

Poruchy trávení, vstřebávání a metabolismu sacharidů; mukopolysacharidosy

Autoři

Doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D., prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

(bousova@faf.cuni.cz)

Katedra biochemických věd

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

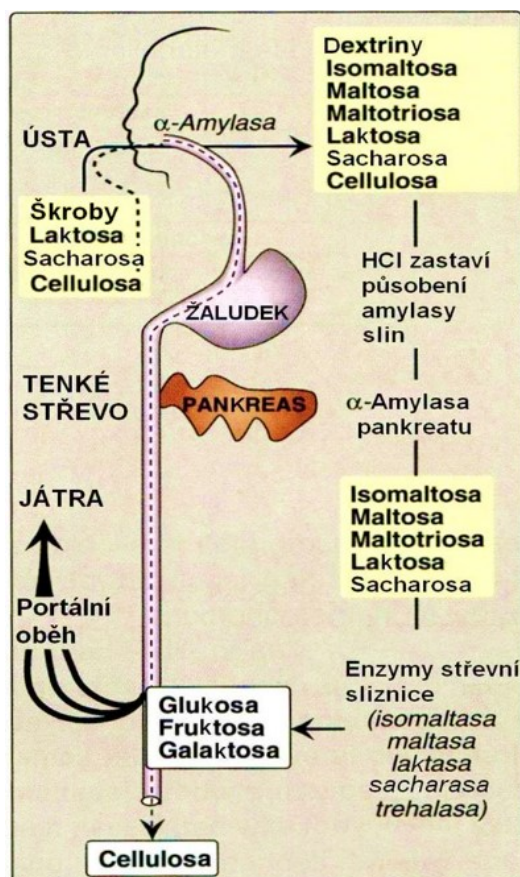
Sacharidy jsou nedílnou součástí mnoha rostlin a živočichů, kde hrají nezastupitelnou metabolickou i strukturální úlohu. Trávení sacharidů v gastrointestinálním traktu člověka probíhá především v lumen tenkého střeva, kde jsou oligosacharidy a polysacharidy štěpeny hydrolytickými enzymy glykosidasami na monosacharidy (zejm. glukosa, fruktosa a galaktosa). Ty jsou následně absorbovány enterocyty a transportovány do krevního oběhu. Nejdůležitějším sacharidem je glukosa, která je pro většinu savců (kromě přežvýkavců) hlavním zdrojem energie. Glukosa tvoří základ pro syntézu dalších sacharidů potřebných pro organismus, jako jsou glykogen (energetická zásobárna), ribosa a deoxyribosa (součásti nukleových kyselin), galaktosa (součást laktosy v mléce), jako glykolipidy či v kombinaci s proteiny jako glykoproteiny a proteoglykany. Mezi choroby spojené s poruchou metabolismu sacharidů patří esenciální fruktosurie, dědičná intolerace fruktosy, galaktosemie, deficit glukosa-6-fosfátdehydrogenasy, choroby ze střádání glykogenu a nesnášenlivost laktosy. Vrozené poruchy glykosylace jsou spojeny s defektní syntézou glykoproteinů (a glykolipidů), zatímco mukopolysacharidosy jsou onemocnění vyvolaná poruchami degradace glykosaminoglykanů. Cílem této lekce je popsat základní procesy trávení, vstřebávání a metabolismu sacharidů a složených cukrů a poruchy s nimi spojené.

Přehled trávení a vstřebávání sacharidů

Sacharidy tvoří hlavní zdroj energie v potravě. Jejich podíl na energetickém zisku by se měl u dospělého jedince pohybovat kolem 55-65 % a to zejména ve formě škrobovin. Potrava obsahuje relativně malý podíl volných monosacharidů (glukosa, fruktosa), významnou součástí jsou disacharidy (laktosa, sacharosa) a polysacharidy (škrob, glykogen, celuloza). Do buněk střevní sliznice se však mohou vstřebávat pouze monosacharidy, proto jsou di-, oligo- i polysacharidy v ústech a v lumen tenkého střeva hydrolyzovány enzymy až na monosacharidy. Některé polysacharidy (např. celuloza) jsou pro člověka nestavitelné, protože obsahují takový typ glykosidické vazby, které není člověk schopen rozštěpit. Tyto polysacharidy jsou součástí vlákniny, která je nezbytná pro správnou funkci střev (podporuje motilitu), má sytívací účinek a zmírňuje vzestup postprandiální glykemie.

Trávení sacharidů

Sacharidy jsou postupně hydrolyzovány z polysacharidů na oligosacharidy a poté až na volné disacharidy a monosacharidy. Trávení sacharidů je rychlé a je katalyzováno glykosidasami, které patří mezi hydrolasy. Glykosidasy jsou specifické pro strukturu a konfiguraci odštěpovaného cukerného zbytku a též pro typ štěpené vazby. Konečnými produkty štěpení jsou monosacharidy, zejm. glukosa, fruktosa, maltosa a galaktosa, které jsou absorbovány enterocyty. Přehled trávení sacharidů v GIT je uveden v Obr. 1.



Obr. 1. Přehled trávení sacharidů v GIT (upraveno z Harvey a Ferrier 2011)

Hydrolýza škrobu a glykogenu je katalyzována slinnou a pankreatickou α -amylasou, které katalyzují částečnou hydrolýzu $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidických vazeb za vzniku dextrinů (kratší oligosacharidy o několika desítkách glukosových jednotek). **Slinná α -amylasa** (ptyalin) je produkována příušní žlázou. Zahajuje trávení polysacharidů v dutině ústní během žvýkání a je inaktivována kyselým pH žaludku. **Pankreatická α -amylasa** je produkována pankreatem a vylučována do duodena. Alfa-amylasa patří mezi endoglykosidasy, protože náhodně štěpí α -glykosidické vazby uvnitř řetězců polysacharidů. Výsledkem jejího působení je směs maltosy, maltotriosy a α -limitních dextrinů (větvené dextriny obsahující průměrně 8 glukosových jednotek).

Konečné štěpení probíhá na povrchu buněk kartáčového lemu horního jejunu působením disacharidas maltasy-glukoamylasy, sacharasy-isomaltasy, laktasy a trehalasy.

Sacharasa má dvě homologní funkční podjednotky (sacharasa a isomaltasa), které patří obě mezi glykosidasy a liší se svou substrátovou specificitou. Tento enzym tedy dokáže štěpit sacharosu na glukosu a fruktosu (sacharasa) a $\alpha(1\rightarrow6)$ vazby limitních dextrinů (**isomaltasa**). **Maltasa** obsahuje dvě podjednotky s různou katalytickou aktivitou – maltasa štěpí disacharid maltosu na dvě glukosy a **glukoamylasa** (též exoglukosidasa) odštěpuje koncové glukosové jednotky z oligosacharidů. **Laktasa**, která má pro člověka největší význam v kojeneckém věku, štěpí laktosu (mléčný cukr) na glukosu a galaktosu. **Trehalasa** štěpí disacharid trehalosu, který je tvořen glukosovými jednotkami spojenými glykosidickou vazbou $\alpha(1\rightarrow1)$ a pochází z hub.

Vstřebávání sacharidů

Sacharidy se vstřebávají ve formě monosacharidů, nejvíce je zastoupena glukosa, dále fruktosa a galaktosa. Nejrychleji se vstřebává galaktosa a glukosa, fruktosa se ve srovnání s nimi vstřebává zhruba poloviční rychlostí. Monosacharidy jsou silně polární a potřebují tedy k přechodu přes lipidové biomembrány transportní systémy. Dosud byly identifikovány dvě rodiny **transportérů** – přenašeče zprostředkávající usnadněnou difuzi (**GLUT**, *glucose transporters*) a transportéry zajišťující aktivní transport (**SGLT**, *sodium-dependent glucose transporters*). Nejrozšířenějším způsobem transportu monosacharidů v organismu je usnadněná difuze, zatímco aktivní transport zprostředkovaný transportéry SGLT probíhá zejména v enterocytech a buňkách proximálních tubulů ledvin.

Glukosa a galaktosa jsou ze střeva přenášeny do enterocytů transportérem SGLT1. Jedná se o sekundárně aktivní transport závislý na koncentračním gradientu Na^+ , který vytváří Na^+/K^+ -ATPasa na basolaterální membráně enterocytů. Transportér SGLT1 má dvě vazná místa pro Na^+ a jedno pro glukosu/galaktosu. Díky spřažení transportu sacharidů se spotřebou ATP mohou být tyto monosacharidy transportovány do buňky proti jejich koncentračnímu gradientu. Fruktosa je do enterocytu transportována pomaleji než glukosa a galaktosa a to prostřednictvím transportéru GLUT5. Jedná se o usnadněnou difuzi po koncentračním spádu. Všechny tři monosacharidy jsou pak do krve transportovány transportérem GLUT2, který je přítomný na basolaterální membráně enterocytů. Více informací naleznete v předchozí kapitole.

Působení střevní mikroflóry na sacharidy

Většina přijaté potravy se resorbuje z tenkého střeva. Ta část potravy, která je nestravitelná, nebo se nestačila během průchodu GIT traktem strávit (špatná stravitelnost, rychlá pasáž tenkým střevem, špatný přístup enzymů kvůli velkému objemu), přechází do tlustého střeva. Zde je resorbována podstatná část vody, čímž dochází k zahuštění obsahu střev. Tlusté střevo je za fyziologického stavu osídleno nepatogenní bakteriální mikroflórou, pro niž se zbytky potravy stávají zdrojem výživy. Zbytky potravy podléhají kvasným a hnilobným procesům, při kterých jsou sacharidy přeměňovány na kyselinu mléčnou a octovou. Tyto kyseliny snižují pH střevního obsahu a působí tak antimikrobiálně.

Poruchy trávení a vstřebávání sacharidů

Poruchy trávení sacharidů

Vznikají jako důsledek **nedostatečného působení trávicích enzymů**. Příčiny nedostatečného enzymatického štěpení mohou být způsobeny např. onemocněním orgánů, které tyto enzymy produkují (pankreas, střevní sliznice), či uzávěrem pankreatického vývodu (vytvořený enzym se nedostane do střeva). Při těchto onemocněních a poruchách je obvykle zasaženo i trávení lipidů a proteinů. Méně častou příčinou poruch trávení jsou **vrozené defekty jednotlivých enzymů**, které sacharidy štěpí. Z izolovaných enzymových defektů jsou známy deficity disacharidas – intolerance laktosy a intolerance sacharosy.

Intolerance (nesnášenlivost) disacharidů je způsobena deficitem některé disacharidasy. Požitý disacharid není stráven a prostupuje nezměněný do tlustého střeva, kde představuje osmotickou zátěž a vyvolává přestup vody do lumen střeva a vznik osmotického průjmu. To je ještě umocněno bakteriální fermentací nestrávených disacharidů na dvou- až tříuhlíkaté osmoticky aktivní sloučeniny (organické kyseliny), CO₂ a H₂. Osmotický průjem je díky velkému objemu vznikajících plynů spojen s křečemi v břiše a nadýmáním. Dietou bez daného disacharidu se stav upraví.

Příkladem intolerance disacharidů může být **intolerance laktosy**. Toto onemocnění se projevuje částečnou nebo úplnou neschopností trávicího traktu zpracovávat laktosu a tedy i nesnášenlivostí mléka. Jeho příčinou je nedostatek laktasy - enzymu, který laktosu štěpí. Vyskytuje se v několika formách, které mají různou příčinu vzniku. Nejzávažnější je **vrozený deficit laktasy**, který je vyvolaný mutací v genu pro laktasu, která je pak prakticky úplně neaktivní. Toto vzácné onemocnění je děděno autosomálně recesivně. Projevuje se u postižených již v kojeneckém období a vzhledem k věku a způsobu výživy by tato choroba končila fatálně, pokud by se mateřské mléko nenahradilo mléčnou formulí bez laktosy. U nedonošených novorozenců se může díky nezralosti zažívacího traktu projevit **přechodný nedostatek laktasy**, který se po vyžrání orgánů samovolně upraví. Zhruba u jedné šestiny osob se v dospělosti projeví **malabsorpce laktosy s pozdním deficitem laktasy** (adultní forma). Přibližně u 30-50 % lidí dochází po třetím roce života (po ukončení kojení) k postupnému snížení exprese střevní laktasy (fyziologický pokles). Schopnost trávit laktosu v dospělosti závisí na variantě genu *MCM6* (obsahuje regulační oblasti, které mění expresi genu pro laktasu), kterou jedinec získal od svých rodičů. Intolerance laktosy může vzniknout i **sekundárně při poškození střevní sliznice** např. infekčním průjmem (rotaviry u kojenců), působením antibiotik, chronickým onemocněním střev (Crohnova nemoc, celiakie), chemoterapií či ozařováním.

Intolerance sacharosy je autosomálně recesivní onemocnění vyvolané deficitem enzymové aktivity sacharasy-isomaltasy, který způsobí nedostatečné štěpení a vstřebávání disacharidu sacharosy a škrobů. Onemocnění se manifestuje již v kojeneckém věku po zavedení sacharosy (ovoce, ovocné šťávy) a polymerů glukosy do stravy vodnatými průjmy, tvorbou

střevních plynů a distenzí střev. Frekvence výskytu se liší v jednotlivých částech světa – v Severní Americe se pohybuje kolem 0,2 %, zatímco v Grónsku a mezi aljašskými Eskymáky je frekvence výskytu odhadována na více než 10 %. Vysoký výskyt tohoto onemocnění mezi Eskymáky je pravděpodobně způsoben tím, že většinu živin tradičně získávají z konzumace masa a přijímají v potravě jen velmi málo ovoce. Léčba intolerance sacharosy sestává z vyloučení sacharosy, polymerů glukosy a škrobů z potravy.

