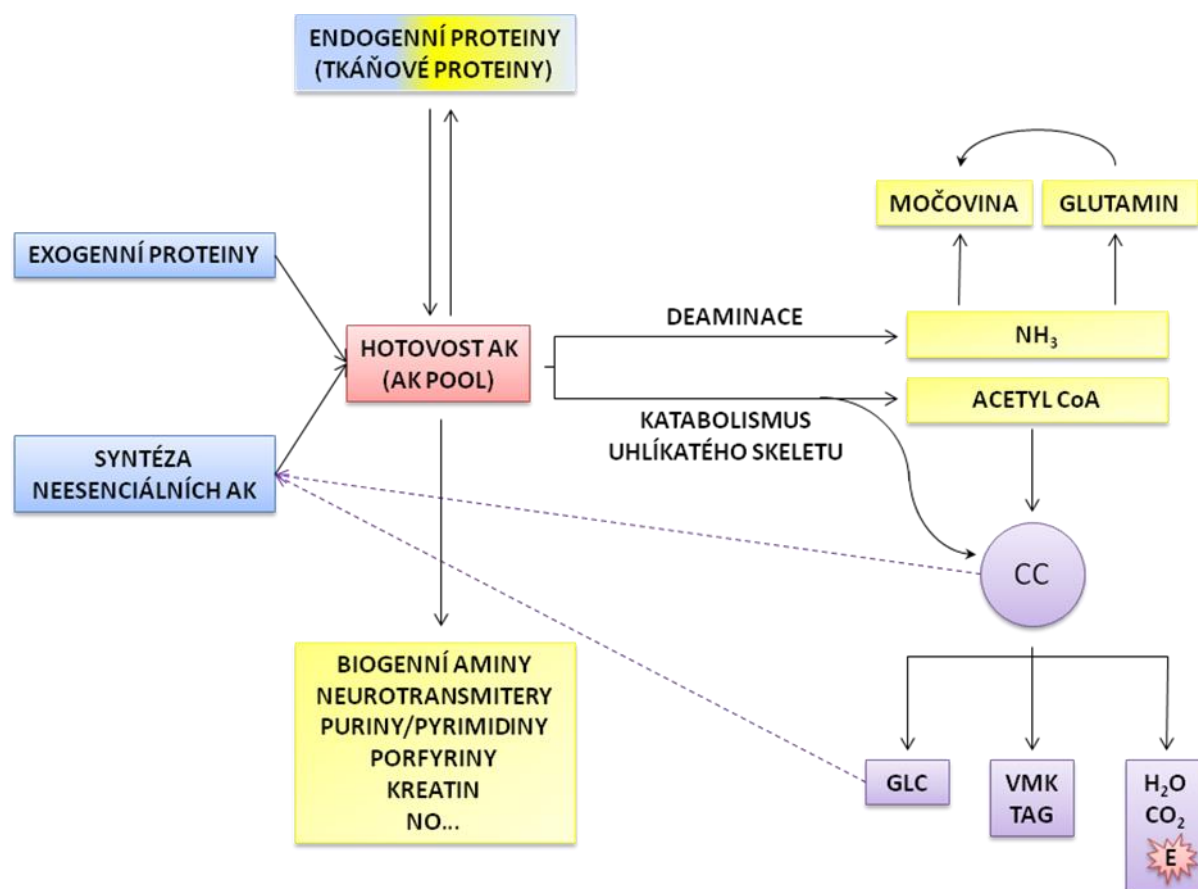


## 6 Metabolismus aminokyselin

### 6.1 Přehled metabolismu proteinů



**Zdrojem** hotovosti AK jsou:

- exogenní proteiny** (proteiny přijaté v potravě)
- endogenní proteiny** (proteiny našich tkání)
- aminokyseliny, které umíme sami syntetizovat (**biosyntéza neesenciálních AK**)

Hotovost AK se **využívá**:

- k tvorbě proteinů těla vlastních (endogenních proteinů)
- k tvorbě specializovaných dusíkatých sloučenin (biogenních aminů, neurotransmiterů, purinů, pyrimidinů, porfyrinů, kreatinu, oxidu dusnatého a dalších látek)
- v katabolismu aminokyselin
  - dusík je z AK odstraněn v procesu deaminace, při kterém vzniká amoniak, který je následně přeměněn na močovinu
  - uhlíkatý zbytek původního řetězce může být metabolizován na Ac-CoA nebo na jiné meziprodukty citrátového cyklu

Ac-CoA a jiné produkty citrátového cyklu jsou následně **využívány**:

- k syntéze glukosy (glukoneogenese)
- v syntéze vyšších mastných kyselin a triacylglycerolů (lipidů)
- jako metabolické palivo (odbourání na vodu a oxid uhličitý, získávání **energie**)

## 6.2 Degradace proteinů

**Exogenní proteiny** jsou degradovány v trávicím traktu (lumen GIT). Tohoto procesu se účastní velké množství různých enzymů, které jsou do GIT produkovány ve formě neaktivních proenzymů – k jejich aktivaci dochází až po odštěpení určité části peptidového řetězce.

Např. V žaludku se trávení proteinů účastní enzym pepsin (neaktivní forma pepsinogen je aktivována pomocí HCl)

Ve střevě se trávení proteinů účastní enzymy jako trypsin, chymotrypsin, elastasa, karxobypeptidasy, aminopeptidasy ad.

**Endogenní proteiny** jsou odbourávány v buňkách (= **intercelulární degradace proteinů**). V tomto odbourávání hrají roli dva systémy:

- a) lysozomy
- b) systém ubikvitin-proteazom

Endogenní proteiny mají **různý biologický poločas**.

Proteiny s **kratším biologickým poločasem**, jako signální molekuly, jsou odbourávány přednostně pomocí systému **ubikvitin-proteazom**; proteiny s **delším biologickým poločasem** jsou odbourávány v **lysozomech**.

### Lysozomy

Degradace proteinů v lysozomech je **nezávislá na ATP** a je **nespecifická**. Přednostně dochází k štěpení proteinů:

- **extracelulárních** (přijatých do buňky z vnějšího prostředí pomocí endocytózy)
- **membránově vázaných**
- s delším biologickým poločasem

Při štěpení extracelulárních proteinů (nejčastěji glykoproteinů), je nejprve potřeba tyto proteiny **desializovat**, tzn. odštěpit z jejich řetězce molekulu **kyseliny sialové** (kyselina sialová se nachází na konci oligosacharidového řetězce a nese záporný náboj, čímž chrání protein před trávicími enzymy). Desializace proteinů je pro lysozom signálem, že má být daný protein odbourán (po kyselině sialové následuje v oligosacharidovém řetězci většinou N-acetylgalaktosamin, pro který mají jaterní buňky na svém povrchu receptor).

Ve stresových situacích mohou lysozomy odbourávat i proteiny intracelulární.

### Systém ubikvitin-proteazom

**Ubikvitin** (dále *Ub*) je relativně malý protein, který se nachází ve všech buňkách. Jeho hlavní funkcí je **značkování proteinů určených k degradaci**.

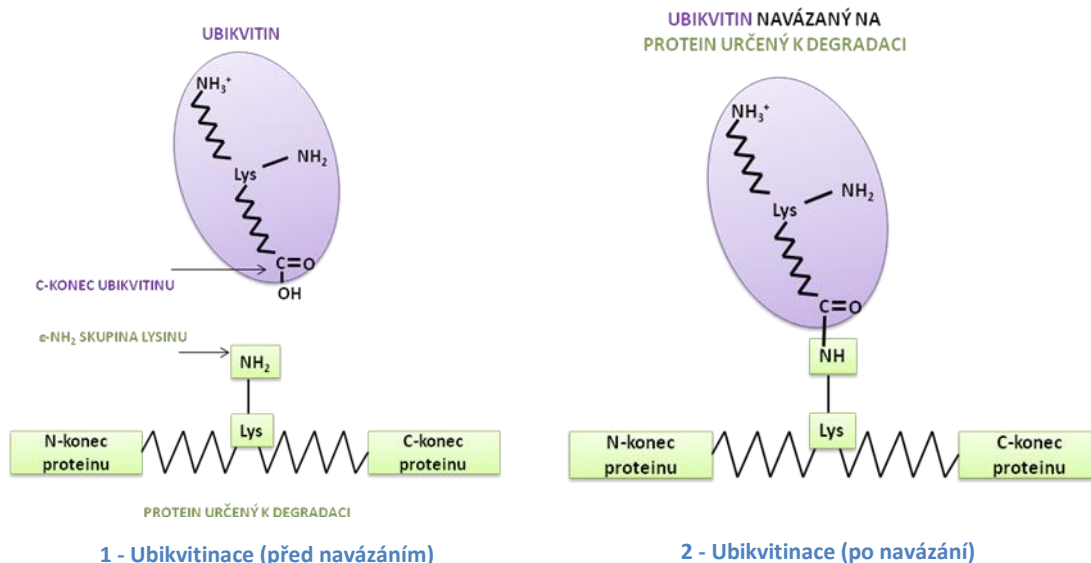
Značkování (navázání Ub na protein) se účastní tři různé enzymy označované jako E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> a E<sub>3</sub>.

E<sub>1</sub> je enzym, jehož úkolem je **aktivovat Ub**. Při tomto ději dochází ke spotřebě **ATP**. Varianta enzymu E<sub>1</sub> je jen jedna.

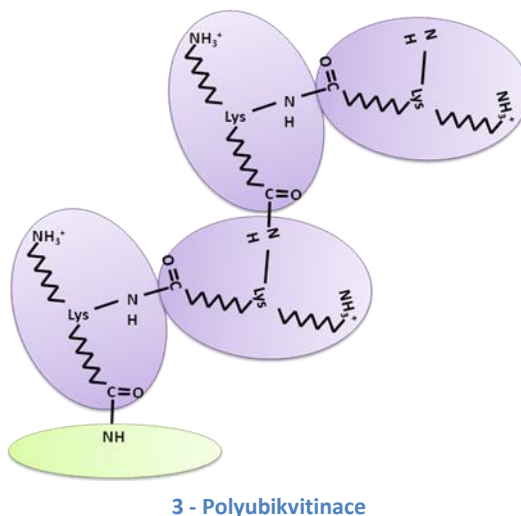
E<sub>2</sub> je tzv. **ubikvitin konjugační enzym**, který na sebe naváže již aktivovaný Ub a přenesse jej k enzymu E<sub>3</sub>. Na enzym E<sub>2</sub> se Ub váže pomocí **thioesterové vazby** svým C-koncem. Enzymů E<sub>2</sub> existují desítky variant.

E<sub>3</sub> je enzym **ubikvitin-protein ligasa**, který zajišťuje vazbu Ub na protein určený k degradaci. Ub se na protein určený k degradaci váže amidovou vazbou. Enzymů E<sub>3</sub> existují stovky variant (asi 300).

Ub se na protein určený k degradaci váže pomocí svého **C-konce**, konkrétně se napojuje na  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> skupinu lysinu. Toto spojení je v anglické literatuře označováno jako „kiss of death“.



Po navázání prvního Ub dochází k tzv. **polyubikvitinaci**, kdy se další molekuly Ub navazují na první molekulu Ub (většinou v počtu 5-7). Toto navazování dalších molekul zvyšuje rychlost a pravděpodobnost úspěšného odbourání.

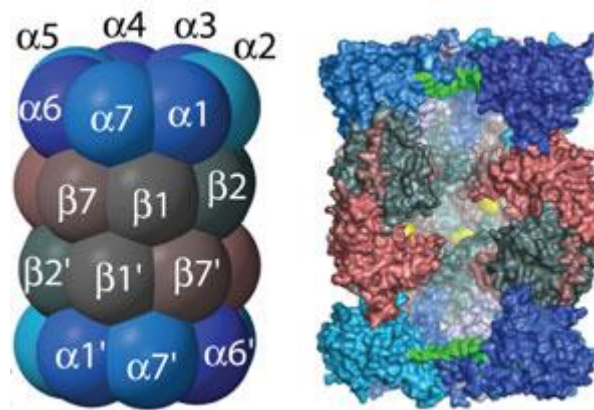


Protein, který je označovaný ubiquitinem je následně rozpoznán **proteazomem**.

**Proteazom** je dutý, cylindrický útvar složený z **28 polypeptidů** (4 heptamery – viz. obrázek 4), připomíná válec. Na obou koncích „válečku“ se nachází „čepičky“ ve tvaru **V**. Jejich úkolem je rozbít označené bílkoviny a translokovat je do nitra proteazomu (**dochází ke spotřebě ATP**).

Uvnitř proteazomu se nacházejí specifické proteasy (v jejich aktivním místě se nachází **threonin**), které hydrolyticky štěpí označovanou bílkovinu na peptidy o délce 8 AK. O tyto krátké peptidy se postarají peptidasy v cytosolu.

Pozn. Ubikvitin není degradován, vychází z proteazomu nezměněn.



Obrázek 4 - Struktura proteasomu

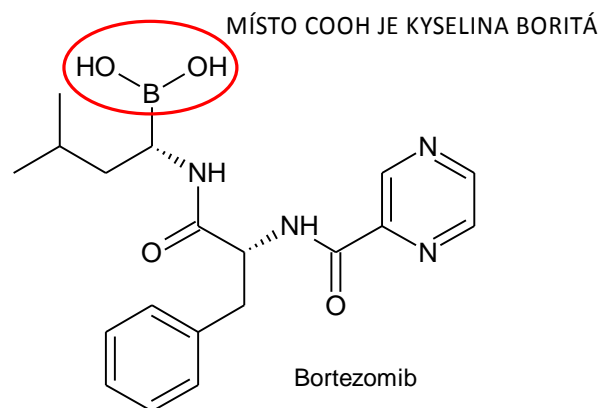
Systém ubikvitin proteazom se podílí na degradaci:

- poškozených intercelulárních proteinů
- proteinů kódovaných viry a jinými intracelulárními parazity
- transkripčních faktorů
- cyklinů a jiných regulačních molekul
- proteinů s krátkým biologickým poločasem

Funkci systému ubikvitin-proteazomu je možné inhibovat pomocí syntetického tripeptidu **pyrazinová kyselina-Phe-BoroLeu**, zvaného **Bortezomib** (místo COOH skupiny leucinu je navázána kyselina boritá).

Atom boru se navazuje do katalytického místa proteas umístěných v proteazomu – spojuje se s **threoninem**. Tím, že se na aktivní místo naváže, zabrání navázání proteinů určených k degradaci a proteazom tak vyřadí z funkce.

Této látce se využívá při léčbě **myelomů**.



Poznámky:

- V buňkách bylo popsáno více než 300 ubikvitin-ligas (enzym E<sub>3</sub>). Jakmile je kterákoliv z nich vyřazena z funkce, není možné odbourávat určitý protein (nebo typ proteinů) a dochází k hromadění tohoto proteinu v buňce. To může mít různé následky, jedním z nich může být i mužská sterilita.

- Jak bylo řečeno, existuje jen jedna varianta enzymu E<sub>1</sub>, desítky variant enzymu E<sub>2</sub> a stovky variant enzymu E<sub>3</sub>. Jedná se o součást regulace funkce systému ubikvitin-proteazom. Enzymy E<sub>3</sub> jsou nejvíce specifické.
- Porovnáme-li odbourávání proteinů pomocí lysozomů s odbouráváním pomocí systému ubikvitin-proteazom, pozorujeme hlavní rozdíl především ve spotřebě ATP. Lysozomy energii nespotřebovávají, systém ubikvitin-proteazom **využívá ATP na aktivaci Ub** a dále pak **na posun proteinového řetězce skrze proteazom**.

**Odkazy:**

Odbourání proteinu (ajaxinu) proteasomem: <http://www.youtube.com/watch?v=4DMqnrzpkKg>

### 6.3 Biologická hodnota proteinů (dále BV – Biological Value)

**BV udává jaké množství endogenních proteinů (v gramech) vznikne ze 100 g proteinů exogenních. Vyjadřuje se v procentech.**

Výsledná hodnota závisí na **obsahu esenciálních AK, jejich vzájemném poměru** a souvisí též se **stravitelností**.

Obecně platí, že živočišné proteiny mají vyšší BV než proteiny rostlinné (způsobeno tím, že některé rostlinné potraviny jsou deficitní na určité AK, např. pšenice na Lys, Trp, Thr a Met; luštěniny na Met a Cys).

**Tabulka 1 - BV vybraných potravin**

	<b>Protein</b>	<b>BV (%)</b>
<b>ŽIVOČIŠNÉ</b>	Vaječný bílek	100
	Syrovátka	100
	Vejce	96
	Kasein	80
	Hovězí maso	80
	Sója	74
	Vepřové maso	70
	Ovesné vločky	60
<b>ROSTL.</b>	Pšeničná mouka	53
	Luštěniny	46
	Želatina	25

Jako ideální bílkovina je uvažován **lidský sérový albumin** (slouží jako srovnávací protein; proteiny, které mají podobnou strukturu mají vysokou BV).

**Denní příjem proteinů: 0,8 g/kg**

Při normálním příjmu bílkovin je **příjem dusíku 12-15 g N/d**.

#### *Poznámky*

- Za den se v našem těle odbourá (a znovuobnoví) cca 250-300 gramů **endogenních** proteinů. **Exogenních** proteinů za den přijeme „pouze“ (v ideálním případě) kolem 100 g.
- Esenciální aminokyseliny:
  - 8 základních (Val, Leu, Ile, Thr, Phe, Trp, Lys a Met)
  - 2 podmíněné (histidin a arginin) – esenciální pouze v období dospívání
  - 3 v případě, že se nacházíme v metabolickém stresu – alanin, glutamin a taurin
- Při nedostatku methioninu je možné 30% jeho potřeby nahradit cysteinem, podobně lze při nedostatku fenylalaninu nahradit až 50% jeho potřeby tyrosinem.
- **Vaječný bílek** je viskózní roztok globulárních bílkovin (ovalbumin, ovotransferrin, ovomukoid, ovomucin, ovoglobuliny, avidin...)

- **Syrovátka** je vedlejší produkt při výrobě sýrů a tvarohu. Jedná se o žlutavou kapalinu, která vznikne po vysrážení kaseinu (žlutá barva pochází od riboflavinu). Obsahuje cca 12% kvalitních bílkovin (laktoalbumin, laktoglobuliny), vitaminy B-komplexu a laktosu.

**Průměrný obsah proteinů v potravinách (v %) udává kvantitu.**

Je nutné rozlišovat **biologickou hodnotu** (=kvalitu) a **průměrný obsah proteinů v potravinách** (=kvantitu).

