

KATABOLISMUS PROTEINŮ, KATABOLISMUS AMINOKYSELIN,

**ORNITHINOVÝ CYKLUS (močovinový cyklus, malý
Krebsův cyklus)**

KATABOLISMUS PROTEINŮ - PROTEOLÝZA

- ❖ Proteiny patří mezi nejdůležitější a současně nejvíce zastoupené biomolekuly lidského těla.
- ❖ Souhrn všech aminokyselin v těle nazýváme **aminokyselinový pool**.
- ❖ Denně se u zdravého dospělého člověka degraduje **proteolýzou** asi 300–500 g proteinů **vlastního těla** na aminokyseliny.
- ❖ Dalším zdrojem aminokyselin jsou proteiny obsažené **v potravě**, které představují přibližně 70–100 g za den.
- ❖ Posledním zdrojem aminokyselin je **biosyntéza neesenciálních aminokyselin**, kterou tělo získá denně 30–40 g aminokyselin.
- ❖ Přibližně stejné množství aminokyselin, jako uvolňuje proteolýza, se procesem **proteosyntézou** zpětně inkorporuje do proteinů.

- ❖ Lidský organismus denně odbourá asi 120 g aminokyselin.
- ❖ řetězec aminokyseliny se rozdělí na aminoskupinu (a ostatní atomy dusíku) a na uhlíkový řetězec – každý z nich má vlastní metabolickou dráhu.
- ❖ Aminokyseliny mohou také sloužit jako **prekurzory** významných látek – např. **biogenních aminů, hemu či purinových a pyrimidinových bází.**

Poločas života proteinů - se u různých typů proteinů výrazně liší.

- ❖ strukturní proteiny jsou trvalejší – mají delší poločas.
- ❖ molekuly mnoha enzymů naopak existují jen velmi krátce – jen několik desítek minut či hodin.

- ❖ **Proteolýza** je kompletní degradace proteinů na **volné aminokyseliny**.
- ❖ V průběhu proteolýzy se uplatňují enzymy proteázy a peptidázy:
 - **trávicí trakt**
 - **lysozomy** – hlavně exogenní prot. a staré organely
 - **proteazomy** – hlavně vnitrobuněčných proteinů

Exopeptidázy:

- ❖ **aminopeptidázy a karboxypeptidázy** – štěpící proteiny / peptidy na koncích jejich řetězců.

Endopeptidázy:

- ❖ **trypsin, chymotrypsin či pepsin** – štěpící vnitřní vazby proteinů / peptidů.

