

Razgradnja aminokiselina-1

B. Mildner

Razgradnja aminokiselina

Uz ugljikohidrate i lipide, aminokiseline su treća vrsta spojeva kojima organizam oksidativnom razgradnjom dobiva značajnu količinu energije.

Udio metaboličke energije koju organizam dobiva katabolizmom aminokiselina varira obzirom na vrstu organizma kao i o metaboličkom stanju organizma.

Mesojedi mogu zadovoljiti i do 90% energetske potrebe katabolizmom aminokiselina, dok biljojedi dobivaju vrlo malo energije razgradnjom aminokiselina. Većina mikroorganizama zadovoljava energetske potrebe time što apsorbiraju slobodne aminokiseline.

Biljke vrlo rijetko razgrađuju aminokiseline kako bi zadovoljile energetske potrebe. Katabolizam aminokiselina odvija se u biljkama ali svrha razgradnje aminokiselina u biljkama je da se razgradnjom aminokiselina dobiju preteče potrebne za biosintezu drugih vrsta makromolekula.

Potrebe za esencijalnim aminokiselinama organizam namiruje ili hranom ili razgradnjom staničnih proteina

TABLE 23.1 Essential amino acids in human beings

Histidine
Isoleucine
Leucine
Lysine
Methionine
Phenylalanine
Threonine
Tryptophan
Valine

Table 23-1
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Unos esencijalnih aminokiselina, aminokiselina koje organizam ne može sintetizirati, naročito je značajan. Proteini koji se unose hranom u procesu probave razgrađuju se u kratke peptide i slobodne aminokiseline. Ove razgradne produkte apsorbiraju epitelne stanice crijeva te ulaze u krv. Osim hranom, slobodne aminokiseline dobivaju se hidrolizom staničnih proteina.

Oksidativna razgradnja aminokiselina

Životinje razgrađuju aminokiseline u tri različita metabolička stanja:

- (1) Tijekom razgradnje staničnih proteina neke aminokiseline, koje se oslobađaju hidrolizom proteina, organizmu nisu potrebne pa se oksidativno razgrađuju.
- (2) Kada je prehrana bogata aminokiselinama, te količina unesenih aminokiselina premašuje potrebe organizma za sintezu proteina, aminokiseline se razgrađuju jer organizam ne može pohranjivati slobodne aminokiseline.
- (3) Tijekom gladovanja kao i u nekontroliranom dijabetesu, kada se ugljikohidrati (glukoza) ne mogu koristiti, stanični proteini se koriste kao metaboličko gorivo.

Bez obzira na metaboličko stanje organizma u **razgradnji aminokiselina, aminokiselinama se uvijek prvo uklanja amino skupinu te nastaju α -keto kiseline koje se oksidiraju do CO_2 i H_2O ili, što je još važnije, ugljikovi skeleti nastalih α -keto kiselina pretvaraju se u jedinice od tri ili četiri ugljikova atoma koji se koriste u procesu glukoneogeneze za dobivanje glukoze.**

Pregled razgradnje aminokiselina u sisavaca

Razgradnjom oslobođene amino skupine kao i skeleti ugljikovih atoma ulaze u različite metaboličke putove koji se međusobno povezuju.

Svaka aminokiselina sadrži amino skupinu te metabolizam aminokiselina uključuje reakciju u kojoj se α -amino skupina uklanja s ugljikovog skeleta. Oslobođeni amonijev ioni ulaze u druge biosintetske putove ili se uklanjaju. Amonijak je toksičan te različiti organizmi uklanjaju višak amonijaka na različite načine. Ugljikovi skeleti, ovisno o metaboličkom stanju organizma, ili se dalje oksidativno razgrađuju ili se koriste kao međuprodukti koji ulaze u druge biosintetske procese.

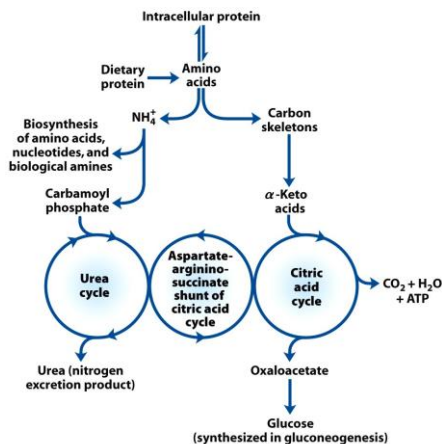


Figure 18-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Dušik je rasprostranjen u atmosferi ali je previše inertan da bi se mogao koristiti u većini biokemijskih reakcija. Samo mali broj mikroorganizama može iskoristiti i prevesti N_2 u NH_3 koji se može iskoristiti u biokemijskim reakcijama.

Stanični proteini razgrađuju se različitim brzinama

Iako su neki stanični proteini vrlo stabilni, proteini koji sudjeluju u regulacijama metabolizma imaju vrlo kratko vrijeme poluživota. Isto tako stanice uklanjaju oštećene proteine i ovi proteini moraju se ukloniti prije nego što se nakupe i agregiraju.

Vremena poluživota različitih proteina jako su različita. Npr. ornitin dekarboksilazi vrijeme poluživota iznosi 11 minuta, dok je vrijeme poluživota hemoglobina vrlo dugo, tj. ovisi o vremenu života eritrocita, a vrijeme života kristalina proteina u leći oka, ovisi o vremenu života organizma.

Vremena poluživota proteina ovisi o aminokiselinama na NH_3 -kraju proteina

Highly stabilizing residues ($t_{1/2} > 20$ hours)

Ala	Cys	Gly	Met
Pro	Ser	Thr	Val

Intrinsically destabilizing residues ($t_{1/2} = 2$ to 30 minutes)

Arg	His	Ile	Leu
Lys	Phe	Trp	Tyr

Destabilizing residues after chemical modification ($t_{1/2} = 3$ to 30 minutes)

Asn	Asp	Gln	Glu
-----	-----	-----	-----

Source: J. W. Tobias, T. E. Schrader, G. Rocap, and A. Varshavsky. *Science* 254(1991):1374-1377.

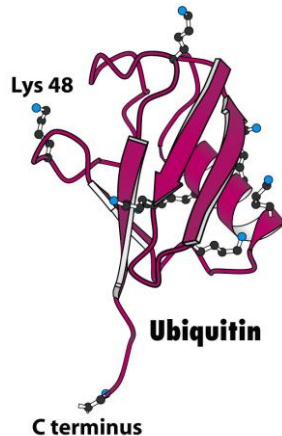
Table 23-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Razgradnja staničnih proteina

Struktura ubikvitina

Ubikvitin je biljeg kojim se obilježavaju stanični proteini koji će se razgraditi.

Izdugi C-terminalni kraj ubikvitina povezuje se na proteine "osuđene" za razgradnju. Na slici, označeni su i lizini ubikvitina, uključujući i lizin 48, koji je glavna poveznica s dodatnim ubikvitinima, te nastaje poli-ubikvitinski biljeg na proteinu kojeg se treba razgraditi.



Karboksilni kraj ubikvitina, glicin, kovalentno se veže za jedan lizinski ostatak koji se nalazi na proteinu kojeg stanica želi razgraditi.

Figure 23-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Razgradnja staničnih proteina

Tri enzima sudjeluju u procesu vezivanja ubikvitina za protein: ubikvitin aktivirajući enzim, **E1**; ubikvitin konjugirajući enzim, **E2**; ubikvitin-protein ligaza, **E3**.