**Tabulka 2 - Průměrný obsah proteinů v potravinách (%)**

<b>Proteinové suplementy</b>	<b>80</b>
<b>Sojové maso (suchý axtrudát)</b>	45
<b>Tvrdý tvaroh, tvarůžky</b>	30
<b>Tvrdé sýry</b>	25
<b>Luštěniny</b>	25
<b>Maso</b>	20
<b>Vejce</b>	13
<b>Kvasnice</b>	11
<b>Obilniny, rýže</b>	8
<b>Mléko</b>	3
<b>Brambory</b>	2
<b>Ovoce a zelenina</b>	1

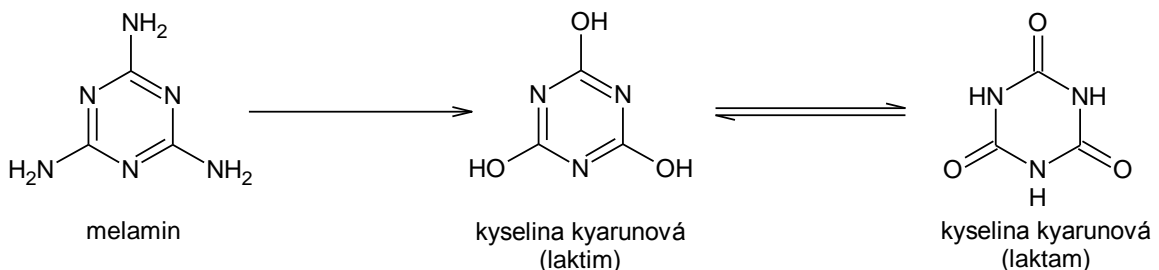
*Komentář k tabulce:*

Hlavním zdrojem bílkovin v potravě (u nás) je **maso**, obsahující 20% proteinů; zbytek – 80% – je tvořen především vodou. To je také hlavní rozdíl mezi masem sojovým a „normálním“ – sojové maso již neobsahuje vodu (proto je možné je jen těžko srovnávat...).

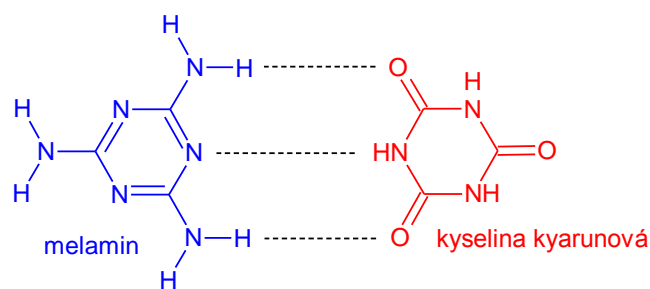
Dalšími zdroji bílkovin v naší potravě jsou vejce, mléčné výrobky a brambory. Brambory obsahují (bohužel) jen málo proteinů, avšak jejich proteiny jsou velmi kvalitní.

**Poznámka: Proč byl melamin přidáván do mléka?**

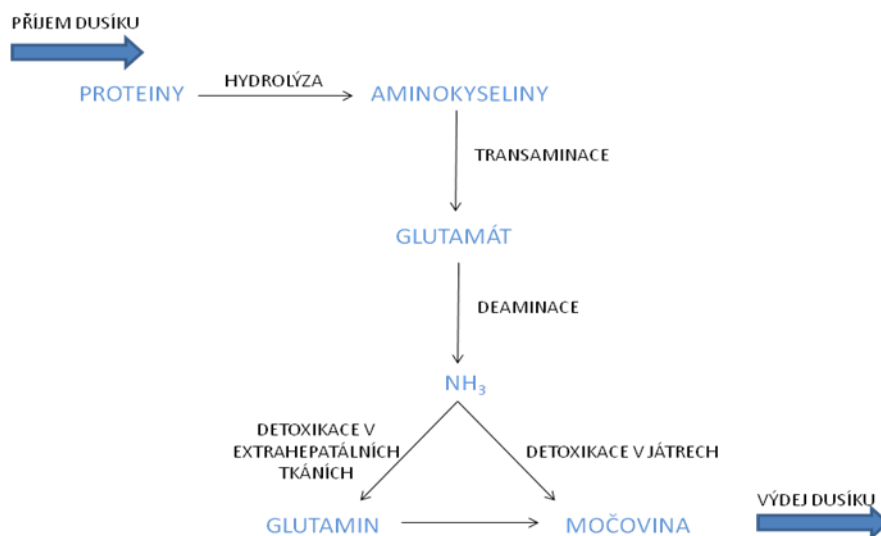
- Molekula melaminu obsahuje velké množství atomů dusíku (66%).
- Testy, které stanovují kvalitu mléka jsou založeny na **stanovení obsahu dusíku**. Po té, co bylo mléko zředěno, byl do něj přidán melamin a testy kvality začaly vycházet dobře.
- Problém nastal při odbourávání v organismu. Melamin je katabolizován na **kyselinu kyanurovou**, jejíž laktamová forma vytváří s původním melaminem nerozpustný komplex.



- Tento nerozpustný komplex se vysrážel v ledvinách a způsoboval akutní selhání ledvin



## 6.4 Katabolismus AK



Katabolická dráha AK má tři fáze<sup>1</sup>

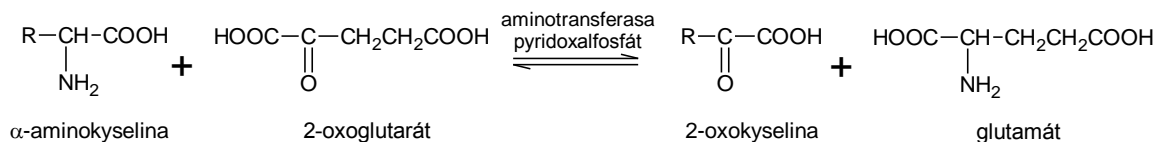
- a) **transaminace**
- b) **deaminace**
- c) **detoxikace amoniaku**

### ADa) Transaminace

Transaminací rozumíme přenos  $-NH_2$  skupiny z jednoho substrátu na druhý.

Podléhá jí většina AK, kromě **Lys, Thr, Pro, His, Trp, Arg, Met**

Ve většině případů dochází k přenosu aminoskupiny na **2-oxokyselinu**, nejčastěji **2-oxoglutarát**.



Reakce může probíhat v obou směrech (je typicky reversibilní).

Kofaktorem této reakce je **pyridoxalfosfát**:

<sup>1</sup> Rozdíl mezi množstvím „přijátého N“ a „vydaného N“ označujeme jako **dusíkovou bilanci (DB)**.

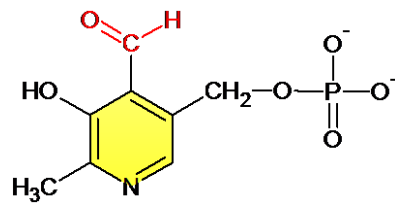
Normální  $DB \approx 0$  (výdej a příjem je stejný)

Pozitivní DB (větší příjem) je typický pro období růstu, těhotenství a při rekonvalescenci

Negativní DB (větší výdej) je typický při metabolickém stresu a hladovění

Zvýšený katabolický dusík je **obávanou komplikací při různých onemocněních** (vede ke zvýšenému nebezpečí infekce, koagulopatii, snížené regeneraci krevních bílkovin, snížené syntéze enzymů...)



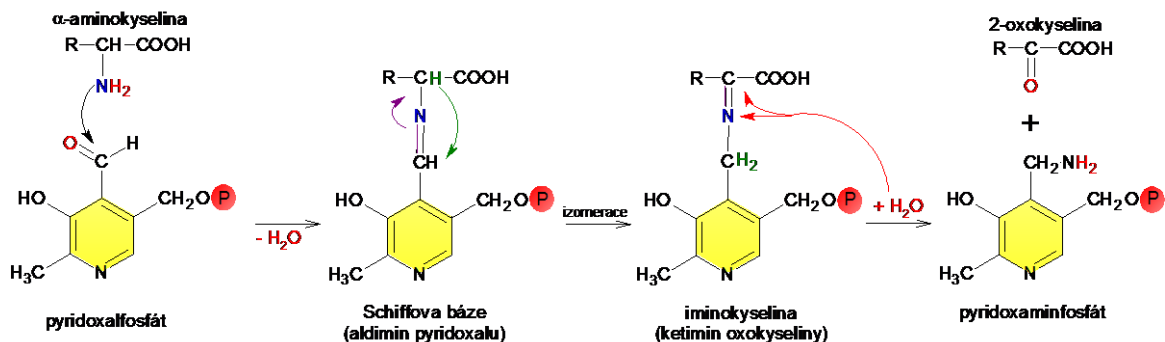


Červeně označená aldehydová skupina je **reaktivní skupinou pyridoxalu** a účastní se transaminace.

**Transaminace má dvě fáze:**

- i) přenos  $-NH_2$  skupiny z aminokyseliny na pyridoxalfosfát
- ii) přenos  $-NH_2$  skupiny z pyridoxaminfosfátu na 2-oxoglutarát

V první fázi dochází k následujícím přeměnám:



Pyridoxalfosfát **kondenzuje** s AK za vzniku Schiffovy báze a odštěpení molekuly vody.

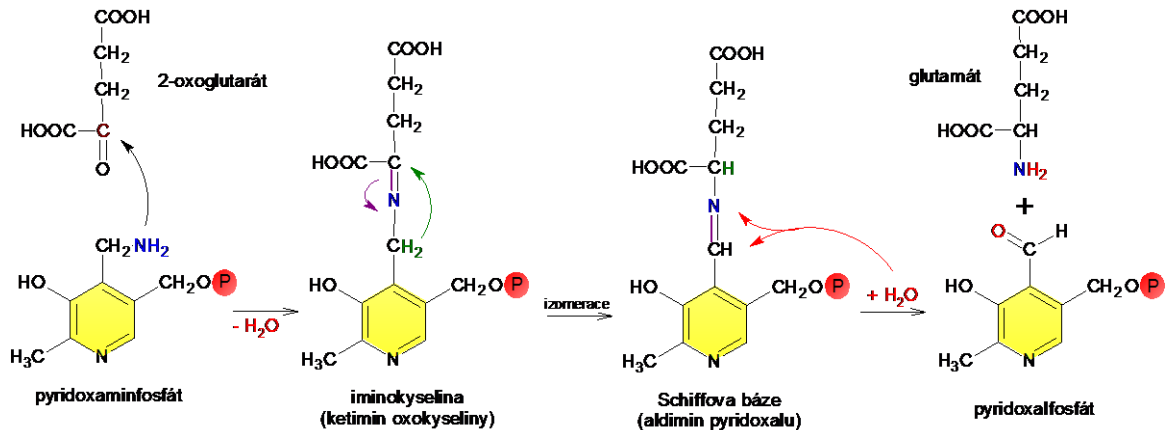
Schiffova báze **izomeruje** (dochází k přesunu dvojně vazby a atomu vodíku) na iminokyselinu.

Iminokyselina podléhá **hydrolýze** – kyslík z molekuly vody se naváže na karbonylový uhlík, vodíky se naváží na atom dusíku. Dojde k zániku dvojně vazby.

V první fázi dochází:

- a) k zabudování atomu dusíku do molekuly kofaktoru: pyridoxalfosfát  $\rightarrow$  pyridoxaminfosfát
- b) k přeměně aminokyseliny na 2-oxokyselinu

V druhé fázi dochází k následujícím přeměnám:



Pyridoxaminfosfát **kondenzuje** s 2-oxoglutarátem za vzniku iminokyseliny ( $-NH_2$  se napojuje na karbonylový uhlík), dochází k odštěpení molekuly vody.

Iminokyselina **izomeruje** (přesun dvojně vazby a atomu vodíku) na Schiffovu bázi.

Schiffova báze podléhá hydrolýze (kyslík z molekuly vody se napojuje na uhlík pyridoxalu a vodíky na atom dusíku). Dojde k zániku dvojně vazby.

Ve druhé fázi dochází:

- a) k zabudování atomu dusíku do **molekuly glutamátu**: 2-oxoglutarát  $\rightarrow$  glutamát
- b) k regeneraci kofaktoru: pyridoxaminfosfát  $\rightarrow$  pyridoxalfosfát

**Dusík většiny aminokyselin se pomocí transaminace dostává do molekuly glutamátu.** Tato reakce tedy vede ke „zjednodušení“ metabolismu dusíku – místo toho, aby organismus

odbourával dusík z 20 různých AK, pracuje dále jen s jedinou aminokyselinou (*zjednodušeně řečeno*).

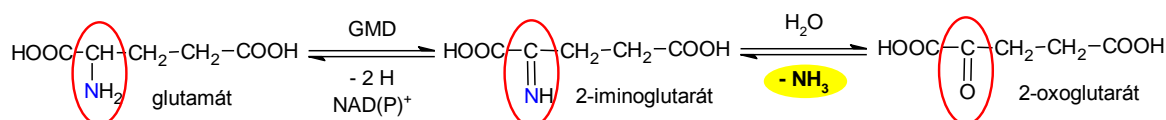
### ADb) Deaminace

Deaminací rozumíme odštěpení aminoskupiny z molekuly aminokyseliny (nejčastěji glutamátu), či jiné dusíkaté látky (např. dusíkaté báze) za vzniku amoniaku.

#### 1) Dehydrogenační deaminace glutamátu

Dehydrogenační deaminace glutamátu je **hlavním zdrojem amoniaku v buňkách**. Probíhá ve dvou stupních:

- dehydrogenace aminokyseliny na iminokyselinu
- hydrolýza iminokyseliny na 2-oxokyselinu a **amoniak**



Jedná se o **reverzibilní reakci**<sup>2</sup> katalyzovanou enzymem **glutamátdehydrogenasou (GMD)**.

GMD je zajímavým enzymem – využívá dva kofaktory: NAD<sup>+</sup> a NADP<sup>+</sup>.

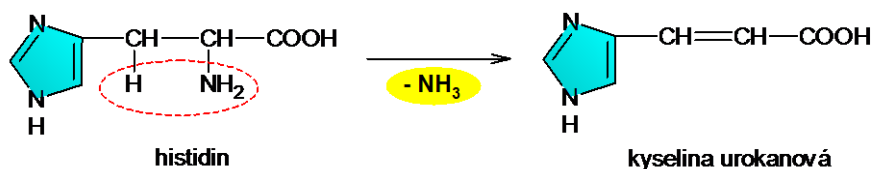
- NAD<sup>+</sup> se uplatňuje u reakce: glutamát → 2-oxoglutarát
- NADP<sup>+</sup> se uplatňuje u reakce: 2-oxoglutarát → glutamát

*Poznámky:*

- V případě, že je koncentrace v amoniaku v buňce příliš velká, probíhá reakce za vzniku glutamátu (*viz též poznámku pod čarou*)
- V nervových buňkách je vysoká koncentrace amoniaku vysoce nebezpečná. Nervové buňky jsou buňkami vysoce metabolicky aktivními a potřebují pro svou činnost velké množství energie. Dojde-li k nahromadění amoniaku v buňce a obrácení průběhu reakce, dochází ke zpomalení – až úplnému **zastavení** – **citrátového cyklu** (2-oxoglutarát je jedním z jeho meziproduktů a buňka jej právě z něj odčerpává). Neprobíhá-li citrátový cyklus, nedochází k regeneraci redukováných kofaktorů a buňka nezískává energii v dýchacím řetězci – umírá.
- Druhým významným zdrojem amoniaku v organismus je **bakteriální rozklad proteinů (=hnití) v tlustém střevě** (amoniak je ze střev vstřebán do portální krve, která jej odvádí do jater, kde je odstraněn)

#### 2) Desaturační deaminace histidinu

Histidin je jednou z AK, které nepodléhají transaminaci. Jeho deaminací vzniká **kyselina urokanová**. Jedná se o **lyázovou reakci**, při které dochází ke vzniku dvojné vazby a odštěpení amoniaku.

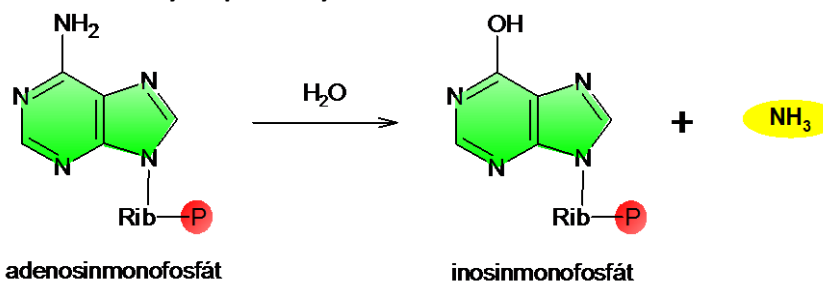


<sup>2</sup> Rovnováha reakce je posunuta směrem ke glutamátu. Tento posun v rovnováze zajišťuje, že pro buňky velmi toxický amoniak nevzniká „nekontrolovaně a rychle“ ale „pomalu“. Po té, co je určité množství amoniaku odbouráno, dojde ke vzniku odpovídajícího množství amoniaku nového (podíváme-li se na tuto problematiku pohledem enzymové kinetiky – odbouráváním amoniaku odebíráme produkt reakce, čímž narušujeme její rovnováhu, která se opět ustanoví tak, že se vytvoří amoniak nový).

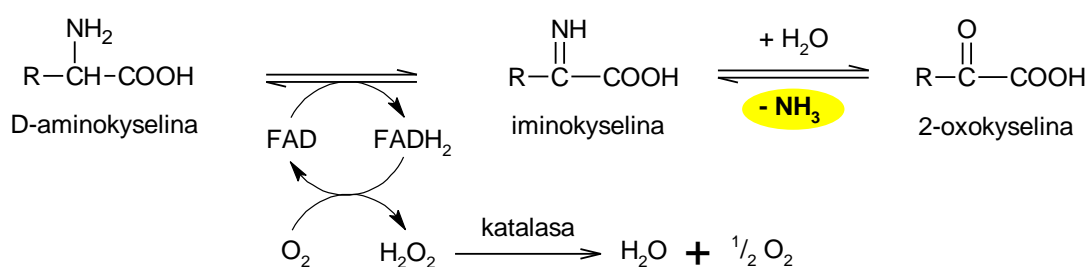
Kyselina urokanová je látka, která obsahuje **konjugovaný systém dvojných vazeb**, který absorbuje UV záření (využíváno k ochraně organismus – kys. urokanová je vylučována potem).

### 3) Další deaminace

#### a) deaminace adeninu v cyklu purinových nukleotidů



#### b) oxidační deaminace některých AK (např. D-AK)



Při tomto typu deaminace jsou využívány **flavinové kofaktory** (L-aminooxidasy využívají FMN, D-aminooxidasy využívají FAD).

D-AK se v našem těle vyskytují v **důsledku činnosti bakterií** (jsou dokonce součástí buněčné stěny některých z nich), nebo jsou **přijaty v potravě** (plísňové sýry a fermentované potraviny), nebo **vznikají fyziologicky** (přeměna L-serin → D-serin; D-serin má pravděpodobně funkci mediátoru).