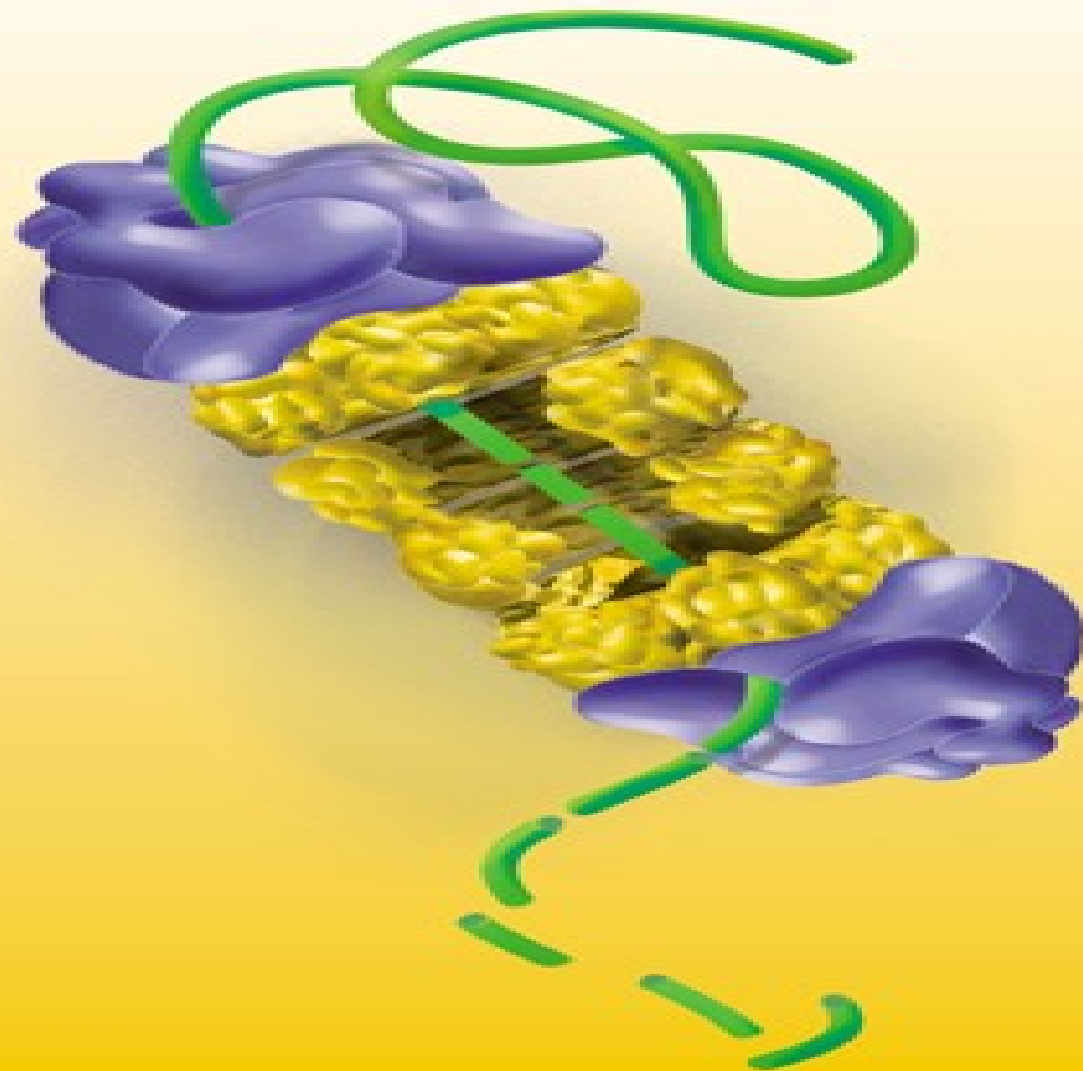
Ubikvitin-proteazomový systém

- ❖ Ubikvitin je malý buněčný protein, který se vyskytuje ve všech eukaryotních buňkách.
- ❖ slouží jako značka, která předurčuje protein k jeho **degradaci v proteazomech**.
- ❖ tento proces nazýváme ubikvitinace (popřípadě polyubikvitinace – pokud je navázáno více molekul ubikvitinu).

PROTEAZOM:

- ❖ je to proteinový komplex uvnitř (v jádře a v cytoplasmě) všech eukar. buněk.
- ❖ jeho funkcí je hydrolytická degradace nepotřebných nebo poškozených vnitrobuněčných proteinů.
- ❖ Některé role proteazomu zřejmě nesouvisí s jeho schopností štěpit proteiny:
 - reguluje transkripci jednotlivých genů
 - angažuje se v opravě DNA a v přestavbě chromatinu.

PROTEASOME



KATABOLISMUS AMINOKYSELIN

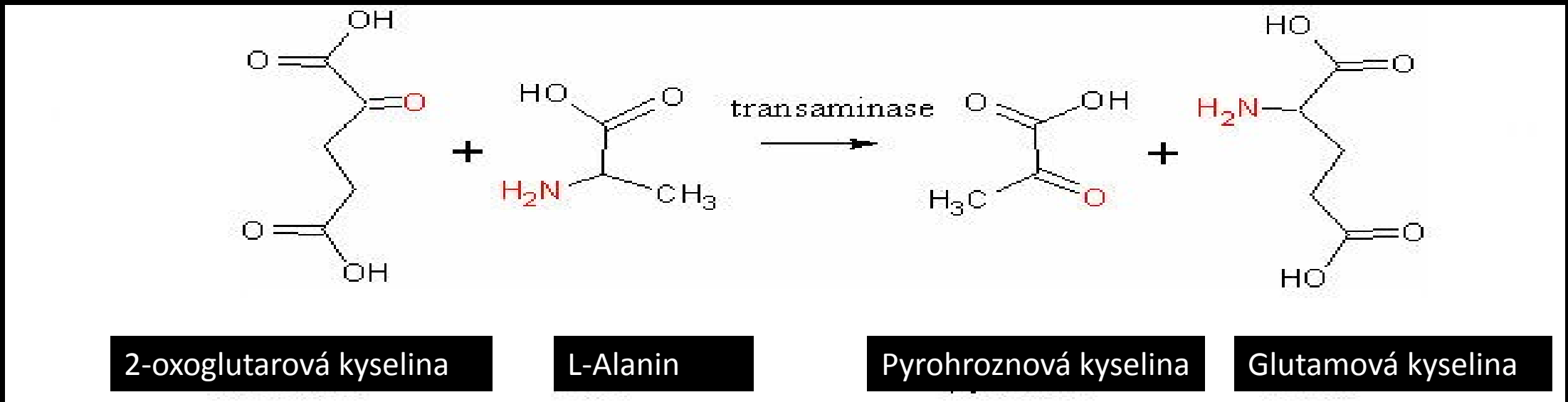
- ❖ Existuje **20** (21 - selenocystein) **základních proteinogenních aminokyselin**, využitelných pro proteosyntézu.
- ❖ katabolismus jejich uhlíkatých skeletů pokrývá přibližně 10–15 % energetických nároků lidského těla.
- ❖ Aminokyseliny také mohou sloužit jako **prekurzory pro biosyntézu** jak **sacharidů (glukoneogeneze)** tak **lipidů**.
- ❖ **Katabolismus aminokyselin → 2 základní fáze:**
 - **odstranění aminoskupiny**
 - **degradace uhlíkaté kostry aminokyseliny**

Odstranění aminoskupiny z aminokyseliny

- ❖ je to klíčový krok katabolismu aminokyselin.
- ❖ dusík z aminoskupin se nedá využít pro produkci energie a musí být z těla odstraněn.
- ❖ to se děje jednak jeho přeměnou na močovinu (asi z 95 %), jednak jeho uvolněním v tubulárních buňkách ledvin z glutaminu jako $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ (asi z 5 %).
- ❖ odstranění aminoskupiny probíhá:
 - **transaminací (u většiny aminokyselin)**
 - **přeměnou glutamát / glutamin**
 - **oxidační deaminací**