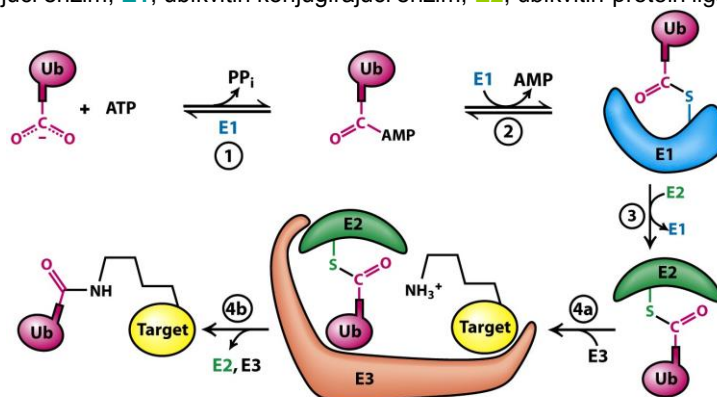


Figure 23-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

E1 adenilira ubikvitin (1) i prenosi ubikvitin na jedan od vlastitih cisteina (2). Ubikvitin se prenosi na cisteinski ostatak **E2** (3); Ubikvitin protein ligaza, **E3**, povezuje ubikvitin s lizinskim ostatkom proteina kojeg se želi razgraditi (4a i 4b).

Razgradnja staničnih proteina 20S proteasom (“katalitička bačva”)

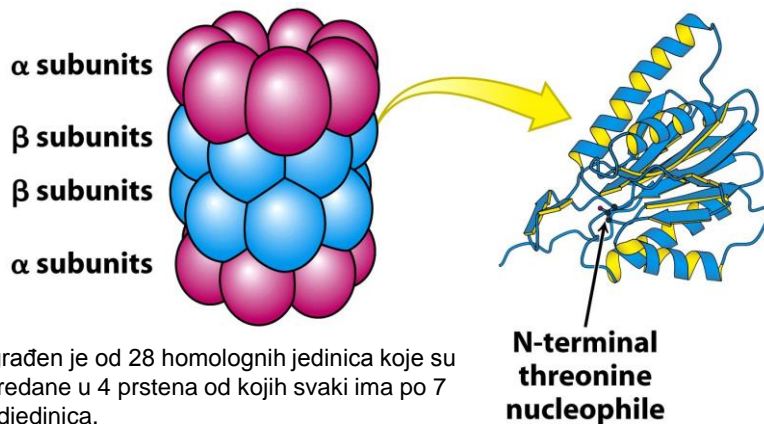


Figure 23-5
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Razgradnja staničnih proteina 26 S proteasom

(19S “kapa” priljubljena je sa svake strane katalitičkog 20S proteasoma)

19S kompleks se specifično veže za poliubikvitinirane lance i time osigurava da će samo ubikvitinirani proteini biti razgrađeni. Osnovne komponente 19S kompleksa su šest ATPaza AAA vrste (ATPase associated with various cellular activities). Hidroliza ATP pomaže 19S kompleksu da razmoti supstrat i da pripremi 20S katalitičku jedinicu za ulazak supstrata.

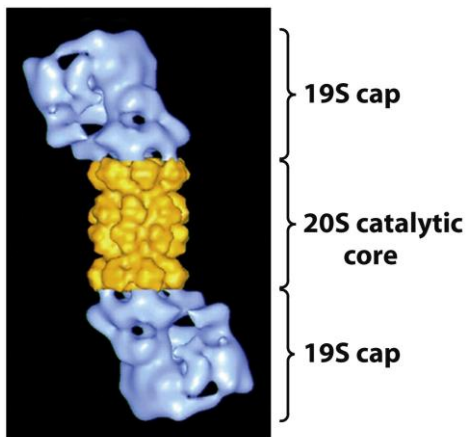


Figure 23-6
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Stanični procesi reguliraju se razgradnjom proteina

Procesi koji se reguliraju razgradnjom staničnih proteina

Transkripcija gena
 Progresija staničnog ciklusa
 Organogeneza
 Cirkadijski ciklusi
 Upale
 Supresija tumora
 Sinteza kolesterola
 Razgradnja i procesiranje antigena

© 2007 W. H. Freeman and Company

Razgradnjom proteina u proteasomima te dodatnom razgradnjom peptida s drugim proteazama oslobađaju se slobodne aminokiseline

Ubikvitinirani protein razgrađuje se do peptida a ubikvitin se oslobađa. Peptidi se razgrađuju do slobodnih aminokiselina. Aminokiseline se koriste za biosintezu novih proteina ili se s aminokiselina uklanja amino skupina te se dušik uklanja kao ureja. Ugljikov skelet može se iskoristiti za sintezu ugljikohidrata ili masti, ili se može direktno oksidirati do CO_2 i H_2O .

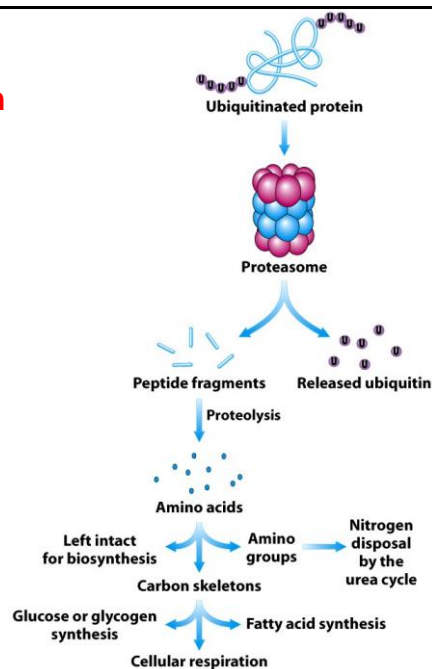


Figure 23-7
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Probava proteina

Prikazan je dio humanog probavnog trakta

Probavom proteina dobiva se značajna količina slobodnih aminokiselina koje se koriste ili za sintezu proteina ili za metaboličke potrebe.

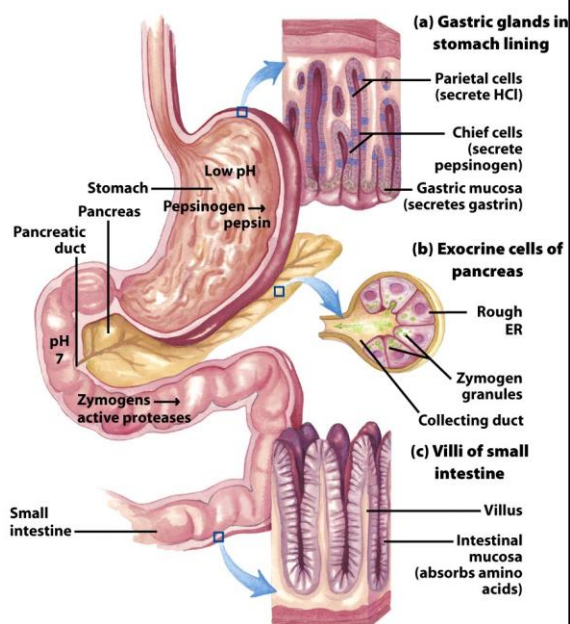
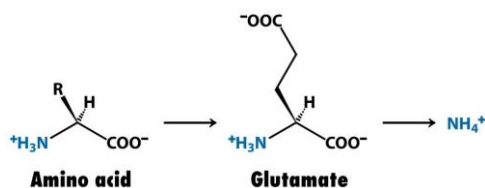


Figure 18-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi je korak u katabolizmu aminokiselina

α -aminoskupina mnogih aminokiselina prenosi se na α -ketoglutarat pa nastaje glutamat. Oksidativnom deaminacijom uklanja se amonijev ion iz glutamata te ponovno nastaje α -ketoglutarat, a amonijev ion se izlučuje.



