

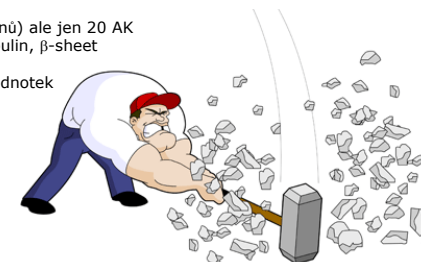
Poruchy metabolismu proteinů a aminokyselin



1

Metabolismus proteinů a AK

- proteiny z AK spojených peptidovou vazbou (CO-NH)
- struktura:
 - primární - 64 trojkombinací 4 nukleotidů (=kodonů) ale jen 20 AK
 - sekundární - vodíkové a disulfidové vazby - globulin, β -sheet
 - terciární - konformace v prostoru
 - kvarterní - asociace několika proteinových podjednotek
- za fyziol. pH většinou negativní náboj
 - pufry (schopnost vázat H^+)
- neustálá obnova a degradace bílkovin spojená s katabolizmem a syntézou AK
 - avšak proteiny se svým poločasem značně liší
 - regulační proteiny, enzymy a transkripční faktory zpravidla několik hodin
 - albumin 10 dní
 - svalové proteiny ~180 dní
 - hemoglobin ~120 dní
 - kolagen několik let
 - obrat u 70 kg člověka cca 300g proteinů/den
 - cca 30g/den za den se spotřebuje na substráty pro syntézu nukleotidů, glukózy, ketolátek a neurotransmiterů
 - cca 35 - 55g/den je oxidováno na vodu, CO_2 a dusík (nenávratně vyloučen jako urea)
- neexistuje zásobní forma proteinů
 - AK "pool" je jen takový, jaká je bezprostřední potřeba
 - zbytek oxidován a vyloučen
- ztráty (a esenciální AK) musí být hrazeny dietním příívodem bílkovin
 - esenciální: His, Val, Leu, Ile, Lys, Met, Thr, Phe, Trp
 - neesenciální AK mohou být vytvořeny zejm. z meziproductů citrátového cyklu
- dusík uvolněný z AK je ve formě amoniaku a amonných solí toxický, proto je v játrech zpracován v **cyklu močoviny** na netoxickou močovinu, která je vyloučena močí



2

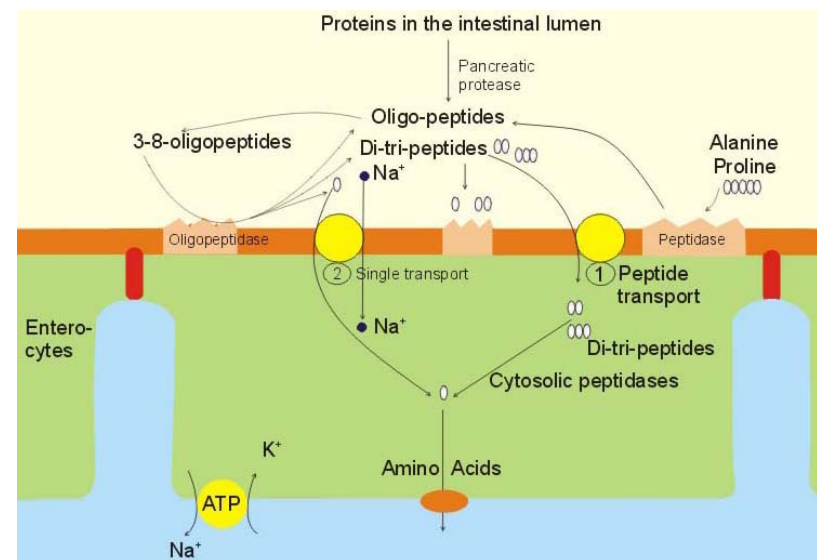
Trávení bílkovin a resorbce AK v GIT

- proteiny v GIT
 - ~50% z potravy
 - ~25% z trávících šťáv
 - ~25% z odloupaných bb. stěvních sliznic
- 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^+ -dependentní transport - akt. transport Na^+ facilitovaná difuze Na^+/AK (=symport)
 - Na^+ -independentní - facilitovaná difuze (=uniport)
- resorbce celých proteinů ve stěvě
 - omezeně možná - prostřednictvím endocytózy a nebo místy odloupaných epitelii
 - využívá se při systémové enzymoterapii (kapsle odolné účinku HCl a pankreatických enzymů)

