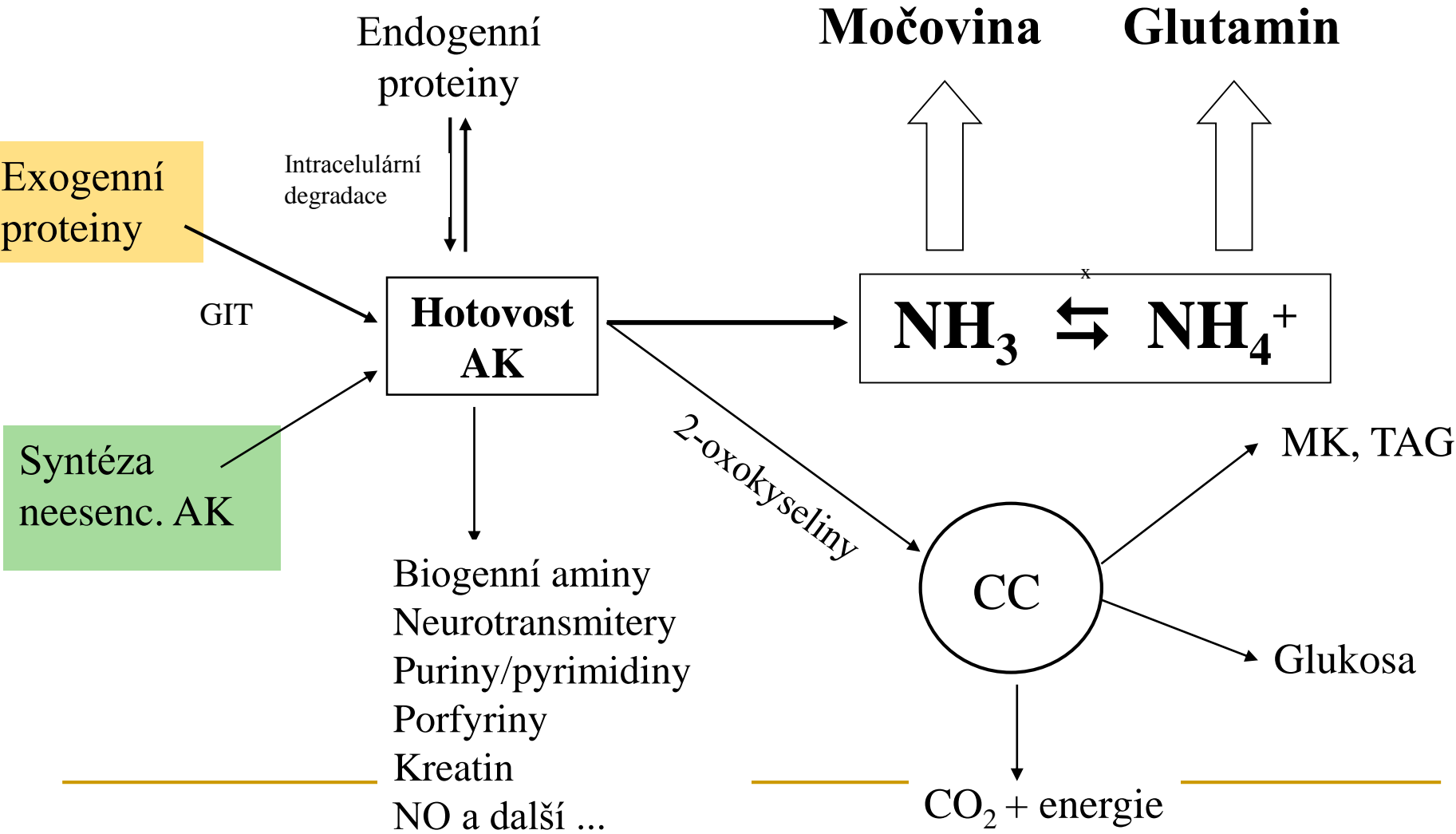


---

# Metabolismus aminokyselin

---

# Přehled metabolismu aminokyselin



# Hotovost aminokyselin

## Tři zdroje hotovosti:

- 1) Proteolýza exogenních proteinů z potravy
- 2) Proteolýza tkáňových proteinů
- 3) Syntéza neesenciálních AK

## Trojí využití hotovosti:

- 1) Syntéza tkáňových a plazmatických proteinů (játra)
- 2) Syntéza specializovaných dusíkatých sloučenin
- 3) Deaminace + utilizace uhlíkatého skeletu

## Trojí využití uhlíkatého skeletu AK:

- 1) Glukoneogeneze
- 2) Syntéza MK a TAG
- 3) Metabolické palivo = oxidace v CC na  $\text{CO}_2$  = zisk energie

# 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, karboxypeptidasy, 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**.

# Degradace proteinů

## Exogenní proteiny

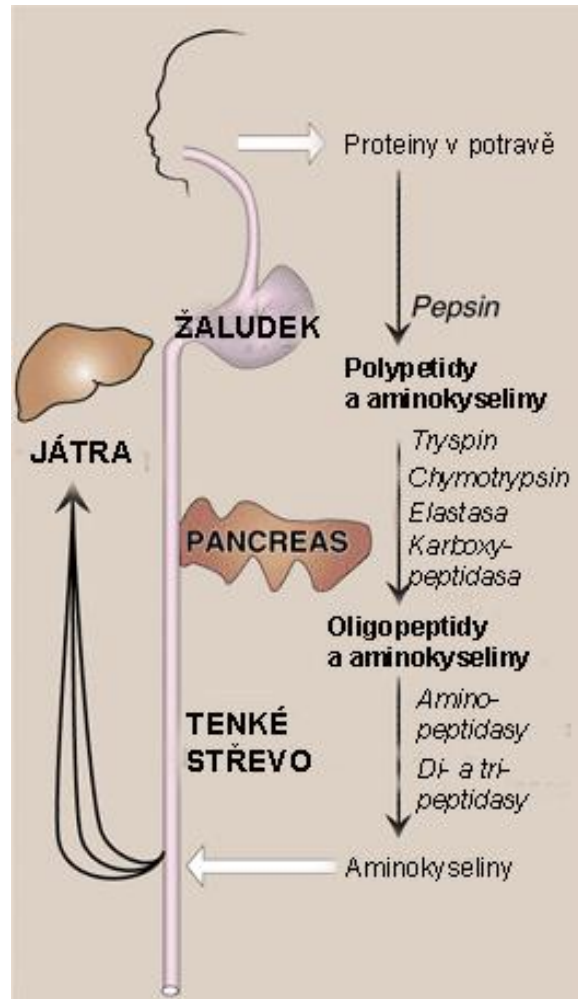
- Lumen GIT
- Žaludek – pepsin
- Střevo – pankreatické proteasy (trypsin, chymotrypsin atd.)

## Endogenní proteiny

- Intracelulární proteasy
- Dva systémy:
  1. Lyzosomy
  2. Ubikvitin-proteasom

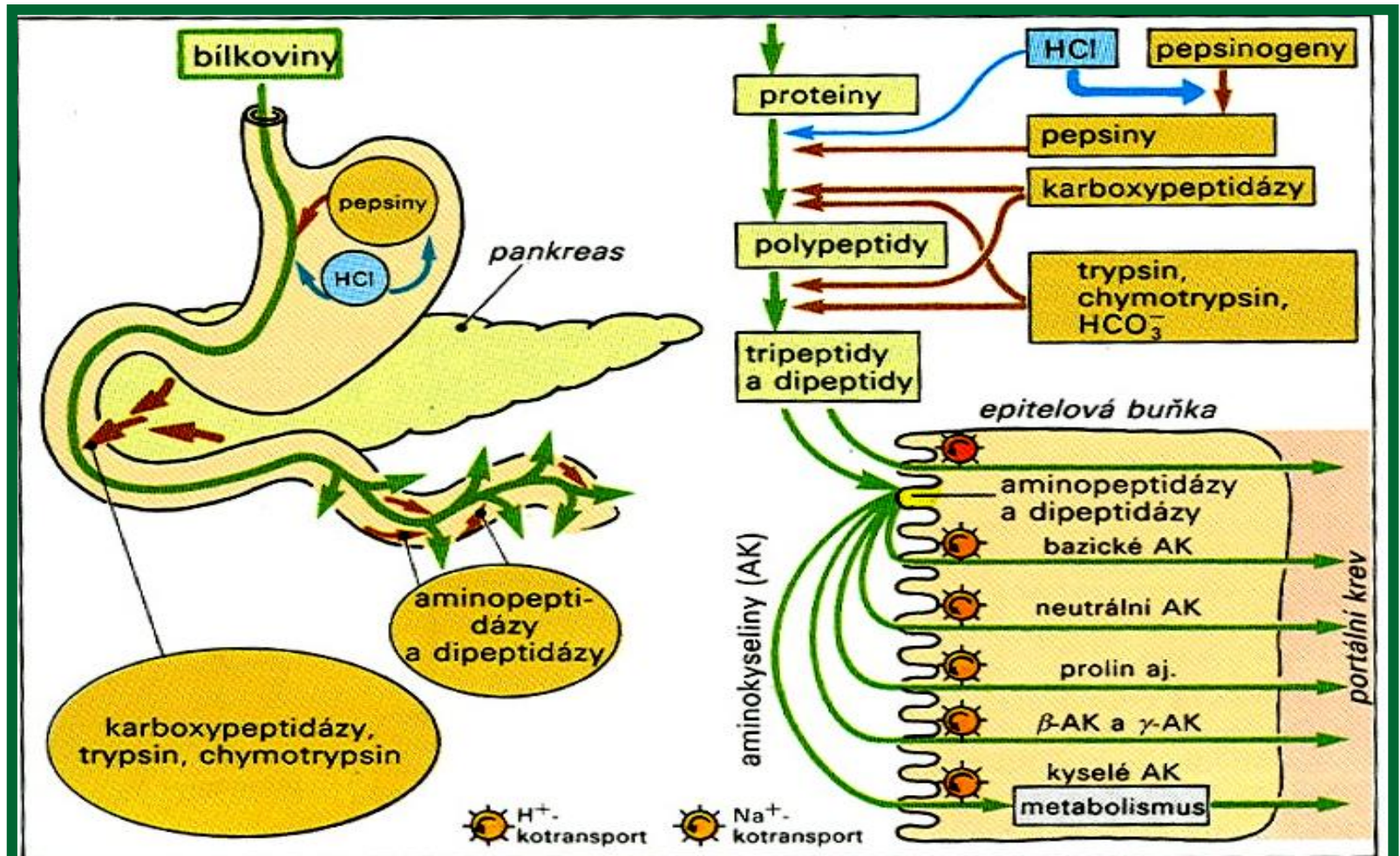
# Trávení exogenních proteinů

Enzymy štěpící proteiny v GIT jsou produkovány jako neaktivní proenzymy, aktivace nastane odštěpením peptidové sekvence



[http://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/254659/mod\\_page/content/7/tr%C3%A1ven%C3%AD%20protein%C5%AF.jpg](http://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/254659/mod_page/content/7/tr%C3%A1ven%C3%AD%20protein%C5%AF.jpg)

# Přehled trávení bílkovin



ZDROJ	PRO-ENZYM	AKTIVNÍ ENZYM	AKTIVÁTOR	ÚČINEK
<b>žaludek</b> (pH 1.6 – 3.2)	pepsinogen	pepsin	HCl	endopeptidáza
<b>pankreas</b> (neutrální či slabě alkalické pH)	renin (chymozin) - <i>navorazend</i>			kasein → parakasein
	trypsinogen	trypsin	enterokináza	endopeptidáza
	chymotrypsinogen	chymotrypsin	trypsin	endopeptidáza
	prokarboxypeptidáza	karboxypeptidáza	trypsin	exopeptidáza
<b>enterocyty tenkého střeva</b>	proelastáza	elastáza		endopeptidáza
	aminopeptidázy dipeptidáza			exopeptidáza dipeptid → 2 AK

TEST

# Trávení bílkovin a resorbce AK v GIT

proteiny v GIT - ~50% z potravy,

velmi různá "stravitelnost" proteinů

- málo tráveny elastin, keratin, mucin

enzymy trávení proteinů - viz tabulka

- resorbce AK a di- a tripeptidů enterocyty tenk. střeva pomocí transportérů (SLC, solute carriers - mnoho typů)

koncentrace AK v buňce obecně mnohem vyšší než extracelulárně,

proto nutno udržovat aktivně

- - Na<sup>+</sup>-dependentní transport - akt. transport Na<sup>+</sup> facilitovaná difuze Na<sup>+</sup>/AK (=symport)
- - Na<sup>+</sup>-independentní - facilitovaná difuze (=uniport)

resorpce celých proteinů ve střevě

- omezeně možná - prostřednictvím

endocytózy a

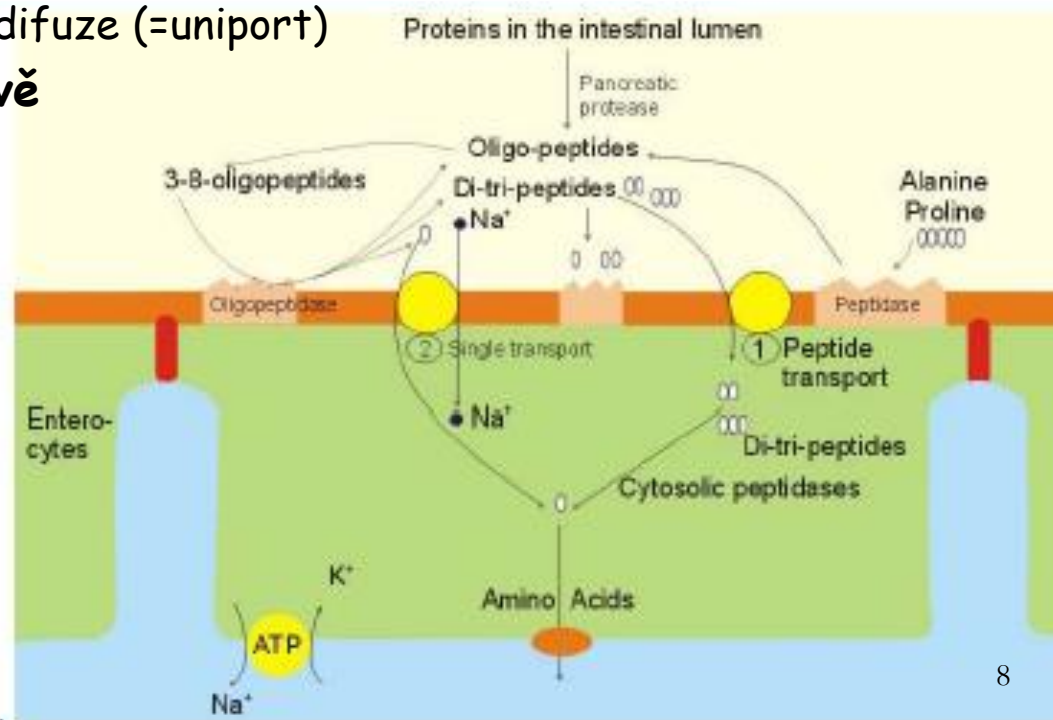
nebo místy odpoupaných epitelii

- využívá se při systémové

enzymoterapii

(kapsle odolné účinku HCl a

ankreatických enzymů)





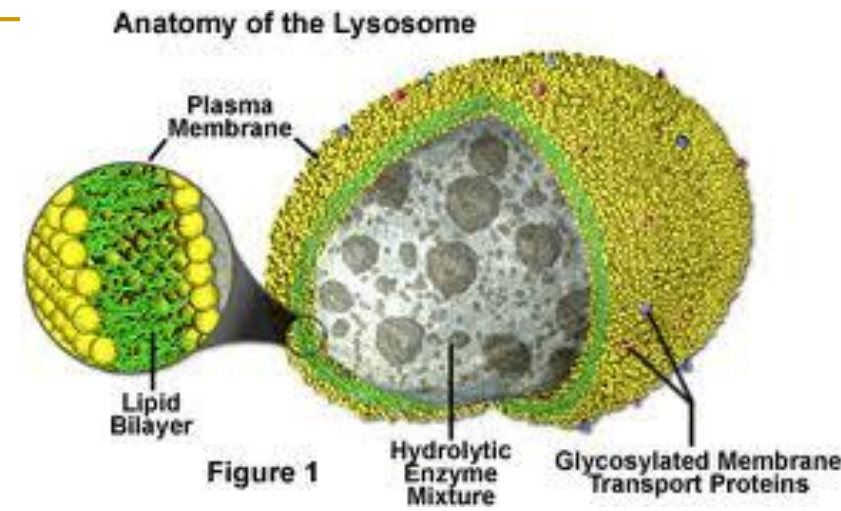
# Endogenní proteiny mají různý biologický poločas

<b>Protein</b>	<b>Poločas</b>
Ornithindekarboxylasa	12 min
RNA polymerasa I	1,3 hod
Prealbumin	2 dny
Laktátdehydrogenasa	4 dny
Albumin	19 dnů
IgG	23 dny
Kolagen	několik let
Elastin	celý život (?)

# 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.



<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/lysosomes/images/lysosomesfigure1.jpg>

# Lyzosomální hydrolasy štěpí vazby vzniklé kondenzací

<b>Hydrolasa</b>	<b>Typ štěpené vazby</b>
Glukosidasa	glykosidová
Galaktosidasa	glykosidová
Hyaluronidasa	glykosidová
Arylsulfatasa	sulfoesterová
Lysozym	glykosidová
<b>Kathepsin</b>	<b>peptidová</b>
<b>Kolagenasa</b>	<b>peptidová</b>
<b>Elastasa</b>	<b>peptidová</b>
Ribonukleasa	fosfodiesterová
Lipasa	esterová
Fosfatasa	fosfoesterová
Ceramidasa	amidová

# Ubikvitin (UB) značkuje proteiny určené k degradaci v proteasomu

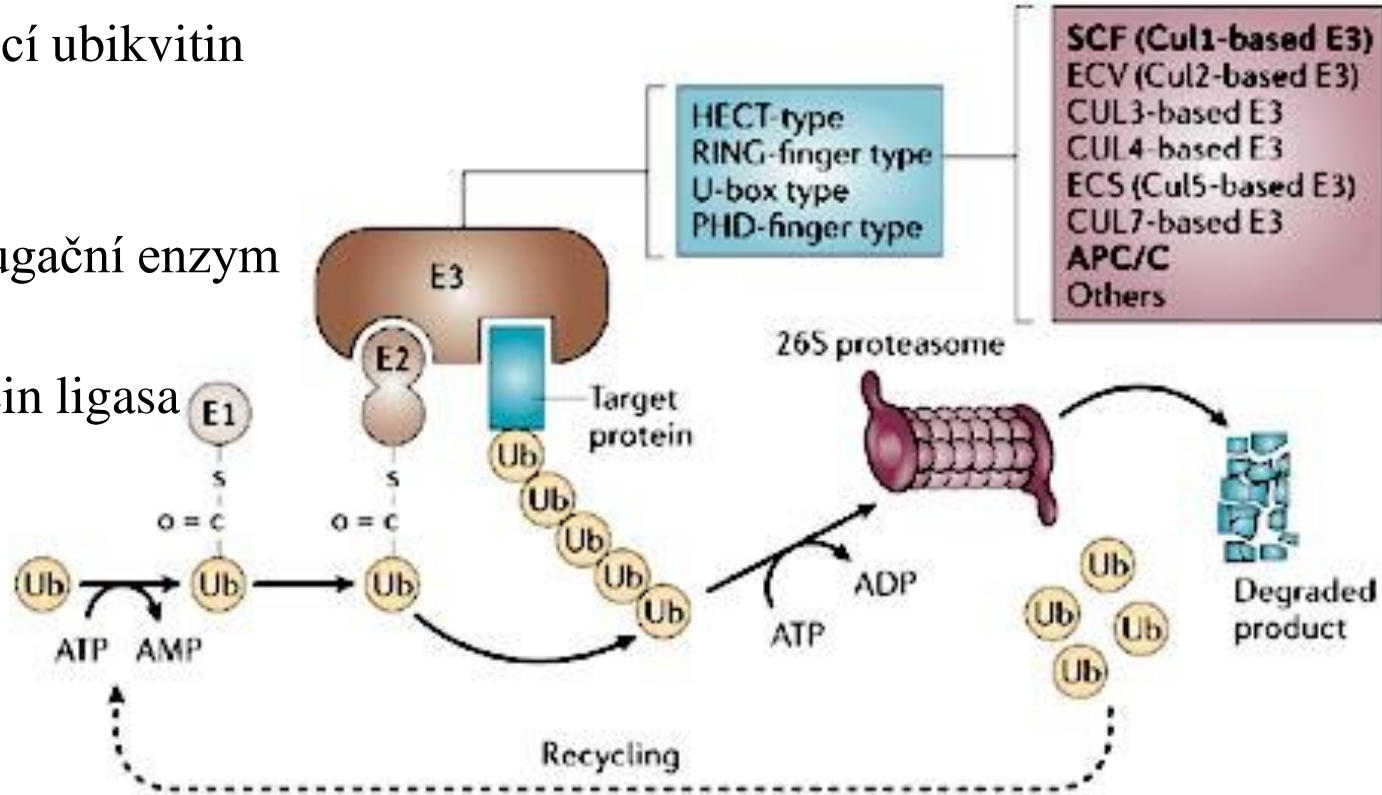
- Malý protein, ve všech buňkách
- C-konec UB se váže na Lys proteinů určených k degradaci (značkování) - „kiss of death“
- Vazba UB na bílkovinu má tři fáze, využívají se tři enzymy  $E_1$ ,  $E_2$  a  $E_3$
- Vazba UB na  $E_1$ -SH vyžaduje **ATP**
- Váže se více UB - **polyubikvitinace**
- Značkováná bílkovina je směřována k proteasomu

# Značkování proteinu

**E1** - enzym aktivující ubikvitin za účasti ATP

**E2** - ubikvitin konjugační enzym

**E3** - ubikvitin-protein ligasa



Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Cancer

<http://www.nature.com/nrc/journal/v6/n5/images/nrc1881-f1.jpg>

---

# Pravidlo N-konce

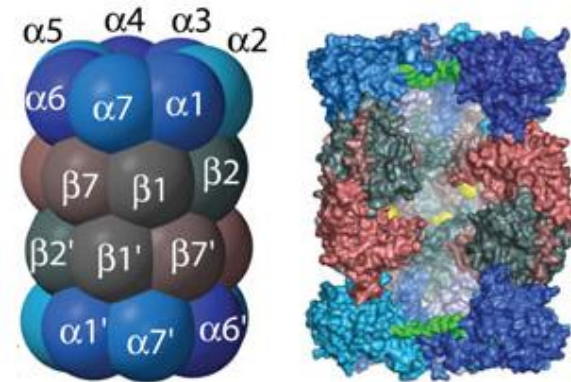
## Stabilizující zbytky (dlouhý poločas):

- Met, Ser, Ala, Thr, Val, Gly, Cys

## Destabilizující zbytky (krátký poločas):

- Phe, Leu, Asp, Lys, Arg
- PEST proteiny: segmenty bohaté na Pro, Glu, Ser, Thr

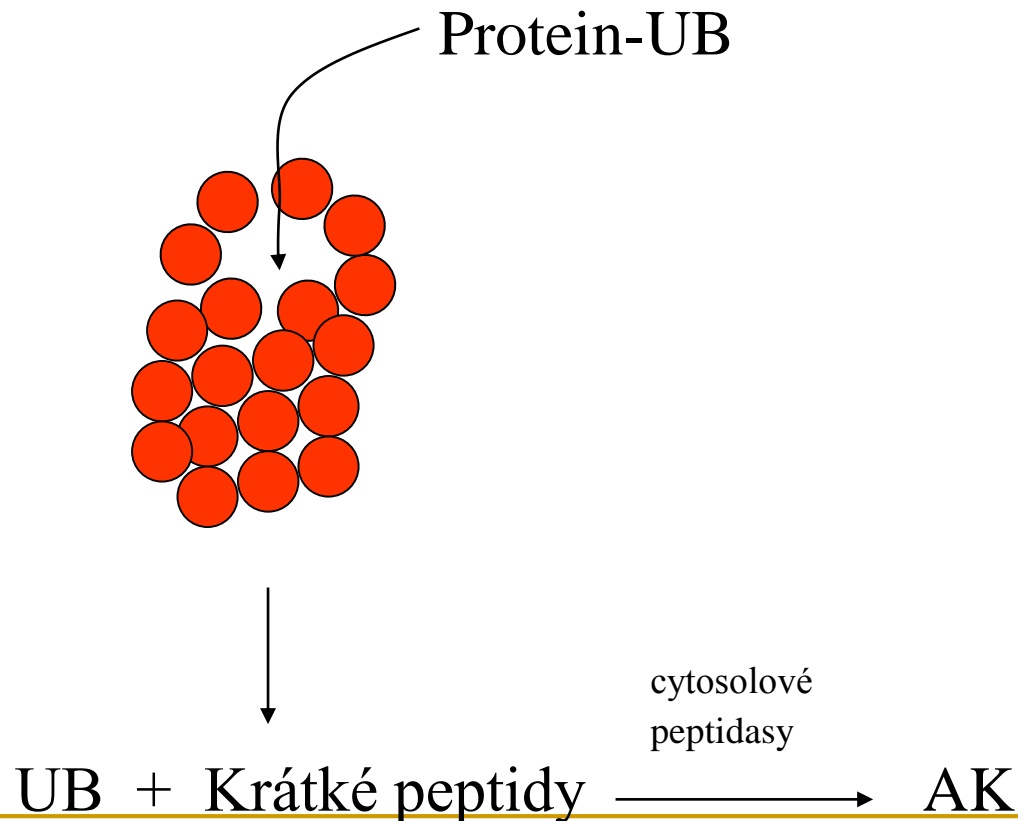
# Proteasom



Obrázek 4 - Struktura proteasomu

- Dutý cylindrický útvar, složený z 28 polypeptidů
- Čtyři cyklické heptamery ( $4 \times 7 = 28$ )
- Na obou koncích „čepičky“ ve tvaru V- rozbalí značené bílkoviny a translokují je dovnitř za spotřeby ATP
- Uvnitř dutiny jsou různě specifické proteasy (aktivní místo **threonin**), hydrolyticky štěpí značkovanou bílkovinu na krátké (8 AK) peptidy
- UB není degradován, uvolňuje se nezměněn

# Proteasomy degradují hlavně bílkoviny s krátkým poločasem (regulační) a poškozené proteiny

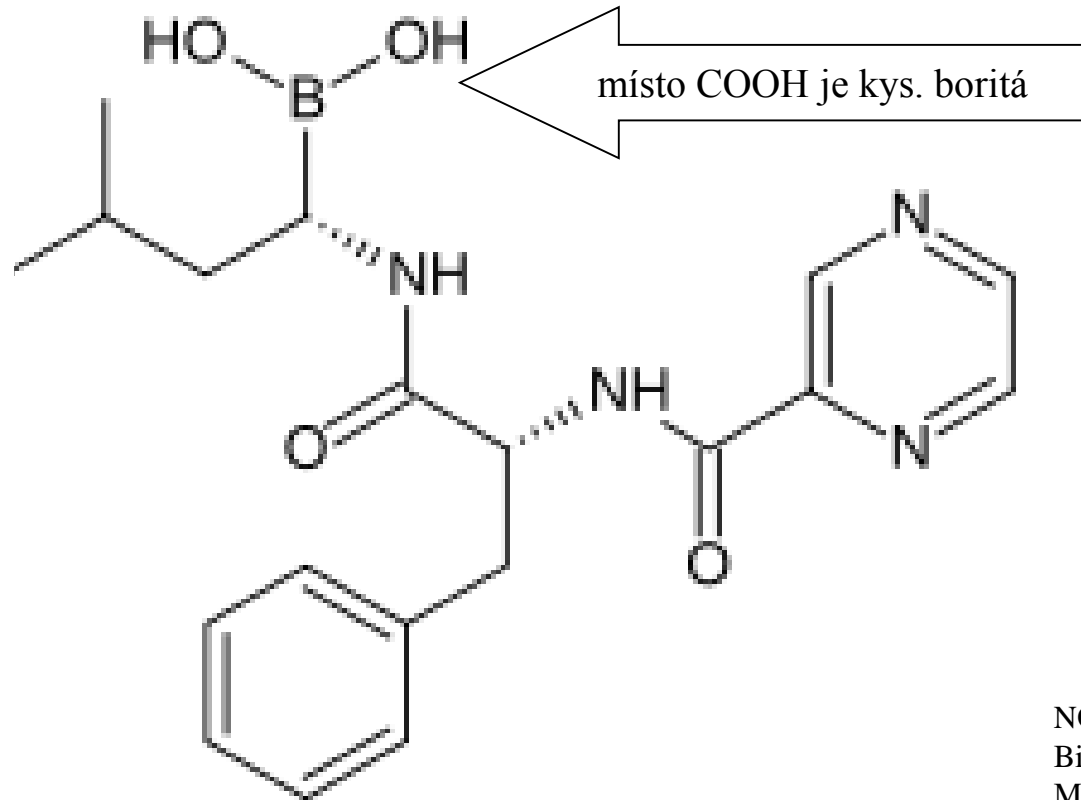




# Bortezomib je inhibitor proteasomu - atom boru se váže do katalytického místa (Thr)

(léčba mnohočetného myelomu)

Zatímco jsou zapojeny mnohé mechanismy, inhibice proteasomu by mohla bránit degradaci pro-apoptotických faktorů, za současné aktivace programované buněčné smrti v neoplastických buňkách závislé na potlačení potlačení pro-apoptotických drah.



Syntetický tripeptid: pyrazinová kys-Phe-boroLeu

# Biologická hodnota proteinů

(BV,

biological value)

Množství endogenních proteinů (v gramech) vzniklých ze 100 g exogenních proteinů (vyjadřuje se v procentech)

BV závisí na:

- obsahu esenciálních AK
- jejich vzájemném poměru
- stravitelnosti bílkovin

$$\mathbf{BV}_{\text{živočiš. prot.}} > \mathbf{BV}_{\text{rostl. prot.}}$$

pšenice - deficitní na Lys, Trp, Thr, Met  
luštěniny - deficitní na Met, Cys

---

Denní příjem proteinů: 0,8 g/kg

---

# Esenciální a semiesenciální AK

- valin
- leucin
- isoleucin
- threonin
- fenylalanin
- tryptofan
- lysin
- methionin

## Semiesenciální AK

- histidin, arginin - v období růstu
- alanin, glutamin, taurin - při metabolickém stresu
- cca 30 % potřeby methioninu lze nahradit cysteinem
- cca 50 % potřeby fenylalaninu lze nahradit tyrosinem

# 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

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

# Vaječný bílek a syrovátka

**vaječný bílek** je viskózní roztok globulárních bílkovin (ovalbumin, ovotransferrin, ovomukoid, ovomucin, ovoglobuliny, avidin ad.)

**syrovátka** je vedlejší produkt při výrobě sýrů a tvarohu, žlutavá kapalina, která vznikne po vysrážení kaseinu (barva od riboflavinu)

obsahuje cca 12 % vysoce kvalitních bílkovin (laktoalbumin, laktoglobuliny) a vitaminy B-komplexu, laktosu

## Kvantita: Průměrný obsah proteinů v potravinách (%)

Parmesan	40
Tvarůžky	30
Tvrdé sýry	25
Luštěniny	25
Maso	20
Vejce	13
Kvasnice	11
Obilniny, rýže	8
Mléko	4
Brambory	2
Ovoce, zelenina	1

# Alternativní zdroje bílkovin

Potravina	Obsah proteinů	Komentář
Šmakoun	13 %	porézního hmota z vaječného bílku
Robi	22 %	<u>r</u> ostlinné <u>b</u> ílkoviny z obilnin a rýže
Seitan	25 %	izolované pšeničné bílkoviny
Klaso	24 %	izolované pšeničné bílkoviny
Tofu	16 %	sojový sýr, vysrážené sojové bílkoviny
Tempeh	20 %	vyroben z fermentovaných sojových bobů
Sojové maso	45 %	extrudované sojové bílkoviny, těžko stravitelné

# Proteinové suplementy

- vysoký obsah proteinů (20 – 90 %)
- většinou na bázi sušené syrovátky
- a/nebo směsi volných AK (BCAA =Val, Leu, Ile)
  
- vys. příjem proteinů představuje metabolickou zátěž pro:
- trávicí systém (→ hnilobné procesy v tlustém střevě, koreluje s výskytem některých nádorových onemocnění)
- játra (→ syntéza močoviny), ledviny (exkrece močoviny a volných AK, tvorba a exkrece  $\text{NH}_4^+$ )
- mohou být úmyslně kontaminovány anabolickými steroidy !!!



# Exotické zdroje živočišných bílkovin

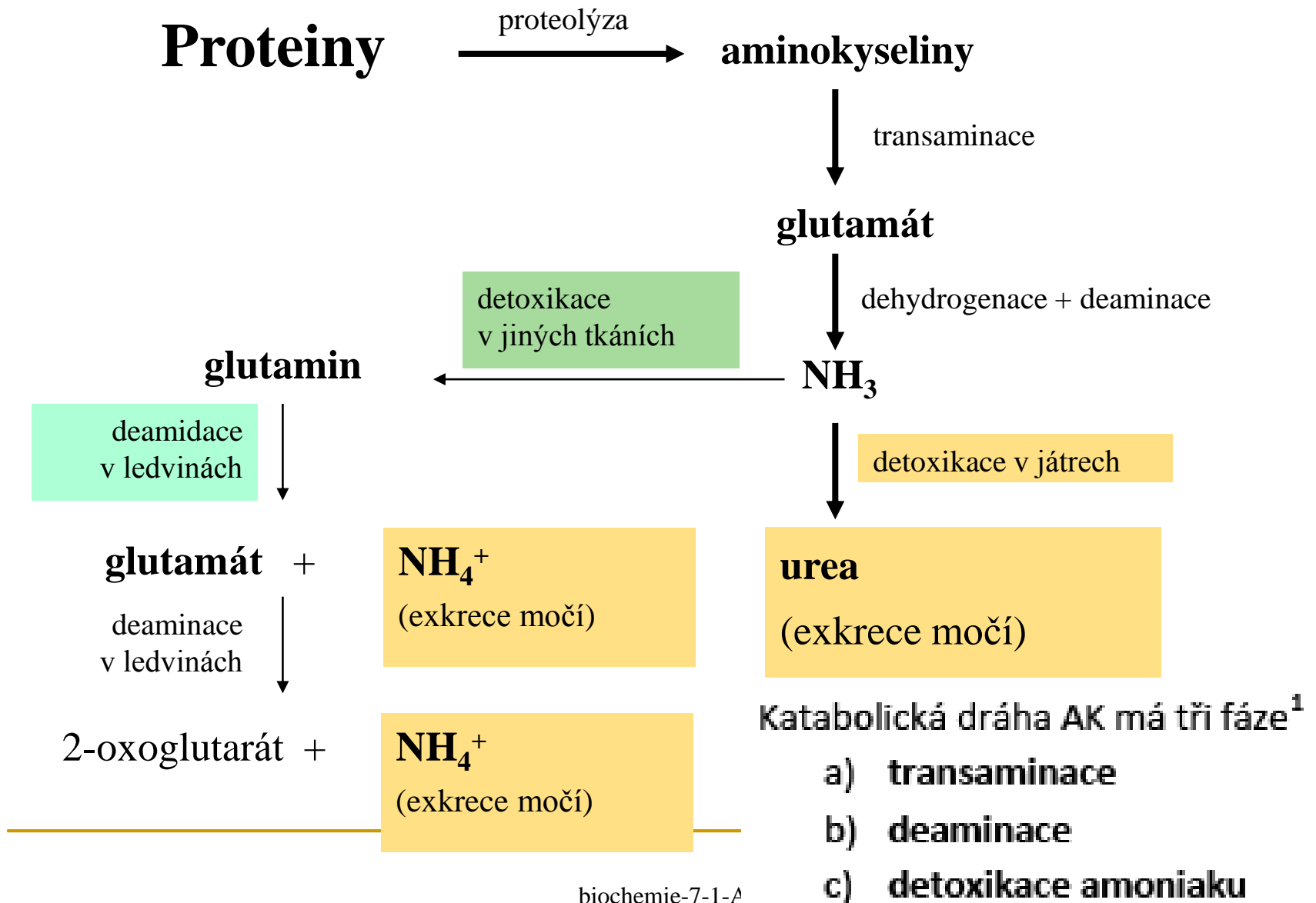
- koňské maso (glykogen)
- zvěřina (↓stravitelnost, Pb broky)
- klokaní maso
- pštrosí maso
- želví a hadí maso
- kaviár (baz. AK, vit., puriny↑)
- korýši (BV ↓, Zn ↑↑, alergie)
- ústřice (živé, rychle se kazí, Cu↑)
- hlemýždi (lehce strav.)
- žabí stehýnka (lehce strav.)
- hlavonožci
- brouci
- kobylinky
- červi

- 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.

Tabulka 2 - Průměrný obsah proteinů v potravinách (%)

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

# Katabolická dráha AK / dusíku



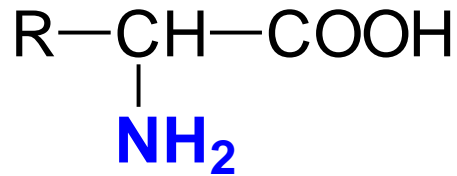
---

# Transaminace

je přenos  $\text{-NH}_2$  skupiny z jednoho substrátu na druhý

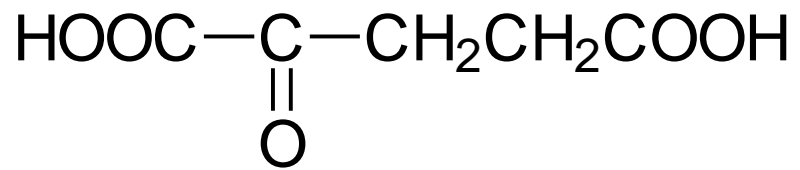
- většina AK (kromě Lys, Thr, Pro, His, Trp, Arg, Met)
- aminoskupina je přenesena z AK na **oxokyselinu**  
(většinou **2-oxoglutarát**)
- kofaktor - **pyridoxalfosfát** - vznik Schiffových bází
- **reverzibilní reakce**  $\Rightarrow$  význam pro syntézu AK

# Obecné schéma transaminace



**aminokyselina**

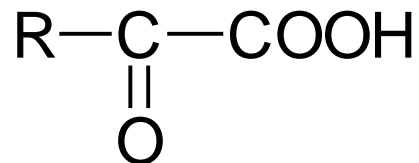
+



**2-oxoglutarát**

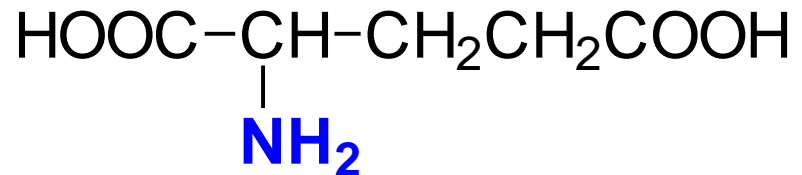


aminotransferasa  
pyridoxalfosfát



**2-oxokyselina**

+

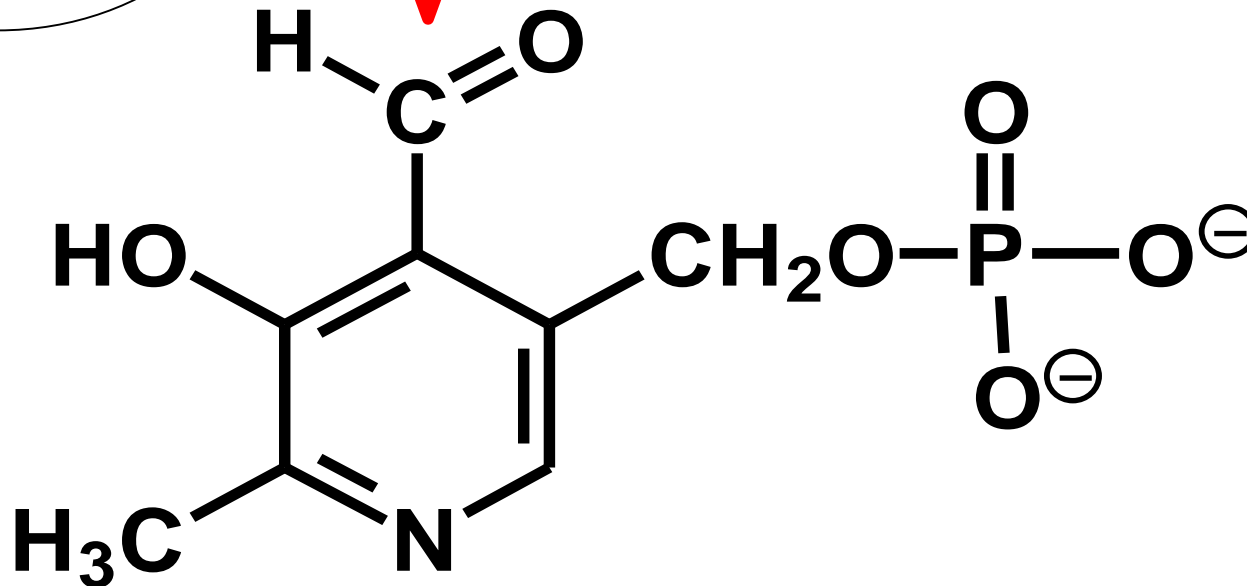


**glutamát**

# Pyridoxalfosfát přenáší $\text{-NH}_2$ z aminokyseliny na 2-oxoglutarát

kovalentně vázaný  
na enzym

**reaktivní skupina**



kofaktor

# Transaminace má dvě fáze:

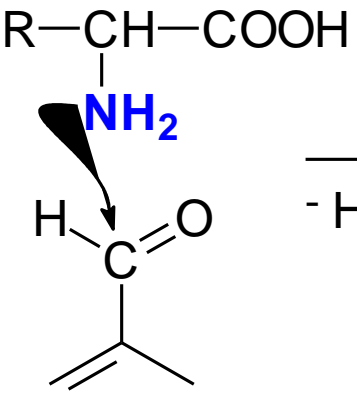
- i) přenos  $-NH_2$  skupiny z aminokyseliny na pyridoxalfosfát
- ii) přenos  $-NH_2$  skupiny z pyridoxaminfosfátu na 2-oxoglutarát
  
- **Dusík většiny aminokyselin se pomocí transaminace dostává do molekuly glutamátu. Tato reakce tedy vede ke „zjednodušení“ metabolismu dusíku - místo toho, aby organismus odbourával dusík z 20 různých AK, pracuje dále jen s jedinou aminokyselinou**