Unnumbered Figure pg 656a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Aminotransferaze (transaminaze) prenose amino skupine s aminokiselina na α -ketoglutarat te nastaje glutamat.



Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi je korak u katabolizmu aminokiselina

Alanin aminotransferaza i aspartat aminotransferaza tipični su predstavnici aminotransferaza.

alanin + α -ketoglutarat \leftrightarrow piruvat + glutamat

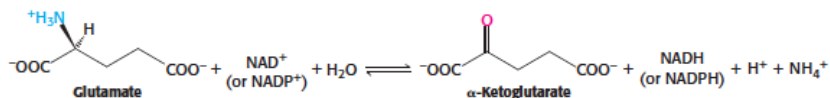
aspartat + α -ketoglutarat \leftrightarrow oksaloacetat + glutamat

Reakcije aminotransferaza su reverzibilne te se mogu koristiti za sinteze aminokiselina iz α -ketokiselina.

Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi je korak u katabolizmu aminokiselina

α -amino skupine pretvaraju se u amonijeve ione oksidativnom deaminacijom glutamata.

Glutamat dehidrogenaza, mitohondrijski enzim, oslobađa NH_4^+ oksidativnom deaminacijom glutamata.



Oksidativna deaminacija

(uklanjanje amino skupina s glutamata u mitohondrijima hepatocita)

Amino skupine aminokiselina prikupljaju se u jetrima u obliku glutamata. Prije nego što se izluče kao amonijak, amino skupine se moraju ukloniti s glutamata. U hepatocitima, glutamat se transportira iz citoplazme u mitohondrije. U mitohondrijima se **oksidativnom deaminacijom** uklanjaju amino skupine. Reakciju katalizira **glutamat dehidrogenaza**.

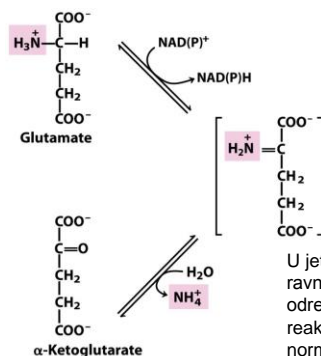


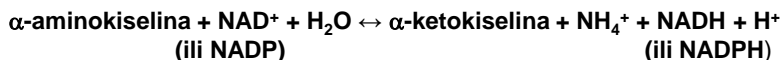
Figure 18-7 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition © 2008 W. H. Freeman and Company

Dušikov atom u glutamatu, oksidativnom deaminacijom prevodi se u slobodni amonijev ion. Ovu reakciju katalizira glutamat dehidrogenaza. **Neobičajeno je, ali glutamat dehidrogenaza sisavaca, može koristiti i NAD⁺ i NADP⁺.**

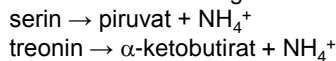
U jetrima, reakcija je gotovo u ravnoteži, pa se smjer reakcije određuje ovisno o koncentracijama reaktanta odnosno produkta. U normalnim uvjetima reakcijom se uklanjaju amonijevi ioni. **Glutamat dehidrogenaza je mitohondrijski enzim** kao i neki drugi enzimi potrebni za sintezu ureje. Enzim se nalazi u mitohondriju, što je povoljno, budući da je amonijev ion toksičan za stanicu.

Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi je korak u katabolizmu aminokiselina

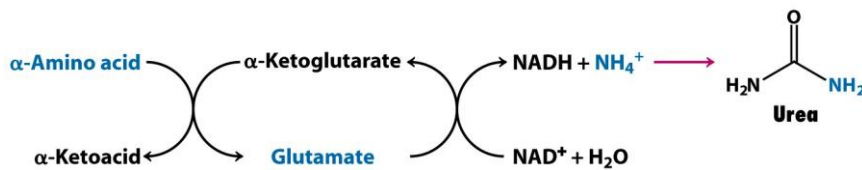
Ako zbrojimo reakcije koje kataliziraju aminotransferaze (citoplazma) i glutamat dehidrogenaza (mitohondrij), dobiva se:



Neke se aminokiseline mogu direktno deaminirati:



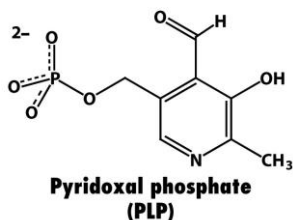
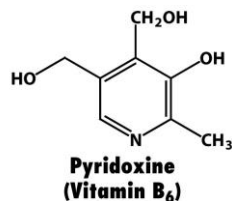
U većini kralježnjaka NH₄⁺ se prevodi u ureju koja se zatim izlučuje urinom.



Unnumbered figure pg 657b Biochemistry, Sixth Edition © 2007 W. H. Freeman and Company

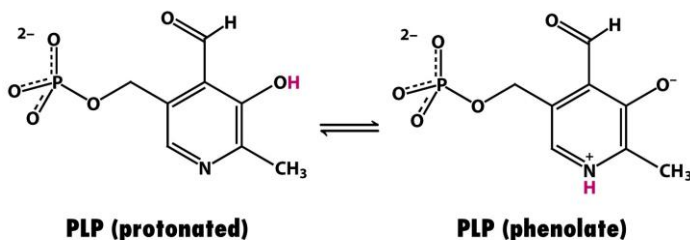
Mehanizam djelovanja aminotransferaza

Kao prostetsku skupinu, sve aminotransferaze imaju piridoksal fosfat (PLP). Piridoksal fosfat potječe od vitamina B₆, odnosno piridoksina.



Unnumbered figure pg 657c
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

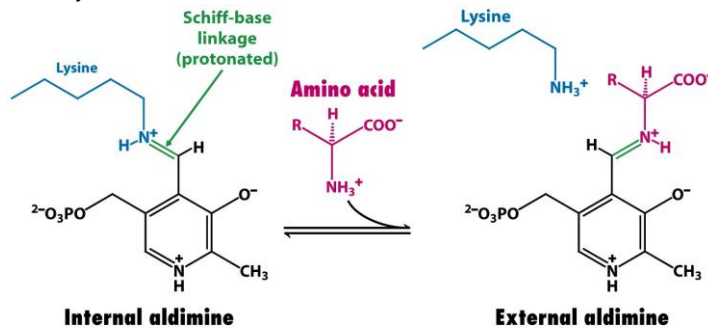
Piridinski prsten piridoksal fosfata je slabo bazičan, a fenolna (hidroksilna) skupina je slabo kiselela. Zbog toga piridoksal fosfat može biti u tautomernom obliku gdje je piridinski prsten protoniran, pa prema tome i pozitivno nabijen, a fenolna skupina je negativno nabijena.



Unnumbered figure pg 657d
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Najvažnija funkcionalna skupina piridoksal fosfata je aldehidna skupina. U reakcijama aminotransferaza, aldehidna skupina PLP-a čini međuprodukt, stabilnu Schiffovu bazu s aminokiselinama. Čak i kada aminokiselina (supstrat) nije prisutna, aldehidna skupina PLP tvori Schiffove baze s ε-amino skupinom lizinskog ostatka koji se nalazi u aktivnom središtu aminotransferaze.

U reakciji aminotransferaza α -amino skupina aminokiseline supstrata istiskuje i uklanja ϵ -aminoskupinu lizina u aktivnom središtu, i tvori Schiffovu bazu s aldehidnom skupinom PLP-a. Prostetska skupina ostaje čvrsto vezana za enzim jer može raditi višestruke nekovalentne interakcije.