**Problémem** při jejich odbourávání je **regenerace flavinových kofaktorů – probíhá přímou reakcí s kyslíkem<sup>3</sup>, při které vzniká škodlivý peroxid vodíku.**

**D-aminooxidasy** mohou kromě D-AK katalyzovat přeměny **glycinu** (který není opticky aktivní).

#### c) oxidační deaminace lysinu

Reakce je katalyzována **lysyloxidasou** (pro funkci potřebuje  $Cu^{2+}$ )

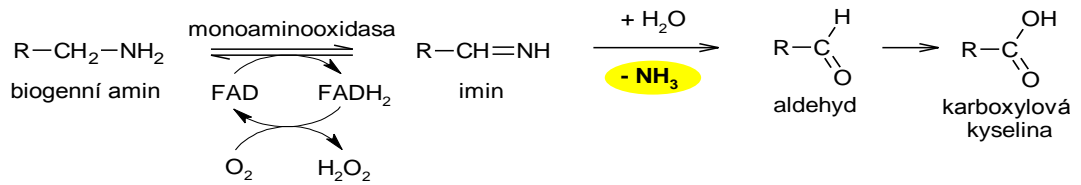


#### d) dehydratační deaminace serinu (viz metabolismus jednotlivých AK)

#### e) oxidační deaminace biogenních aminů

Biogenní aminy (např. katecholaminy) jsou látky s biologickou aktivitou (mohou mít např. signální funkci). Jejich deaminací z nich vznikají aldehydy a následně karboxylové kyseliny, které již biologickou funkci nemají (hovoříme o inaktivaci biogenních aminů).

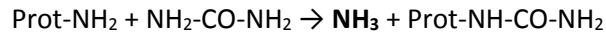
<sup>3</sup> Flavinové kofaktory se za normálních okolností regenerují v dýchacím řetězci, avšak D-aminooxidasy jsou enzymy, které na sebe kofaktor váží **pevně** a neumožní mu „odejít“ do dýchacího řetězce.



#### 4) Další reakce, při kterých vzniká amoniak

##### a) neenzymová karbamylace proteinů

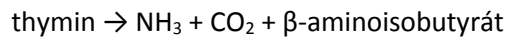
Lze ji zapsat rovnicí:



Jak vidíme ze zápisu, reakce se účastní **močovina**. Právě při vysoké koncentraci močoviny v buňce k této reakci dochází.

##### b) katabolismus pyrimidinových bází

Např.



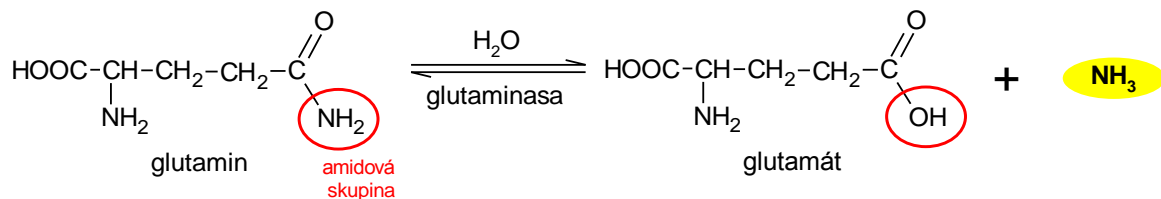
##### c) syntéza hemu



Poznámky:

##### Deamidace

Deamidací rozumíme **hydrolyzu amidové skupiny glutaminu**, která probíhá **v ledvinách** a vzniklý amoniak se ve formě  $\text{NH}_4^+$  vylučuje močí.



Reakci katalyzuje enzym glutaminasa (enzym ze skupiny hydroláz).

Reakce může probíhat i v opačném směru – amoniak, vzniklý např. ve svalové tkáni, či mozku, je navázán na glutamát a ve formě glutaminu je transportován do ledvin, kde dojde k deamidaci a vyloučení amoniaku z těla.

**Glutamin se považuje za netoxickou transportní formu amoniaku.**

##### Zvýšená tvorba amoniaku (patologické stavy)

Za patologických podmínek může docházet ke zvýšené tvorbě amoniaku:

- Při krvácení do GIT dochází ke zvýšení koncentrace amoniaku v portální krvi – krev obsahuje hemoglobin. Hemoglobin je bílkovina jako každá jiná a je proto ve střevě rozložena bakteriemi.
- Při infekcích močových cest (uroinfekcích) se do moče dostávají některé bakteriální enzymy – např. **bakteriální ureasa**, která **katalyzuje rozklad močoviny** na amoniak a  $\text{CO}_2$ . Vzniklý amoniak ( $\text{NH}_3$ ) reaguje s vodou za vzniku  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{OH}^-$ , což vede k alkaličtější moči, což má za následek **tvorbu fosfátových kamenů (konkrementů)**.

### Základní informace o amoniaku

- ve formě  $\text{NH}_3$  se jedná se o slabou bázi ( $\text{pK}_B = 4,75$ ), ve formě  $\text{NH}_4^+$  ( $\text{pK}_A = 9,25$ ) o velmi slabou kyselinu (za fyziologického pH převažuje forma  $\text{NH}_4^+$  (98%), která je méně toxická)
- fyziologická koncentrace amoniaku: do **30  $\mu\text{mol/l}$**  (koncentrace v moči: 10-40 mmol/l; ve slinách 2-3 mmol/l; v portální krvi 0,1-0,3 mmol/l; **v žilní krvi 0,005-0,030 mmol/l**)

### ADc) Detoxikace amoniaku

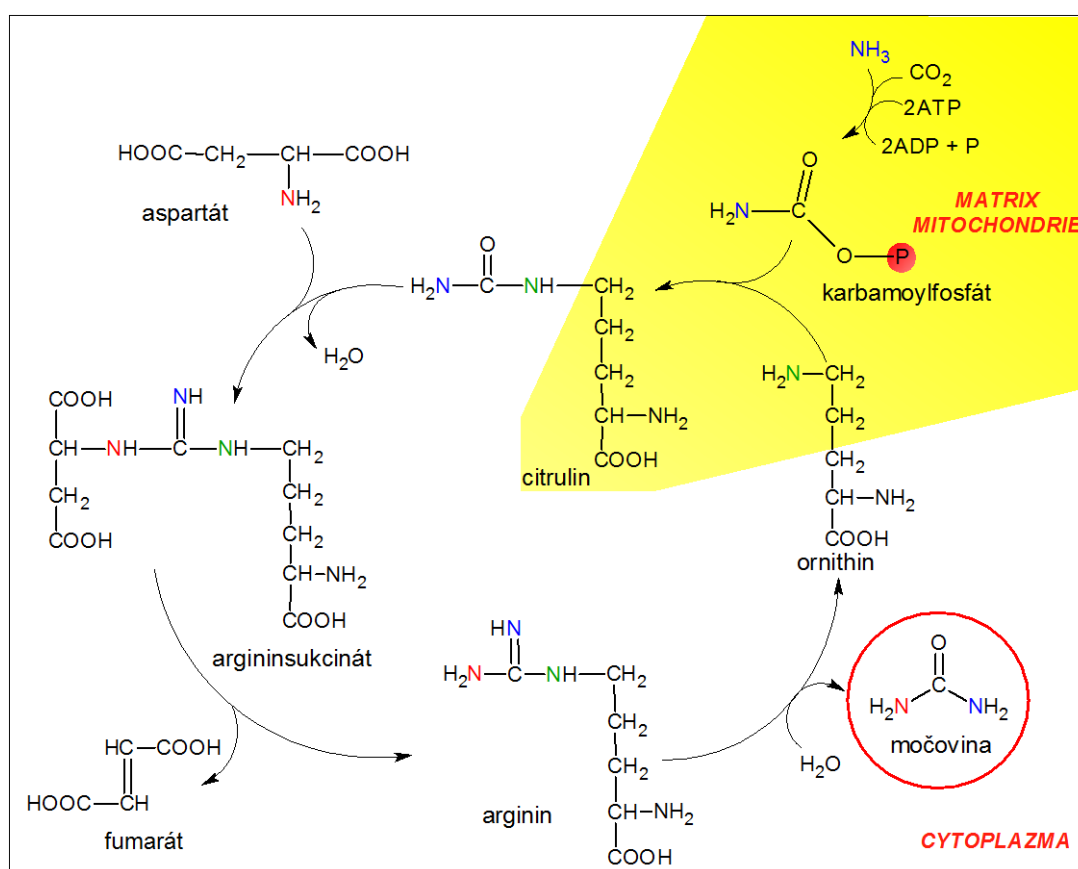
Aminoak může být detoxikován **třemi různými způsoby**:

- 1) **V močovinovém cyklu**
- 2) Zapojením do molekuly **glutaminu**
- 3) Zapojením do molekuly **glutamátu**

### AD1) Močovinový cyklus (ureosyntetický cyklus)

Močovinový cyklus je **nej důležitějším způsobem odbourání amoniaku**. Amoniak je přeměn na **močovinu** (diamid kyseliny uhličitě), za současné spotřeby **3 ATP**.

Reakce močovinového cyklu probíhají v cytosolu i v matrix mitochondrií, pro svůj průběh potřebují 5 různých enzymů. Cyklus je specifický pro **jaterní buňky** (jinde neprobíhá).

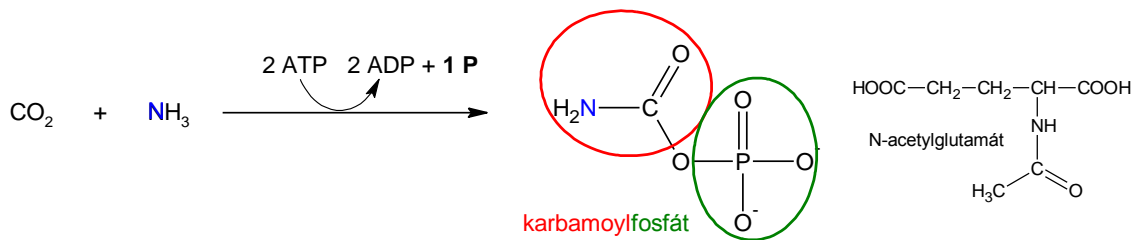


Jednotlivé reakce ureosyntetického cyklu:

#### 1) Tvorba karbamoyl fosfátu (mitochondrie)

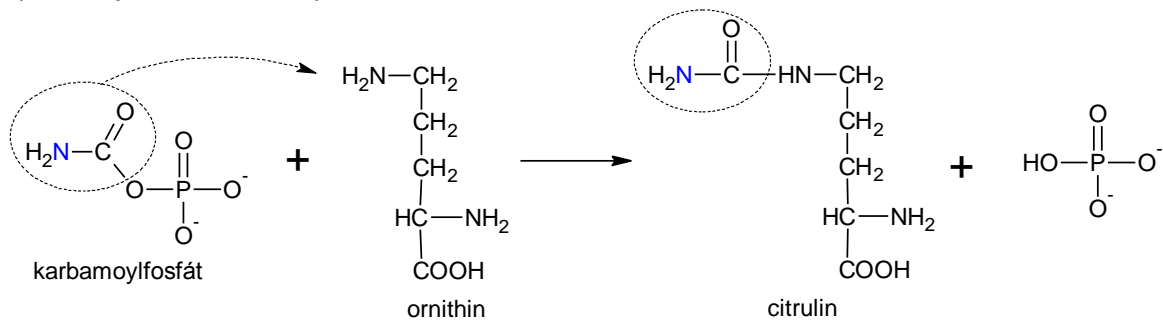
**Karbamoyl fosfát** je smíšený anhydrid kyseliny uhličitě a kyseliny fosforečné. Jedná se o **makroergní sloučeninu**.

K jeho syntéze je potřeba dodat **2 ATP** (jedno ATP dodává energii, druhé energii a fosfát). Proběhnutí reakce vyžaduje **allosterický aktivátor N-acetylglutamát**.



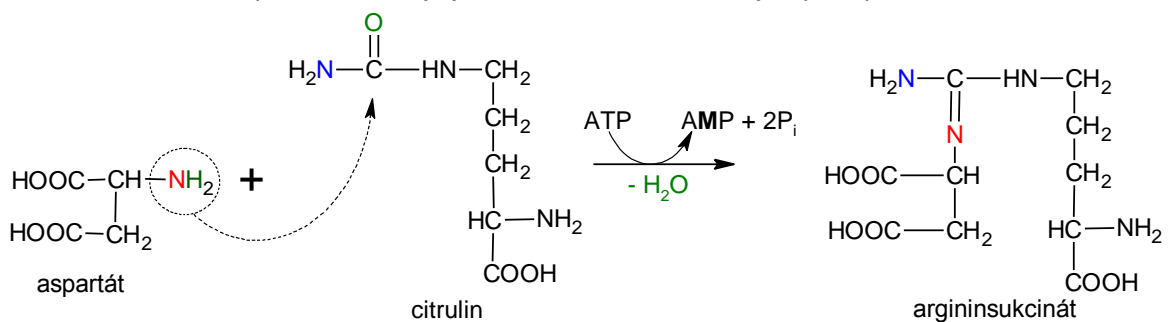
## 2) Vznik citrulinu (mitochondrie)

Citrulin vzniká z ornithinu (= nestandardní AK s 5 uhlíky a 2 aminoskupinami) a karbamoylu (pocházejícího z karbamoylfosfátu).



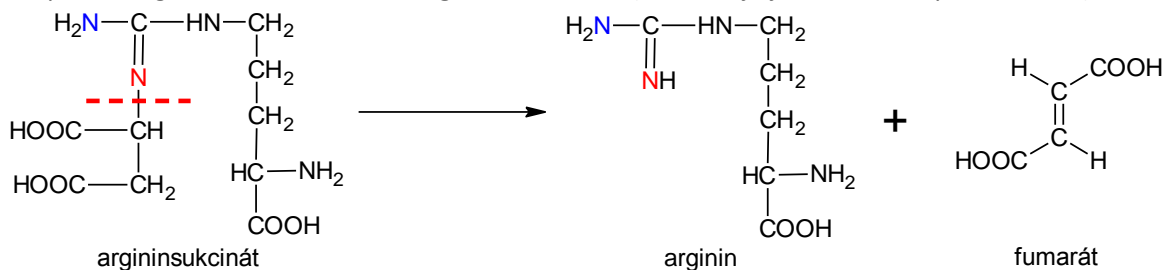
## 3) Kondenzace citrulinu s aspartátem (cytosol)

Aspartát je standardní AK, která v močovinovém cyklu **slouží jako zdroj druhé aminoskupiny** pro močovinu (močovina je **diamid** a pouze jedna aminoskupina pochází z amoniaku). Povšimněme si, že k proběhnutí děje je nutné dodat ATP, které je hydrolyzováno až na **AMP!**



## 4) Štěpení argininsukcinátu

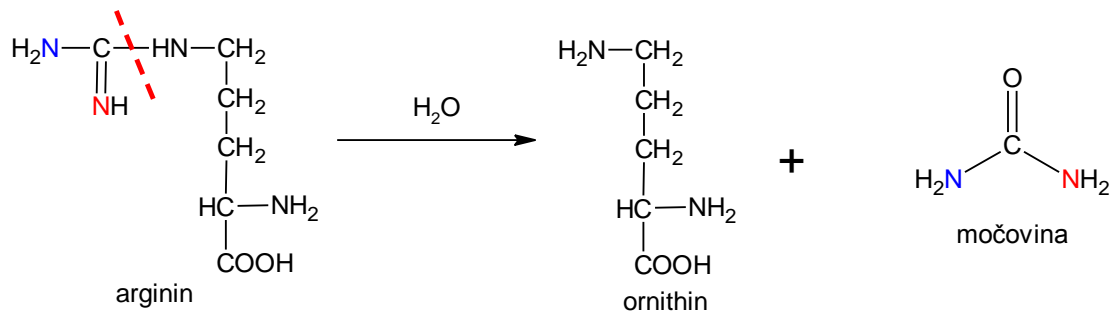
Štěpením argininsukcinátu vzniká **arginin** a **fumarát** (fumarát je jedním z meziproduktů CC).



## 5) Hydrolýza argininu

Hydrolýza argininu poskytuje **močovinu** a ornithin.

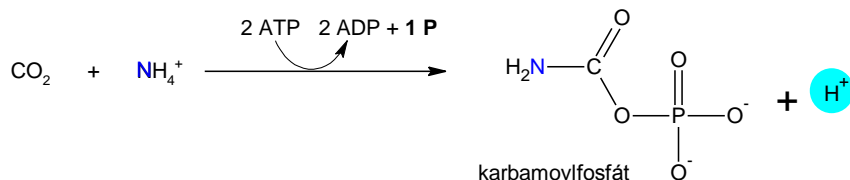




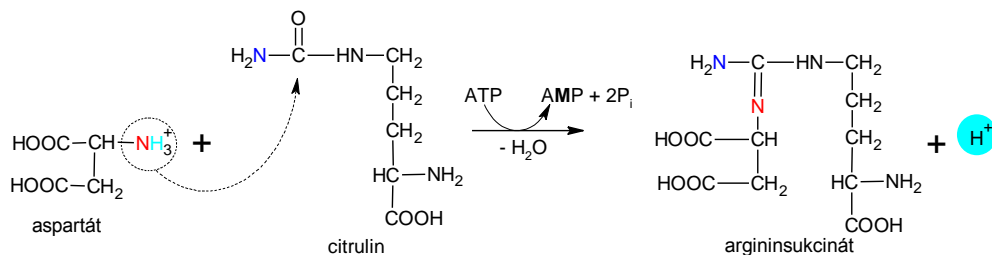
Syntéza močoviny je **proton-produktivní (acidifikující) děj**.

Z rovnic uvedených výše to není tak patrné, ale v organismu se většina AK vyskytuje s **určitým nábojem** (-NH<sub>2</sub> skupina je protonizovaná na -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). V průběhu cyklu dochází k uvolnění dvou protonů:

a) při vzniku karbamoylfosfátu



b) při vzniku argininsukcinátu

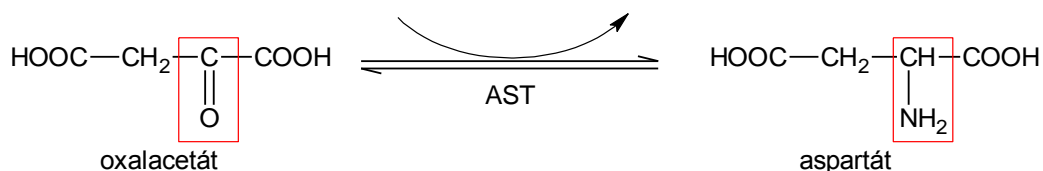


Souhrně lze zapsat výše uvedené rovnice:



### Regenerace aspartátu

Při syntéze močoviny je využíván aspartát. Tato AK vzniká **transaminací** z **oxalacetátu** (reakci katalyzuje enzym **AST – aspartátaminotransferasa**)



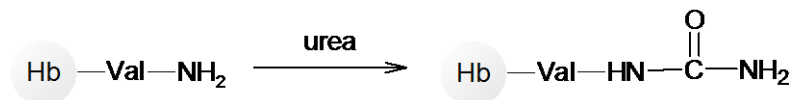
Oxalacetát je jedním z meziproduktů CC. Samotný oxalacetát je výchozím substrátem nejen pro transaminaci na aspartát, ale i pro vznik **2-oxoglutarátu** (jedna z reakcí CC). 2-oxoglutarát na sebe pak může (díky transaminaci) navázat -NH<sub>2</sub> skupinu z většiny dalších AK a vytvořit tak glutamát. A jak vidíme v AST reakci, glutamát rovněž potřebujeme pro syntézu aspartátu.