# 1. Fáze transaminace

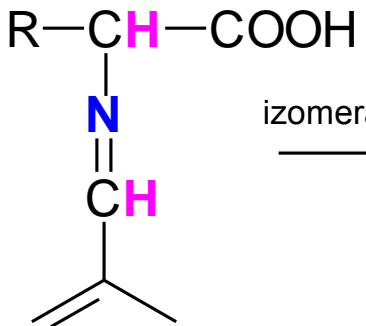
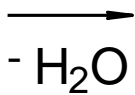
AK → oxokyselina

pyridoxal-P → pyridoxamin-P

aminokyselina

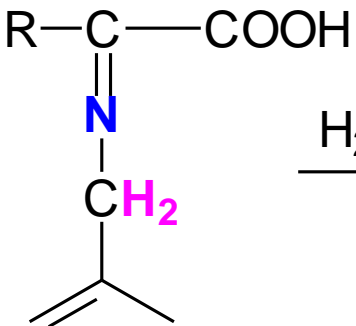


pyridoxal-P

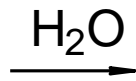


Schiffova báze  
aldimin pyridoxalu

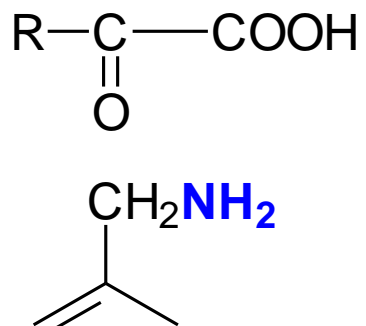
izomerace



iminokyselina  
ketimin oxokyseliny



oxokyselina



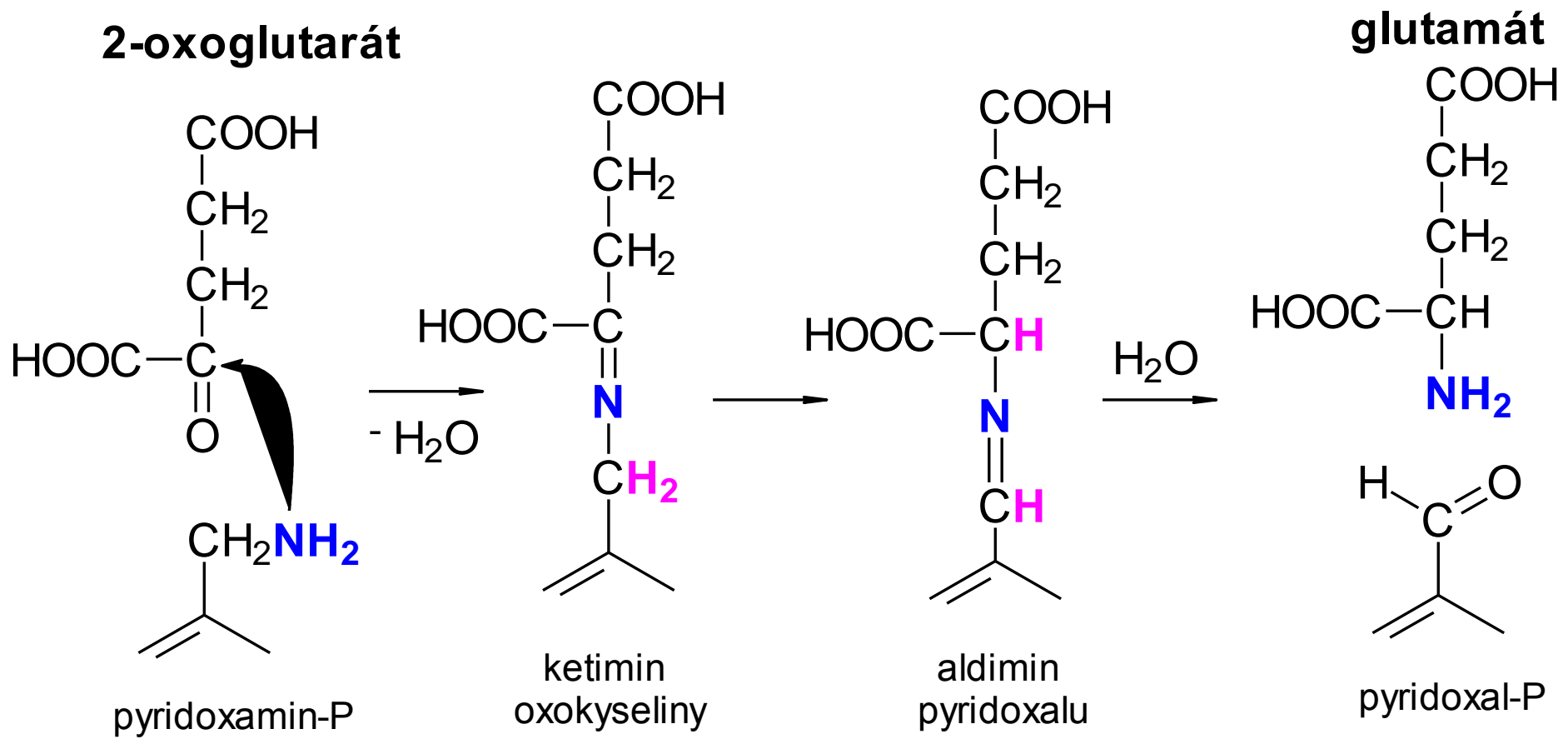
pyridoxamin-P



# 2. Fáze transaminace

2-oxoglutarát → glutamát

pyridoxamin-P → pyridoxal-P



---

Dusík většiny AK se transaminacemi  
koncentruje v glutamátu

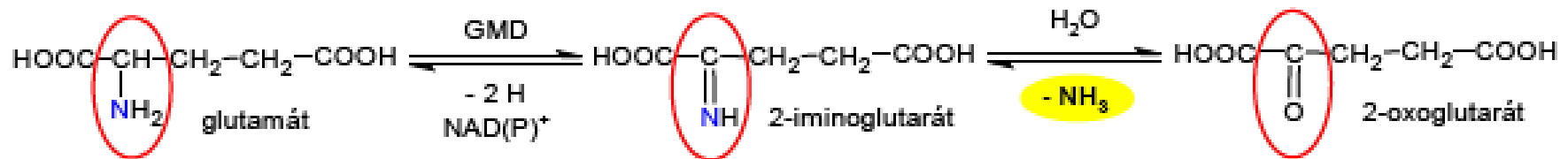
---

Po transaminaci AK následuje  
dehydrogenační deaminace glutamátu

# ADb) Deaminace

## enzymem glutamátdehydrogenasou (GMD).

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



Jedná se o **reverzibilní reakci** 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**

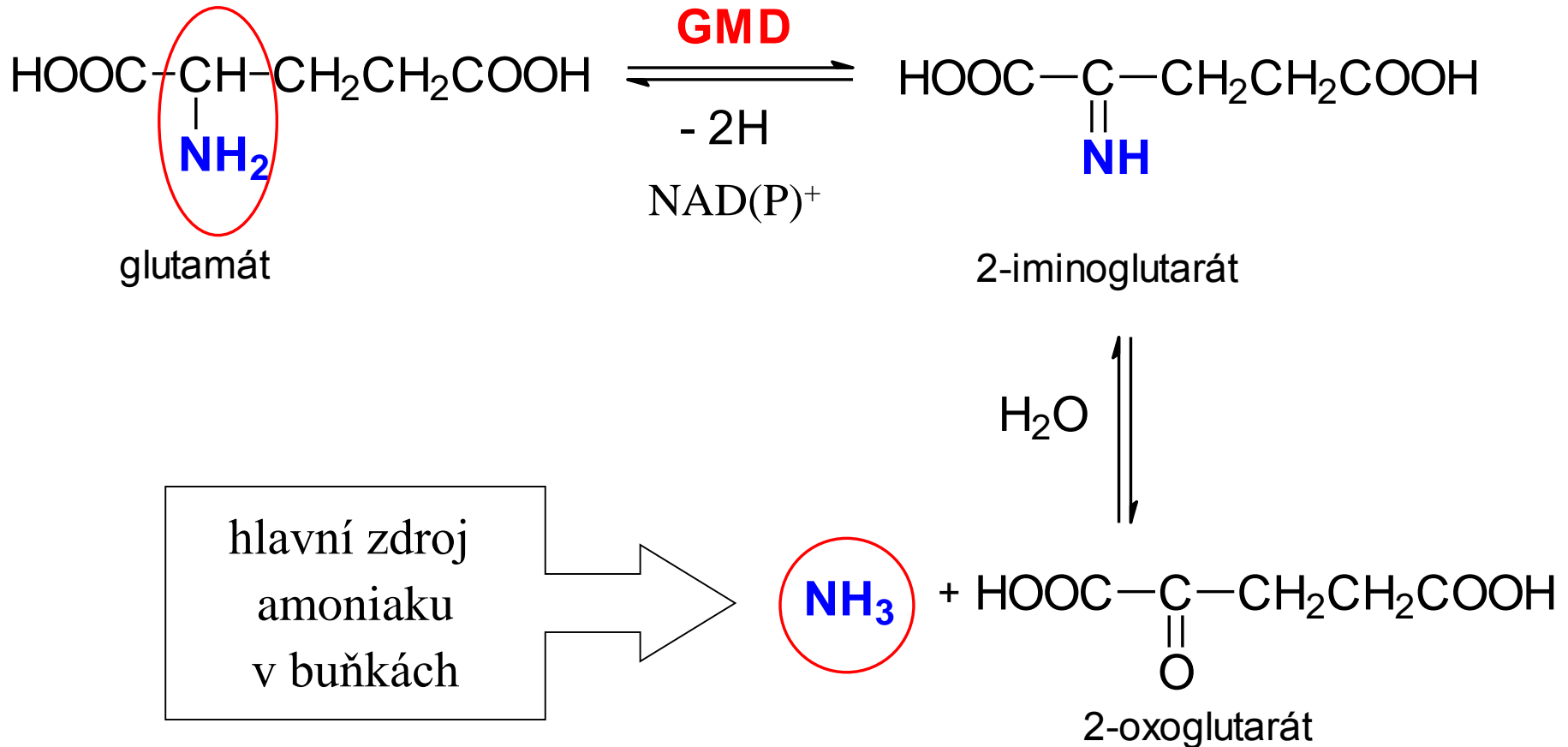
□ **NADP<sup>+</sup> se uplatňuje u reakce: 2-oxoglutarát → glutamát**

*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 meziproductů a buňka jej právě z něj odčerpává). Neprobíhá-li citrátový cyklus, nedochází k regeneraci redukovaných 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)

NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK s. 11

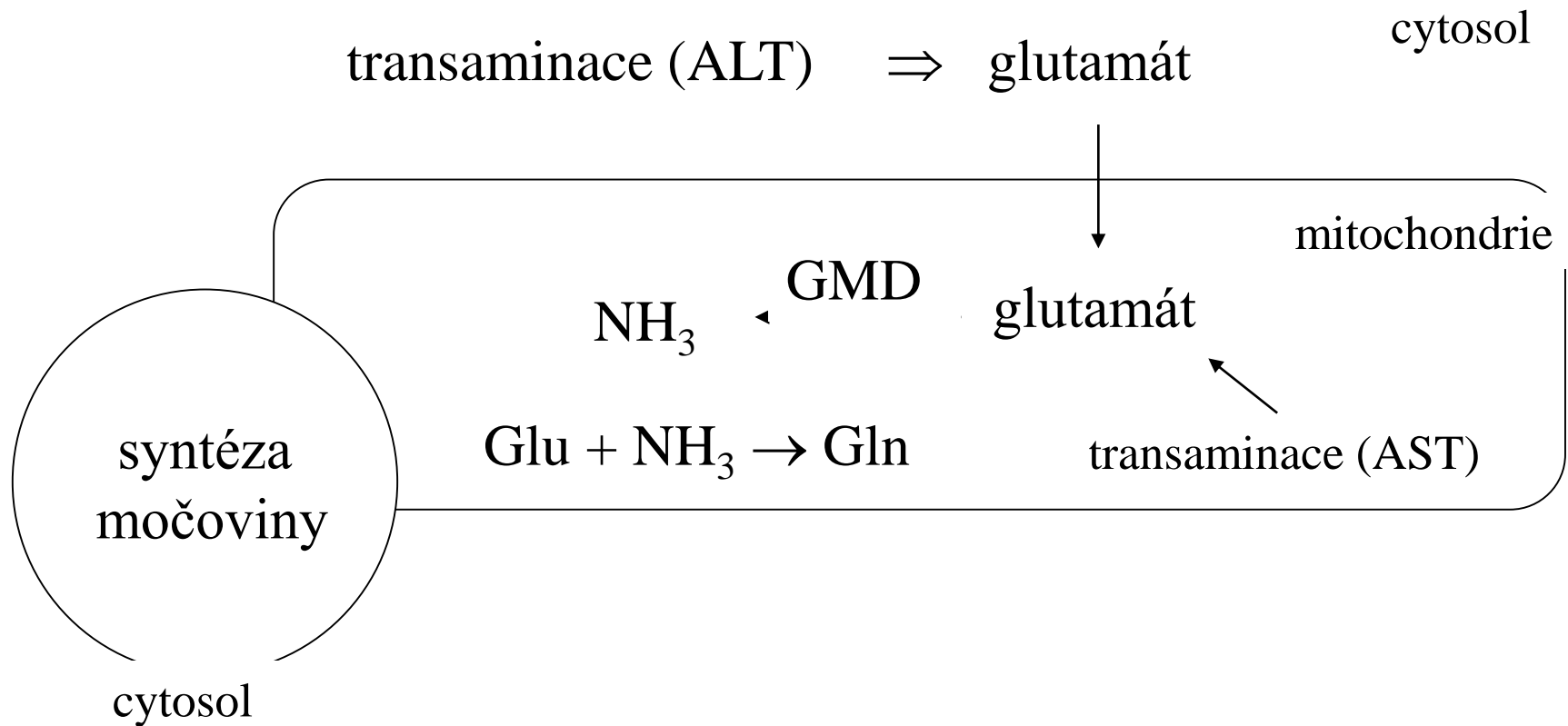
# Dehydrogenační deaminace glutamátu je reverzibilní reakce (glutamátdehydrogenasou)



# Glutamátdehydrogenasa (GMD, GD, GDH)

- vyžaduje pyridinový kofaktor  $\text{NAD(P)}^+$
- GMD reakce je reverzibilní, dehydrogenace  $\text{NAD}^+$ , hydrogenace  $\text{NADPH} + \text{H}^+$
- probíhá ve dvou stupních:
- **dehydrogenace**  $>\text{CH-NH}_2$  na iminoskupinu  $>\text{C=NH}$
- **hydrolyza** iminoskupiny na oxoskupinu a amoniak

# Buněčná lokalizace vybraných přeměn AK



# Dva hlavní zdroje amoniaku v organismu

- dehydrogenační deaminace glutamátu

v

buňkách většiny tkání

- bakteriální rozklad proteinů (hnití) v tlustém střevě

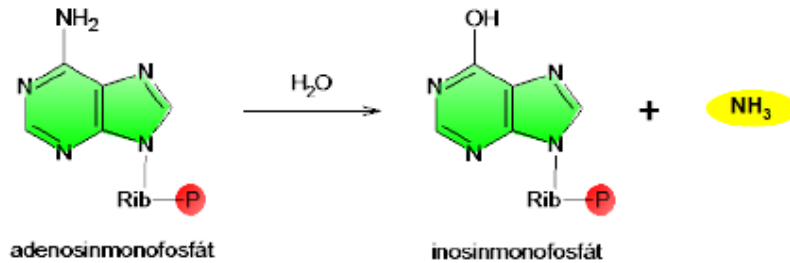
amoniak difuzí přechází do portální krve  $\Rightarrow$  portální krev má relativně vysokou konc.  $\text{NH}_3 \Rightarrow$  odstraněn játry

## Další zdroje amoniaku – deaminace různých substrátů

- deaminace adeninu v cyklu purinových nukleotidů
- oxidační deaminace některých AK ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
- desaturační deaminace histidinu  $\rightarrow$  urokanová kys. +  $\text{NH}_3$
- oxidační deaminace koncové aminoskupiny v lysinu  
lysyloxidasa( $\text{Cu}^{2+}$ ):  $\text{Lys} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NH}_3 + \text{allysin} + \text{H}_2\text{O}$
- dehydratační deaminace serinu
- oxidační deaminace biogenních aminů  
( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,)



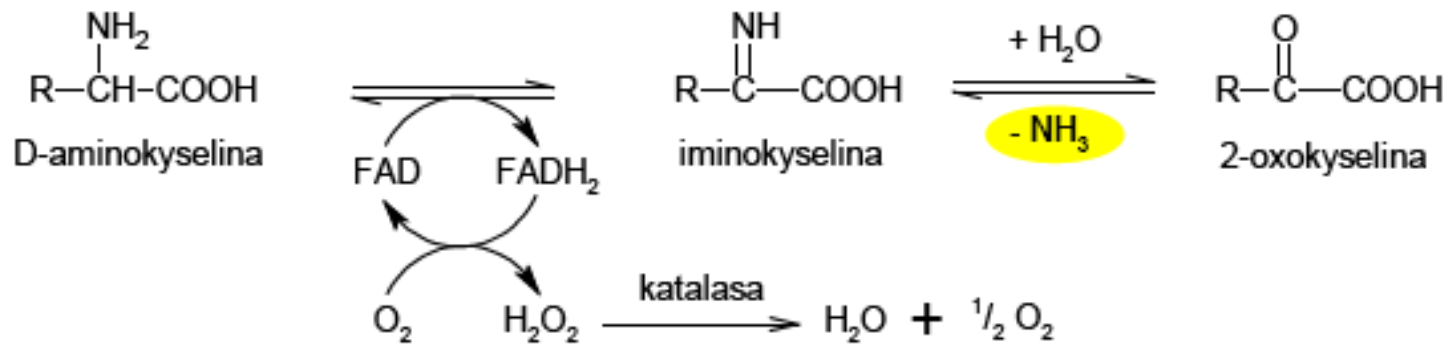
a) deaminace adeninu v cyklu purinových nukleotidů



# Další deaminace

NOVÁK, Jan. Biochemie I.  
Brno: Muni, 2009,  
Metabolismus AK s.12, 13

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



c) oxidační deaminace lysinu

Reakce je katalyzována lisyloxidasou (pro funkci potřebuje Cu<sup>2+</sup>)

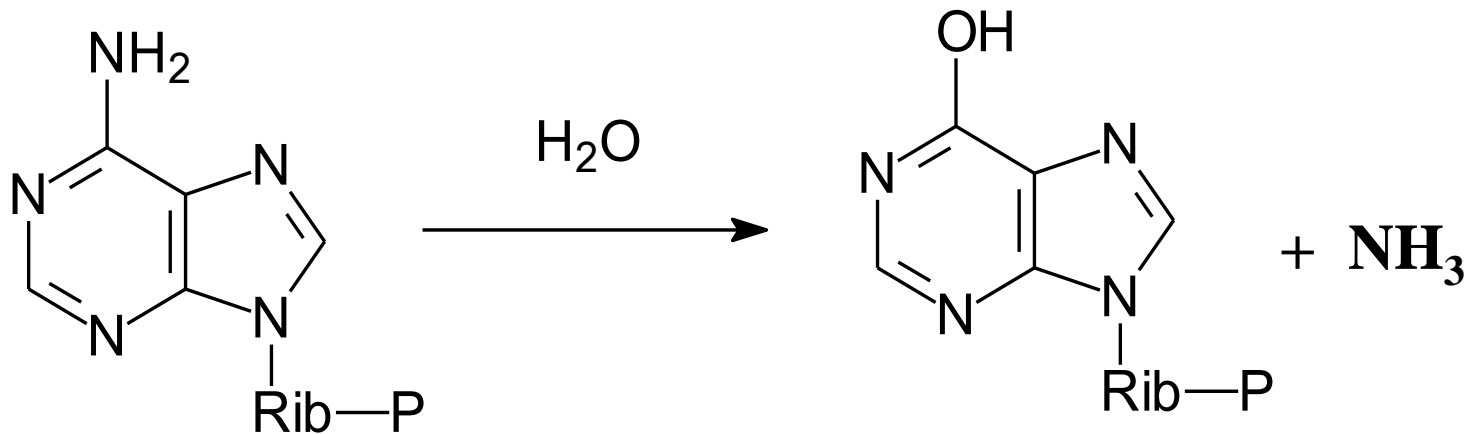


d) dehydratační deaminace serinu (viz metabolismus jednotlivých AK)

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).

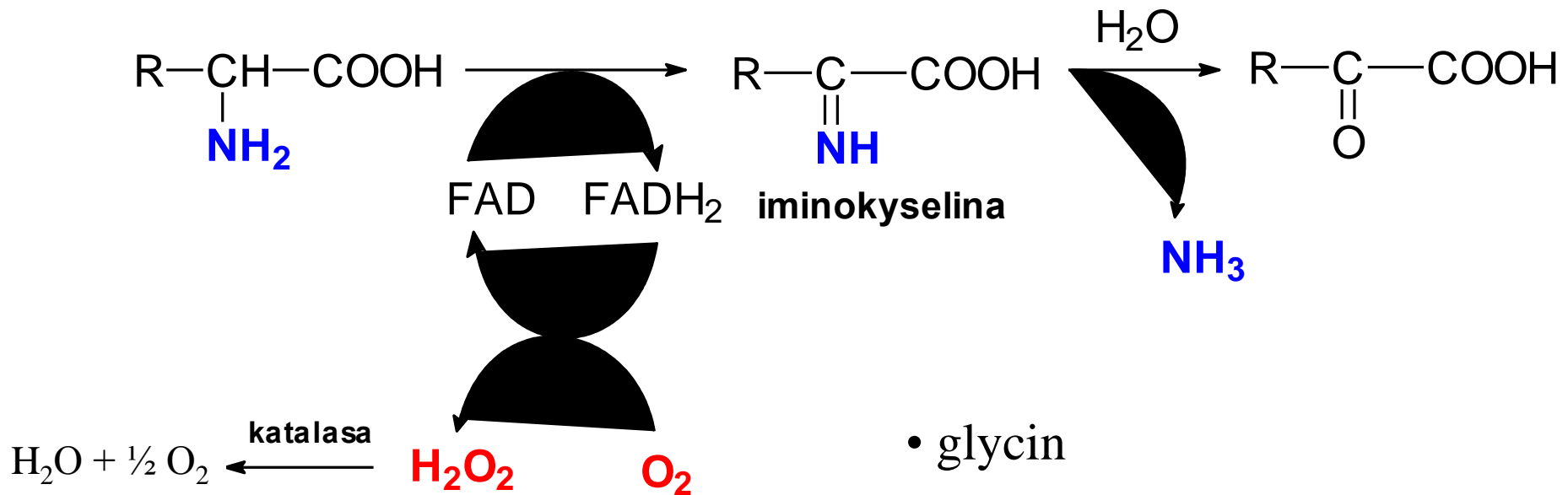
# Deaminace adeninu



adenosinmonofosfát

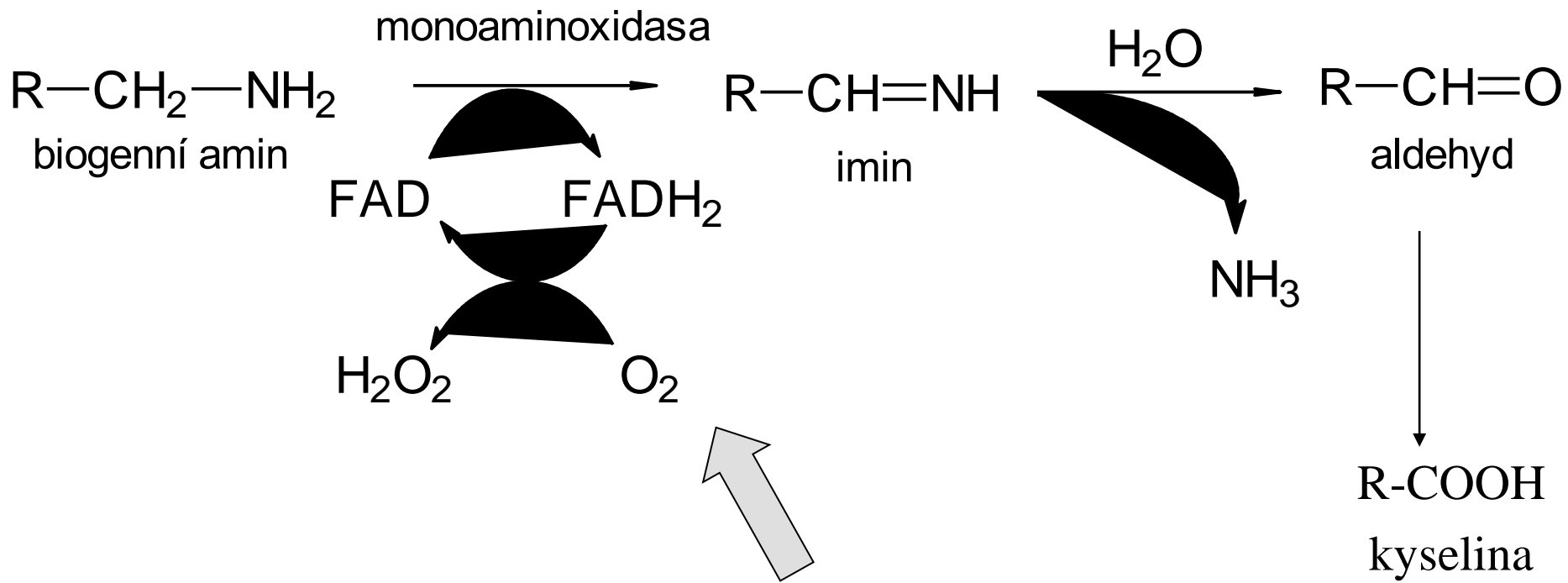
inosinmonofosfát

# Oxidační deaminace některých AK



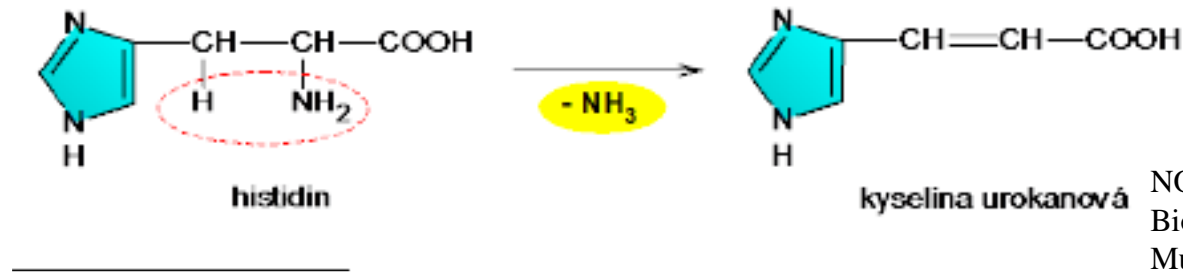
- glycin
- odbourání D-aminokyselin
- vedlejší produkt  $\text{H}_2\text{O}_2$

# Oxidační deaminace biogenních aminů



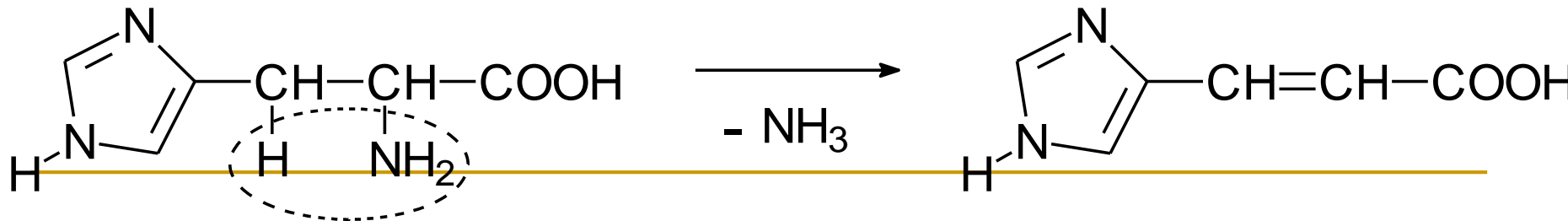
# Desaturační deaminace histidinu

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



NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK s. 11

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



# Další reakce, při kterých vzniká amoniak

- **neenzymová karbamylace proteinů** (při vysoké koncentraci močoviny v buňce k této reakci dochází.

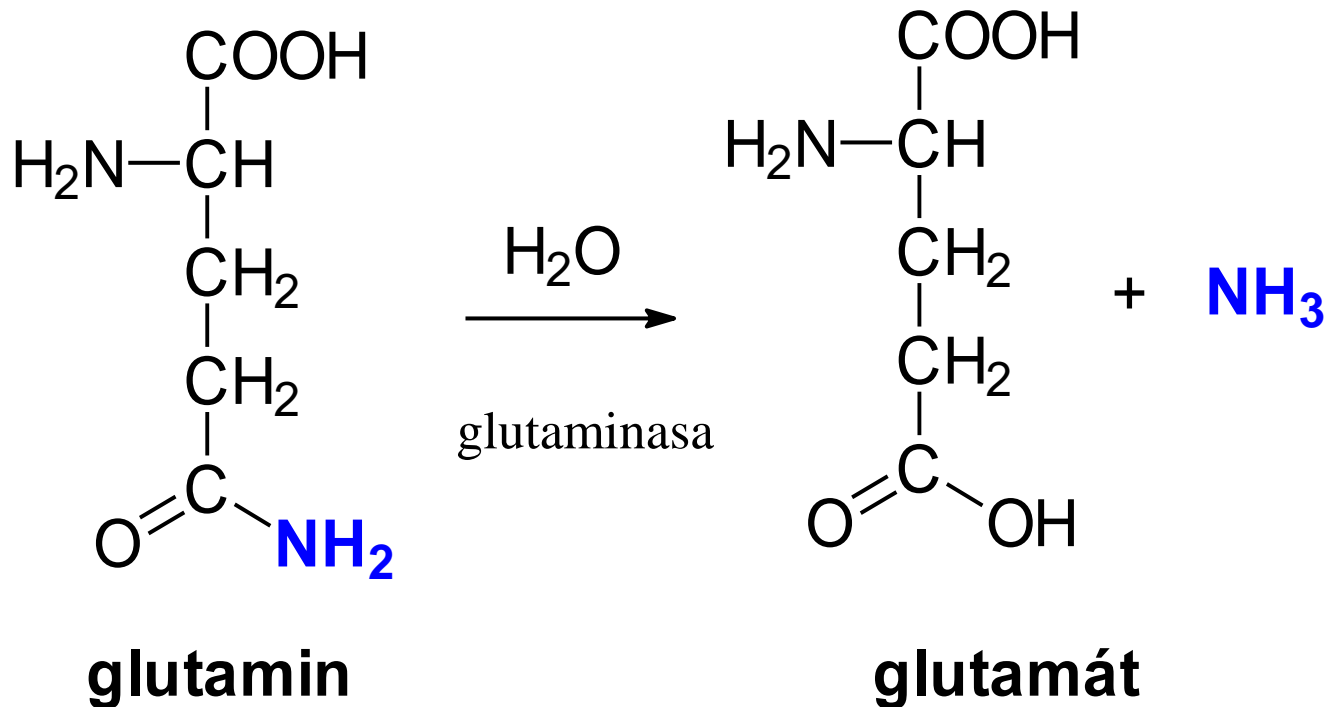


- **katabolismus pyrimidinových bází**



- **syntéza hemu** (4 porfobilinogen  $\rightarrow$  4  $\text{NH}_3$  + uroporfyrinogen)

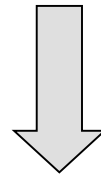
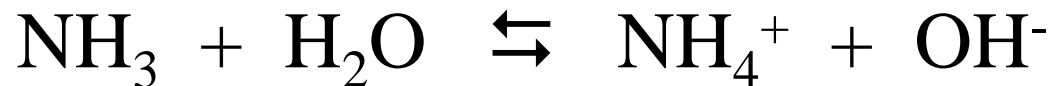
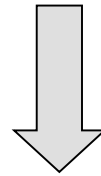
**Hydrolýza amidové skupiny glutaminu v ledvinách uvolňuje amoniak, který se jako  $\text{NH}_4^+$  vylučuje močí (deamidace)**



Glutamin se považuje za netoxickou transportní formu amoniaku

# Zvýšená tvorba amoniaku za patologických podmínek

- krvácení do GIT  $\Rightarrow$  zvýšení  $\text{NH}_3$  v portální krvi
- uroinfekce – bakteriální ureasa katalyzuje hydrolýzu močoviny



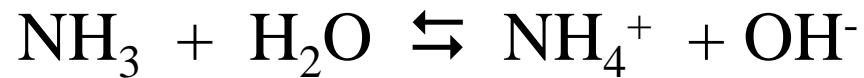
alkalická moč (pH až 8)  $\Rightarrow$  fosfátové konkrementy



---

# Acidobazické vlastnosti $\text{NH}_3$

$$pK_B(\text{NH}_3) = 4,75 \text{ (slabá báze)}$$



$$pK_A(\text{NH}_4^+) = 14 - 4,75 = 9,25 \text{ (velmi slabá kyselina)}$$

Při fyziologických hodnotách pH v ICT a ECT (7,40) je naprostá většina amoniaku ve formě amonného kationtu:

**98 %  $\text{NH}_4^+$**

**2 %  $\text{NH}_3$**

# $\text{NH}_4^+$ ionty v tělesných tekutinách

<b>Tělesná tekutina</b>	<b>Konc. <math>\text{NH}_4^+</math> (mmol/l)</b>	<b>Metabolický původ <math>\text{NH}_4^+</math></b>
Moč	10 – 40	deamidace Gln + deaminace Glu v tubulech
Sliny	2 – 3	hydrolýza močoviny ústní mikroflorou
Portální krev	0,1 – 0,3	hnutí bílkovin v tlustém střevě, katabolismus Gln/Glu v enterocyty
Žilní krev	< 0,03	katabolismus AK ve tkáních

# Jak omezit vznik amoniaku v lidském těle?

důležité při jaterním selhávání

1. **nízkoproteinová dieta**
2. **alterace střevní mikroflóry**
  - **probiotika** – živé mikroorganismy, podporují kvasné procesy na úkor hnilobných (laktobacily, bifidobakterie) – kefir, acidofilní mléko ...
  - **prebiotika** – nestravitelné složky potravy, které selektivně stimulují růst probiotik (oligofruktosa, inulin, vláknina)
  - **střevní antibiotika** – lokálně působící (neomycin, metronidazol), krajní řešení, krátkodobé

# Tři produkty detoxikace amoniaku

Charakteristika	Močovina	Glutamin	Glutamát
Důležitost	★★★★★★	★★★★	★
Typ sloučeniny	diamid $\text{H}_2\text{CO}_3$	$\gamma$ -amid Glu	$\alpha$ -aminokyselina
Reakce vzniku	ureosynt. cyklus	Glu + $\text{NH}_3$	red. aminace 2-OG
Enzym	5 enzymů cyklu	Gln-syntetasa	GMD
Potřeba energie	3 ATP	1 ATP	1 NADPH+ $\text{H}^+$
Buňka-lokalizace	mitoch. + cytosol	mitochondrie	mitochondrie
Orgán	pouze játra	játra, ostatní	(CNS)

# 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 CO<sub>2</sub>. **Vzniklý amoniak (NH<sub>3</sub>) reaguje s vodou za vzniku NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a OH<sup>-</sup>, což vede k alkaličtější moči**, což má za následek **tvorbu fosfátových kamenů (konkrementů)**.
- **Základní informace o amoniaku**
- • ve formě NH<sub>3</sub> se jedná se o slabou bázi (pK<sub>B</sub> = 4,75), ve formě NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (pK<sub>A</sub> = 9,25) o velmi slabou kyselinu (za fyziologického pH převažuje forma NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (98%), která je méně toxická)
- • fyziologická koncentrace amoniaku: do **30 μmol/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**:

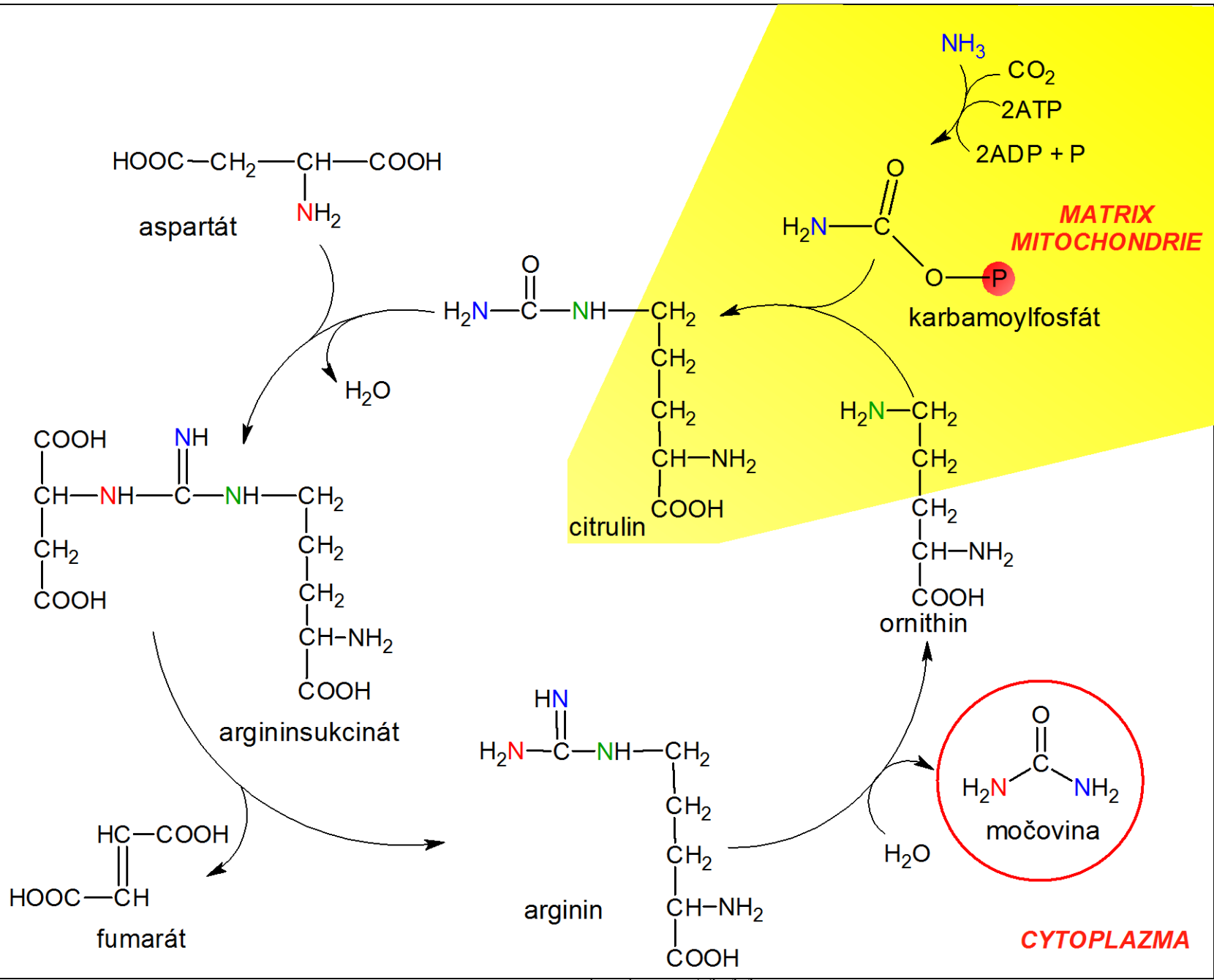
- 1) **V močovinovém cyklu**
- 2) Zapojením do molekuly **glutaminu**
- 3) Zapojením do molekuly **glutamátu**

# Močovinový cyklus (ureosyntetický cyklus)

- Močovinový cyklus je **nejdůležitějším způsobem odbourání amoniaku**. Amoniak je přeměn na **močovinu** (diamid kyseliny uhličité), 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)**.
- **1) Tvorba karbamyol fosfátu (mitochondrie)**
- **2) Vznik citrulinu (mitochondrie)**
- **3) Kondenzace citrulinu s aspartátem (cytosol)**
- **4) Štěpení argininsukcinátu**
- **5) Hydrolýza argininu**

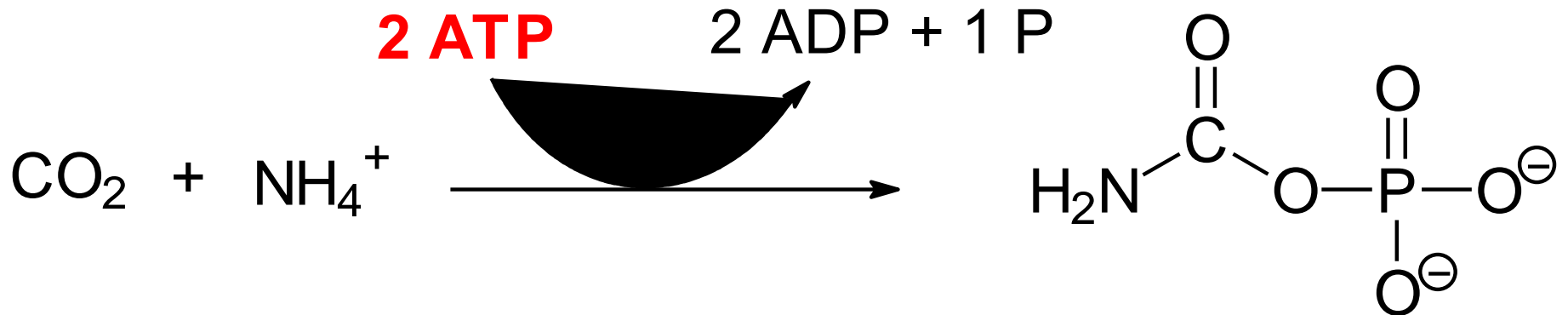
# Syntéza močoviny v játrech

první dvě reakce v mitochondriích  
další v cytosolu



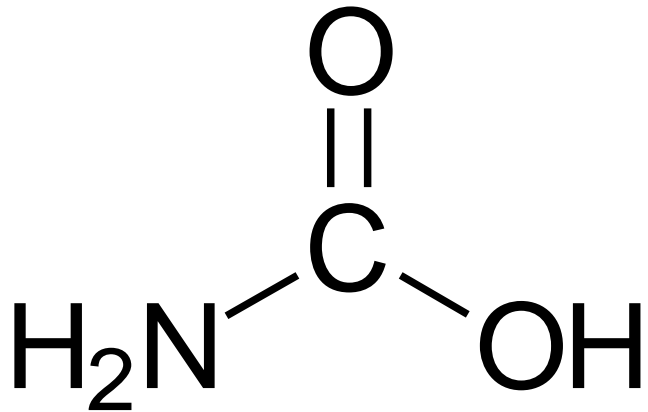


# 1. Tvorba karbamoylfosfátu (matrix)



- karbamoylfosfátsynthetasa, alloster. aktivátor *N*-acetylglutamát
- matrix mitochondrie
- **dva moly ATP**
- vzniká amidová vazba + smíšený anhydrid
- **makroergní sloučenina**