Unnumbered figure pg 658a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Aldimin s lizinom proteina aminotransferaze (“unutarnji aldimin”)

Aldimin s aminokiselinom, supstratom (“vanjski aldimin”)

Mehanizam reakcije transaminacije:

- (1) “vanjski” aldimin (aldimin s aminokiselinom, supstratom) gubi proton te nastaje kinonoidni međuprodukt;
- (2) aldehidna skupina kinonoidnog međuprodukta se protonira pa nastaje ketimin;
- (3) hidrolizom ketimina oslobađa se α -aminoskupina i nastaje piridoksamin fosfat, a oslobađa se keto-kiseline.

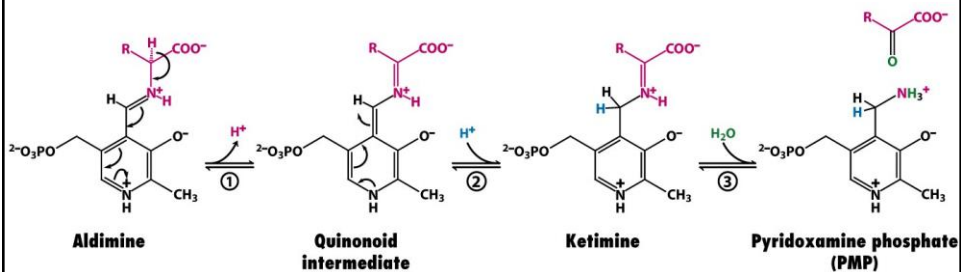


Figure 23-11
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Enzimi koji kao prostetsku skupinu vežu piridoksal fosfat kataliziraju mnogobrojne reakcije. Na α -C atomu aminokiselina ovi enzimi kataliziraju dekarboksilacije, deaminacije, racemizacije i cijepanje aldola. Na β - i γ -C atomima aminokiselina PLP enzimi kataliziraju eliminacijske i supstitucijske reakcije.

Tri su zajedničke značajke ovih raznovrsnih reakcija:

1. Uvijek nastaje Schiffova baza između amino skupine aminokiseline supstrata i PLP.
2. PLP je elektrofilni katalizator (PLP je "spremište" elektrona).
3. Schiffova baza se cijepa kada je završena katalitička reakcija.

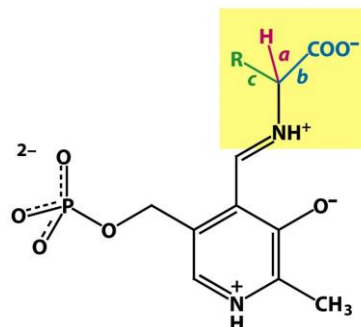


Figure 23-13
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

PLP enzimi cijepaju jednu od 3 veza na α -C atomu aminokiseline supstrata. Npr. vezu **a** cijepaju aminotransferaze, vezu **b** dekarboksilaze, a vezu **c** aldolaze.

Određivanje selektivnosti katalitičkog cijepanja pojedine veze. U pravilu, PLP enzimi cijepaju onu vezu koja je gotovo okomita na benzenski prsten piridoksal fosfata.

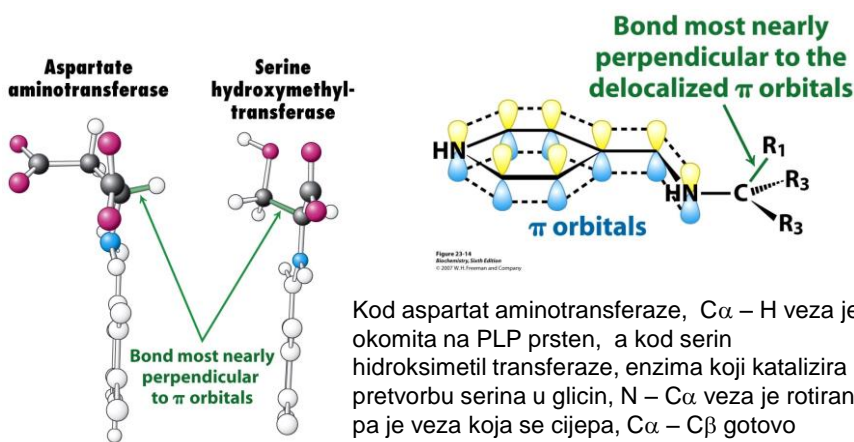


Figure 23-14
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Kod aspartat aminotransferaze, $C\alpha - H$ veza je okomita na PLP prsten, a kod serin hidroksimetil transferaze, enzima koji katalizira pretvorbu serina u glicin, $N - C\alpha$ veza je rotirana pa je veza koja se cijepa, $C\alpha - C\beta$ gotovo okomita na PLP prsten. Način na koji enzim bira koju će vezu cijepati nazivamo **stereoelektronskom kontrolom**.

Figure 23-15
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Glukoza-alaninski ciklus

(transport amino skupina pomoću alanina)

U mišićima i u drugim organima koji razgrađuju proteine kako bi zadovoljili energetske potrebe, amino skupine se sakupljaju transaminacijom u obliku glutamata. U mišićima, glutamat se može pretvoriti u glutamin, koji se transportira krvotokom u jetra, ili glutamat može prenjeti svoju amino skupinu na piruvat, proizvod koji se nakuplja u mišićima tijekom glikolize. Prijenos amino skupine s glutamata na piruvat katalizira alanin aminotransferaza. Nastali alanin, prenosi se krvotokom u jetra. U citoplazmi hepatocita alanin aminotransferaza prenosi amino skupinu alanina na α -ketoglutarat pa nastaje glutamat, a gubitkom amino skupine iz alanina, u jetrima nastaje piruvat. Piruvat u jetrima ulazi u glukoneogenezu, a glutamat u ciklus ureje.

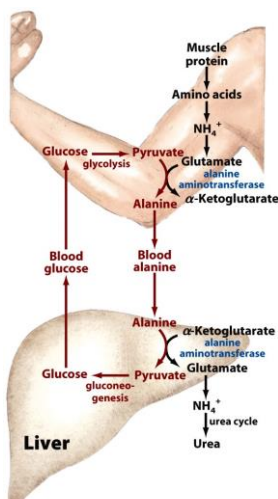


Figure 18-9
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

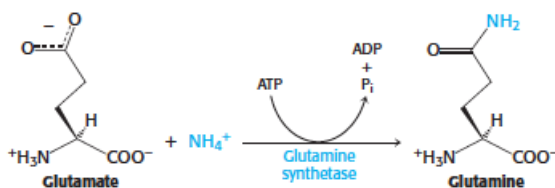
Tijekom dugotrajne vježbe kao i prilikom gladovanja mišići koriste razgranane aminokiseline kao metaboličko gorivo. Dušik se iz tih aminokiselina sakuplja kao glutamat, a reakciju kataliziraju aminotransferaze koje nisu srodne jetrenim aminotransferazama. Amino skupina s glutamata prenosi se na alanin pomoću alanin aminotransferaze. Alanin se krvotokom transportira u jetra.

Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi korak u katabolizmu aminokiselina

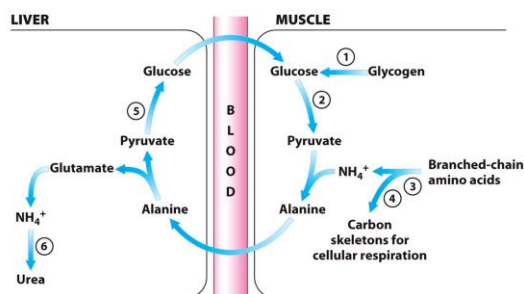
Dušik se iz perifernih tkiva prenosi u jetra.

Mišići razgrađuju razgranane aminokiseline kako bi dobili dodatnu energiju. Dušik s razgrananih aminokiselina prenosi se u jetra pomoću glukoza-alaninskog ciklusa.