Transaminace aminokyselin

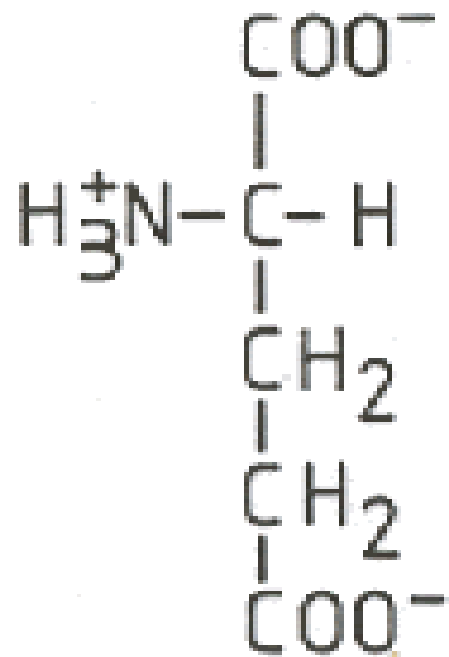
- ❖ Transaminace jsou volně reverzibilní reakce katalyzované **transaminázami (aminotransferázami)**.
- ❖ Během transaminace se **vymění aminoskupina α -aminokyseliny s oxoskupinou 2-oxokyseliny**.
- ❖ z aminokyseliny se vytváří 2-oxokyselina a z původní 2-oxokyseliny vzniká aminokyselina.



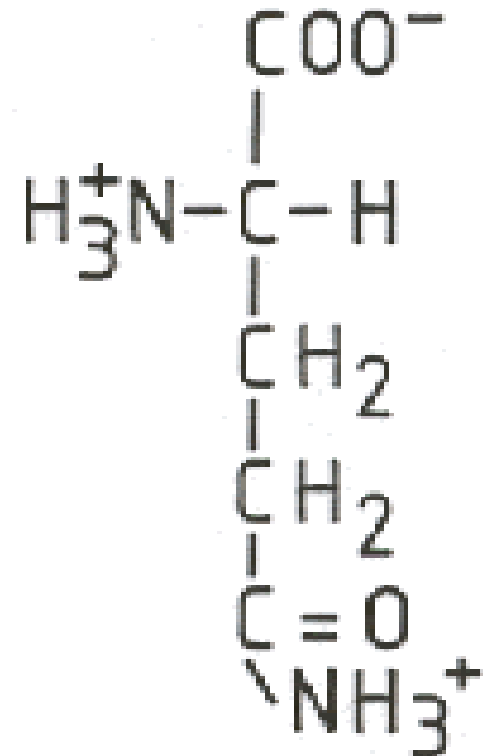
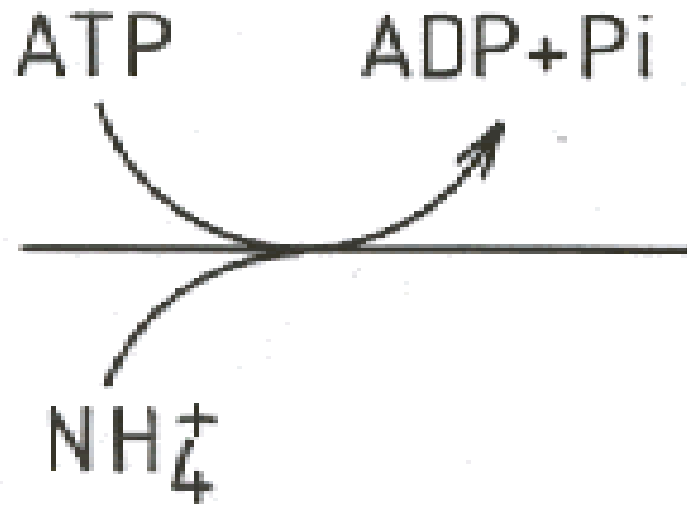
Přeměna glutamát / glutamin

- ❖ Přeměnu karboxylové skupiny glutamátu (v postranním řetězci) na amidovou skupinu glutaminu katalyzuje cytosolický enzym **glutaminsyntetáza**.
- ❖ K reakci je kromě enzymu potřeba **ATP** a **NH₄⁺**.
- ❖ Tato reakce slouží v buňkách CNS jako hlavní **detoxikační mechanismus** odstraňující toxický NH₃ z mozkové tkáně.
- ❖ Vznikající **glutamin** je nejvýznamnější transportní forma aminodusíku (amoniaku) v krvi.
- ❖ zajišťuje transport amoniaku (ve formě aminoskupin) **ze všech tkání krví do jater a ledvin**.

Glutamin-Synthetase (GS, $k_{in} = 0,2 \mu M$)



Glutamate



Glutamine

- ❖ glutamin má **nejvyšší plazmatickou koncentraci** ze všech aminokyselin – 0,6 mmol/l (alanin – 0,3 mmol/l).
- ❖ v jeho molekule jsou vázány dvě aminoskupiny/amoniaky.
- ❖ glutamin rovněž slouží k inkorporaci **amoniaku** při různých biosyntetických reakcích – např. při tvorbě purinových bází.

- ❖ Uvolnění NH_3 z glutaminu katalyzuje **mitochondriální enzym glutamináza**.
- ❖ reakce probíhá formou **hydrolytické deaminace v hepatocytech a buňkách tubulů ledvin**.
- ❖ Vzniklý **amoniak** se v jaterních mitochondriích zapojuje do **ornithinového (močovinového) cyklu**, v ledvinách je vyloučen do **moči**, kde slouží jako její pufr.