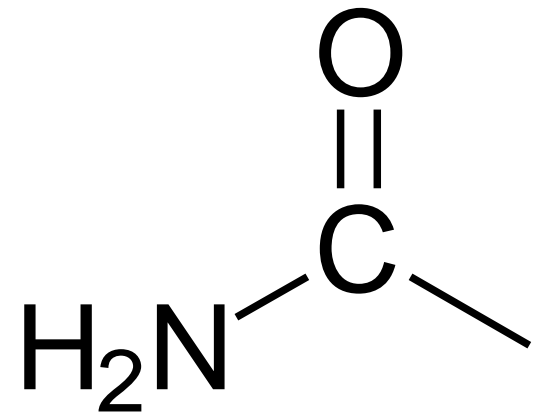
# Karbamoyl je acyl kyseliny karbamové



kys. karbamová

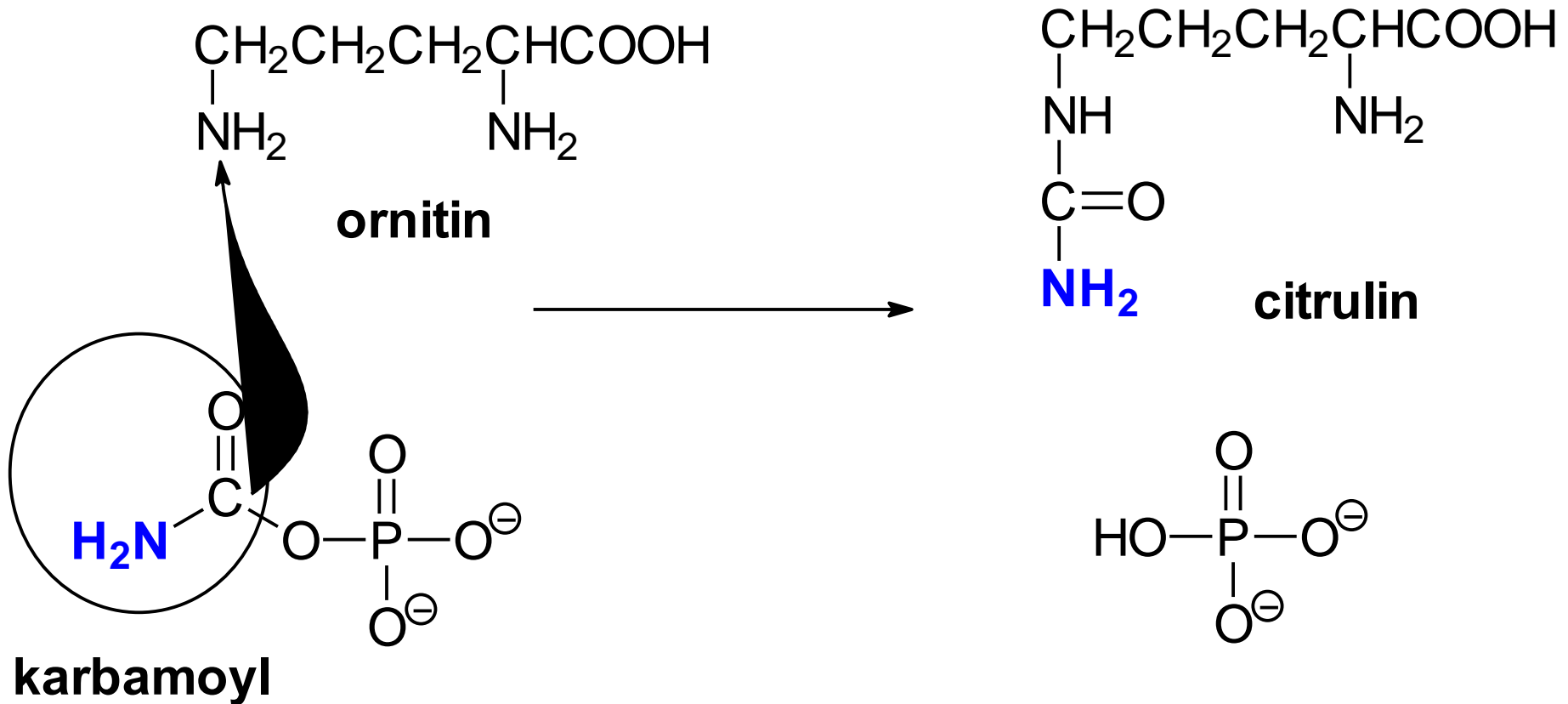
monoamid kys. uhličité

hypotetická

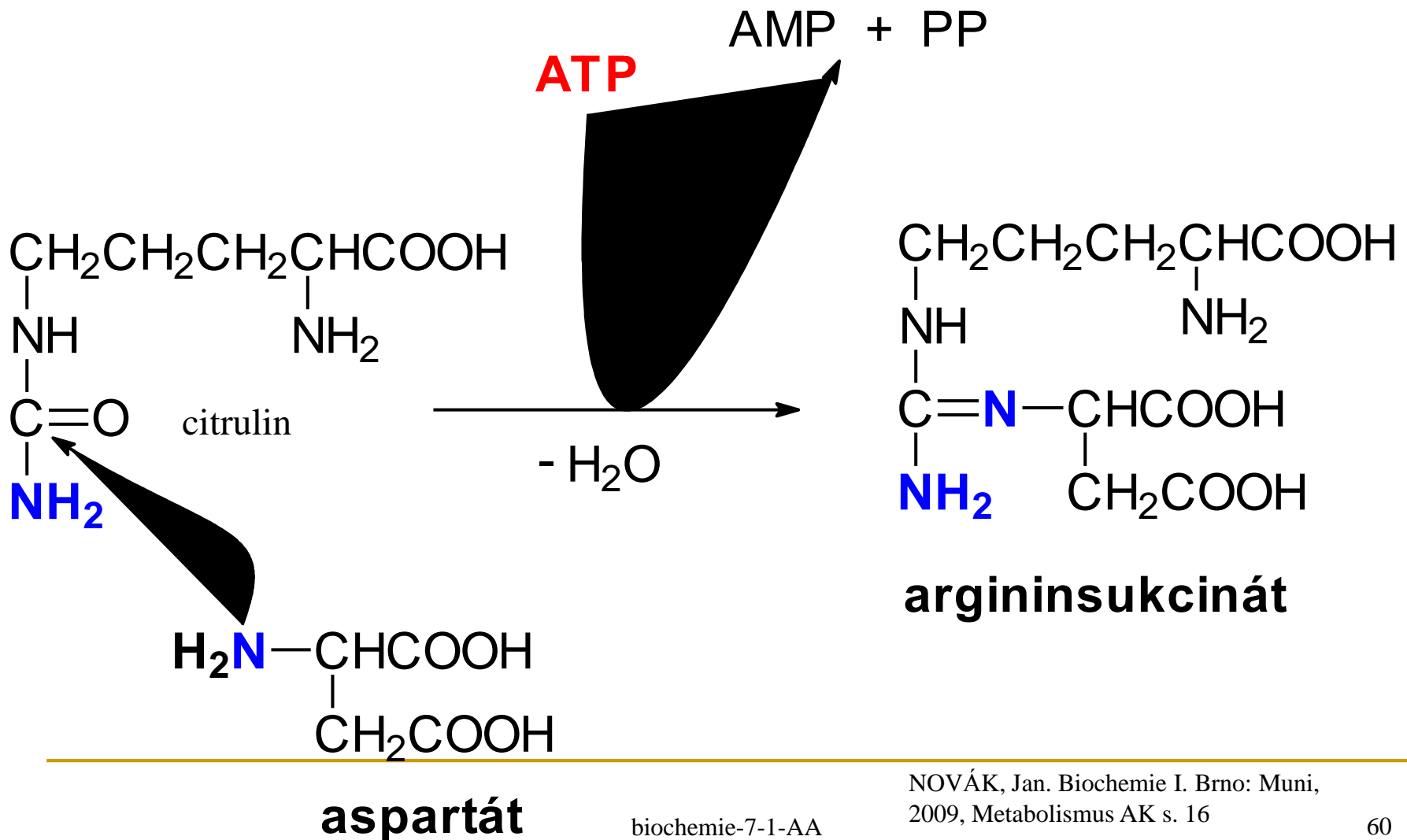


karbamoyl

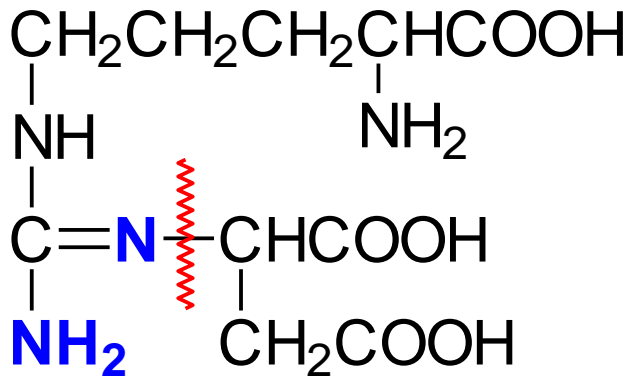
## 2. Vznik citrulinu (matrix)



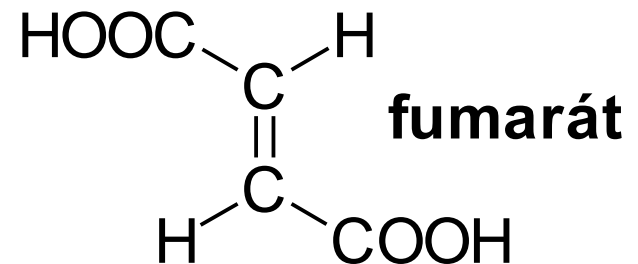
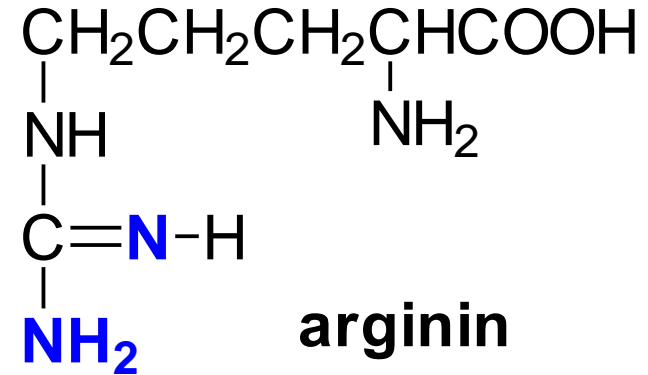
### 3. Druhá aminoskupina pochází z aspartátu (cytosol)



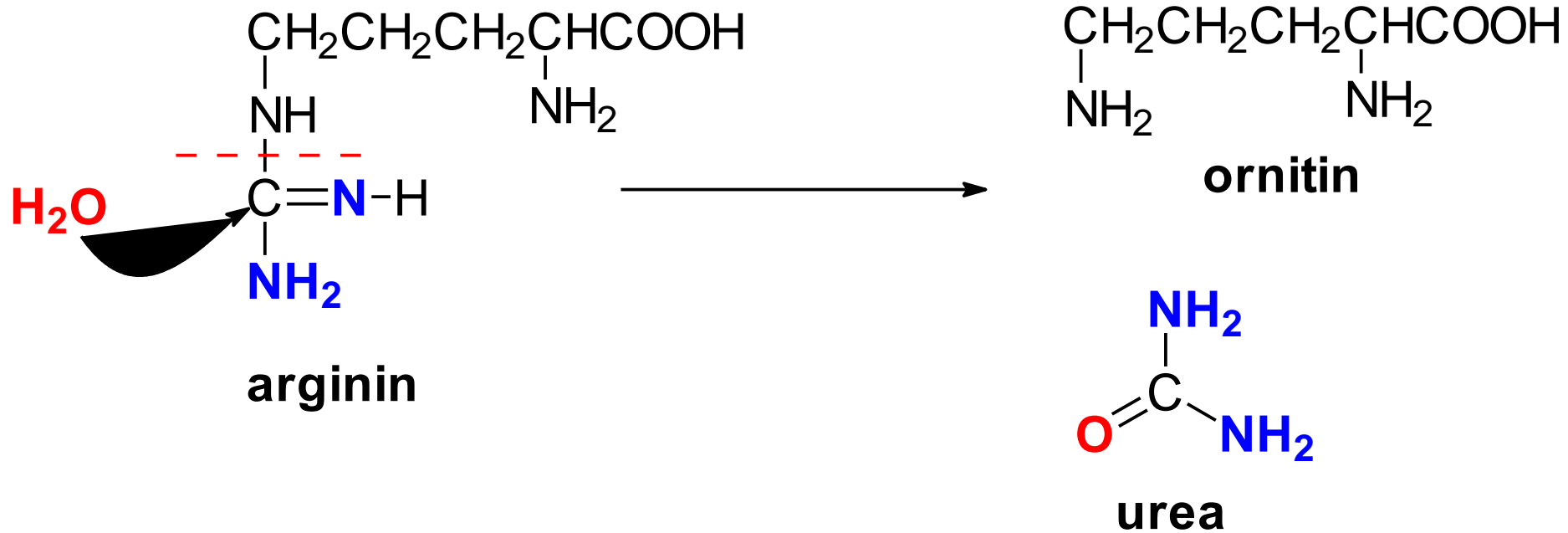
# 4. Štěpení argininsukcinátu



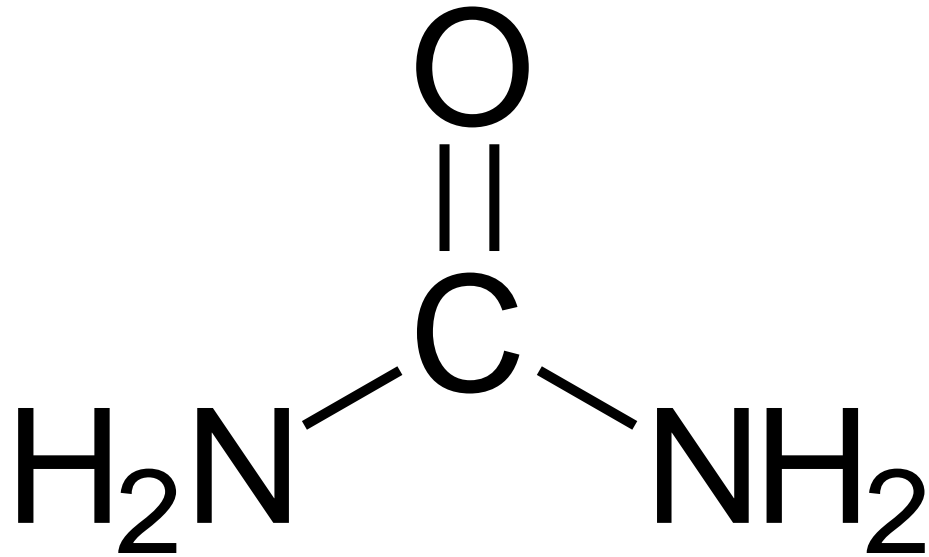
**argininsukcinát**



# 5. Hydrolýza argininu poskytně močovinu



# Metabolický původ atomů dusíku v močovině



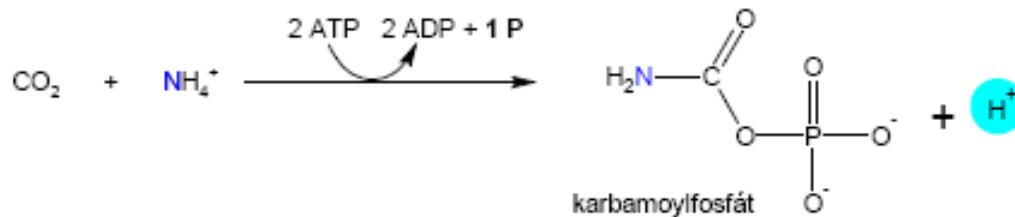
**volný amoniak**

**aspartát**

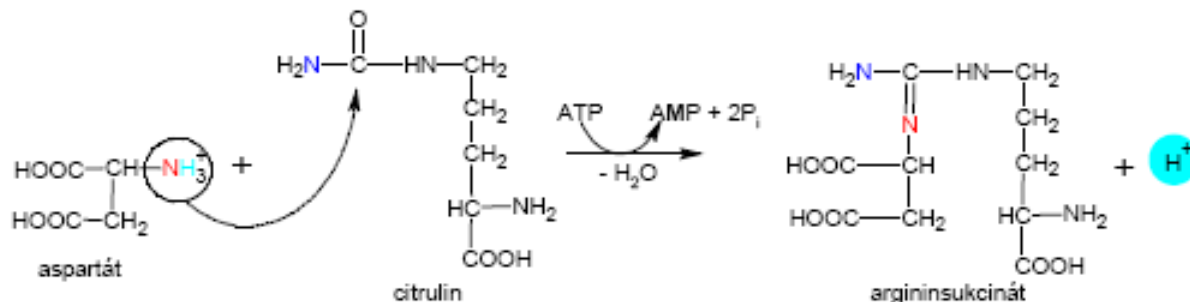
# Syntéza močoviny je **proton- produktivní (acidifikující) děj.**

- 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:

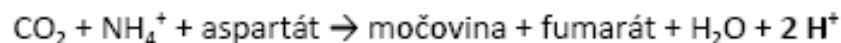
a) při vzniku karbamoylfosfátu



b) při vzniku argininsukcinátu



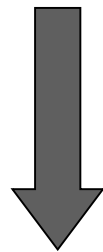
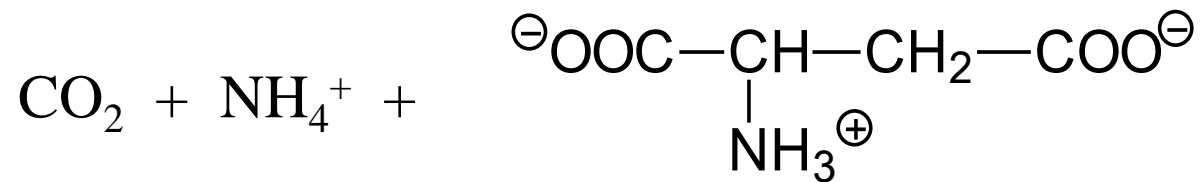
Souhrně lze zapsat výše uvedené rovnice:



NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK  
s. 18



# Syntéza močoviny je proton-produktivní děj



# Močovina je neelektrolyt

- diamid kyseliny uhličitě
- **polární látka** (dipól)  $\Rightarrow$  velmi dobře rozpustná ve vodě
- **difunduje snadno všemi membránami** (hydrofilní kanálky)
- přispívá k osmolalitě krevní plazmy:

$$\text{osmolalita} \approx 2 [\text{Na}^+] + [\text{glukosa}] + [\text{urea}] \text{ mmol/kg H}_2\text{O}$$

- vzniká v **játrech**
- vylučuje se močí v závislosti na množství přijatých bílkovin  
**330-600 mmol/d (20-35 g/d)**

# Močovina v krevním séru (2-8 mmol/l)

## Zvýšená koncentrace

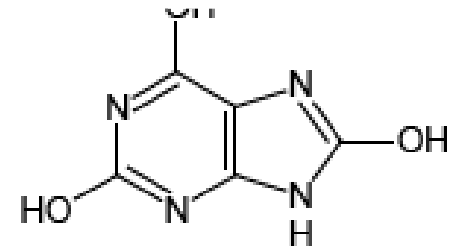
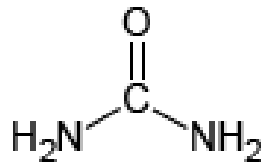
- poruchy exkrece (renální selhání)
- nadměrný rozpad proteinů v katabolických stavech (sepsy, popáleniny, polytrauma, nádory, horečky apod.)

## Snížená koncentrace

- nedostatek bílkovin v potravě
- poruchy produkce (jaterní selhání)

<b>Charakteristika</b>	<b>Močovina</b>	<b>Močová kyselina</b>
Latinský název	urea	acidum uricum
Chemický název	diamid kys. uhličité	2,6,8-trihydroxypurin
Katabolit	aminokyselin	adeninu, guaninu
Chování ve vodě	neelektrolyt	slabá dvojsytná kys.
pH vodného roztoku	neutrální	slabě kyselé
Rozpustnost ve vodě	výborná	špatná (vliv pH)
Redukční vlastnosti	ne	ano (antioxidant)
Vznik v těle	pouze játra	řada tkání
Vznik v buňce	mitoch. + cytosol	cytosol
Koncentrace v séru	2-8 mmol/l	150-400 $\mu$ mol/l
Exkrece močí	20-35 g/d	0,5-1 g/d
% katabolického N	80-90	1-2

# Srovnejte a rozlišujte

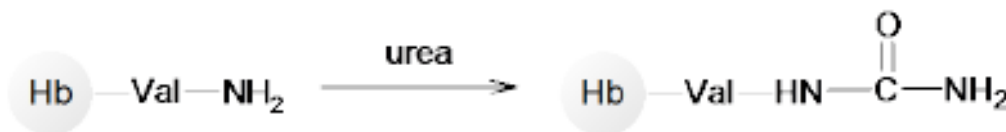


Charakteristika	Močovina	Močová kyselina
Latinský název	urea	acidum uricum
Chemický název	(diamid kyseliny uhličitě)	(2,4,6-trihydroxypurin)
Chování ve vodě	neelektrolyt	slabá dvojsytná kyselina
pH vodného roztoku	neutrální	slabě kyselé
Rozpustnost ve vodě	výborná	špatná (vliv pH)
Redukční vlastnosti	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%

NOVÁK, Jan. Biochemie I. Brno: Muni, 2009, Metabolismus AK s. 19

# Hlavní vlastnosti močoviny

- močovina je diamid kyseliny uhličitě (amid = **neelektrolyt**)
  - polární látka, velmi dobře rozpustná ve vodě
  - difunduje všemi membránami (pomocí hydrofilních kanálků)
  - přispívá k osmolalitě krevní plazmy:
- **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** o zvýšená koncentrace naznačuje **poruchy exkrece** (renální selhání) nebo **nadměrný rozpad proteinů** (sepsa, popáleniny, polytrauma, nádory, horečky...)
  - o 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:**

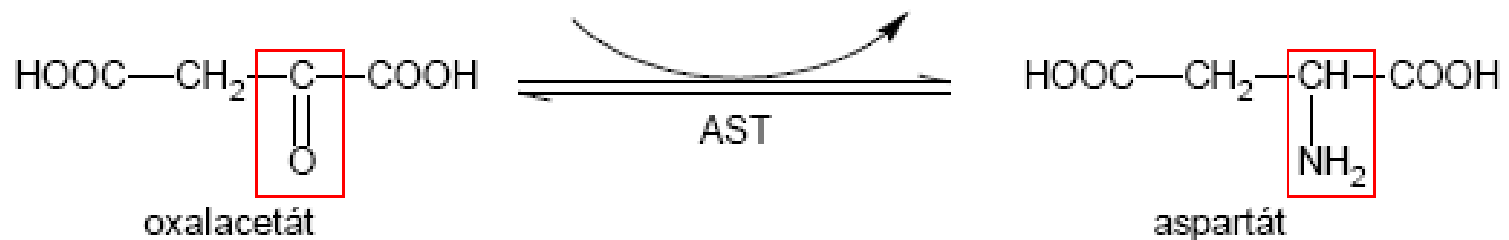


Karbamylovaný Hb může tvořit až 1,6% celkového Hb.

NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK s. 19

# Regenerace aspartátu

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



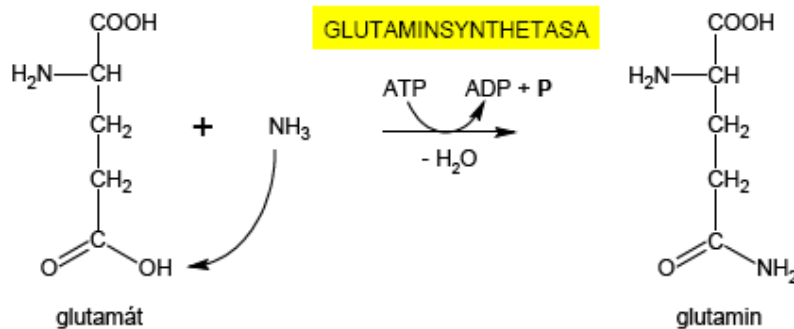
- Oxalacetát je jedním z meziproductů CC. Samotný oxalacetát je výchozím substrátem nejen pro transaminaci na aspartát, ale i pro vznik **2-oxoglutarátu** (jedna z reakcí CC). 2-oxoglutarát na sebe pak může (díky transaminaci) navázat -NH<sub>2</sub> skupinu z většiny dalších AK a vytvořit tak glutamát. 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).*

# Syntéza glutaminu

## 2. způsob detoxikace $\text{NH}_3$

- 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

### glutaminsynthetasa



Glutamin (jak již bylo řečeno) je považován za transportní formu amoniaku. Po té, co se do 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). V **extrahepatálních tkáních** je glutamin hlavním způsobem odbourávání amoniaku.

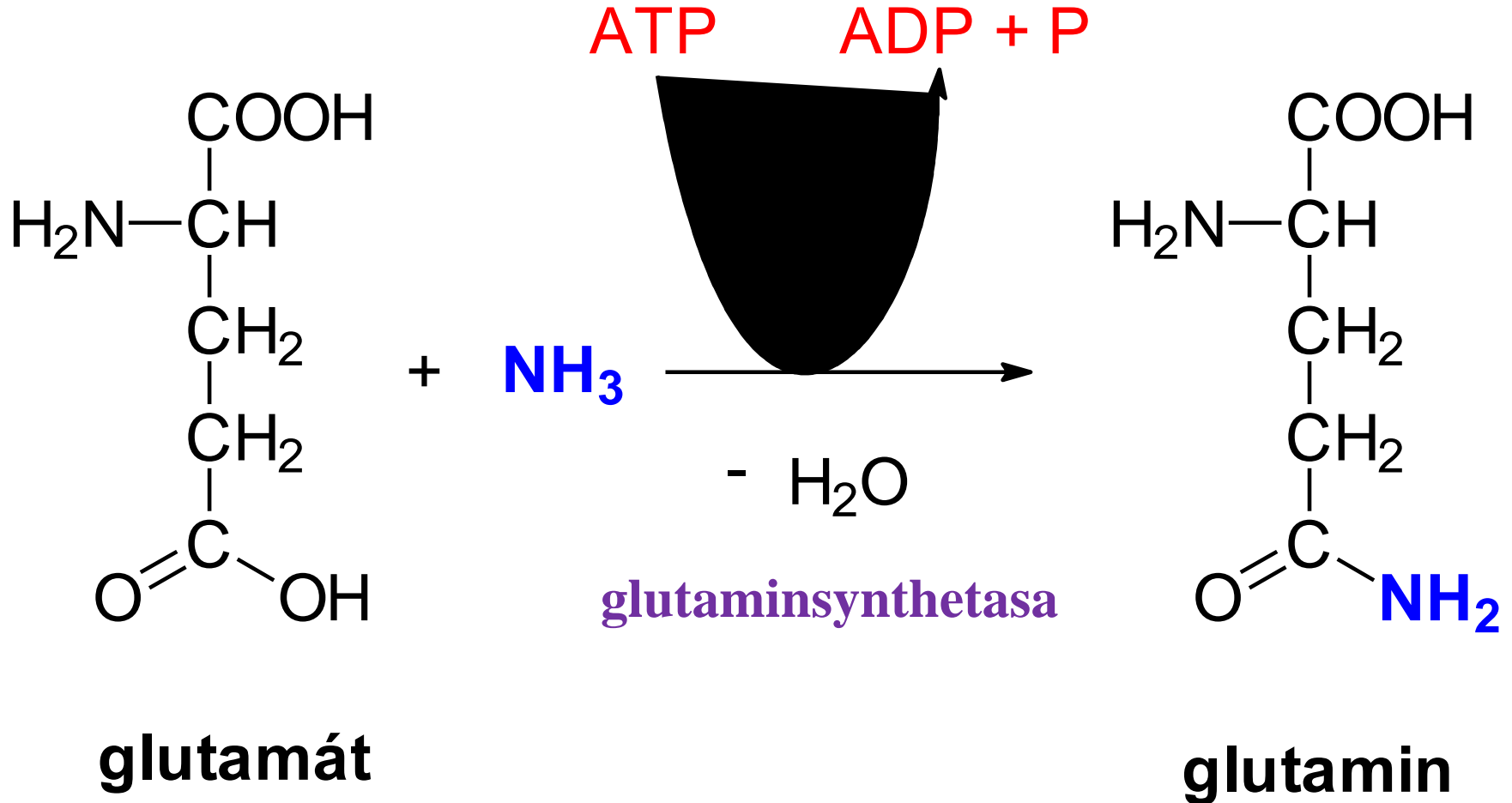
Glutamin hraje v organismu významnou roli:

- 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**

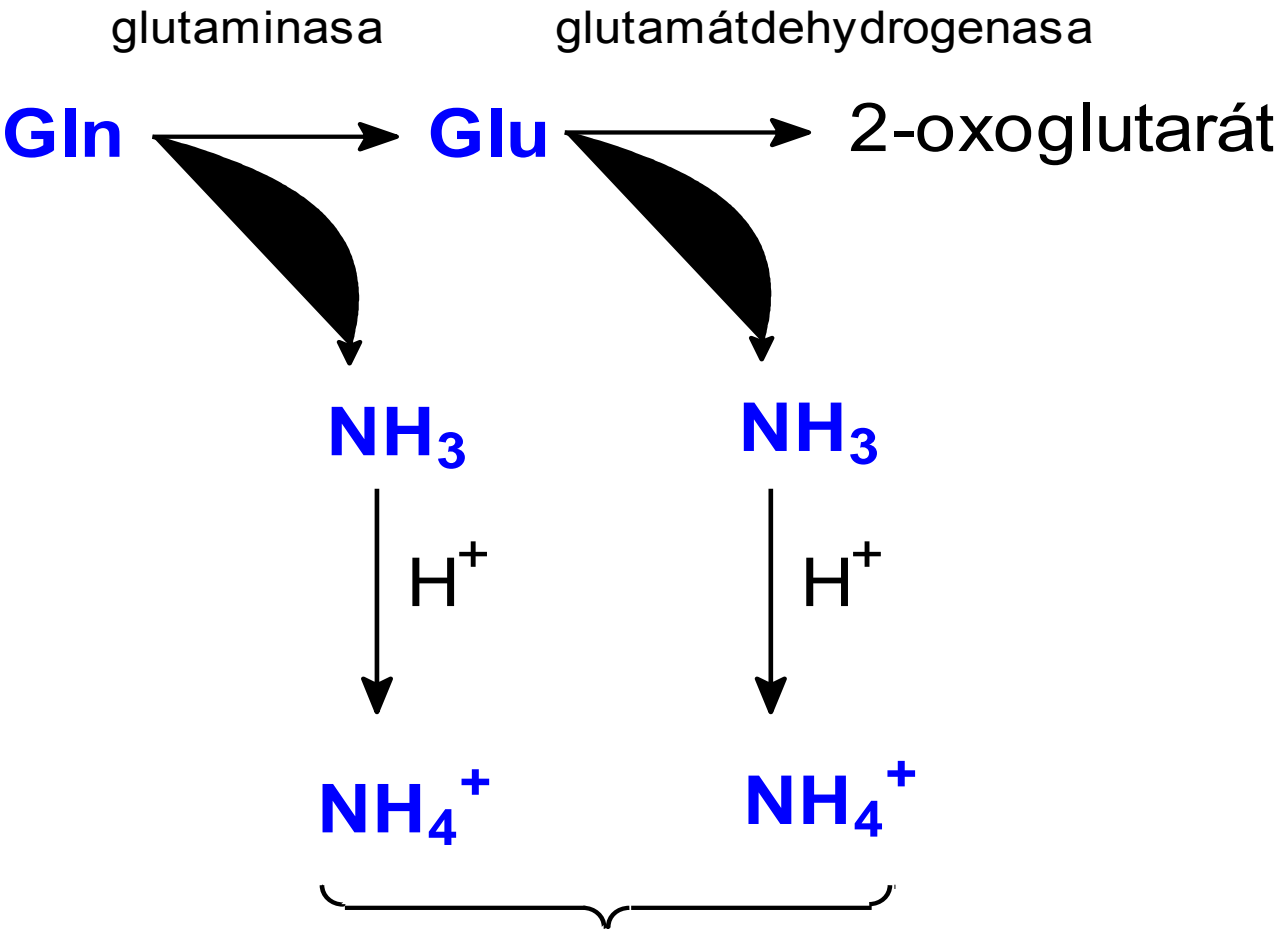
NOVÁK, Jan. Biochemie I. Brno: Muni, 2009, Metabolismus AK s. 20



# Syntéza glutaminu



# Z glutaminu se v ledvinách uvolňuje $\text{NH}_4^+$



moč (pH ~ 5)

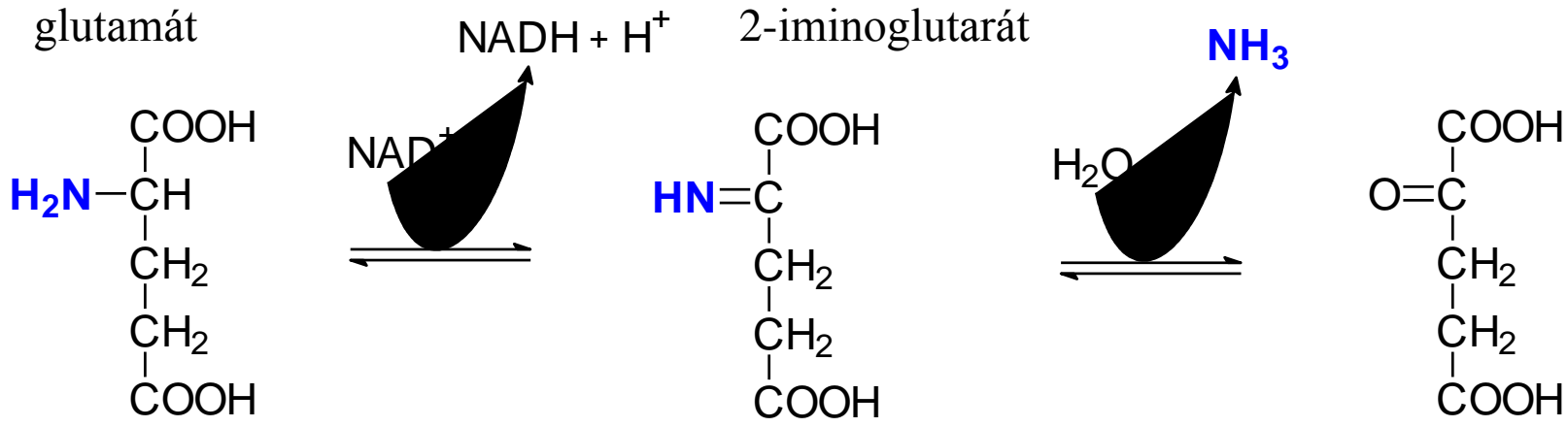
# Glutamin a alanin mají zvláštní význam

- nejvíce zastoupené AK v cirkulaci v postresorpční fázi, do cirkulace je uvolňuje hlavně svalová tkáň
- alanin je významným substrátem pro glukoneogenezi
- syntéza glutaminu je způsob detoxikace amoniaku
- glutamin uvolňuje amoniak v tubulárních buňkách ledvin
- glutamin je výhradní zdroj energie pro některé buňky (enterocyty, fibroblasty, lymfocyty, makrofágy)
- glutamin je zdrojem dusíku pro syntézy (puriny, aminocukry ...)
- glutamin je zdrojem glutamátu (GSH, GABA, ornitin, prolin)

# GMD reakce je reverzibilní

hlavní tvorba amoniaku ve tkáních

Dehydrogenační deaminace glutamátu

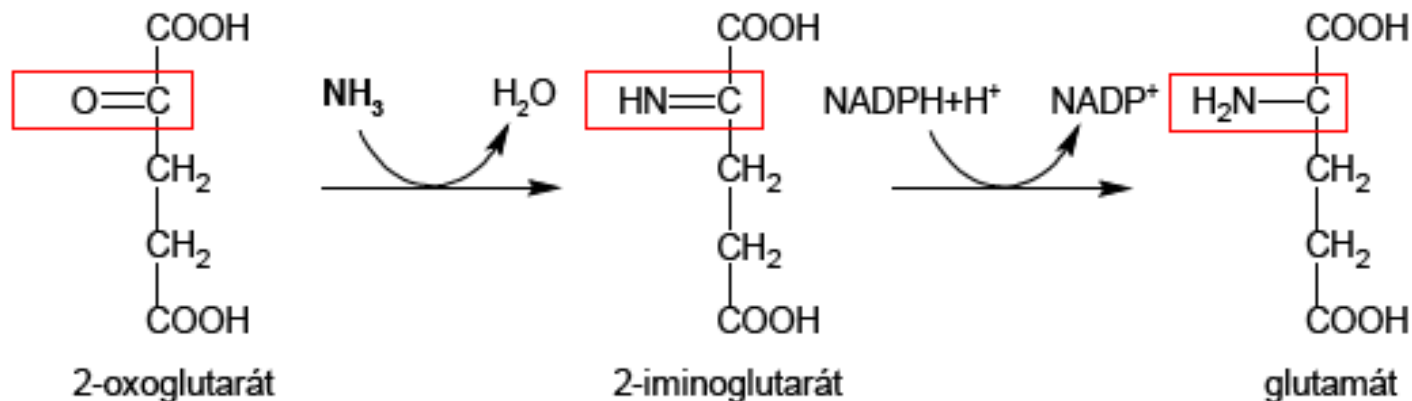


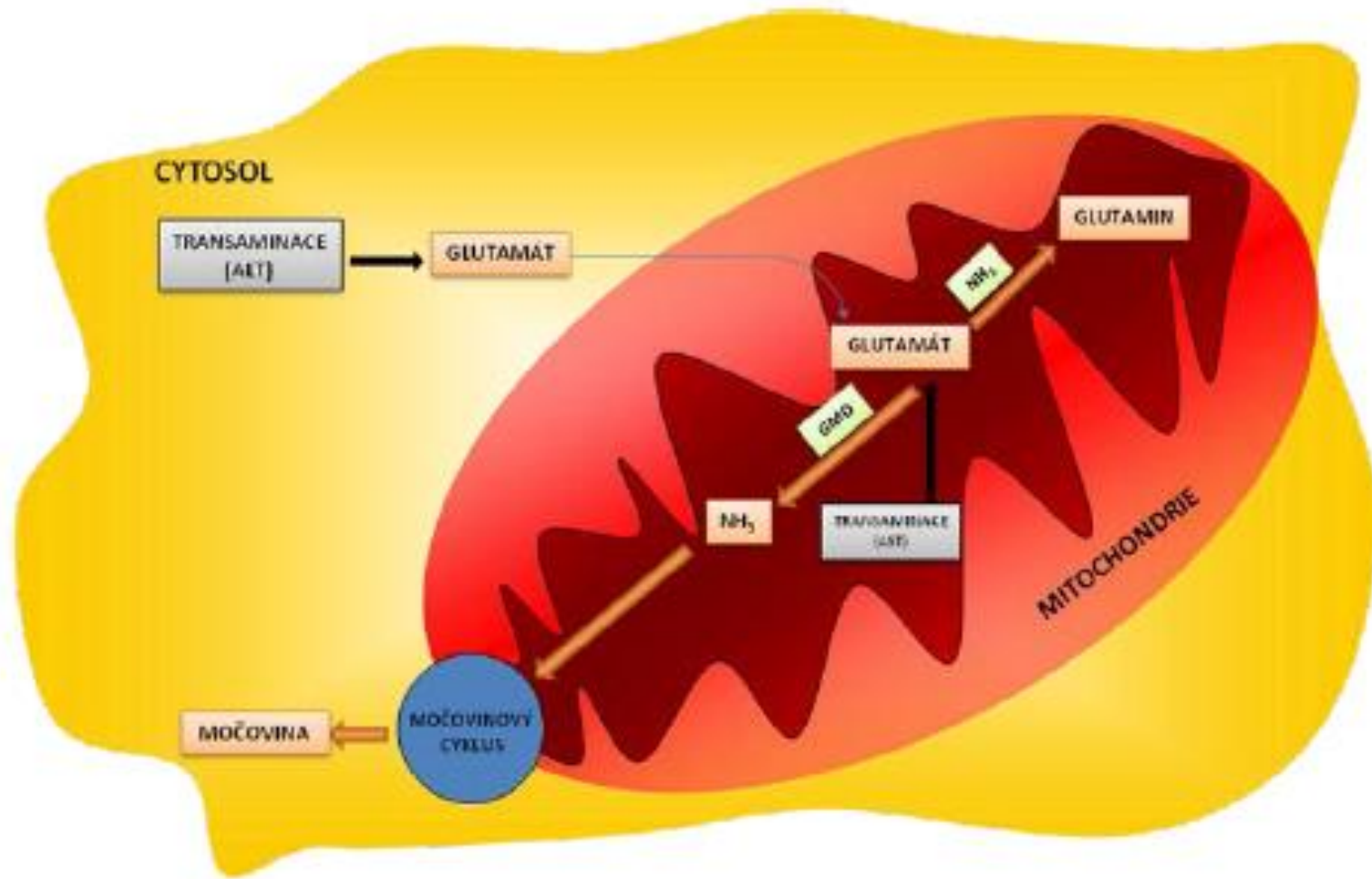
Hydrogenační aminace 2-oxoglutarátu

3. způsob detoxikace amoniaku

# 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  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  (redukováná forma).