Iz drugih perifernih organa, prije nego što se krvotokom transportira u jetra, dušik se ugrađuje u glutamin, a reakciju katalizira **glutamin sintetaza**.



Uklanjanje dušika s aminokiselina prvi je korak u katabolizmu aminokiselina



Active pathways:

1. Glycogen breakdown, Chapter 24
2. Glycolysis, Chapter 16
3. Citric acid cycle, Chapter 18
4. Oxidative phosphorylation, Chapter 20
5. Gluconeogenesis, Chapter 17
6. Urea cycle, Chapter 30

Figure 30.1
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Glukoza-alaninski ciklus.

Tijekom duljeg napornog rada ili gladovanja, mišići razgrađuju razgranane aminokiseline kako bi dobili energiju. Dušik se iz ovih aminokiselina prenosi prvo na α -ketoglutarat te nastaje glutamat koji zatim predaje amino skupinu piruvatu te nastaje alanin. Alanin se krvotokom transportira u jetra. U jetrima, alanin se ponovno pretvara u piruvat kako bi se omogućila glukoneogeneza.

Transport amonijevih iona krvotokom

Višak amonijevih iona u perifernim tkivima ugrađuje se u glutamat pomoću **glutamin sintetaze**. Reakcija se odvija u dva koraka, a za sintezu prvog međuprodukta, γ -glutamil fosfata, potreban je ATP.

U nekim perifernim tkivima, oslobađa se NH_4^+ tijekom metabolizma nukleotida te se krvotokom mora transportirati do jetara. Kao transporter amonijaka koristi se glutamin. Dok je glutamat bitan za sakupljanje amino skupina i njihov transport unutar stanice, **za netoksičan transport amino skupina putem krvotoka ključan je glutamin**.

Koncentracije glutamina u krvi su obično više nego koncentracije drugih aminokiselina.

U jetrima, amidna skupina glutamina se oslobađa kao NH_4^+ djelovanjem glutaminaze.

Glutaminaza je mitohondrijski enzim. Oslobođeni NH_4^+ iz amidne skupine glutamina prevodi se u ureju u mitohondrijima hepatocita.

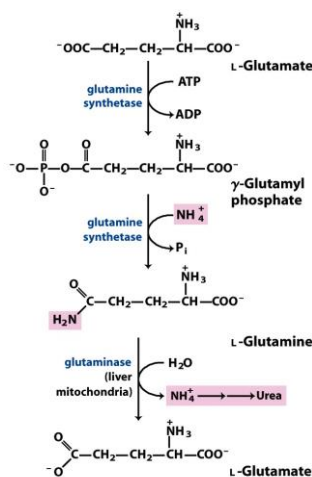


Figure 18-8
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Glutamin krvotokom dolazi do jetara, tankog crijeva ili bubrega. Višak glutamina u tim organima pomoću glutaminaze, koja se nalazi u mitohondrijima tih organa, razgrađuje se u glutamat. Oslobođeni amonijevi ioni iz tankog crijeva i bubrega transportiraju se krvotokom u jetra. U jetrima sisavaca amonijev ion se pretvara u ureju.

Katabolizam amino skupine

(shema prikazuje katabolizam u jetrima kralješnjaka)

Glutamat i glutamin, čije su koncentracije veće od koncentracija drugih aminokiselina u većini tkiva, imaju značajnu ulogu u metabolizmu dušika. U citoplazmi hepatocita amino skupine većine aminokiselina prenose se na α -ketoglutarat te nastaje glutamat. Glutamat ulazi u mitohondrije te predaje svoju aminoskupinu kao NH_4^+ . Iz mitohondrija, ovisno o vrsti organizma, amonijak se izlučuje u obliku nekoliko kemijskih spojeva. Viškom amonijaka u većini drugih tkiva (periferna tkiva) nastaje glutamin, te se amonijev ion kao amidna skupina transportira u jetra. Amidna skupina glutamina ukanja se u mitohondrijima hepatocita pomoću glutaminaze.

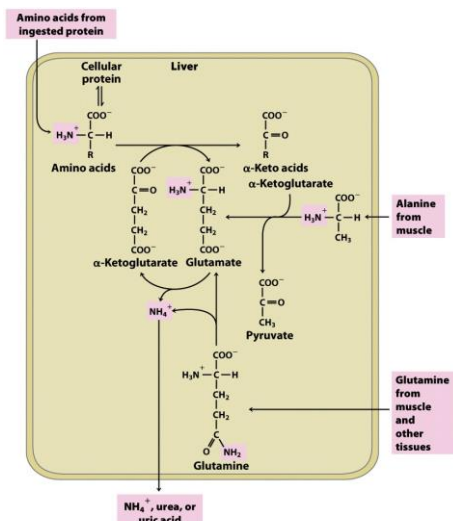


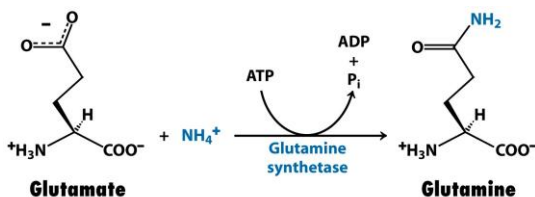
Figure 18-2a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

U skeletnim mišićima amino skupine aminokiselina prenose se uglavnom na piruvat pa nastaje alanin koji se zatim krvotokom prenosi do jetara gdje se dalje metabolizira.

Amonijak je toksičan

Produkcija amonijaka tijekom katabolizma ozbiljan je biokemijski problem za organizam. Mehanizam toksičnosti amonijaka nije dovoljno razjašnjen. Terminalna stanja ljudi nakon intoksikacije s amonijakom opažaju se kao komatozno stanje uz cerebralni edem (povećanje količine vode u mozgu). Pretpostavlja se da amonijak uklanja ATP iz stanica mozga.

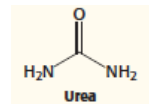
Kako bi se uklonio višak amonijaka iz citoplazme provodi se reduktivna aminacija α -ketoglutarata kako bi nastao glutamat (uz pomoć glutamat dehidrogenaze), te konačno glutamin (uz pomoć glutamin sintetaze). Oba enzima prisutna su u mozgu u velikim koncentracijama, ali je fiziološki značajnija glutamin sintetaza. Visoke koncentracije amonijaka dovode do velikih koncentracija glutamina koji je osmolit za stanice, astrocite, u mozgu. To uzrokuje unos vode u ove stanice kako bi održale osmotsku ravnotežu, a unos vode uzrokuje da stanice nabreknu što u konačnici dovodi do nateklina (edema) u mozgu.



Unnumbered figure pg 665
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

U većini kopnenih životinja, amonijev ion se pretvara u ureju

Višak NH_4^+ pretvara se u ureju. Proces kojim se to odvija nazivamo ciklusom ureje.

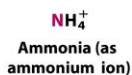


Organizmi koji uklanjaju višak NH_4^+ u obliku ureje, nazivamo uroteličnim organizmima.

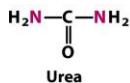
Ciklus ureje odvija se u jetrima.

U većini kopnenih životinja, amonijev ion se pretvara u ureju

Različite vrste životinja izlučuju dušik u obliku tri različita kemijska spoja.