*(Zjednodušeně lze říci, že dokud probíhá CC tak jak má, neměl by v buňce nastat stav, kdy bude mít nedostatek aspartátu potřebného pro tvorbu močoviny).*

### Hlavní vlastnosti močoviny

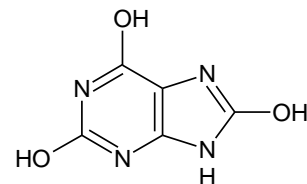
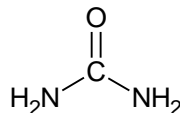
- močovina je diamid kyseliny uhličité (amid = **neelektrolyt**)
- polární látka, velmi dobře rozpustná ve vodě
- difunduje všemi membránami (pomocí hydrofilních kanálků)
- přispívá k osmolalitě krevní plazmy:
 
$$\text{osmolalita} \approx 2 [\text{Na}^+] + [\text{glukosa}] + [\text{močovina}] \text{ mmol/kg H}_2\text{O}$$
- vylučuje se v závislosti na množství přijatých bílkovin, za normálních okolností se vylučuje 330-600 mmol/d (20-35 g/d)

- koncentrace v krevním séru: **2-8 mmol/l**
  - zvýšená koncentrace naznačuje **poruchy exkrece** (renální selhání) nebo **nadměrný rozpad proteinů** (sepe, popáleniny, polytrauma, nádory, horečky...)
  - snížená koncentrace naznačuje **nedostatek bílkovin v potravě** a **poruchy produkce AK** (jaterní selhání)
- kromě pozitivních vlastností (výborná rozpustnost, netoxičnost, nereaktivnost, velký obsah dusíku v malé molekule, dobrá průchodnost membránami) má močovina i negativní vlastnost: při její vysoké koncentraci dochází k **neenzymové karbamylaci proteinů**, např. hemoglobinu:



Karbamylovaný Hb může tvořit až 1,6% celkového Hb.

### Srovnání močoviny a močové kyseliny

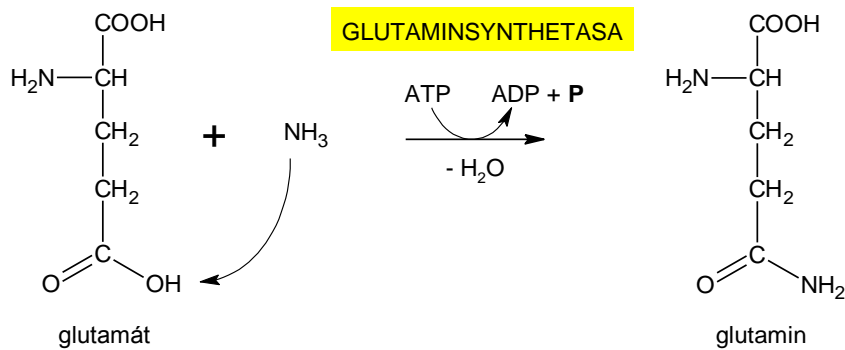


Charakteristika	Močovina	Močová kyselina
Latinský název	urea	acidum uricum
Chemický název	(diamid kyseliny uhličité)	(2,4,6-trihydroxypurin)
Chování ve vodě	neelektrolyt	slabá dvojsytná kyselina
pH vodného roztoku	neutrální	slabě kyselé
Rozpustnost ve vodě	výborná	špatná (vliv pH)
Redukční vlastnosti	ne	ano (antioxidant)
Vznik	játra (cytosol + mitochondrie)	řada tkání (cytosol)
Koncentrace v séru	2-8 mmol/l	150-400 μmol/l
Exkrece močí	20-35 g/d	0,5-1 g/d
% katabolického dusíku	80-90%	1-2%

### AD2) Syntéza glutaminu

Syntéza glutaminu představuje druhý způsob odbourávání amoniaku. Pro průběh reakce je potřebné 1 ATP.

Reakce se může odhrávat ve většině buněk, v buňce je lokalizována v mitochondriích.



Glutamin (jak již bylo řečeno) je považován za transportní formu amoniaku. Po té, co se dostane do ledvin, uvolní se z něj amoniak, který je vylučován močí:



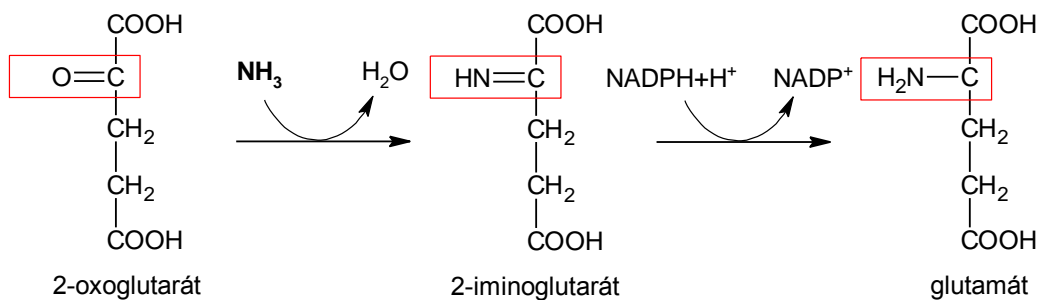
Glutamin je, společně s alaninem, jedou z nejzastoupenější AK v krvi v postresorpční fázi (fázi hladovění)<sup>4</sup>. V extrahepatálních tkáních je glutamin hlavním způsobem odbourávání amoniaku.

Glutamin hraje v organismu významnou roli:

- a) je to výhradní zdroj energie pro některé buňky (enterocyty, fibroblasty, lymfocyty, makrofágy)
- b) je to zdroj dusíku pro různé syntézy (puriny, aminocukry...)
- c) je zdrojem glutamátu

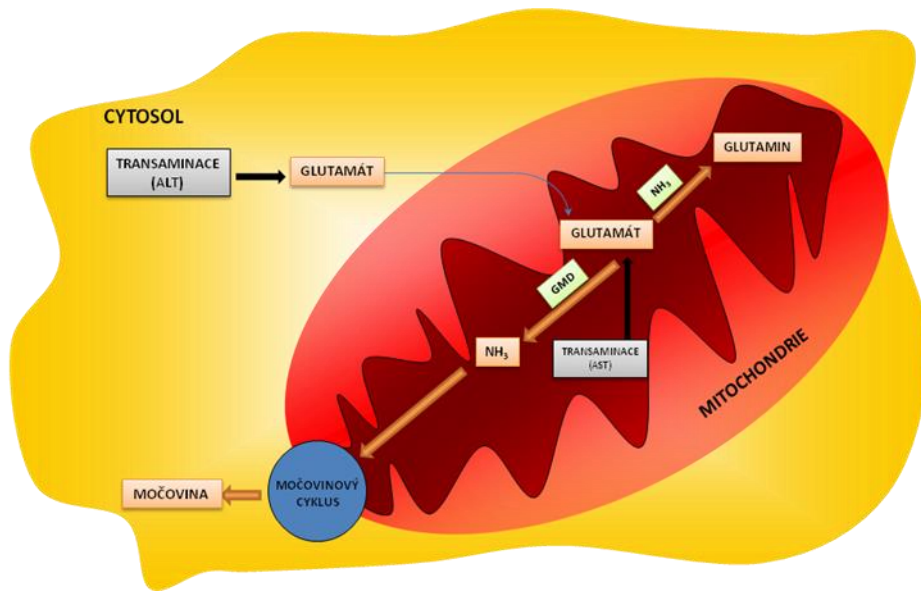
### AD3) Syntéza glutamátu

Syntéza glutamátu je třetím způsobem odbourávání amoniaku. Význam této reakce je velmi malý, spíše než jako reakci „odbourávání amoniaku“ ji chápeme jako reakci „syntézy glutamátu“. Reakci katalyzuje GMD a jedná se o hydrogenační aminaci glutamátu (opak dehydrogenační deaminace), jako kofaktor vystupuje NADPH+H<sup>+</sup> (redukováná forma).



**Lokalizace dějů (transaminace, deaminace, močovinový cyklus) v buňce:**

<sup>4</sup> Alanin, ve fázi hladovění, vzniká především ve svalové tkáni (svalová tkáň začíná být katabolizována). Ze svalové tkáně je transportován do jater, kde je přeměněn na pyruvát a následně na glukosu, která se opět vrací do svalů, aby mu poskytla energii (hovoříme o **glukoso-alaninovém cyklu**)

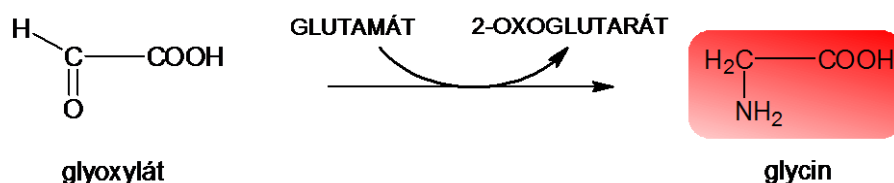


## 6.5 Syntéza neesenciálních aminokyselin

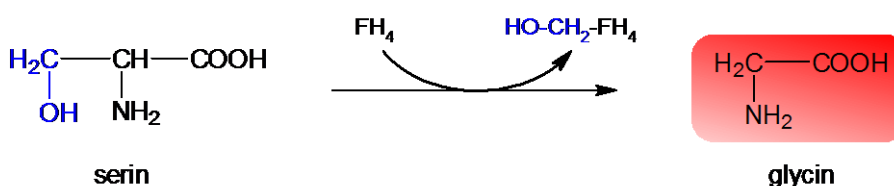
### 6.5.1 Syntéza glycinu

Glycin je možné syntetizovat třemi způsoby:

#### a) Z glyoxalátu (transaminace)



#### b) Ze serinu

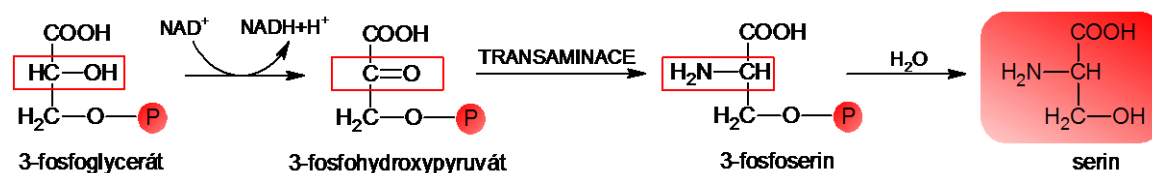


Reakce se účastní  $\text{FH}_4$  (tetrahydrofolát), který obecně slouží k přenosu jednouhlíkatých zbytků.

#### c) Z cholinu

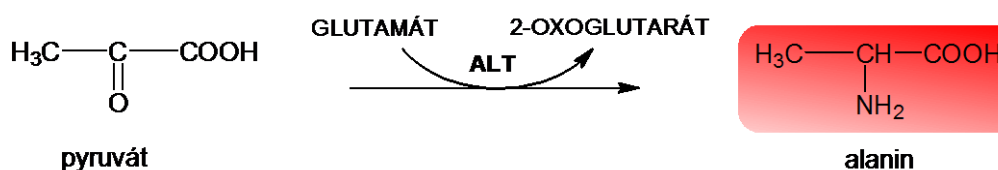
### 6.5.2 Syntéza serinu

Serin je možné syntetizovat z 3-fosfoglycerátu, což je jeden z produktů glykolýzy:



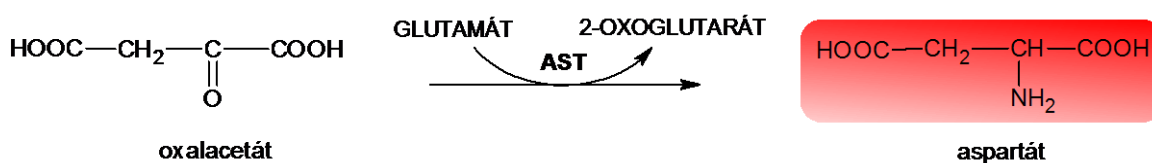
### 6.5.3 Syntéza alaninu

Alanin je syntetizován z pyruvátu (ALT reakce v opačném směru)



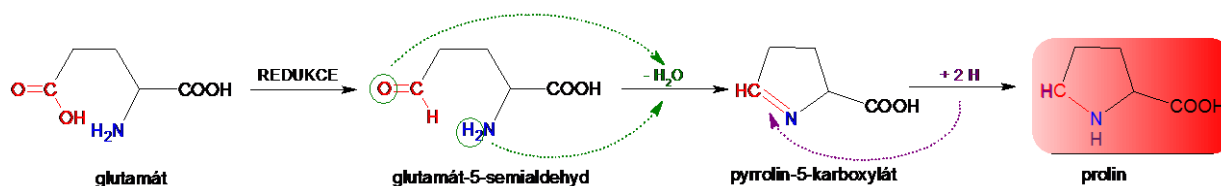
### 6.5.4 Syntéza aspartátu

Asparát je syntetizován z oxalacetátu (AST reakce v opačném směru). **Touto reakcí je aspartát produkován, aby mohl být následně využit v močovinovém cyklu.**



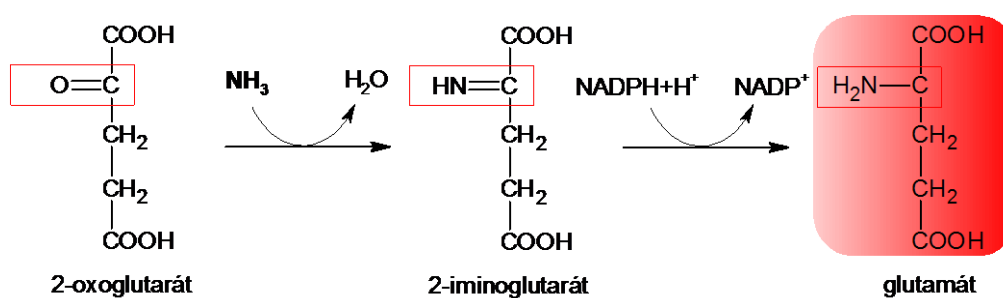
### 6.5.5 Syntéza prolinu

Syntéza prolinu opakem k jeho katabolismu – vycházíme z **glutamátu**.



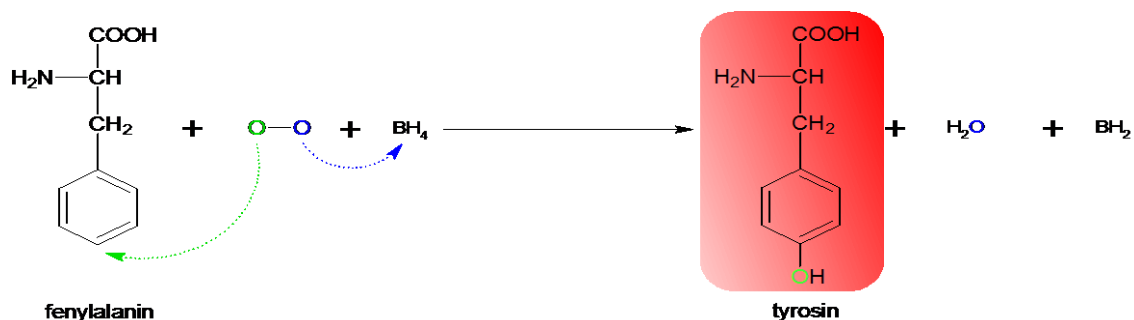
### 6.5.6 Syntéza glutamátu

Glutamát vzniká redukční aminací 2-oxoglutarátu. Tato reakce je jedním ze způsobů odbourávání amoniaku.



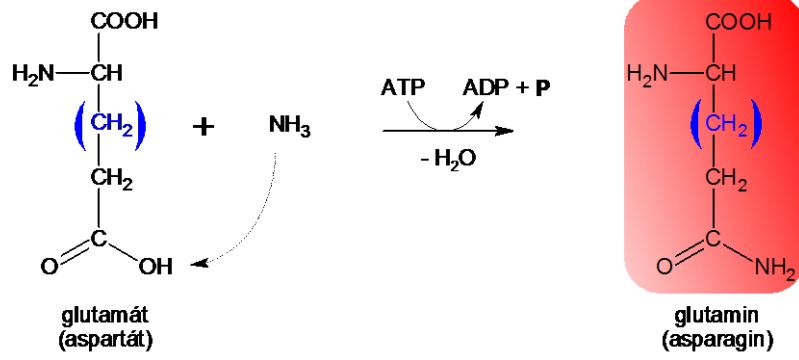
### 6.5.7 Syntéza tyrosinu

Tyrosin je sice **neesenciální** AK, avšak jeho prekurzorem je **esenciální fenylalanin** (= fenylalanin je limitující AK pro tyrosin). Pro oxidaci fenylalaninu je potřeba kyslíku ( $O_2$ ) a kofaktoru  $BH_4$ , který je **donorem dvou vodíků na vznik vody**.



### 6.5.8 Syntéza glutaminu a asparaginu

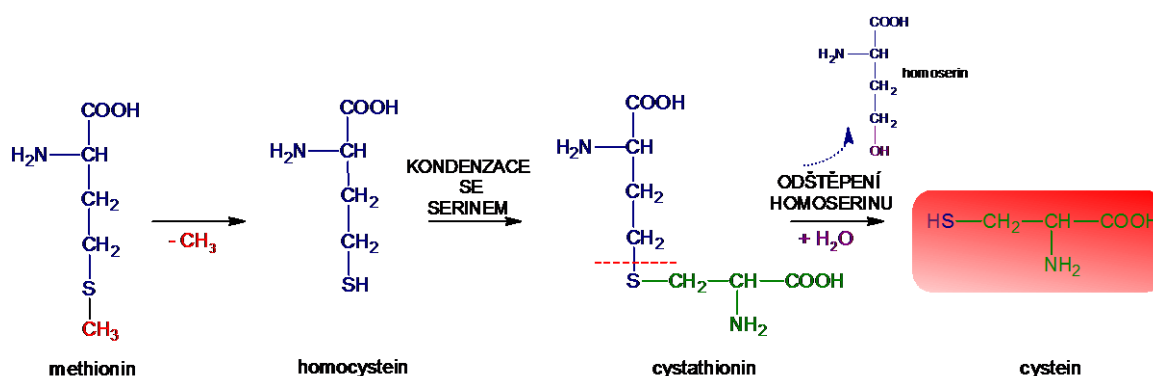
Glutamin i asparagin vznikají stejným způsobem (asparagin má akorát o jednu  $-CH_2-$ skupinu méně – znázorněno modrou závorkou).





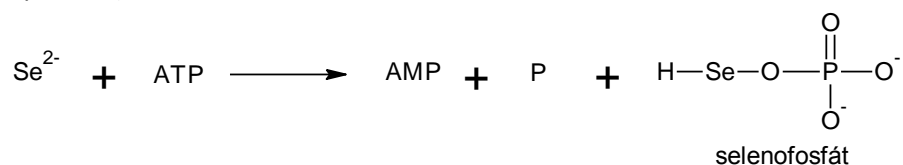
### 6.5.9 Syntéza cysteinu

Cystein získáváme při odbourávání **methioninu (esenciální AK)**.