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

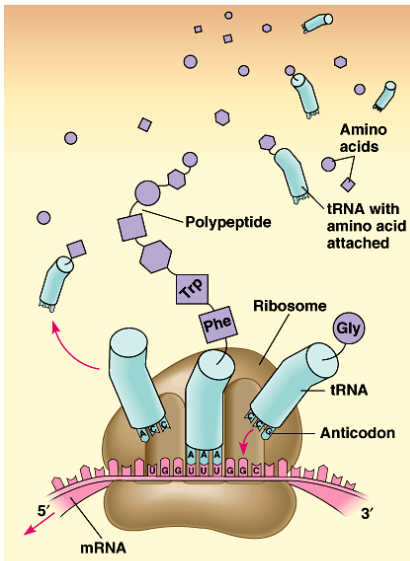
3

Absorpce AK a peptidů ve stěvě



4

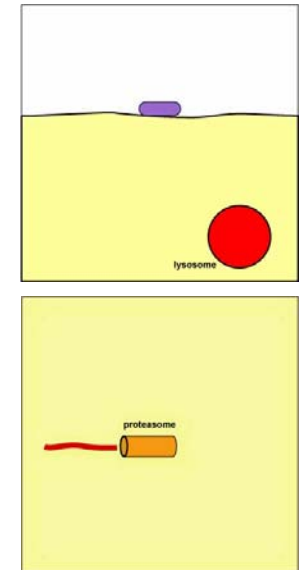
Proteosyntéza



- transkripce
 - rozdvojení dvojšroubovice DNA
 - RNA polymeráza
 - mRNA – v cytoplasmě spojení s ribozomy
 - tRNA – specifická pro každou AK
 - rRNA
- translace
 - přiřazení mRNA kodon / AK-tRNA antikodon
 - tvorba peptidových vazeb enzymy ribozomu
 - probíhá až po terminační kodon mRNA, pro který neexistuje tRNA antikodon
- post-translační modifikace proteinu
 - fosforylace a defosforylace
 - proteinkinázy a fosfatázy na Ser, Tyr a Thr
 - metylace
 - chaperony
 - např. vazba HSP (heat shock proteins) na proteiny jako jejich ochrana před agregací a degradací

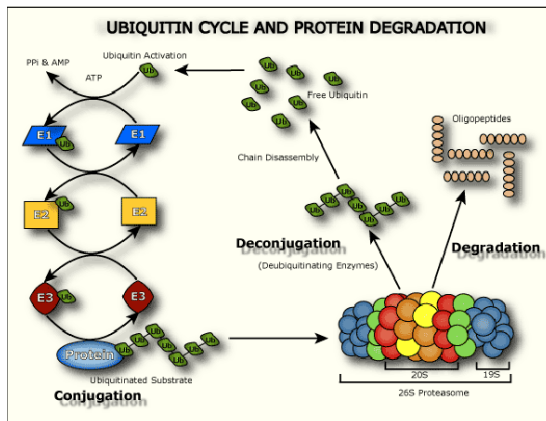
Proteolýza

- pro buňku "riziková" záležitost, proto lokalizovaná do specializovaných struktur
 - kalpains
 - cytoplasmatické kalcium a ATP-dependentní enzymy
 - důležité např. v remodelaci svalů
 - kaspázy
 - cysteinové enoproteázy stěpící za Asp (caspase = cysteine aspartic acid protease)
 - nezbytné pro apoptózu
 - lyzozomy
 - degradace intracelulárních (autofagie organel) i extracelulárních proteinů
 - enzymy kathepsiny (aktivní při nízkém pH → H⁺ ATPáza)
 - proteozomy
 - regulace exprese genů (chrom. proteiny), buněčného cyklu, degradace abnormálních proteinů, degradace sval. proteinů při katabolismu
 - ubiquitin-dependentní proteolýza
 - 2 fáze:
 - označení Lys zbytků proteinu ubiquitem
 - degradace proteozomem na peptidy
 - aktivace cytokiny (IL-6, TNF-α)
 - rozhodující význam při rozvoji kachexie u proteokatabolických stavů