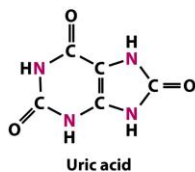


Ammonotelic animals:
most aquatic vertebrates,
such as bony fishes and
the larvae of amphibia



Ureotelic animals:
many terrestrial
vertebrates; also sharks

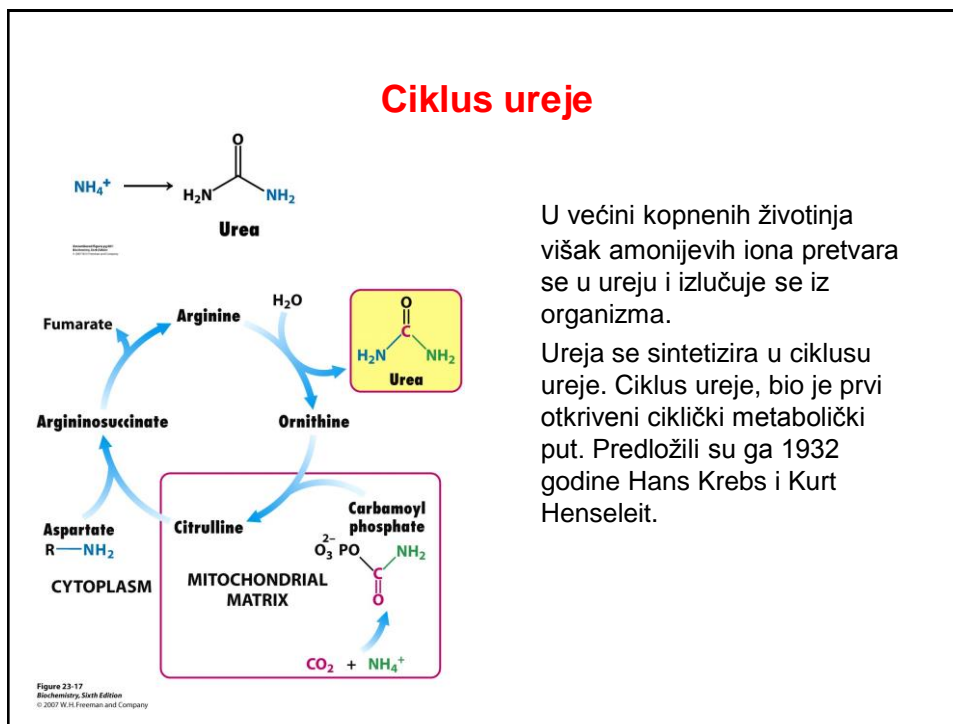
Ugljikovi atomi ureje i mokraćne kiseline jako su oksidirani. To je zbog toga što organizmi izlučuju ugljik tek nakon što su oksidacijom iskoristili pohranjenu energiju drugih preteča.



Uricotelic animals:
birds, reptiles

Figure 18-2b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Ciklus ureje



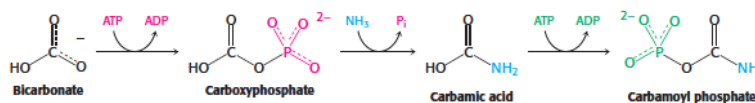
U većini kopnenih životinja višak amonijevih iona pretvara se u ureju i izlučuje se iz organizma.

Ureja se sintetizira u ciklusu ureje. Ciklus ureje, bio je prvi otkriveni ciklički metabolički put. Predložili su ga 1932 godine Hans Krebs i Kurt Henseleit.

Reakcije u ciklusu ureje

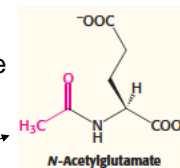
(1) Sinteza karbamoil fosfata – mitohondrijski proces

CO_2 , kao bikarbonat, potječe od reakcija citratnog ciklusa.



Ciklus započinje vezanjem slobodnog amonijaka s bikarbonatom pa nastaje karbamoil fosfat. Niz od tri reakcijska koraka katalizira **karbamoil fosfat sintetaza I**. Karbamoil fosfat sintetaza I je mitohondrijski enzim koji sudjeluje u ciklusu ureje. (Karbamoil fosfat sintetaza II je citoplazmatski enzim koji sudjeluje u sintezi nukleotida).

Za aktivnost sintetaze potreban je N-acetilglutamat.

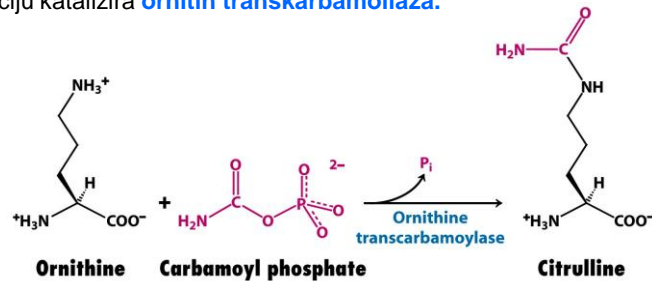


NH_3 je jaka baza i obično je u vodenim otopinama u obliku NH_4^+ . Međutim karbamoil fosfat sintetaza koristi kao supstrat isključivo NH_3 . U ovoj reakciji troši se 2 ATP-a pa je reakcija praktički ireverzibilna.

Reakcije u ciklusu ureje

(2) Sinteza citrulina – mitohondrijski proces

Karbamoilna skupina karbamoil fosfat ima visoki potencijal za prijenos jer je s fosfatom povezana anhidridnom vezom. Karbamoilna skupina se prenosi na ornitin pa nastaje citrulin. Reakciju katalizira **ornitin transkarbamoilaza**.



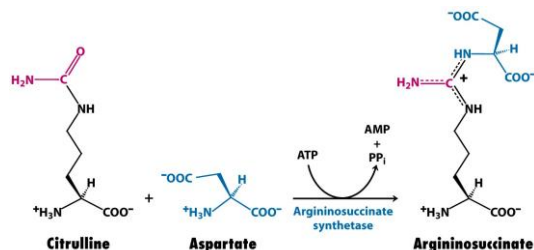
Unnumbered figure pg 662b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Oslobađanje NH_4^+ pomoću glutamat dehidrogenaze, i njegova ugradnja u karbamoil fosfat kao NH_3 te sinteza citrulina odvija se u matriksu mitohondrija. U zamjeni za ornitin, citrulin se iz mitohondrija prenosi u citoplazmu.

Reakcije u ciklusu ureje

(3) Sinteza argininosukcinata – citoplazmatski proces

U citoplazmi, aspartat donira dodatnu amino skupinu citrulinu, pa nastaje argininosukcinat. Reakciju katalizira **argininosukcinat sintetaza** uz pomoć ATP i dodatne hidrolize pirofosfata.



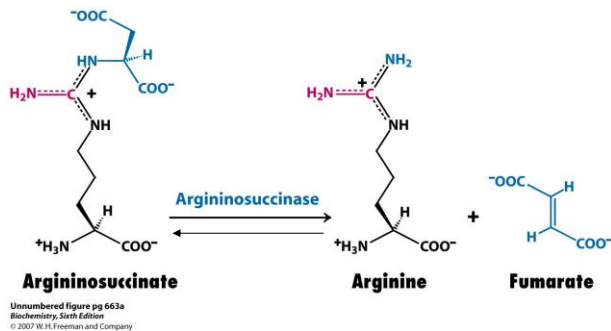
Unnumbered figure pg 662c
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

U prvom koraku citrulin reagira s ATP, pa nastaje citruiil-AMP uz oslobađanje PP_i . U drugom koraku citruiil-AMP reagira s aspartatom pa nastaje argininosukcinat.

