje se najčešće pojavljuju u prirodi. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)



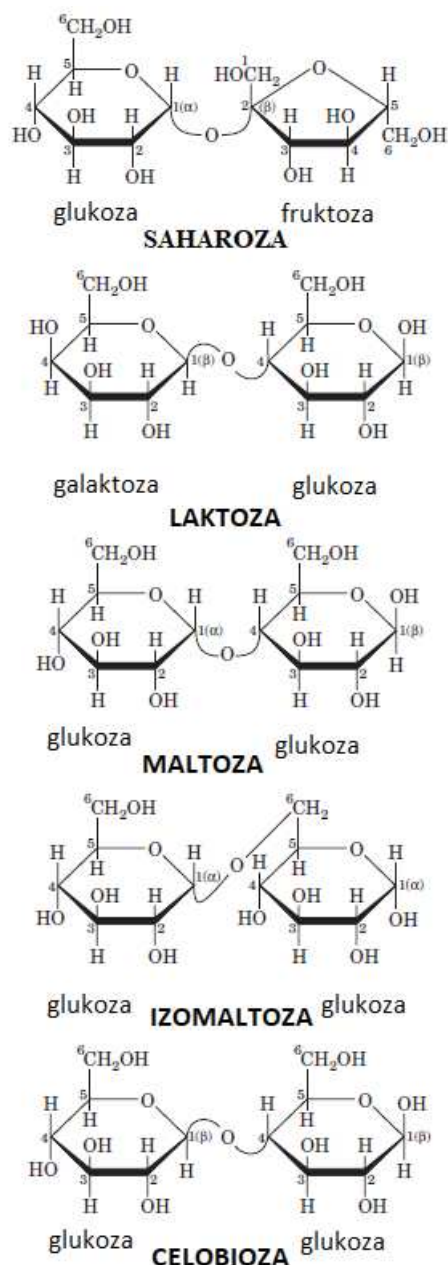
Slika 4. Prikaz podjele ketoza prema broju ugljikovih atoma Fischerovim projekcijskim formulama. Crveno su označeni kiralni, asimetrično supstituirani ugljikovi atomi. Uokvireni nazivi ketoza označavaju ketoze koje se najčešće pojavljuju u prirodi. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

Monosaharidi s četiri ili više ugljikovih atoma u otopinama stvaraju cikličke strukture prilikom čega nastaje novi kiralni, anomerni centar. Anomeri se razlikuju u konfiguraciji na anomernom ugljikovom atomu, a dvije moguće konfiguracije su  $\alpha$  i  $\beta$ . Mutarotacija je prelazak iz  $\alpha$  konfiguracije u  $\beta$  konfiguraciju i obrnuto (Slika 3).<sup>2</sup>



Slika 5. Stvaranje dvije moguće cikličke strukture D-glukoze,  $\alpha$  i  $\beta$  stereoisomera. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

Disaharidi su skupina ugljikohidrata sastavljena od dvije jedinice monosaharida povezane *O*-glikozidnom vezom koja nastaje kada hidroksilna skupina jednog šećera reagira s anomernim ugljikom drugog šećera. Pod disaharide se ubrajaju saharoza, laktoza, maltoza, izomaltoza i celobioza. Saharoza ili stolni šećer, *O*- $\alpha$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -fruktofuranozid, je disaharid sastavljen od monosaharida glukoze i fruktoze povezane  $\alpha,\beta$ -1,2-glikozidnom vezom. Laktoza ili mliječni šećer, *O*- $\beta$ -D-galaktopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranoza, je disaharid sastavljen od monosaharida galaktoze i glukoze povezane  $\beta$ -1,4-glikozidnom vezom. Maltoza, *O*- $\alpha$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glukopiranoza, je disaharid sastavljen od dvije jedinice monosaharida glukoze povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom. Maltoza je produkt hidrolize škroba, a izomaltoza i celobioza su  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6) i  $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) izomeri.<sup>1</sup>

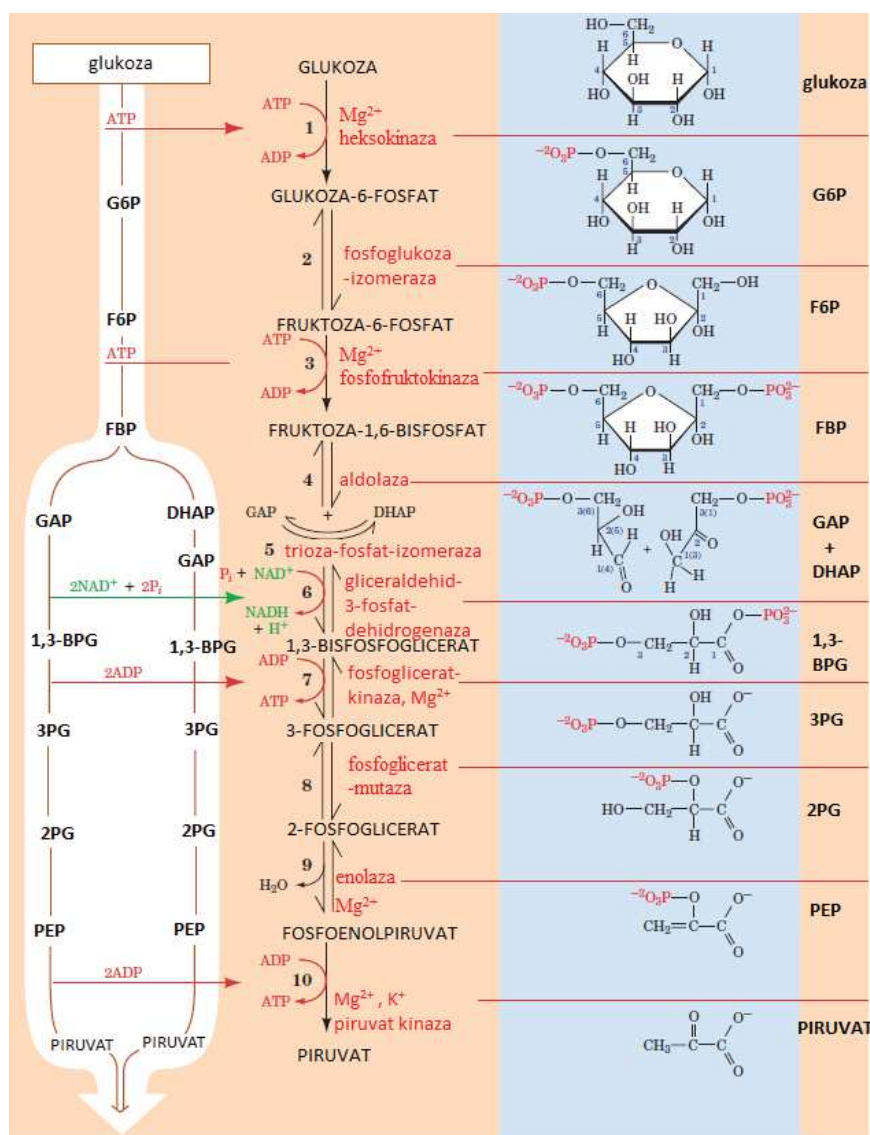


Slika 6. Strukturne formule saharoze, laktoze, maltoze, izomaltoze i celobioze. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

## 2.2. GLIKOLIZA

Riječ glikoliza dolazi iz grčkog jezika *glykos*, sladak; *lysis*, opustiti. Glikoliza je metabolički put razgradnje u kojem iz jednog mola glukoze nastaju dvije molekule piruvata i dvije molekule ATP-a. Glikoliza se odvija u citosolu stanice, a glukoza koja se oslobodi u krv, u citosol stanice ulazi pomoću posebnih specifičnih nosača. Svi specifični enzimi koji sudjeluju u reakcijama glikolize kojih ima deset, također su smješteni u citosolu stanice.

Glikoliza se može podijeliti u dvije faze; prvu fazu u kojoj se ATP troši, čini je prvih pet reakcija tijekom kojih je jedna molekula glukoze fosforilirana i pocijepana na dvije molekule gliceraldehid-3-fosfata, i drugu fazu u kojoj nastaju dvije molekule ATP-a, a čine je zadnjih pet reakcija prilikom kojih se dvije molekule gliceraldehid-3-fosfata reakcijama fosforilacija pretvaraju u dvije molekule piruvata.<sup>1</sup>



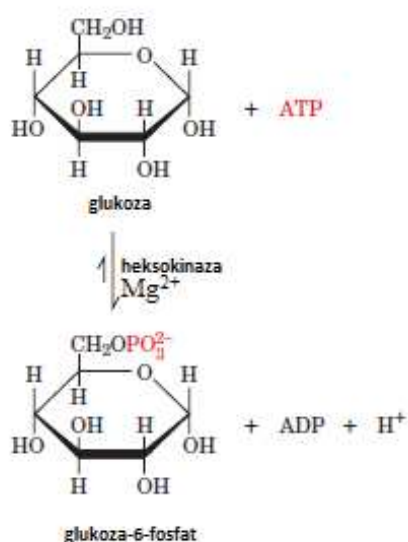
Slika 7. Prikaz reakcija, supstrata, produkata i enzima koji sudjeluju u metaboličkom putu glikolize. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

Ukupna reakcija glasi glikolize:  $\text{Glukoza} + 2\text{NAD}^+ + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i \rightarrow 2\text{NADH} + 2 \text{piruvata} + 2\text{ATP} + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+$

## 2.2.1. Pripremna faza glikolize

Prvih pet reakcija glikolize pripadaju pripreмноj fazi glikolitičkog puta. U pripreмноj fazi ATP se troši za fosforilaciju glukoze i njezinu pretvorbu u dvije molekule trioze gliceraldehid-3-fosfata.

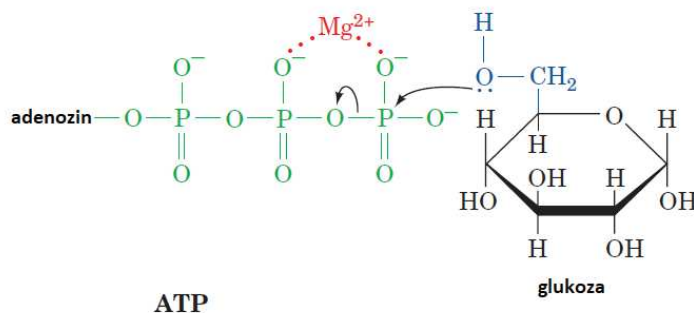
1. Enzim heksokinaza katalizira reakciju fosforilacije molekule glukoze prenoseći fosfatnu skupinu s molekule ATP-a, a produkt reakcije je fosforilirana glukoza koja ne prolazi kroz staničnu membranu.<sup>1</sup>



Slika 8. Prva reakcija glikolitičkog puta prijenosa fosfatne skupine s molekule ATP-a na kisikov atom šestog ugljikovog atoma glukoze katalizirana enzimom heksokinazom s Mg<sup>2+</sup>. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

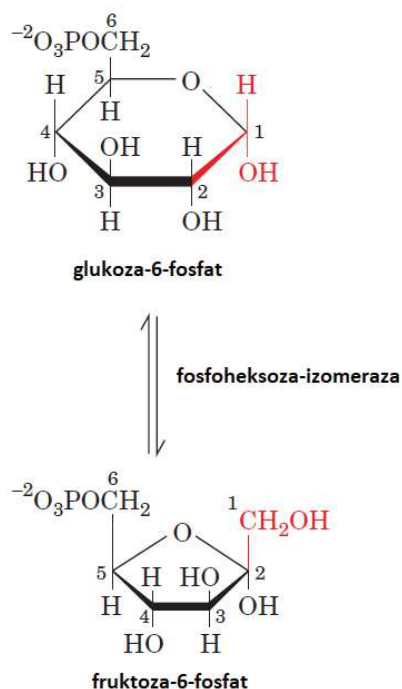
Kinaze su vrste enzima koje prebacuju fosfatne skupine između molekule ATP-a i metabolita. Za enzimsku aktivnost kinaza nužni su Mg<sup>2+</sup> koji prilikom reakcije kompleksiraju s kisikovim atomima fosfatnih skupina ATP-a, zasjenjuju ih i omogućuju bolji pristup hidroksilnoj skupini šestog ugljikovog atoma za nukleofilni napad na γ fosfatnu skupinu kompleksa ATP-a i Mg<sup>2+</sup> (Slika 9).