6

Ubiquitin-dependentní proteolýza



- nutné 3 enzymy
 - E1 – ubiquitin-activating enzyme
 - vazba E1 a ATP na ubiquitin
 - E2 – ubiquitin-conjugating enzyme
 - vazba na aktivovaný ubiquitin
 - E3 – ubiquitin-protein ligase
 - přenos ubiquitinů z E2 na substrát
- 26S proteazom
 - za spotřeby ATP degradace označeného proteinu enzymy podobnými chymotrypsinu, trypsinu aj.

7

Lyzozomální choroby

- lyzozomy obsahují zhruba 50 proteolytických enzymů (lyzozomálních hydroláz), které jsou aktivní při kyselém pH, a dále několik membránových proteinů
- mutace v genech pro tyto proteiny jsou podkladem **lyzozomálních chorob se strádáním substrátů** (angl. lysosomal storage diseases, LSD)
 - snížená aktivita lyzozomálních hydroláz vede k akumulaci nedegradovaných metabolitů
 - jednotlivé poruchy se označovaly podle akumulovaného substrátu
 - sfingolipidózy - typ Fabry, Gaucher, Farber, Niemann-Pick a další
 - gangliosidózy - Tay-Sachs a další
 - mukopolysacharidózy - typ Hurler, Hunter, Sanfilippo a další
 - glykogenóza typ II - Pompe
 - ostatní
 - dnes běžná klasifikace podle příčiny – defektního enzymu
 - velmi často je postižen nervový systém (např. demencí), bývá hepatosplenomegalie, postižení ledvin, vývoje kostí, svalová atrofie a oční postižení



8

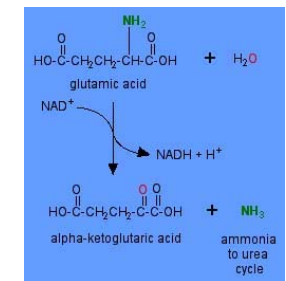
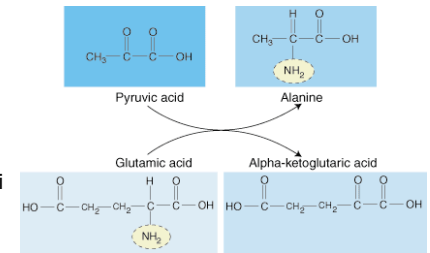
Regulace proteinového metabolismu

- obrat bílkovin zvýšen u zátěžových stavů
 - trauma, sepse, stres, ...
- proteinová bilance = proteosyntéza - proteolýza (+ ztráty)
 - přímé ztráty významné u nefrotického syndromu a popálenin
- dusíková bilance
 - přímé stanovení proteinové bilance na základě proteosyntézy a proteolýzy není jednoduché, proto je pro posouzení běžně užívána dusíková bilance (NB)
 - **NB = I - (U + F + S)**
 - I = přívod N v potravě
 - U = N vyloučený močí
 - F = N vyloučený stolicí
 - S = ztráty potem, odloupaným epitelem a vlasy
 - běžně se zanedbává, představuje asi 1g/den
 - proteinový metabolismus je komplikovaný, protože proteiny jsou nezbytné při anabolických i katabolických stavech (jako enzymy a hormony) - jejich syntéza klesá až při pokročilých stádiích nemoci nebo hladovění
 - na celk. stav organismu (zda je proteo-anabolický nebo -katabolický) mají největší význam proteiny, kterých je nejvíce a mají relativně krátký poločas
 - zejm. proteiny kosterního svalstva, albumin
- neurohumorální regulace
 - sympatikus - na rozdíl proti metabolismu cukrů a lipidů je efekt na proteiny anabolický
 - inzulin, androgeny, růst. hormon, adrenalin - proteoanabolické
 - kortizol, glukagon, T3 - proteokatabolické