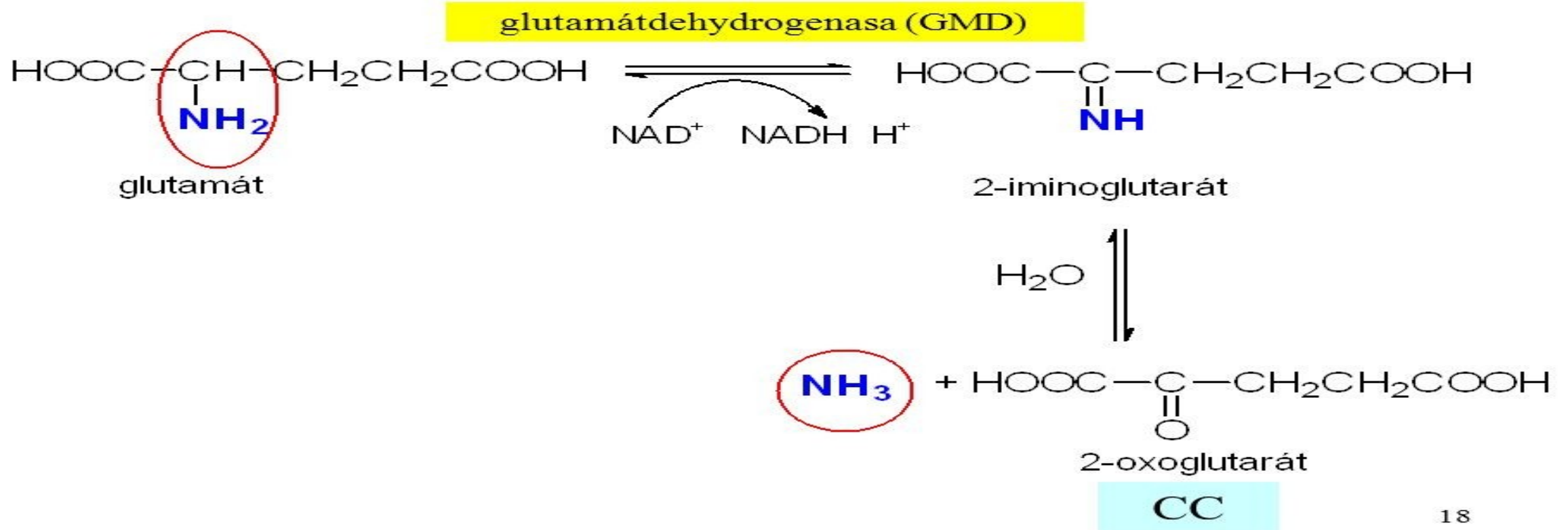
Oxidační deaminace

- ❖ Během oxidační deaminace se za souběžného uvolnění NH_3 (NH_4^+) **aminoskupina přeměňuje na ketoskupinu.**
- ❖ glutamát je jediná aminokyselina, která se v lidském těle deaminuje dostatečnou rychlostí.
- ❖ Přeměnu katalyzuje **glutamátdehydrogenáza** uložená **v matrix mitochondrie, hlavně jaterních buněk.**

- ❖ **Glutamát + NAD^+ \rightarrow 2-iminoglutarát + $\text{NADH} + \text{H}^+$**
- ❖ **2-iminoglutarát + H_2O \rightarrow α -ketoglutarát + NH_4^+**

- ❖ uvedené reakce jsou **plně reverzibilní** \rightarrow z α -KG a NH_4^+ lze zpětně nasyntetizovat **glutamát.**

Dehydrogenační deaminace glutamátu je hlavním producentem NH_3 v tkáních



18

- ❖ Vzniklý NH_4^+ vstupuje do ornithinového (močovinového) cyklu.
- ❖ α -ketoglutarát se může využít v transaminacích či v Krebsově cyklu.

ZÁVĚR:

- ❖ většina aminokyselin prochází při své degradaci **transaminací**.
- ❖ většina **aminodusíku** z aminokyselin se přímo či nepřímo nakonec koncentruje v molekule **glutamátu/glutaminu**.
- ❖ z glutaminu se amoniak odštěpuje **hydrolytickou deaminací** v jaterních a ledvinových buňkách.
- ❖ z glutamátu se amoniak odštěpuje **oxidační deaminací (glutamátdehydrogenázová reakce)**.
- ❖ odštěpený amoniak vstupuje do **ornithinového cyklu** (v jaterních buňkách), kde je **detoxikován na močovinu**.

ORNITHINOVÝ CYKLUS

- ❖ princip objasněn r. 1932 – Hans Krebs a Kurt Henseleit.
- ❖ Ureosyntetický cyklus (*močovinový, ornithinový*) slouží k **odbourávání dusíku z těla převedením na hydrofilní močovinu.**
- ❖ Močovina se pak vyloučí společně s močí ven z těla a tělo se tak zbaví toxického amoniaku.
- ❖ Močovinový cyklus probíhá **pouze v jaterních buňkách**, kde dochází k reakcím amoniaku s dalšími složkami cyklu.
- ❖ **Produktem je močovina**, která putuje krevním oběhem do ledvin, kde se vylučuje (rozpuštěná ve vodě) močí.

- ❖ Zdrojem amoniaku jsou především:
 - aminokyseliny
 - purinové a pyrimidinové dusíkaté báze
 - meziprodukty biosyntézy hemu

- ❖ Ornithinový cyklus probíhá **částečně v mitochondriích a částečně v cytoplasmě** jaterních buněk.

- ❖ Vyloučení toxického amoniaku je naprosto zásadní pro přežití organismu.