Reakcije u ciklusu ureje

(4) Sinteza arginina i fumarata – citoplazmatski proces

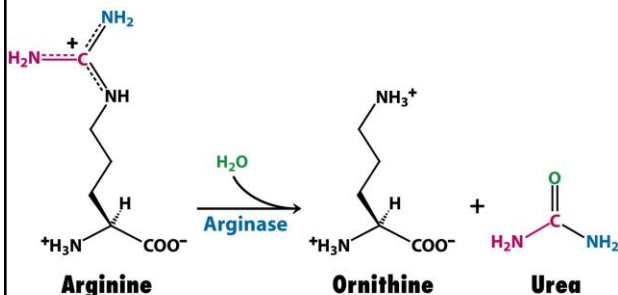
Argininosukcinaza cijepa argininosukcinat na arginin i fumarat. Ugljikov skelet aspartata sačuvan je kao fumarat. Ovo je jedina reverzibilna reakcija u ciklusu ureje.



Reakcije u ciklusu ureje

(5) Sinteza ureje – citoplazmatski proces

Arginaza katalizira hidrolizu arginina u ornitin i ureju. Oslobođeni ornitin transportira se ponovno u mitohondrij i ciklus može ponovno započeti interakcijom ornitina i karbamoil fosfata.



Za potrebe odraslog čovjeka, ciklusom ureje nastaje dovoljno arginina, te za odrasle, arginin nije esencijalna aminokiselina. Za djecu u razvoju, potreban je dodatni arginin koji se mora unositi hranom.

Ciklus ureje i uvođenje

amino skupina u ciklus .

Sinteza karbamoil fosfata pomoću
karbamoil fosfat sintetaze I;

1. Sinteza citrulina pomoću **ornitin transkarbamoilaze**;
2. Sinteza argininosukcinata pomoću **argininosukcinat sintetaze**;
3. Razlaganje argininosukcinata na arginin i fumarat koji odlazi u citratni ciklus - **argininosukcinaza**;
4. Razlaganje arginina na ureju koja se izlučuje i na ornitin koji ulazi u ciklus - **arginaza**

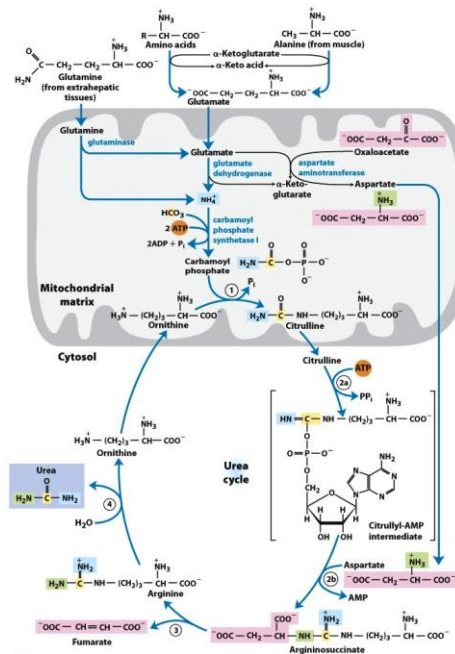


Figure 18-10
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

Dušik potreban za sintezu ureje, (H₂N)₂CO, potječe od amonijevog iona i od amino skupine aspartata. Prikupljanje dušika odvija se u dvije reakcije:

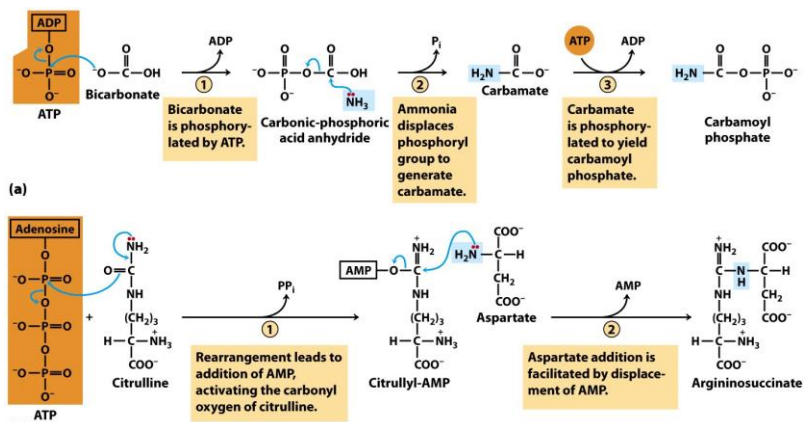
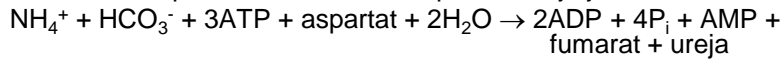


Figure 18-11
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

Povezivanje ciklusa ureje s citratnim ciklusom i energetska bilanca ciklusa ureje

Ako se ciklus promatra izolirano ukupna reakcija je:



2 ATP molekule su potrebne za sintezu karbamoil fosfata a jedan ATP potreban je za sintezu argininosukcinata – u ovoj reakciji ATP se cijepa na AMP i PP_i koji se odmah hidrolizira u P_i . Energija dobivena hidrolizom PP_i ekvivalentna je hidrolizi ATP u ADP, pa je ustvari utrošak ciklusa ekvivalentan utrošku 4ATP.

Reakcijom se oslobađa fumarat, koji, ako uđe u citratni ciklus, prelazi u malat. Pomoću malat dehidrogenaze malat se oksidira u oksaloacetat pri čemu se oslobađa NADH. Kako se iz NADH u procesu oksidacijske fosforilacije sintetizira 2,5 molekule ATP, to značajno smanjuje energiju koja se inicijalno mora uložiti u sintezu ureje u ciklusu.

Ciklus ureje može se povezati s citratnim ciklusom (Krebsov bi-ciklus)

Svaki ciklus u principu može djelovati samostalno. Komunikacija između ciklusa ovisi o transportu ključnih intermedijera između mitohondrija i citoplazme. Izoenzimi nekoliko enzima citratnog ciklusa, kao što su fumaraza (fumarat hidrataza) i malat dehidrogenaza, aktivni su i u citoplazmi.

Fumarat koji nastaje u citoplazmi razlaganjem argininosukcinata, može se u citoplazmi pregraditi u malat (izoenzim fumaraze). Ovi intermedijeri nastali u citoplazmi mogu se dalje metabolizirati u citoplazmi ili se mogu transportirati u mitohondrij gdje se uključuju u citratni ciklus. U citratnom ciklusu malat se može oksidirati u oksaloacetat. Oksaloacetat se pak ili može transaminirati u aspartat ili se u procesu glukoneogeneze može prevesti u glukozu. Aspartat nastao u mitohondrijima u reakciji transaminacije između oksaloacetata i glutamata može se transportirati u citoplazmu gdje postaje donor dušika u reakciji koju katalizira argininosukcinat sintetaza.