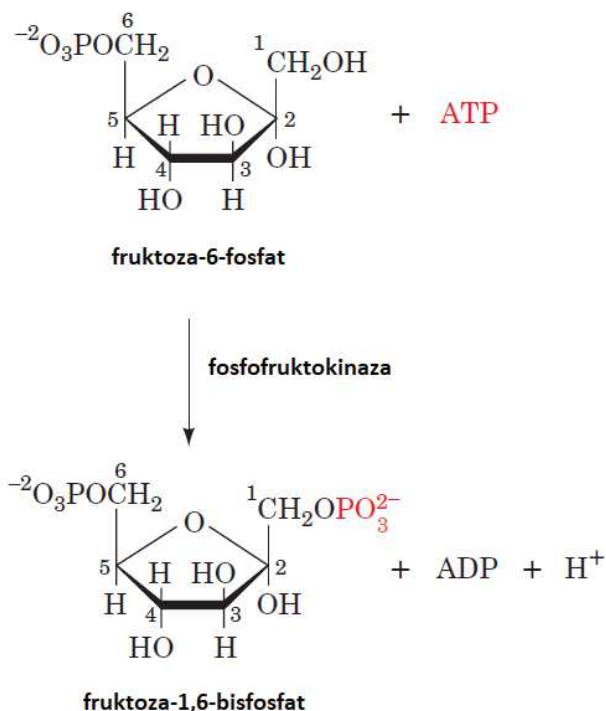
Slika 9. Nukleofilni napad hidroksilne skupine šestog ugljikovog atoma glukoze na  $\gamma$  fosfatnu skupinu kompleksa ATP-a i  $Mg^{2+}$ . (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

- Enzim fosfoheksoza-izomeraza katalizira pretvorbu glukoze-6-fosfata u fruktozu-6-fosfat. Ovakva vrsta reakcije naziva se izomerizacija aldoze u ketoze,<sup>1</sup> na drugi ugljikov atom glukoze uvodi se karbonilna skupina.<sup>2</sup> Tijekom izomerizacije nužno je otvaranje cikličkih struktura te ponovno zatvaranje. Reakcija izomerizacije je reverzibilna reakcija zbog vrlo male promjene u standardnoj Gibbsovoj energiji koja iznosi  $\Delta G'^{\circ} = 1,7 \text{ kJ / mol}$ .<sup>1,2</sup>



Slika 10. Druga reakcija glikolitičkog puta izomerizacije glukoze-6-fosfata u fruktozu-6-fosfata katalizirana enzimom fosfoheksom-izomerazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

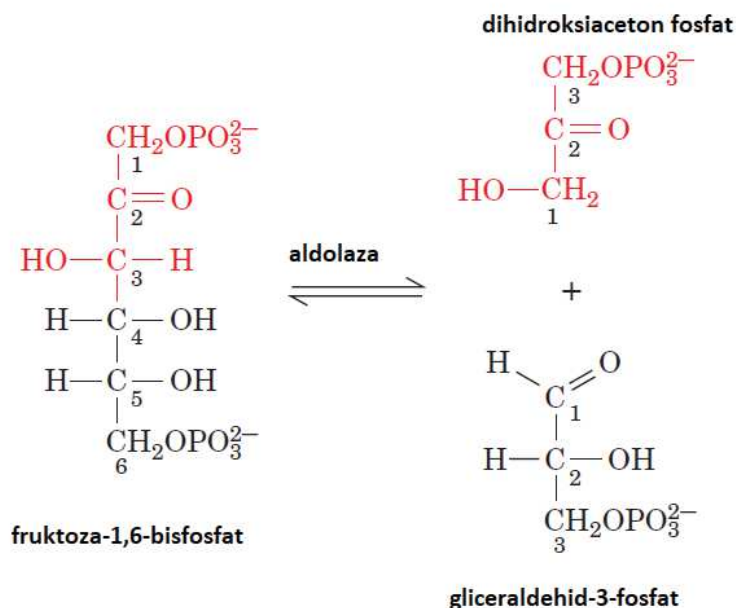
3. Enzim fosfofruktokinaza fosforilira fruktozu-6-fosfat uz utrošak ATP-a te nastaje fruktoza-1,6-bisfosfat, reakcija vrlo slična onoj koju katalizira enzim heksokinaza. Enzim fosfofruktokinaza katalizira nukleofilni napad hidroksilne skupine prvog ugljikovog atoma fruktoze-6-fosfat na elektrofilni  $\gamma$ -fosfatni atom  $Mg^{2+}$ -ATP kompleksa. Zbog ireverzibilnosti reakcije u standardnim uvjetima i uvjetima unutar stanice, fosfofruktokinaza ima glavnu ulogu u kontroli glikolitičkog puta.<sup>1</sup>



Slika 11. Treća reakcija glikolitičkog puta fosforilacije fruktoze-6-fosfata uz utrošak molekule ATP-a do fruktoze-1,6-bisfosfata katalizirana enzimom fosfofruktokinazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

Fosfofruktokinaza je važan regulatorni enzim glikolize, a pripada skupini alosteričkih enzima. Adenozin-monofosfat (AMP) i adenozin-difosfat (ADP), fruktoza-1,6-bisfosfat, fruktoza-2,6-bisfosfat su alosterički aktivatori čijim porastom koncentracije aktivnost enzima raste, dok aktivnost enzima opada porastom koncentracije alosteričkog inhibitora, ATP-a.<sup>2</sup>

4. Enzim aldolaza katalizira reakciju cijepanja molekule fruktoze-1,6-bisfosfata i tvorbu dvije molekule trioze gliceraldehid-3-fosfata i dihidroxiaceton-fosfata.<sup>1</sup>



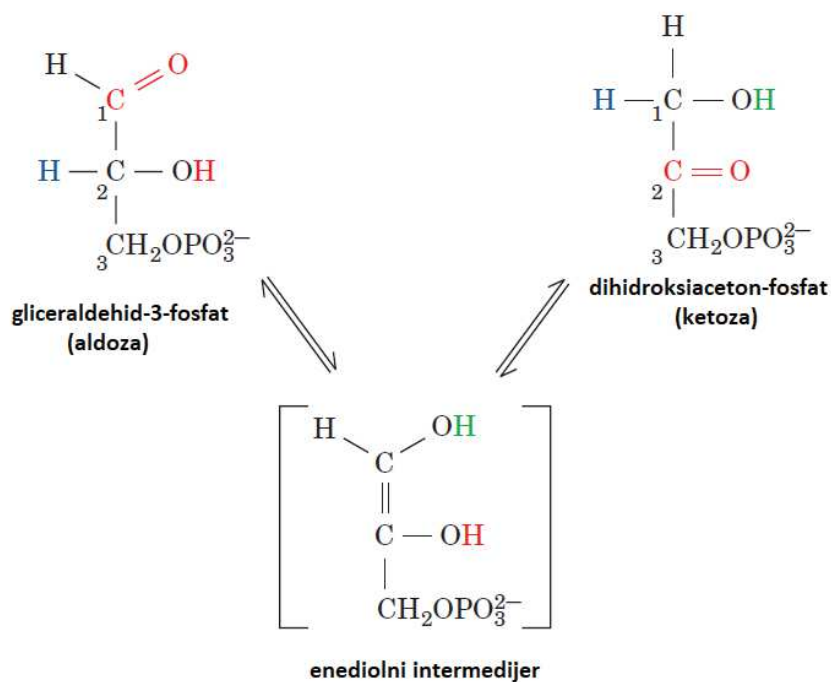
Slika 12. Četvrta reakcija glikolitičkog puta cijepanja fruktoze-1,6-bisfosfata na molekulu gliceraldehid-3-fosfata i dihidroksiaceton-fosfata katalizirana enzimom aldolazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

Reakcija pripada reakcijama cijepanja aldola, a cijepanje veze između trećeg i četvrtog ugljikovog atoma fruktoze-1,6-bisfosfata zahtijeva postojanje karbonilne skupine na drugom i hidroksilne skupine na četvrtom ugljikovom atomu. Ako bi glukoza-6-fosfata bila supstrat za ovu reakciju, produkti reakcije bi bila dva lanca nejednake duljine, prema tome, jasno je zašto postoji ova reakcija izomerizacije glukoze-6-fosfata u fruktozu-6-fosfata glikolitičkog puta - produkti cijepanja fruktoze-1,6-bisfosfata su dvije trioze jednakih duljina koje mogu dalje nastaviti isti put razgradnje.

Prema načinu stabilizacije enolatnog intermedijera što katalizira samo cijepanje aldola, enzimi aldolaze dijele se u dvije skupine; skupina I u kojoj dolazi do nastanka Schiffove baze između enzima i supstrata, tj. nastaje dvostruka veza između dušika i ugljika, te skupina II u kojoj enzimi na aktivnom mjestu posjeduju  $Zn^{2+}$  koji služi za polarizaciju karbonilne skupine.<sup>1</sup>

5. Enzim trioza-fosfat-izomeraza, “katalitički savršen enzim”, katalizira reakciju izomerizacije dihidroksiaceton-fosfata nastalog u prethodnoj reakciji cijepanja

aldola u gliceraldehid-3-fosfat. Izomerizacija dihidroksiaceton-fosfata do gliceraldehida-3-fosfata i obrnuto, odvija se preko enediola i enediolnog intermedijera. Ovom reakcijom završava pripremna faza glikolize i počinje faza isplate.<sup>1</sup>



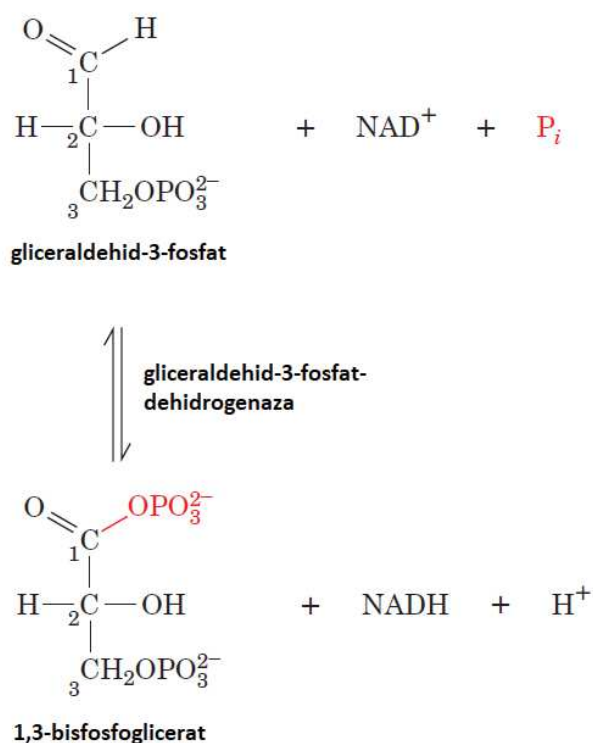
Slika 13. Peta reakcija glikolitičkog puta izomerizacije dihidroksiaceton-fosfata (ketoze) u gliceraldehid-3-fosfat katalizirana enzimom triozom-fosfat-izomerazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

### 2.2.2. Faza isplate

Faza isplate kreće iz dvije molekule gliceraldehid 3-fosfata, a u koracima uključuje fosforilacije kojima nastaje ATP i konačan produkt piruvat.