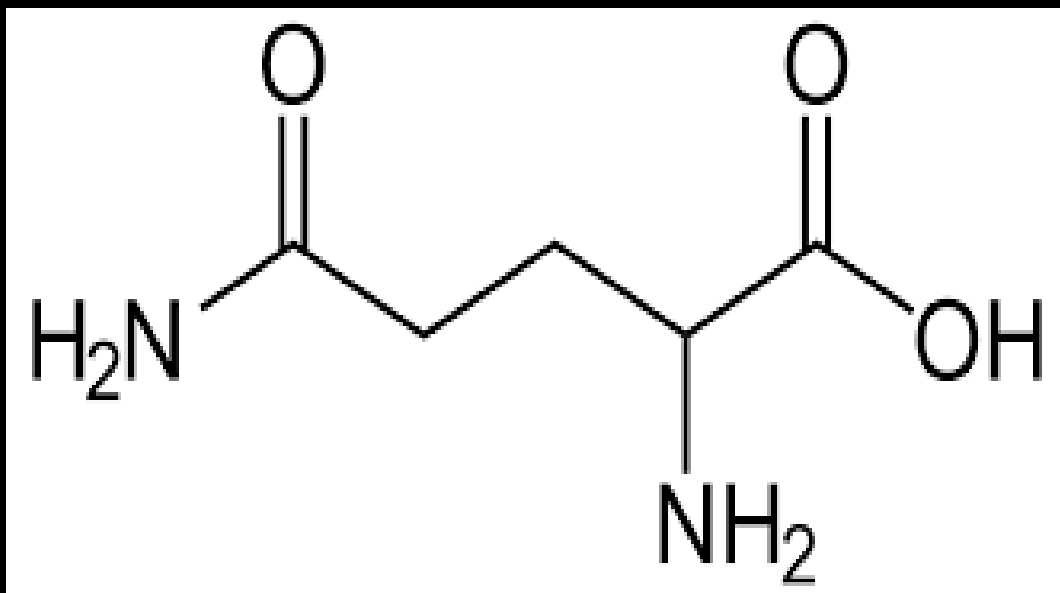
- ❖ Molekuly NH_3 jsou pro tělo **toxické** a již malá koncentrace může být smrtelná.

- ❖ Nejcitlivější orgánem na koncentraci amoniaku v krvi je **mozek**.

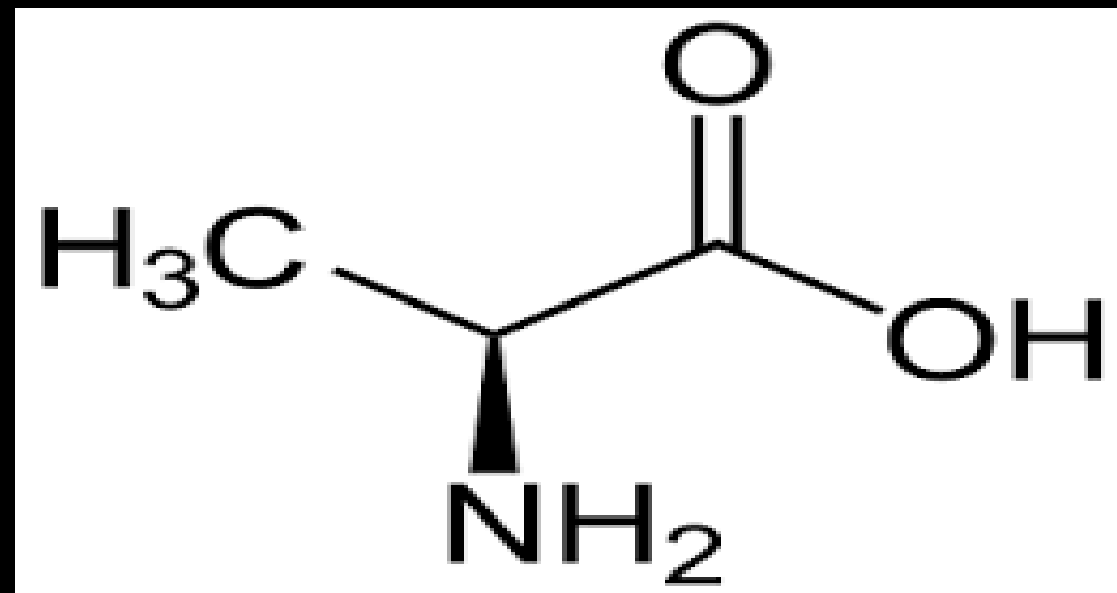
- ❖ Dusík je proto do jater přenášen zabudován v aminokyselinách **glutaminu a alaninu**.

- ❖ Amoniak **volně prochází** tělesnými bariérami, např. i hematoencefalickou bariérou.
- ❖ Při **zvýšení** jeho koncentrace v těle se vychýlí rovnováhy některých metabolických drah.
- ❖ při nadbytku amoniaku se např. pomalu **zvyšuje koncentrace glutaminu**, jehož tvorba ale současně **spotřebovává α -ketoglutarát z Krebsova cyklu**.
- ❖ **postupně klesá rychlost Krebsova cyklu a tím i produkce energie v buňkách.**