Poruchy transportu sacharidů

Poruchy vstřebávání sacharidů jsou pozorovány při **vrozených defektech** jejich **transportu přes membránu** enterocytů či tubulů ledvin (izolovaný defekt). Někdy je porucha transportu obecnější a pozorujeme ji ve střevě i v ledvinách (generalizovaný defekt). V takovém případě vážne na jedné straně vstřebávání sacharidu ze střeva do krve a na druhé straně vznikají jeho ztráty močí v důsledku poruchy zpětné resorpce v ledvinných tubulech. Zatím jsou známy čtyři dědičné poruchy transportu monosacharidů. Jejich klinický obraz závisí na tkáňově-specifické expresi a substrátové specifitě defektního transportéru.

Deficit SGLT1 způsobuje **malabsorpci glukosy a galaktosy ve střevě**. Projevuje se těžkými osmotickými průjmy a dehydratací krátce po narození. Pokud není onemocnění správně a včas diagnostikováno, nastává smrt v důsledku hypovolemického šoku. Diagnostickým vodítkem je nízké pH stolice a přítomnost redukujících látek ve stolici. U takto postižených novorozenců je třeba vyloučit z potravy glukosu a galaktosu a nahradit je mléčnou formulí s fruktózou.

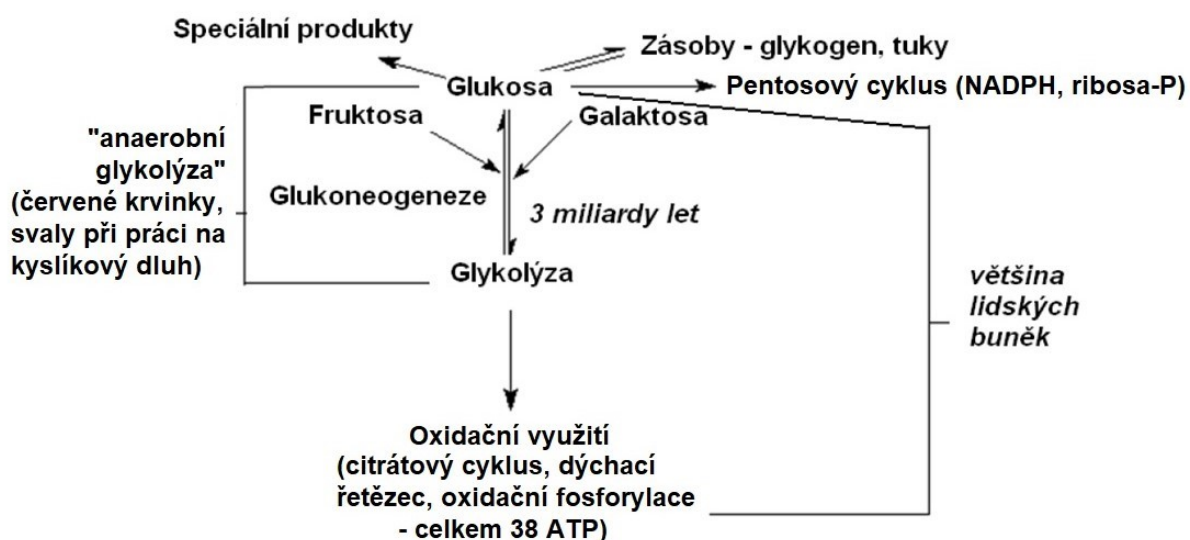
Mutace genu SGLT2 vyvolává **renální glykosurii**. Jedná se o celkem neškodnou transportní poruchu, u které je i při normálních hladinách glykemie glukosa přítomná v moči. Renální glykosurie je izolovaná porucha resorpce glukosy v proximálních tubulech, která nepostihuje jiné glomerulární ani tubulární ledvinné funkce.

Syndrom s deficitem přenašeče GLUT1 se projevuje mikrocefalie a epileptická encefalopatie, které jsou vyvolány poruchou transportu glukosy přes hematoencefalickou bariéru a poté do neuronů a gliových buněk. Onemocnění je autosomálně recesivní. Jeho závažnost demonstruje skutečnost, že homozygoti postižení deficitem GLUT1 umírají *in utero*. Klíčovým nálezem pro diagnostiku je nízká koncentrace glukosy v mozkomíšním moku (hypoglykorrhachie).

Fanconiho-Bickelův syndrom vzniká v důsledku **deficitu GLUT2**, významného transportéru pro glukosu a galaktosu v játrech, β -buňkách pankreatu a ledvinách. V klinickém obraze se typicky objevuje strádání glykogenu v játrech a generalizovaná renální tubulární dysfunkce, včetně závažné glykosurie a hypofosfatemické křivice.

Základní metabolické cesty sacharidů v buňce

Primárním úlohou základních metabolických cest je zpracování látek z potravy. Z procesu trávení získává organismus tři základní monosacharidy (glukosu, fruktosu a galaktosu), z nichž glukosa při běžné stravě výrazně převažuje. Glukosa je v organismu přeměňována několika metabolickými cestami (Obr. 2). Štěpením glukosy v **glykolýze** získává buňka energii. U člověka probíhá ve svalech při intenzivní svalové práci, kdy přísun kyslíku nestačí pokrýt potřebu aerobní degradace živin, anaerobní glykolýza, jejímž produktem je laktát. Za aerobních podmínek navazuje na glykolýzu **citrátový cyklus** a **dýchací řetězec s oxidační fosforylací**. Spojením těchto drah je glukosa úplně oxidována až na vodu a CO₂ za vzniku ATP. Alternativou glykolýzy a citrátového cyklu je **pentosový cyklus**, což je katabolický děj, jehož smyslem je tvorba pentos (ribosa pro syntézu nukleových kyselin) a redukovaného NADPH. Pokud se do organismu dostává větší množství glukosy, než se může aktuálně využít, vytváří si organismus energeticky využitelné rezervy. Z glukosy se tak v játrech a svalech **syntetizuje** zásobní polysacharid **glykogen**, jinou cestou se z acetyl-CoA vzniklého z oxidace glukosy syntetizují v tukové tkáni mastné kyseliny a TAG (**lipogeneze**). Pokud je okamžitá potřeba energie větší, dochází k **degradaci glykogenu**. V játrech při ní vzniká glukosa, která je uvolněna do krve a transportována do periferních tkání. Ve svalech pak vzniká glukosa-6-fosfát, který se zapojuje do glykolýzy. Pokud nemá organismus dostatečný přísun živin ani energetické rezervy, využívá k syntéze glukosy některé nízkomolekulární necukerné látky (např. laktát, alanin, glukogenní aminokyseliny, glycerol). Tento proces se nazývá **glukoneogeneze**. Necukerné látky pro syntézu glukosy jsou do jater dodávány ze svalů a červených krvinek v rámci Coriho cyklu a glukoso-alaninového cyklu. Využití glukosy jednotlivými tkáněmi je popsáno v předchozí kapitole.



Obr. 2. Přehled metabolických cest glukosy.

Monosacharidy se zapojují do metabolismu prostřednictvím fosforylace, která je katalyzována kinasami za účasti ATP. Strukturní rozdíly mezi jednotlivými monosacharidy

určují, který enzym zahájí jeho metabolizaci. Glukosa může být fosforylována **hexokinasou** nebo **glukokinasou**. Rozdíly mezi těmito enzymy jsou shrnuty v předchozí kapitole. V játrech se nacházejí **fruktokinasa** a **galaktokinasa**, kinasy specifické pro fruktosu a galaktosu a jejich aktivita není ovlivněna hladověním ani insulinem. Jedná se o enzymy s vysokou afinitou k těmto monosacharidům, jejichž působením vzniká fruktosa-1-fosfát a galaktosa-1-fosfát. Hexokinasa je kromě glukosy schopná metabolizovat s výrazně menší afinitou i fruktosu a mannosu. Galaktosa pravděpodobně není tímto enzymem fosforylována.

Metabolismus glykogenu

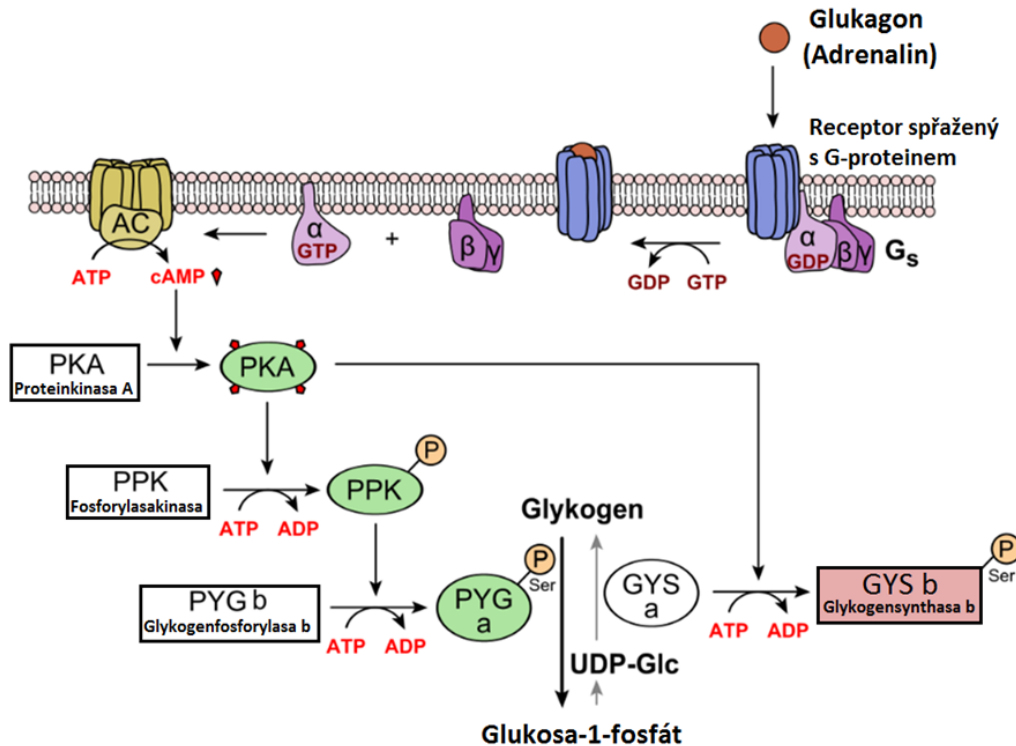
Glykogen je zásobním polysacharidem živočichů (svaly, játra) se strukturou větvené levotočivé šroubovice složené z glukosových jednotek. Monomery glykosy jsou v každé větvi spojeny glykosidickými vazbami $\alpha(1\rightarrow4)$ a další větve jsou připojeny vazbou $\alpha(1\rightarrow6)$. Celá struktura drží pohromadě pomocí kotvícího proteinu glykogeninu.

Syntéza glykogenu vychází z UDP-glukosy. K jejímu vzniku je nejprve třeba přeměnit glukosa-6-fosfát **fosfoglukomutasou** na glukosa-1-fosfát, který je za účasti UTP aktivován působením **UDP-glukosadifosforylasy** na UDP-glukosu. První krátký úsek glykogenu syntetizuje **glykogenin**, který autokatalyticky připojuje první UDP-glukosu na hydroxylovou skupinu tyrosinu v pozici 194 a dalších sedm připojuje již glykosidickou vazbou. Vzniká tak glykogenprimer. Poté přebírá aktivitu **glykogensynthasa**, která připojuje další glukosové jednotky vazbou $\alpha(1\rightarrow4)$. Rozvětvená struktura glykogenu je pak výsledkem působení **větvícího enzymu** (amylo(1,4 \rightarrow 1,6)transglykosylasa; „*branching enzyme*“), který z řetězce o minimální délce 11 jednotek přenesse šest jednotek na jiný řetězec a připojí je vazbou $\alpha(1\rightarrow6)$.