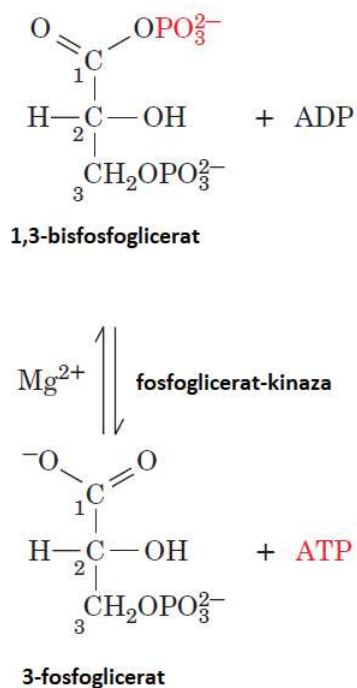
- Prva reakcija koja vodi formaciji molekule ATP-a je reakcija oksidacije i fosforilacije gliceraldehid-3-fosfata uz kofaktor  $\text{NAD}^+$  i  $\text{P}_i$  do 1,3-bisfosfoglicerata, a reakciju katalizira enzim gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza. Enzim katalizira oksidaciju aldehidne skupine gliceraldehid-3-fosfata uz pomoć oksidirajućeg kofaktora  $\text{NAD}^+$ , te fosforilaciju uz pomoć anorganskog fosfata  $\text{P}_i$ . Produkt reakcije, 1,3-bisfosfoglicerat je anhidrid karboksilne i fosfatne kiseline te ima visoki

potencijal za prijenos fosfatne grupe, a ostali produkti su kofaktor NADH i kation  $H^+$ .<sup>1</sup>



Slika 14. Šesta reakcija glikolitičkog puta oksidacije i fosforilacije gliceraldehid-3-fosfata u 1,3-bisfosfoglicerat katalizirana enzimom gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazom uz anorganski fosfat  $P_i$  i kofaktor  $\text{NAD}^+$ . (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

7. Fosfoglicerat-kinaza s  $\text{Mg}^{2+}$  u aktivnom mjestu je enzim koji katalizira reakciju fosforilacije ADP-a preko 1,3-bisfosfoglicerata, prilikom čega nastaje jedna molekula ATP-a i 3-fosfoglicerat. Fosforilacija je na nivou supstrata.<sup>1</sup>



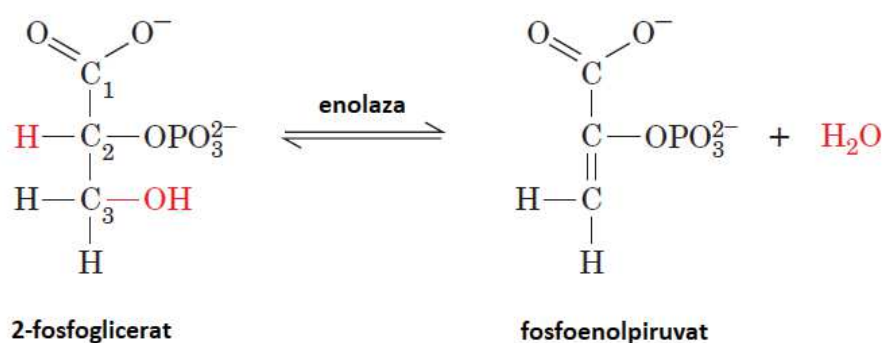
Slika 15. Sedma reakcija glikolitičkog puta fosforilacije ADP-a preko 1,3-bisfosfoglicerata prilikom čega nastaje ATP i 3-fosfoglicerat katalizirana enzimom fosfoglicerat-kinazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

8. Enzim fosfoglicerat-mutaza katalizira reakciju pretvorbe 3-fosfoglicerata u 2-fosfoglicerat. Enzim uz pomoć  $\text{Mg}^{2+}$  katalizira prijenos funkcionalne grupe s jednog ugljikovog atoma na drugi. Ovaj korak glikolize je nužan i neizbježan zbog iduće reakcije u kojoj nastaje visokoenergetski supstrat za sintezu molekula ATP-a.



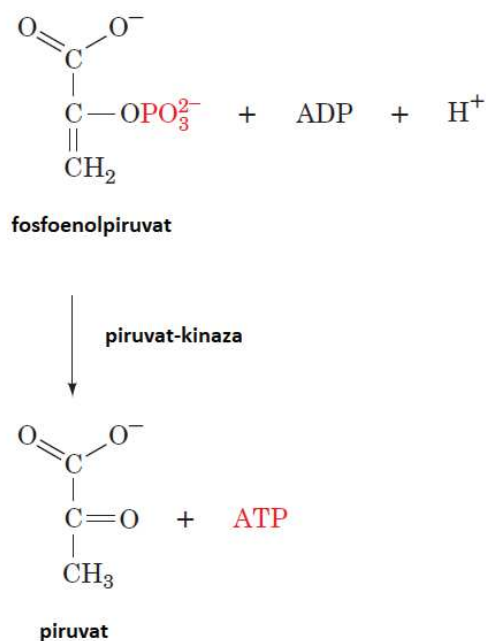
Slika 16. Osmi reakcija glikolitičkog puta pretvorbe supstrata 3-fosfoglicerata do 2-fosfoglicerata katalizirana enzimom fosfoglicerat-mutazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

9. Enzim enolaza katalizira dehidraciju supstrata 2-fosfoglicerata do fosfoenolpiruvata, prilikom čega se oslobađa jedna molekula vode. Dehidracijom se oduzima vodikov protona i hidroksilna skupina, te nastaje dvostruka veza između dva atoma ugljika.<sup>1</sup>



Slika 17. Deveta reakcija glikolitičkog puta dehidracije supstrata 2-fosfoglicerata do fosfoenolpiruvata i vode katalizirana enzimom enolaza. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

10. U posljednjem koraku glikolize enzim piruvat-kinaza uz jednovalentni  $\text{K}^+$  i dvovalentni  $\text{Mg}^{2+}$  kataliziraju reakciju prijenosa fosfatne skupine s fosfoenolpiruvata na molekulu ADP-a prilikom čega nastaje jedna molekula piruvata i jedna molekula ATP-a.<sup>1</sup>



Slika 18. Posljedna reakcija glikolitičkog puta fosforilacije supstrata ADP-a preko fosfoenolpiruvata prilikom čega nastaje jedna molekula piruvata i jedna molekula ATP-a, reakcija je katalizirana enzimom piruvat-kinazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

### 2.2.3 Metabolizam i razgradnja fruktoze i galaktoze

Razgradnjom glikogena i škroba oslobađa se glukoza, razgradnjom disaharida poput laktoze oslobađa se mliječni šećer ili galaktoza, razgradnjom saharoze oslobađa se fruktoza ili voćni šećer, a manozna se nalazi u polisaharidima. Kada ovi monosaharidi dospiju u krv, dalje idu u tkiva kojima su potrebni, a u stanicama tkiva pretvaraju se u intermedijere glikolize i nastavljaju put razgradnje do piruvata.

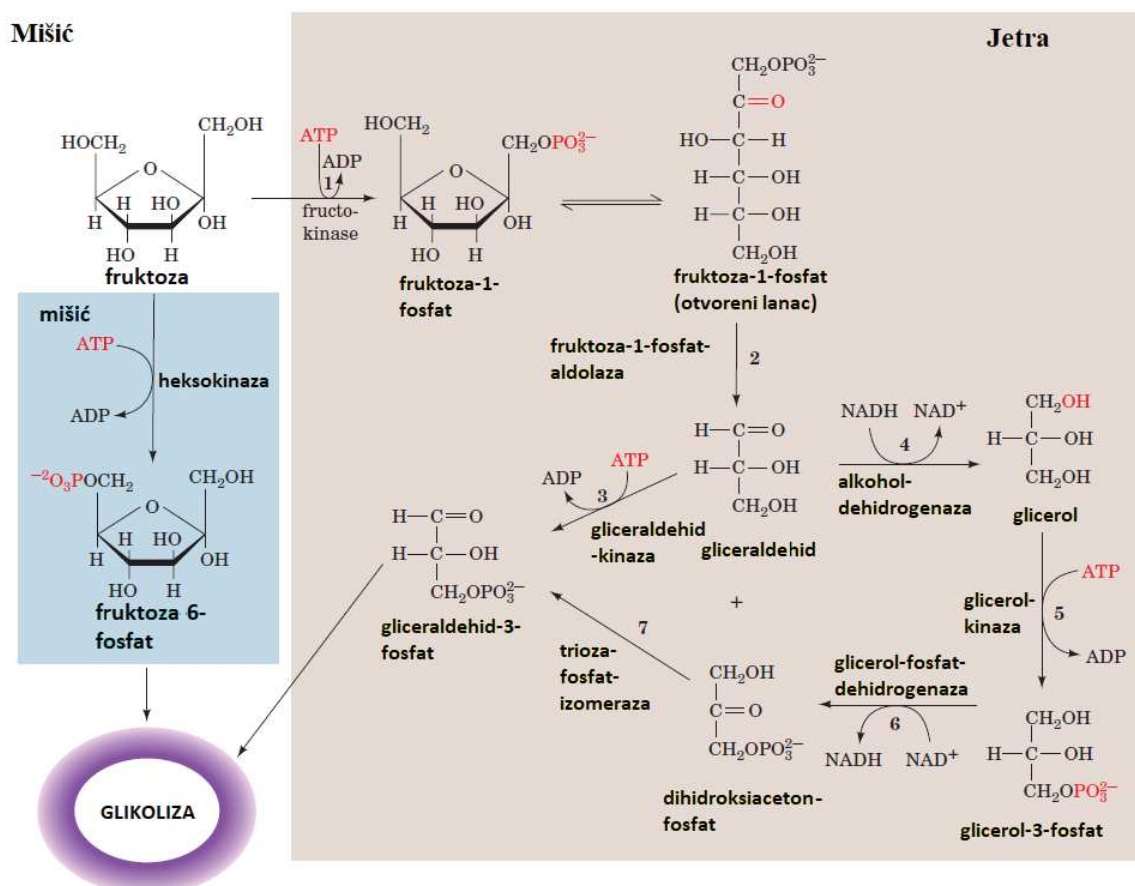
Fruktoza je monosaharid, „voćni šećer“, nalazi se u voću i stolnom šećeru saharozi. Fruktoza ima dva moguća puta razgradnje, jedan je u mišićima, a drugi u jetri. Razlika u putevima su enzimi koji kataliziraju reakcije razgradnje fruktoze, a konačan produkt je isti. Pri ulasku u stanice mišića enzim heksokinaza katalizira reakciju fosforilacije supstrata fruktoze uz utrošak molekule ATP-a prilikom čega nastaje fruktoza-6-fosfat koja dalje nastavlja glikolizu.