9

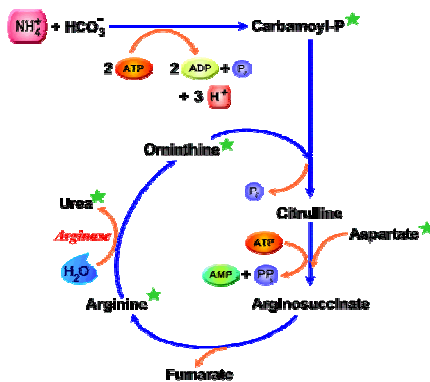
Katabolismus aminokyselin

- katabolismus AK a detoxifikace amoniaku v játrech
- 2 zákl. reakce
 - (A) transaminace = přenos NH_3
 - přeměna jedné AK v druhou transferem NH_3
 - katalyzována aminotransferázami - např. ALT, AST (kofaktorem je pyridoxal (vit. B_6))
 - akceptorem NH_3 je
 - pyruvát
 - oxalacetát
 - α -ketoglutarát
 - (B) oxidativní desaminace = odstranění NH_3
 - glutamátdehydrogenázou z Glu
 - **Glu má tedy v katabolismu AK zvláštní postavení - většina AK může dát transaminací vznik Glu a ten je pak oxidován na amoniak a ketokyselinu**



10

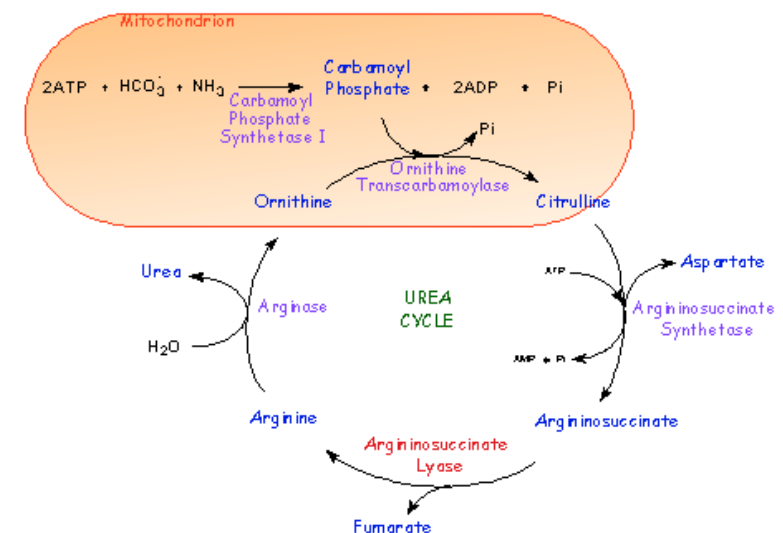
Detoxikace amoniaku a cyklus močovinny



- zdroje amoniaku
 - oxidativní deaminace, glutamátdehydrogenázou z Glu
 - glutaminázou z Gln na Glu
 - degradace purinů a pyrimidinů
 - deaminace účinkem monoaminoxidázy
 - syntéza hemu
 - bakterie v tlustém střevě
- amoniak je $>50\mu\text{mol/l}$ toxický
 - porucha činnosti CNS
- v krvi jako $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$
 - poměr závisí na pH (normálně 99% ionizováno)
 - při alkalóze volný amoniak a tedy toxicita stoupá
- v játrech v cyklu močovinny (= ornitinovém) denně 20 - 40 g urey
 - $\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$
 - 5 enzymů - zčásti v mitochondriích a cytosolu
 - dusík pochází ze 2 zdrojů
 - z reakcí katalyzovaných glutamátdehydrogenázou nebo glutaminázou (tedy z jakákoliv AK)
 - a z aspartátu
- urea odstraňována ledvinami

11

Cyklus močovinny



12

Dieta

- nízkobílkovinová
 - u osob s renálním selháním – omezení koncentrací urey
- vegetariánská/veganská
 - ↓ esenciální AK v proteinech rostlinného původu!
 - Ca, Fe, vit. B₁₂
 - bez suplementace je u dětí a těhotných deficitní