---

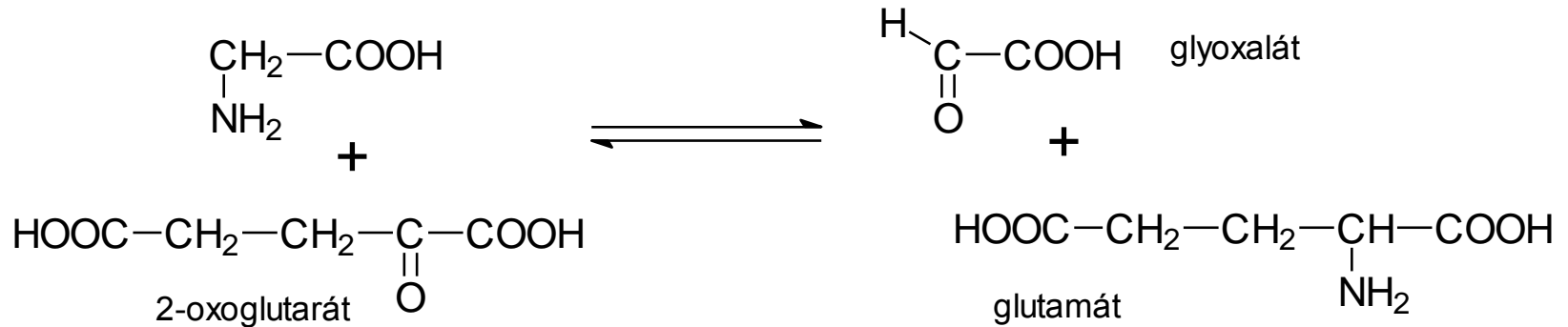
# Syntéza neesenciálních aminokyselin

---

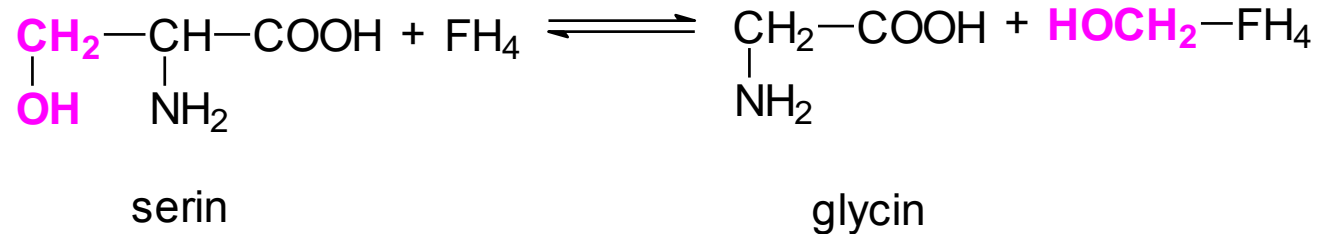
# Syntéza glycinu

# Gly

## 1. Opačný směr transaminační reakce

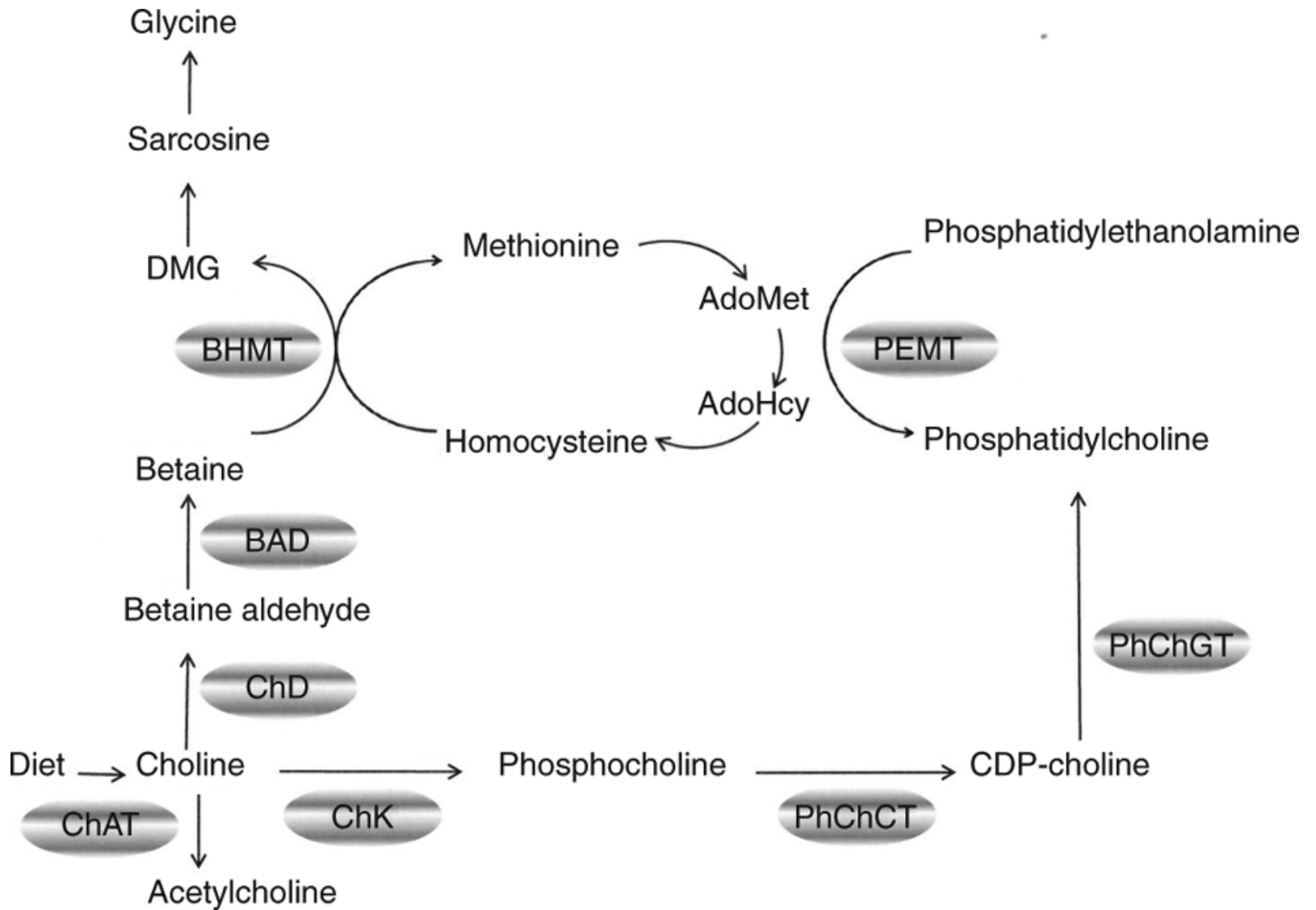


## 2. Ze serinu

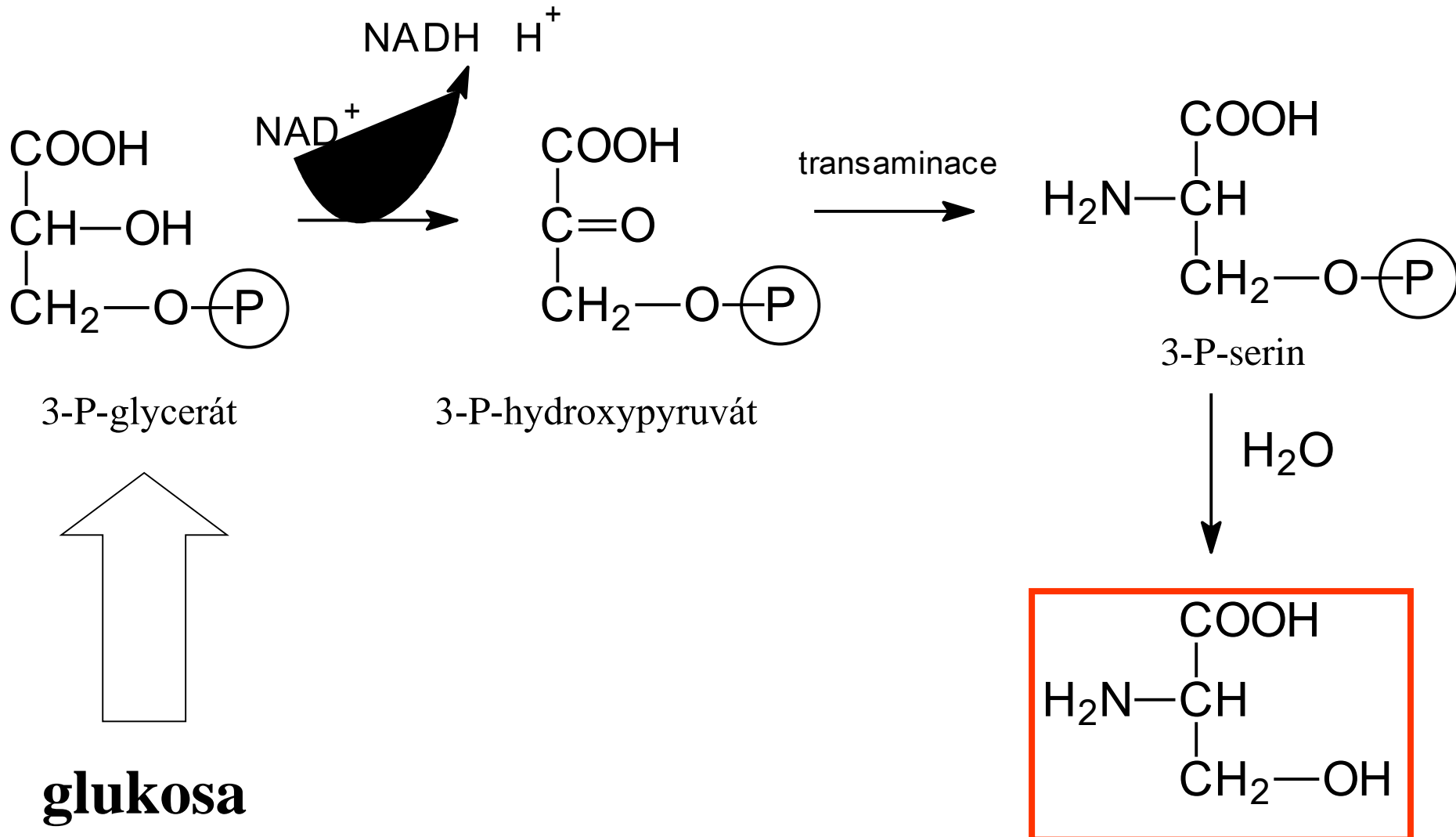


## 3. Z cholinu (viz Harper, str. 303, meziprodukt betain)



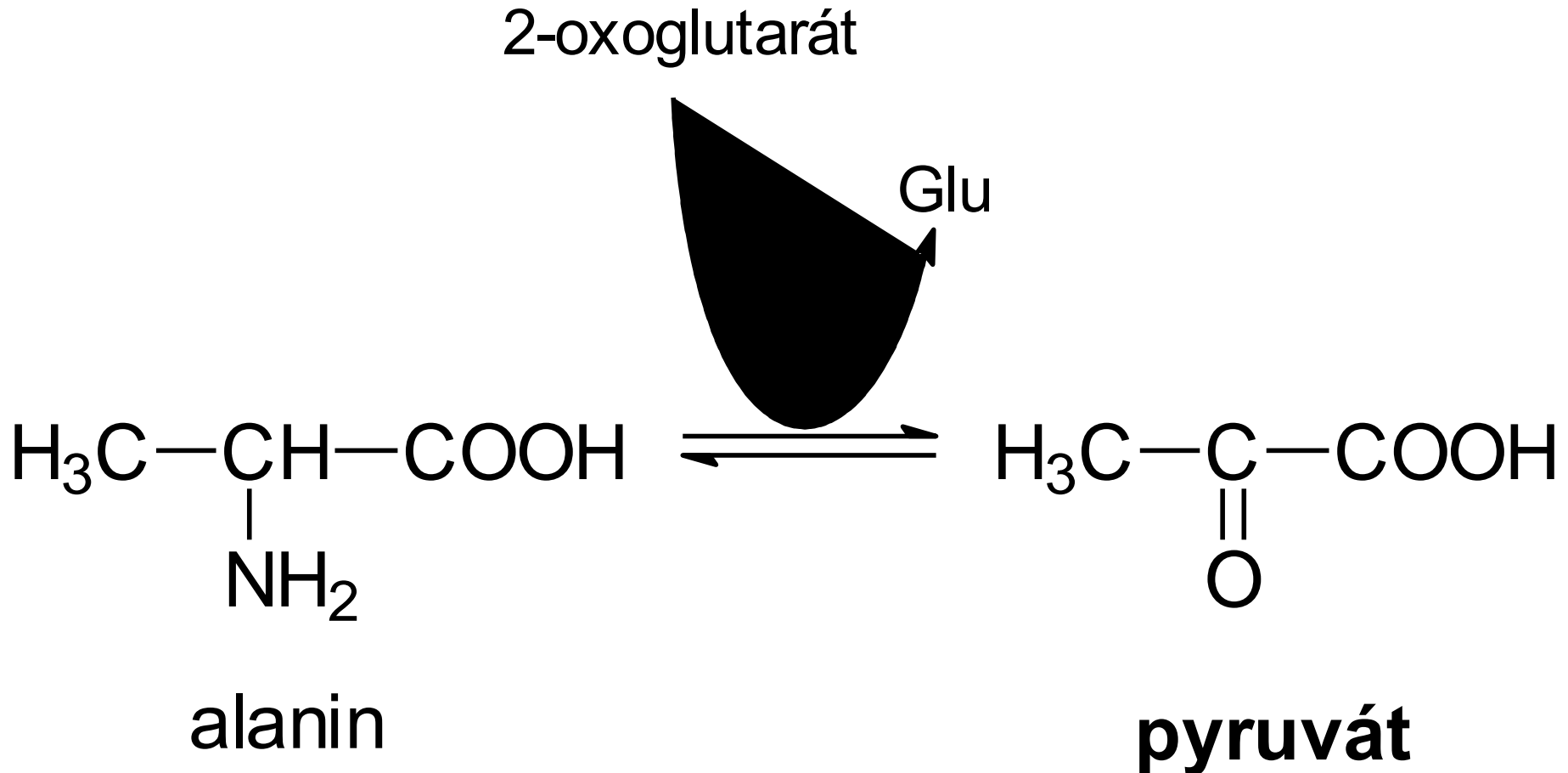


# Syntéza serinu z meziproduktu glykolýzy

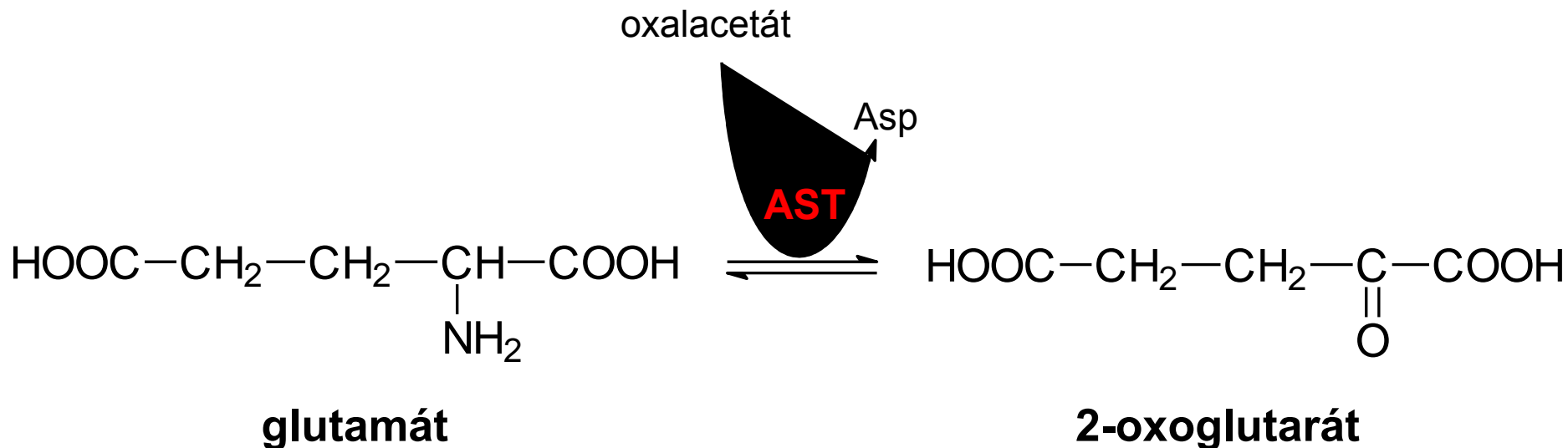


# Syntéza **alaninu** z pyruvátu a glutamátu

(ALT reakce v opačném směru)

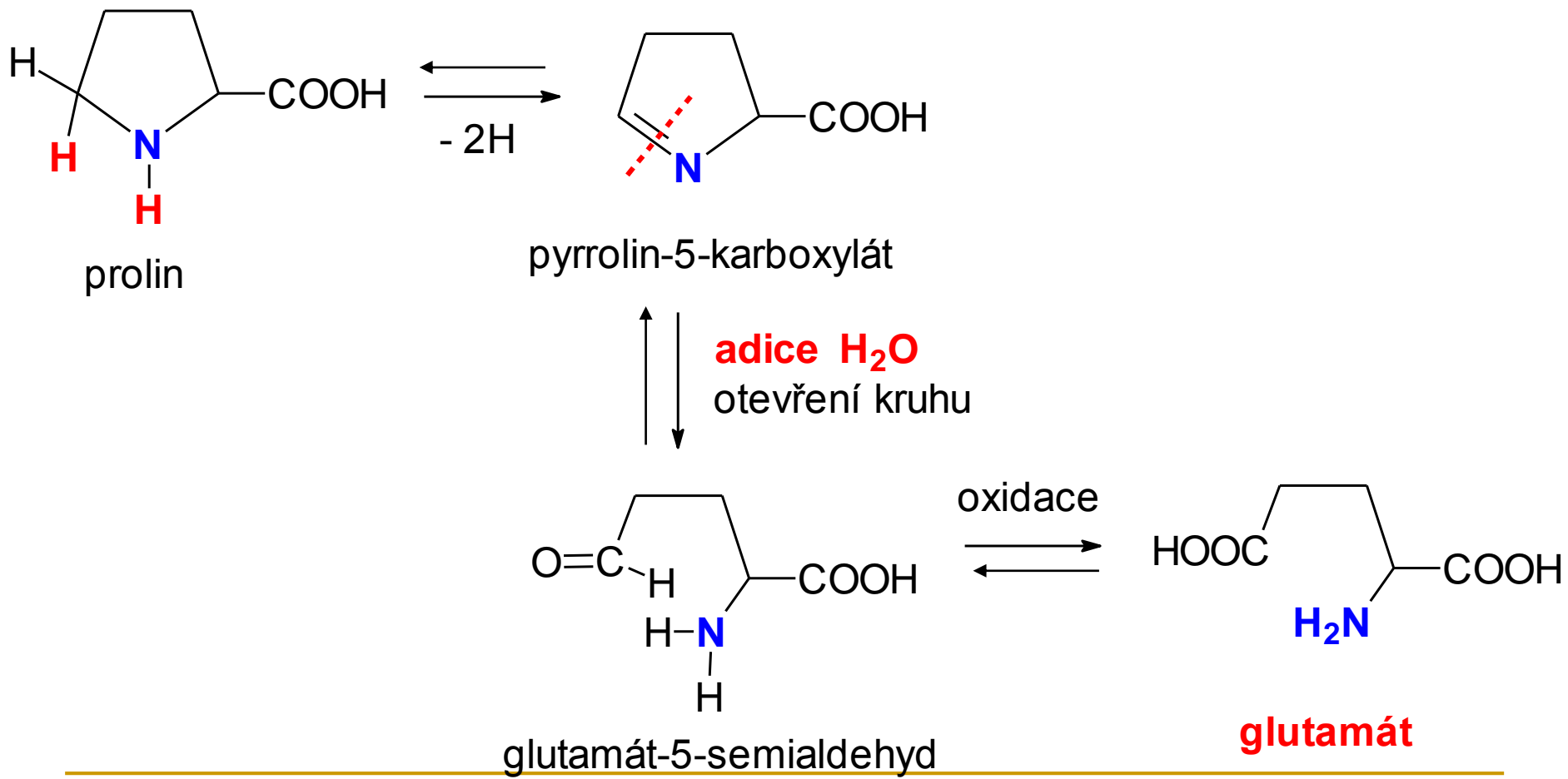


# Syntéza **aspartátu** z oxalacetátu a glutamátu (AST reakce v opačném směru)

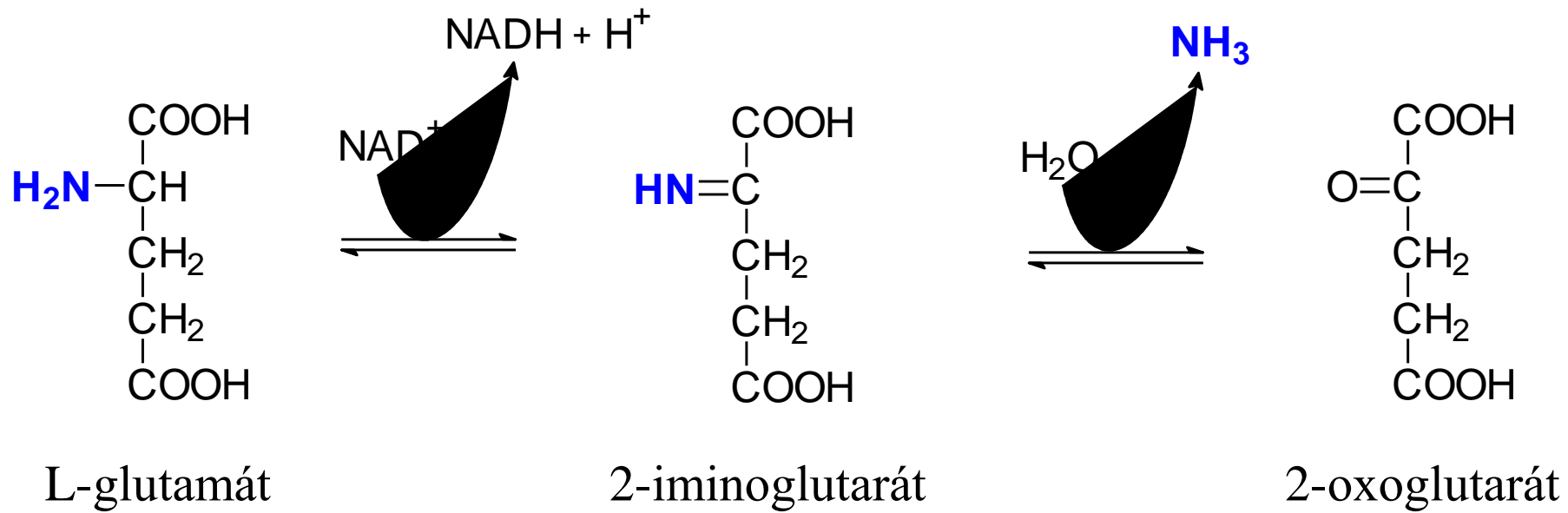


AST reakce takto produkuje aspartát pro syntézu močoviny

# Syntéza **prolinu** je opakem jeho katabolismu

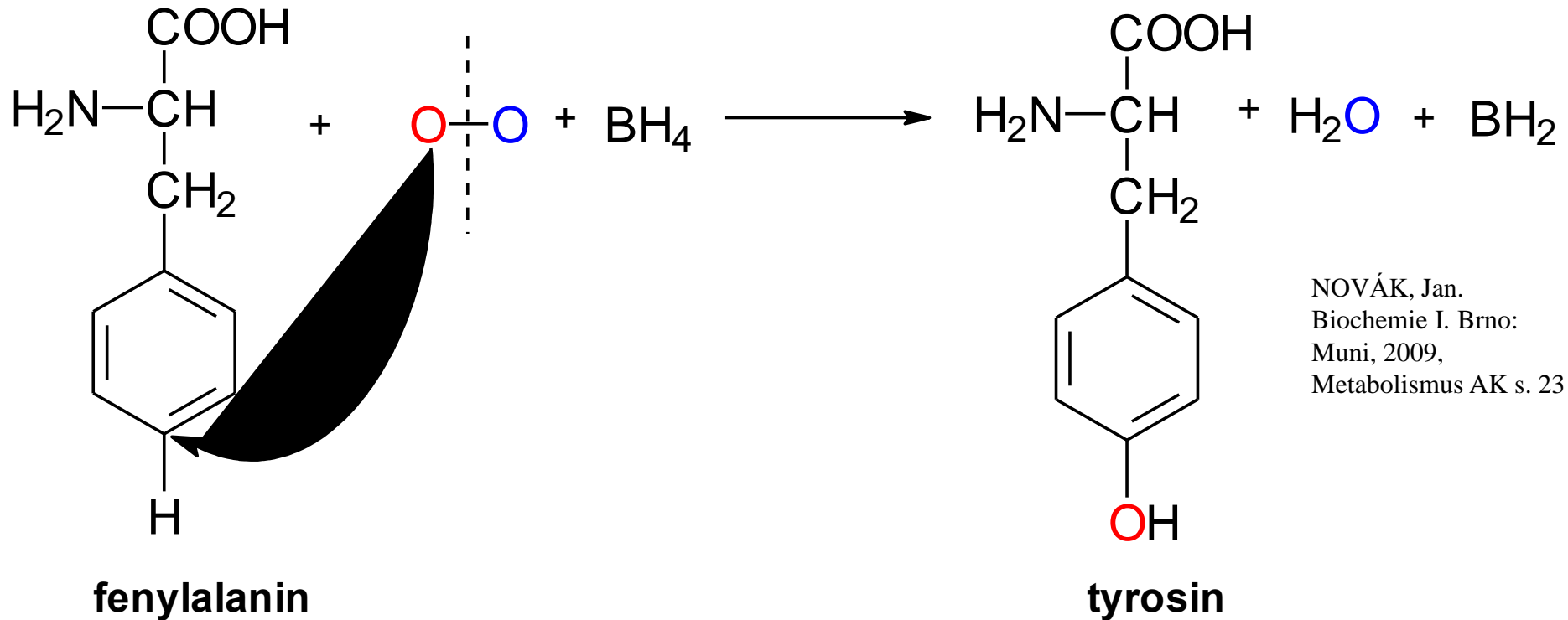


**Glutamát vzniká redukční aminací 2-oxoglutarátu (GMD reakce v opačném směru)**



glutamátdehydrogenáza, mitochondriální enzym, aktivita v séru se někdy stanovuje v klinické biochemii při vyšetřování jater (obdobný význam jako AST – zvyšuje se při nekróze hepatocytů)

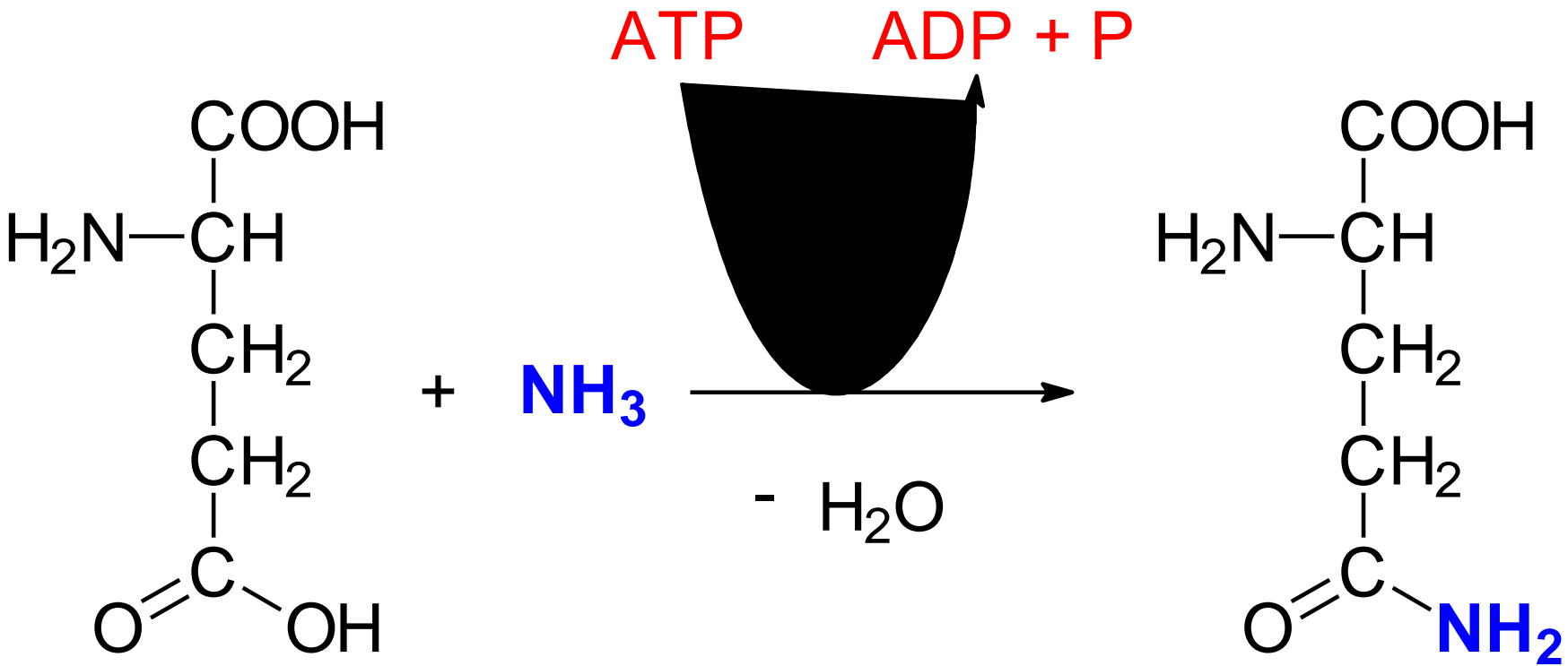
# Hydroxylací esenciálního fenylalaninu vzniká neesenciální tyrosin



NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK s. 23

Kofaktor tetrahydrobiopterin ( $\text{BH}_4$ ) je donorem dvou atomů H na vznik vody

# Glutamin vzniká z glutamátu a amoniaku



**glutamát**

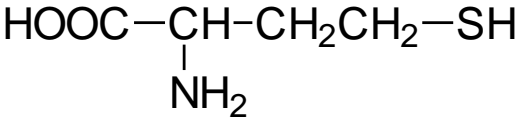
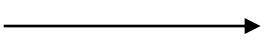
**glutamin**

Analogicky vzniká asparagin z aspartátu

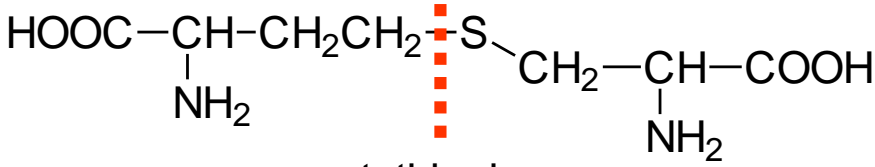


# Cystein vzniká odbouráním methioninu

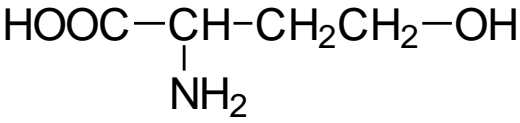
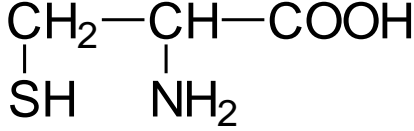
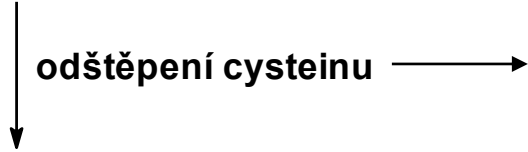
methionin



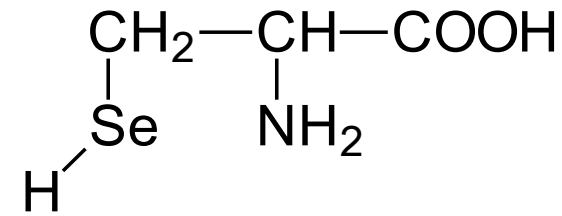
homocystein



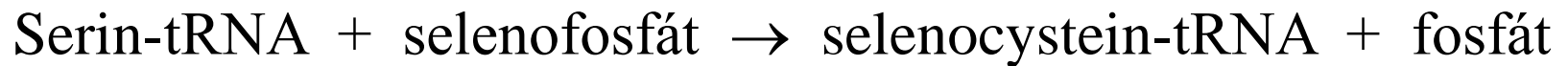
cystathionin



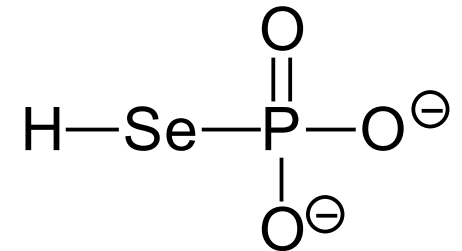
homoserin



## Selenocystein vzniká kotranslačně ze serinu a selenofostátu



Selenofosfát vzniká ze selenidu (z potravy) a ATP



**Glutathionperoxidasa** ( $2 \text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{G-S-S-G}$ )

**Dejodasa thyroninu** (thyroxin T4  $\rightarrow$  trijodothyronin T3)

**Thioredoxin reduktasa** (ribosa  $\rightarrow$  deoxyribosa)

---

# Přeměny uhlíkatého skeletu aminokyselin

---

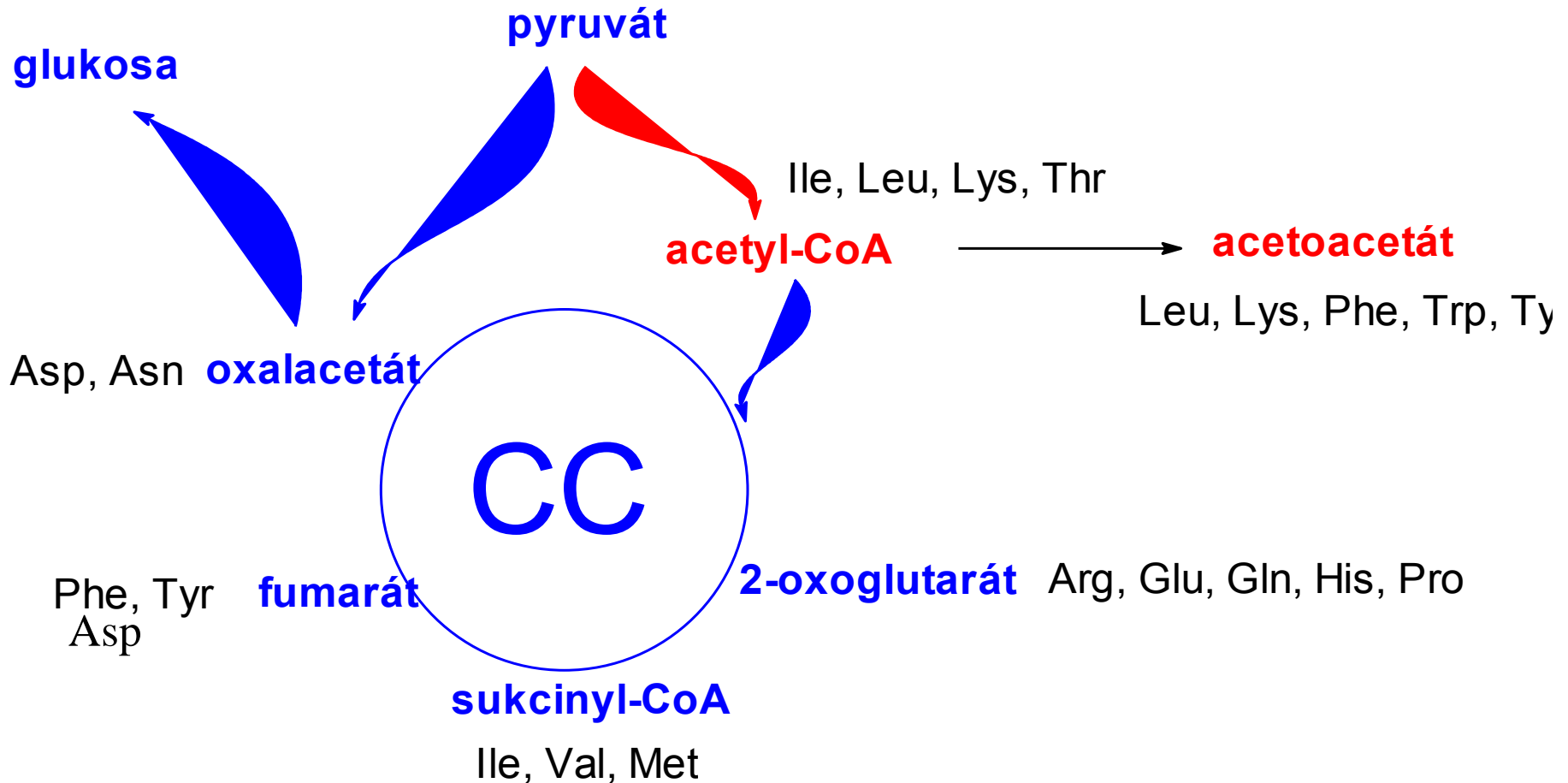
# Rozdělení aminokyselin podle katabolismu

- **Glukogenní** - většina (13), poskytují pyruvát nebo meziprodukty citrátového cyklu
- **Ketogenní** - pouze Leu, (Lys) vzniká acetyl-CoA a acetacetát
- **Smíšené** (Thr, Ile, Phe, Tyr, Trp), meziprodukty CC, pyruvát, acetylcoA, acetoacetat

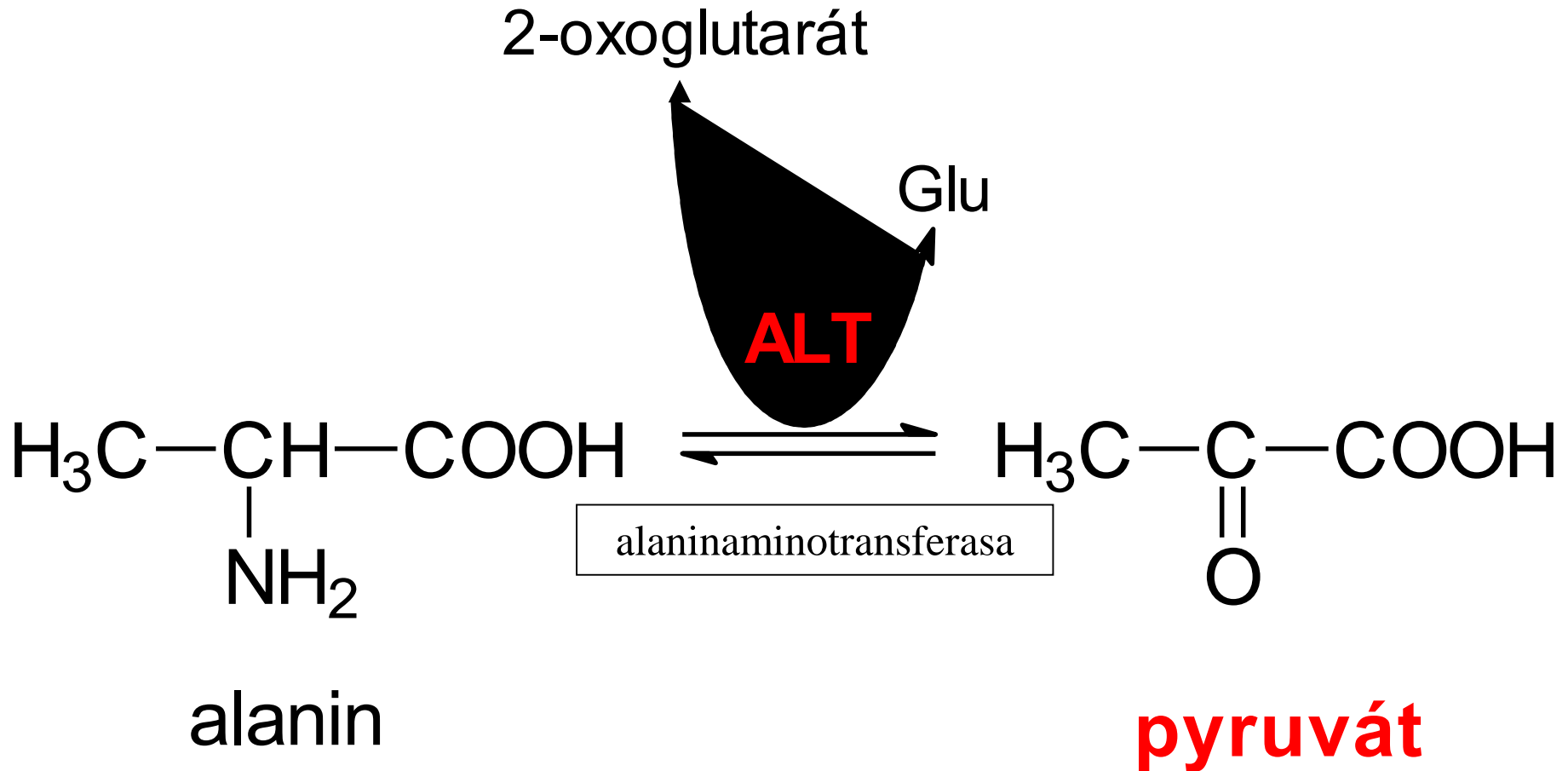
**LIFT**

# Meziprodukty katabolismu aminokyselin

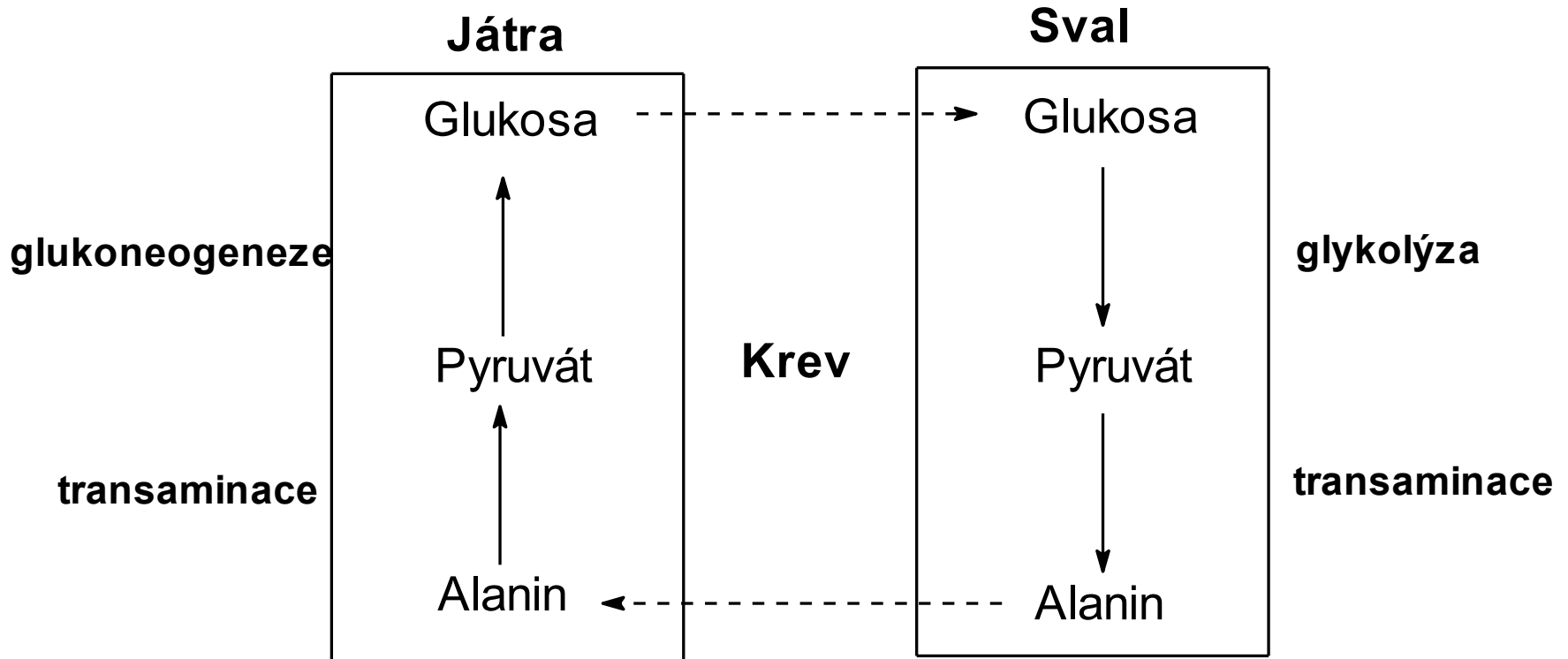
Ser, Gly, Thr, Ala, Cys, Trp



# Transaminace alaninu



## Glukoso-alaninový cyklus



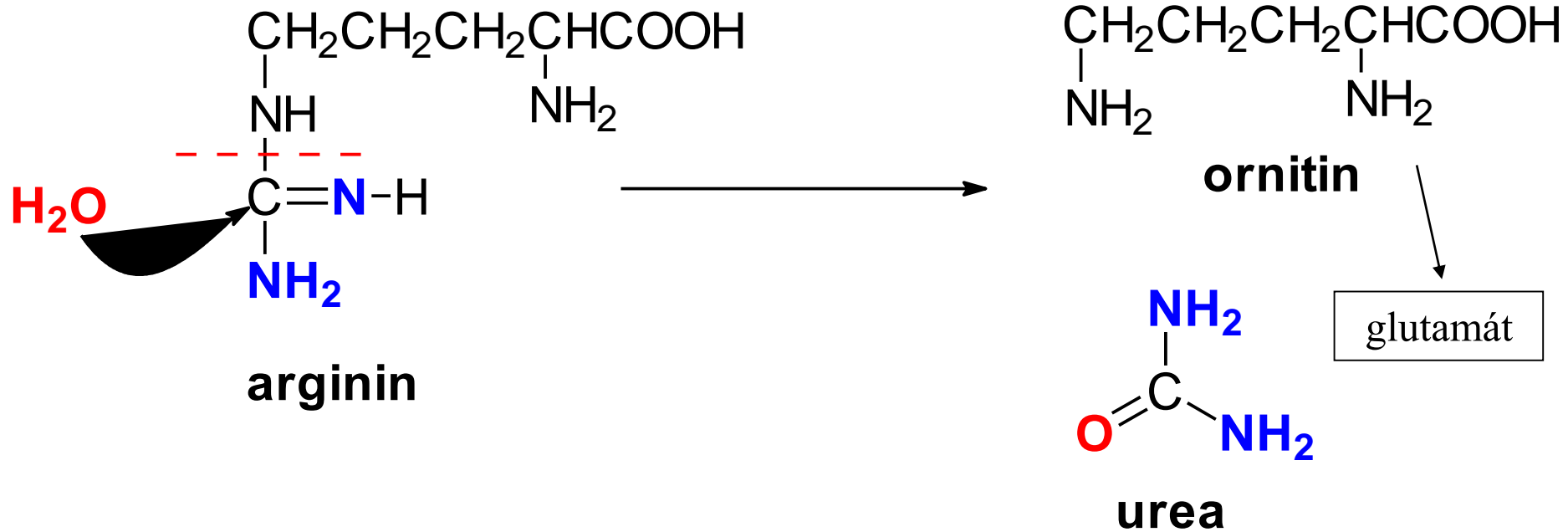
- alanin lze považovat za transportní formu dusíku uvolňovanou ze svalu do cirkulace
- v játrech je alanin substrátem glukoneogeneze

## Alanin - shrnutí

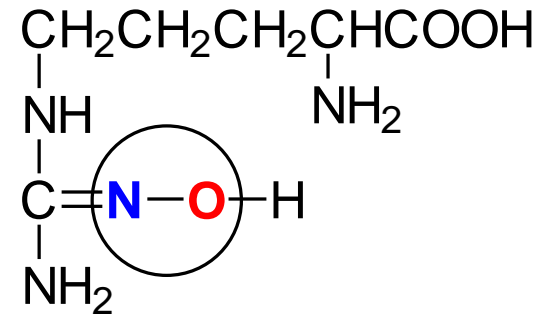
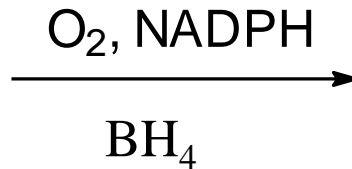
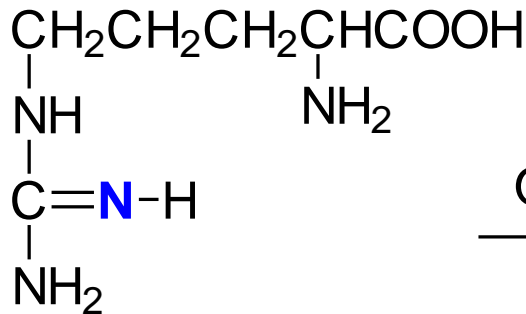
- snadno vzniká **transaminací z pyruvátu**
- **ALT je klinicky významný enzym**, nejvíce zastoupen v játrech, zvýšená kat. konc. v séru - indikátor hepatopatií
- do cirkulace je alanin uvolňován hlavně svalovou tkání
- **druhá** nejvíce zastoupená AK v krvi (v postresorpční fázi)
- podmíněně esenciální AK (při metabolickém stresu) – významný **substrát pro glukoneogenezi** v játrech



## Hydrolýza argininu poskytuje močovinu



## Vznik oxidu dusnatého z argininu



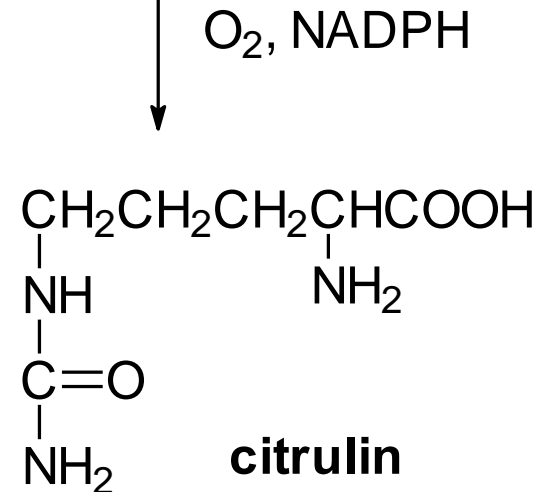
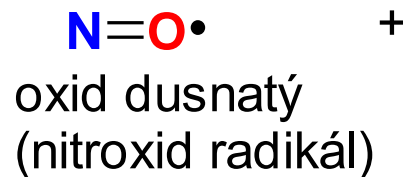
NO sythasa

N-hydroxyarginin

Signální molekula-  
vasodilatační efekt

### Exogenní zdroje NO

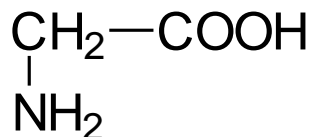
- glycerol-trinitrát
- isosorbid-dinitrát
- amyl-nitrit
- isobutyl-nitrit
- nitroprusid sodný



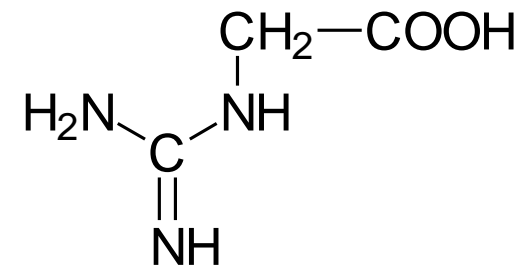
NOVÁK, Jan.  
Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009,  
Metabolismus AK s.  
28, 29

## Syntéza kreatinu (1. část)

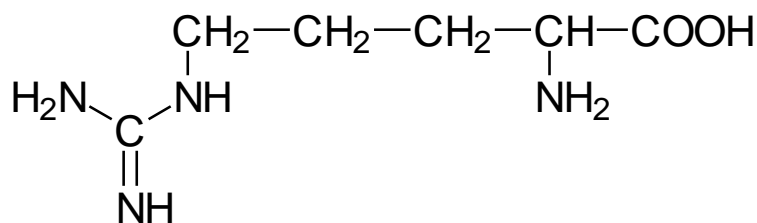
z řec. κρέας (maso)