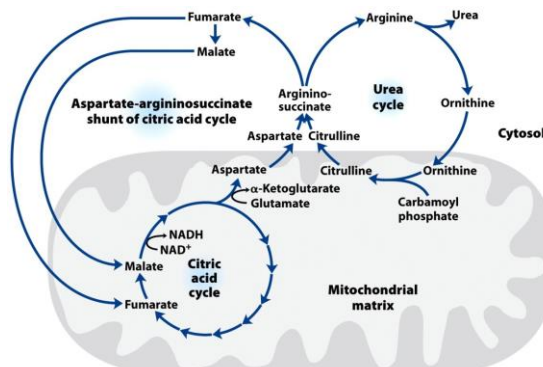


Figure 18-12
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Metabolizam dušika. Ciklus ureje, citratni ciklus kao i transaminacija oksaloacetata međusobno su povezani

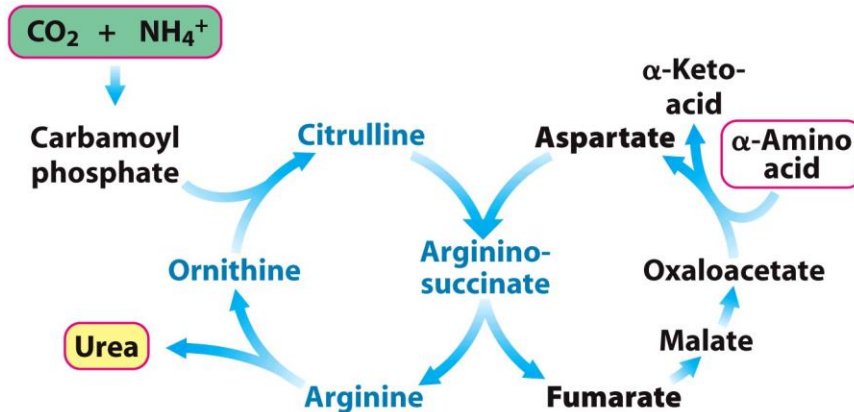


Figure 30.3
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Regulacija ciklusa ureje

Protok dušika kroz ureja ciklus varira obzirom na prehranu. Kada je hrana meso, ugljikovi skeleti aminokiselina koriste se kao metaboličko gorivo te se zbog viška amino skupina proizvodi mnogo ureje. Slično se dešava prilikom dugotrajnog gladovanja jer se razgrađuju proteini mišića.

- dugoročna regulacija – regulacija brzine sinteze enzima – svih pet enzima brže se sintetizira kad životinje ili gladuju ili se hrane isključivo proteinima.
- Kod sisavaca, karbamoil fosfat sintetazu alosterički regulira **N-acetilglutamat**. N-acetilglutamat sintetizira se iz acetyl CoA i glutamata. Reakciju katalizira N-acetilglutamat sintaza pri čemu je arginin aktivator. Na ovaj način **arginin je i indirektni aktivator ciklusa ureje**.

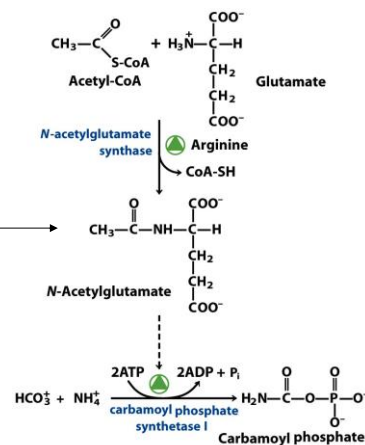


Figure 18-13
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Genetske bolesti

Ljudi koji imaju defektan gen za bilo koji od enzima ciklusa ureje ne mogu konzumirati hranu bogatu proteinima. Sve aminokiseline koje se odmah ne utroše za sintezu proteina deaminiraju se u jetrima te nastaje toksični amonijak. Ako postoji defekt u nekom od enzima ciklusa ureje, amonijak se ne može pretvoriti u ureju pa dolazi do hiperamonemije, ili do nagomilavanja nekog od međuprodukata ciklusa. Budući da je većina reakcija u ciklusu ireverzibilna može se ustanoviti koja koncentracija međuprodukta je izrazito povećana. Iako je katabolizam aminokiselina opasan po zdravlje pacijenata s defektnim ciklusom, njihovo liječenje samo s hranom koja ne sadrži proteine nije medicinski opravdano budući da ljudi ne mogu sintetizirati esencijalne aminokiseline. Za normalnu sintezu proteina esencijalne aminokiseline se moraju unositi hranom.

Esencijalne i ne-esencijalne aminokiseline

Nonessential	Conditionally essential*	Essential
Alanine	Arginine	Histidine
Asparagine	Cysteine	Isoleucine
Aspartate	Glutamine	Leucine
Glutamate	Glycine	Lysine
Serine	Proline	Methionine
	Tyrosine	Phenylalanine
		Threonine
		Tryptophan
		Valine

*Required to some degree in young, growing animals, and/or sometimes during illness.

Table 18-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Sažetak (1)

- Ljudi dobivaju dio energije katabolizmom aminokiselina. Slobodne aminokiseline oslobađaju se recikliranjem staničnih proteina, razgradnjom proteina koji se unose hranom ili razgradnjom staničnih proteina zbog nestašice drugih makromolekula (dugotrajno izgladnjivanje ili dijabetes).
- Recikliranje staničnih proteina je reguliran proces u koji su uključeni kompleksni enzimski sustavi. Proteine koje stanica želi razgraditi prvo se obilježavaju ubikvitinom a za taj postupak potreban je ATP. Za obilježavanje proteina s ubikvitinom potrebna su tri enzima. Veliki bačvasti kompleks, proteasom, razgrađuje ubikvitinirane proteine. Za razgradnju proteina u proteasomu također se troši ATP. Dobivene slobodne aminokiseline koriste se za sintezu proteina, nukleotida ili služe i kao preteče drugih spojeva kojima je potreban dušik.
- Proteini koji se unose hranom razgrađuju se u želucu i tankom crijevu. Većina proteaza koje razgrađuju proteine u ovim organima sintetizirane su kao neaktivni zimogeni.

Sažetak (2)

- Rani korak u katabolizmu aminokiselina je odvajanje amino skupine od skeleta ugljikovih atoma. To se provodi reakcijama transaminacije pa iz aminokiselina nastaju odgovarajuće α -ketokiseline. Piridoksal fosfat (PLP) je koenzim u svim reakcijama koje kataliziraju aminotransferaze. PLP je također koenzim u mnogim reakcijama u kojima se aminokiseline pregrađuju. U većini slučajeva amino skupina se prenosi na α -ketoglutarat pa nastaje glutamat.
- Glutamat se transportira u mitohondrije hepatocita gdje odvajanje amino skupine od ugljikovog skeleta katalizira glutamat dehidrogenaza. Amino skupina se u ovoj reakciji oslobađa kao amonijev ion i reakcija se provodi u mitohondrijima. Amonijevi ioni koji nastaju u drugim tkivima transportiraju se u jetra kao amidne skupine glutamina ili iz skeletnih mišića kao amino skupina alanina.
- Piruvat koji nastaje deaminacijom alanina sintetizira se u glukozu tijekom glukoneogeneze. Sintetizirana glukoza transportira se do mišića kao dio glukoza-alaninskog ciklusa.

Sažetak (3)

- Amonijak je jako toksičan za stanice i tkiva. U ciklusu ureje, bikarbonat se povezuje s amonijakom te nastaje karbamoil fosfat (karbamoil fosfat sintetaza). Povezivanjem karbamoil fosfata i ornitina nastaje citrulin (ornitin transkarbamoilaza). Amino skupina s aspartata prenosi se na citrulin pa nastaje argininosukcinat (argininosukcinat sintetaza). Argininosukcinat se razgrađuje na fumarat i argin (argininosukcinaza) koji je neposredni preteča ureji. Arginaza katalizira razgradnju arginina na ureju i ornitin koji ponovno ulazi u ciklus ureje.
- Ureja ciklusom izlučuje se fumarat. U citratnom ciklusu moguća je konverzija fumarata u oksaloacetat. Citratni ciklus i ciklus ureje su međusobno povezani.
- Aktivnost ciklusa ureje regulirana je na razini sinteze enzima kao i alosteričkom regulacijom karbamoil fosfat sintetaze, enzima koji katalizira sintezu karbamoil fosfata. Pozitivni alosterički regulator je N-acetilglutamat. Aktivator N-acetilglutamat sintaze je arginin, pa je time arginin i indirektni aktivator ciklusa ureje.
- Defekti u ciklusu ureje mogu se umanjiti tako da se pacijenti hrane viškom arginina ili im se u hrani daju spojevi koji se povezuju s glicinom ili glutamatom.