glutamin

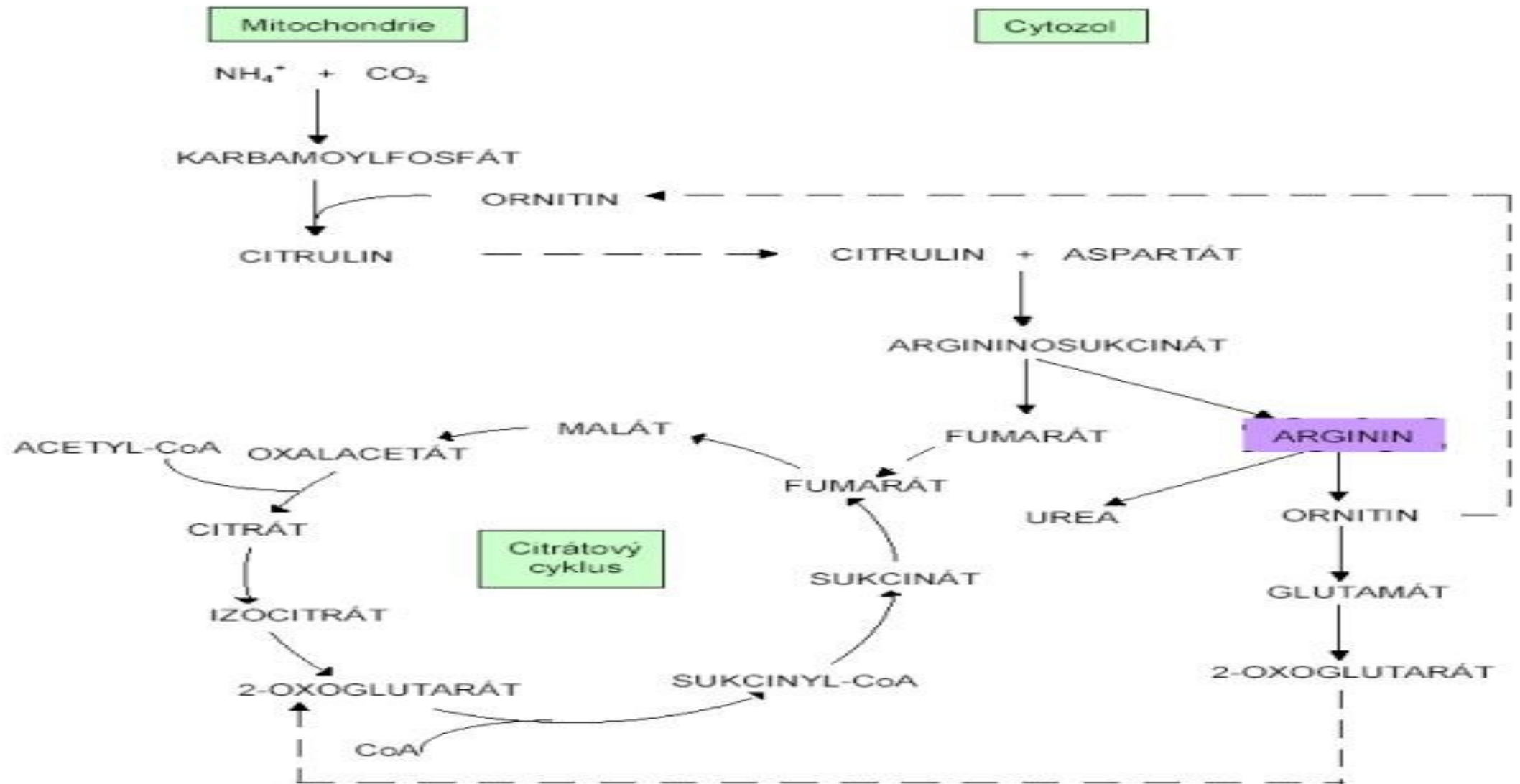


alanin



- ❖ Ornithinový (močovinový) cyklus lokalizovaný jak v matrix mitochondrie, tak v cytosolu jaterních buněk představuje energeticky náročný proces, do něhož vstupují tři substráty:
 - **AMONIAK**
 - **OXID UHLIČITÝ**
 - **ASPARTÁT (aminoskupina asparagové kyseliny)**
- ❖ **Ornithinový cyklus je propojen s Krebsovým cyklem** skrze **fumarát** a **2-oxoglutarát**.
- ❖ ve formě močoviny odchází u savců 80- 90 % celkového dusíku.
- ❖ 10 % slouží k neutralizaci kyselin – je vyloučen ledvinami.