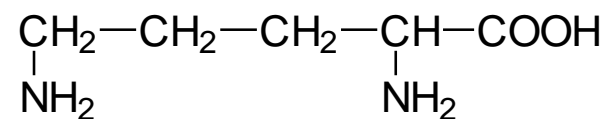
Kreatin slouží jako makroergická sloučenina, zásobující velmi rychlou energií především svalovou tkáň, kde je potřeba v krátké době vynaložit poměrně velké množství ATP. Kreatin se v klidovém období **fosforyluje** účinkem ATP na **kreatinfosfát**, který se ukládá a když je nárazově potřeba hodně ATP, je možné pomocí kreatinfosfátu zpětně vyrábět ATP fosforylací ADP za současné spotřeby kreatinfosfátu na kreatin.



guanidinacetát



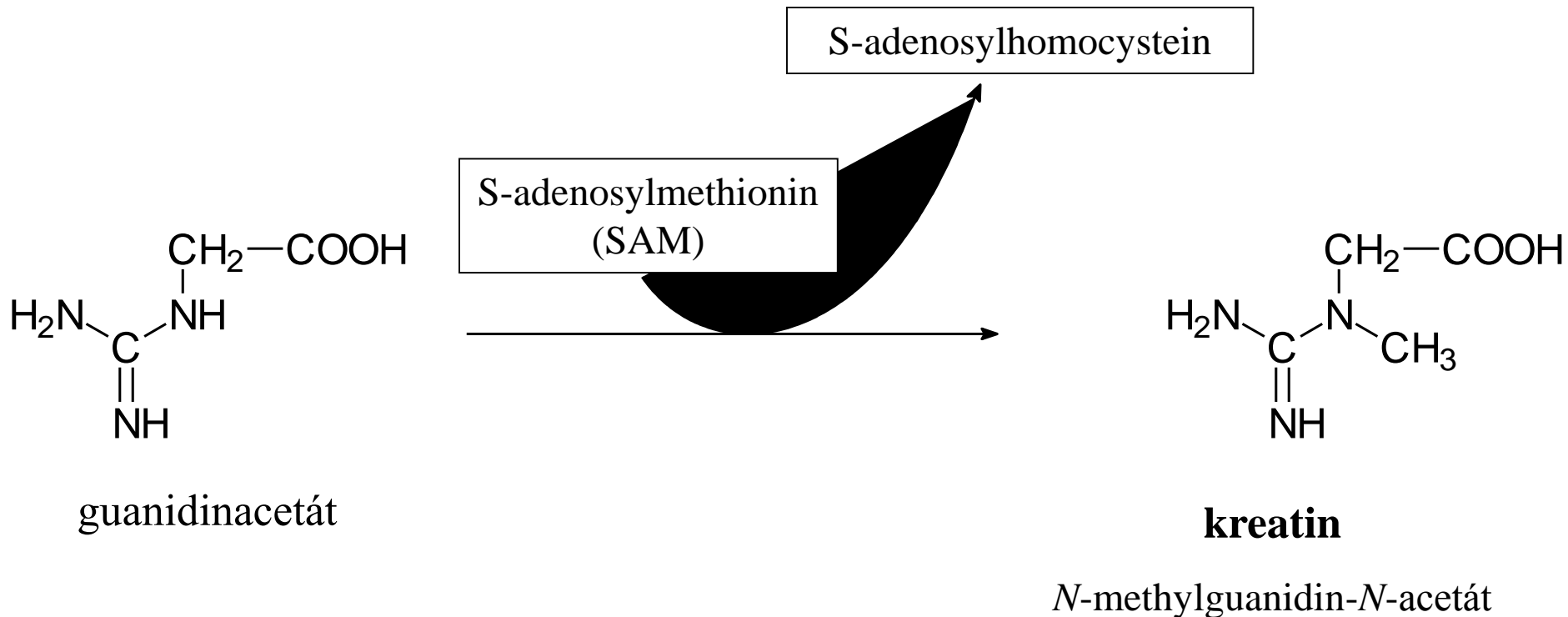
arginin



ornithin

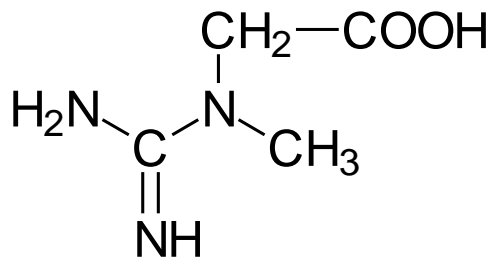
## Syntéza kreatinu (2. část)

N<sup>1</sup>-methylace guanidinacetátu

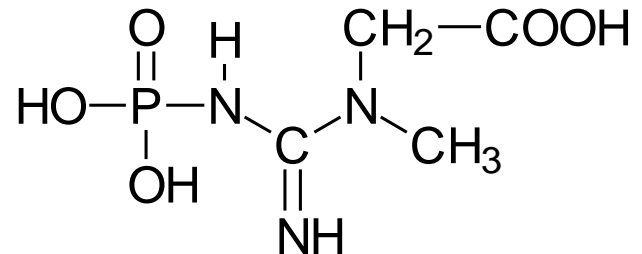
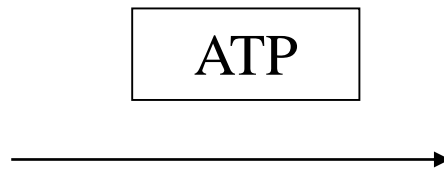


## N<sup>2</sup>-Fosforylace kreatinu

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



kreatin

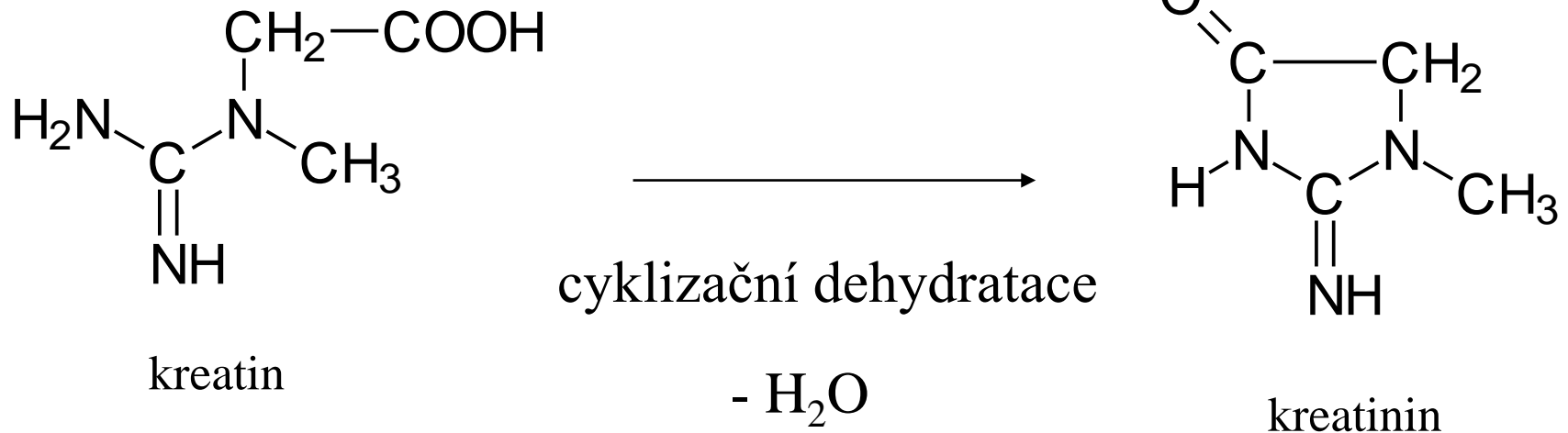


kreatinfosfát

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).

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

## Vznik kreatininu

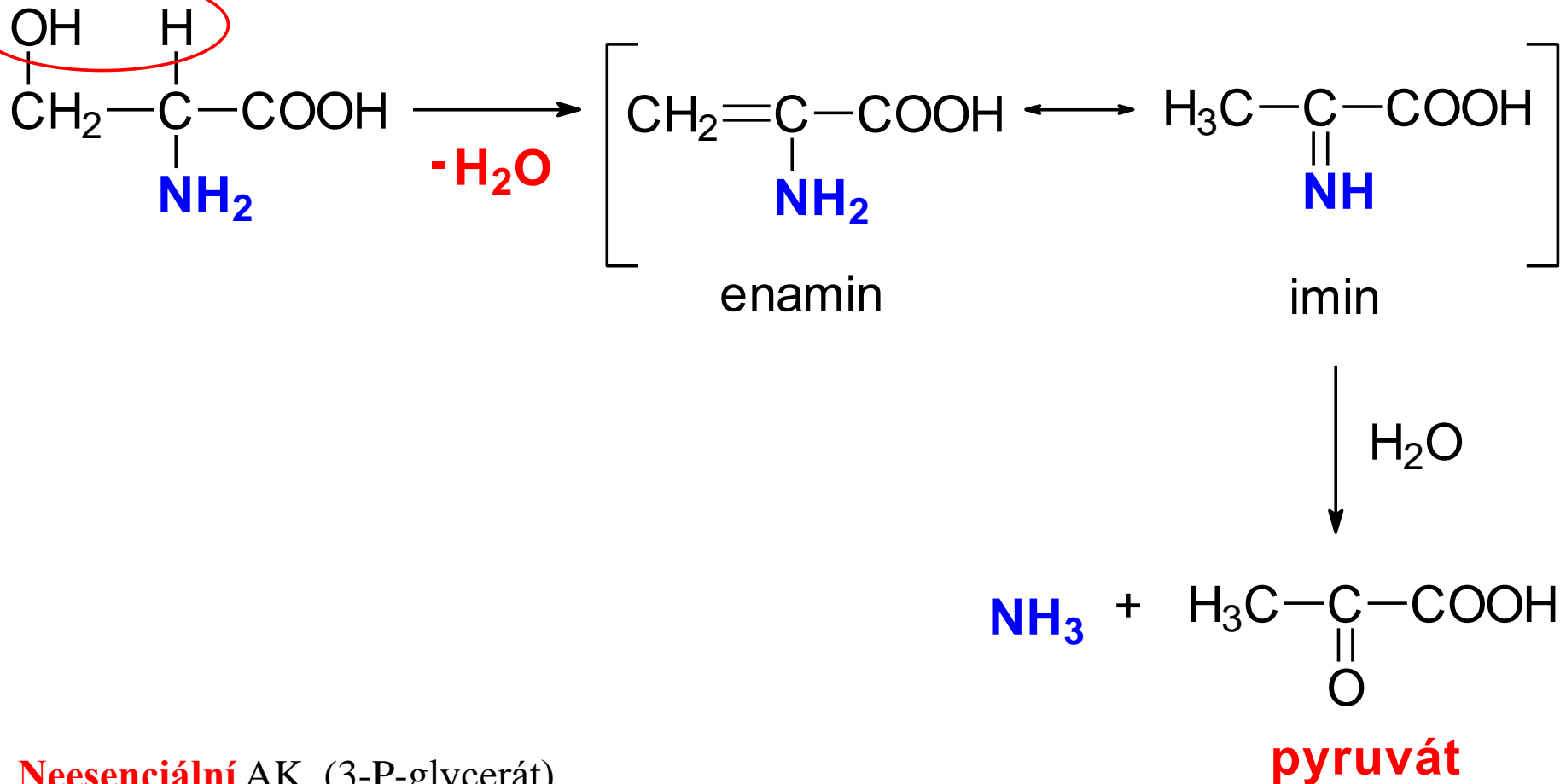


## Arginin - shrnutí

- podmíněně esenciální (v době růstu)
- nejbazičtější AK (guanidin)
- není transaminace, uvolňuje ornithin + močovinu
- z Arg, Gly, Met vzniká kreatin
- uvolňuje NO (vazodilatant)
- volně prodejné přípravky

Podpurný účinek **kreatinfosfátu** je podle zkušeností z medicíny mohutnější při podání co nejdříve po námaze a je závislý i na dávce. Pozitivní účinek se projevuje v regenerační fázi po výkonu i při odstraňování kyslíkového dluhu. Další jeho uplatnění je při první pomoci v terénu u stavů oběhového selhání, infarktu myokardu, mozkové cévní příhody a otřesu mozku. Nebyly pozorovány vedlejší účinky.

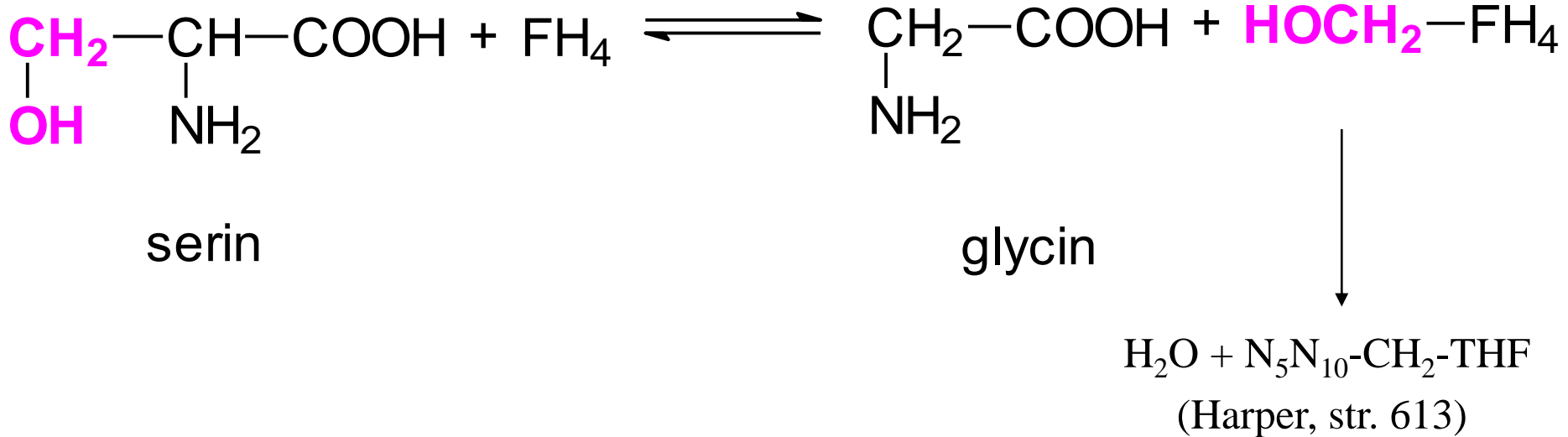
## Dehydratační deaminace serinu



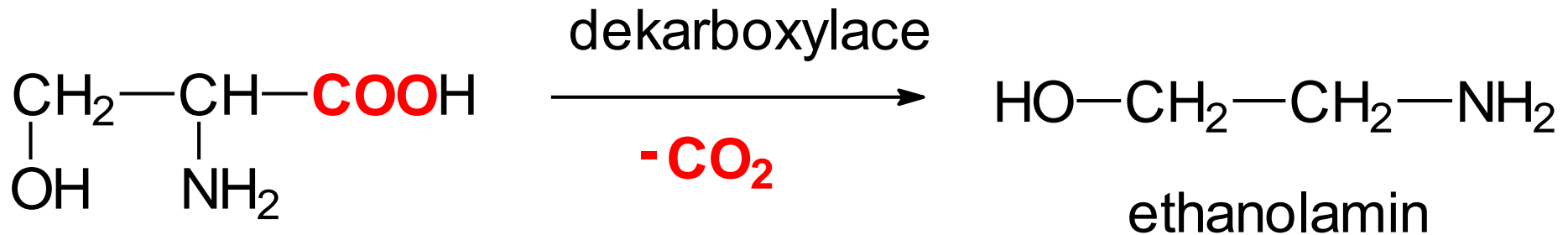
**Neesenciální** AK (3-P-glycerát)



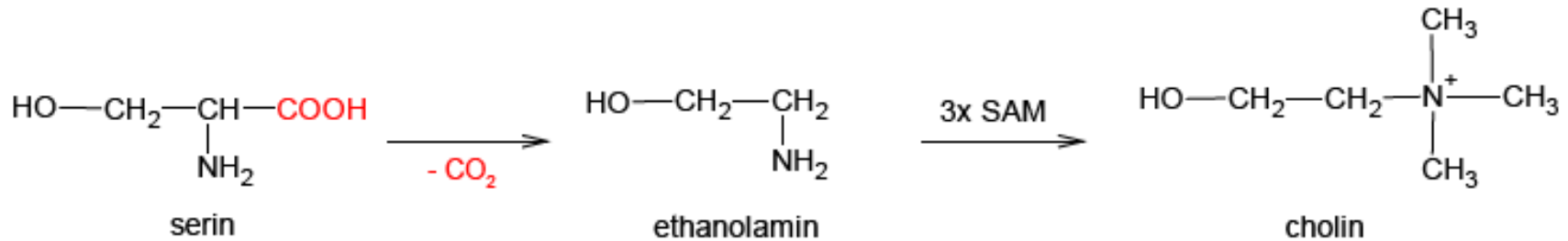
## Přeměna serinu na glycin



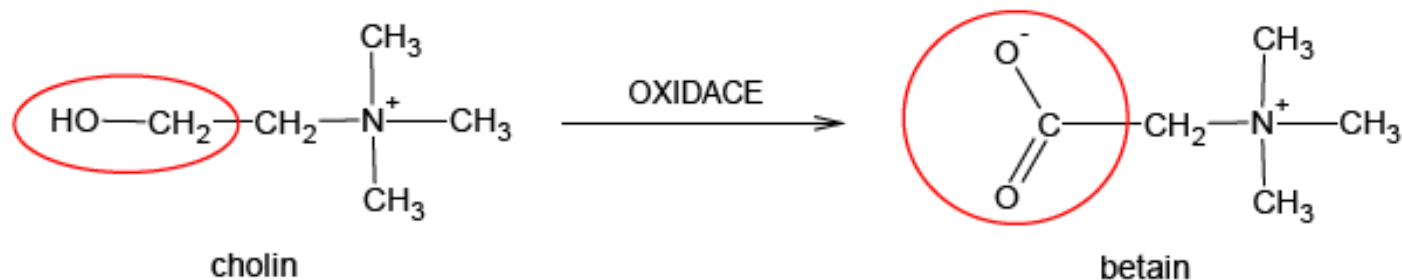
## Dekarboxylace



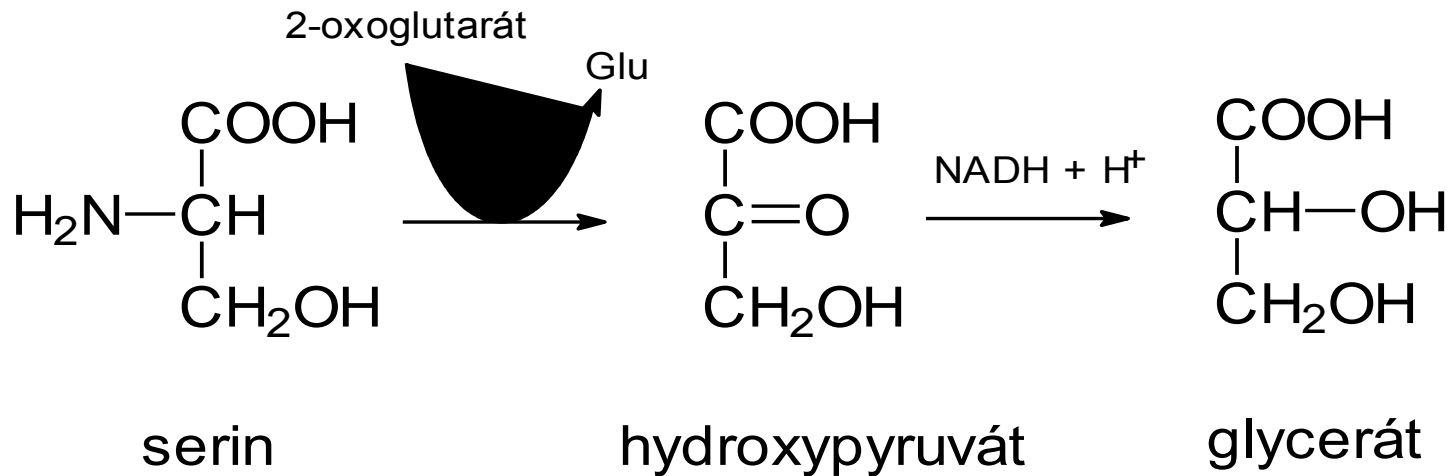
- 3) **Dekarboxylací serinu** vzniká **ethanolamin**, který může být dalšími reakcemi (**trojnásobná N-methylace**) přeměn až na cholin:



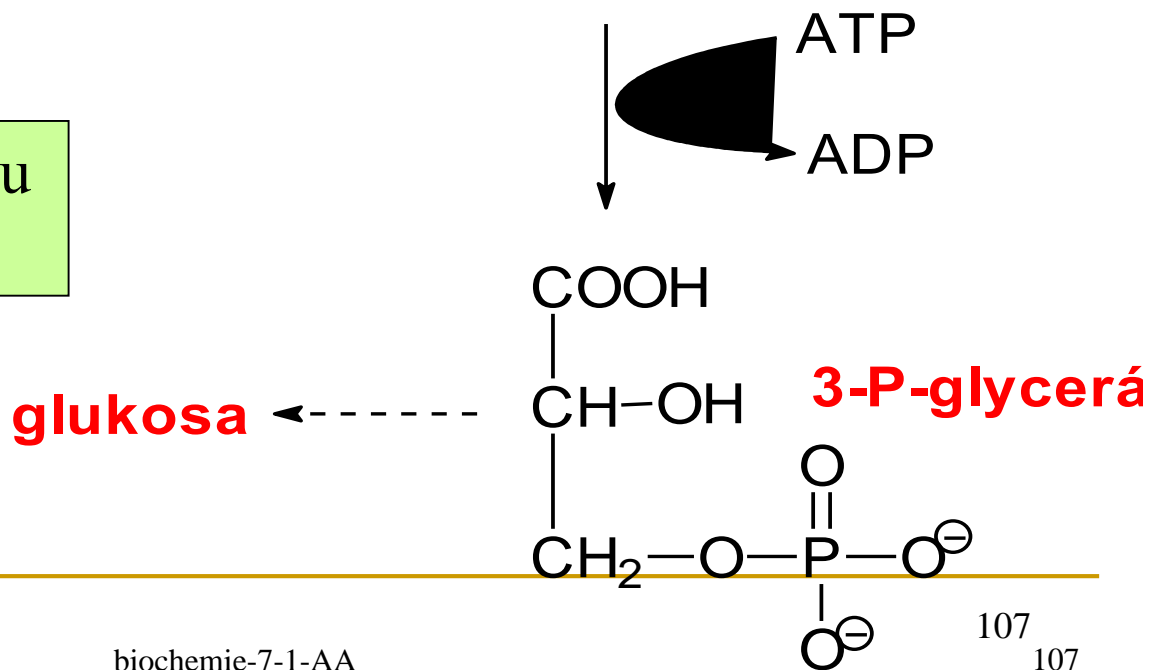
Následnou oxidací (dehydrogenací) cholinu vzniká **betain**. Betain je fyziologický amfiont (jeho molekula obsahuje záporný i kladný náboj) a může sloužit jako **alternativní metylační činidlo**:



## Transaminace serinu a přeměna na glukosu



význam v opačném směru  
– syntéza serinu



## Serin - shrnutí

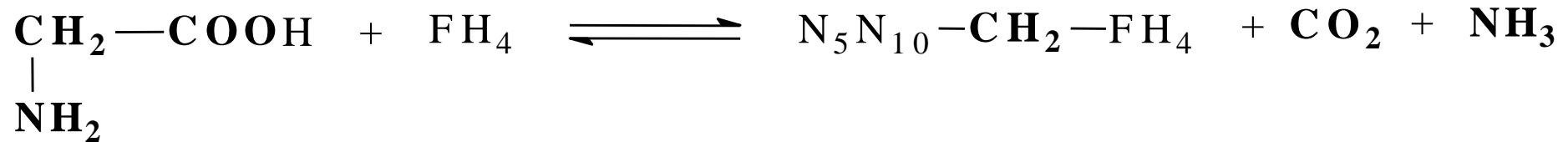
- Neesenciální, glukogenní AK
- Zdroj C1 fragmentů – na tetrahydrofolát
- Součást glycerofosfolipidů
- **Význam serinu v bílkovinách:**

Časté místo fosforylací

Vazba sacharidů *O*-glykosidovou vazbou

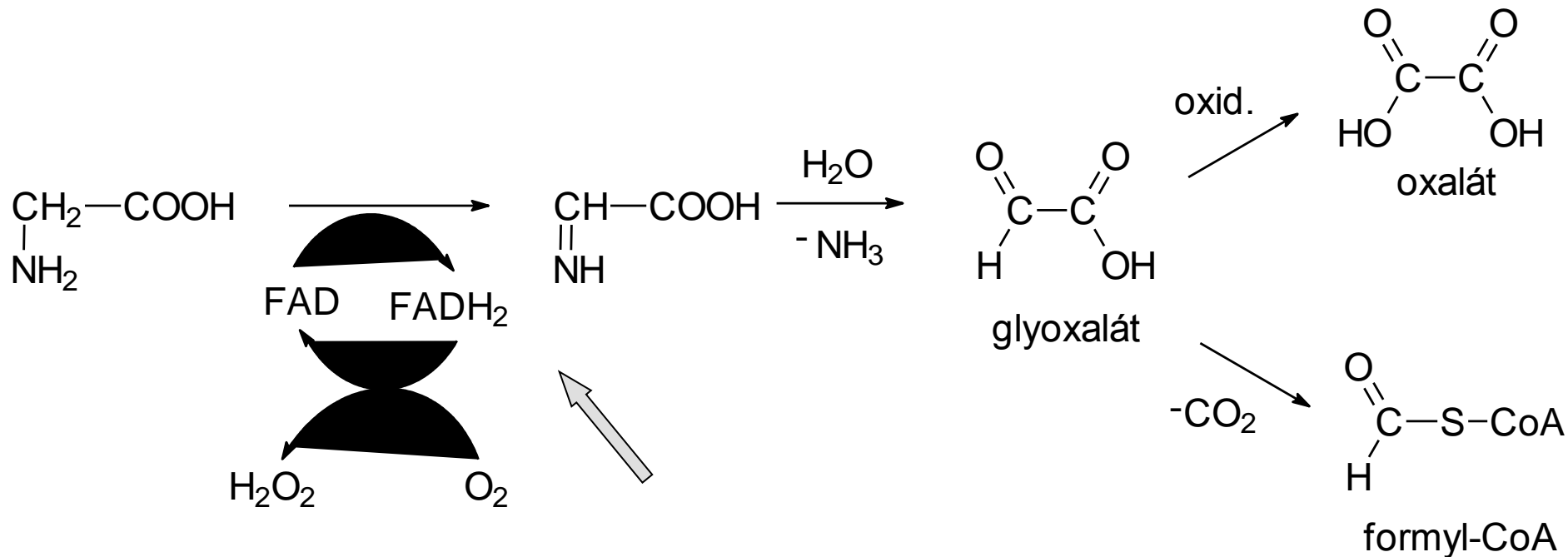
Časté místo štěpení (serinové proteasy) (Pepsin, trypsin)

## Kompletní rozštěpení glycinu



Jednouhlíkatý fragment je přenesen na tetrahydrofolát

## Aerobní deaminace glycinu a vedlejší dráhy



oxalát, který může reagovat s **vápennými ionty** za vzniku **šťavelanových kamenů** (kalcium-oxalát). 60% oxalátu v našem těle vzniká právě touto cestou (další zdroje této látky jsou **katabolismus kyseliny askorbové** (30%) a **příjem oxalátu z potravy** (10%) jako je špenát, reveň, mangold, čaj či kakao). **Gramové dávky vitaminu C škodí.**

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

## Glycin - shrnutí

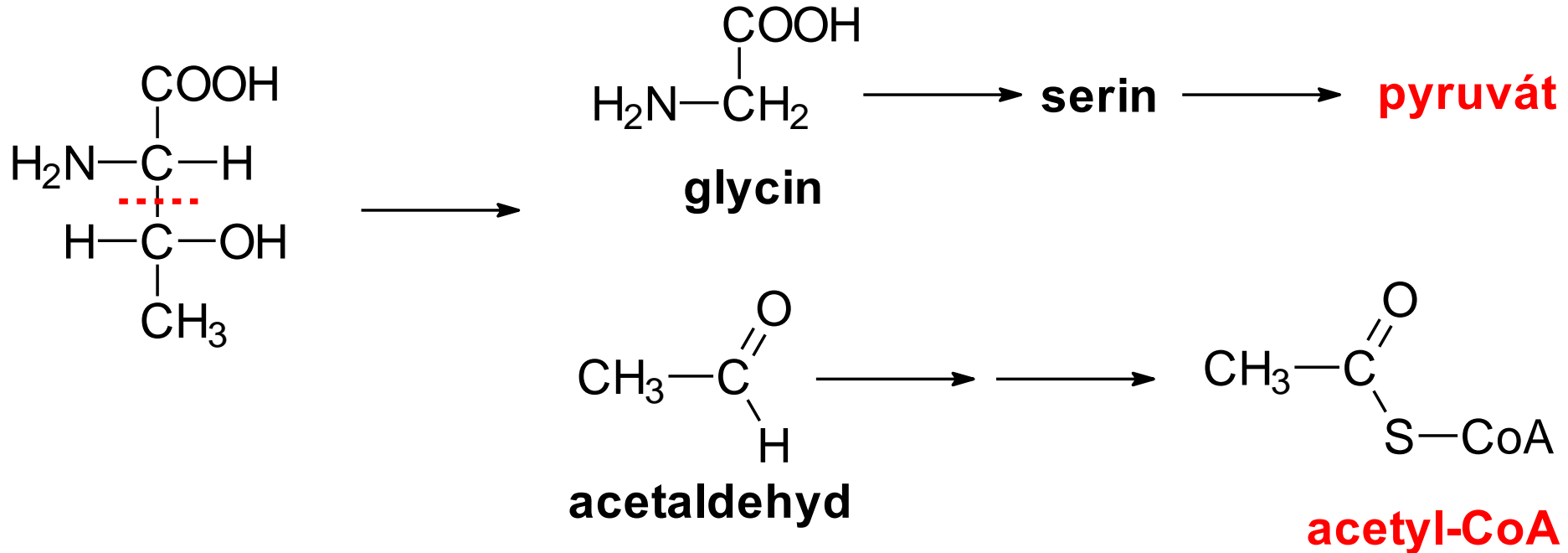
### Katabolismus

- kompletní oxidace na  $\text{CO}_2 + \text{NH}_3$
- aerobní deaminace na oxalát

### Anabolické přeměny

- donor C1 fragmentů
- serin
- Porfyriny -hem
- purinové báze
- kreatin
- glutathion
- konjugace žluč. k., xenob.

## Štěpení threoninu na glycin a acetaldehyd

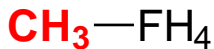
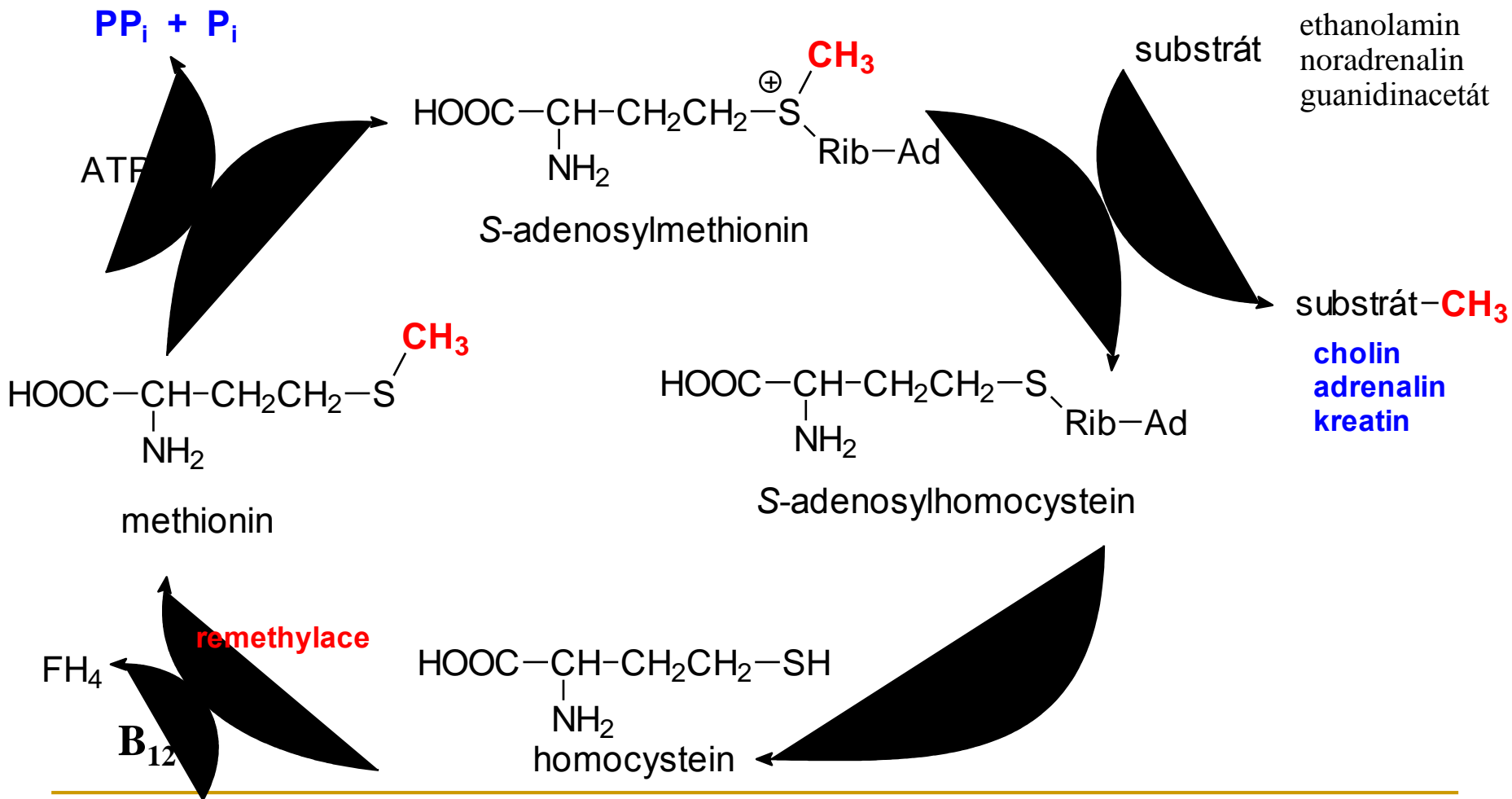


- esenciální AK, 2 asym. C
- časté místo fosforylace a glykosylace v bílkovinách



# Methionin

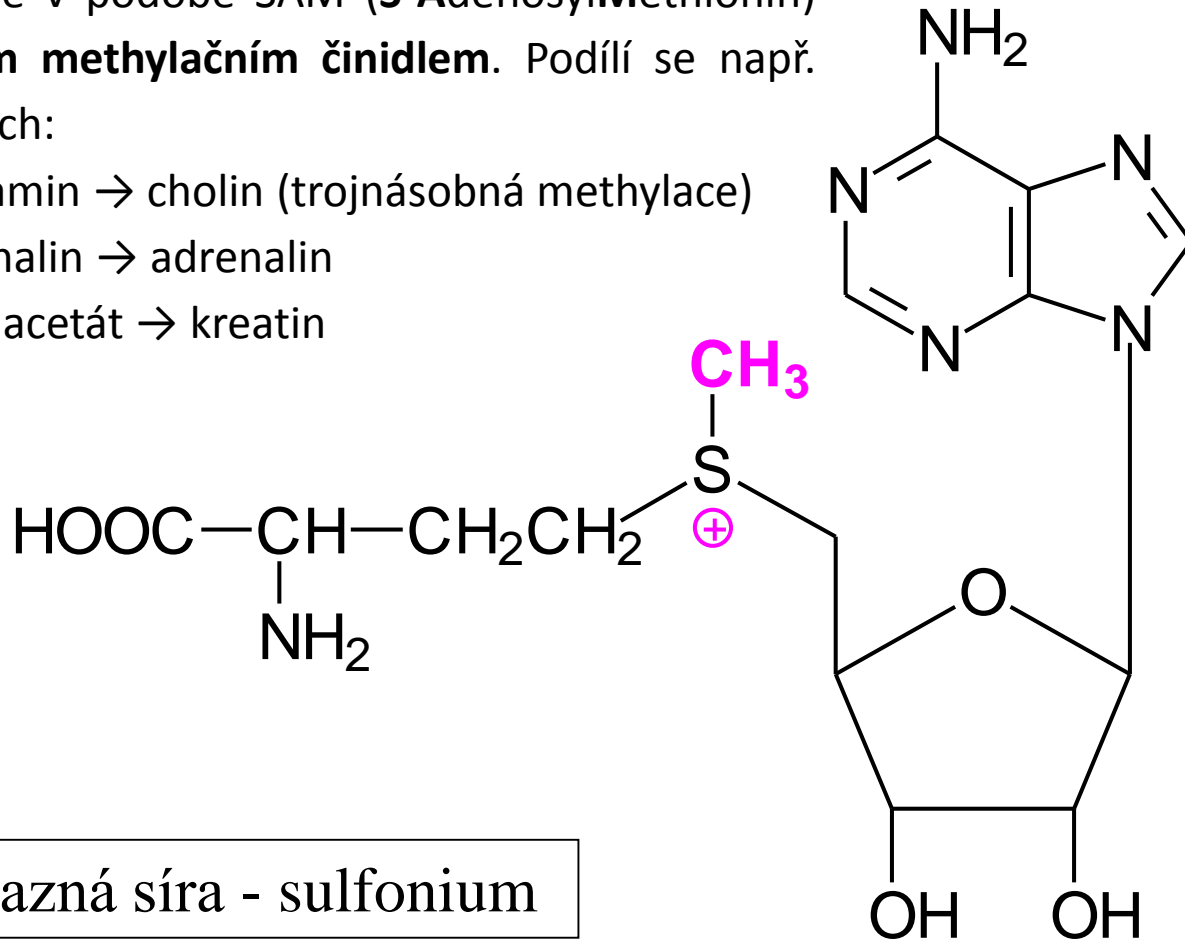
## Methionin jako methylační činidlo



## S-Adenosylmethionin (SAM)

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

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



trojvazná síra - sulfonium

# Methionin

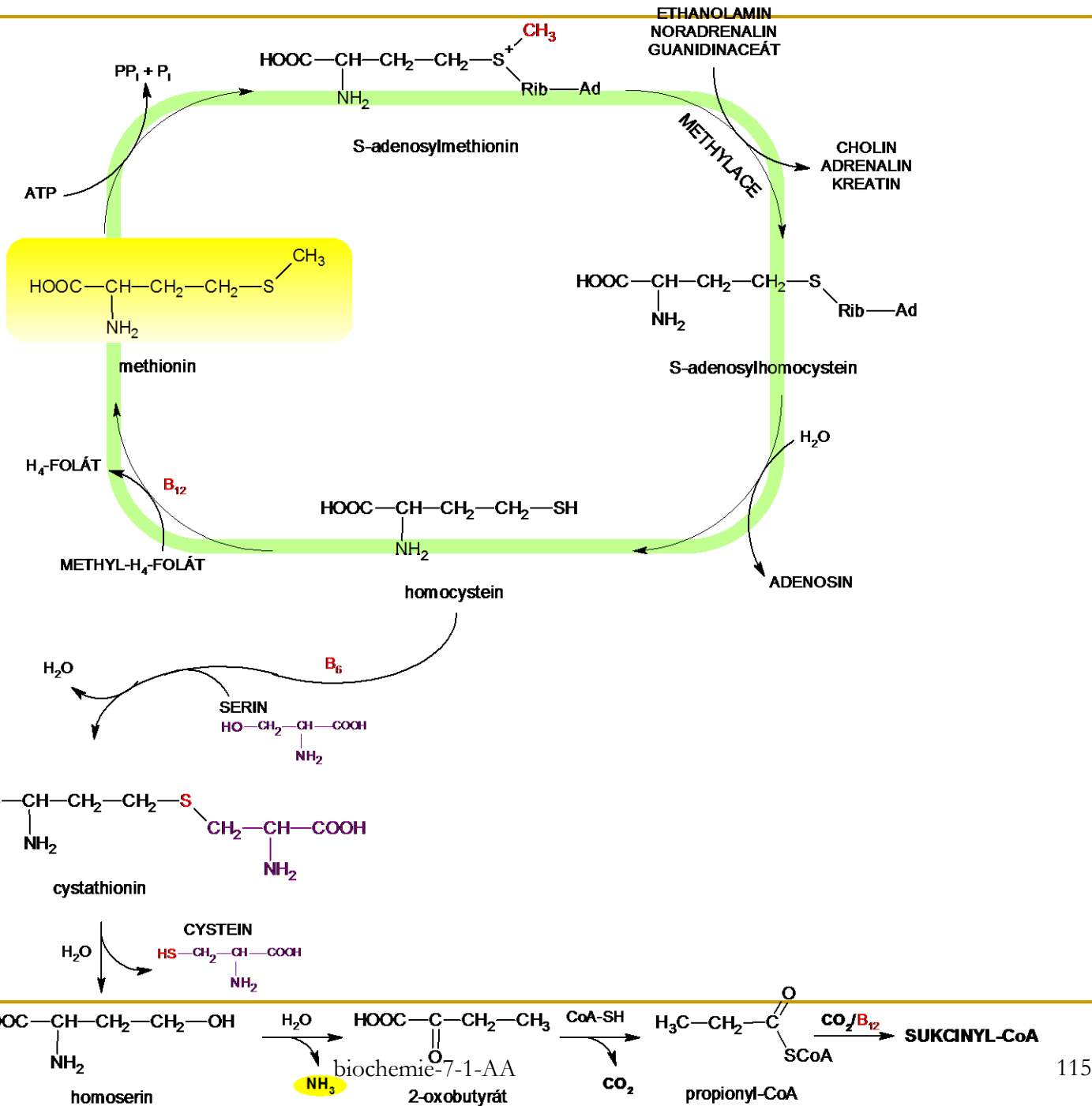
Po té, co předá methylovou skupinu, vzniká ze SAM látka zvaná S-adenosylhomocystein, který se hydrolyticky štěpí na adenosin a homocystein.