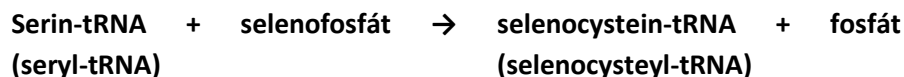


### 6.5.10 Syntéza selenocysteinu (21. AK)

Pro vznik selenocysteinu je nejprve potřeba vytvořit **selenofosfát**, který vzniká ze **selenidu** (přijátého v potravě) a ATP:



Následně je selenocystein syntetizován kotranslačně (syntézy se účastní transferová RNA) ze serinu a selenofosfátu:



Vzniklá selenocysteyl-tRNA se váže s elongačním faktorem a je transportována na ribozom. Při translaci je **selenocystein kódován tripletem UAG** (v normálním případě **stop-kodon**). Aby mohlo dojít k jeho zapojení do řetězce, je potřeba poznat, že má být zařazen, k čemuž slouží **roznášecí elementy** v nekódující části mRNA.

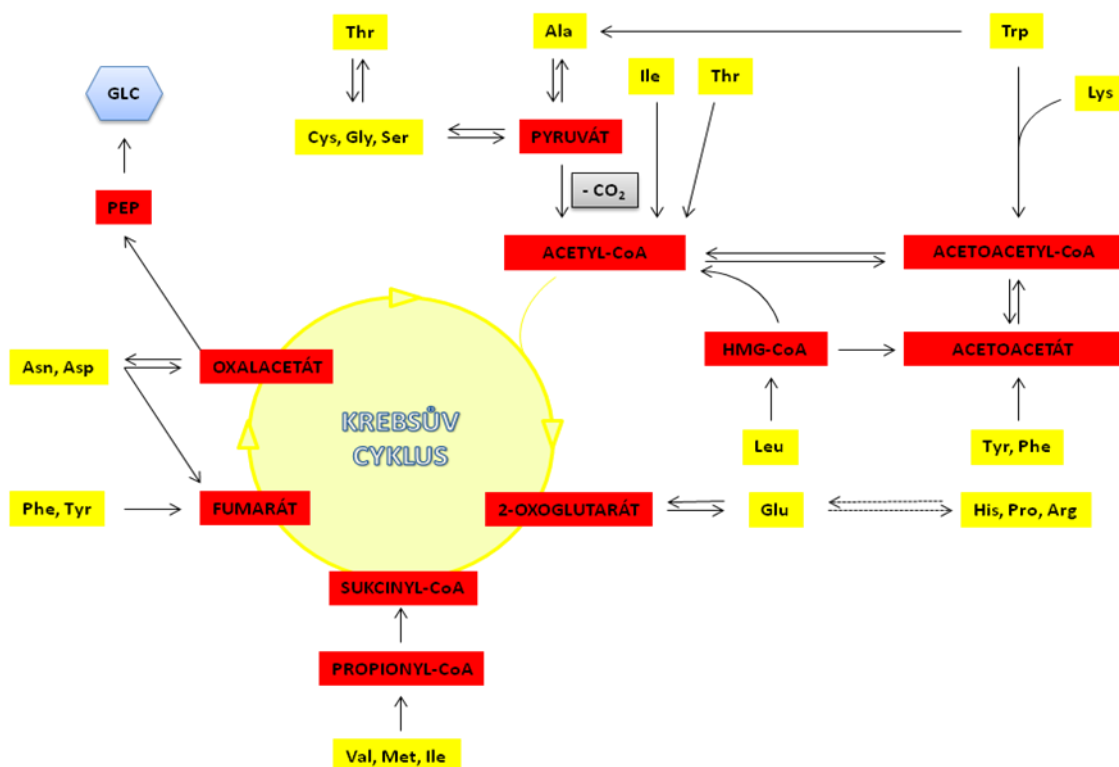
#### Význam selenocysteinu:

- je součástí enzymů **thioredoxinreduktasa, glutathionperoxidasa<sup>5</sup>, deiodinasa**

<sup>5</sup> Funkcí glutathionperoxidasy v organismu je:

- rozklad peroxidu vodíku H-O-O-H (k čemuž slouží mj. i katalasa)
- štěpení vazby R-O-O-H (vzniká např. při lipoperoxidaci VMK), tuto vazbu rozloží na H<sub>2</sub>O a R-OH, reakce je významná především proto, že vazbu R-O-O-H katalasa štěpit neumí!

## 6.6 Metabolismus (přeměny) jednotlivých AK



K obrázku:

- žlutým podbarvením jsou zvýrazněny jednotlivé AK
- červeným podbarvením jsou znázorněny ostatní sloučeniny, které při metabolismu AK vznikají
- PEP = fosfoenolpyruvát
- HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A

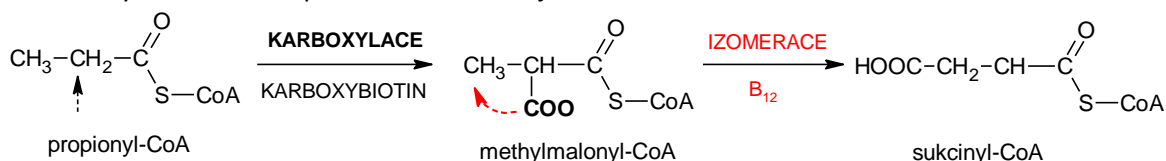
**Aminokyseliny lze rozdělit:**

TYP	ZÁSTUPCI	CO POSKYTUJÍ
GLUKOGENNÍ (13)	většina AK	meziprodukty CC
KETOGENNÍ (2)	leucin, (lysin)	acetyl-CoA, acetoacetát
SMÍŠENÉ (5)	threonin, isoleucin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan	meziprodukty CC, pyruvát, acetyl-CoA, acetoacetát

**Pozn.** LIFT je pomůcka pro zapamatování AK, které jsou ketogenní; L = leucin, lysin; I = isoleucin; F – fenylalanin; T = tryptofan, tyrosin, threonin

Poznámky:

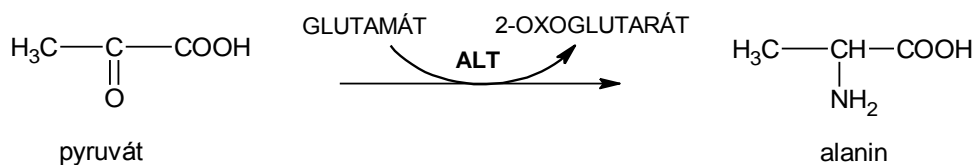
- Jak vidíme ze schématu, vzniká z Val, Met, Ile **propionyl CoA**, který je následně přeměněn na sukcinyl-CoA. Reakce probíhá dle následujícího schématu:



- AK ve svém metabolismu procházejí často **transaminací** (enzymy aminotransferasy) a **dekarboxylací** (enzymy dekarboxylasy). **Kofaktorem obou skupin těchto enzymů je pyridoxalfosfát.**

### 6.6.1 Alanin

Alanin vzniká **transaminací pyruvátu**



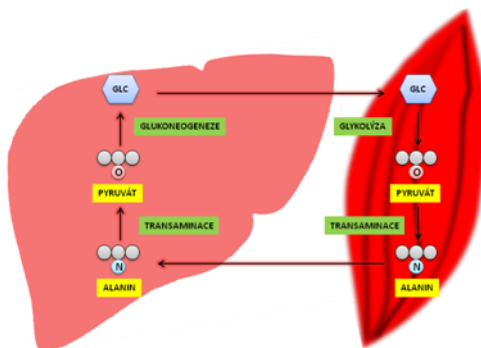
Alanin je druhou **nejvíce zastoupenou AK v krvi** (především v postresorpční fázi). Do krve je **nejvíce uvolňován svalovou tkání**. V případě metabolického stresu se z něj stává esenciální AK (je využíván organismem v glukoneogenezi a může dojít k jeho vyčerpání).

Alanin má zvláštní význam ve svalech.

Při glykolýze vzniká ve svalové tkáni pyruvát, který je transaminován právě na alanin (Ize říct, že alanin je **transportní formou dusíku** vylučovanou svalovou tkání do krevního oběhu). Alanin je následně přenesen do jater, kde je transaminován na pyruvát a ten je přeměněn na glukosu. Glukosa putuje zpět do svalové tkáně.

Druhým způsobem vzniku alaninu ve svalové tkáni je proteolýza svalových proteinů (při hladovění). Uvolněný alanin je opět transportován do jater, kde dojde k jeho přeměně na pyruvát a pyruvát je následně transformován na glukosu. Glukosa opět putuje do svalové tkáně, které poskytne energii potřebnou pro svalovou činnost.

Vztah mezi játry a svaly popisuje tzv. **glukoso-alaninový cyklus**:



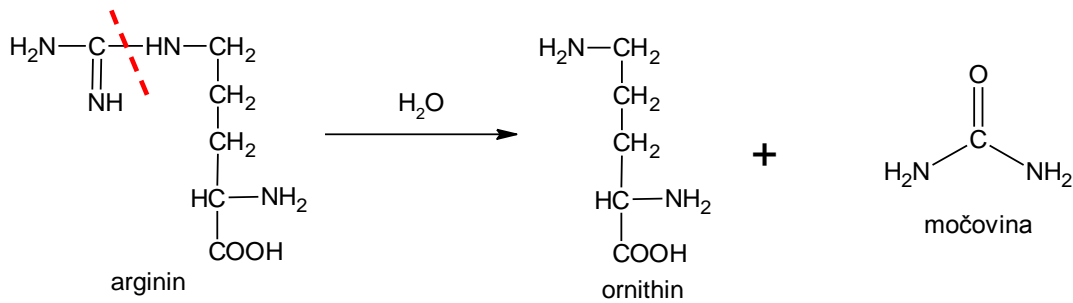
Obrázek 5 - Glukoso-alaninový cyklus

Transaminace pyruvátu na alanin je katalyzována enzymem **ALT (alaninaminotransferasa)**. ALT je klinicky významný enzym – jeho zvýšená katalytická koncentrace v krevním séru slouží jako indikátor hepatopatií (onemocnění jater).

### 6.6.2 Arginin

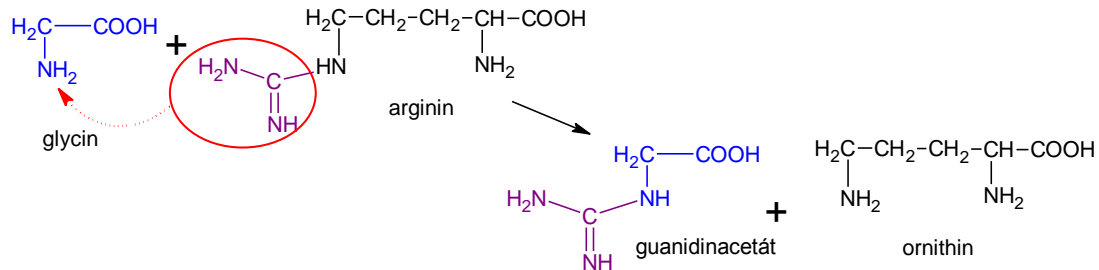
Arginin je AK **podmíněně esenciální** (v období růstu). Obsahuje ve své molekule **guanidinovou skupinu**, která z ní činí **nejbazičtější AK**.

- 1) Jedná se o jednu z AK, která **nepodléhá transaminaci**. Její **hydrolýzou** vzniká **ornithin** a **urea**:

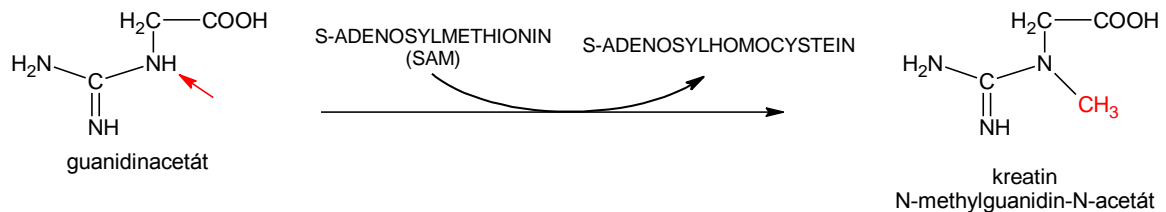


2) Je jednou z AK, spolu s **glycinem a methioninem**, ze kterých se syntetizuje **kreatinfosfát**.

a) Nejprve arginin reaguje s glycinem za vzniku **guanidinacetátu a ornithinu**

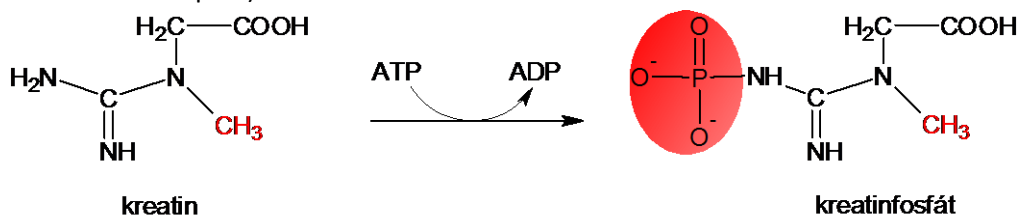


b) Guanidinacetát je následně methylován na N<sup>1</sup> dusíku pomocí SAM



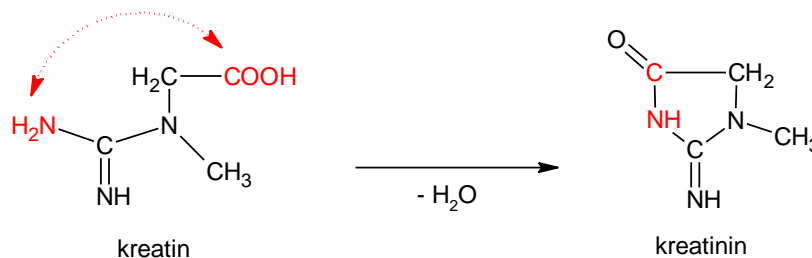
Pozn. Dusík N<sup>1</sup> pochází z glycinu.

c) Kreatin může být nadále **fosforylován na N<sup>2</sup> dusíku** za vzniku **kreatinfosfátu**. Vznik kreatinfosfátu je jeden z případů, kdy **fosforylace probíhá na -NH<sub>2</sub> skupině** (v 99% případů probíhá na -OH skupině).

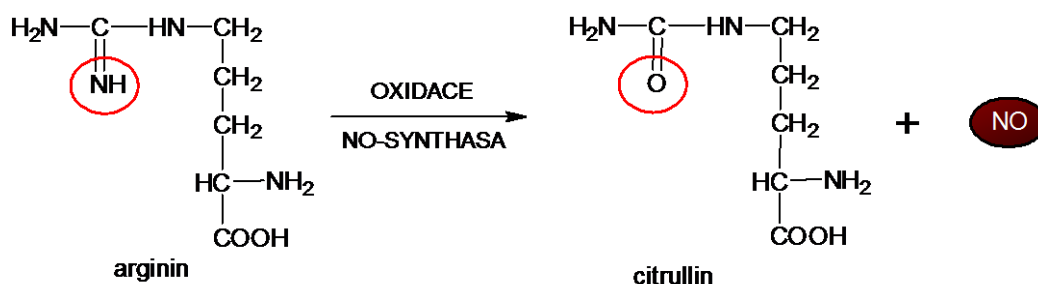


Kreatinfosfát obsahuje ojedinělé uskupení atomu P-N-C, které v jiné molekule v organismu nenajdeme.

d) Nadbytečný kreatin je z těla vyloučen po **cyklizační dehydrataci** v podobě **kreatininu**. Kreatinin již nemá v organismu dalšího využití (= odpadní produkt)



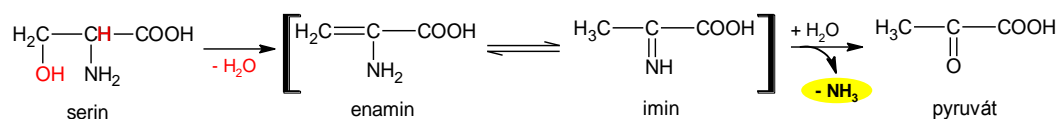
3) Arginin má **speciální význam** – vlivem enzymu **NO-synthasy** se z něj uvolňuje oxid dusnatý (NO), který má **vazodilatační efekt**.



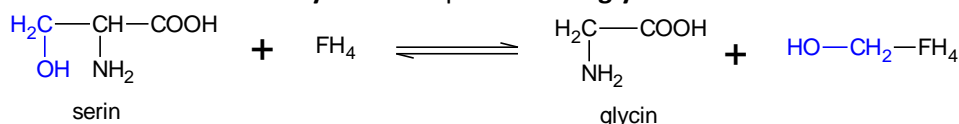
### 6.6.3 Serin

Serin je **neesenciální AK** (vznik z 3-fosfoglycerátu, viz kap. 6.5).

1) Typickou reakcí serinu je jeho **dehydratační deaminací** (zbavuje se tak dusíku).

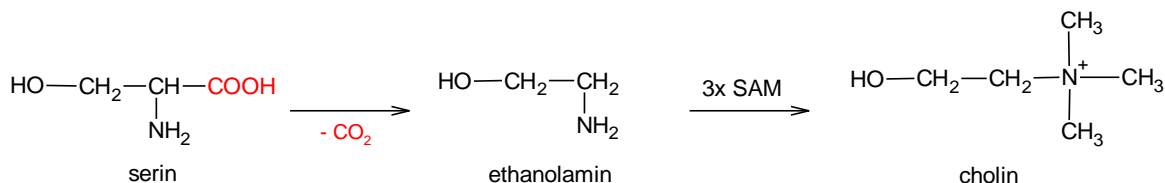


2) Serin se může za účasti **tetrahydrofolátu** přeměnit na **glycin**.

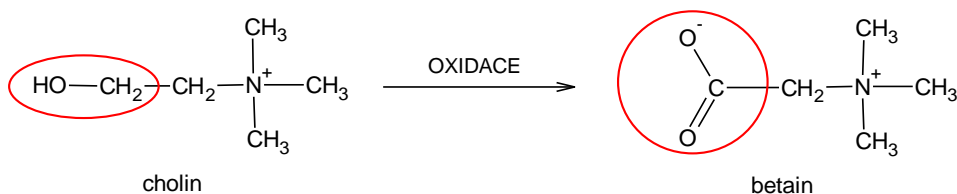


Výše uvedená reakce je zdrojem **jednouhlíkatých zbytků v organismu**. Vzniklý glycin může vstoupit do další reakce, ve které je rozložen na **methylenový (-CH<sub>2</sub>-)** zbytek, který se váže na tetrahydrofolát a dále na vodu a amoniak.

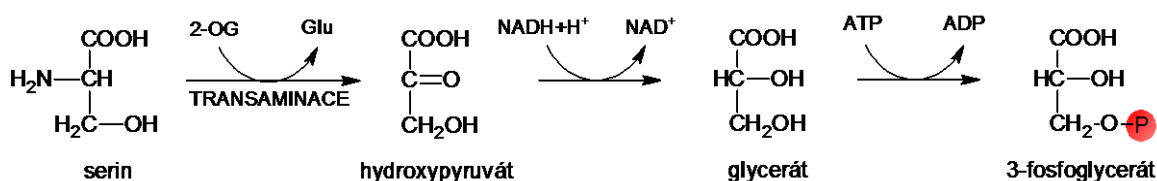
3) **Dekarboxylací serinu** vzniká **ethanolamin**, který může být dalšími reakcemi (**trojnásobná N-methylace**) přeměn až na **cholin**:



Následnou oxidací (dehydrogenací) cholinu vzniká **betain**. Betain je fyziologický amfiont (jeho molekula obsahuje záporný i kladný náboj) a může sloužit jako **alternativní metylační činidlo**:



4) Serin podléhá i **transaminaci**. Dalšími reakcemi vzniká 3-fosfoglycerát, ze kterého následně může vzniknout glukosa.