Propojení ornithinového (močovinového) a Krebsova cyklu



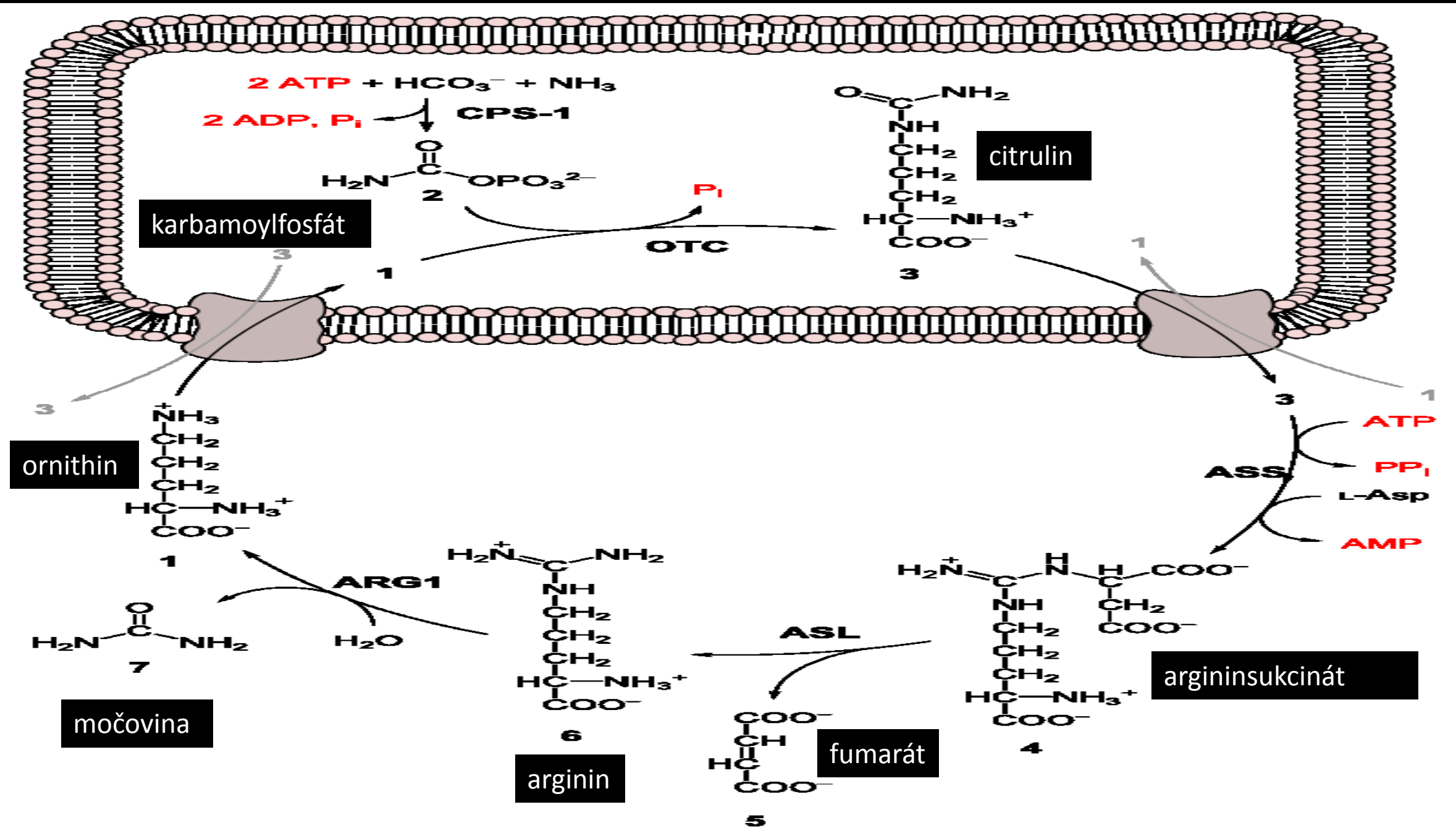
Reakční mechanismus ornithinového cyklu

1. Tvorba karbamoylfosfátu:

- ❖ $\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + 2\text{ATP} \rightarrow \text{karbamoylfosfát} + \text{Pi} + 2\text{ADP}$
- ❖ probíhá v matrix mitochondrií.
- ❖ katalyzováno enzymem **karbamoylfosfátsyntasa**, ten pro svou činnost vyžaduje přítomnost Mg^{2+} a **N-acetylglutamát**.

2. Reakce karbamoylfosfátu s ornithinem (tvorba citrulinu):

- ❖ $\text{karbamoylfosfát} + \text{ornithin} \rightarrow \text{citrullin} + \text{Pi}$
- ❖ probíhá v matrix mitochondrie.
- ❖ katalyzováno **L-ornithin-karbamoyltransferasou**.



3. Reakce citrulinu a aspartátu (tvorba argininsukcinátu):

- ❖ **citrulin + ATP + aspartát → argininsukcinát + AMP + PPI**
- ❖ probíhá v cytosolu.
- ❖ katalyzováno **argininsukcinátsyntetázou**.

4. Štěpení (rozpad) argininsukcinátu:

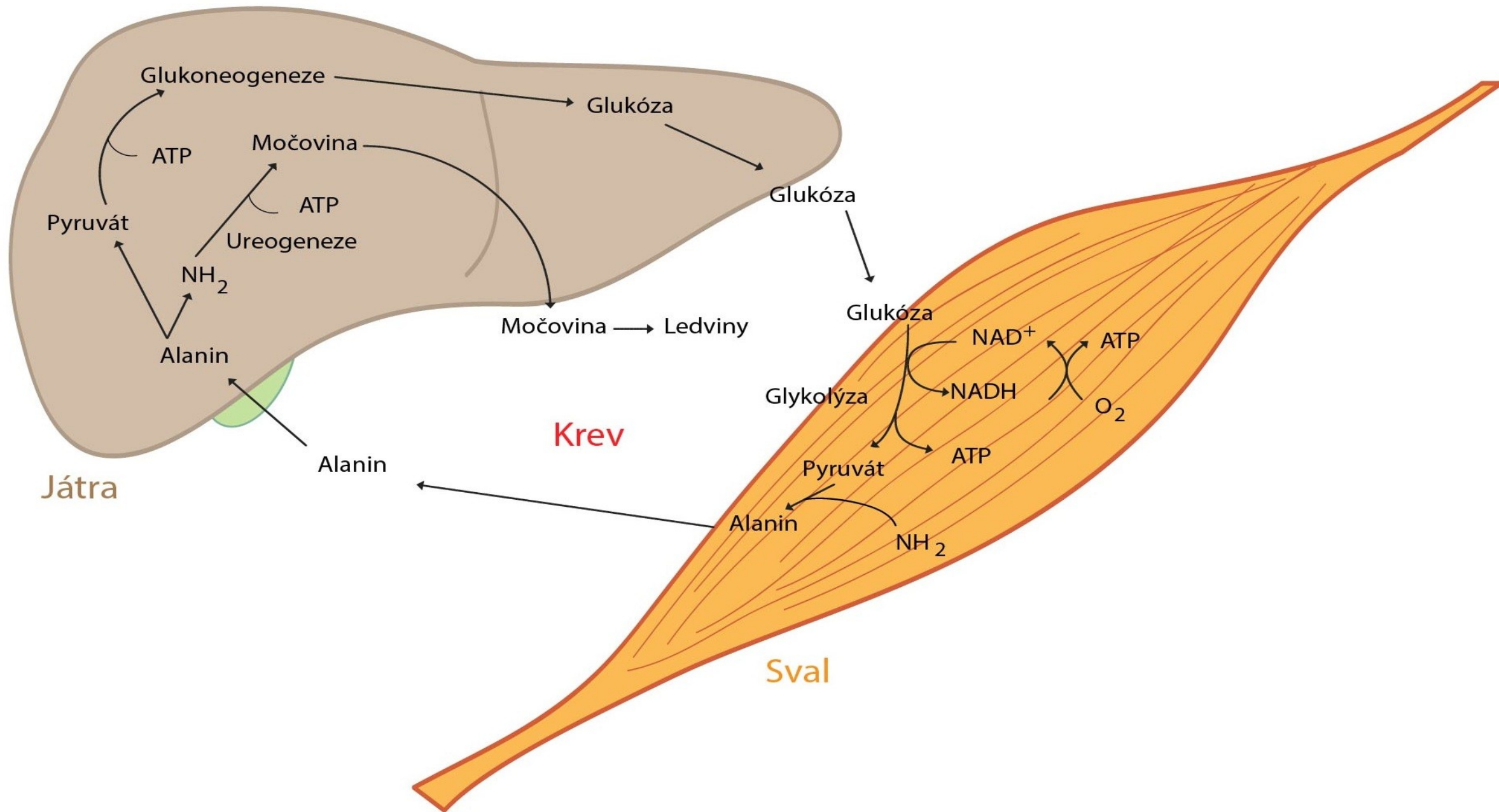
- ❖ **Argininsukcinát → arginin + fumarát**
- ❖ probíhá v cytosolu.
- ❖ katalyzuje enzym **argininsukcinasa**.
- ❖ **fumarát se může účastnit citrátového cyklu.**