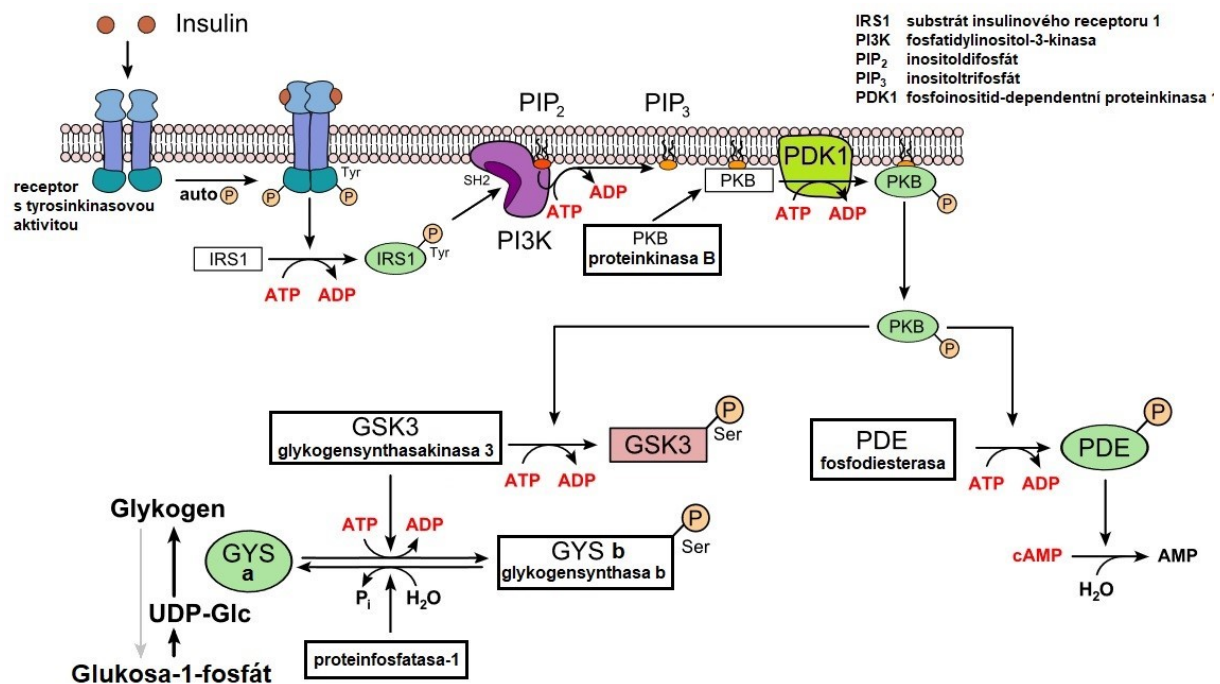
Degradace glykogenu je katalyzována **glykogenfosforylasou**, která odštěpuje z glykogenu jednotlivé glukosové jednotky ve formě glukosa-1-fosfátu. Glykogenfosforylase je schopná štěpit pouze vazby $\alpha(1\rightarrow4)$ a její činnost končí zhruba čtyři jednotky od větvení. Pak nastupuje **odvětující enzym** (amylo- $\alpha(1\rightarrow6)$ glukosidasa), který přenesse tři glukosové jednotky na sousední řetězec, kde je připojí vazbou $\alpha(1\rightarrow4)$. Poslední glukosová jednotka je tímto enzymem odštěpena a uvolněna jako glukosa. Vznikající glukosa-1-fosfát je **fosfoglukomutasou** přeměněn na glukosa-6-fosfát, který se může zapojit do glykolýzy (svaly), nebo z něj **glukosa-6-fosfatasa** odštěpí fosfátovou skupinu a vzniklá glukosa je uvolněna do krevního oběhu (játra, ledviny).

Regulace syntézy a degradace glykogenu probíhá prostřednictvím allosterické regulace a kovalentní modifikace (reverzibilní fosforylace a defosforylace enzymu) glykogensynthasy a glykogenfosforylasy. Aktivní forma těchto enzymů se označuje písmenem „a“ (tj. glykogensynthasa a, glykogenfosforylase a), zatímco neaktivní forma je označena písmenem „b“ (tj. glykogensynthasa b, glykogenfosforylase b). Fosforylace se zvyšuje v reakci na tvorbu cAMP, která je katalyzována adenylátcyklasou. K aktivaci adenylátcyklasy dochází působením hormonů glukagonu a adrenalinu (Obr. 3). cAMP je hydrolyzován fosfodiesterasou, jejíž aktivita je v játrech aktivována insulinem (Obr. 4). Regulace glykogensynthasy a

glykogenfosforylasy je protichůdná – ve stejnou dobu, kdy je glykogenfosforylasy aktivována vzestupem cAMP, je glykogensynthasa přeměněna na neaktivní formu. Inhibice syntézy glykogenu tak zesiluje glykogenolýzu a inhibice rozkladu glykogenu zesiluje výslednou glykogenezi.



Obr. 3. Regulace metabolismu glykogenu glukagonem a adrenalinem (upraveno z Wikimedia Commons 1).



Obr. 4. Regulace metabolismu glykogenu insulinem (upraveno z Wikimedia Commons 2).

Metabolismus fruktosy

Hlavním zdrojem volné **fruktosy** v potravě je ovoce a med, dále vzniká ve střevě štěpením sacharosy. Protože fruktosa tvoří při současném složení potravy (slazení sacharózou a fruktosovým sirupem, umělá sladidla) až čtvrtinu všech přijatých sacharidů, není její metabolismus zcela zanedbatelný. Nadměrný příjem fruktosy ve sladkých nápojích přispívá k růstu prevalence obezity a to zejména u dětí a mladistvých.

Fruktosa přijatá potravou je metabolizována zejména v játrech. Její metabolismus v hepatocytu je rychlejší než metabolismus glukosy jednak díky snadnému transportu přes membránu a také díky tomu, že obchází regulační krok katalyzovaný fosfofruktokinase. **Fruktokinasa**, která je přítomná v játrech, ledvinách a ve střevě, katalyzuje fosforylaci fruktosy na fruktosa-1-fosfát. Ten je štěpen na D-glyceraldehyd a dihydroxyacetonfosfát jaterním enzymem **aldolase B**. Tento enzym v játrech působí v glykolýze, kde štěpí rovněž fruktosa-1,6-bisfosfát (v ostatních tkáních plní tuto funkci aldolasa A). D-glyceraldehyd je **triokinase** fosforylován na glyceraldehyd-3-fosfát, který vstupuje do glykolýzy. Po příjmu stravy bohaté na fruktosu či sacharosu dochází vlivem jejího rychlého metabolismu k rychlé spotřebě ATP, která je provázena zvýšenou tvorbou AMP, inosinmonofosfátu a kyseliny močové. Dále dochází ke zvýšené syntéze mastných kyselin, jejich esterifikaci, syntéze lipoproteinů a jejich sekreci ve formě VLDL do krevního oběhu, což může vyvolat zvýšení koncentrace TAG v krvi a v konečném důsledku zvýšení LDL-cholesterolu. V mimojaterních tkáních je fruktosa fosforylována **hexokinase** na fruktosa-6-fosfát, který se zapojuje do glykolýzy. Glukosa však fosforylaci fruktosy inhibuje, protože je pro hexokinase lepším substrátem. Přesto může být fruktosa metabolizována v kosterním svalstvu a v tukové tkáni.

Metabolismus galaktosy

Galaktosa pochází z hydrolýzy mléčného cukru laktosy. V organismu se využívá k syntéze laktosy v období kojení, kdy v reakci katalyzované **laktosasyntasou** dochází ke kondenzaci UDP-galaktosy s glukosou. Je rovněž součástí glykolipidů (cerebrosidů), glykoproteinů a proteoglykanů. V játrech se snadno přeměňuje na glukosu. Fosforylaci galaktosy katalyzuje **galaktokinasa** za účasti ATP, vznikající galaktosa-1-fosfát reaguje s UDP-glukosou za vzniku UDP-galaktosy a glukosa-1-fosfátu. Tato reakce je katalyzována **galaktosa-1-fosfáturidylyltransferasou**. UDP-galaktosa je pak **UDP-galaktosa-4-epimerase** přeměněna na UDP-glukosu. Tato reakce zahrnuje oxidaci a poté redukci na uhlíku 4 za účasti NAD^+ . Vznikající UDP-glukosa je pak využita k syntéze glykogenu. Epimerasová reakce je vratná, takže glukosa může být přeměněna na galaktosu a příjem galaktosy potravou tedy není nezbytný.

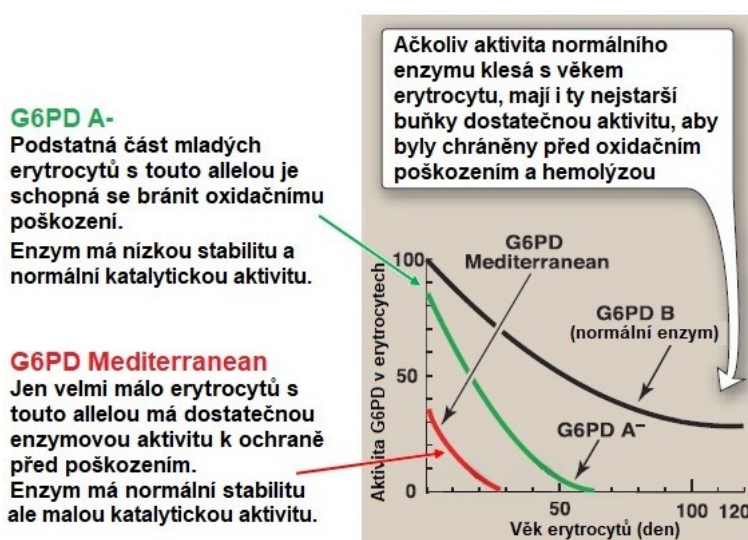
Poruchy metabolismu sacharidů

Příčinou vzniku těchto onemocnění je mutace v genu pro určitý enzym dané metabolické dráhy. Prakticky kterýkoliv krok metabolismu sacharidů může být postižen. K podrobnějšímu popisu jsou vybrány pouze některé významné defekty metabolismu glukosy, fruktosy a galaktosy, které jsou slučitelné se životem (tj. esenciální fruktosurie, dědičná intolerance fruktosy, galaktosemie, deficit glukosa-6-fosfátdehydrogenasy a glykogenosy).

Poruchy v pentosovém cyklu

Pentosový cyklus se skládá ze dvou fází – oxidační a neoxidační. V oxidační fázi dochází k přeměně hexosy (glukosa-6-fosfátu) na pentosu (ribulosa-5-fosfát) za vzniku dvou molekul NADPH. Glukosa-6-fosfát je pomocí **glukosa-6-fosfátdehydrogenasy (G6PD)** oxidován na 6-fosfoglukono- δ -lakton za současné redukce NADP^+ na $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Tento krok je nevratný a rozhoduje o rychlosti celé dráhy. Vzniklý lakton je **laktonasou** hydrolyzován na 6-fosfoglukonát, který je prostřednictvím **6-fosfoglukonátdehydrogenasy** dekarboxylován na ribulosa-5-fosfát za současné redukce NADP^+ na $\text{NADPH} + \text{H}^+$. V neoxidační (interakční) fázi je ribulosa-5-fosfát přeměněn zpět na glukosa-6-fosfát sérií isomerizačních a epimerizačních reakcí, kterých se účastní dva enzymy, **trasaldolasa** a **transketolasa**. Během těchto reakcí vzniká ribosa-5-fosfát, který je použit k syntéze nukleotidů a nukleových kyselin.

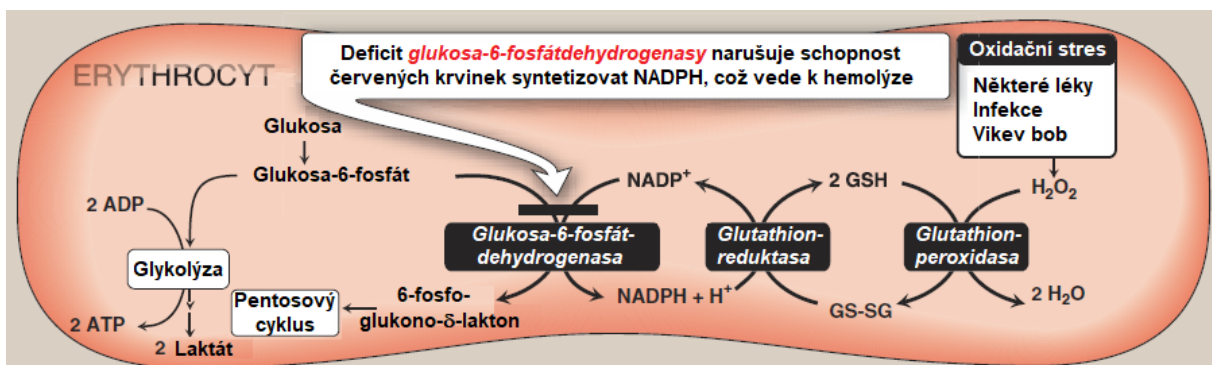
Genetické defekty G6PD s následnou poruchou tvorby NADPH se běžně vyskytují v oblastech kolem Středoziemního moře a u lidí afro-karibského původu. Gen pro G6PD je lokalizován na chromosomu X a dosud bylo identifikováno více než 190 různých bodových mutací. Celosvětově je nositelem mutovaného genu pro G6PD asi 400 milionů lidí, což činí z tohoto defektu **nejběžnější genetickou vadu**. Výsledkem mutace může být vznik nestabilního enzymu (varianta $\text{G6PD}^{\text{A-}}$) nebo enzymu, který je stabilní, ale má ve všech erythrocytech nízkou aktivitu (varianta $\text{G6PD}^{\text{Mediterranean}}$) (Obr. 5).



Obr. 5. Pokles aktivity G6PD v erythrocytech u tří běžně se vyskytujících forem tohoto enzymu (upraveno z Harvey a Ferrier 2011).