Pozor! Katabolismus a syntéza serinu **nejsou** zcela identické! V obou případech se vychází ze serinu, či 3-fosfoglycerátu, ale meziprodukty reakce jsou jiné.

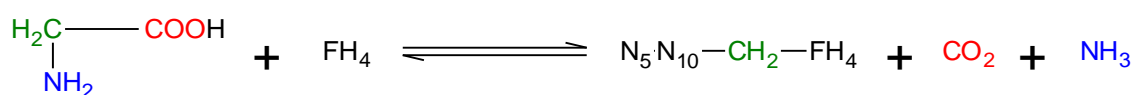
#### Další význam serinu:

- kotranslačně z něj vzniká selenocystein
- je součástí **glycerofosfolipidů**
- v bílkovinách slouží jako **časté místo fosforylací** (především v regulačních enzymech = slouží k „vypínání a zapínání“ funkce enzymu) a **glykosidací** (vznik O-glykosidové vazby)
- často se nachází v aktivním místě enzymu (skupina enzymů zvaná **serinové proteasy**, např. **pepsin a trypsin**)

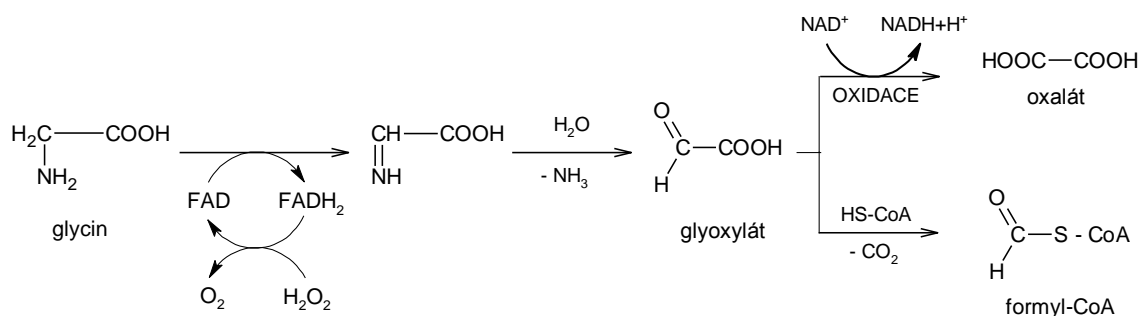
#### 6.6.4 Glycin

Glycin je nejjednodušší aminokyselinou.

- 1) Katabolismus glycinu **vede k jeho kompletnímu rozštěpení**. Jeden z uhlíků se uvolní ve formě CO<sub>2</sub>, druhý se ve formě methylenové (-CH<sub>2</sub>-) skupiny váže na tetrahydrofolát a dusík je přeměněn na amoniak:



- 2) Existují i vedlejší cesty katabolismu glycinu. Jedná se především o jeho **oxidativní (aerobní) deaminaci**:



Jak vidíme, vzniká při této reakce **oxalát**, který může reagovat s **vápennými ionty** za vzniku **šřavelanových kamenů** (kalcium-oxalát). 60% oxalátu v našem těle vzniká právě touto cestou (další zdroje této látky jsou **katabolismus kyseliny askorbové**<sup>6</sup> (30%) a **příjem oxalátu z potravy** (10%) jako je špenát<sup>7</sup>, reveň, mangold, čaj či kakao).

- 3) Glycin může být zpětně přeměněn i na **serin** (viz. 6.6.3 Serin, rce 2)

#### Další význam glycinu:

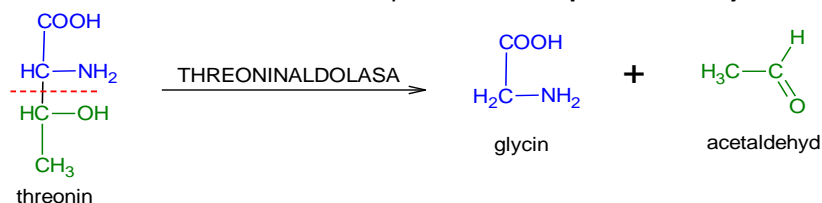
- je donorem C1 fragmentů (vznikají při jeho úplném rozštěpení)
- podílí se na syntéze **hemu a kreatinu**
- je součástí glytathionu
- **konjuguje se žlučovými kyselinami a xenobiotiky** (glycin se naváže na sloučeninu, která obsahuje -COOH skupinu pomocí své -NH<sub>2</sub> skupiny, čímž se vytvoří **amid**, který je **polárnější** než původní sloučenina a snáze se tak vyloučí z těla)

<sup>6</sup> Gramové dávky vitamínu C škodí.

<sup>7</sup> Špenát obsahuje velké množství železa, které se – kvůli oxalátu – bohužel nevyužije: při vaření vzniká oxalát železitý (a železo v této formě neumíme přijmout).

### 6.6.5 Threonin

Threonin je jednou z **esenciálních AK**. Ve své molekule obsahuje dva asymetrické (chirální) uhlíky. Díky –OH skupině v postraním řetězci je, stejně jako serin, častým místem **fosforylací a glykosylací v bílkovinách**. Jeho katabolismus spočívá v **rozštěpení molekuly na 2 štěpy**:



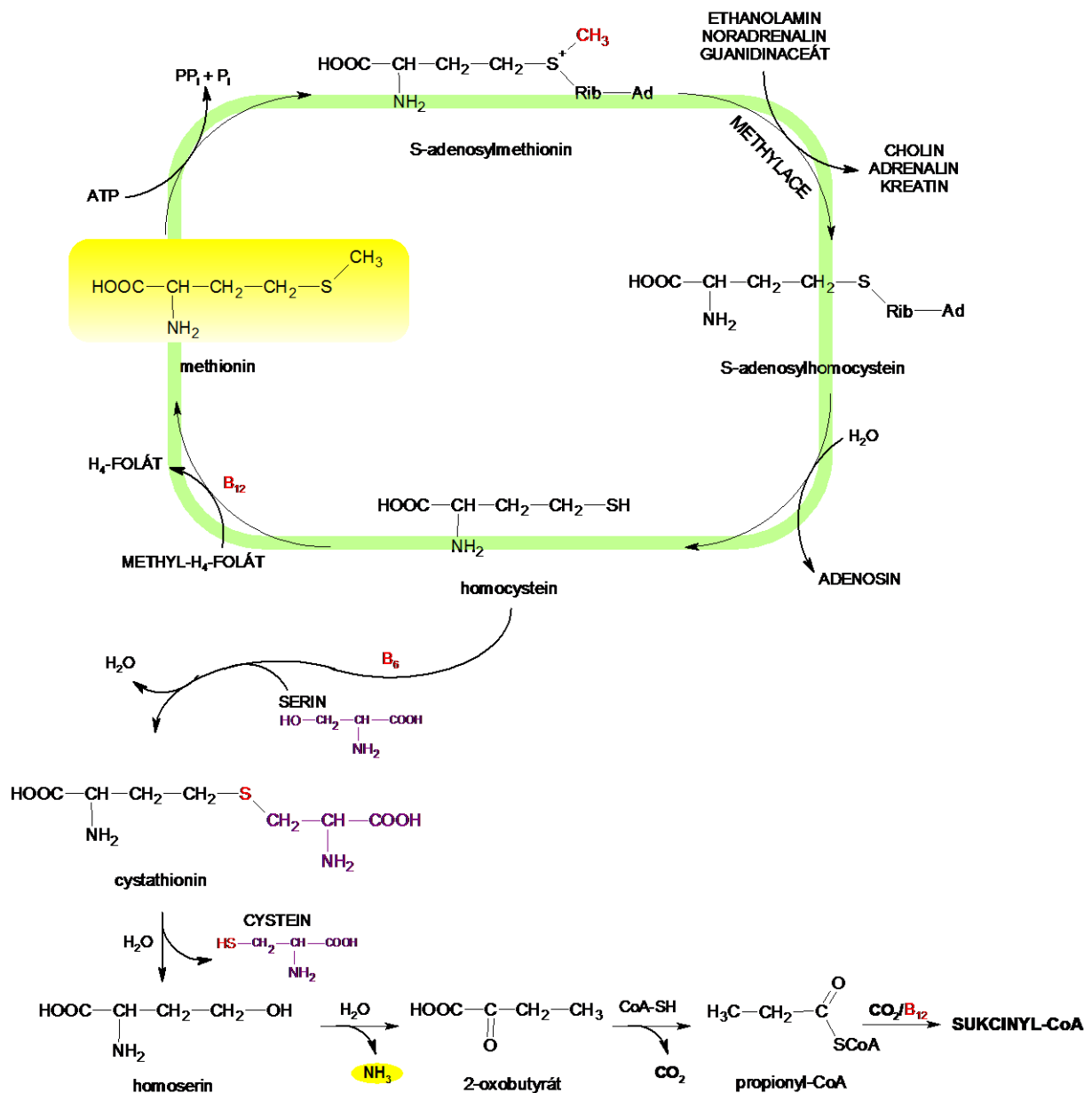
### 6.6.6 Methionin

**Methionin** je v podobě SAM (**S-AdenosylMethionin**) **univerzálním methylačním činidlem**. Podílí se např. na přeměnách:

- ethanolamin → cholin (trojnásobná methylace)
- noradrenalin → adrenalin
- guanidinacetát → kreatin

Po té, co předá methylovou skupinu, vzniká ze SAM látka zvaná S-adenosylhomocystein, který se hydrolyticky štěpí na adenosin a homocystein. Homocystein může přijmout **methylovou skupinou od methyl-tetrahydrofolátu (CH<sub>3</sub>-FH<sub>4</sub>)** a regenerovat se na methionin, který reakcí s ATP vytvoří původní SAM.

Pozn. Výše popsaný cyklus je zvýrazněn na schématu níže zeleným podkladem.



V případě, že není potřeba provádět methylace, je methionin odbouráván na homocystein, který konjuguje se serinem za vzniku cystathioninu (**disulfid**), ten se rozštěpí na cystein a homoserin, který je následně přeměněn (přes **2-oxobutyřát** a **propionyl-CoA**) na **sukcinyl-CoA**.

**Povšimněme si**, že v metabolismus methioninu hraje významnou roli **vitamin B<sub>12</sub>** (působí jako kofaktor). Vitamin B<sub>12</sub> se v organismu účastní „zvláštních“ reakcí, při kterých dochází **k přenosu -CH<sub>3</sub> skupiny v rámci jedné molekuly**. Jedná se o reakce:

- homocystein → methionin
- methylmalonyl-CoA → sukcinyl-CoA

Při nedostatku vitamínu B<sub>12</sub> dochází k **hyperhomocysteinemii** (o rizikovosti homocysteinu pojednává následující odstavec).

Kromě zvýšené hladiny homocysteinu způsobuje nedostatek vitamínu B<sub>12</sub>:

- hromadění methylmalonyl-CoA v organismu (což vede ke zvýšenému vylučování této látky močí)



- hromadění **methyltetrahydrofolátu (CH<sub>3</sub>-FH<sub>4</sub>)**, který nemůže být regenerován na folát (folát se ocitá ve „folátové pasti“)<sup>8</sup>

### Homocystein

Homocystein není standardní AK – jedná se o **látku nebezpečnou**. Doposud nebyly přesně objasněny všechny mechanismy jeho účinku, avšak faktem zůstává, že **zvyšuje riziko cévních onemocnění (aterosklerózy)**.

Vlivy homocysteinu na organismus:

- **působí přímo na cévní stěnu** (poškozuje epitel)
- **zkracuje životnost trombocytů, snižuje fibrinolýzu**
- **podporuje vznik kyslíkových radikálů** (což opět poškozuje cévní stěnu)
- **podporuje lipoperoxidaci**

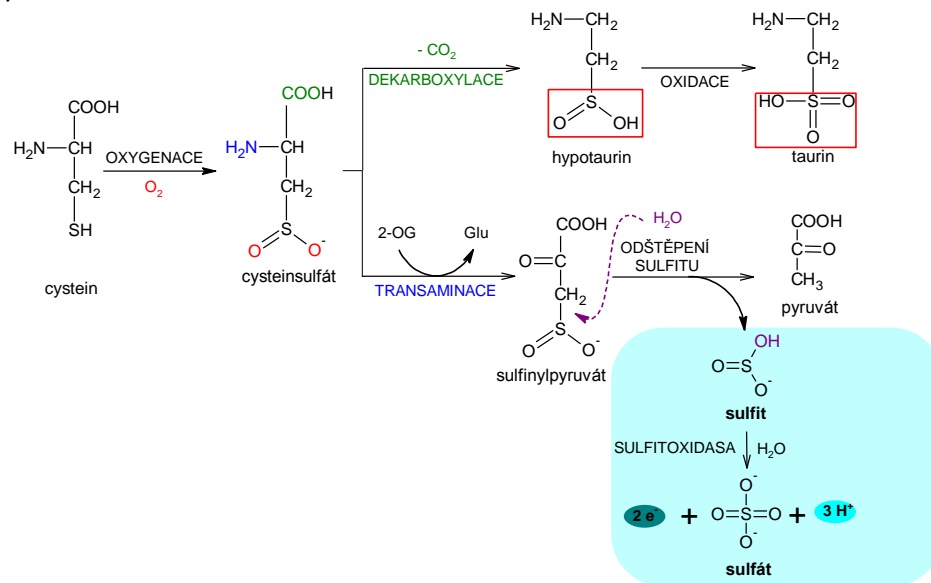
Zvýšená hladina homocysteinu v krvi je **novým markerem kardiovaskulárních onemocnění nezávislým na cholesterolu**.

(Pozn. zvýšená hladina cholesterolu je důležitým markerem kardiovaskulárních onemocnění)

Pro odstranění homocysteinu jsou potřeba tři vitaminy: **kyselina listová, kobalamin, pyridoxin**.

### 6.6.7 Cystein

1) Hlavní katabolickou drahou je **přímá oxygenace síry** a následné přeměny oxygenované skupiny:



Cystein byl oxidován na **cysteinsulfát**. Cysteinsulfát podléhá dvěma reakcím:

- jeho **dekarboxylací** a **oxidací** vzniká **taurin**<sup>9</sup>
- jeho **transaminací** vzniká **sulfinylpyruvát**

Sulfinylpyruvát je následně hydrolyticky štěpen na pyruvát a **sulfit HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>**. Vlivem enzymu **sulfitoxidasy** (kofaktor: **molybdopterin**) dochází k **oxidaci na sulfát SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**, dle rovnice: <sup>10</sup>

<sup>8</sup> Hromadění CH<sub>3</sub>-FH<sub>4</sub> může být způsobeno i nefunkčností **methyltetrahydrofolát reduktasy**. Pokud tento enzym nefunguje, dochází rovněž k zvýšení hladiny homocysteinu v krvi.

<sup>9</sup> Taurin je aminokyselinou, která se podílí na **konjugaci žlučových kyselin**. Při metabolickém stresu je jednou z **esenciálních AK** (bývá proto přidáván do energetických nápojů)

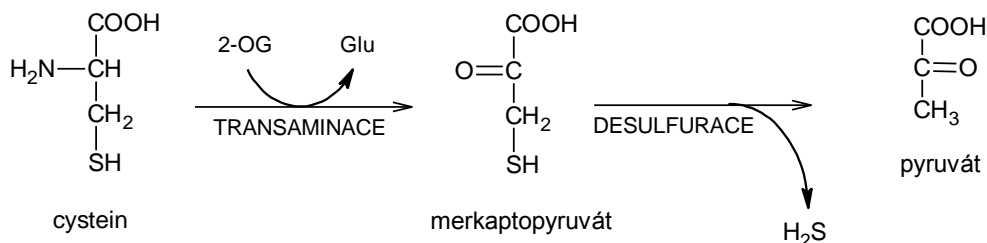
<sup>10</sup> Sulfit za fyziologického pH disociuje do prvního stupně, sulfát do druhého stupně.



Vzniklý **sulfát** (koncentrace v séru **0,5 mmol/l**) je využíván k tvorbě **PAPS**<sup>11</sup>, nadbytečný je vyloučen močí. Vzniklé **protony okyselují extracelulární prostory** a **elektrony** jsou využity k redukci **molybdenu** (v molybdopterinu).

Lze konstatovat, že **metabolismus sirných AK vede k acidóze**.

- 2) Méně častým způsobem katabolismu cysteinu je jeho přímá **transaminace** a následná **desulfurace**:



Vzniklý **sulfan H<sub>2</sub>S** je metabolizován různými způsoby:

- nejčastěji se postupně oxiduje na sulfát ( $\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ )
- ve velmi malé míře reaguje s Hb za vzniku **sulfohemoglobinu**
- u kuřáků z něj vzniká **thiokyanátový iont SCN<sup>-</sup>**<sup>12</sup>
- podobně jako NO je možné H<sub>2</sub>S využít jako **signální molekulu** (rovněž má vazodilatační účinky)

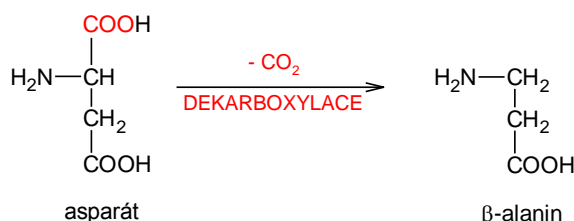
#### Další význam cysteinu:

- je jednou ze složek **glutathionu**
- jeho dekarboxylací vzniká **cysteamin**, který je součástí CoA-SH
- v bílkovinách vytváří **disulfidické můstky**

#### 6.6.8 Aspartát

Některé reakce aspartátu byly popsány v předchozích kapitolách:

- 1) Transaminací aspartátu vzniká **oxalacetát**  
 $\text{asparát} + 2\text{-oxoglutarát} \rightarrow \text{oxalacetát} + \text{glutamát}$  (viz kap. 6.4; Regenerace aspartátu)
- 2) V močovinovém cyklu **poskytuje dusík do močoviny** a **uvolňuje fumarát**  
 $\text{aspartát} + \text{citrulin} \rightarrow \text{argininsukcinát}$  (viz kap. 6.4; Močovinový cyklus)
- 3) Doposud nepopsanou reakcí je dekarboxylace aspartátu, při které vzniká **β-alanin** (součást koenzymu A).



Pozn. K dekarboxylaci dochází přednostně na **reaktivnějším uhlíku**, což je u dikarboxylových kyselin ten, který je blíže -NH<sub>2</sub> skupině.