U stanicama jetre za razliku od stanica mišića jako je malo enzima heksokinaze. Fruktokinaza je enzim koji katalizira fosforilaciju fruktoze uz utrošak molekule ATP-a te



nastaje produkt fruktoza-1-fosfat. U stanicama jetre enzim aldolaza tipa B katalizira reakciju cijepanja aldola fruktoze-1-fosfata do dihidroksiaceton-fosfata i gliceraldehida (Slika 19).

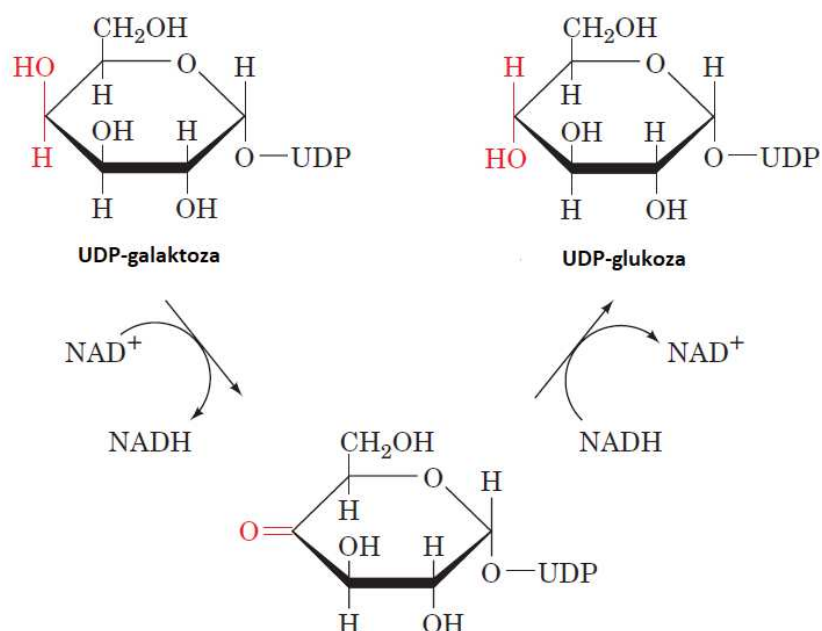
Gliceraldehid ima dva puta kojima može nastaviti, prvi put je preko gliceraldehid-kinaze koja katalizira reakciju fosforilacije gliceraldehida uz utrošak molekule ATP-a do gliceraldehid-3-fosfata, intermedijera koji se dalje uključuje u glikolitički put. Gliceraldehid također može uz pomoć enzima alkohola-dehidrogenaze i reducirajućeg kofaktora biti pretvoren u glicerol koji uz pomoć enzima glicerol-kinaze može biti pretvoren do glicerol-3-fosfata uz utrošak ATP-a, a glicerol-3-fosfat uz pomoć enzima glicerol-fosfat-dehidrogenaze i reducirajućeg kofaktora NADH može biti preveden u dihidroksiaceton-fosfat. Dihidroksiaceton-fosfat zatim izomerizira uz pomoć enzima trioze-fosfat-izomeraze do gliceraldehid-3-fosfata koji se dalje uključuje u glikolitički put (Slika 19).<sup>1</sup>



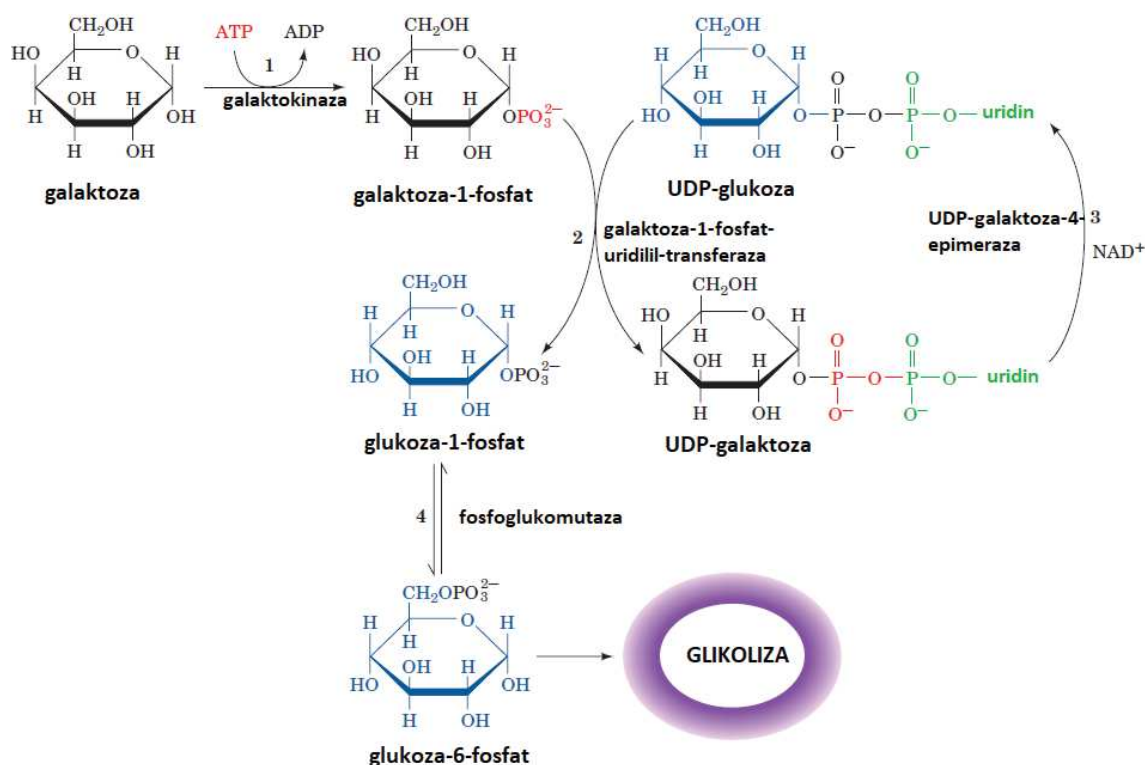
Slika 19. Metabolizam i razgradnja fruktoze. S lijeve strane nalazi se prikaz reakcije pretvorbe fruktoze do fruktoze-6-fosfata uz pomoć jednog enzima – heksokinaze, taj proces se odvija u stanicama mišića, dok se s desne strane nalazi prikaz reakcija i 7 enzima koji se odvijaju u stanicama jetre. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

Galaktoza je monosaharid, „mliječni šećer“ koji se nalazi u mlijeku u obliku disaharida laktoze. Glukoza i galaktoza, kao što je već spomenuto u prvom podnaslovu, su epimeri, što znači da se razlikuju jedino u konfiguraciji na četvrtom ugljikovom atomu. Prije ulaska u glikolitički put, nužna je reakcija epimerizacije galaktoze, jer enzimi koji sudjeluju u glikolizi ne prepoznaju konfiguraciju galaktoze. Put kojim se galaktoza prevodi do intermedijera glikolize naziva se *Leloir-ev put*.

U prvoj reakciji enzim galaktokinaza katalizira reakciju fosforilacije galaktoze na prvom ugljikovom atomu uz utrošak molekule ATP-a. U drugoj reakciji enzim galaktoza-1-fosfat-uridililtransferaza katalizira reakciju prijenosa uridililne skupine s UDP-glukoze na galaktozu-1-fosfat pri čemu nastaje glukoza-1-fosfat i UDP-galaktoza. U trećoj reakciji enzim UDP-galaktoza-4-epimeraza uz pomoć reducirajućeg kofaktora  $\text{NAD}^+$  katalizira reakciju pretvorbe UDP-galaktoze u UDP-glukoze. Hidroksilna skupina na četvrtom ugljikovom atomu UDP-galaktoze se oksidira do karbonilne skupine, a  $\text{NAD}^+$  se reducira, potom se nastali  $\text{NADH}$  ponovno oksidira, dok se karbonilna skupina reducira do hidroksilne skupine (Slika 20). Posljednja reakcija fosforilacije glukoze-1-fosfat do glukoze-6-fosfat, katalizirana je enzimom fosfoglukomutazom, te se nastali intermedijer glikolize glukoza-6-fosfat dalje uključuje u glikolitički put (Slika 21).<sup>1</sup>



Slika 20. Reakcija pretvorbe UDP-galaktoze uz  $\text{NAD}^+$  i  $\text{NADH}$  do UDP-glukoze, katalizirana enzimom UDP-galaktoza-4-epimerazom. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)



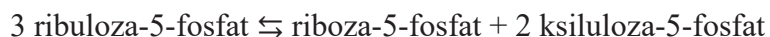
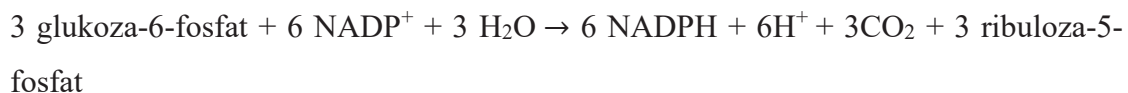
Slika 21. Metabolizam i razgradnja galaktoze. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

### 2.3. PUT PENTOZA FOSFATA

Osim u glikolizu, glukoza može ući u put pentoza fosfata, ovisno o potrebama organizma. Put pentoza fosfata je oksidativni put u kojem redukcijom NADP<sup>+</sup> koji djeluje kao elektron akceptor nastaje NADPH. U tkivima kao što je jetra, NADPH elektron donor je nužan za biosintezu masnih kiselina, steroidnih hormona i kolesterola. Stanice eritrocita i očnih leća direktno su izložene kisiku i štetnim kisikovim radikalima, a visoka koncentracija NADPH sprječava oštećenja stanica od kisikovih radikala. NADPH kao donor elektrona ima važnu ulogu i u fotosintezi. Stanice kose, koštane srži i crijevnje sluznice, brzo se dijele i za sintezu DNA, RNA, ATP-a, NADH, FADH<sub>2</sub> i koenzima A potrebna im je riboza, glavni prekursor biosinteze nukleotida. Put pentoza fosfata je metabolički put kojim nastaje NADPH koji je nužan za reakcije fotosinteze i biosinteze masnih kiselina, te se koristi u reduktivnim biosintezama, a nastaje i riboza-5-fosfat koja je glavni prekursor biosinteze nukleotida. Sve se događa u citosolu stanice.<sup>2</sup>

Put se sastoji od tri faze, zapravo bi se moglo reći dvije, jer prva i druga faza pripadaju oksidativnoj grani, a treća neoksidativnoj grani.