Erythrocyty jsou bezjaderné buňky, které nejsou schopné proteosyntézy, takže si nemohou doplnit zásobu potřebných proteinů včetně G6PD. Vzhledem k tomu, že jejich funkcí je transport O_2 a CO_2 , jsou často vystaveny tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS). ROS (zejm. H_2O_2 a organické hydroperoxydy) jsou v těchto buňkách odstraňovány **glutathionperoxidasou**, která využívá jako kofaktor redukovaný glutathion, i samotným **glutathionem**. Při odstraňování ROS je glutathion oxidován za vzniku oxidovaného glutathionu. K jeho zpětné redukci je potřeba **glutathionreduktasa**, která používá jako kofaktor právě NADPH. Dalším enzymem, který je závislý na NADPH, je **methemoglobinreduktasa**, která redukuje Fe^{3+} v methemoglobinu na Fe^{2+} za vzniku hemoglobinu. Methemoglobin, který ztrácí schopnost vázat kyslík, vzniká oxidací dvoumocného železa v molekule hemoglobinu na třímocné. V erythrocytech, kde může NADPH vznikat pouze v pentosovém cyklu, způsobí deficit G6PD nedostatek tohoto kofaktoru a díky tomu se sníží i schopnost erythrocytu bránit se proti působení oxidačnímu stresu. Vlivem oxidačního stresu dochází ke změně buněčné struktury erythrocytů, membrány jsou poškozeny lipoperoxidací, hemoglobin precipituje za vzniku Heinzových tělísek (denaturovaný hemoglobin), což se projevuje předčasným rozpadem (hemolýzou) erythrocytů (Obr. 6).

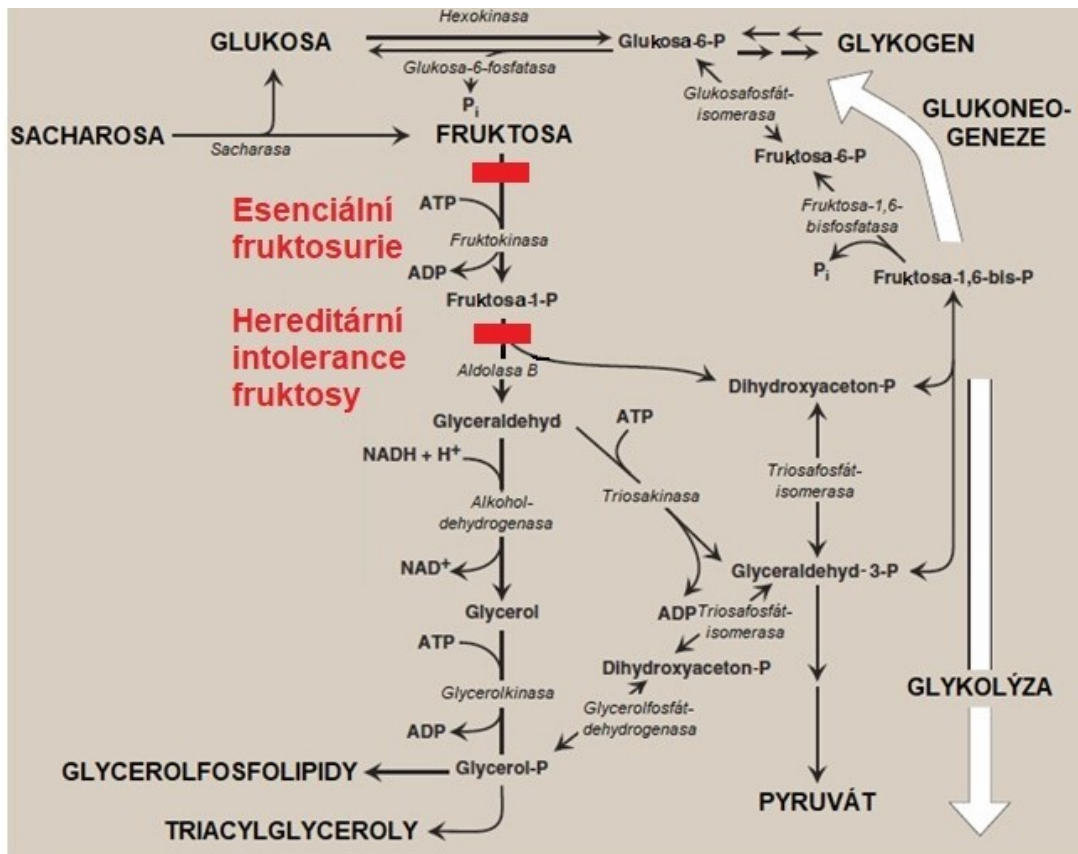
Deficit G6PD se projevuje **hemolytickou anémií**. Příčinou akutní hemolýzy může být infekce, požití bobů rostliny *Vicia faba* (vikev bob), užití některých léků (např. antimalarika primachin a pamachin, sulfonamidy, chloramfenikol, ciprofloxacín a další) a kontakt s některými látkami (naftalen). Všechny tyto příčiny zvyšují úroveň oxidačního stresu v erythrocytech. Akutní hemolýza bývá provázena bolestí zad či břicha, sekundárním ikterem v důsledku vzestupu hladiny nekonjugovaného bilirubinu, přechodnou splenomegalií a hemoglobinurií. Hemolýza se objevuje typicky 24 až 72 hodin po požití bobů/léčiva a k úpravě stavu dochází během 4 až 7 dní. Vzácně je hemolýza natolik závažná, že vyžaduje podání krevní transfuze. Oblast výskytu mutovaného genu se přibližně shoduje s oblastí výskytu malárie (a tedy i srpkovité anémie) a heterozygotům poskytuje určitou **odolnost vůči malárii**.



Obr. 6. Následky deficitu G6PD v erythrocytu (upraveno z Harvey a Ferrier 2011).

Poruchy metabolismu fruktózy

V metabolismu fruktózy byly identifikovány dvě dědičné poruchy. Jedná se o esenciální fruktosurii a hereditární intoleranci fruktózy (Obr. 7).



Obr. 7. Metabolismus fruktosy a jeho defekty (upraveno z Harvey a Ferrier 2011).

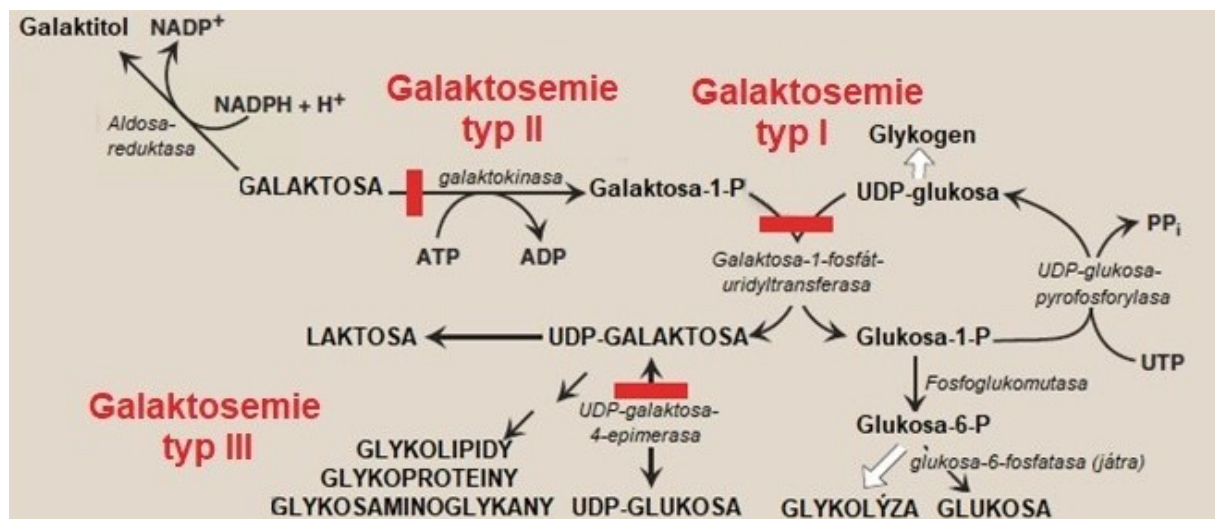
Esenciální fruktosurie, která je způsobena **deficitem fruktokinasy**, je neškodná metabolická odchylka. Je charakterizována vylučováním fruktosy močí po požití jídla obsahujícího tento monosacharid. Močí se vyloučí zhruba 10-20 % přijaté fruktosy a zbytek se pomalu metabolizuje alternativními drahami (zejm. hexokinásou ve svalu a v tukové tkáni). Toto onemocnění je děděno autosomálně recesivně. Zavedení dietních opatření není potřeba a prognóza pacientů je výborná.

U **hereditární intolerance fruktosy** může požití fruktosy vyvolat okamžité gastrointestinální obtíže se zvracením a těžkou hypoglykemií, při trvalém příjmu hrozí selhání jater a ledvin a *i.v.* podání fruktosy ohrožuje pacienta na životě. Příčinou tohoto onemocnění je **deficit aldolasy B**, která štěpí fruktosa-1-fosfát na D-glyceraldehyd a dihydroxyacetonfosfát. Díky vysoké aktivitě fruktokinasy se hromadí fruktosa-1-fosfát, který inhibuje glukoneogenezi a glykogenolýzu (alosterická inhibice jaterní fosforylasy), čímž vyvolává hypoglykemií. Navíc vyvolává nadměrnou spotřebu a tím depleci ATP a anorganického fosfátu, který slouží k regeneraci ATP. Díky vyčerpání anorganického fosfátu se ve zvýšené míře tvoří kyselina močová (degradační produkt AMP) a dochází k sérii poruch (např. inhibice proteosyntézy, ultrastrukturní léze), které jsou zodpovědné za poškození funkce ledvin a jater. V důsledku hromadění fruktosa-1-fosfátu dochází k inhibici fosfomanosaisomerasy, která se projeví defekty v glykosylaci proteinů. Terapie sestává z okamžitého vyloučení všech zdrojů fruktosy (fruktosa, sacharóza, sorbitol) ze stravy. Sacharosa by měla být nahrazena glukosou, maltosou

a/nebo škrobem. Při dodržování dietních opatření je prognóza výborná s normálním růstem, inteligencí i délkou života.

Poruchy metabolismu galaktosy

Neschopnost metabolizovat galaktosu se vyskytuje u **galaktosemií**, které mohou být vyvolané dědičnými defekty galaktokinasy, galaktosa-1-fosfáturidytransferasy nebo UDP-galaktosa-4-epimerasy (Obr. 8). Všechny defekty jsou děděny autosomálně recesivně.



Obr. 8. Metabolismus galaktosy a jeho defekty (upraveno z Harvey a Ferrier 2011).

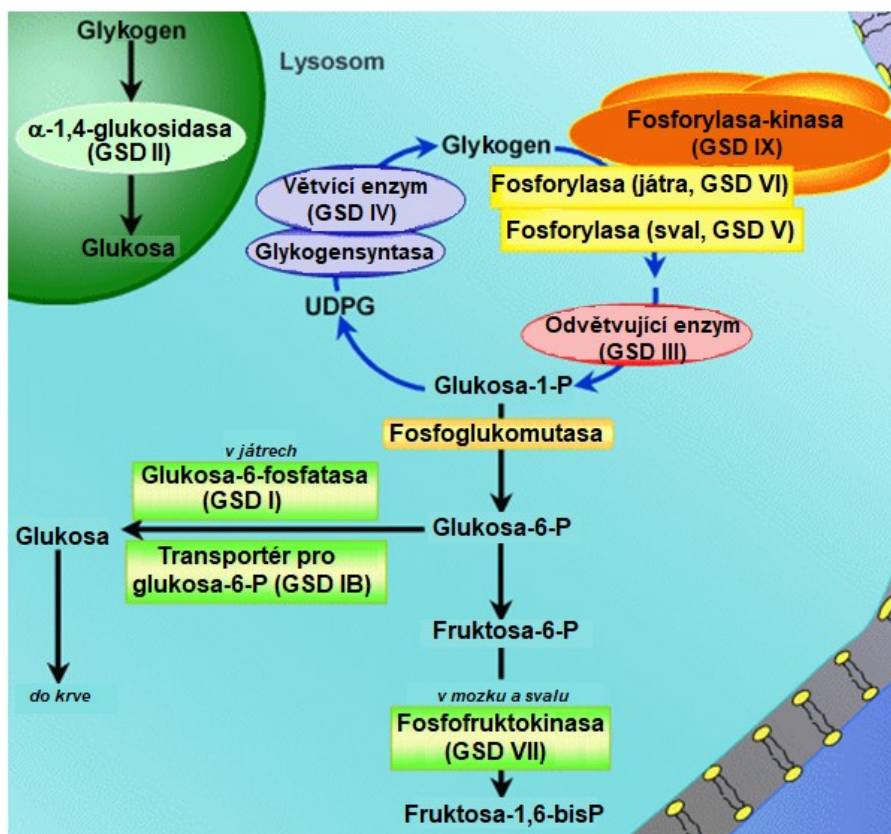
Defekt galaktosa-1-fosfáturidytransferasy je neznámější a také nejzávažnější. Označuje se jako typ I či jako **klasická galaktosemie**. Jedinci s tímto deficitem dokáží fosforylovat galaktosu, ale nejsou schopni metabolizovat galaktosa-1-fosfát. Galaktosa a galaktosa-1-fosfát se hromadí a metabolizují se alternativními drahami na galaktitol a galaktonát. Galaktitol vzniká působením aldosareduktasy v oční čočce a jeho hromadění vyvolává kataraktu již po několika dnech života jedince. Galaktosa-1-fosfát způsobuje v játrech nedostatek anorganického fosfátu, jehož důsledkem je selhání jater a mentální poškození. U kojenců s kompletním či téměř kompletním deficitem se symptomy tohoto onemocnění objevují již několik dní po narození a zahrnují odmítání stravy, zvracení, ikterus a letargii. Později se může přidat hepatomegalie, ascites, otoky a cirrhosa jater. Je zde vysoká četnost neonatálního úmrtí v důsledku sepse vyvolané *E. coli*. Terapie zahrnuje dietní opatření s okamžitým vyloučením laktosy ze stravy. Pokud je laktosa vyloučena ze stravy velmi časně, symptomy okamžitě mizí a je možné zabránit cirrhose jater.