<sup>11</sup> PAPS v organismu slouží jako **sulfatační činidlo** (jeho činností např. vznikají **sulfoestery**)

<sup>12</sup> Jak poznat kuřáka? Jeho sliny obsahují hodně thiokyanátových iontů – ty reakcí s Fe<sup>3+</sup> dávají výrazné červené zbarvení.

### Další význam aspartátu:

- poskytuje **dusík** k syntéze **purinů** (uvolňuje se při tom fumarát)
- poskytuje svůj **skelet** k syntéze **pyrimidinů**
- je součástí sladidla **aspartamu**
- kondenzací s amoniakem vzniká **asparagin** (výhradně pro **vlastní potřebu** – nejedná se o způsob detoxikace amoniaku!)

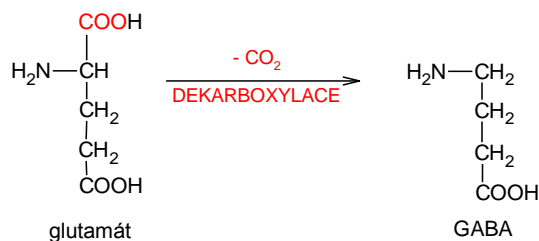
### 6.6.9 Glutamát

Některé reakce glutamátu byly popsány v předchozích kapitolách:

- 1) Glutamát s oxalacetátem poskytuje **aspartát (transaminace)**; viz výše). Tato reakce je velmi významná pro tvorbu asparátu (na syntézu močoviny), účastní se jí enzym AST.
- 2) **Dehydrogenační deaminace glutamátu** je hlavním zdrojem amoniaku v tkáních. Je to způsobeno tím, že většina AK prodělává transaminaci s 2-oxoglutarátem právě za vzniku glutamátu. Tato transaminace je **reversibilní** (může vznikat 2-oxoglutarát z glutamátu, z čehož vyplývá, že glutamát je **glukogenní AK**).

(viz kap. 6.4; Deaminace)

- 3) Kondenzací amoniaku s glutamátem vzniká **glutamin** – tato reakce (oproti reakci asparaginu) slouží jako **jeden ze způsobů detoxikace amoniaku** (jedná se o „transportní formu amoniaku“).
- 4) **Dekarboxylací** glutamátu vzniká **GABA (Gama-AminoButyric Acid)**, která slouží jako **inhibiční neurotransmitter v CNS**



Další „význam“ glutamátu:

- ve formě **glutamátu sodného (E621)** býval přidáván jako „**taste enhancer**“ do instantních polévek, masoxů, bujonů, sójové omáčky a podobných pokrmů (s jeho přidáváním se již přestává)
- Tzv. **syndrom čínského restaurantu** vzniká po požití 1-5 g glutamátu sodného; projevuje se nevolností, pocitem tepla ve svalech, napětím v obličeji, tlakem na prsou...
- **Glutamát sodný je zakázáno podávat dětem!!!**

### 6.6.10 Glutamin

Glutamin vzniká z glutamátu – tato reakce je jedním z možných způsobů detoxikace amoniaku, který je využíván mnoha různými tkáněmi včetně jater.

Po té, co se glutamin dostane do ledvinných tubulů, probíhá jeho **deamidace** za uvolnění amoniaku, který je následně vyloučen močí.

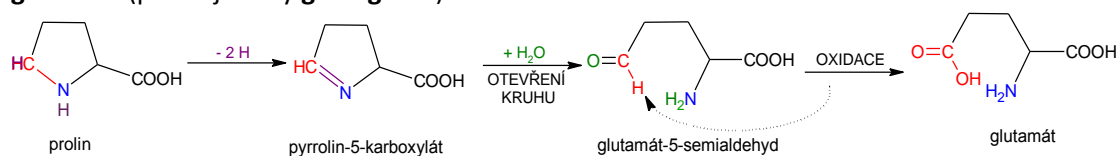
Pro některé buňky je **glutamin výhradním zdrojem energie** (např. **enterocyty, fibroblasty, lymfocyty a makrofágy**).

Slouží jako **donor dusíku** pro různé syntézy (**glukosamin, puriny**).

### 6.6.11 Prolin

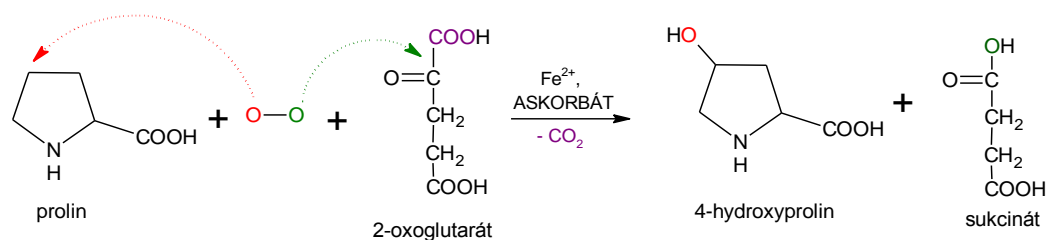
Prolin je postradatelnou AK – je možné jej syntetizovat z glutamátu (kap 6.5).

- 1) Katabolismus prolinu je opakem jeho **syntézy** (viz. kap. 6.5) – dochází k odbourávání na **glutamát** (prolin je tedy **glukogenní**).



- 2) Z prolinu vzniká **hydroxylací 4-hydroxyprolin**. Hydroxylace probíhá za účasti kyslíku, jehož jeden atom provádí samotnou hydroxylaci a druhý se navazuje na **2-oxoglutarát** (velmi **neobvyklý koreduktant**) za vzniku **sukcinátu**.

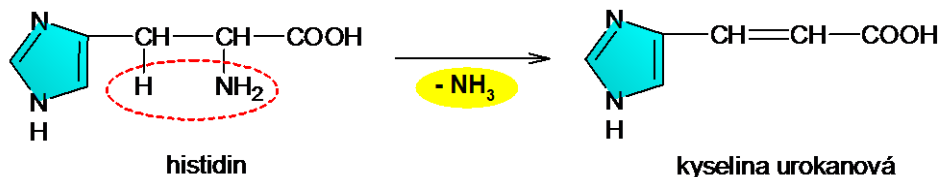
**K hydroxylaci prolinu dochází až posttranslačně** (tedy po zařazení do molekuly bílkoviny) a dochází k ní především v **kolagenu**.



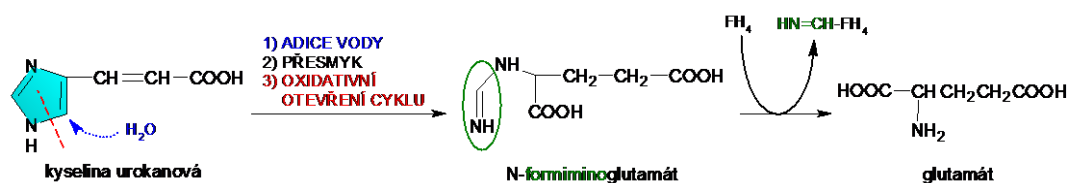
Vzniklý 4-hydroxyprolin se odbourává na **pyruvát** (oproti prolinu odbourávajícímu se na glutamát)

### 6.6.12 Histidin

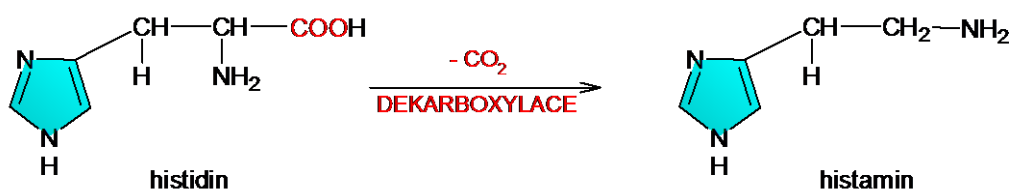
- 1) Histidin je jednou z AK, které nepodléhají transaminaci – dusíku se zbavuje pomocí **desaturační deaminace** za vzniku **kyseliny urokanové**.



- 2) Kyselina urokanová je dále odbourávána na N-formiminoglutamát (**FIGLU**), ze kterého se odštěpí **formiminoskupina** (naváže se na tetrahydrofolát; histidin je tedy **zdrojem C1 fragmentů**) a vzniká **glutamát** (histidin je tedy **glukogenní AK**):

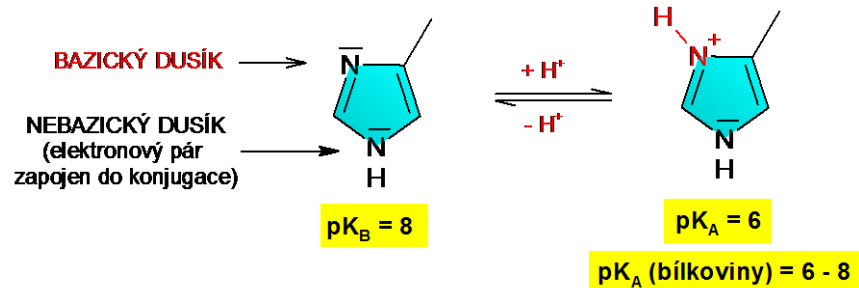


- 3) Další reakcí histidinu je **dekarboxylace**, při které **vzniká histamin**. Dekarboxylasa umožňující tuto reakci se nachází v **žírných buňkách** a **basofilních granulocytech**. Tyto buňky stimulují tvorbu HCl v žaludku a uvolňují se při **alergických reakcích**. Skupina léčiv zvaná **antihistaminika** má za úkol blokovat působení **histaminu** vzniklého činností těchto buněk.

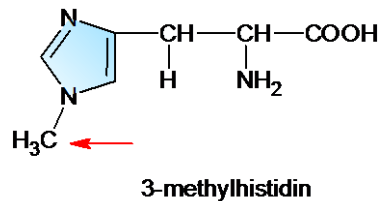


Další význam histidinu:

- Ve větším množství se **vyskytuje v Hb**, kde působí jako **pufrací systém**. Jeden z jeho dusíků je **bazický** (má volný elektronový pár), druhý dusík je **nebazický** (volný elektronový pár je zapojen do konjugace). Z hodnot  $pK_A$  histidinu (především hodnot  $pK_A$  histidinu vázaného v bílkovinách) vidíme, že při fyziologickém pH ( $\approx 7$ ) se může histidin chovat jako **pufr**.



- Posttranslačně bývá **histidin methylován na 3-methylhistidin** (především **v aktinu a mysosinu**), jehož exkrece močí je indikátorem proteolýzy a nutričního stavu



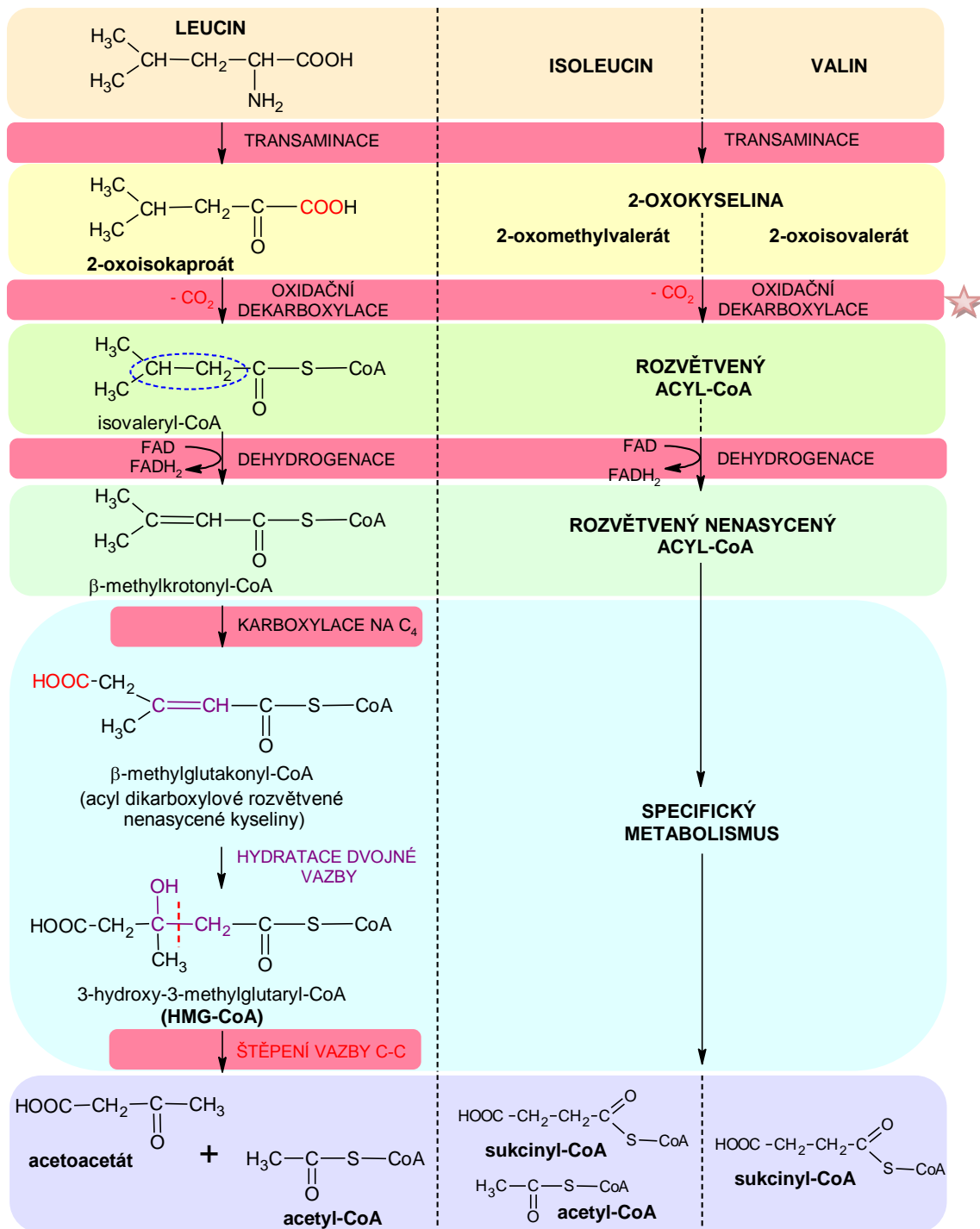
- **Test** na nedostatek **tetrahydrofolátu** se provádí pomocí „**zátěže histidinem**“. V těle tak dochází k hromadění FIGLU, neboť není možný průběh reakce: FIGLU → glutamát

### 6.6.13 Větvené AK (Leucin, Isoleucin, Valin)

Všechny větvené AK jsou **esenciálními** (organismus není schopen sám vytvořit větvení). Po jídle je jejich zastoupení v krvi vysoké, protože nejsou využívány játry (tělo nemá dostatek aminotransferas). Nejvíce jsou využívány ve svalech a CNS.

První reakce jejich katabolismu jsou podobné – dochází k **transaminaci** (vznik odpovídající 2-oxokyseliny), **oxidační dekarboxylaci** (vznik odpovídajícího acyl-CoA) a **dehydrogenaci** (vznik odpovídajícího  $\alpha/\beta$ -nenasyceného acyl-CoA). Další metabolismus je již pro každou AK **specifický**.

*Pro přehlednost je metabolismus rozvětvených AK znázorněn na schématu na následující stránce:*



Vhodné je zmínit následující fakta:

- leucin je **ketogenní AK**, vznikají z něj **acetoacetát** a **acetyl-CoA**
- isoleucin je **ketogenní** (vznik acetyl-CoA) i **glukogenní** (vznik sukcinyl-CoA) **AK**
- valin je **glukogenní AK**, vzniká z něj sukcinyl-CoA

Další význam větvených AK:

- bývají využívány v infuzích, neboť **příznivě ovlivňují katabolické stavy**
- odbouráváním vzniká sukcinyl-CoA, který **nemůže být** při nedostatku vitamínu B<sub>12</sub> odbourán, což vede k **methylmalonové acidurii** (viz výše)

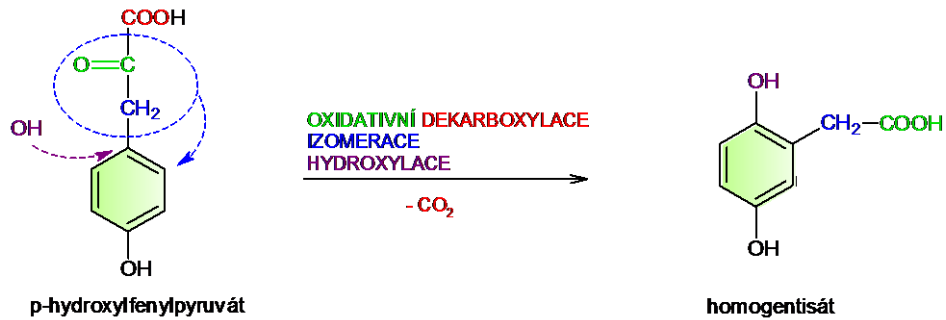
Pozn. ( ★ ) Při deficitu **dehydrogenasy rozvětvených 2-oxokyselin** dochází k vylučování těchto oxokyselin (žluté pole) v moči, což vede ke **ketonurii** známé jako **nemoc javorového sirupu** („maple syrup urine disease“).



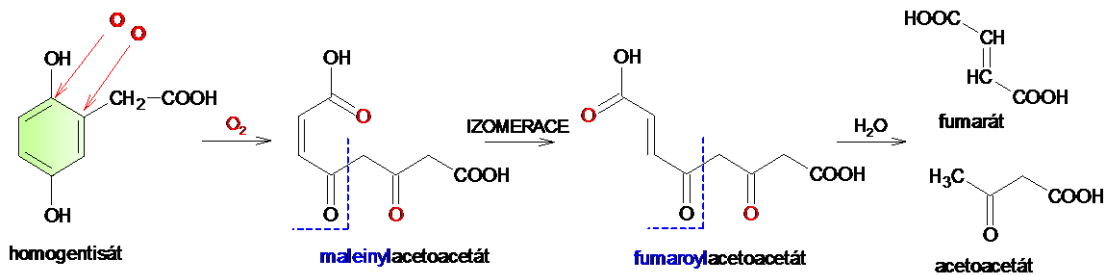




- b) **p-hydroxyfenylpyruvát** je přeměněn na **homogentisát** (2,5-dihydroxyfenylacetát). Při této přeměně dochází z **oxidativní dekarboxylaci, přesmyku a hydroxylaci**.