**Homocystein** může přijmout methylovou skupinou od methyl-

**tetrahydrofolátu ( $\text{CH}_3\text{-FH}_4$ )** a

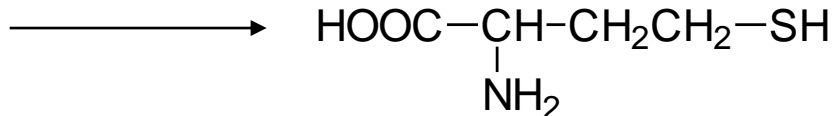
regenerovat se na methionin, který reakcí s ATP

vytvoří původní SAM



## Odbouráním homocysteinu vzniká cystein

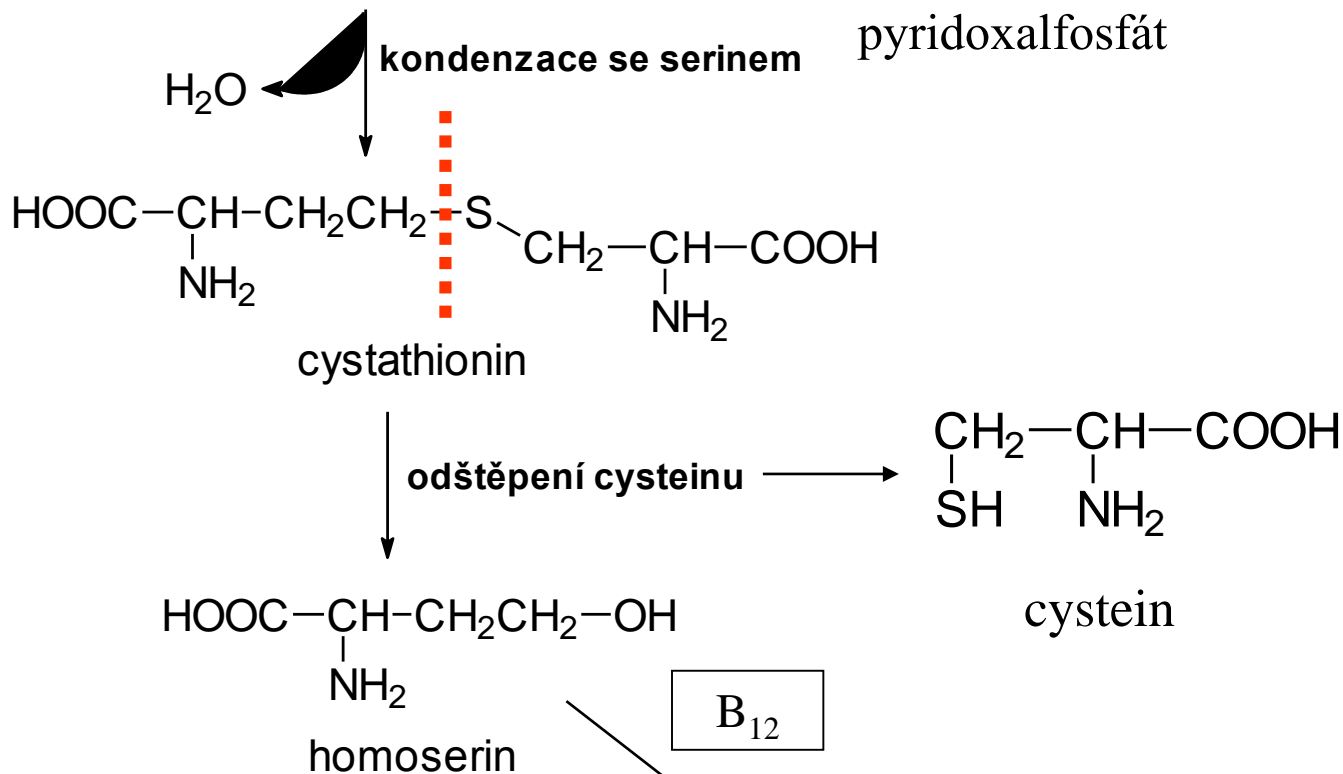
methionin



homocystein

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



sukcinyl-CoA

# Methionin - shrnutí

- esenciální AK, v potravě velmi málo
- methylační činidlo (SAM)
- přeměňuje se na cystein (proto Cys není esenciální)
- C-kostra cysteinu pochází ze serinu, síra z methioninu
- konečný produkt sukcinyl-CoA (glukogenní)

## Význam homocysteinu

- marker kardiovaskulárních onemocnění ?
- zvýšená koncentrace homocysteinu v krvi je rizikovým faktorem aterosklerózy nezávislým na cholesterolu
- normální koncentrace homocysteinu v plazmě: do 12  $\mu\text{mol/l}$

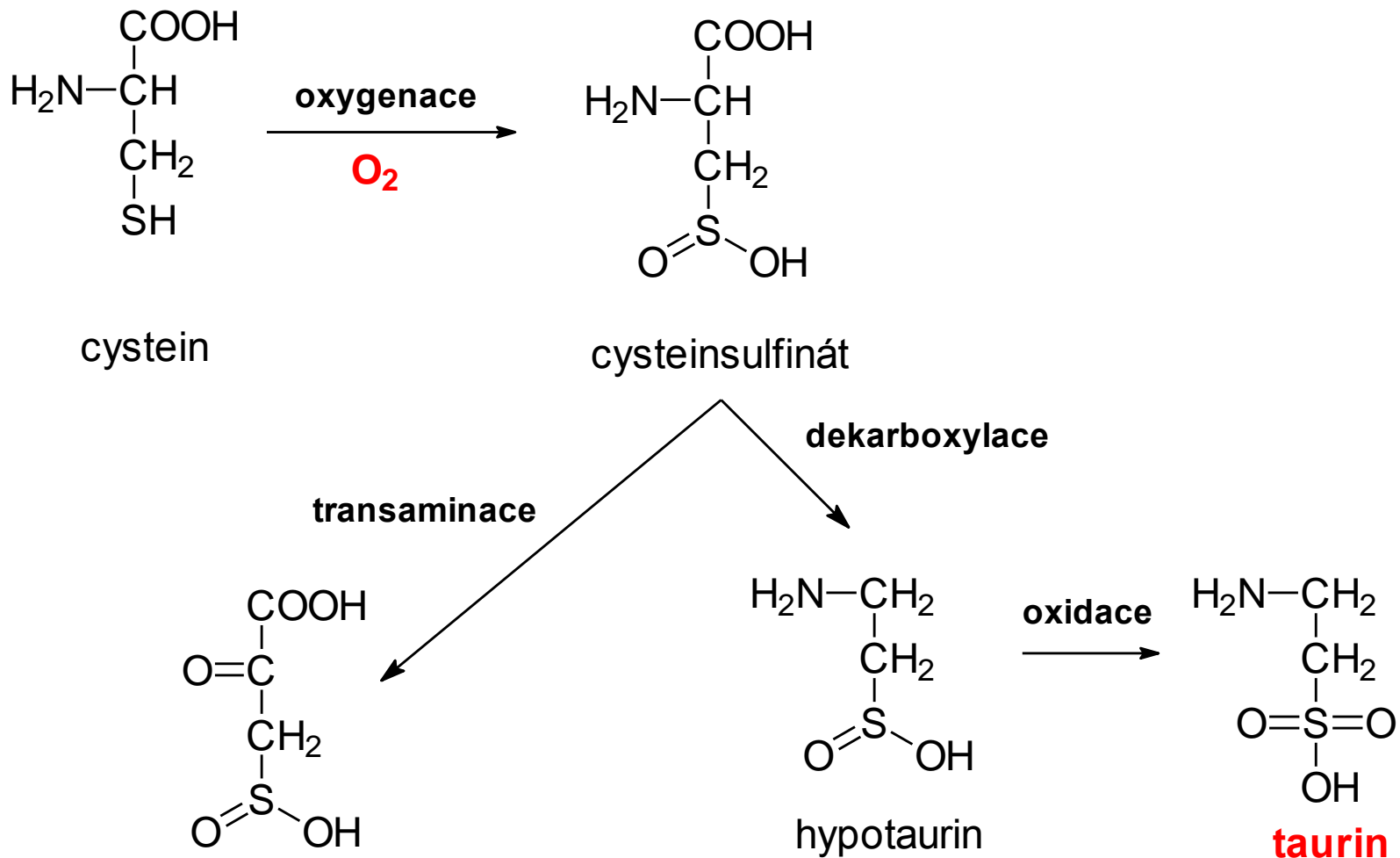
## Proč je homocystein škodlivý?

- mechanismus účinku není dosud úplně objasněn
- přímé působení na cévní stěnu – poškození epitelu
- zkracuje životnost trombocytů
- snižuje fibrinolýzu
- podporuje vznik kyslíkových radikálů – poškození cévní stěny
- zvyšuje lipoperoxidaci LDL

K odstranění (přeměně) homocysteinu jsou třeba tři vitaminy:

**kys. listová, kobalamin, pyridoxin**

## Oxygenace -SH skupiny

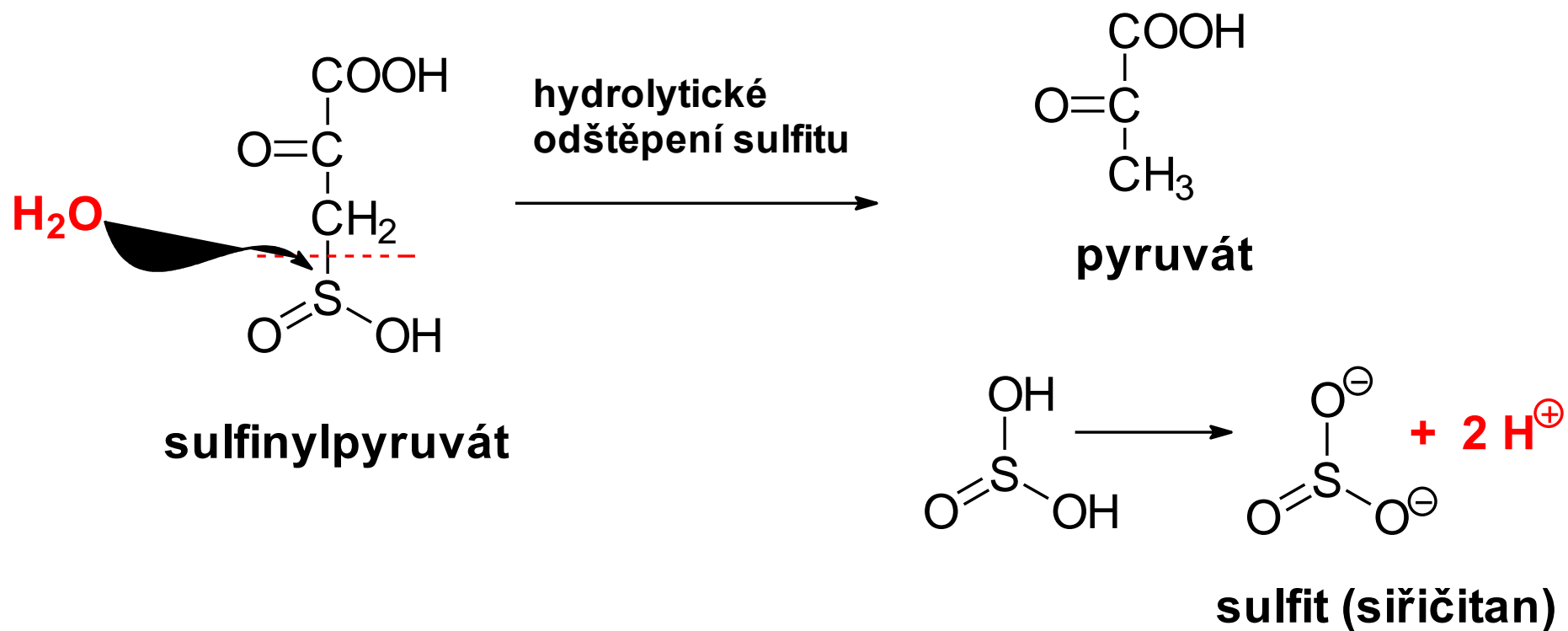


**sulfinylpyruvát**

NOVÁK, Jan. Biochemie I. Brno:  
Muni, 2009, Metabolismus AK s. 33



# Odštěpení sulfitu



za fyziol. pH disociace do 1. stupně:  $\text{HSO}_3^-$

## Sulfitoxidasa katalyzuje vznik sulfátů

cystein



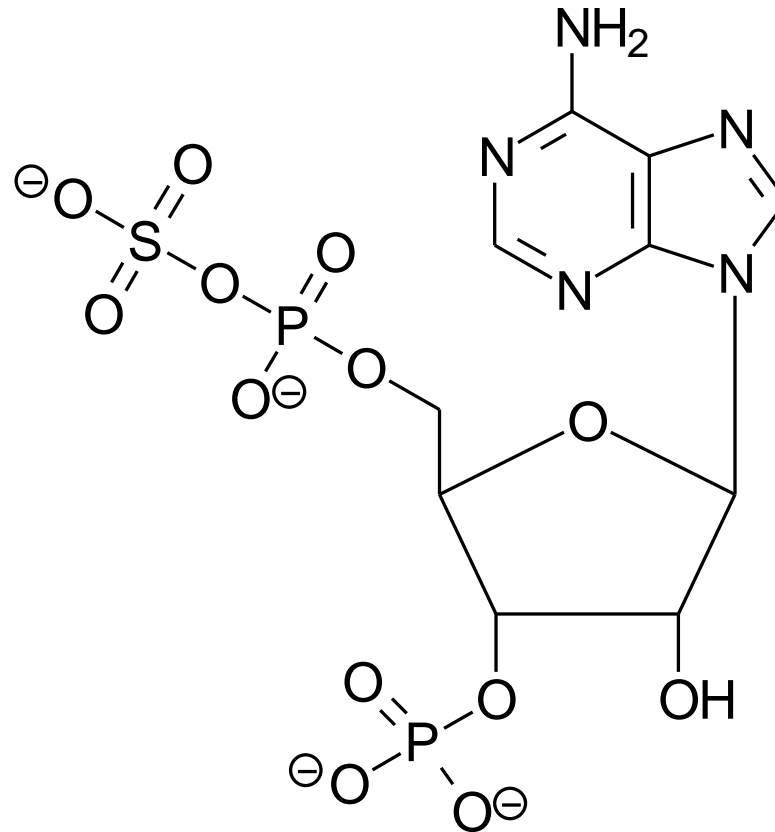
ECT, moč

okyselují ECT

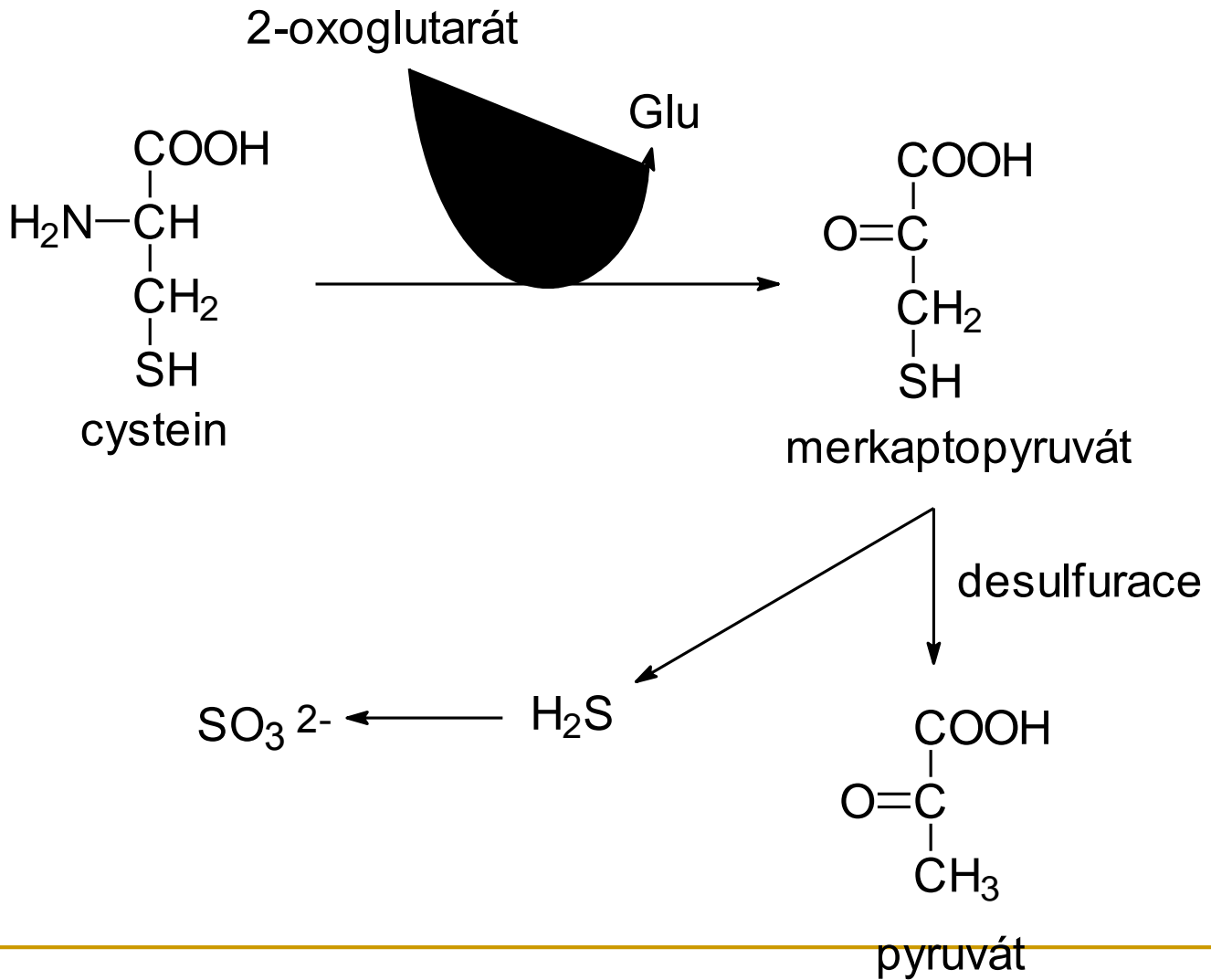
redukují Mo

# Ze sulfátu se tvoří PAPS

(3'-fosfoadenosyl-5'-fosfosulfát)



# Transaminace cysteinu - vedlejší dráha



## Cystein - shrnutí

- obě dráhy poskytují pyruvát (glukogenní)
- hlavní katabolická dráha - přímá oxygenace síry, vzniká sulfit a z něho sulfát
- vysoce proteinová dieta vede k **fyziologické acidóze**
- poskytuje **taurin** (konjugace žluč. kys.) – podmíněně esenciální AK v metabolickém stresu (energetické nápoje)
- součást **glutathionu**
- význam v **bílkovinách** – disulfidové můstky

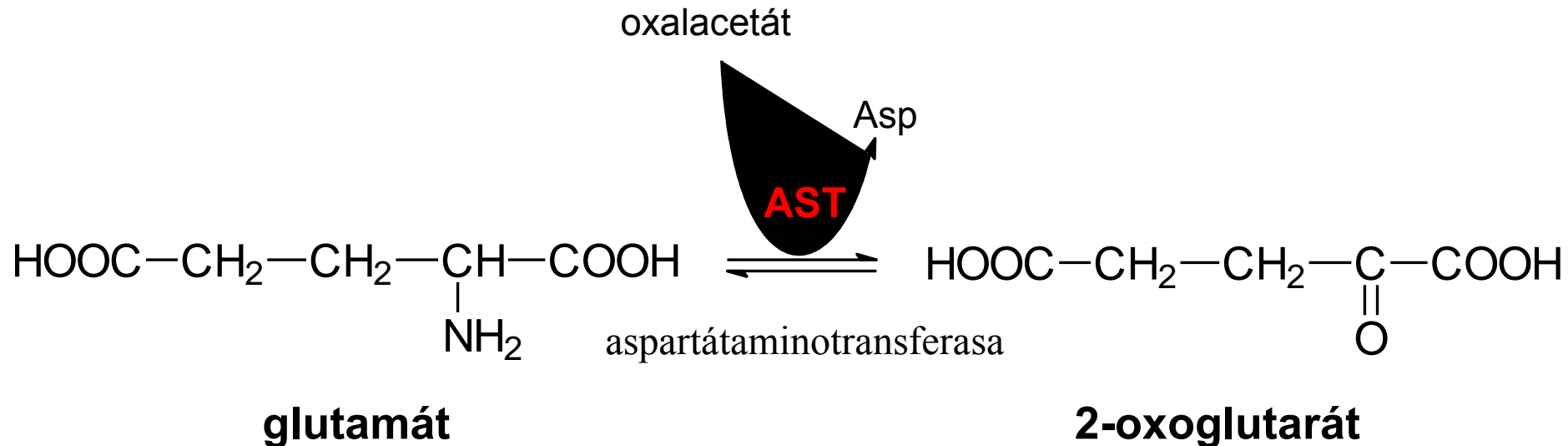
---

# Šest aminokyselin poskytuje pyruvát

1. Serin - dehydratační deaminací
2. Glycin - přes serin
3. Threonin - přes glycin
4. Alanin - transaminací
5. Cystein - odštěpením -SH + transaminací
6. Tryptofan - přes alanin

- **Transaminací Asp** vzniká oxalacetát
- **AST** (aspartátaminotransferasa) – klinicky významný enzym
- V močovinovém cyklu Asp poskytuje dusík do močoviny a uvolňuje fumarát
- Dekarboxylací Asp vzniká  $\beta$ -alanin (součást koenzymu A)
- Poskytuje dusík k syntéze purinů – uvolňuje se fumarát
- Poskytuje svůj skelet k syntéze pyrimidinů
- Součást aspartamu
- Kondenzací s amoniakem vzniká amid asparagin – pro potřebu buňky

## Glutamát s oxalacetátem poskytuje aspartát (transaminace)

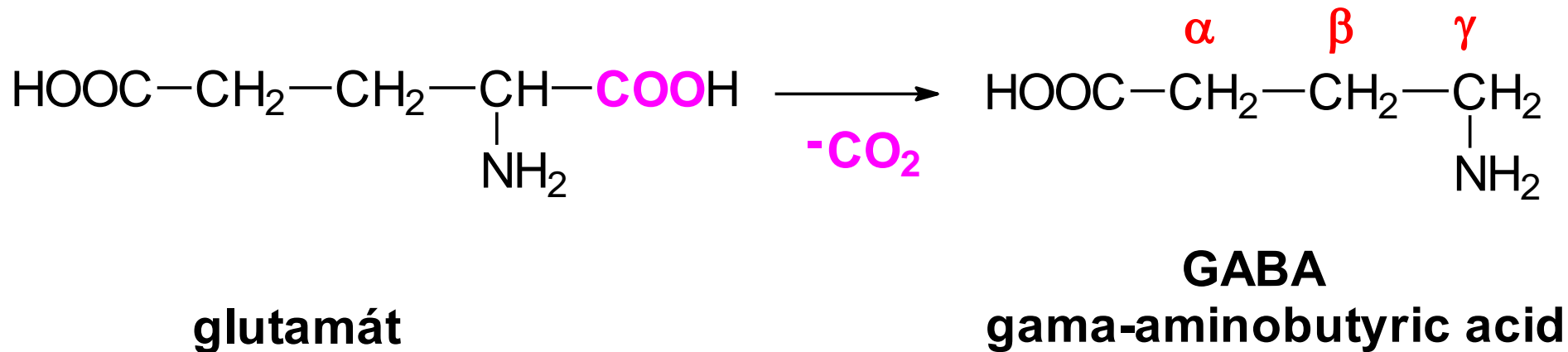


AST reakce produkuje aspartát pro syntézu močoviny





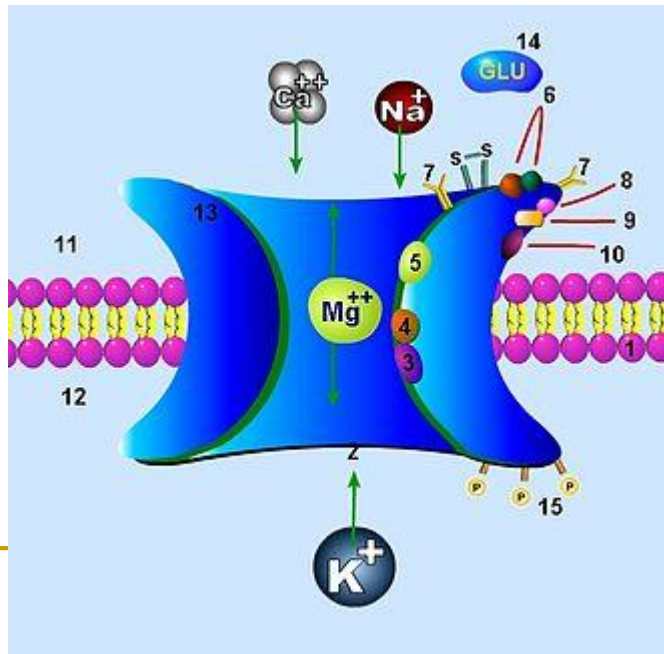
## Dekarboxylace glutamátu



Inhibiční neurotranspiter  
v CNS

# Syndrom čínského restaurantu

- vzniká po jednorázovém příjmu většího množství glutamátu sodného (1-5 g)
- nevolnost, pocit tepla ve svalech, napětí v obličeji, tlak na prsou ...
- polévka „Von-Ton“
- **taste enhancer** - masoxy, bujony, polévky v sáčku, sojová omáčka apod.



**Glutamátový receptor (GluR<sup>[1]</sup>)** je obecné označení pro receptor, jehož ligandem je glutamát (tedy kyselina glutamová, přesněj L-glutamová<sup>[2]</sup>). Jsou běžné v nervových soustavách savců – glutamát u savců totiž plní funkci základního excitačního neurotransmitera.<sup>[2]</sup> Receptory glutamátového typu se tak vyskytují na většině rychlých excitačních synapsí obratlovců. U člověka bylo nalezeno více než 20 genů pro různé glutamátové receptory.<sup>[1]</sup> Je totiž známo velké množství různých typů glutamátových receptorů, a to jak tzv. ionotropních (iGluR, jež se po vazbě glutamátu stávají otevřenými iontovými kanály), tak metabotropních (mGluR, které mají povahu tzv. receptorů spřažených s G proteinem).<sup>[2]</sup>

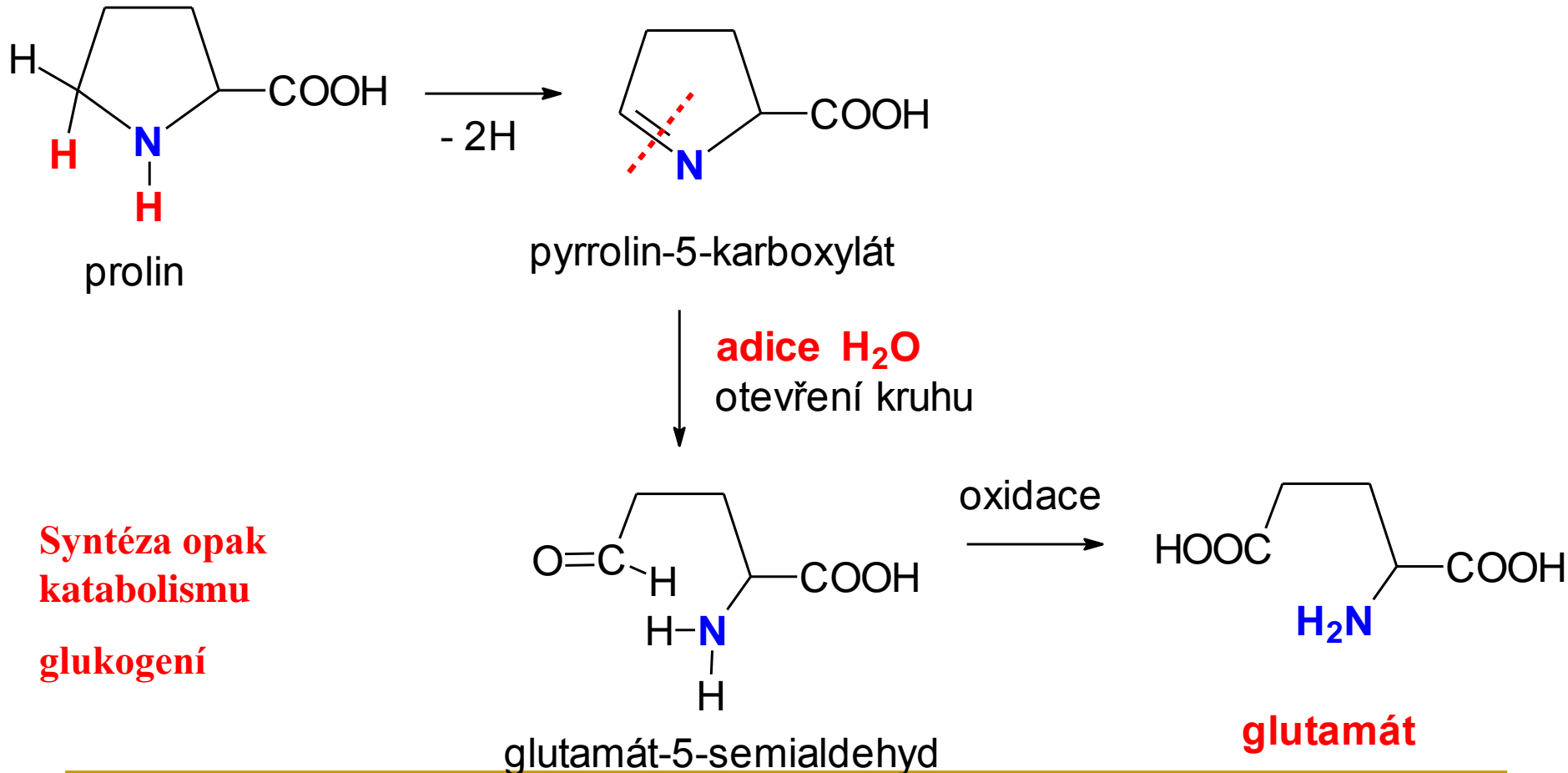
# Glutamát - shrnutí

- produkt transaminace většiny AK, v GMD reakci se produkuje většina amoniaku v tkáních
- protože transaminace jsou vratné, může se Glu přeměňovat na 2-oxoglutarát (glukogenní)
- $\text{Glu} + \text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{Gln}$  (detoxikace amoniaku)
- glutamát snadno vzniká z histidinu a prolinu
- čistý glutamát sodný může způsobit zdravotní potíže
- L-glutamát je ligandem glutamátových receptorů - váže se na ně a aktivuje je

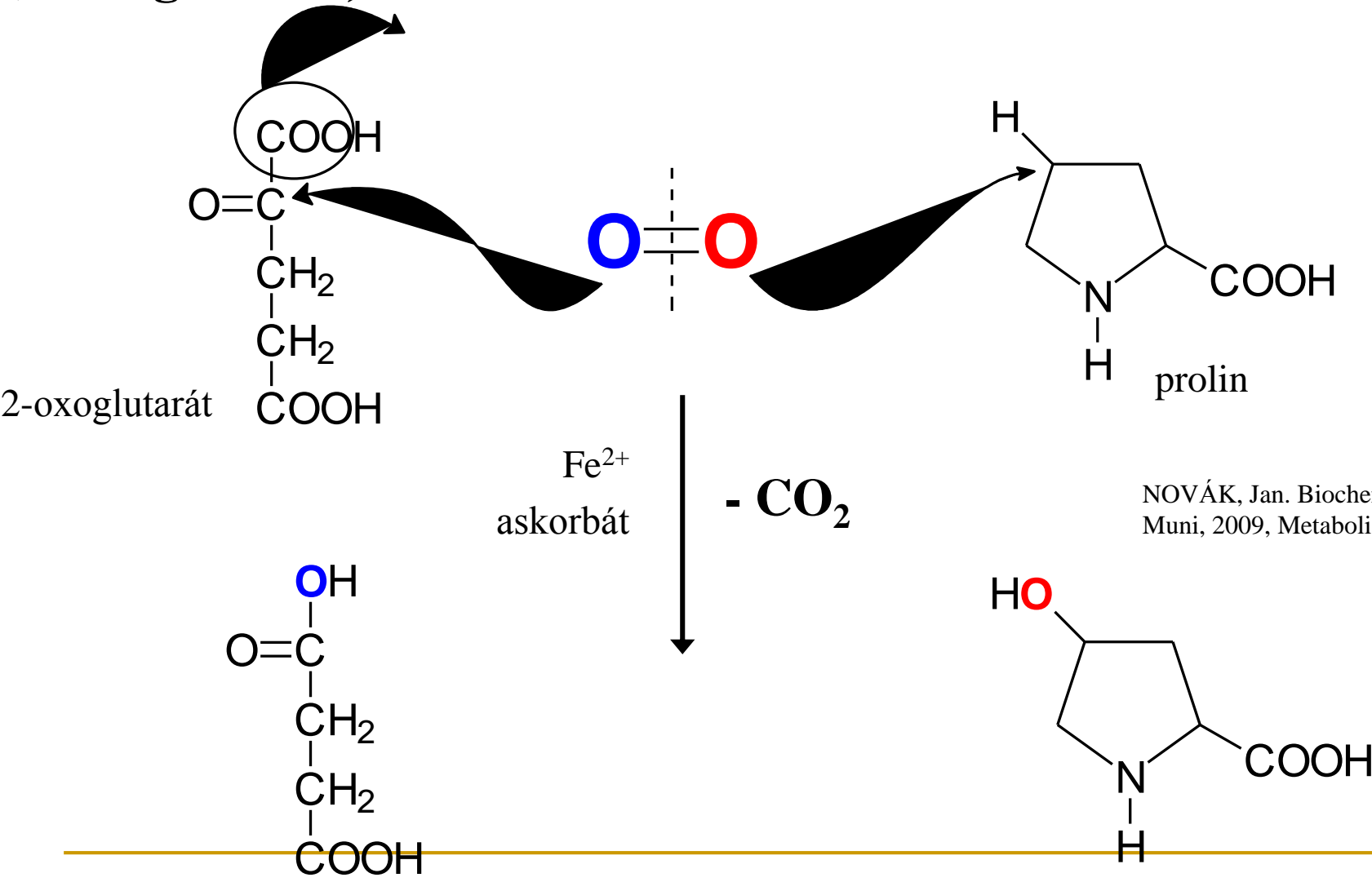
# Aminokyseliny jako neurotransmitery

Excitační	Inhibiční
Glutamát	GABA
Aspartát	Glycin
(Acetylcholin)	
Kationtové kanály ( $\text{Na}^+$ )	Chloridové kanály ( $\text{Cl}^-$ )

## Katabolismus prolinu poskytuje glutamát



# Hydroxylace prolinu využívá neobvyklý koreduktant (2-oxoglutarát)



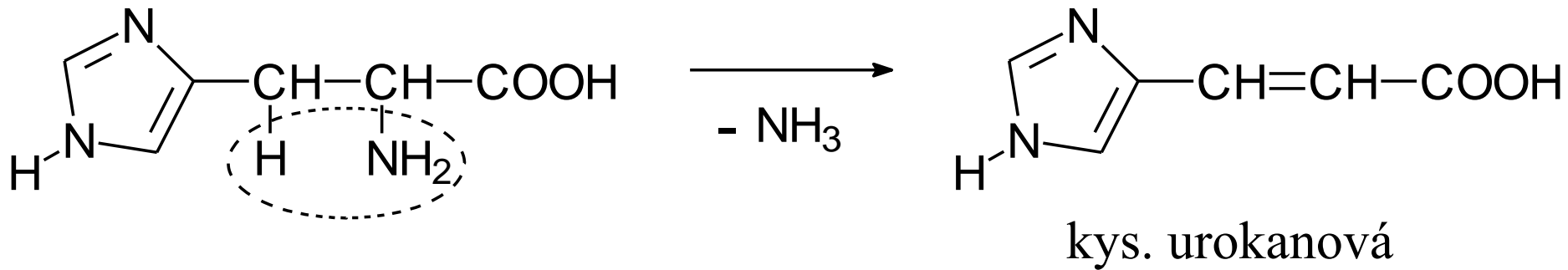
NOVÁK, Jan. Biochemie I. Brno: Muni, 2009, Metabolismus AK s. 36

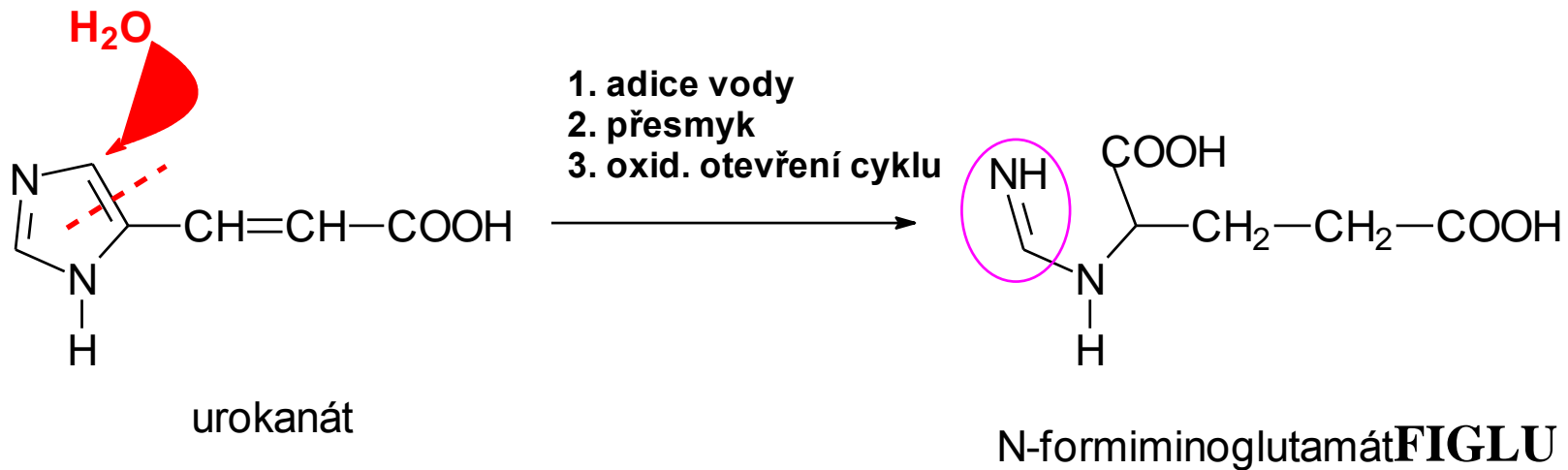
# Prolin - shrnutí

- postradatelná AK, vzniká z glutamátu
- odbourává se na glutamát (glukogenní)
- hydroxylace prolinu v kolagenu probíhá až posttranslačně, nutný askorbát a  $\text{Fe}^{2+}$  (netypický koreduktant, 2-oxoglutarát)
- 4-hydroxyprolin se odbourává na pyruvát

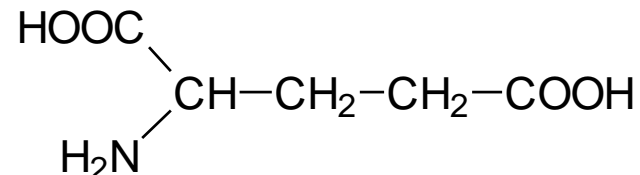
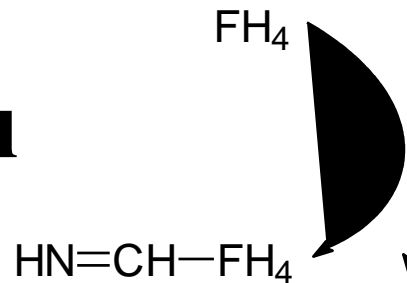


## Katabolismus histidinu začíná desaturační deaminací



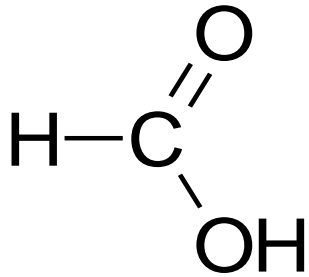


## Štěpení urokanátu

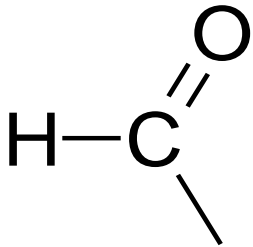


**glutamát**

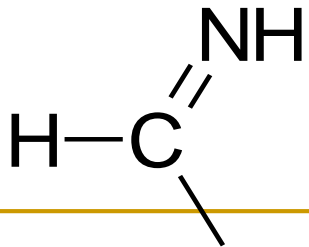
## Srovnejte



mravenčí kyselina (formiát)

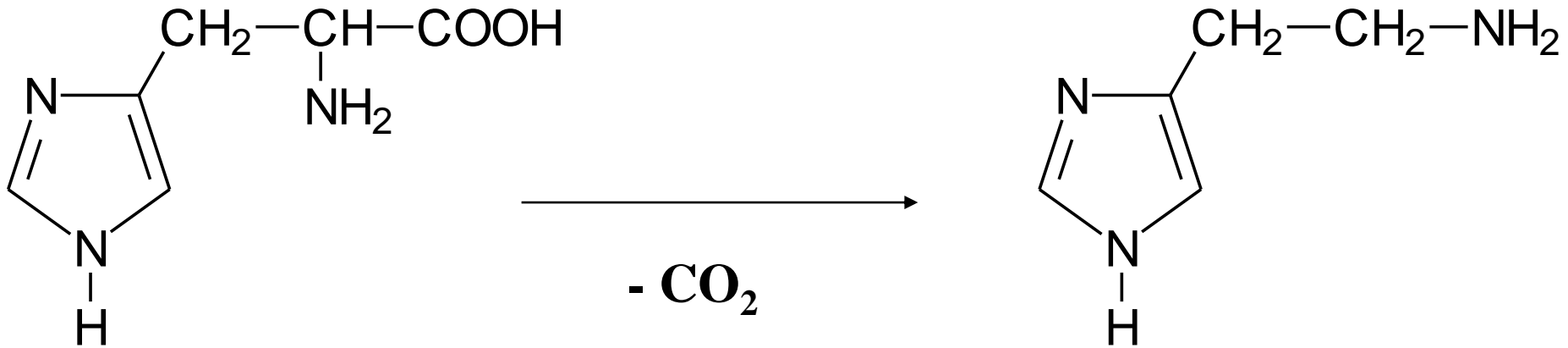


acyl mravenčí kys. (formyl)



formimino skupina  
(dusíkatý analog formylu)

# Dekarboxylace histidinu

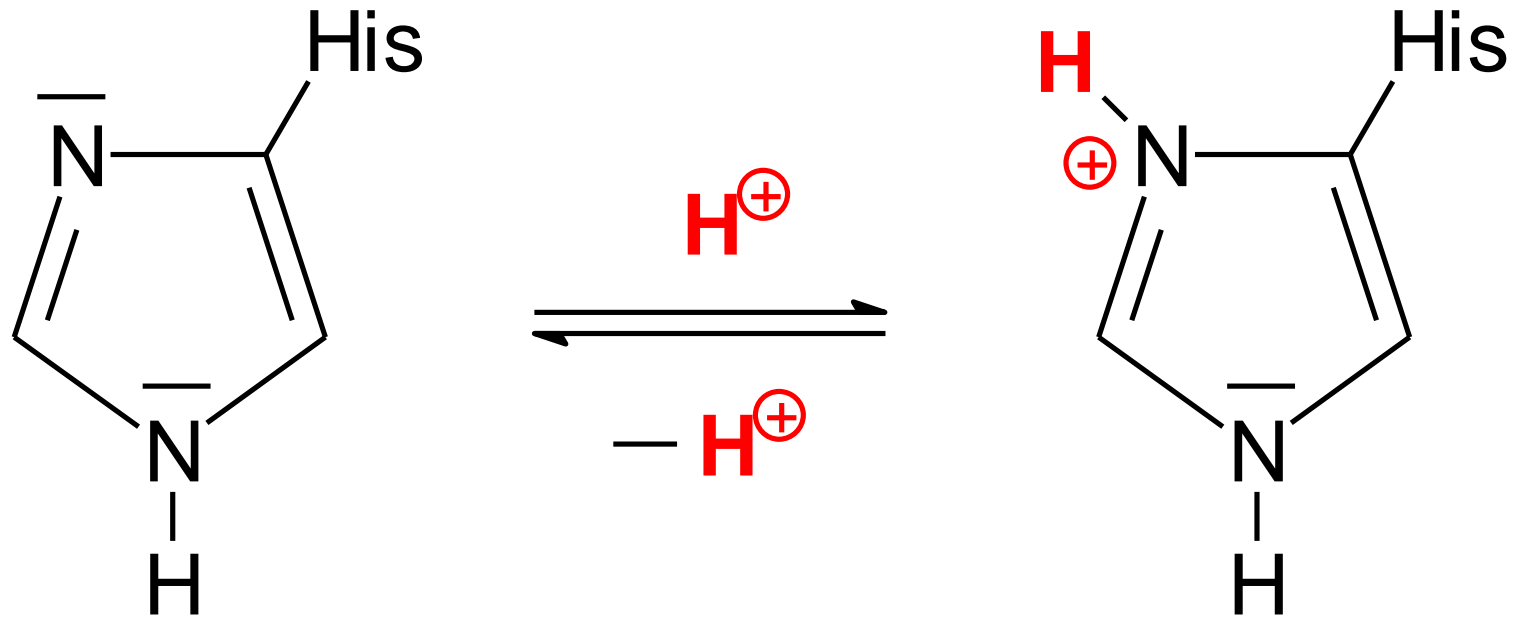


histidin

**histamin**

- dekarboxylasa His je žirných buňkách a basofilních leukocytech
- stimuluje tvorbu HCl v žaludku
- uvolňuje se při alergických reakcích
- antihistaminika - léčiva, která blokují působení histaminu

# Histidin podmiňuje pufrační vlastnosti bílkovin



$pK_B = 8$

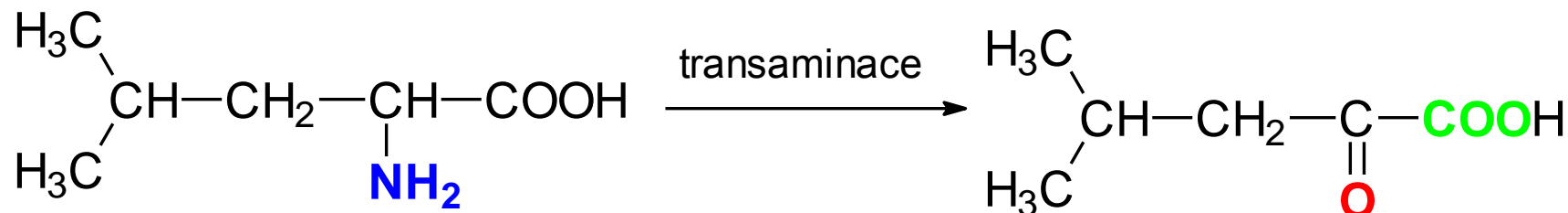
$pK_A (\text{His}) = 6$

$pK_A (\text{His v bílk.}) = 6,8$

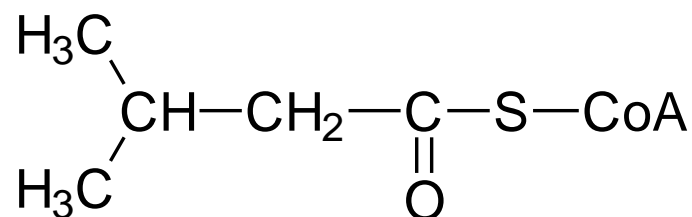
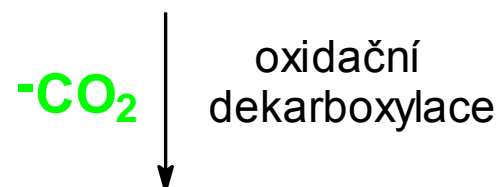
# Histidin - shrnutí

- (podmíněně) esenciální aminokyselina
- neprobíhá transaminace, ale desaturační deaminace
- zdroj 1C fragmentu (formimino skupina)
- přeměňuje se na glutamát (glukogenní)
- ve značném množství v **hemoglobinu** - pufrční systém
- posttranslační methylocí His v aktinu/myosinu vzniká 3-methylhistidin – jeho exkrece močí je indikátorem proteolýzy a nutriční stavu

## Leucin (1) - transaminace + dekarboxylace



2-oxokyselina (2-oxoisokaproát)

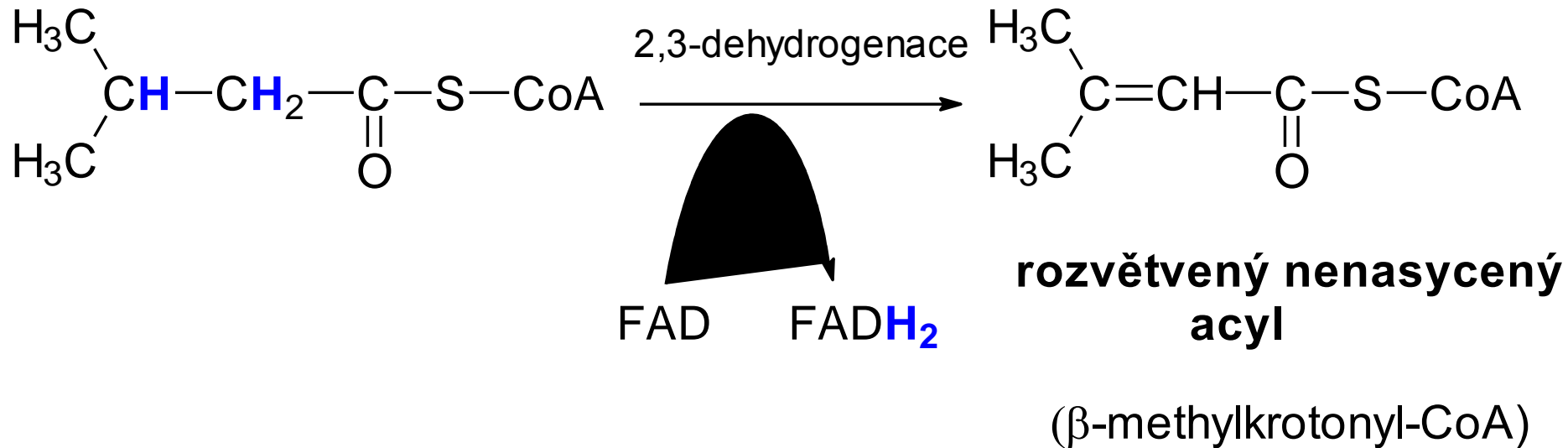


rozvětvený acyl  
(isovaleryl-CoA)

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.