Deficit galaktokinasy, při kterém není galaktosa fosforylována, je vzácnější formou galaktosemie, ale závažnější než typ I, protože se u něj katarakta rozvíjí bez dalších symptomů intolerance. Galaktosa je z organismu vylučována buď přímo, nebo ve formě galaktitolu (zodpovědný za vznik katarakty). Léčba může být omezena na vyloučení mléka ze stravy, malé zdroje galaktosy lze ignorovat (léky v tabletové formě, mléčné výrobky atd.). Pokud je diagnóza stanovena rychle a léčba zahájena okamžitě, může katarakta úplně vymizet.

Pacienti s **deficitem UDP-galaktosa-4-epimerasy** nejsou schopni přeměňovat UDP-galaktosu na UDP-glukosu a naopak. Byly popsány dvě formy tohoto onemocnění. Kompletní deficit tohoto enzymu je extrémně vzácný a klinické projevy jsou podobné jako u klasické galaktosemie. Pacienti jsou závislí na příjmu galaktosy potravou, protože si ji nejsou schopni syntetizovat z UDP-glukosy. Při nadměrném příjmu galaktosy potravou se hromadí nezpracovaná UDP-galaktosa a galaktosa-1-fosfát, který vyvolává stejné poškození orgánů jako u klasické galaktosemie. Naopak při nižším příjmu galaktosy, než je aktuální potřeba, se objevují poruchy glykosylace proteinů a lipidů a syntéza glykosaminoglykanů. Léčba je velice obtížná a u dětí s touto poruchou dochází k opoždění psychomotorického vývoje. Častěji se vyskytuje parciální deficit, který je obvykle benigní a nevyžaduje léčebný zásah.

Glykogenosy

Dědičné metabolické poruchy s **deficitem aktivity enzymu degradace a syntézy glykogenu, nebo transportního proteinu** jsou označovány jako glykogenosy. Tato onemocnění jsou charakterizována **abnormální strukturou glykogenu nebo jeho abnormálním obsahem v tkáních**. Většina glykogenos je děděna autosomálně recesivně kromě typu IX, kde je dědičnost vázaná na X-chromosom. Glykogenosy jsou (přes určitý překryv) klasifikovány podle zasaženého orgánu na jaterní, svalové a generalizované. Jsou označeny římskými číslicemi, které odrážejí historickou posloupnost jejich objevení, jménem defektního enzymu, nebo jménem autora prvního popisu daného onemocnění (Obr. 9, Tab. 1).



Obr. 9. Glykogenosy (upraveno z Corriel Institute 2018)

Mezi **jaterní glykogenosy** (GSD) patří von Gierkeho nemoc (GSD I), jaterní forma Coriho nemoci (GSD III), Andersenova nemoc (GSD IV), Hersova nemoc (GSD VI), jaterní formy GSD IX a GSD 0. GSD I, III, VI a IX mají podobné projevy s hypoglykemií, výraznou hepatomegalií a opožděním růstu. Nejzávažnější jaterní glykogenosou je **von Gierkeho nemoc** (GSD I), která je vyvolána **deficitem glukosa-6-fosfatasy**. Nahromaděný glukosa-6-fosfát aktivuje glykogensynthasu, takže převládá syntéza glykogenu. Tím, že z glukosa-6-fosfátu nemůže vzniknout glukosa, dochází k těžké hypoglykémii. Zhruba polovina postižených v důsledku choroby zemře. U **Coriho nemoci** (GSD III, limitní dextrinosa) **chybí odvětvující enzym**, takže štěpení glykogenu se zastavuje v místech větvení. Okleštěná molekula se nazývá limitní dextrin a má abnormální složení – kratší větve s relativně častějšími vazbami $\alpha(1\rightarrow6)$. Nemožnost využít části molekuly glykogenu vyvolává mírnou hypoglykémii. Z hlediska přežití má tento typ poměrně příznivou prognózu. **Andersenova nemoc** (GSD IV, amylopektinosa) je způsobena **deficitem větvičího enzymu**. Glykogensynthasa není postižena, takže vzniká atypický glykogen s abnormálně dlouhými větvemi a s malým počtem větvících bodů, který připomíná rostlinný amylopektin. Toto onemocnění se manifestuje obvykle v kojeneckém věku nebo v časném dětství jako jaterní selhání s cirrhosou, která vede k terminálnímu postižení jater. Smrt nastává obvykle do dvou let od narození. **Hersova nemoc** (GSD VI), vyvolaná **deficitem jaterní glykogenfosforylasy**, a **deficit fosforylasy-kinasy** (GSD IX) jsou nejméně závažné. Pacienti mají jen mírný sklon k hypoglykémii nalačno a v dospělosti dosahují normální výšky. U **GSD 0** je kvůli **deficitu glykogensynthasy** postižena syntéza glykogenu. Onemocnění se projevuje v kojeneckém věku a v časném dětství hypoglykemií a ketosou nalačno a postprandiální hyperglykemií a hyperlaktacidemií.

Léčba jaterních glykogenos je primárně dietní a jejím cílem je zabránit vzniku hypoglykemie a potlačit sekundární metabolickou dekompenzaci. To obvykle vyžaduje časté krmení přes den a u typů GSD I a GSD III i kontinuální noční krmení nasogastrickou sondou.

Svalové glykogenosy jsou charakterizovány intolerancí cvičení s myalgií a svalovými křečemi vyvolanými cvičením, které jsou často provázeny následnou rhabdomyolýzou a myoglobinurií. Patří mezi ně McArdleova nemoc (GSD V), Taruiho nemoc (GSD VII), GSD X, GSD XI, GSD XII, GSD XIII a GSD XV. Všechny symptomy v klidu mizí. **McArdleova nemoc** (GSD V) je způsobena **deficitem svalové glykogenfosforylasy**. Svaly tedy nedokáží svůj glykogen využít a nejsou schopny většího výkonu. Tato choroba je relativně mírná. U **Taruiho nemoci** chybí **svalová fosfofruktokinasa**. Tento deficit brání volnému průběhu glykolýzy ve svalech, hromadí se fruktosa-6-fosfát a glukosa-6-fosfát, což vede ke zvýšené syntéze glykogenu ve svalech. Ostatní zmíněné typy GSD jsou velmi vzácné a nebudeme je dále rozebírat. V případě svalových glykogenos neexistuje specifická léčba.

Mezi **generalizované glykogenosy** patří **Pompeho nemoc** (GSD II), která je provázena **deficitem lyzozomální α -glukosidasy** (též kyselá maltasy). Na rozdíl od ostatních glykogenos, u kterých dochází ke stádání glykogenu v cytoplasmě, patří Pompeho nemoc mezi lyzozomální stádavé choroby. Normálně je glykogen, který se dostane do lyzozomu, degradován na

glukosu, která může difundovat přes membránu, zatímco u tohoto onemocnění se lyzosity plní glykogenem. Mimo lyzosity je metabolismus glykogenu normální. Choroba má několik různě závažných forem, z nichž nejtěžší juvenilní forma končí smrtí již v prvním roce života. Onemocnění je vždy provázeno svalovou slabostí a často končí kardiopulmonálním či respiračním selháním. K léčbě GSD II může být využita enzymová substituční terapie s použitím rekombinantní lidské α -glukosidasy. Paliativní léčba zahrnuje podporu dýchání, aerobní cvičení a stravu bohatou na proteiny.

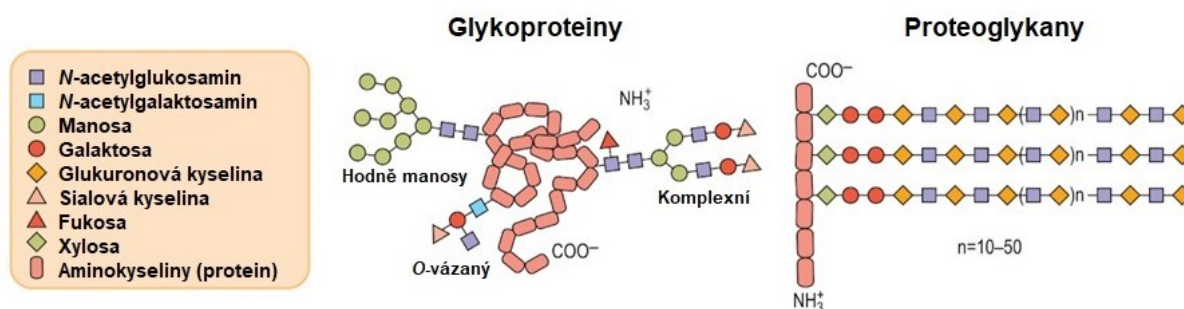
Tab. 1. Přehled glykogenos a jejich hlavní klinické příznaky

Typ	Název	Enzymový defekt	Postižená tkáň	Klinické symptomy
0	-	Glykogensynthasa	Játra, svaly	Hypoglykémie, ketóza, svalové křeče (laktát)
I	von Gierke	Glukosa-6-fosfatasa	Játra, ledviny	Hepatomegalie, těžká hypoglykemie, laktátová acidóza, hyperurikemie, ketóza, hyperlipidemie
II	Pompe	1,4-glukosidasa (lyzosomální)	Játra, srdce, svaly	Srdeční selhání v dětství (~ 2 roky)
III	Cori	Odvětvující enzym	Játra, svaly	Podobný typu I, mírnější
IV	Andersen	Větvící enzym	Játra	Cirhóza jater, smrt obvykle do 24 měsíců
V	McArdle	Glykogenfosforylasa	Svaly	Svalové křeče, snadná únavnost
VI	Hers	Glykogenfosforylasa	Játra	Podobný typu I, mírnější
VII	Tarui	Fosfofruktokinasa	Svaly	Podobný typu V
IX	-	Fosforylasa-kinasa	Játra	Mírná forma, hepatomegalie, ketóza, zpomalení růstu, hypoglykemie
X	-	Fosfoglycerátmutasa	Svaly	Svalové křeče
XI		Laktátdehydrogenasa A	Svaly	Svalové křeče, únavnost a bolest při cvičení, rhabdomyolýza
XII	-	Aldolasa A	Erytrocyty	Hemolytická anemie, zmnožený jaterní glykogen
XIII	-	Enolasa 3	Svaly	Myalgie, svalová slabost a únavnost
XV	-	Glykogenin-1	Svaly, srdce	Svalová slabost, srdeční arytmie

Svalové glykogenosy (žlutě označené), jaterní glykogenosy (modře označené), generalizované glykogenosy (červeně označené)

Metabolismus glykoproteinů a proteoglykanů a jeho poruchy

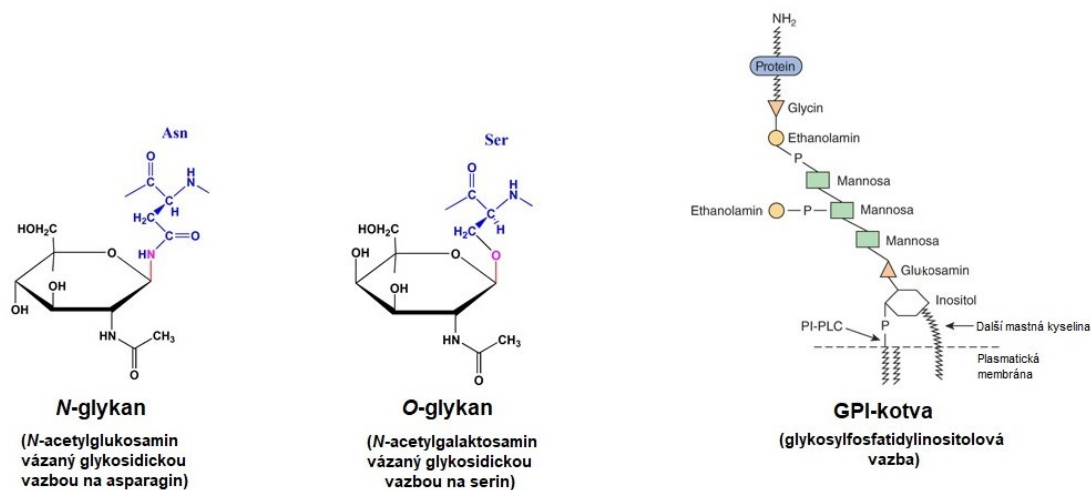
Glykoproteiny (mukoproteiny) a proteoglykany (mukopolysacharidy) patří mezi komplexní sacharidy. Základní rozdíly v jejich struktuře jsou shrnuty v Obr. 10.