1. Oksidativna grana u kojoj nastaju NADPH i ribuloza-5-fosfat. Iz ribuloze-5-fosfata izomerizacijom nastaje riboza-5-fosfat. Reakcije oksidativne grane:

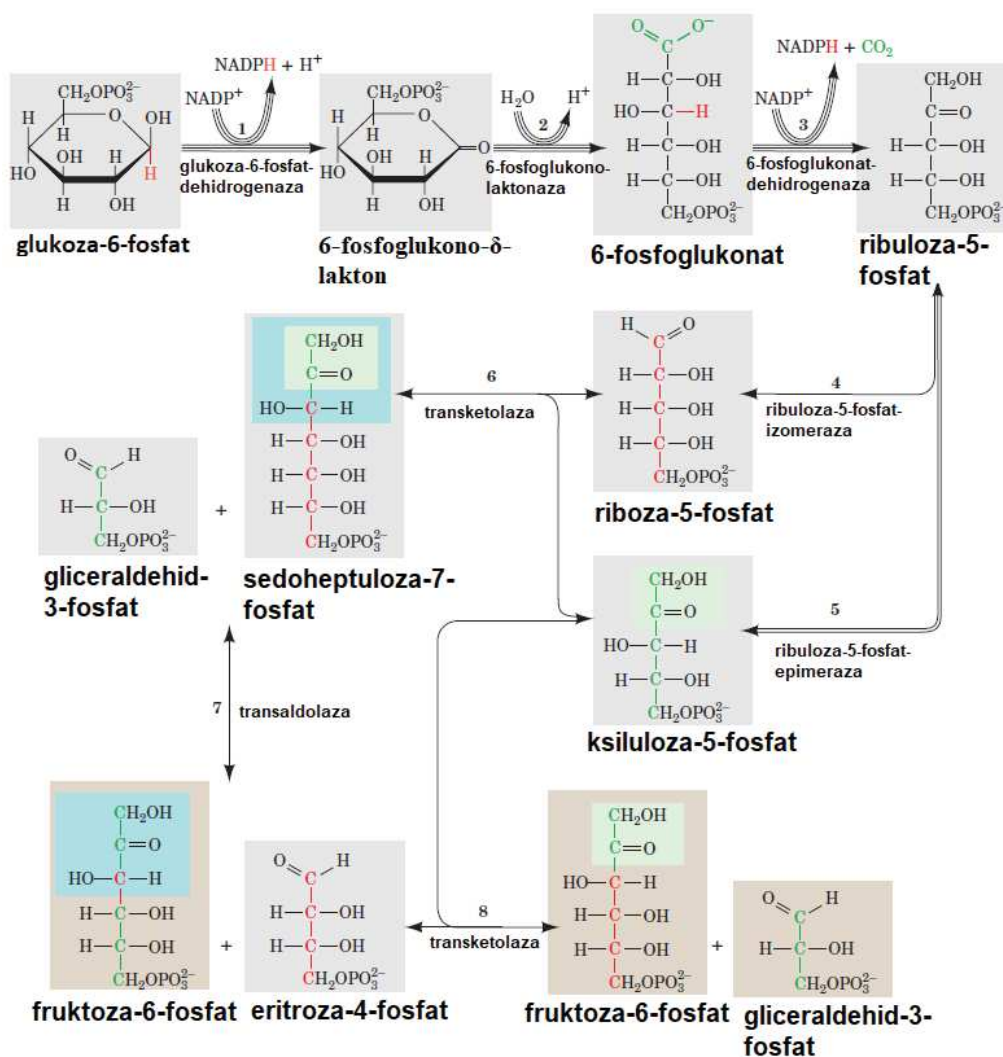


2. Neoksidativna grana u kojoj se događa niz cijepanja jednostrukih veza između ugljikovih atoma i nastanak novih kojima su dvije molekule ksiluloze-5-fosfat i jedna molekula riboze-5-fosfata pretvorene u dvije molekule fruktoze-6-fosfata i jednu molekulu gliceraldehid-3-fosfata. Reakcija neoksidativne grane:



Ukupna reakcija puta pentoze fosfata:





Slika 21. Reakcije i enzimi koji sudjeluju u putu pentoza fosfata. Prvih pet reakcija pripada oksidativnoj grani, dok ostalih 3 pripada neoksidativnoj grani. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

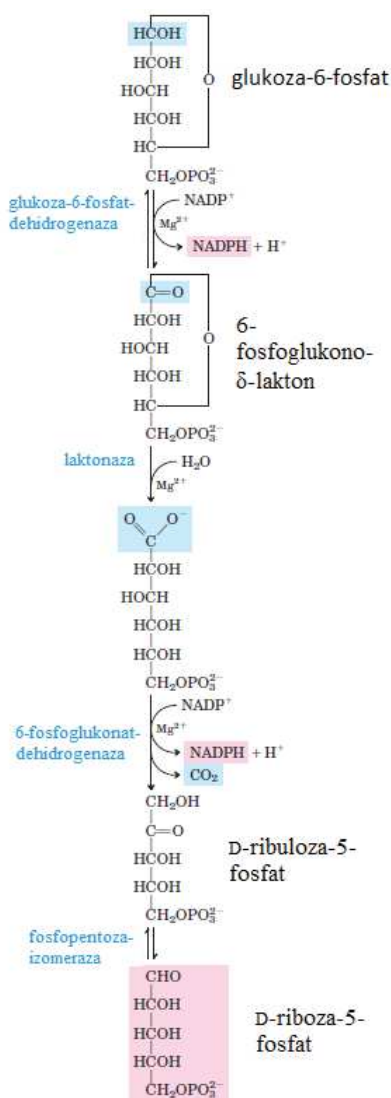
### 2.3.1. Oksidativna grana puta pentoze fosfata

Oksidativna grana u kojoj nastaje elektron donor NADPH i ribuloza-5-fosfat sastoji se od četiri reakcija i četiri enzima koji kataliziraju pripadne reakcije. NADPH nastaje u prve tri reakcije (Slika 22).

1. Enzim glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza je enzim koji katalizira prvu reakciju prijenosa hidridnog aniona  $\text{H}^-$  s prvog ugljikovog atoma glukoze-6-fosfata na  $\text{NADP}^+$  prilikom

čega nastaje 6-fosfoglukono- $\delta$ -lakton i NADPH. Hidroksilna skupina je na prvom ugljikovom atomu glukoze-6-fosfata oksidirana u karbonilnu skupinu pri čemu nastaje ciklički ester lakton, a  $\text{NADP}^+$  je reduciran do NADPH i  $\text{H}^+$ .

2. Enzim 6-fosfoglukonolaktonaza katalizira reakciju hidrolize 6-fosfoglukono- $\delta$ -laktona do 6-fosfoglukonata.
3. Enzim 6-fosfoglukonat-dehidrogenaza uz reducirajući kofaktor  $\text{NADP}^+$  katalizira oksidaciju i dekarboksilaciju 6-fosfoglukonata do  $\text{CO}_2$  i ribuloze-5-fosfata, pri čemu se oslobađa NADPH.
4. Enzim ribuloza-5-fosfat-izomeraza katalizira pretvorbu ribuloze-5-fosfata u ribozu-5-fosfat.

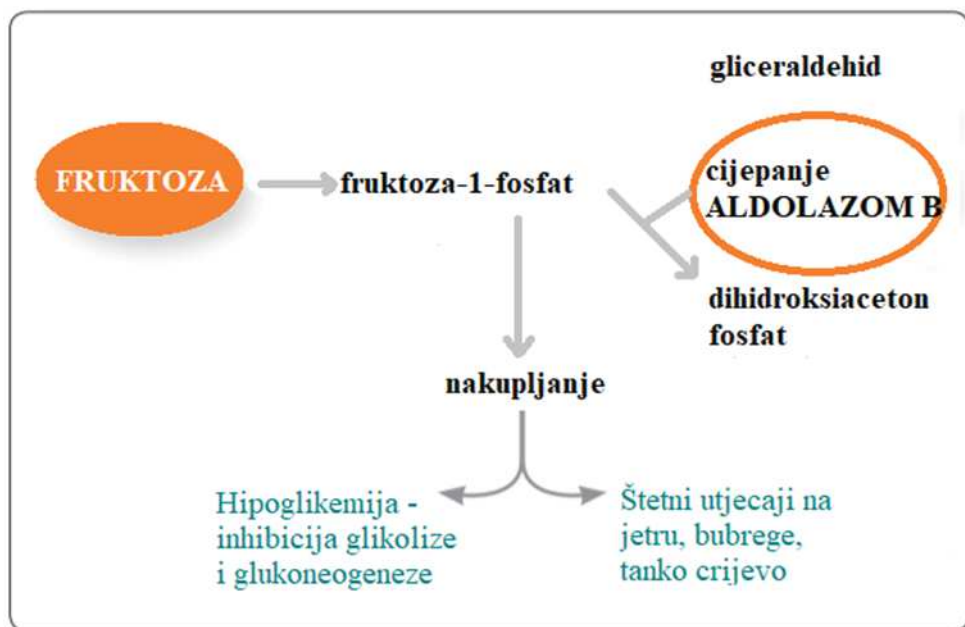


Slika 22. Prikaz reakcija i enzima koji čine oksidativnu granu puta pentoze fosfata. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

## § 3. POREMEĆAJI RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA

### 3.1. NETOLERANCIJA NA FRUKTOZU

Aldolaza B je takozvani jetreni izozim skupine enzima fruktoza-1,6-bisfosfat-aldolaza, a postoje još izozimi aldolaza A i aldolaza C.<sup>18</sup> Funkcionalni enzim aldolaze B je tetramer koji se sastoji od četiri identične podjedinice. Zajedno s fruktokinazom i triokinazom, aldolaza B sudjeluje u metabolizmu fruktoze, uglavnom u jetri, bubrežnoj kori i crijevnoj sluznici. Aldolaza B katalizira reakciju cijepanja fruktoze-1-fosfat u dihidroksiaceton-fosfat i gliceraldehid (Slika 23). Nefunkcionalna aldolaza B uzrokuje poremećaj netolerancije na fruktozu.<sup>12</sup> Različite vrste mutacije gena, od kojih je najčešća točkasta mutacija transverzije baza gvanina s citozinom - uzrokuje supstituciju aminokiseline prolina s alaninom na položaju 149 u enzimu, smanjuju stabilnost enzima i njegovu katalitičku aktivnost.<sup>18</sup> Akumulacija fruktoze-1-fosfata zbog smanjene aktivnosti aldolaze B inhibira metaboličke procese glukoneogeneze i glikogenolize, povećava iskorištavanje ATP-a i smanjuje njegovu regeneraciju, te smanjuje glikozilaciju proteina.<sup>12</sup>