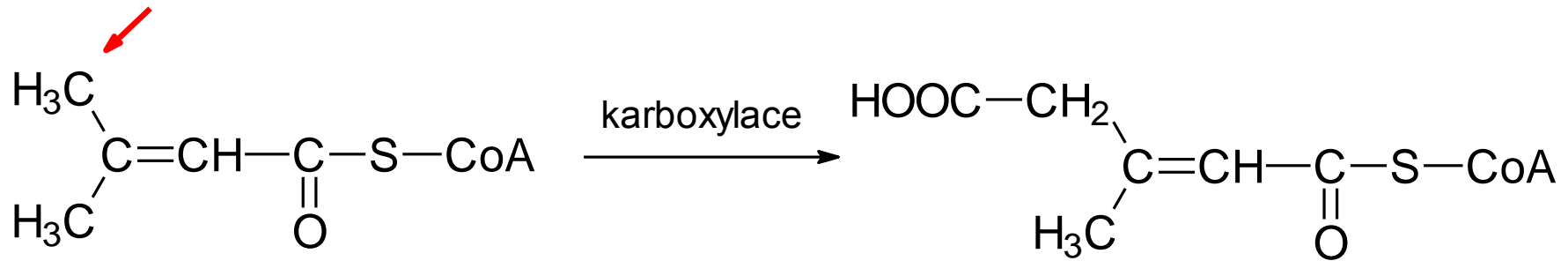
První reakce jejich katabolismu jsou podobné – dochází k **transaminaci** (vznik odpovídající 2-oxokyseliny), **oxidační dekarboxylaci** (vznik odpovídajícího acyl-CoA) a **dehydrogenaci** (vznik odpovídajícího  $\alpha/\beta$ -nenasyceného acyl-CoA). Další metabolismus je již pro každou AK **specifický**.

## Leucin (2) - dehydrogenace





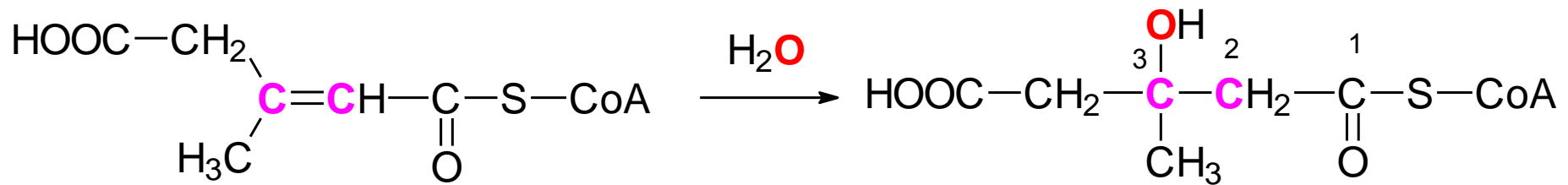
## Leucin (3) - karboxylace na C4



**acyl dikarboxylové rozvětvené  
nenasycené kyseliny**

(β-methylglutakonyl-CoA)

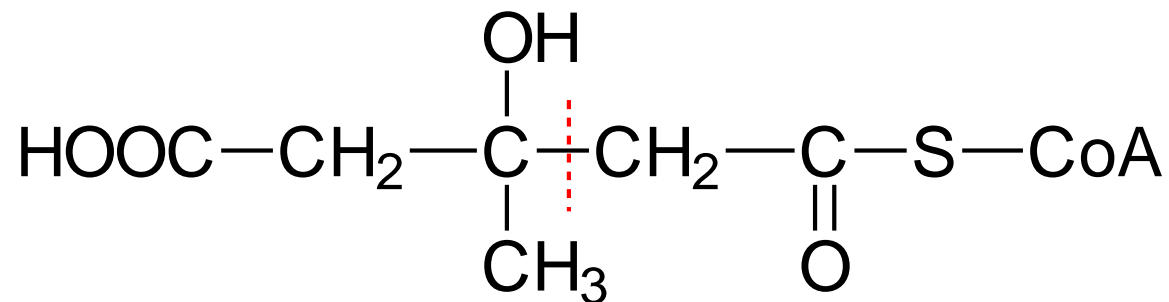
# Leucin (4) - hydratace dvojn  vazby



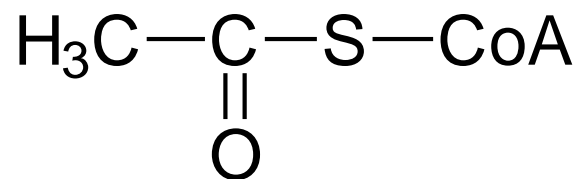
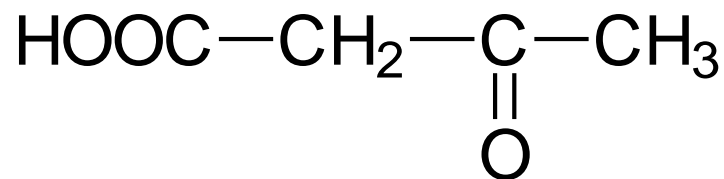
**3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA**

**(HMG-CoA)**

# Leucin (5) - štěpení vazby C-C v HMG-CoA



HMG-CoA-lyasa



**acetoacetát**

**acetyl-CoA**

**Leucin**



acetoacetát  
acetyl-CoA

**ketogenní**

**Isoleucin**



**B<sub>12</sub>**

sukcinyl-CoA  
acetyl-CoA

**ketogenní  
glukogenní**

**Valin**



**B<sub>12</sub>**

sukcinyl-CoA

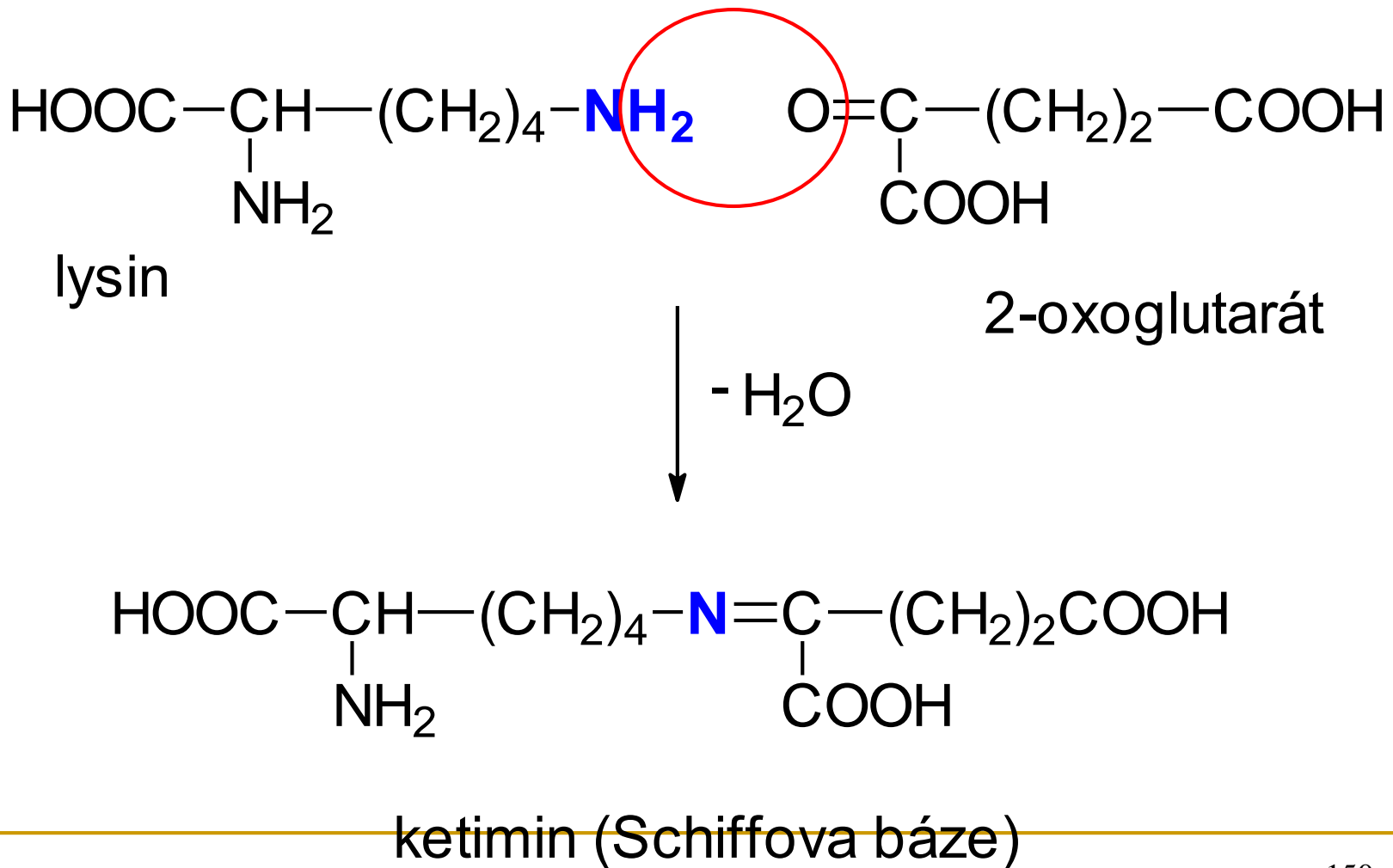
**glukogenní**

# Rozvětvené AK - shrnutí

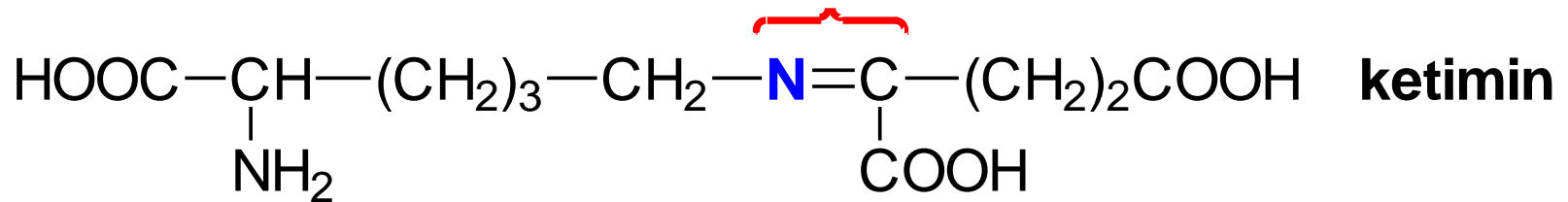
- všechny tři jsou esenciální
- první reakce katabolismu jsou podobné (transaminace, oxid. dekarboxylace, dehydrogenace), konečné produkty jsou různé
- leucin - jediná čistě ketogenní AK
- **po jídle je jejich zastoupení v krvi vysoké (cca 70 % všech AK), protože játra je nevyužívají (nedostatek aminotransferas)**
- nejvíce jsou využívány ve svalech a CNS
- příznivě ovlivňují katabolické stavy (infuze)

# Katabolismus lysinu (1)

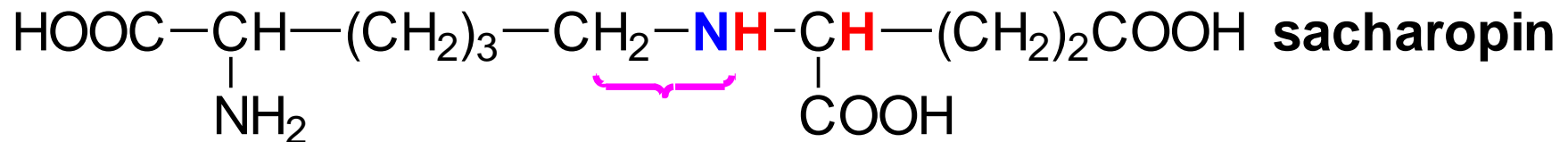
Lysin je esenciální AK, která **nepodléhá transaminaci**. Při katabolismu **nejprve kondenzuje s 2-oxoglutarátem**, dojde k několika různým reakcím (viz schéma níže) a následuje odštěpení glutamátu a allysinu.



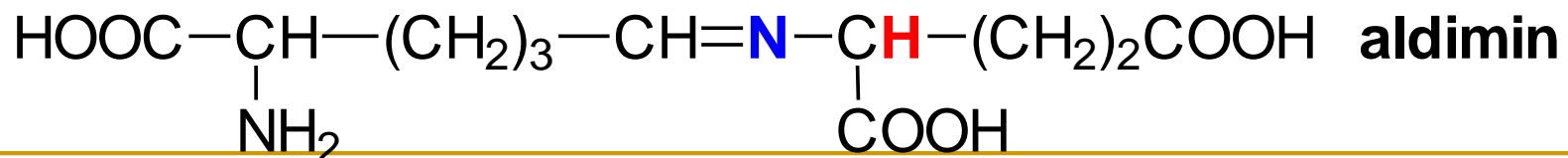
# Katabolismus lysinu (2)



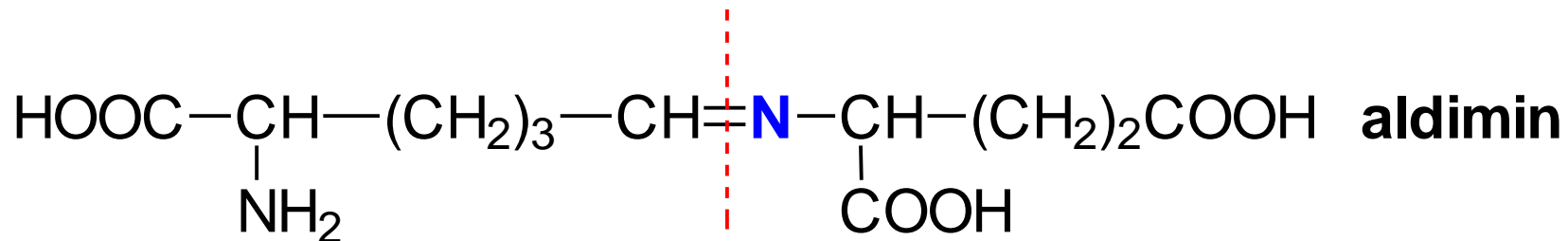
hydrogenase (NADPH)



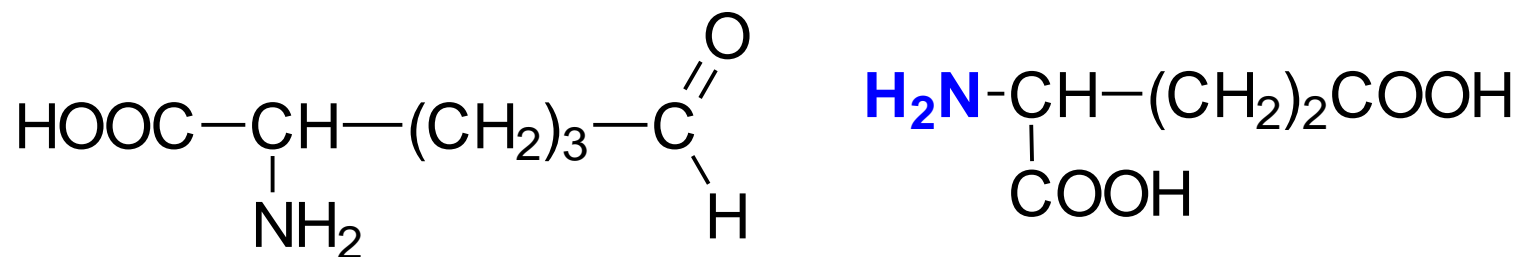
dehydrogenase (NAD)



# Katabolismus lysinu (3)



hydrolytické štěpení

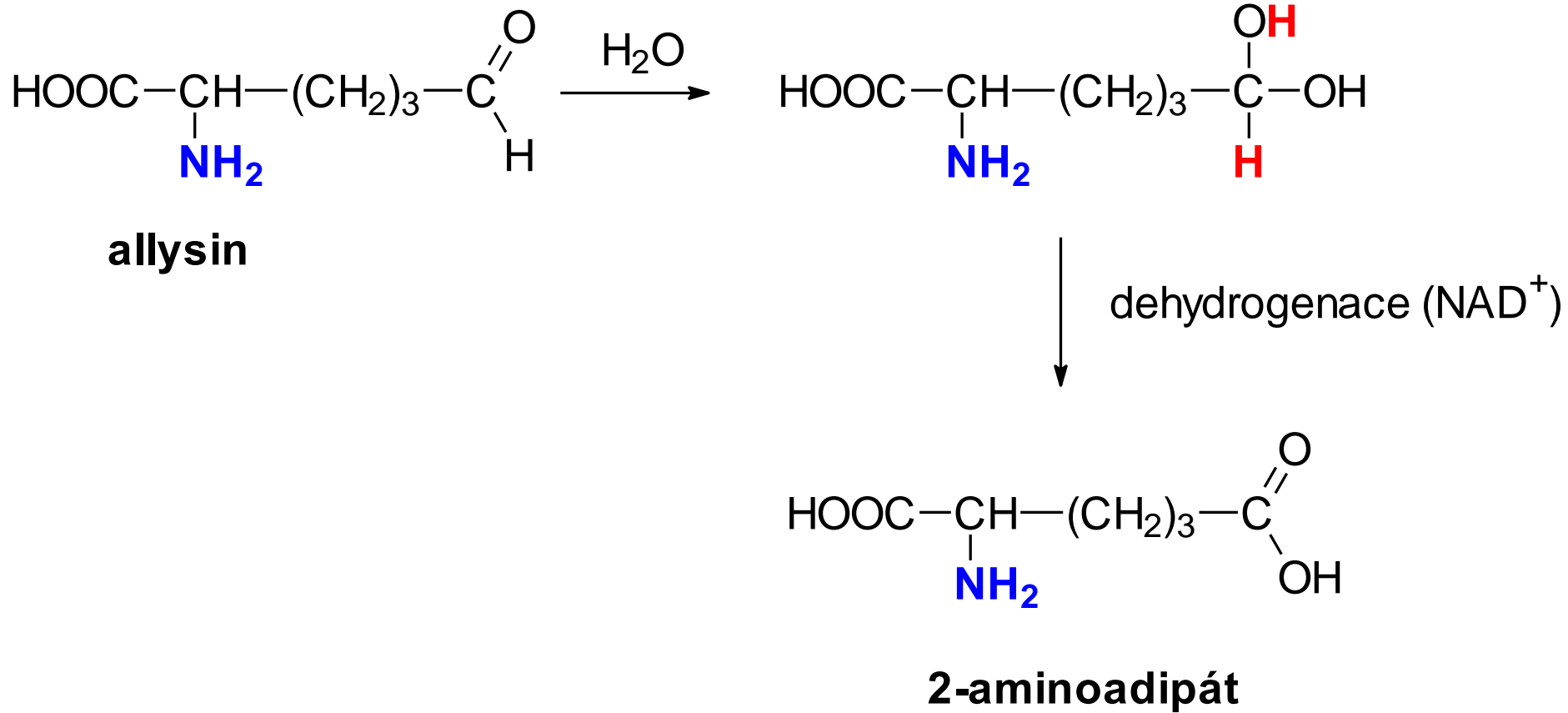


**allysin**

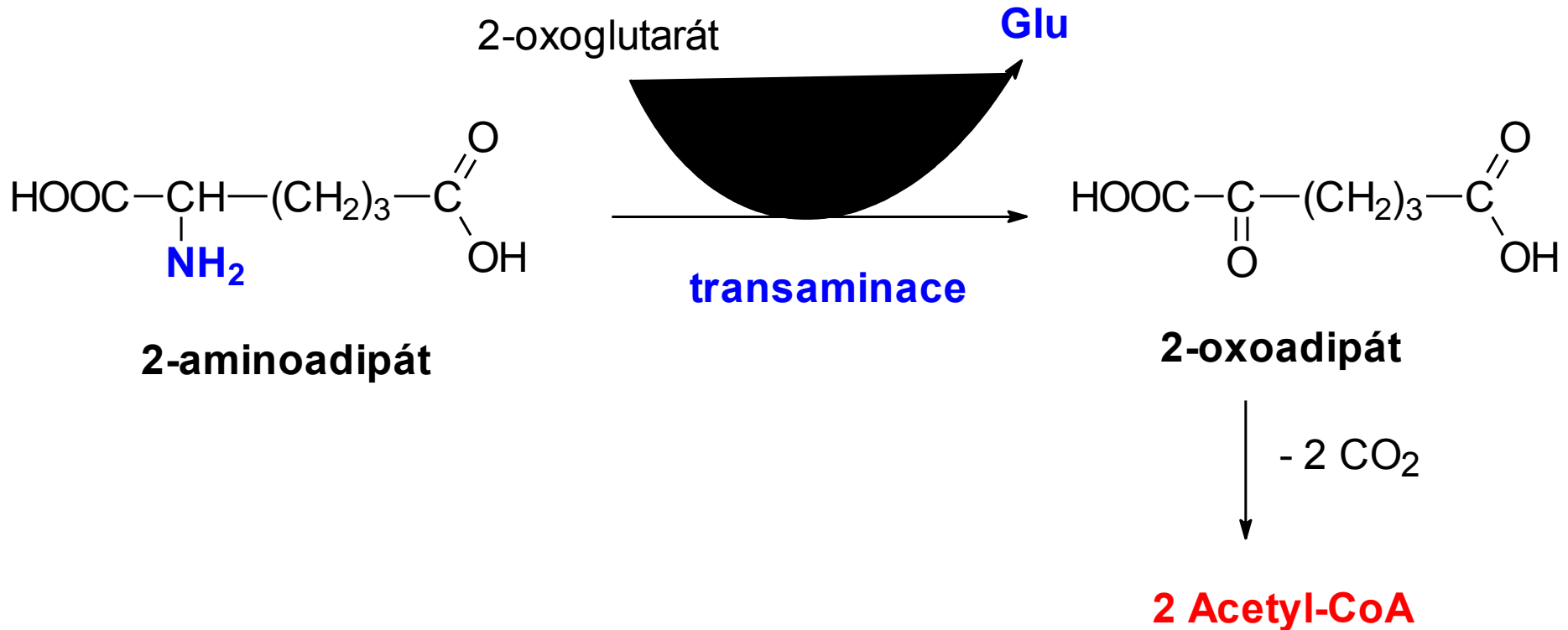
**glutamát**



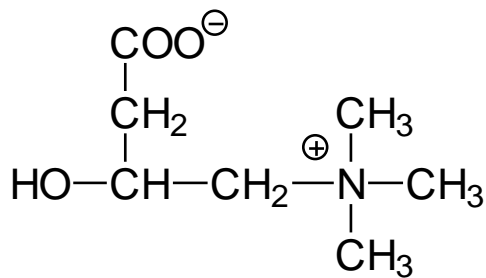
# Katabolismus lysinu (4)



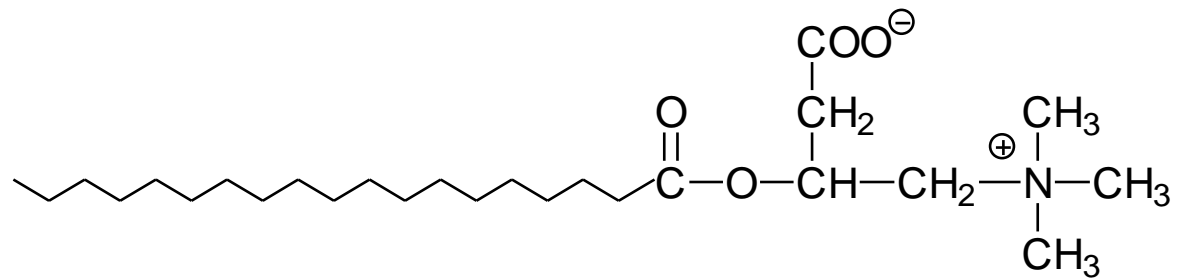
# Katabolismus lysinu (5)



# Z lysinu vzniká karnitin



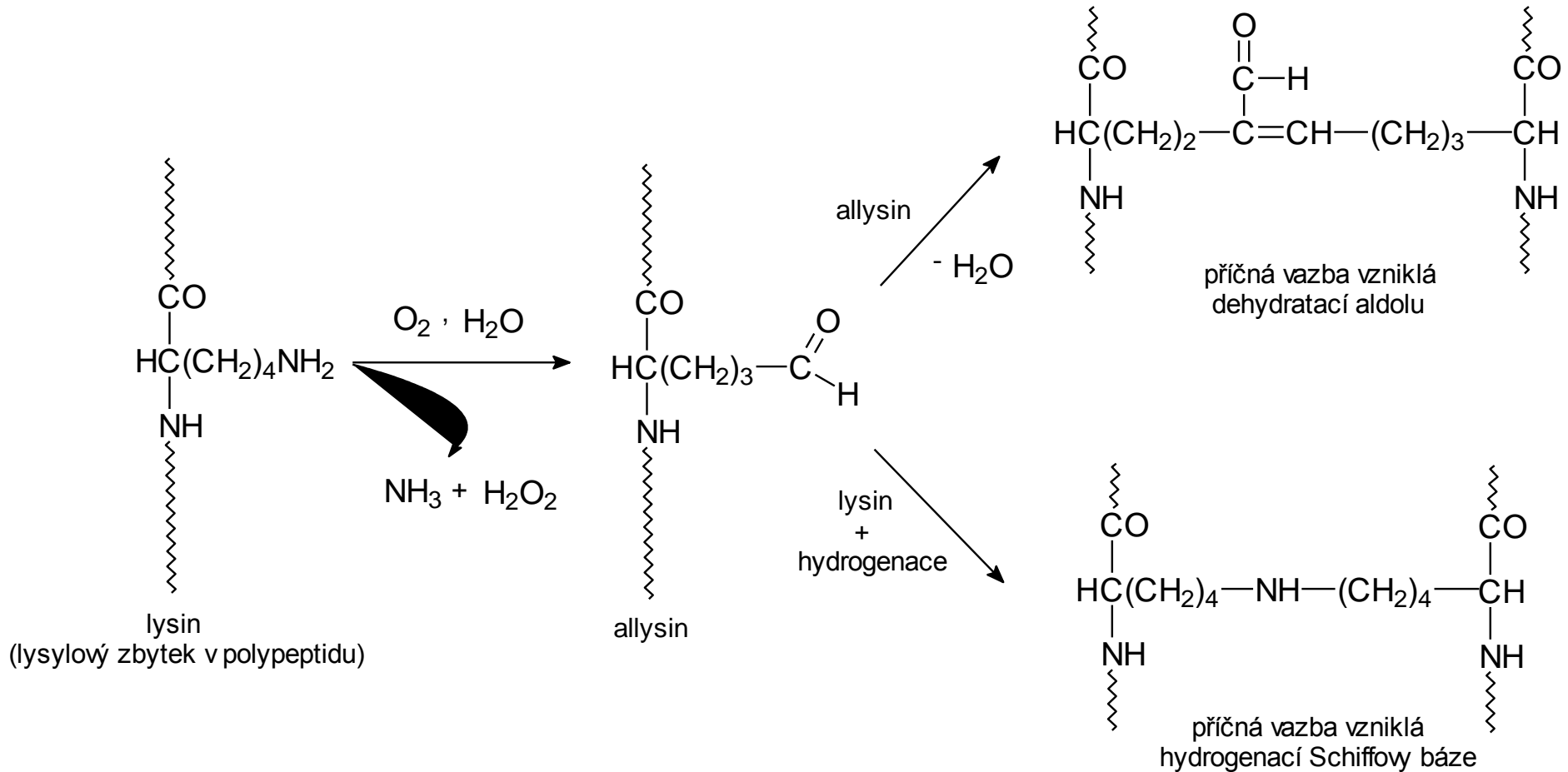
karnitin



acylkarnitin

Přenáší MK z cytoplazmy do mitochondrie

# Lysin - Příčné můstky v kolagenu



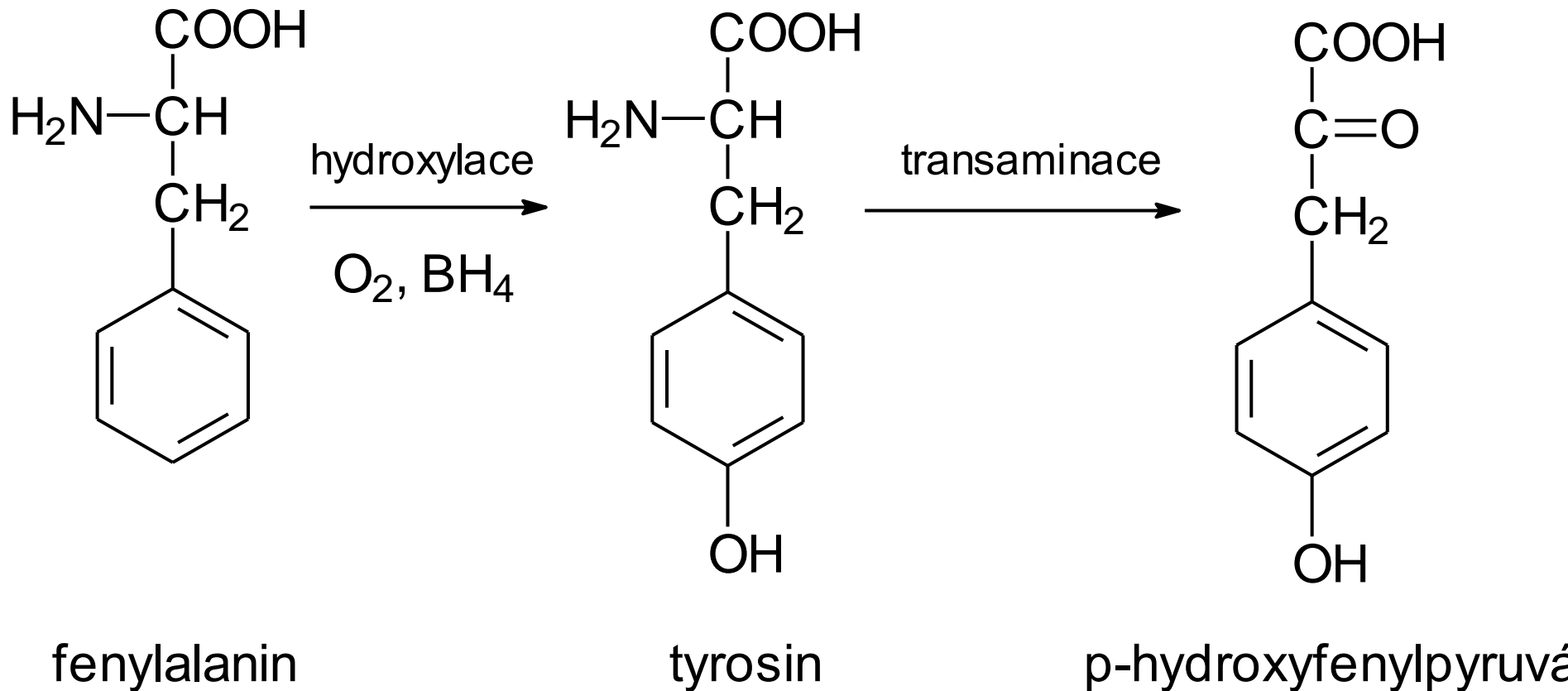
# Lysin - shrnutí

- esenciální AK, neprobíhá transaminace
- při odbourání nejdříve odstupuje  $\delta$ -aminoskupina jako glutamát (glukogenní)
- $\alpha$ -aminoskupina odstupuje z aminoadipátu transaminací
- konečný produkt acetyl-CoA (ketogenní)

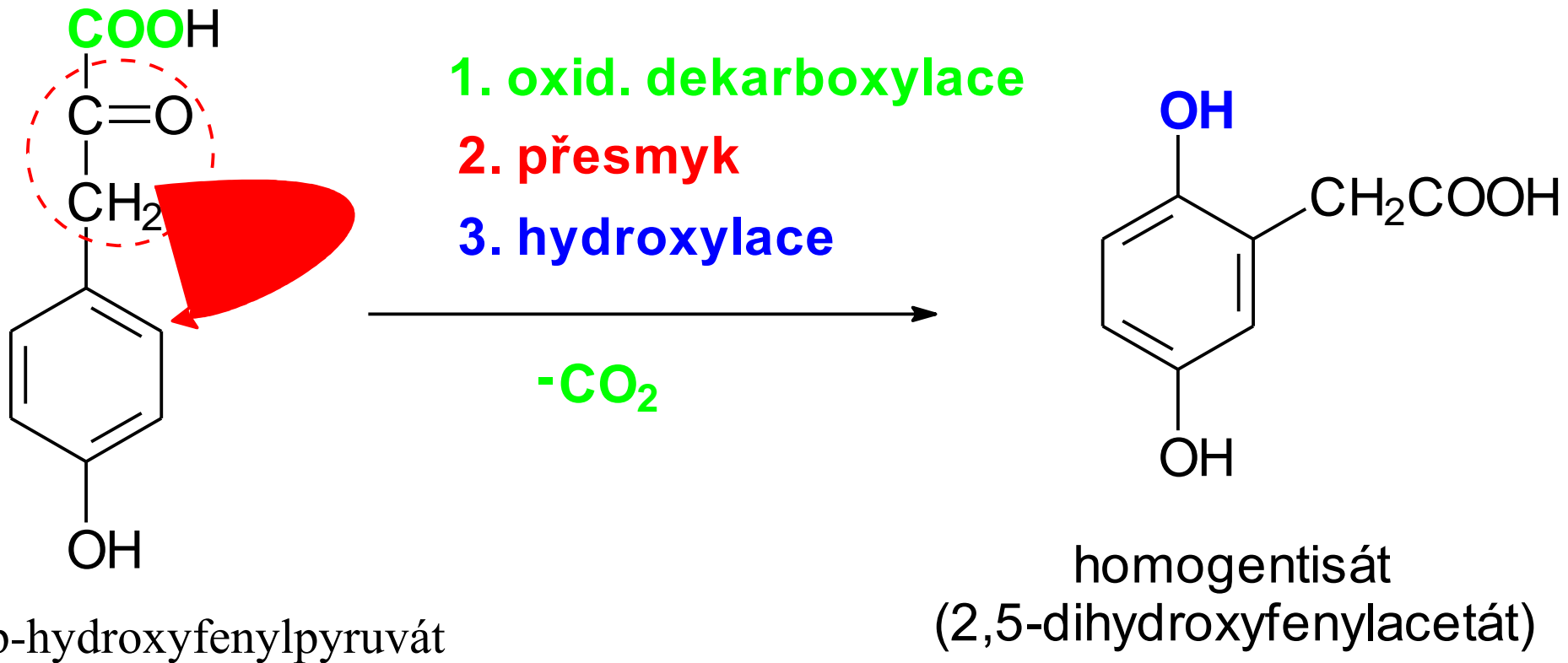
## Další přeměny:

- na lysin se váže ubikvitin (značkování – proteasom)
- karnitin
- **příčné můstky v kolagenu, hydroxylysin**

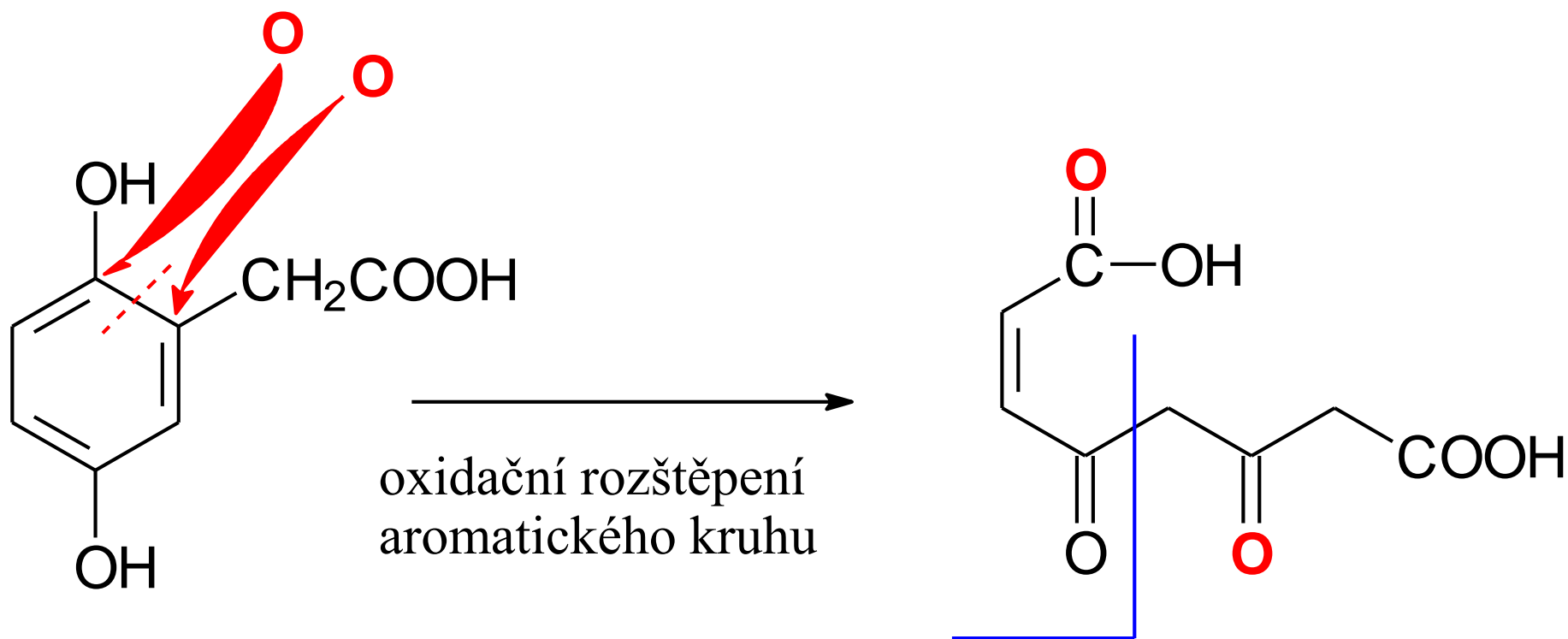
## Katabolismus fenylalaninu (1)