Obr. 10. Obecná struktura glykoproteinů a proteoglykanů (upraveno z Baynes a Dominiczak 2014)

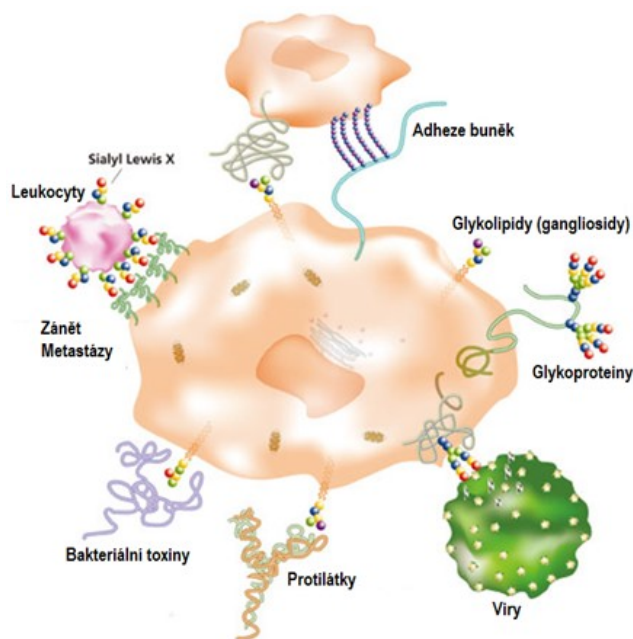
Struktura a funkce glykoproteinů

Glykoproteiny jsou obvykle membránové proteiny nebo proteiny secernované z buňky obsahující cukernou složku, která je připojená jako krátká nebo dlouhá větev či nevětvený oligosacharidový řetězec. Tyto látky mají neutrální charakter a váhový podíl sacharidů nepřevyšuje podíl proteinu. Jedná se o nejčastější posttranslační modifikaci proteinů (zhruba 50 % eukaryotických proteinů má na sobě navázané oligosacharidy). **Glykosylace**, enzymové připojení sacharidových zbytků (neplést s glykací!), je katalyzováno **glykosyltransferasami**. Připojené cukerné řetězce (**glykany**) jsou kratší a obvykle jsou složeny ze 2-10 cukerných zbytků. Sacharidy jsou na proteinový řetězec připojeny kovalentní glykosidickou vazbou přes amidový dusík asparaginu (**N-glykany**) nebo prostřednictvím hydroxylové skupiny tyrosinu, threoninu nebo hydroxylysinu (**O-glykany**). Některé proteiny jsou v plasmatické membráně kotveny glykosylfosfatidylinositolovými strukturami (**GPI-kotva**). U těchto struktur je na vnější straně plasmatické membrány zanořený fosfatidylinositol s navázanými mastnými kyselinami a ten je spojen přes *N*-acetylglukosamin s glykanovým řetězcem, který je připojen amidovou vazbou fosfatidylethanolaminu na C-koncový aminokyselinový zbytek proteinu (Obr. 11). Počet glykanů připojených k jednomu řetězci proteinu kolísá od 1 do 30 i více. Glykany nejčastěji obsahují těchto osm cukerných zbytků: glukosu, galaktosu, manosu, *N*-acetylglukosamin, *N*-acetylgalaktosamin, xylosu, fukosu a *N*-acetylneuraminovou kyselinu (obvykle na koncích oligosacharidových řetězců). Pořadí cukerných zbytků je obdobou sekvence nukleotidů v DNA/RNA či aminokyselin v proteinech.



Obr. 11. Různé typy připojení glykanových řetězců na proteiny (upraveno z Wikimedia Commons 3, Wikimedia Commons 4 a Murray et al. 2012)

Glykoproteiny plní v organismu celou řadu funkcí (Obr. 12). Ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti proteinů, jako jsou rozpustnost, náboj, viskozita, konformace, denaturace, vazebná místa pro různé molekuly, bakterie, viry a některé parazity. Chrání proteinovou část před proteolýzou uvnitř i vně buňky. Ovlivňují proteolytický sestřih prekurzorových proteinů na menší produkty. Uplatňují se v biologických aktivitách jako hormony (např. lidský choriogonadotropin) či enzymy (např. hydrolasy, proteasy, glykosidasy, faktory hemokoagulace). Ovlivňují inserci do membrán, intracelulární transport, třídění a sekreci. Ovlivňují embryonální vývoj diferenciací. Umožňují interakci s lektiny. Slouží jako strukturální molekuly (např. kolagen, elastin, fibriny, kostní matrix). Pořadí cukerných zbytků v glykanech některých glykoproteinů na povrchu erytrocytů rozhoduje o krevní skupině.



Obr. 12. Různé biologické procesy zprostředkované glykany na povrchu buněk (upraveno z Tsuji 2011).

Mezi glykoproteiny s *O*-vázanými oligosacharidovými řetězci patří mimo jiné **muciny**. **Sekreční muciny** se nacházejí v hlenu přítomném v sekretech GIT, respiračního a reprodukčního traktu (94 % vody, 5 % mucinů, zbytek tvoří směs elektrolytů, zbytků buněk a dalších látek). Tento hlen má vysokou viskozitu a často tvoří gel. Funkcí mucinů je zvlhčovat a tvořit ochrannou fyzikální bariéru na povrchu epitelu. **Membránově vázané muciny** se účastní různých mezibuněčných interakcí (např. selektiny - zánět). Muciny často maskují určité povrchové antigeny, např. nádorové buňky tvoří nadměrné množství mucinů, které je mohou ochránit před imunitní kontrolou. Muciny nesou specifické nádorové antigenní determinanty (peptidové a sacharidové epitopy rozpoznávané protilátkou), čehož bylo využito ke stimulaci imunitní odpovědi proti nádorovým buňkám.

N-vázané glykoproteiny jsou často studované, protože tato třída zahrnuje snadno dostupné glykoproteiny (např. plasmatické). Do této třídy patří nejen **cirkulující glykoproteiny**, ale i **glykoproteiny membránově vázané**. *N*-glykanové řetězce mají některé specifické funkce, např. mannosy-6-fosfátové zbytky jsou důležité pro **směrování nově nasyntetizovaných glykoproteinů do organel** (v tomto případě směrování lyzozomálních enzymů z Golgiho komplexu do lyzozomů). Velké *N*-glykanové řetězce se podílejí na **udržení nově nasyntetizovaných glykoproteinů v rozpustném stavu** v lumen endoplasmatického retikula. Jeden typ *N*-glykanových řetězců se účastní **sbalování a zadržování některých glykoproteinů v lumen endoplasmatického retikula**. Na tento typ *N*-glykanů se váže proteiny endoplasmatického retikula kalnexin a kalretikulín, které slouží jako chaperony a lektiny, a tak brání glykoproteinu v agregaci. Na komplex kalnexin-glykoprotein se váže proteindisulfidomerasa ERp57, která katalyzuje tvorbu disulfidových můstků a tak usnadňuje správné sbalení glykoproteinu. Endoplasmatické retikulum pak opouští správně sbalený glykoprotein. Kalnexin a kalretikulín jsou důležitou součástí systému kontroly kvality fungující v lumen endoplasmatického retikula.

Třetí třídou glykoproteinů jsou GPI-struktury, které umožňují zakotvení proteinů do vnější vrstvy plasmatické membrány. Takovýmto způsobem jsou do plasmatické membrány ukotveny např. acetylcholinesterasa (membrány erytrocytů), alkalická fosfatasa (střevní, placentální) či prionový protein (neurony a další typy buněk). Ve srovnání s transmembránovými proteiny umožňuje GPI-kotva **větší pohyblivost proteinů v plasmatické membráně**. Některé GPI-kotvy mohou být **spojené s intracelulárními signálními drahami**. U některých polarizovaných epitelových buněk mohou GPI-kotvy **odesílat některé proteiny do apikálních a basolaterálních domén plasmatické membrány**.

Syntéza glykoproteinů je komplexní proces, který probíhá v endoplasmatickém retikulu a Golgiho komplexu a vyžaduje přítomnost **specifických glykosyltransferas**. Celý proces probíhá v několika fázích. Nejprve jsou v cytoplasmě vytvořeny aktivované sacharidy (např. GDP-mannosa, UDP-glukosa a UDP-*N*-acetylglukosamin), které jsou následně připojeny na dolicholfosfát a vznikající oligosacharidová struktura je odeslána do lumen endoplasmatického retikula. Zde dochází k postupnému **sestavení („assembling“)** glykanu se

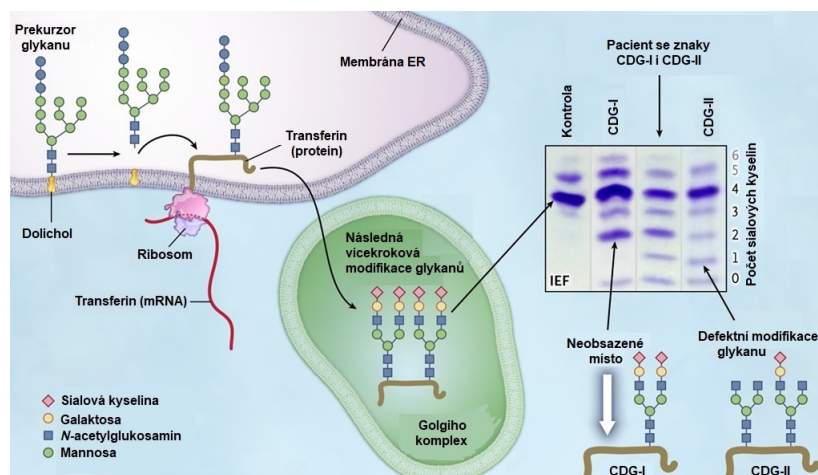
14 cukernými zbytky přidáním dalších sacharidových zbytků. Následuje **přemístění/připojení („processing“)** tohoto prekurzoru k nascentnímu proteinu a transport do Golgiho komplexu, kde dojde ke konečnému zpracování s odstraněním některých sacharidových jednotek a připojením jiných.

Vrozené poruchy glykosylace

Abnormality v syntéze glykoproteinů a glykolipidů se uplatňují v rozvoji celé řady chorobných stavů označovaných souhrnně jako vrozené poruchy glykosylace (CDG). Jedná se o skupinu vzácných onemocnění, která jsou děděna autosomálně recesivně. Dosud bylo identifikováno 75 poruch a rozhodně se nejedná o konečné číslo. Ač jsou jednotlivě vzácná, jejich souhrnná incidence (1 : 20.000) je řadí mezi častá onemocnění. Jedná se o poruchy *N*-glykosylace, *O*-glykosylace, *O*-mannosylace, kombinované poruchy *N*- a *O*-glykosylace a poruchy glykosylace lipidů. Rozlišujeme CDG typu I (poruchy sestavování, „assembling“) a CDG typu II (poruchy transportu, „processing“).

CDG mají **velmi široké spektrum klinických projevů**, zasahují totiž mnoho orgánů a symptomy se u jednotlivých onemocnění liší. Často se projevují jako různé neurologické poruchy, objevuje se u nich dysmorfie obličeje, zpomalený růst, sbíhavé šilhání, poruchy srážení krve, onemocnění jater a GIT.

K **laboratorní diagnostice** se nejčastěji používá **isoelektrická fokusace** s následnou imunofixací, která umožňuje detekci poruch *N*-glykanů (transferin) a umožňuje rozlišit CDG typu I a II (Obr. 13). Pro detekci poruch *O*-glykanů slouží analýza sérového apoCIII pomocí isoelektrické fokusace s následným western blottingem. Pro diagnostiku CDG syndromu lze použít i **turbidimetrické stanovení** relativního poměru mezi celkovým množstvím transferinu a asialovanými, monosialovanými a disialovanými transferiny. Pro přesné určení typu onemocnění je nutná **enzymová analýza** (pokud je pro daný typ CDG dostupná), **strukturní analýza** oligosacharidů vázaných na lipid a/nebo *N*-vázaných glykoproteinů v **kultivovaných fibroblastech** a **molekulárně-genetické vyšetření**.

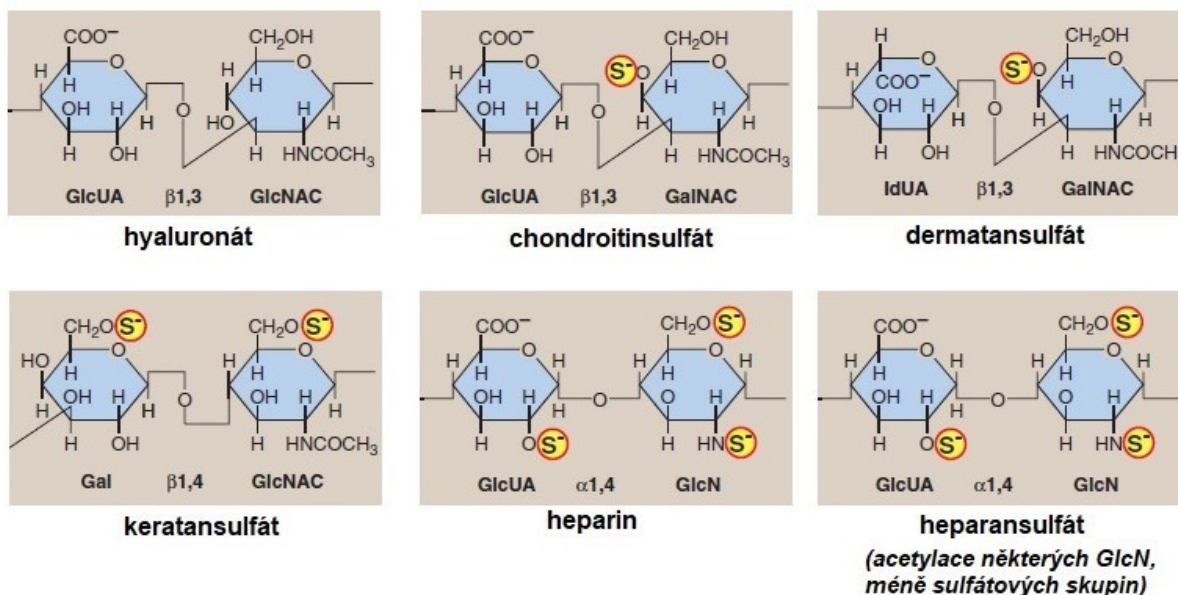


Obr. 13. Biosyntéza glykoproteinů transferinu a laboratorní diagnostika vrozených poruch *N*-glykosylace (upraveno z Tegtmeier et al. 2014).