13

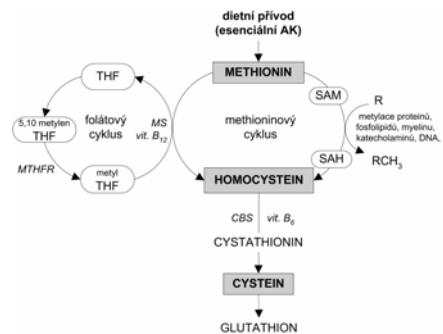
Poruchy metabolismu AK

- vrozené poruchy transportérů aminokyselin
 - **Hartnupova choroba**
 - AR porucha transportéru neutrálních aminokyselin v ledvinných tubulech a tenkém střevě
 - aminoacidurie a zvýšená tvorba indolových látek ve střevě bakteriální degradací neresorbovaného tryptofanu
 - deficit tryptofanu vedou ke kožním změnám (pelagra-like syndrome) a mozečkové ataxii
 - **cystinurie**
 - AR porucha transportéru bazických aminokyselin ve střevě a ledvinných tubulech - porucha střevní, ale zejména renální resorpce
 - cystin, který je ve vyšší koncentraci nerozpustný ve vodě, v moči krystalizuje a vede k tvorbě močových konkrementů (cca 1 - 2 % všech případů nefrolitiázy u dospělých, 10 % u dětí)
- vrozené poruchy metabolismu jednotlivých aminokyselin
 - většinou monogenní AR choroby způsobené defektem genů kódujících enzymy jednotlivých metabolických drah, frekvence v populaci je velmi nízká, nicméně pro svého nositele jsou obvykle velmi závažné
 - **fenylketonurie** (deficit fenylalaninhydroxylázy)
 - akumulace fenylalaninu a jeho derivátů, vážne syntéza tyrozinu
 - neléčená vede k mentální retardaci
 - nutná je dietní restrikce fenylalaninu, tyrozin se stává esenciální aminokyselinou
 - **alkaptonurie** (deficit oxygenázy kyseliny homogentisové)
 - vzácná a poměrně benigní choroba postihující metabolismus tyrosinu
 - vede k akumulaci homogentisátu, který pigmentuje chrupavky a pojivo (ochronóza) a způsobuje postižení kloubů během dospělosti
 - **albinismus** (deficit tyrozinázy)
 - porucha přeměny tyrozinu na melanin
 - postihuje kůži, kožní deriváty a duhovku, může vést k fotosenzitivitě a ireverzibilnímu poškození
 - **homocystinurie** (deficit cystathionin-β-syntázy)
 - porucha metabolismu cysteinu, která vede ke zvýšeným hladinám homocysteinu
 - postižení trpí předčasnou aterosklerózou

14

Hyperhomocysteinemie

- homocystein je meziprodukt přeměny methioninu v methioninovém cyklu
 - je buď dále metabolizován na cystein
 - nebo remetylován zpět na methionin (ve folátovém cyklu)
- nutná přítomnost několika enzymů a jejich kofaktorů (vitaminů skupiny B, kyseliny listové)
- důvodem poruchy metabolismu homocysteinu a následné HHcy mohou být genetické a nutriční faktory
 - mutace v genech kódujících enzymy
 - snížený příjem vitamínu B₆, B₁₂ a kyseliny listové
- HHcy =patologické zvýšení plazm. koncentrace homocysteinu
- HHcy je nezávislým rizikovým faktorem aterosklerózy a tromboembolizmu, poruch fertility a některých vývojových a neurologických abnormalit (rozštěpové vady páteře)
- homocystein způsobuje endotelovou dysfunkci a iniciuje apoptózu
- (A) monogenní homocystinurie
 - deficit cystathionin-β-syntázy vede v homozygotním stavu ke značné elevaci plazmatických hladin Hc
 - poměrně vzácné onemocnění
- (B) tzv. mírná hyperhomocysteinemie
 - polymorfismus v genu pro metylenetetrahydrofolátreduktázu (MTHFR)



15