Slika 23. Prikaz kako deficijencija enzima aldolaze B uzrokuje nakupljanje fruktoze-1-fosfata i dovodi do stanja hipoglikemije i oštećenja tkiva jetre, bubrega i tankog crijeva. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 9)

Netolerancija na fruktozu je rijetki autosomatski recesivni poremećaj zbog kojeg nakon konzumiranja šećera u kojem ima fruktoze, kao što je sorbitol ili saharoza,<sup>5</sup> dolazi do metaboličkih poremećaja kao što su hipoglikemija, acidoza, hipofosfatemija, hiperurikemija, hipermagnezmija, hiperalaninemija. Najčešći simptomi su još bolovi u trbuhu, mučnine, povraćanja, a čak i zaostalost u rastu i razvoju.<sup>12</sup>

Osim što mutacije na genu za enzim aldolazu B daju predispoziciju za razvoj netolerancije na fruktozu, na razvoj poremećaja znatno može utjecati loša prehrana izuzetno bogata šećerima.<sup>1</sup> Takva vrsta razvijene netolerancije je dijetetska, a posljedica je nefunkcionalnih transportera fruktoze u tankom crijevu. Simptomi kao što su proljev, povraćanje i nadutost su slični kao i kod nasljedne netolerancije na fruktozu.<sup>12</sup>

Istraživanja ovog poremećaja najviše su se provodila kod djece jer su ona najizloženija konzumaciji šećera. Kod dojenčadi koja se hranila majčinim mlijekom nisu bili vidljivi nikakvi znakovi razvoja netolerancije. No, prebacivanjem na zaslađeno mlijeko te unosom voća i povrća pojavljuju se simptomi povraćanja, mučnine i znojenja, a kasnije i stanja hipoglikemije koja mogu biti povezana s unosom fruktoze. Konzumacija fruktoze kod ljudi i djece koji imaju razvijenu netoleranciju dovodi do trajnih oštećenja tkiva jetre i bubrega, kod djece utječe na rast i razvoj te može dovesti do retardacije. Česta stanja hipoglikemije mogu rezultirati napadajima, a u gore navedenom slučaju i komom. Kada se dijagnosticira ovakva vrsta poremećaja, uvodi se prehrana bez fruktoze nakon čega za većinu ljudi slijedi najgora faza – odvikavanja,<sup>4</sup> a vrlo često ljudi izgube osjet prema bilo čemu slatkome.<sup>1</sup>

Kod ljudi koji su prenositelji gena za nefunkcionalnu aldolazu B uglavnom nisu uočeni nikakvi simptomi, a vrlo često se u starijim izvještajima spominju česta oboljevanja od gihta. Roditelji pogođenog pojedinca su heterozigoti – nositelji gena za nefunkcionalnu aldolazu B. Kod ljudi pogođenih poremećajem, svako dijete ima 25% šanse da nasljedi poremećaj, 50% šanse da bude prijenosnik, a 25% šanse da ne bude niti prijenosnik niti pogođen poremećajem.<sup>12</sup> Prehrambena restrikcija fruktoze, saharoze i sorbitola nužna je u liječenju netolerancije na fruktozu. Restriktivna prehrana znači eliminacija fruktoze - zamjena fruktoze drugim ugljikohidratnim izvorima, uključujući glukozu, maltozu i kukuruzni škrob. Specifični prehrambeni proizvodi koje u potpunosti treba izbjegavati uključuju fruktozu, a to su: kukuruzni sirup s visokim sadržajem fruktoze, med, sirup agave, javorov sirup, palmin šećer.



Osim toga, treba paziti i na formulacije određenih lijekova u kojima fruktoza ili saharoza možda nisu navedene kao primarna komponenta, a to mogu biti razni sirupi, klistirne otopine, neke imunoglobulinske otopine i mnoga prehrambena pića za dojenčad i djecu. Također, zbog smanjenog unosa povrća i voća, ljudima s razvijenom netolerancijom na fruktozu preporuča se konzumiranje dodataka prehrani s vitaminima bez šećera, kako bi se spriječio gubitak važnih mikronutrijenata – vitamina.<sup>12</sup>

Stoga, premda je poremećaj netolerancije na fruktozu nasljedan, ranom dijagnozom i dobrom prehranom i dijetom bez šećera, može se držati pod kontrolom.<sup>4</sup>

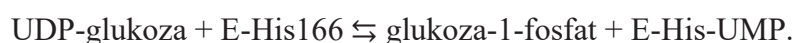
Tablica 1. Prikaz dopuštene i nedopuštene hrane za ljude pogođene poremećajem netolerancije na fruktozu. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 12)

Vrsta hrane	Dopuštena hrana	Nedopuštena hrana
Mliječni proizvodi	Mlijeko, sir, jaja	Mliječni proizvodi s dodanim šećerom (voćni jogurt, zaslađeni jogurt, čokoladno mlijeko)
Meso	Govedina, teletina, janjetina, svinjetina	Šunka, slanina, hrenovke, prerađeno meso; bilo koje drugo meso u kojem se za preradu koristi šećer
Riba	Sva riba	
Perad	Piletina, puretina	
Žitarice	Kuhane ili gotove žitarice	Zaslađene žitarice
Voće	Niti jedno	Voće, voćni sokovi
Povrće	Šparoge, kupus, cvjetača, celer, grah, paprika, zelena paprika, orasi, luk, krumpir, špinat	Preostalo povrće uključujući i batat
Kruh	Kruhovi pripremljeni bez fruktoze, saharoze, sorbitola	Kruh s fruktozom, saharozom, sorbitolom

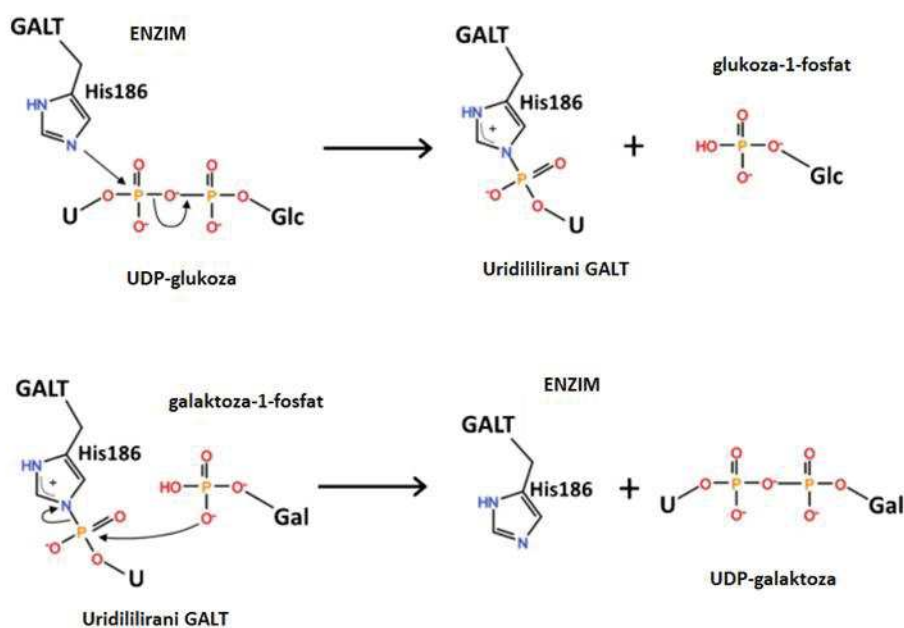
Vrsta hrane	Dopuštena hrana	Nedopuštena hrana
Masnoće	Maslac, margarin, ulje, majoneza/senf pripremljeni bez šećera	Majoneze, senfovi i preljevi za salatu napravljeni sa šećerom
Deserti	Dijetni sladoled, dijetni pudinzi, prirodni jogurt, glukoza, dekstroza, dekstrin, maltoza i zaslađivači bez kalorija	Svi deserti koji sadrže šećer
Ostalo	Sokovi od povrća, kava, čaj, sol, papar, juhe, neke zamjene za šećer, neka dijetalna pića, tjestenina, riža, cimet, češnjak, makovo sjeme, kikiriki-maslac (kada su čisti i bez dodanih šećera)	Kečap i bilo koji drugi umaci/ ačini koji sadrže šećer, džem, žele, konzerve, gazirana pića, kikiriki-maslac ako je pripremljen s dodatkom šećera, žvakaće gume sa sorbitolom

### 3.2. GALAKTOZEMIJA

Enzim galaktoza-1-fosfat-uridililtransferaza u aktivnom mjestu posjeduje aminokiselinu histidin čiji bočni ogranak preko dušikova atoma nukleofilno napada  $\alpha$ -fosforilnu skupinu UDP-glukoze, a nastaje glukoza-1-fosfat i uridilil-histidin intermedijer. Reakcija koju katalizira galaktoza-1-fosfat-uridililtransferaza:



Galaktoza-1-fosfat zamjenjuje uridilil grupu enzima prilikom čega nastaje UDP-galaktoza i preostaje enzim sa slobodnim histidinom. Bočni ogranci glutamina povezuju se vodikovim vezama s fosforilnim kisicima uridililne skupine kako bi stabilizirali intermedijer uridilil-histidin. Mutacije zamjene glutamina u arginin deaktiviraju enzim, što sprječava nastanak UDP-galaktoze iz galaktoze-1-fosfata i dovodi do nakupljanja galaktoze.<sup>1</sup>



Slika 24. Mehanizam enzima galaktoze-1-fosfata-uridililtransferaze. Histidinski bočni ogranak nukleofilno napada  $\alpha$ -fosforilnu skupinu UDP-glukoze, te nastaje glukoza-1-fosfat i uridililirani-enzimski intermedijer; u drugom koraku nastaje UDP-galaktoza. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 7)

Galaktozemija je rijetki nasljedni poremećaj, a postoje tri osnovna tipa galaktozemije.<sup>13</sup> Prvi tip galaktozemije je najčešći, a naziva se još i klasična galaktozemija, a posljedica je deficijencije enzima galaktoze-1-fosfat-uridililtransferaze, drugog po redu enzima u metabolizmu galaktoze – Leloir-ovom putu.<sup>14</sup>

Mutacije gena za enzim galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu nasljeđuju se ako su oba roditelja pogođenog djeteta nosači. Kada osoba s galaktozemijom konzumira hranu koja sadrži laktozu ili galaktozu, organizam ne može u potpunosti metabolizirati galaktozu, pa se galaktoza počinje nakupljati u njihovim stanicama i tkivima. Ostali međuprodukti nastali iz galaktoze, kao što su galaktoza-1-fosfat, galaktolit i galaktonat, mogu se također nakupljati u stanicama i tkivima oboljelih od galaktozemije, posebno ako oboljeli konzumiraju veliku količinu laktoze ili galaktoze.<sup>14</sup>