Struktura a funkce proteoglykanů

Proteoglykany jsou struktury s proteinovým jádrem, na které jsou kovalentně vázány sacharidové jednotky zvané **glykosaminoglykany** (GAG). Dosud bylo popsáno minimálně 30 proteoglykanů (např. agrekan, fibromodulin, dekorin), které se liší tkáňovou distribucí, funkcí a složením (tj. povahou proteinového jádra a připojenými GAGy). Tyto struktury se tvoří významnou část mezibuněčné hmoty (ECM) a zastávají celou řadu biologických funkcí.

Součástí proteoglykanů jsou GAGy, které se však mohou vyskytovat i volně. Zatím bylo identifikováno sedm GAGů: kyselina hyaluronová, chondroitinsulfát, dermatansulfát, keratansulfát I a II, heparin a heparansulfát (Obr. 14). Jedná se o nevětvené polysacharidy složené z opakujících se disacharidových jednotek, které tvoří aminocukr (D-glukosamin, D-galaktosamin) a uronová kyselina (kys. iduronová, galakturonová či glukuronová) s výjimkou keratansulfátu, kde je místo uronové kyseliny přítomná galaktosa. Sulfátová skupina je připojena na všechny GAGy s výjimkou kyseliny hyaluronové a to buď ve formě *O*-esteru, nebo *N*-sulfátu.

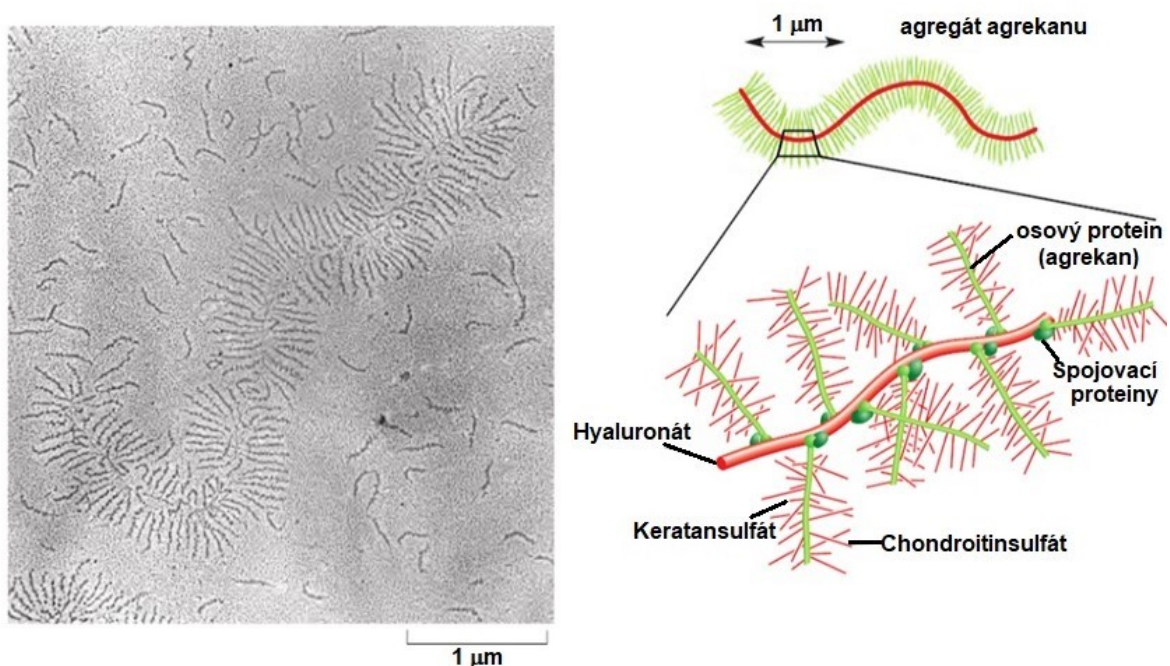


Obr. 14. Struktura známých glykosaminoglykanů (upraveno z Harvey a Ferrier 2011)

GAGy se vzájemně liší svou strukturou, tkáňovou distribucí a biologickou funkcí. **Kyselina hyaluronová** se vyskytuje v bakteriích a v ECM prakticky všech živočišných tkání. Hojná je zejména v hydratovaných tkáních, jako je kůže a pupeční šňůra, dále v kostech, chrupavkách, synoviální tekutině kloubů a ve sklivci oka. Díky její schopnosti přitahovat vodu dochází k rozvolnění ECM, což umožní buňkám během morfogeneze a při hojení poranění migrovat. Vysoká koncentrace kyseliny hyaluronové a chondroitinsulfátu přispívá k elasticitě a odolnosti chrupavek vůči tlaku. **Chondroitinsulfáty** (sulfoskupina v pozici 4 nebo 6) jsou hlavní složkou chrupavek a jsou zodpovědné za udržení struktury ECM. Nacházejí se v kosti v místech kalcifikace, kde pravděpodobně váží vápenaté soli. Ve vysokém množství jsou přítomné rovněž v mezibuněčné hmotě CNS, kde kromě strukturální úlohy působí jako signální

molekuly v prevenci opravy nervových zakončení po poranění. **Keratansulfát I a II** se liší ve způsobu připojení na osový protein a jejich distribuce není specifická pro určité tkáně. V oku se nacházejí mezi fibrilami kolagenu a jsou nezbytné pro udržení průhlednosti rohovky. **Dermatansulfát** je přítomen prakticky ve všech tkáních a je hlavním GAGem v kůži. Pravděpodobně se podílí na srážení krve, hojení ran a odolnosti vůči infekci. **Heparin** se nachází v granulech mastocytů a také v játrech, plicích a kůži. Interaguje s plasmatickým antithrombinem a faktory IX a XI krevního srážení, takže působí antikoagulačně. Heparin se specificky váže na lipoproteinovou lipasu ve stěně kapilár a způsobuje uvolnění tohoto enzymu do cirkulace. **Heparansulfát** je přítomný na extracelulárním povrchu celé řady buněk a je asociován s jejich plasmatickou membránou. Působí pravděpodobně jako receptory a podílí se zřejmě na buněčném růstu a mezibuněčné komunikaci. Spolu s kolagenem typu IV a lamininem je přítomen rovněž v bazální membráně ledvin, kde určuje nábojovou selektivitu při glomerulární filtraci. Některé GAGy se používají v terapii jako léčiva – k léčbě osteoartrózy se používají kyselina hyaluronová a chondroitinsulfát (dále též glukosaminsulfát a glukosaminhydrochlorid); heparin a heparansulfát (heparinoidy – např. danaparoid) působí jako antitrombotika a snižují krevní srážení.

Proteoglykany jsou komplexní molekuly se složitou strukturou a obsahují větší množství sacharidů než glykoproteiny a to až 95 % své hmotnosti. Proteiny, které jsou kovalentně připojené ke GAGům, se nazývají osovými proteiny. Struktura proteoglykanu agrekanu, který se vyskytuje v chrupavkách kostí, je na Obr. 15. Jeho molekula připomíná kartáč na lahve – obsahuje dlouhé řetězce kyseliny hyaluronové s nekovalentně připojenými spojovacími proteiny. Ty nekovalentně interagují s osovými proteiny, na které jsou napojené řetězce GAGů keratansulfátu a chondroitinsulfátu. Díky velkému počtu připojených sulfátových skupin mají proteoglykany často záporný náboj.



Obr. 15. Struktura proteoglykanu agrekanu (upraveno z Alberts et al. 2007)

Proteoglykany se vyskytují ve všech tkáních těla a to zejména v ECM, kde asociují navzájem a specifickým způsobem také s dalšími strukturními složkami (např. kolagenem a elastinem). Interakce proteoglykanů s kolagenem a elastinem jsou důležité pro určení strukturní organizace matrix ECM. Některé proteoglykany interagují s adhezivními proteiny ECM (laminin, fibronektin, vitronektin). Jiné jsou schopné vázat růstové faktory (např. TGF- β) a tím ovlivňovat jejich účinek na buňky. Díky záporným nábojům GAGů jsou proteoglykany polyanionty, které váží polykationty (např. Na⁺, K⁺) a tak přitahují do ECM osmotickým tlakem vodu a přispívají k jejímu turgoru. Díky struktuře GAGů a jejich schopnosti vytvářet již při nízkých koncentracích gel působí proteoglykany jako filtr, který umožňuje relativně volnou difuzi malých molekul a omezuje vstup velkých makromolekul do ECM. Ve srovnání s proteiny zabírají proteoglykany v matrix ECM díky své struktuře a schopnosti tvořit agregáty větší objem.

Mukopolysacharidosy

Mukopolysacharidosy (MPS) jsou heterogenní skupinou onemocnění vyvolaných **deficitem některého enzymu odbourávajícího GAGy**. Degradace GAGů probíhá v lyzozomech postupným působením celé řady hydrolas, která zahrnují **endoglykosidasy**, **exoglykosidasy** a **sulfatasy**. Při deficitu některého enzymu dochází ke stádání nerozložených a neodstraněných GAGů uvnitř lyzozomu buněk četných tkání (např. játra, slezina, kosti, kůže, CNS). Tato onemocnění, která patří mezi lyzozomální stádavé poruchy, jsou děděna nejčastěji autosomálně recesivně s výjimkou Hunterovovi nemoci, jejíž dědičnost je vázána na chromosom X.

Do současné doby bylo identifikováno sedm MPS, z nichž některé mají několik podtypů. Klinické projevy jsou značně různorodé a závisí na typu konkrétního defektu (Tab. 2). Souhrn hlavních znaků MPS zahrnuje chronický progresivní průběh onemocnění, multiorganové poškození, častá organomegalie (např. splenomegalie, hepatomegalie), závažné abnormality skeletu, faciální dysmorfie, dále abnormality sluchu, zraku, kardiovaskulárního systému a mentálního vývoje. Může dojít ke zkrácení předpokládané délky života či k regresi psychomotorického vývoje.

Podle zbytkové aktivity **defektní α -L-iduronidasy** se rozlišují tři typy MPS I, které se označují jako **syndrom Hurlerové**, **syndrom Hurlerové-Scheie** a **syndrom Scheie**. Nejtěžší formou je syndrom Hurlerové, kde je zbytková aktivita tohoto enzymu prakticky nulová. V důsledku enzymového defektu se hromadí dermatan- a heparansulfát. Toto onemocnění se projevuje malým vzrůstem postižených, hepatosplenomegalií a závažnou kraniofaciální dysmorfii. Díky hrubým rysům v obličeji bylo toto onemocnění označováno jako gargoylismus (gargoyl = chrlič). U pacientů se často opakují ORL infekce a infekce dýchacích cest. Kompletní klinický obraz onemocnění se zpravidla rozvíjí ve 2.-3. roce života. Objevují se kostní deformity až dysostosis multiplex, progresivní poruchy učení, zpomalení psychomotorického vývoje a progresivní ztráta osvojených dovedností. Častá je hluchota

následkem opakovaných infekcí uší a zákal rohovky. Ve školním věku se přidává kardiomyopatie a postižení chlopní. Neléčení pacienti umírají před dosažením 10 let věku na kardiopulmonální onemocnění. Syndrom Hurlerové-Scheie a syndrom Scheie jsou lehčí formy MPS I s částečným deficitem enzymu, u nichž bývá postižení skeletu i intelektu menšího rozsahu. K léčbě MPS I se používá transplantace hematopoetických kmenových buněk a enzymová substituční terapie.

Hunterův syndrom je jedinou MPS s gonosomálně recesivní dědičností (postižení pouze chlapci). Toto onemocnění je vyvoláno **deficitem iduronát-2-sulfatasy** s následným hromaděním dermatan- a heparansulfátu, které se v nadbytku vylučují močí. MPS II má mnoho společných symptomů s MPSI. Typická je přítomnost modrých mongolských skvrn na kůži, pupeční či tříselná kýla, změny vzhledu obličeje, vystouplé břicho opakující se infekce dýchacích cest a uší (může vést ke hluchotě), chronická rýma a psychomotorická retardace. U těžších forem onemocnění se objevují poruchy chování s hyperaktivitou, které se stoupajícím věkem mizí (ztráta fyzických i psychických sil). Neléčení pacienti umírají obvykle kolem 15 let věku na srdeční selhání. Mezi používané léčebné přístupy patří enzymová substituční terapie a transplantace hematopoetických kmenových buněk či kostní dřeně.