5. Tvorba močoviny (hydrolyza argininu):

- ❖ **arginin → ornithin + močovina**
- ❖ je to hydrolytické štěpení argininu.
- ❖ probíhá v **cytosolu**.
- ❖ katalyzováno enzymem **arginináza**.
- ❖ močovina přechází do krve, ornithin se vrací do matrix mitochondrie.

GLUKÓZO - ALANINOVÝ CYKLUS

- ❖ **Alanin** se jednak spolupodílí na **přenosu amoniaku** krví, jednak slouží skrze pyruvát jako významný **zdroj uhlíků pro proces glukoneogeneze**.
- ❖ Glukóza-alaninový cyklus je meziorgánová metabolická dráha probíhající **mezi svalovými buňkami a játry**.
- ❖ **Pyruvát** vzniklý ve svalových buňkách, podléhá **transaminaci** za vzniku **alaninu**.
- ❖ **Alanin** se uvolní do krve, která jej transportuje do jater, kde se **transaminací** zpětně přeměňuje na **pyruvát**, jenž se může zapojit do procesu **glukoneogeneze**.
- ❖ Vzniklá **glukóza** se krví dostává **do svalů** a celý cyklus se uzavírá.
- ❖ Přenesená **aminoskupina** (amoniak) směřuje **do ornithinového (močovinového) cyklu**.



ODBOURÁVÁNÍ UHLÍKATÝCH KOSTER AMINOKYSELIN

- ❖ každá aminokyselina má vlastní specifickou dráhu odbourávání uhlíkatého řetězce.
- ❖ Dráhy, kterými se tak děje, jsou různě složité.
- ❖ Odbourávání uhlíkaté kostry všech aminokyselin končí některou z těchto sedmi látek:

1. **pyruvát**

2. **Acetyl-CoA**

3. **acetoacetyl-CoA**

4. **α -ketoglutarát**

5. **sukcinyl-CoA**

6. **fumarát**

7. **oxalacetát**

- ❖ tyto produkty pak vstupují do **energetického metabolismu**.
- ❖ mohou být dále oxidovány na oxid uhličitý a vodu **v Krebsově cyklu**.
- ❖ mohou pokračovat **do biosyntéz**:
 - z některých může vzniknout **glukóza**
 - z jiných **ketolátky** nebo **mastné kyseliny**
- ❖ Podle toho rozlišujeme tzv. **glukogenní** a **ketogenní** aminokyseliny.

KETOGENNÍ AMINOKYSELINY

- ❖ odbourávání jejich uhlíkaté kostry vede k tvorbě **acetyl-CoA** a **acetoacetyl-CoA** → **leucin a lysin** (začínají na písmeno L).

GLUKOGENNÍ AMINOKYSELINY

- ❖ odbourávání jejich uhlíkaté kostry vede k tvorbě zbylých pěti produktů: **pyruvátu, α -ketoglutarátu, suc-CoA, fumarátu a oxalacetátu** → **serin, threonin, cystein, methionin, aspartát, glutamát, asparagin, glutamin, glycin, alanin, valin, prolin, histidin a arginin.**

KETO- I GLUKOGENNÍ AMINOKYSELINY

- ❖ Existují i aminokyseliny se **dvěma** degradačními produkty jejich uhlíkatých koster – **jeden z nich je glukogenní a druhý ketogenní.**
- ❖ Jsou označovány jako **keto- i glukogenní aminokyseliny** → patří mezi ně **isoleucin, fenylalanin, tyrosin a tryptofan.**

•

Odbourávání uhlíkatých koster aminokyselin