Kod dojenčadi se ne pojavljuju nikakvi znakovi bolesti dok ne počne konzumacija majčina mlijeka, tj. laktoze.<sup>11</sup> Ako pogođeno dojenče i dalje pije mlijeko, nakon nekoliko dana počinju se razvijati simptomi koji su opasni po život ako se ne liječe, a to su; slabo povećanje tjelesne mase, povraćanje i proljev, letargija i hipotonija,<sup>7</sup> žutica, bolesti jetre, a čak i sepsa *E. coli*.<sup>14</sup> Neliječena, klasična galaktozemija može dovesti i do smrti.<sup>14</sup> Čak i uz ranu dijagnozu te pažljivo ograničavanje laktoze i galaktoze iz prehrane, pacijenti pogođeni klasičnom galaktozemijom imaju povećan rizik od dugoročnih komplikacija koje uključuju govor, motoričke sposobnosti i učenje.<sup>14</sup>

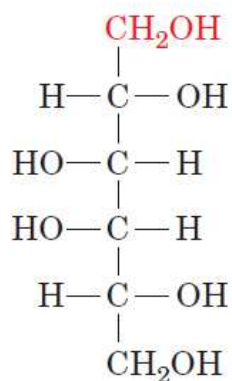
Kod djece se uvođenjem prehrane bez laktoze mogu lakše spriječiti posljedice, dok je to upitno kod starijih osoba,<sup>10</sup> što znači da je vrlo teško spriječiti oštećenja mozga i ženskih spolnih žlijezdi.<sup>8</sup>

Duartova galaktozemija je blaži oblik klasične galaktozemije,<sup>17</sup> te je puno zastupljenija od klasične galaktozemije, a također je posljedica mutacije gena za enzim galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu. Pacijenti koji su pogođeni Duartovom galaktozemijom imaju jednu „težu“ mutaciju gena za galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu i jednu blažu mutaciju gena za galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu i ta se naziva „Duartova varijanta“. Dijete pogođeno Duartovom galaktozemijom ima jednog roditelja koji je nosač teške mutacije gena za galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu, a drugi roditelj je nosač blage, Duartove varijante mutacije gena za galaktozu-1-fosfat-uridililtransferazu. Osobe pogođene Duartovom varijantom galaktozemije obično pokazuju oko 25% normalne razine galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazne aktivnosti u crvenim krvnim stanicama. Suprotno tome, ljudi s klasičnom galaktozemijom obično pokazuju manje od 1% normalne razine galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazne aktivnosti u crvenim krvnim stanicama. Novorođenčad pogođena Duartovom galaktozemijom ne pokazuju nikakve simptome čak niti dok piju mlijeko. Zbog toga, stručnjaci se još ne slažu oko toga treba li dojenčad konzumirati prehranu bogatu laktozom i galaktozom ili ne. Također, nisu primjećene nikakve razlike u rastu i razvoju između zdrave djece i djece pogođene Duartovom galaktozemijom.<sup>14</sup>

Galaktozemija tipa II je poremećaj koji nastaje kao posljedica mutacija gena za enzim galaktokinazu,<sup>14</sup> a predstavlja najblaži oblik galaktozemije.<sup>13</sup> Kao i kod pacijenata s deficitnom galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazom, pacijenti s deficitnom galaktokinazom ne mogu razgraditi galaktozu, pri čemu se galaktoza i njezini metaboliti

uključujući alkoholni šećer galaktitol (Slika 25.), nakupljaju u tkivima. Za razliku od pacijenata s deficijentnom galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazom, kod pacijenata s deficijentnom galaktokinazom nema nakupljanja galaktoze-1-fosfata.<sup>14</sup> Postoji otprilike 20 vrsta mutacija koje uključuju supstitucije i delecije baza.<sup>15</sup>

Galaktozemija uzrokovana deficijencijom galaktokinaze može se prepoznati po kataraktu ili sivoj mreni u očnoj leći.<sup>11</sup> Siva mrena ili katarakt u oku je jedna od najranijih pokazatelja bolesti galaktozemije, a nestaju izostavljanjem galaktoze iz prehrane. Nedostatak aminokiselina i glutationa utječu na razvoj sive mrežnice. Smanjivanjem koncentracije slobodnih aminokiselina u stanicama leća oka ne može doći do normalne sinteze proteina. Osim toga, galaktitol je šećerni alkohol koji vrlo lako prolazi kroz staničnu membranu. Prilikom razvoja katarakta zbog nakupljanja galaktitola u stanicama leća, povećava se propusnost membrane za aminokiseline i elektrolite, prilikom čega se njihove koncentracije mijenjaju. U početku kationska pumpa u stanicama povećava brzinu transporta u skladu s povećanjem propusnosti membrane stanica leće, te uspijeva kompenzirati povećanu koncentraciju kationa. No, s vremenom zbog velike propusnosti membrane, kationska pumpa ne može više izjednačiti koncentracije kationa, te dolazi do nakupljanja  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$ , te nedostatka  $\text{K}^+$  u stanicama leća.<sup>11</sup>



**GALAKTITOL**

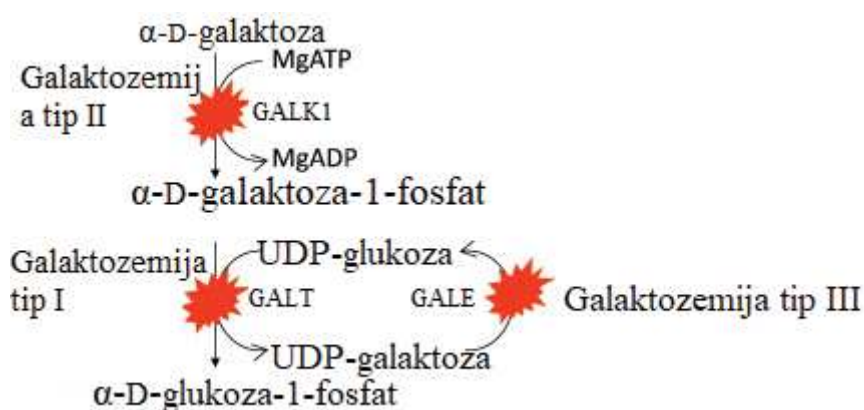
Slika 25. Alkohol šećera galaktoze – galaktitol. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 1)

Galaktozemija tipa III posljedica je mutacije gena za enzim UDP-galaktoza-4-epimerazu. Kao i kod pacijenata s deficijentnim galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazom i galaktokinazom, pacijenti s deficijentnom UDP-galaktoza-4-epimerazom također ne mogu razgraditi galaktozu. No, kod deficijentne epimeraze ne radi se o potpunom gubitku enzimske

aktivnosti, jer bi potpuni nedostatak enzima već uzrokovao smrt prilikom embrionalnog razvoja.<sup>14</sup>

Postoje tri vrste epimerazne deficijencije prema kojima se dijele pacijenti:

1. Generalizirani nedostatak epimeraze – djelomičan gubitak enzimske aktivnosti enzima.
2. Intermedijarni nedostatak epimeraze – djelomični gubitak enzimske aktivnosti u više vrsta tkiva.
3. Periferni nedostatak epimeraze – djelomični gubitak enzimske aktivnosti samo u određenim tipovima stanica, kao što su eritrociti.<sup>14</sup>



Slika 26. Prikaz puta razgradnje galaktoze, enzima koji sudjeluju, te tipovi galaktozemija koje se razvijaju ovisno o deficijenciji određenog enzima. GALK1 je oznaka za enzim galaktokinazu, GALT je oznaka za enzim galaktoza-1-fosfat-uridililtransferazu, a GALE je oznaka za enzim UDP-galaktoza-4-epimerazu. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 13)

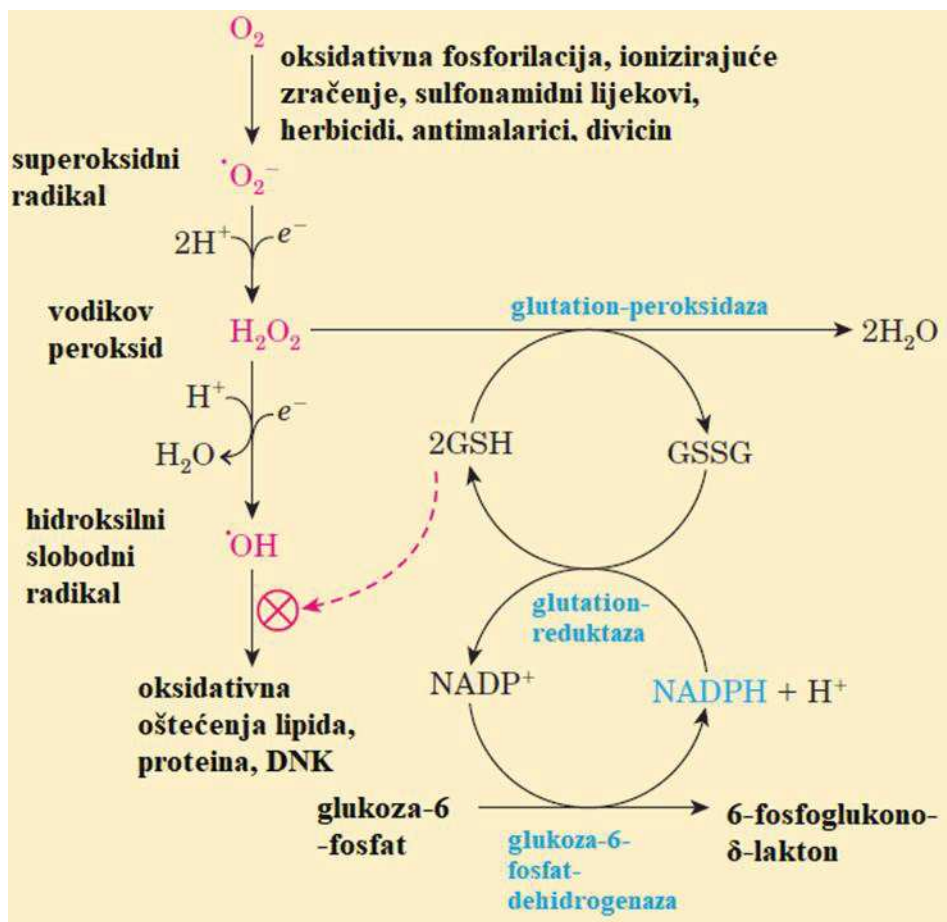
Tretmani liječenja sva tri tipa galaktozemije temelje se na potpunom izbacivanju galaktoze i laktoze iz prehrane. Najbitnije je potpuno izbaciti mlijeko i mliječne proizvode, te ih zamijeniti s bezlaktoznim proizvodima, kao što su sojini proizvodi. Uz mliječne proizvode, nužno je izbjegavati i proizvode koji sadrže laktozu, kao što su kruh, pudinzi, razne slastice, a čak i određeni lijekovi. Kod neliječene djece velika je stopa smrtnosti, stoga liječenje ove bolesti treba kod pogođenih provoditi od najranije dobi, kako bi se spriječila moguća oštećenja jetre i mozga. Liječenje, tj. planirana prehrana uglavnom traje približno dvije godine, nakon čega nije potrebno u potpunosti izbaciti sve proizvode koji sadrže laktozu, no mliječni proizvodi svakako moraju biti isključeni. Osim klasičnog puta razgradnje galaktoze, postoje i određeni drugi

„alternativni“ putevi kojima se galaktoza može razgraditi, no takvi putevi ne mogu zamijeniti klasični put razgradnje galaktoze.<sup>11</sup>