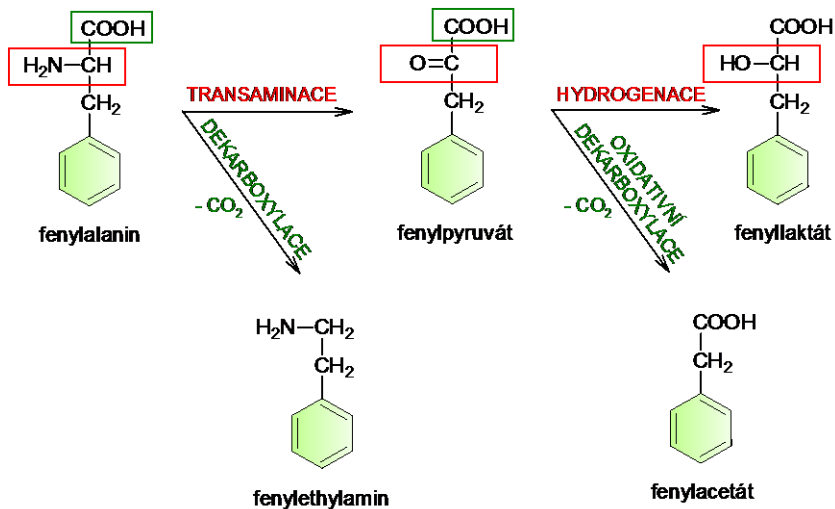
- c) Aromatický kruh homogentisátu je atakován kyslíkem – reakce se **účastní oba atomy kyslíku**, proto enzym, katalyzující tuto reakci ponese název **dioxygenasa**<sup>13</sup>. Po rozštěpení kruhu vznikne sloučenina jménem **maleinylacetoacetát**, který následně izomerie na **fumaroylacetoacetát**. Ten se je následně rozštěpen na **fumarát a acetoacetát**.



- 2) Katabolismus fenylalaninu je bohužel charakteristický tím, že se v něm **vyskytuje mnoho chorob na bázi enzymových deficitů**.

**Např. deficit enzymu hydroxylasy** (rce: fenylalanin → tyrosin) vede k **hyperfenylalaninémii typu I**, při které dochází k hromadění fenylalaninu. Nejtěžší formou této nemoci je **fenylketonurie**, která je geneticky podmíněna (postižený nese **dvě recesivní alely**).

Tím, že nemůže být fenylalanin přeměněn na tyrosin, dochází k nárůstu jeho koncentrace. Zvýšení koncentrace aktivuje enzymy, které by za normálních okolností nepracovaly a dochází k alternativnímu odbourávání fenylalaninu:

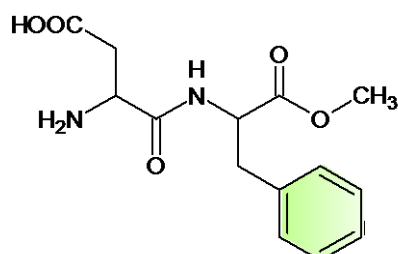


Vzniklé látky jsou vylučovány močí.

<sup>13</sup> Dopusud jsme se setkávali pouze s **monooxygenasami**, které jako kofaktor potřebovaly BH<sub>4</sub>, jenž zajistil redukci druhého atomu kyslíku. Monooxygenasy katalyzují např. hydroxylace.

Hyperfenylalaninémie typu I nemusí být způsobena pouze chybním hydroxylasou, ale i **deficitem kofaktoru BH<sub>4</sub>**. Tato forma je závažnější především proto, že BH<sub>4</sub> neovlivňuje pouze přeměnu fenylalaninu na tyrosin, ale i jiné reakce, které bez něj nemohou probíhat. Je proto nutné podávat takto postiženým jedincům přímo BH<sub>4</sub>, tyrosin, prekurzory katecholaminů a další látky, jejichž metabolická dráha byla narušena.

- 3) **Fenylalanin** je společně s **aspartátem** složkou **umělého sladidla Aspartamu**, které je 120x sladší než **sacharosa**.



**Aspartam**  
(L-aspartyl-L-fenylalanin methylester)

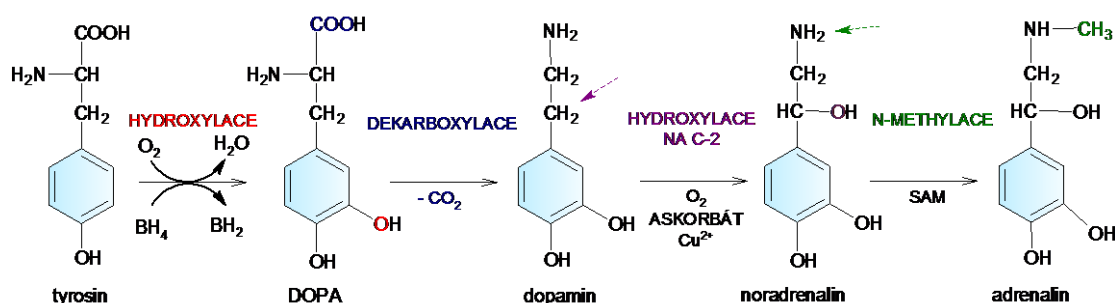
### Poruchy metabolismus fenylalaninu (tyrosinu):

Název nemoci	Enzymová porucha	Nález v moči	Symptomy
Hyperfenylalaninémie typu I (fenylketonurie)	fenylalaninhydroxylasa	↑ Phe, fenylpyruvát, fenylacetát, fenyllaktát, fenylacetylglutamin	záchvaty, psychózy, „myší zápach“ způsobený fenylacetátem
Hypertyrosinémie typ II	tyrosintransaminasa	↑ Tyr	
Alkaptonurie	homogentisátóxygenasa	↑ homogentisát	tmavá moč způsobená oxidací homogentisátu na chinon (stáním na vzduchu)
Hypertyrosinémie typ I	fumaroylacetacetylhydrolasa	↑ Tyr	průjmy, zvracení, „zápach po hlávkovém zelí“
Albinismus	tyrosinhydroxylasa		absence očních a kožních pigmentů

### 6.6.16 Tyrosin

Oproti fenylalaninu popsanému v kap. 6.6.15 **není tyrosin esenciální AK** (můžeme jej z fenylalaninu vyrobit hydroxylací).

- 1) Tyrosin je prekurzorem **katecholaminů**. Nejprve je **hydroxylován na DOPA<sup>14</sup>**, který podléhá dekarboxylaci za vzniku **dopaminu** (první z katecholaminů). Dopamin je následně přeměňován na **noradrenalin<sup>15</sup>** a **adrenalin**.

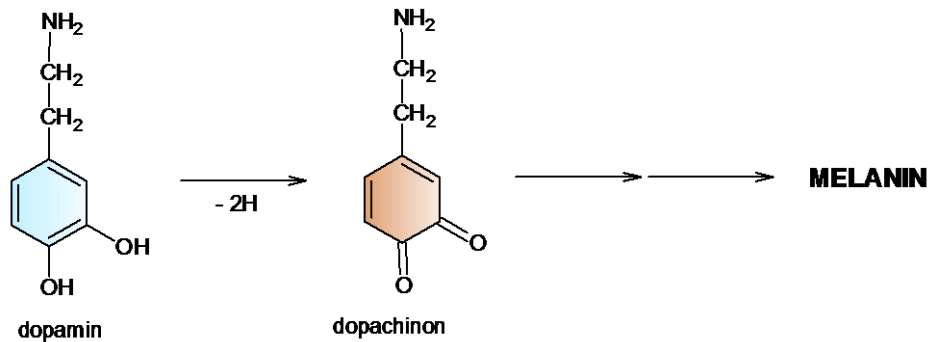


Povšimněme si, že při vzniku DOPA z tyrosinu se **hydroxylace** účastní **BH<sub>4</sub>** (koreduktant, váže na sebe 2H), ale při vzniku noradrenalinu z dopaminu vystupuje jako **koreduktant askorbát**.

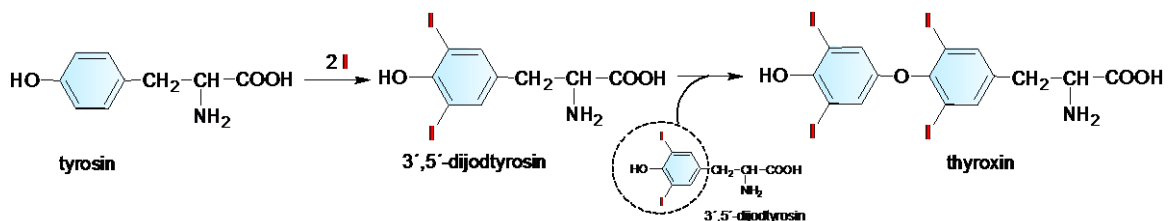
<sup>14</sup> DOPA je pozůstatek z období staršího anglického názvosloví (nerozlišovala se oxoskupina a hydroxylová skupina): **DiOxoPhenylAlanine**. Současný anglický název je 3-(3,4-dihydroxyphenyl)alanine.

<sup>15</sup> Předpona „nor“ znamená N-demethyl, noradrenalin se tedy oproti adrenalinu liší o -CH<sub>3</sub> skupinu

- 2) Tyrosin je výchozím substrátem i pro vznik **melaninu** (nejprve je tyrosin přeměněn na dopamin, ten na dopachinon a z něj pak vzniká melanin).



- 3) Významnou reakcí je vznik **tyroxinu** – hormonu štítné žlázy.

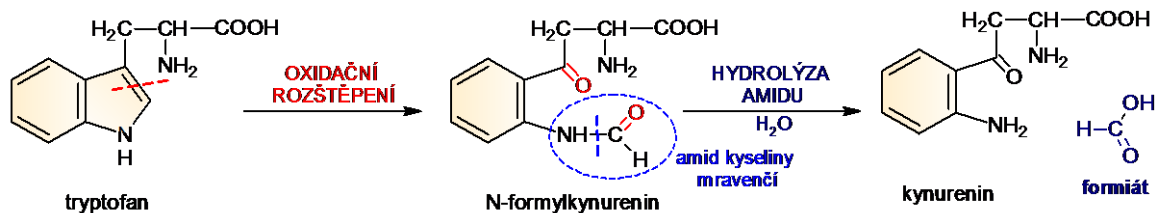


Výše znázorněná reakce neprobíhá ve štítné žláze s volným tyrosinem – tyrosin je vázán v bílkovině **thyreoglobulinu**.

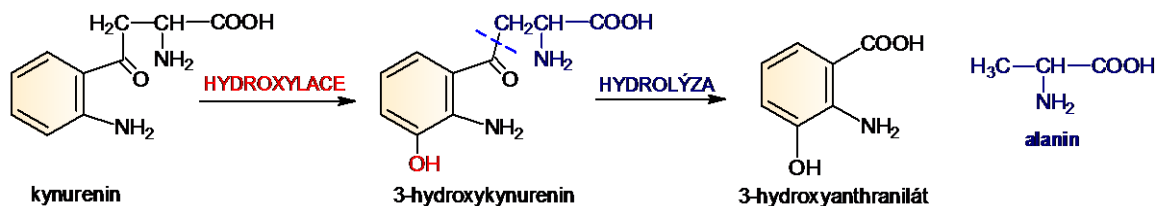
### 6.6.17 Tryptofan

**Tryptofan** je pro svůj obsah heterocyklu **esenciální AK**.

- 1) Jeho katabolismus je komplikovaný. Nejprve dojde k rozštěpení **indolového kruhu** a hydrolýze vzniklého produktu – tím získáme **kinurenin** a **formiát** – tryptofan je tedy **zdrojem C1 fragmentu** (formiátu).

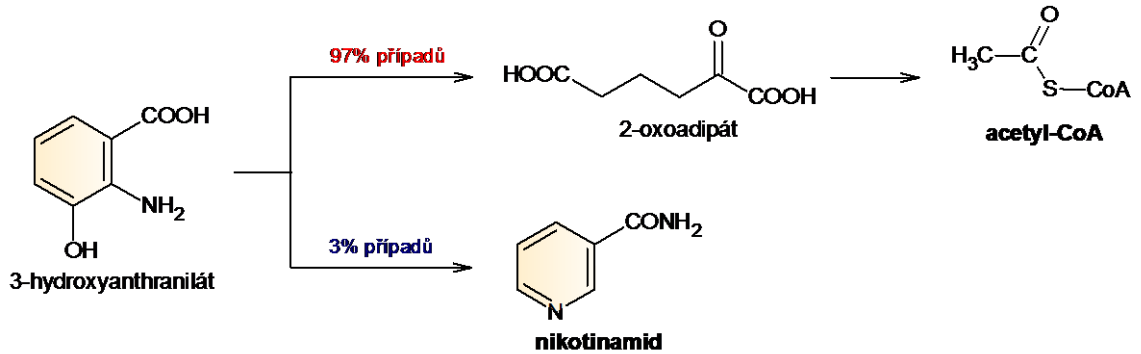


Kynurenin je následně rozštěpen hydroxylován a výsledný produkt je štěpen na **alanin** a 3-hydroxyanthranilát. Z této reakce lze odvodit, že **tryptofan nepodléhá transaminaci** (dusíku se zbavuje odštěpením **alaninu**):



3-hydroxyanthranilát je odbouráván dvěma způsoby:

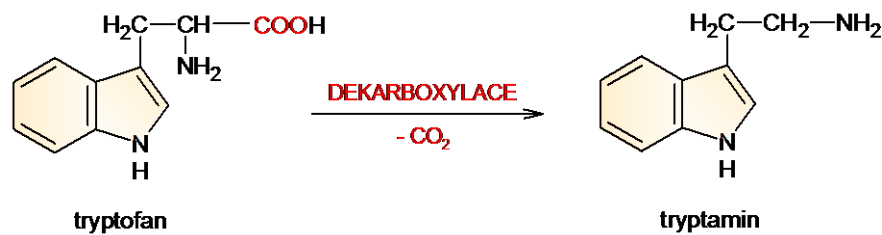
- v 97% případů vzniká oxoadipát, který je následně přeměněn na acetyl-CoA
- v asi 3% případů vzniká **nikotinamid**, který je následně využit k syntéze NAD(P)<sup>+</sup>



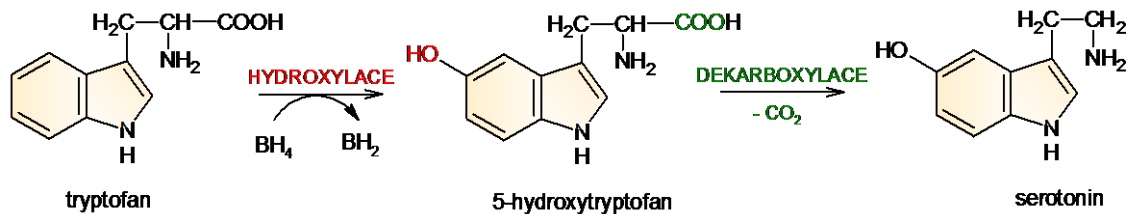
Z výše popsaných katabolických drah je nutné především vědět:

- tryptofan je **glukogenní** (alanin) i **ketogenní** (acetyl-CoA) **AK**
- je donorem C1 zbytků (formiát)
- jeho katabolismus může vést ke vzniku **nikotinamidu**

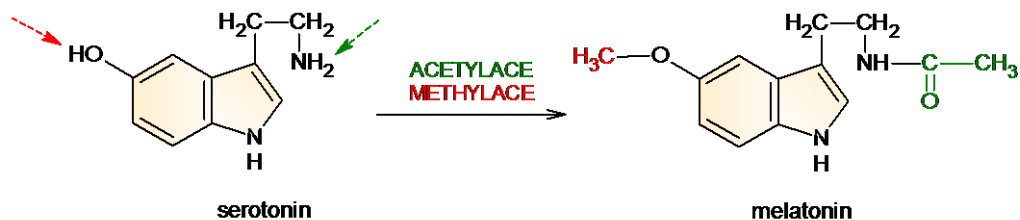
2) **Dekarboxylací** tryptofanu získáme **tryptamin**.



3) Další významnou reakcí je vznik **serotoninu**, který slouží jako **neurotransmitter**.



Ze serotoninu vzniká **melatonin**, což je **hormon šišinky**, jehož úkolem v organismu je řízení **biorytmu**.



**Další význam tryptofanu:**

Nikotinamid, který při metabolismu tryptofanu vzniká, **nemůže pokrýt potřeby organismu** (proto je niacin označován jako vitamin). Nedostatek niacinu způsobuje onemocnění **pelagra** (spíše se s ním setkáme v oblastech s převahou kukuřičné stravy, neboť kukuřice obsahuje málo tryptofanu)

## 6.7 Přehled některých užitečných faktů

### A) 6 AK poskytuje pyruvát

AK	Typ reakce
SERIN	DEHYDRATAČNÍ DEAMINACE
GLYCIN	PŘES SERIN
THREONIN	PŘES GLYCIN
ALANIN	TRANSAMINACÍ
CYSTEIN	ODŠTĚPENÍM-SH + TRANSAMINACÍ
TRYPTOFAN	PŘES ALANIN

### B) AK a jejich metabolity mohou sloužit jako neurotransmitery

EXCITAČNÍ ÚČINEK (ovládají kationové Na <sup>+</sup> kanály)	INHIBIČNÍ ÚČINEK (ovládají chloridové Cl <sup>-</sup> kanály)
GLUTAMÁT	GABA
ASPARTÁT	GLYCIN
(ACETYLCHOLIN)	

### C) V těle vzniká 5 vitaminů (na vzniku jednoho se podílí AK), ale pouze čtyři jsou využívány.

VITAMIN	KDE A JAK VZNIKÁ
NIACIN	vzniká ve tkáních z TRYPTOFANU
BIOTIN	tlusté střevo (bakterie)
FYLOCHINON	tlusté střevo (bakterie)
KALCIOL	kůže; z cholesterolu (vliv UV záření)
KOBALAMIN	tlusté střevo (bakterie) <b>!!! NEVSTŘEBÁVÁ SE !!!</b>

### D) Sedm aminokyselin nepodléhá transaminaci

AMINOKYSELINA	ZPŮSOB ODSTRANĚNÍ α-NH <sub>2</sub>
ARGININ	N je zabudován do ornitinu
LYSIN	N je zabudován do 2-aminoadipátu
METHIONIN	N je zabudován do homoserinu
THREONIN	N je odštěpen v podobě glycinu
TRYPTOFAN	N je odštěpen v podobě alaninu
PROLIN	prolin je katabolizován na glutamát
HISTIDIN	Desaturační deaminace (-NH <sub>3</sub> )

### E) Biochemicky významné produkty vybraných AK (přehled)

AK	Biochemicky významný produkt
Ala	pyruvát → glukosa
Arg	močovina, NO, kreatin
Ser	Ethanolamin → cholin → betain, selenocystein, <b>DONOR 1C FRAGMENTU</b>
Gly	hem, kreatin, GSH, konjugační činidlo, <b>DONOR 1C FRAGMENTU</b>
Met	kreatin, homocystein, cystein, <b>DONOR METHYLU</b>
Cys	GSH, taurin, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , PAPS, cysteamin (součást CoA-SH)
Asp	donor -NH <sub>2</sub> (močovina, pirimidiny); vzniká z něj oxalacetát a fumarát (význam pro CC), β-alanin (součást CoA-SH)
Glu	NH <sub>3</sub> , 2-oxoglutarát, glutamin, prolin, GSH, GABA
Gln	NH <sub>3</sub> , donor -NH <sub>2</sub> (syntéza glukosaminu a purinů)
Pro	hydroxyprolin, glutamát
His	glutamát, histamin, k. urokanová, 2-methylhistidin, <b>DONOR 1C FRAGMENTU</b>
Lys	glutamát, allysin, karnitin, kadaverin
Tyr	fumarát (CC), katecholaminy, tyroxin, melaniny
Trp	nikotinamid, serotonin, melatonin, indol, skatol, <b>DONOR 1C FRAGMENTU</b>