Syndrom Sanfilippo je poruchou katabolismu heparansulfátu s primárním postižením CNS. Podle defektního enzymu dělíme tento syndrom na čtyři podtypy (MPS IIIA **sulfamidasa**; IIIB **α -N-acetylglukosaminidasa**; IIIC **α -glukosaminid-N-acetyltransferasa**; IIID **N-acetylglukosamin-6-sulfatasa**). Jedná se o velmi závažná onemocnění, která jsou dosud neléčitelná. Onemocnění má tři fáze. V první fázi (předškolní děti) dochází k opoždění vývoje, poruchám sluchu a řeči. Dítě je sociálně méně přizpůsobivé a vzhledem k normálnímu vzhledu je diagnosa stanovena většinou velmi pozdě. V druhé fázi (3-10 let věku) jsou děti extrémně hyperaktivní, neklidné, objevují se poruchy chování a poruchy spánku (spí 2-4 hodiny denně), dostavuje se inkontinence. V poslední fázi dochází k progresivní ztrátě osvojených dovedností s postupnou deteriorací do vegetativního stavu. Průměrný věk dožití je 14 let.

U **syndromu Morquio** existují dva podtypy podle zasaženého enzymu (IVA **galaktosamin-6-sulfatasa**; IVB **β -galaktosidasa**). U obou typů se hromadí keratansulfát, v případě MPS IVA navíc ještě chondroitin-6-sulfát. Onemocnění je charakterizováno závažnými kostními deformitami (kostní dysplazie, vychýlení obratlů s kompresí míchy a ochrnutím), malým vzrůstem (95-105 cm), velkou kazivostí zubů, postižením rohovky a možnou ztrátou sluchu. Inteligence je normální a CNS není postižen. Léčba je obtížná – transplantace hematopoetických buněk není doporučena a enzymová substituční terapie je ve fázi výzkumu.

Syndrom Maroteaux-Lamy (MPS VI) je způsoben **deficitem N-acetylgalaktosamin-4-sulfatasy**, v důsledku čehož se hromadí dermatansulfát. Somatické rysy nemocných nápadně připomínají MPS I ovšem bez výraznějšího postižení intelektu. Objevuje se kraniofaciální dysmorfie, deformity skeletu, hepatosplenomegalie, kardiomyopatie a postižení chlopní. Je dostupná enzymová substituční terapie.

Syndrom Sly (MPS VII) je vyvolán **deficitem β -glukuronidasy**, která normálně odštěpuje kyselinu glukuronovou od dermatansulfátu, heparansulfátu i chondroitinsulfátu (4- i 6-sulfátu). U nemocných se všechny čtyři GAGy hromadí a jsou ve zvýšené míře exkretovány močí. Z klinického hlediska se jedná o značně variabilní poruchu, která se nejčastěji projevuje jako hydrops fetalis. U pacientů, kteří přežijí těhotenství, je klinický obraz podobný MPS I, ale intelekt nebývá zasažen.

Nejvzácnější MPS je **syndrom Natowicz** (MPS IX), který byl poprvé popsán až v roce 1996. Onemocnění je způsobeno **deficitem hyaluronidasy I** a dochází u něj k hromadění kyseliny hyaluronové v tkáních. Mezi klinické projevy patří bolesti a otoky kloubů, změny pojivové tkáň (zmnožení) a mírná kraniofaciální dysmorfie. Intelekt je normální a zrakové funkce nejsou zasaženy.

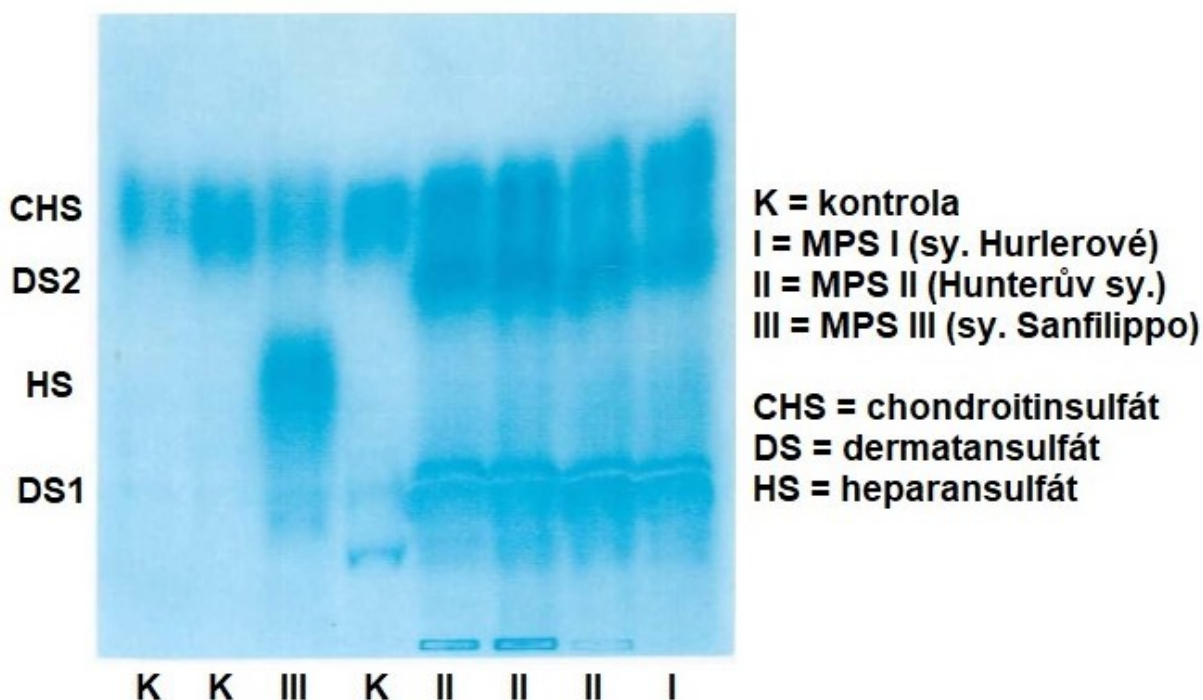
Tab. 2. Přehled mukopolysacharidos a jejich hlavních klinických příznaků

Název	Typ	Enzymový defekt	Hromaděný GAG	Klinické symptomy
Hurlerová, Hurlerová-Scheie, Scheie	MPS I	α -L-iduronidasa	DS, HS	hepatosplenomegalie, postižení CNS s regresem, dysostosis multiplex, dysmorfické rysy, oční symptomy, onemocnění srdce
Hunter	MPS II	iduronát-2-sulfatasa	DS, HS	jako MPS I, kožní symptomy
Sanfilippo	MPS IIIA	sulfamidasa	HS	Postižení CNS s regresem, dysostosis multiplex (+/-), dysmorfické rysy (+/-)
	MPS IIIB	α -N-acetylglukosaminidasa		
	MPS IIIC	α -glukosaminid-N-acetyltransferasa		
	MPS IIID	N-acetylglukosamin-6-sulfatasa		
Morquio	MPS IVA	N-acetylgalaktosamin-4-sulfatasa	KS	Dysostosis multiplex, onemocnění srdce
	MPS IVB	β -galaktosidasa		
Maroteaux-Lamy	MPS VI	N-acetylgalaktosamin-4-sulfatasa	DS	Hepatosplenomegalie, dysostosis multiplex, dysmorfické rysy, oční symptomy, onemocnění srdce
Sly	MPS VII	β -glukuronidasa	HS, DS	Hydrops fetalis, jako MPS I
Natowicz	MPS IX	hyaluronidasa I	HA	Mírné dysmorfické rysy, zmnožení vaziva, bolesti kloubů

MPS, mukopolysacharidosa; GAG, glykosaminoglykan; DS, dermatansulfát; HS, heparansulfát; KS, keratansulfát; HA, kyselina hyaluronová

Oční symptomy – zákaly rohovky a oftalmoplegie; dysostosis multiplex – kostní dysplazie se zhrubnutím obličejových rysů typická pro MPS

K **laboratorní diagnostice** těchto onemocnění se nejčastěji používá analýza moči. U kvantitativní analýzy moči se kolorimetrickou metodou (nejčastěji s dimethylmethylenovou modří) stanovuje množství vylučovaných GAGů s ohledem na věk pacienta, protože množství exkretovaných GAGů se s věkem snižuje (dospělí jedinci vylučují méně než novorozenci). Kvalitativní analýza se používá k určení jednotlivých exkretovaných GAGů a provádí se buď pomocí tenkovrstvé chromatografie, nebo elektroforézy (Obr. 16). Elektroforézou je možné analyzovat GAGy i v tkáňové biopsii. V leukocytech a fibroblastech je stanovována katalytická aktivita příslušného enzymu. K potvrzení diagnózy se využívá analýza DNA. U většiny MPS je dostupná prenatální diagnostika s použitím buněk plodové vody či biopsie choriových klků.



Obr. 16. Analýza exkrece dermatansulfátu a heparansulfátu v moči (převzato z Ledvinová 2015).

Léčba MPS je obtížná a často je dostupná pouze **symptomatická léčba**, která umožňuje zmírnit následky onemocnění. Pacienti jsou v péči celé řady specialistů (např. ortopedů, stomatologů, otorinolaryngologů, kardiologů, očních lékařů, pneumologů, neurologů), kteří zajišťují ortopedickou korekci kostních změn, dechovou rehabilitaci, oční a sluchové korekce či medikamentózní léčbu nespavosti či hyperaktivity. Celková léčba je velmi nákladná (často se pohybuje v milionech Kč/rok) a jednotlivé léčebné přístupy se volí podle typu onemocnění, věku pacienta, závažnosti a typu klinických obtíží. Mezi další terapeutické přístupy používané v léčbě MPS patří transplantace hematopoetických buněk, substrát-redukční terapie (SRT) a enzymová substituční terapie (ERT). **Transplantace hematopoetických kmenových buněk** se využívá k léčbě MPS I a MPS VI, přináší však s sebou riziko vzniku reakce štěpu proti hostiteli, která ohrožuje život pacienta. Při **enzymové substituční terapii** je defektní enzym

nahrazen lidským rekombinantním enzymem, který je podáván infuzí v pravidelných intervalech (obvykle 1x týdně) a to po celý život. ERT je zatím dostupná k léčbě MPS I, II a VI, ale zkouší se i u MPS IV a VII. Nevýhodou tohoto typu léčby je, že rekombinantní enzym neprochází hematoencefalickou bariérou, a díky tvorbě protilátek proti podávanému enzymu může dojít k anafylaktické reakci. **Substrát-redukční terapie** je založená na působení malých molekul, jež přímo inhibují klíčový enzym zapojený do biosyntézy hromadícího se substrátu. Příkladem může být použití flavonoidu genisteinu u MPS III, kde tato látka inhibuje proteinkinasovou aktivitu receptoru pro epidermální růstový faktor, která je nutná pro plnou expresi genů kódujících enzymy syntézy GAGů. U tohoto typu MPS, který postihuje především CNS, nepřináší transplantace hematopoetických kmenových buněk ani ERT kýžený efekt.

Použitá literatura

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2007) *Molecular Biology of the Cell*. 5th edition. Garland Science, New York, USA. 1392 pp
- Baynes JW, Dominiczak MH (2014) *Medical Biochemistry*. 4th edition. Elsevier Health Sciences, Edinburg, 658 pp.
- Corriell Institute (2018). Dostupné z: https://www.coriell.org/0/Sections/Collections/NIGMS/gsd_pathway.aspx?PgId=254. [citováno 07-24-2018].
- Dršata J (1983) *Patobiochemie pro farmaceuty*. 1. vydání. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 291 s.
- Fernandes J a kol. (2008) *Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch*. 1. vydání. Triton, Praha, 608 s.
- Harvey R, Ferrier D (2011) *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 5th edition. Wolters Kluwer, Baltimore, 520 pp.
- Holeček M (2006) *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. 1. vydání. Grada, Praha, 286 s.
- Lang F (2009) *Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease*. 1st edition. Springer, Berlin, 2268 pp.
- Ledvinová J (2018) *Lysosomální enzymopatie: dědičné poruchy funkcí lysosomů spojené s hromaděním metabolitů*. Dostupné z: http://www1.lfl.cuni.cz/udmp/web2/students/lys_enz_2011.pdf. [citováno 07-24-2018].
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA (2012) *Harperova ilustrovaná biochemie*, 5. vydání, Galén, Praha, 730 s.
- Tegtmeyer LC, Rust S, van Scherpenzeel M, Ng BG et al. (2014) Multiple phenotypes in phosphoglucomutase 1 deficiency. *N Engl J Med*. 370:533-42.

Tsuji T (2011). Dostupné z: <http://www.cdb.riken.jp/org/en/research/glyco/index.html>. [citováno 09-06-2018].

Wikimedia Commons 1. Dostupné z: https://cs.m.wikipedia.org/wiki/Soubor:Regulation_of_glycogen_metabolism_glucagon.svg. [citováno 09-06-2018].

Wikimedia Commons 2. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Regulation_of_glycogen_metabolism_insulin.svg. [citováno 09-06-2018].

Wikimedia Commons 3. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:N-linked_glycosidic_bond.png. [citováno 09-06-2018].

Wikimedia Commons 4. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:O-linked_glycosidic_bond.png. [citováno 09-06-2018].