### 3.3. NASLJEDNA DEFICIJENCIJA GLUKOZE-6-FOSFAT DEHIDROGENAZE

Monomer proteina glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze sastoji se od 515 aminokiselina, s molekulskom težinom od oko 59 kDa. Enzim je aktivan kao tetramer ili dimer, u ravnoteži ovisnoj o pH. Stabilnost aktivnih kvaternih struktura enzima presudna je za normalnu aktivnost glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze.<sup>16</sup>

Enzim glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza je prisutan u svim stanicama. Međutim, njegova koncentracija varira u različitim tkivima. U zdravim crvenim krvnim stanicama enzim djeluje samo 1-2% svoje maksimalne enzimске aktivnosti.<sup>16</sup> Glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza je citoplazmatski enzim koji katalizira prvu reakciju puta pentoza fosfata, prijenosa hidridnog aniona H<sup>-</sup> s prvog ugljikovog atoma glukoze-6-fosfata na NADP<sup>+</sup> prilikom čega nastaje 6-fosfoglukono- $\delta$ -lakton i NADPH.<sup>1</sup> Praćenje aktivnosti enzima glukoze-6-fosfat dehidrogenaze se temelji na mjerenju brzine nastanka NADPH prema NADP<sup>+</sup> u crvenim krvnim stanicama na podlozi na kojoj se nalazi EDTA,<sup>3</sup> tj. kvantitativnom spektrofotometrijskom analizom brzine stvaranja NADPH iz NADP<sup>+</sup>.<sup>16</sup> NADPH štiti stanice od oštećenja vodikovim peroksidom i superoksidnih slobodnih radikala, koji se oslobađaju kao metabolički međuproducti ili nastaju prilikom konzumacije lijekova kao što je primakin i „fava“ graha sa štetnim sastojkom divicinom. Pri normalnim koncentracijama NADPH, reducirani glutathion i glutathion-peroksidaza pretvaraju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u H<sub>2</sub>O, a oksidirani glutathion se ponovno reducira preko glutathion-reduktaze i NADPH. Katalaza katalizira reakciju disproporcioniranja H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na H<sub>2</sub>O i O<sub>2</sub> (Slika 27.).<sup>2</sup> Kod ljudi koji su deficijentni enzimom glukoza-6-fosfat-dehidrogenazom, ne dolazi do cijepanja H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dolazi do peroksidacije lipida u membrani te ona propada, a proteini i DNA oksidiraju.<sup>6</sup>



Slika 27. Prikaz uloga NADPH i glutationa, reducirani glutation štiti stanice od  $\text{H}_2\text{O}_2$  i hidroksilnih slobodnih radikala, a za ponovnu redukciju glutationa potreban je NADPH. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 2)

Deficijencija enzima glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze je najčešći nasljedni genetski poremećaj koji pogađa muškarce,<sup>6</sup> a posljedica je mutacija gena na X kromosomu za enzim glukoza-6-fosfat-dehidrogenazu. Muškarci su hemizigotni za gen enzima glukoza-6-fosfat-dehidrogenazu i stoga ili su deficijentni za enzim glukoza-6-fosfat-dehidrogenazu ili imaju normalnu ekspresiju gena. Žene, koje imaju dvije kopije gena za enzim glukoza-6-fosfat-dehidrogenazu na svakom X kromosomu, mogu imati normalnu ekspresiju gena ili biti heterozigotne. Također, u nekim populacijama, u kojima je učestalost alela s nedostatkom glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze vrlo visoka, homozigotne žene su česta pojava. Iako heterozigotne žene u prosjeku imaju manje ozbiljne posljedice od muškaraca s nedostatkom enzima glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze, kod nekih žena se može razviti teška akutna hemolitička anemija.<sup>16</sup>

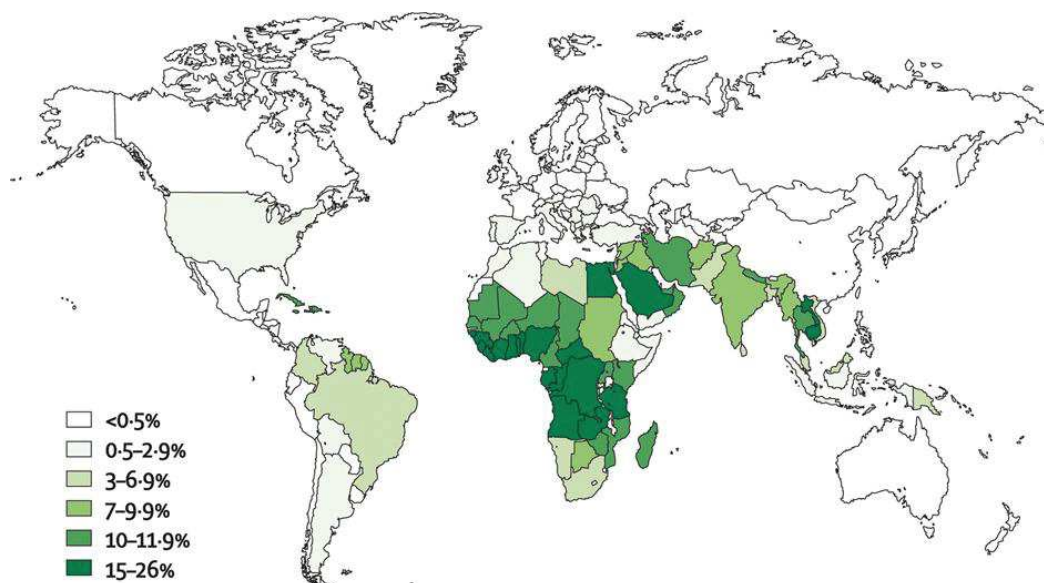


Crvene krvne stanice su izuzetno osjetljive na velike koncentracije superoksidnih slobodnih radikala te su podložne propadanju, jer ne posjeduju druge enzime koji bi stvarali NADPH. Propadanje crvenih krvnih stanica naziva se hemoliza, a bolest koja se javlja je hemolitička anemija. Čimbenici koji mogu pogoršati stanje su lijekovi koji samo povećavaju koncentraciju štetnih kisikovih vrsta. Hemolitička anemija je povezana s žuticom, umorom, tamnim urinom, ubrzanim radom srca i otežanim disanjem.<sup>6</sup> Također, bolesti poput dijabetesa, infarkta miokarda te naporne tjelesne vježbe, potiču hemolizu kod osoba s deficitarnim enzimom glukoza-6-fosfat-dehidrogenazom. Međutim, glavni uzrok hemolize može biti i infekcija.<sup>16</sup>

Infekcija je vjerojatno najčešći uzrok hemolize kod osoba s nedostatkom glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze. Značajni uzroci mogu biti virusi A i B hepatitisa, citomegalovirus, upala pluća i tifusna groznica. Na ozbiljnost hemolize mogu utjecati mnogi čimbenici, uključujući istodobnu primjenu lijeka, funkciju jetre i dob. Akutno zatajenje bubrega ozbiljna je potencijalna komplikacija virusnog hepatitisa i popratne deficijencije glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze.<sup>16</sup>

Podaci iz niza studija sugeriraju da otprilike trećina novorođene djece muškog spola s neonatalnom žuticom ima nedostatak glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze, dok je ta pojava kod djece ženskog spola puno rjeđa.<sup>16</sup> Srećom, većina ljudi s nedostatkom enzima glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze asimptomatska je, te vrlo često ljudi nisu svjesni svojeg stanja.<sup>16</sup>

Otprilike oko 400 milijuna ljudi je pogođeno ovim poremećajem, a najčešće se radi o ljudima iz određenih dijelova Afrike, Azije, Mediterana, Srednjeg Istoka,<sup>6</sup> te središnjih i južnih pacifičkih otoka.<sup>16</sup>



Slika 28. Svjetska mapa rasprostranjenosti deficijencije enzima glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze. Od bijele do tamno zelene boje označeni su prostori od manjeg prema većem postotku ljudi pogođenih deficijencijom enzima glukoze-6-fosfat-dehidrogenaze. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. 16)

Terapija najčešće uključuje izbacivanje lijekova koje pogoršavaju anemiju, a ponekad je nužna i transfuzija krvi.<sup>6</sup>

## § 4. LITERATURNI IZVORI

1. D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, četvrto izdanje, Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2011., 360-367, 593-633.
2. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, peto izdanje, W. H Freeman, New York, 2008., 239-246, 549-551.
3. A. B. Mehta, *Glucose-6-phosphate Dehydrogenase deficiency*, Postgraduate medical journal 70(830), 1994., 871-877.
4. M. Ali, P. Rellos, T. M. Cox, *Hereditary fructose intolerance*, Journal Medical Genetics 35(5), 1998., 353-365.
5. D. Pacurar, G. Lesanu, I. Dijmarescu, I. F. Tincu, M. Gherghiceanu, D. Oraseanu, *Genetic Disorder in Carbohydrates Metabolism: Hereditary Fructose Intolerance Associated With Celiac Disease* 58(3), 2017., 1109-1113.
6. <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/glucose-6-phosphate-dehydrogenase-deficiency#statistics> (Datum pristupa: 10.07.2020.)
7. A. I. Coelho, M. E. Rubio-Gozalbo, J. B. Vicente, I. Rivera, *Sweet and sour: an update on classic galactosemia*, The American Journal of Clinical Nutrition 108(2), 2018., 292-299.
8. D. Demirbas, A. I. Coelho, M. E. Rubio-Gozalbo, G. T. Berry, *Hereditary Galactosemia*, Metabolism 83, 2018., 188-196.
9. <https://www.imd-berlin.de/en/subject-information/diagnostics-information/hereditary-fructose-intolerance-hfi.html> (Datum pristupa: 10.07.2020.)
10. L. J. Elsas, K. Lai, *The molecular biology of galactosemia*, Genetics in Medicine 1, 1998, 40-48.
11. H. M. Kalckar, J. H. Kinoshita, G. N. Donnell, *Galactosemia: Biochemistry, Genetics, Pathophysiology, and Developmental Aspects*, Biology of Brain Dysfunction, vol 1., 1973, 31-88.
12. P. Baker, L. Ayres, S. Gaughan, J. Weisfeld-Adams, *Hereditary fructose intolerance*, Gene Reviews, 2015., 1993-2020.
13. D. J. Timson, *The molecular basis of galactosemia - Past, present and future*, Gene 589(2), 2016., 133-141.

14. <http://www.galactosemia.org/understanding-galactosemia#GKD> (Datum pristupa: 30.08.2020.)
15. H. M. Holden, J. B. Thoden, D. J. Timson, R. J. Reece, *Galactokinase: structure, function and role in type II galactosemia*, Cellular and Molecular Life Sciences 61, 2004., 2480.
16. M. D. Cappellini, G. Fiorelli, *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency*, THE LANCET 371(9606), 2008., 64-74.
17. <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/12908/duarte-galactosemia> (Datum pristupa: 03.09.2020.)
18. N. Bouteldja, D. J. Timson, *The biochemical basis of hereditary fructose intolerance*, J Inherit Metab Dis. 33(2), 2010., 105-112.