# Katabolismus fenylalaninu (2)



# Katabolismus fenylalaninu (3)

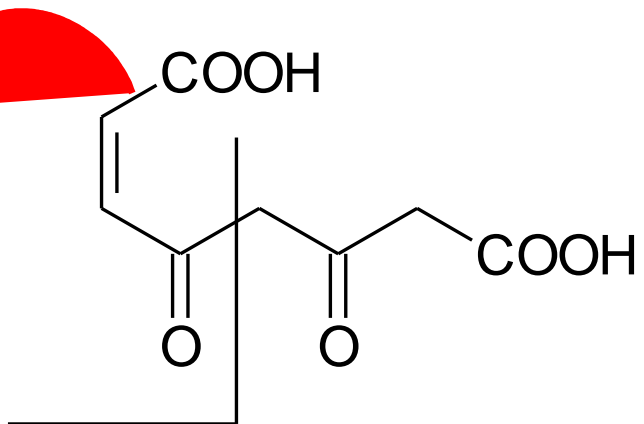


dioxygenasa

**maleinylacetoacetát**

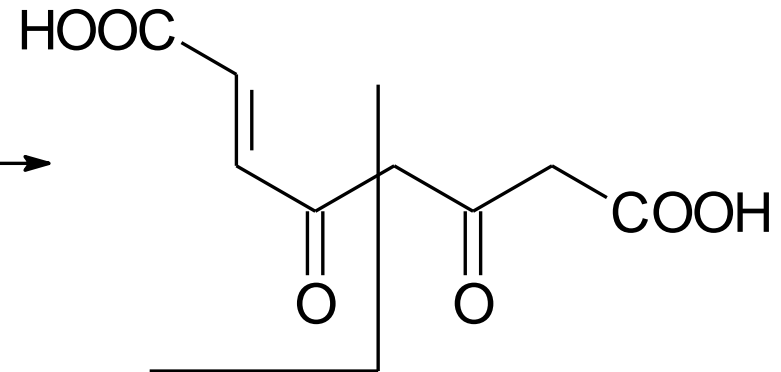


# Katabolizmus fenylalaninu (4)



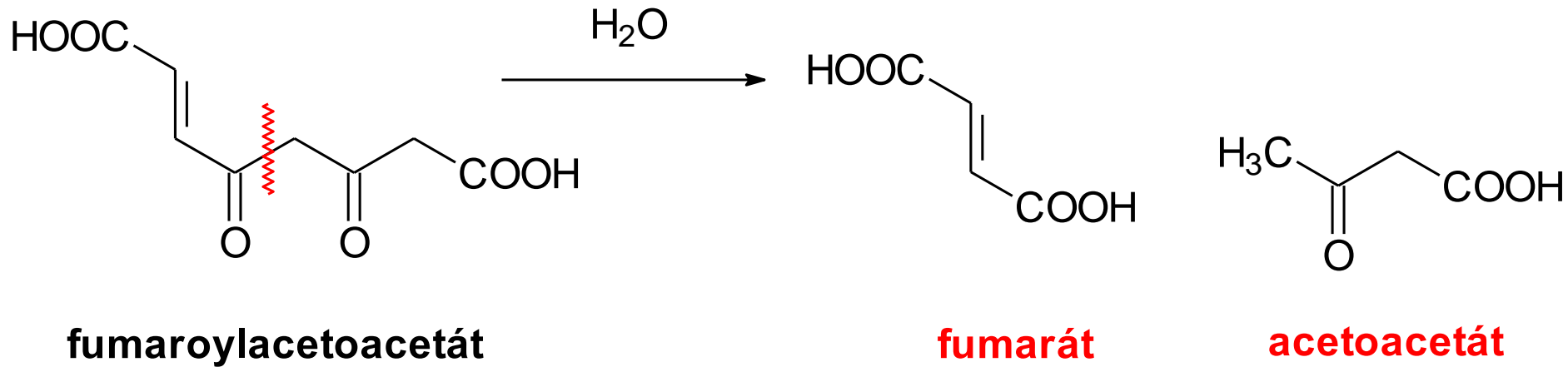
maleinylacetoacetát

izomerace

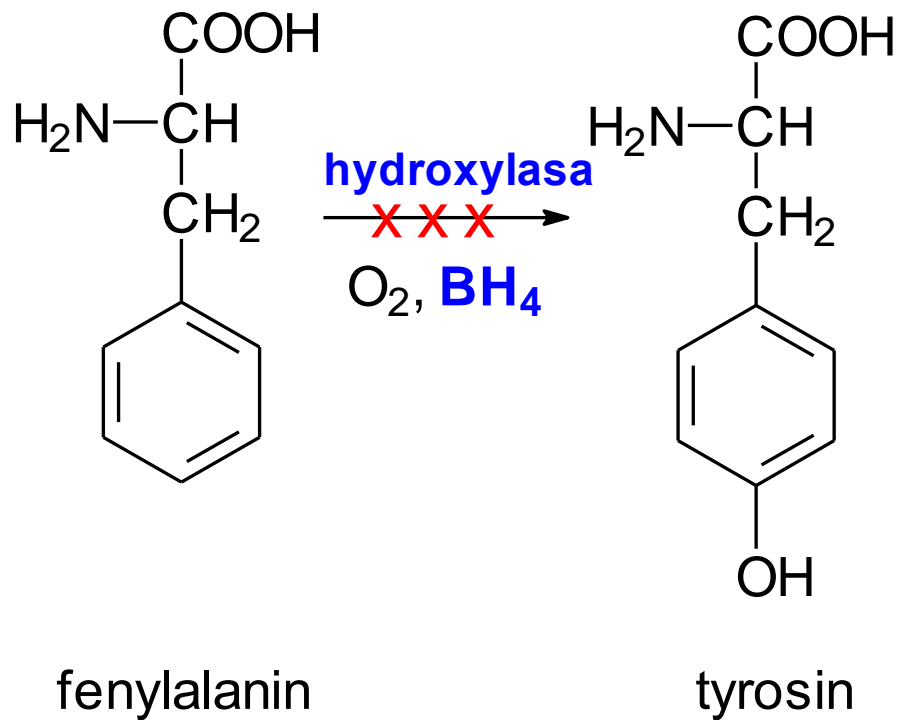


fumaroylacetoacetát

# Katabolizmus fenylalaninu (5)

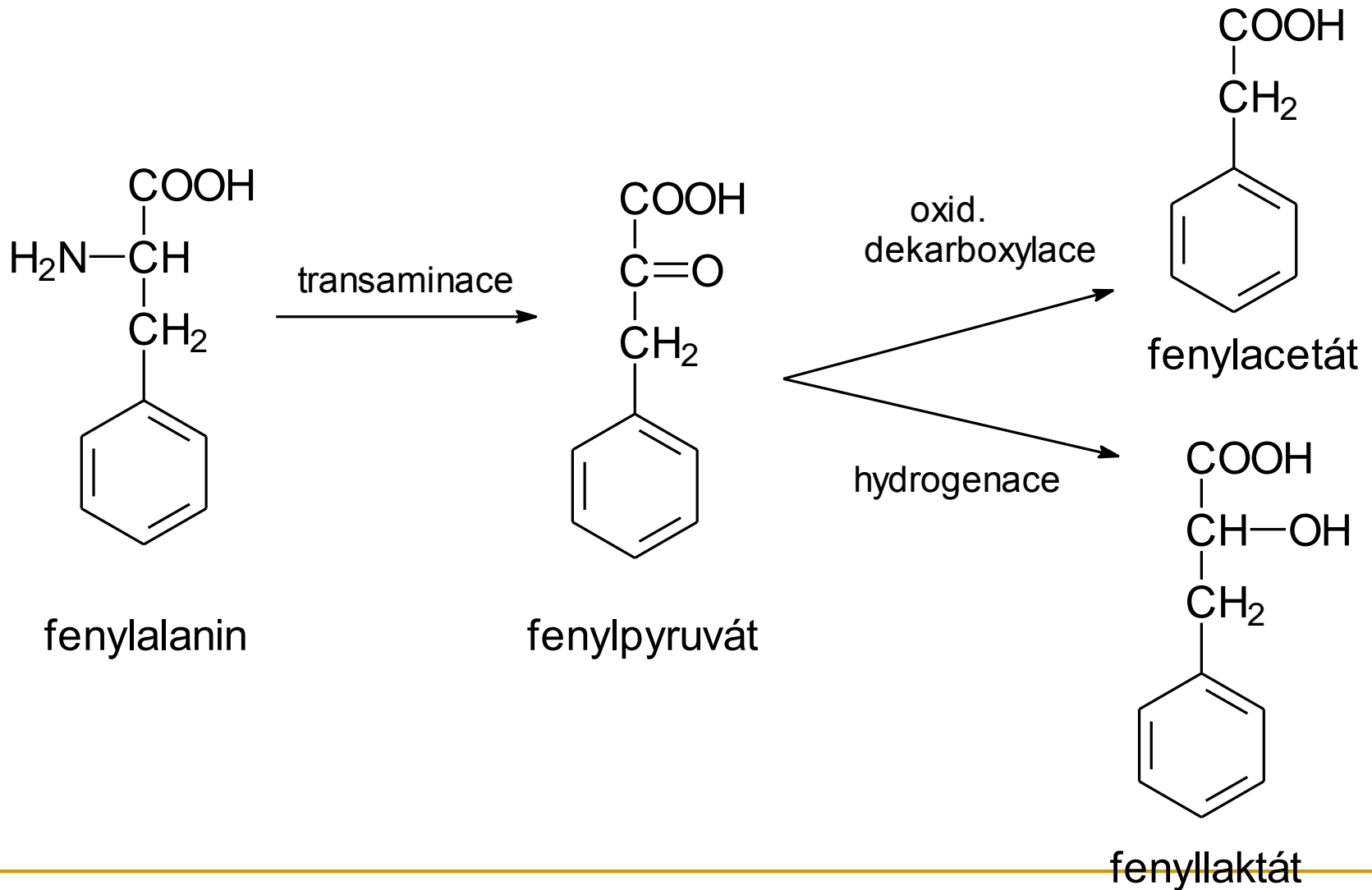


# Hyperfenylalaninémie + Fenylketonurie



- deficit **hydroxylasy** nebo deficit  $\text{BH}_4$
- zvýš. hladina Phe a metabolitů v krvi
- vylučování fenylpyruvátu močí

# Metabolity fenylalaninu

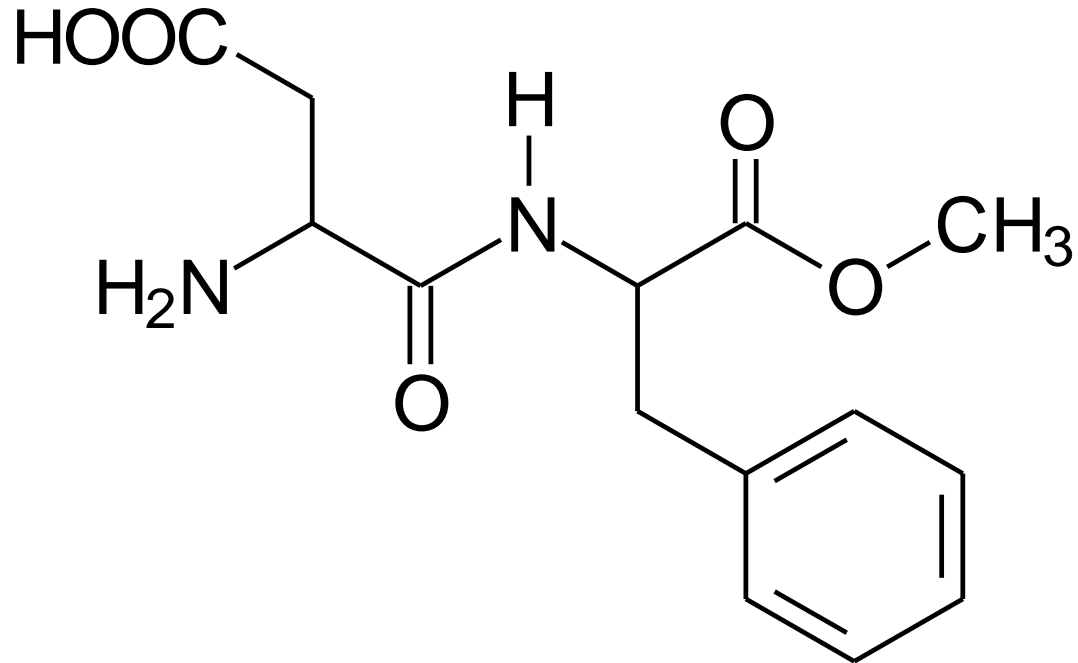


---

# Hyperfenylalaninémie + Fenylketonurie

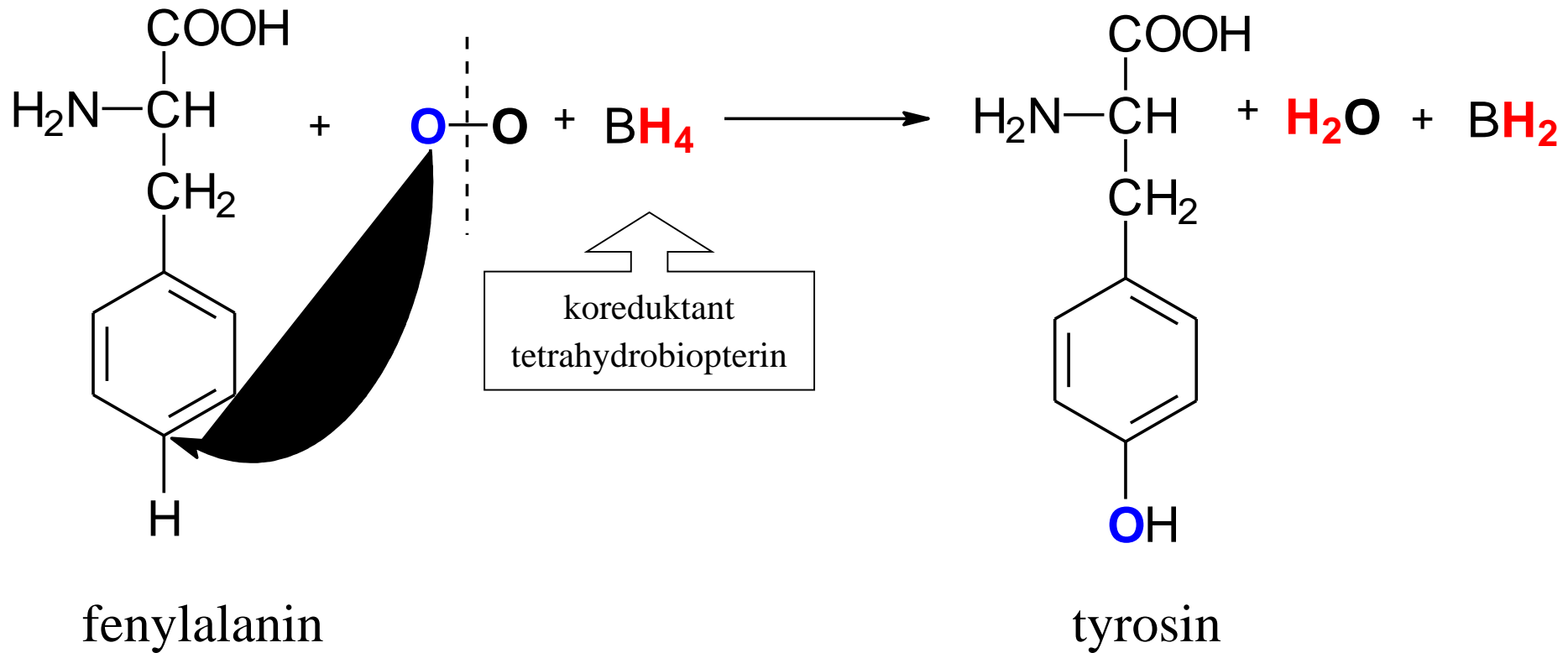
- následek neléčené poruchy - mentální retardace
- léčba - dieta s nízkým obsahem Phe do cca 15 roku života
- v dospělosti Phe nevadí
- řada výrobků obsahuje sladidlo **aspartam**, nevhodné pro fenylketonuriky, hydrolýzou uvolňuje fenylalanin

# Aspartam

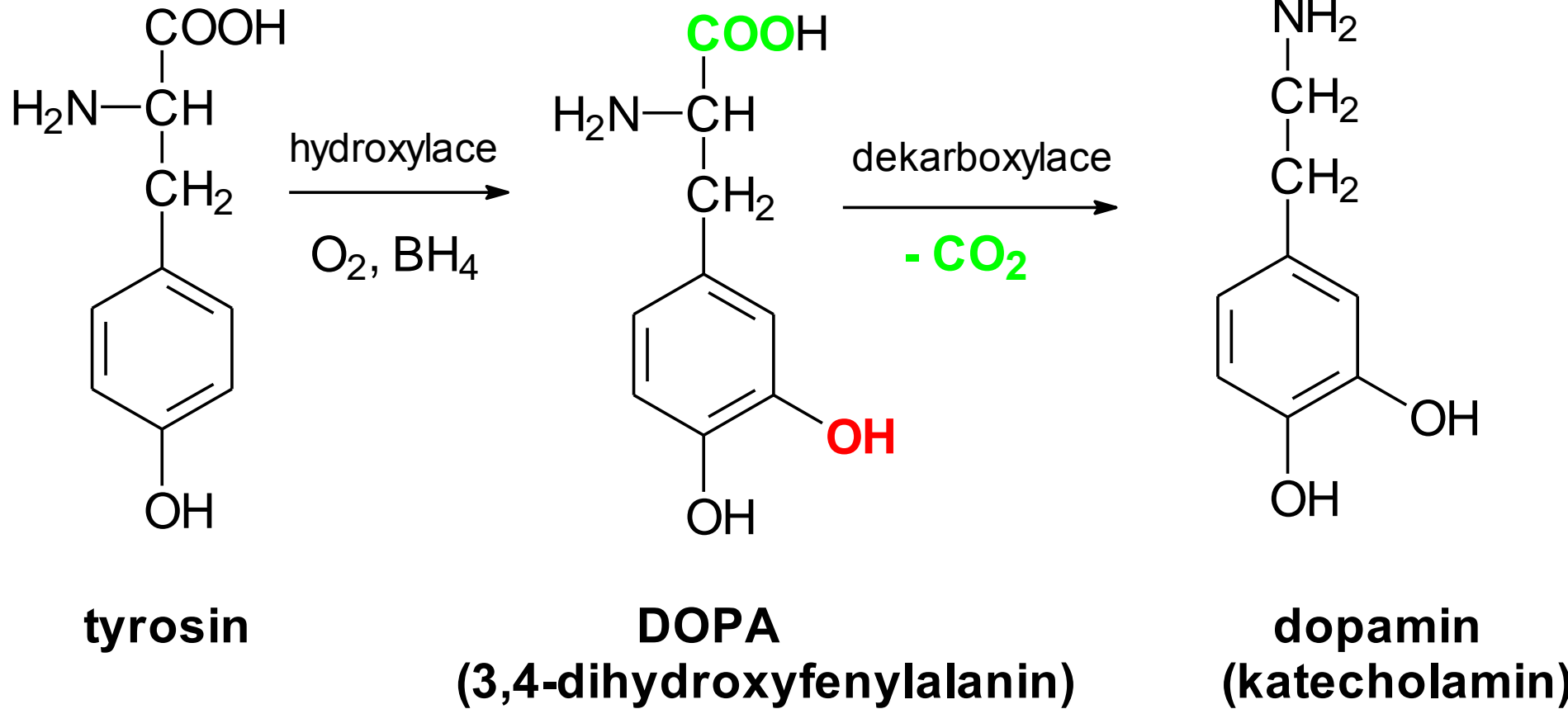


L-aspartyl-L-fenylalanin methyl ester  
(180× sladší jak sacharosa)

# Hydroxylace fenylalaninu poskytuje tyrosin

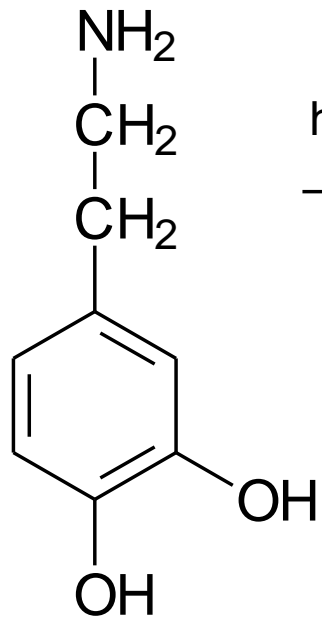


## Z tyrosinu vzniká DOPA a dopamin

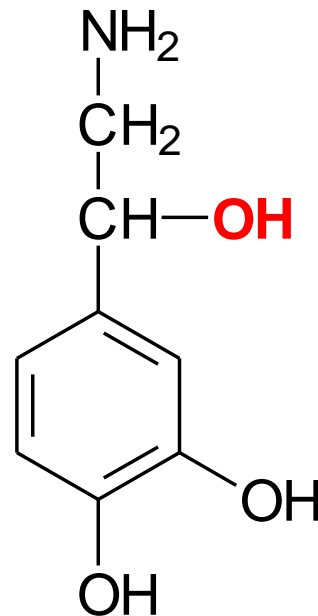
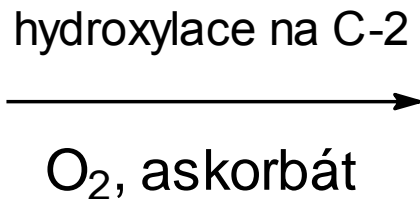




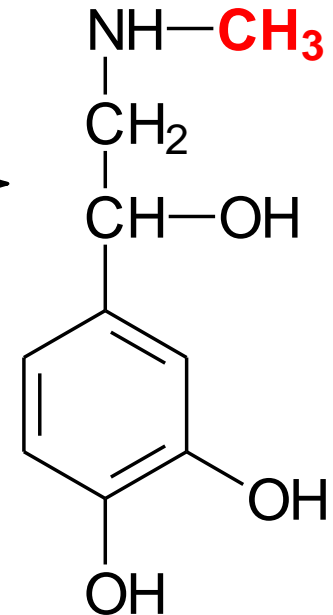
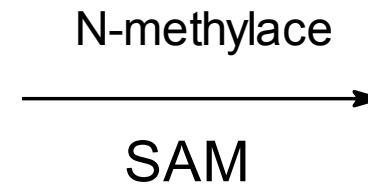
# Další dva katecholaminy z dopaminu



dopamin



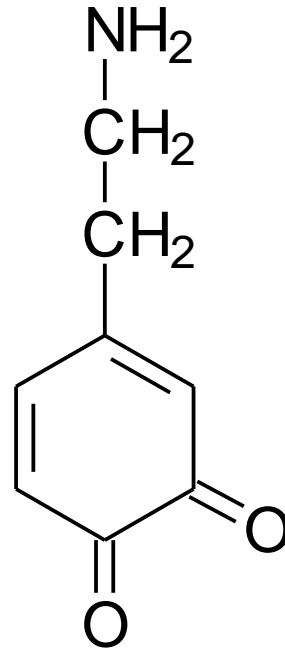
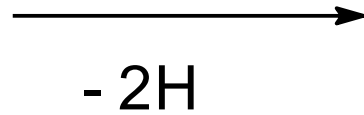
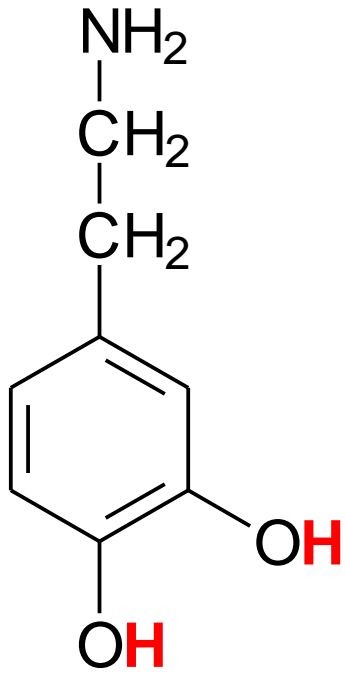
noradrenalin



adrenalin

Předpona *nor-* znamená *N*-demethyl

# Přeměna dopaminu na melanin



kondenzace

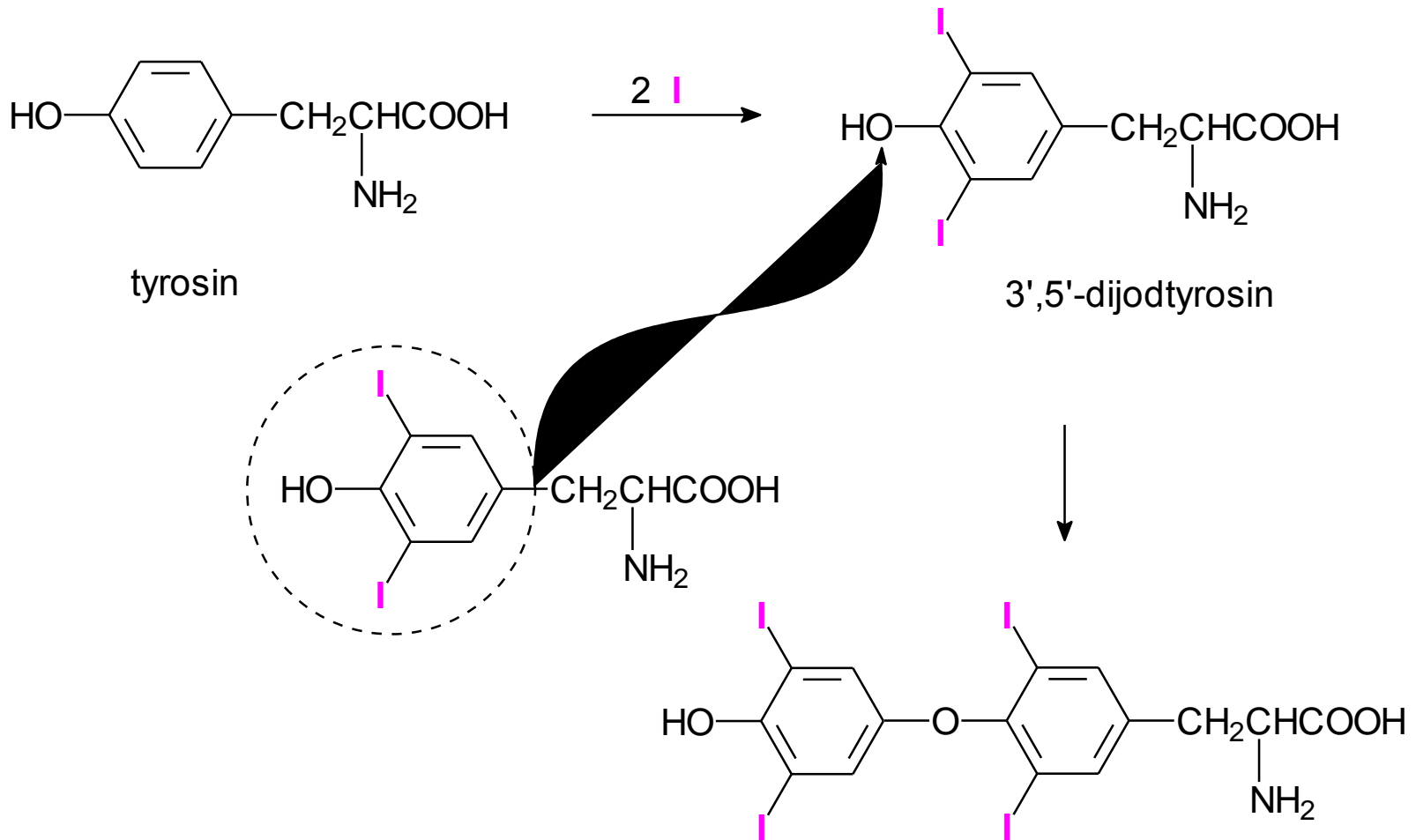


**melanin**

dopamin

dopachinon

# Přeměna tyrosinu na thyroxin



# Fenylalanin, tyrosin - shrnutí

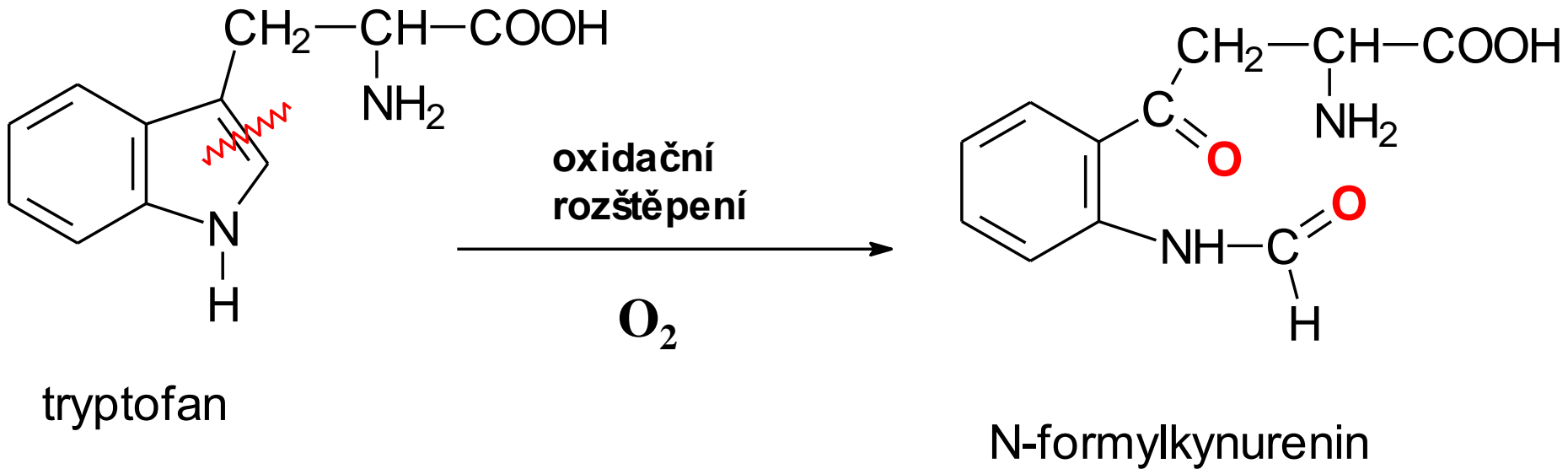
- Fenylalanin je esenciální, tyrosin nikoliv
- Tyr vzniká hydroxylací Phe za účasti tetrahydrobiopterinu
- Katabolismus je společný (smíšené AK)
- Poskytují fumarát – doplňující reakce CC
- Tyrosin se přeměňuje na specializované produkty:

Hormony (katecholaminy, thyroniny)

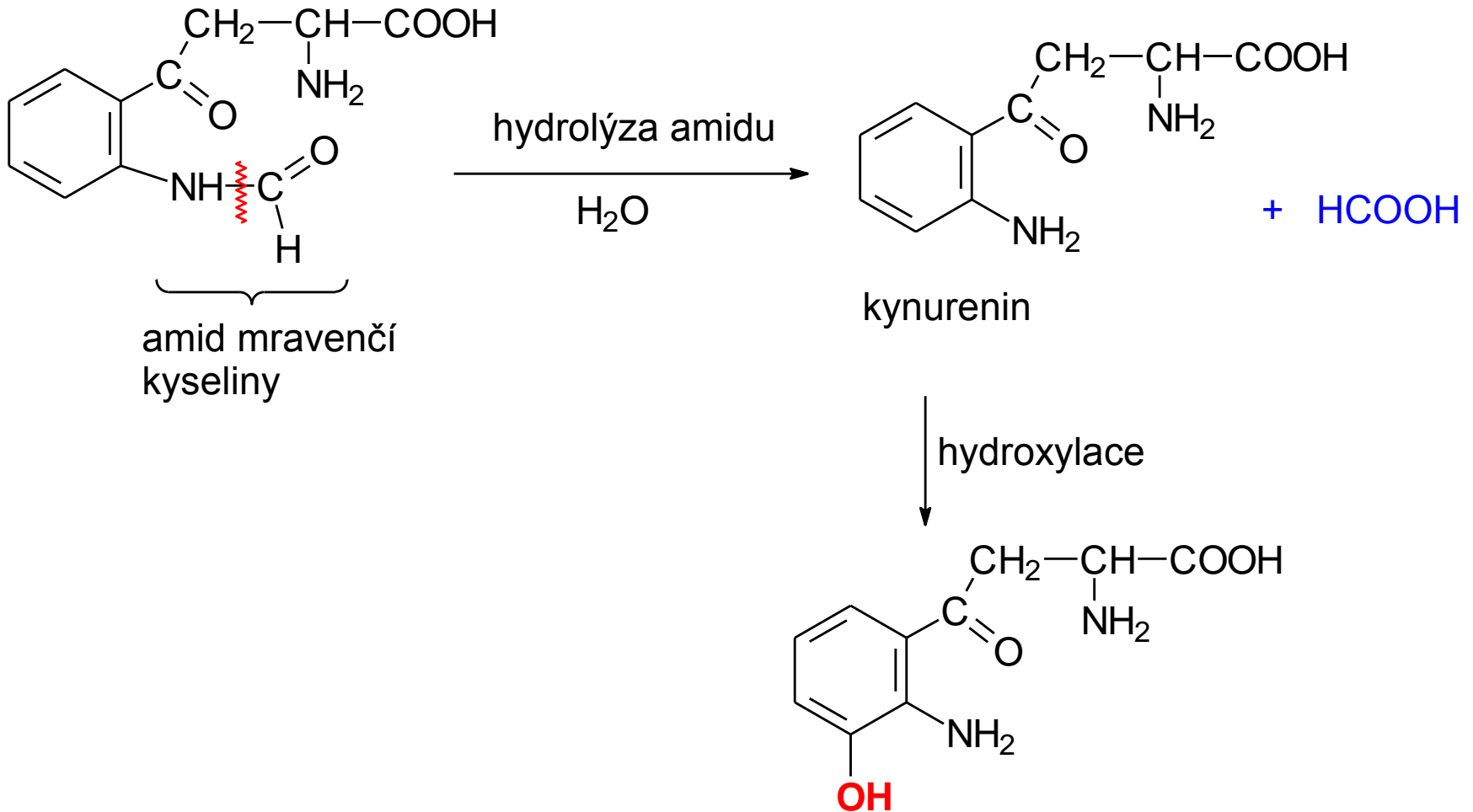
Kožní pigment melanin

Název nemoci	Enzymová porucha	Nález v moči	Symptomy
<b>Hyperfenylalaninemie typu I (fenylketonurie)</b>	fenylalaninhydroxylasa	↑ Phe, fenylypyruvát, fenylacetát, fenyllaktát, fenylacetylglutamin	záchvaty, psychózy, „myší zápach“ způsobený fenylacetátem
<b>Hypertyrosinemie typ II</b>	tyrosintransaminasa	↑ Tyr	
<b>Alkaptonurie</b>	homogentisátoxygenasa	↑ homogentisát	tmavá moč způsobená oxidací homogentisátu na chinon (stáním na vzduchu)
<b>Hypertyrosinemie typ I</b>	fumaroylacetoacetáthydrólasa	↑ Tyr	průjmy, zvracení, „zápach po hlávkovém zelí“
<b>Albinismus</b>	Tyrosinhydroxylasa		absence očních a kožních pigmentů

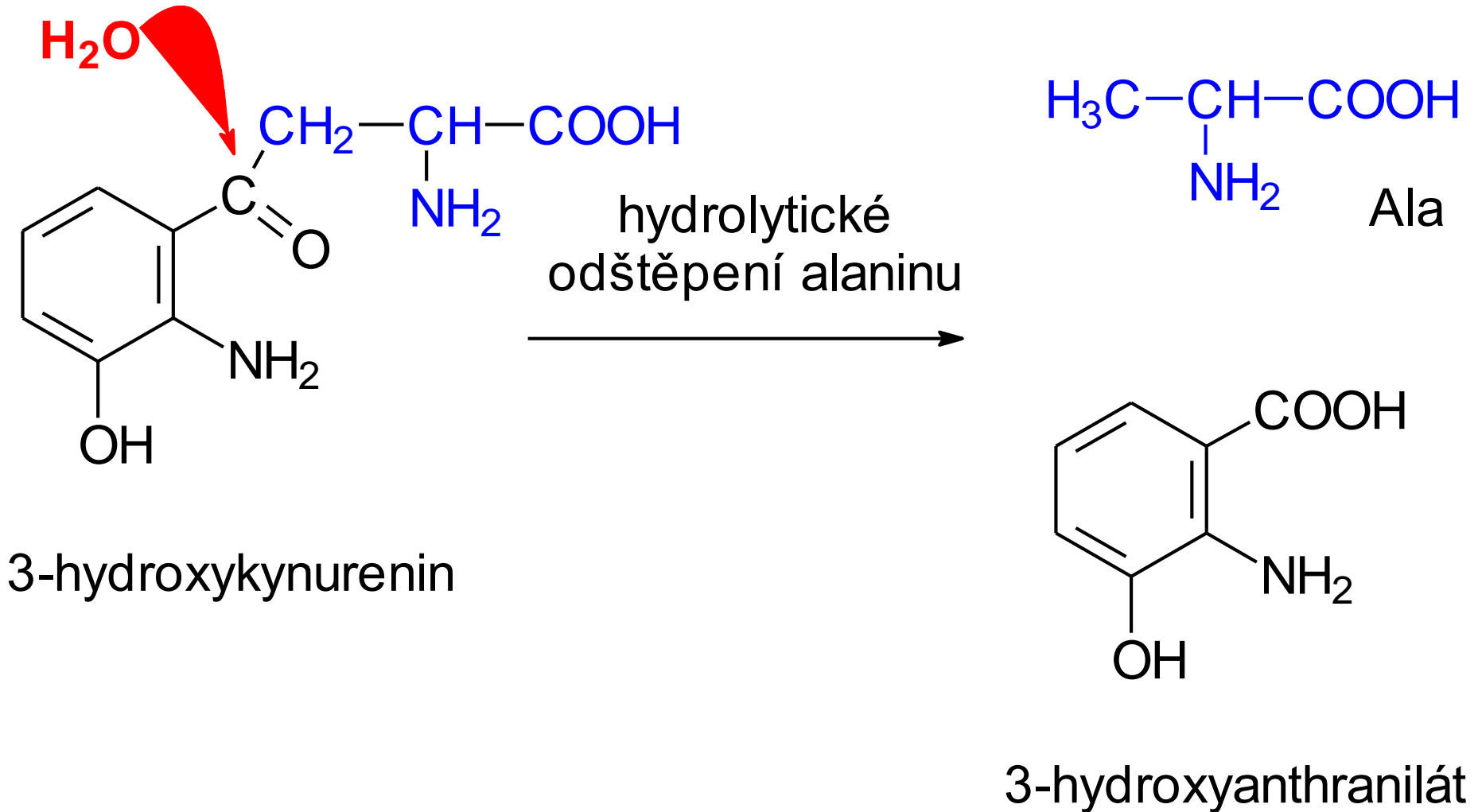
## Odbourání tryptofanu (1)



# Odbourání tryptofanu (2)

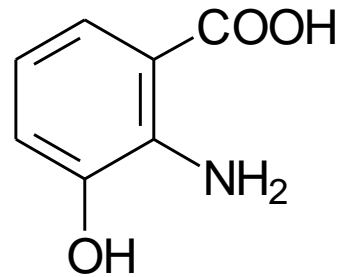


# Odbourání tryptofanu (3)

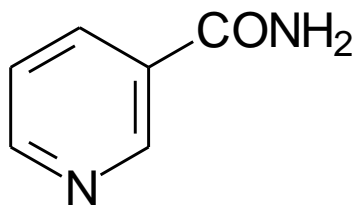
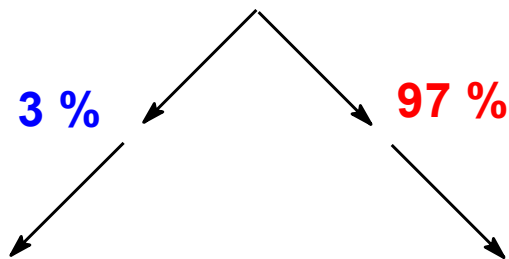




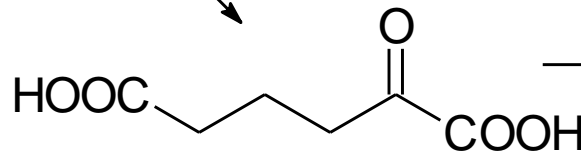
# Odbourání tryptofanu (4)



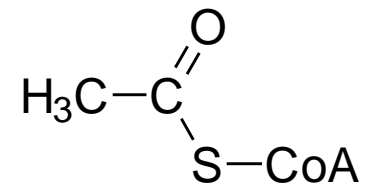
3-hydroxyanthranilát



nikotinamid

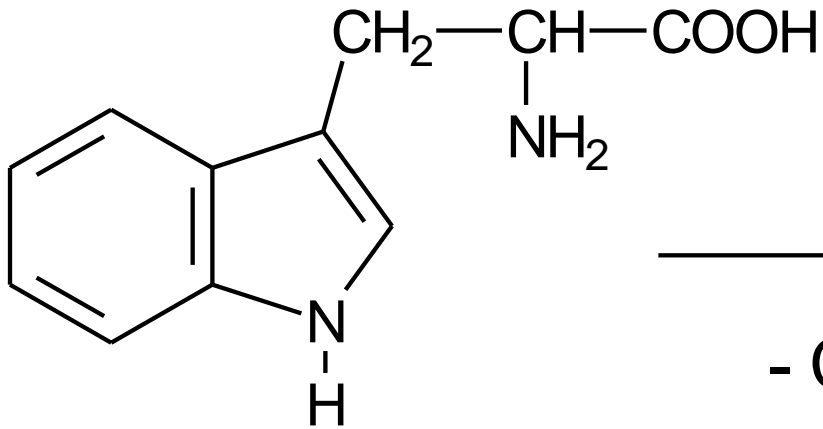


2-oxoadipát

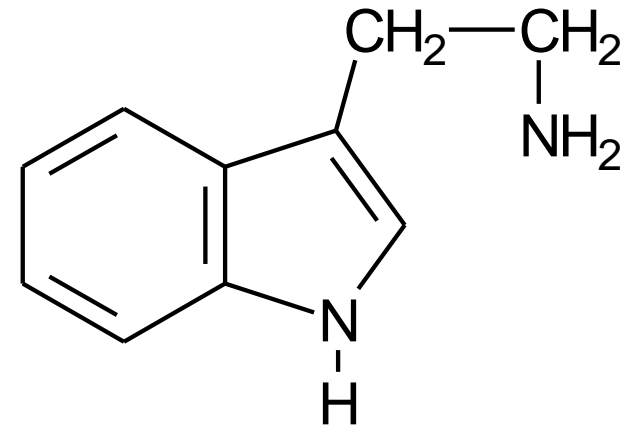
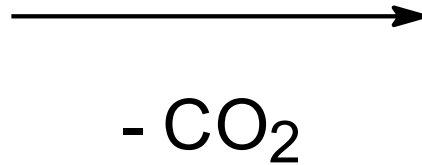


acetyl-CoA

# Dekarboxylace tryptofanu

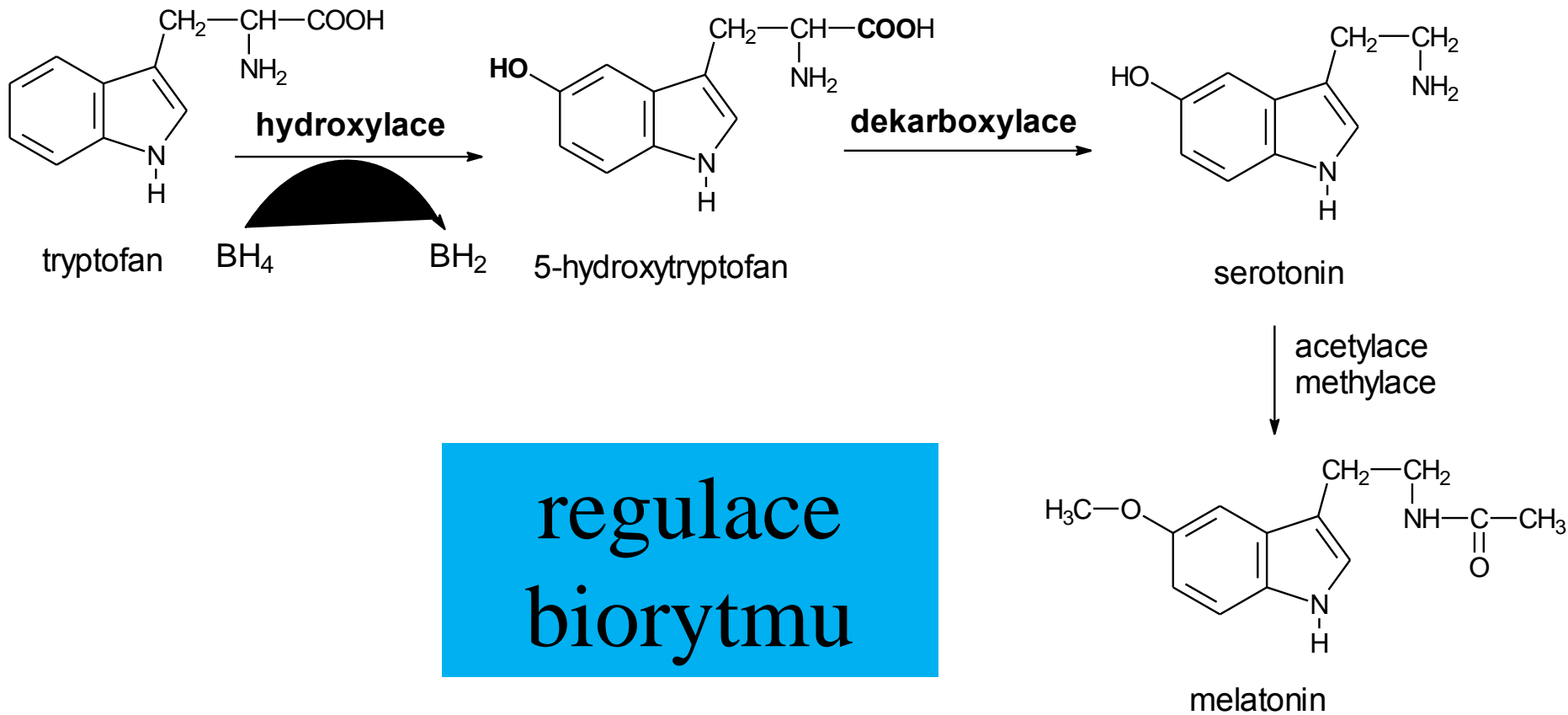


tryptofan



tryptamin

# Přeměna tryptofanu na melatonin



# Tryptofan - shrnutí

- esenciální AK
- komplikovaný katabolismus
- není transaminace, aminoskupiny se zbavuje ve formě alaninu (glukogenní)
- konečný produkt - acetyl-CoA (ketogenní)
- vzniká z něho nikotinamid a  $\text{NAD}^+$
- bakterie tlustého střeva – indol a skatol

# Čtyři vitaminy částečně vznikají v těle

Hydrofilní	Lipofilní
Niacin (z Trp)	Fylochinon (střevní flora)
Biotin (střevní flora)	Kalciol (kůže, UV)

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) !!! NEVSTŘEBÁVÁ SE !!!

# Sedm aminokyselin nepodléhá transaminaci

AMINOKYSELINA	ZPŮSOB ODSTRANĚNÍ $\alpha$ -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> )

# 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

# AK a metabolity-neurotransmitery

**EXCITAČNÍ ÚČINEK**  
(ovládají kationové Na<sup>+</sup>  
kanály)

**GLUTAMÁT**

**ASPARTÁT**

**(ACETYLCHOLIN)**

**INHIBIČNÍ ÚČINEK**  
(ovládají chloridové Cl<sup>-</sup>  
kanály)

**GABA**

**GLYCIN**



# Sedm aminokyselin nepodléhá transaminaci

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

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