

Aminokwasy w procesach metabolicznych komórki

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Aminokwasy definiowane są jako związki zawierające pierwszo lub drugorzędowe grupy aminowe i jedną lub dwie grupy karboksylowe.

- Podstawowy profil aminokwasów oznaczany w osoczu, moczu i płynie mózgowo-rdzeniowym metodą HPLC z detektorem fluorescencyjnym obejmuje 25 aminokwasów w tym aminokwasy drugo rządowe takie jak: prolina i hydroksyprolina.
- Za pomocą tandemowej spektrometrii mas można oznaczyć do 76 aminokwasów i ich pochodnych w suchej kropli krwi lub osoczu nakropionym na bibułę.
- Aminokwasy nie są związane z białkiem z wyjątkiem cysteiny, homocysteiny i tryptofanu



Aminokwasy:

- są budulcem wszystkich białek,
- część z nich odgrywa istotną rolę jako neuroprzekaźniki lub ich prekursory, modulatory,
- są prekursorami hormonów, kofaktorów, puryn i pirymidyn,
- są w większości rozpuszczalne w wodzie, dzięki obecności grupy aminowej i karboksylowej, które w wodzie ulegają jonizacji,
- są filtrowane przez nerki i mogą być łatwo usuwane z moczem w przypadku braku skutecznego mechanizmu reabsorpcji w kanalikach nerkowych,
- istnieje kilka transporterów aminokwasów, których niedobór może przyczynić się do utraty jednego lub kilku aminokwasów z moczem i wystąpienia określonych objawów klinicznych.
- nadmiar aminokwasów jest rozkładany przez określone enzymy, prowadząc do wytwarzania energii i syntezy mocznika z grup azotowych podczas katabolizmu.

Źródłem 20 podstawowych aminokwasów są białka

- Tylko niewielka ilość białka oraz niektóre peptydy są wchłaniane z przewodu pokarmowego.
- Zdecydowana większość białek spożywczych jest trawiona a wchłaniane są tylko ich składniki, czyli aminokwasy.
- Własne białka są nieustannie hydrolizowane do aminokwasów i resyntetyzowane.
- Wymianie takiej podlega w ciągu doby średnio 80 – 100 g białek endogennych i jest ona najbardziej nasilona w błonie śluzowej jelita a najmniej w kolagenie.

Aminokwasy endogenne i aminokwasy egzogenne tworzą wspólną **pulę aminokwasów, która zaspokaja potrzeby organizmu**

Funkcje metaboliczne aminokwasów

Aminokwasy są prekursorami związków tj:

- hormony tarczycy
- katecholaminy
- histamina
- serotonina
- melatonina
- związki pośrednie cyklu mocznikowego
- metionina i cysteina są źródłem siarki wchodzącej w skład budowy białka, koenzymu A, tauryny i innych biologicznie ważnych związkach

Aminokwasy można podzielić na 6 grup:

Aminokwasy syntetyzowane z α -ketoglutaranu,

po pochodzącego z cyklu kwasu cytrynowego (rodzina glutaminianu): glutaminian oraz wywodzące się z niego glutamina, prolina i arginina;

Aminokwasy syntetyzowane ze szczawiooctanu pochodzącego z cyklu kwasu cytrynowego

(rodzina asparaginianu): asparaginian oraz wywodzące się z niego: asparagina, metionina, treonina i lizyna oraz izoleucyna,

Aminokwasy syntetyzowane z 3-fosfoglicerynianu pochodzącego z glikolizy

(rodzina seryny): seryna oraz wywodzące się z niej cysteina i glicyna;

Aminokwasy syntetyzowane z pirogronianu pochodzącego z glikolizy

(rodzina pirogronianu): alanina, walina, leucyna

Aminokwasy można podzielić na 6 grup:

Aminokwasy syntetyzowane z fosfoenolopirogronianu pochodzącego z glikolizy i erytrozo-4-fosforanu, pochodzącego ze szlaku pentozofosforanowego

(rodzina aminokwasów aromatycznych): fenyloalanina, tyrozyna i tryptofan

Aminokwasy syntetyzowane z rybozo-5-fosforanu ze szlaku pentozofosforanowego: histydyna

Cykl mocznikowy

- rozpad białka powoduje wzrost wolnego azotu w postaci amoniaku, który uszkadza ośrodkowy układ nerwowy,
- w prawidłowo przebiegającym cyklu mocznikowym amoniak przekształcany jest w mocznik i wydalany w moczu,
- reakcje biochemiczne cyklu mocznikowego wykorzystywane są do syntezy i degradacji argininy,
- cykl mocznikowy odpowiedzialny jest za prawidłową homeostazę pH.

Prawidłowe stężenie amoniaku w osoczu: u noworodka < 110 $\mu\text{mol/L}$ (190 $\mu\text{g/dl}$), u starszego dziecka i dorosłego < 80 $\mu\text{mol/L}$ (140 $\mu\text{g/dl}$)

Pierwszym głównym donorem grupy α -aminowej dla większości aminokwasów jest glutaminian

Glutaminian jest syntetyzowany z NH_4^+ i α -ketoglutaranu

Drugim ważnym donorem azotu jest glutamina, syntetyzowana z glutaminianu i jonów NH_4^+ w reakcji katalizowanej przez syntetazę glutaminianową

Wolne jony amonowe są wykorzystywane do syntezy: glutaminy w komórkach takich jak:

komórki mięśni szkieletowych

hepatocyty

komórki przewodu pokarmowego

limfocyty

astrocyty

oraz

karbamioilofosforanu w
hepatocytach

cytozol

mitochondrium

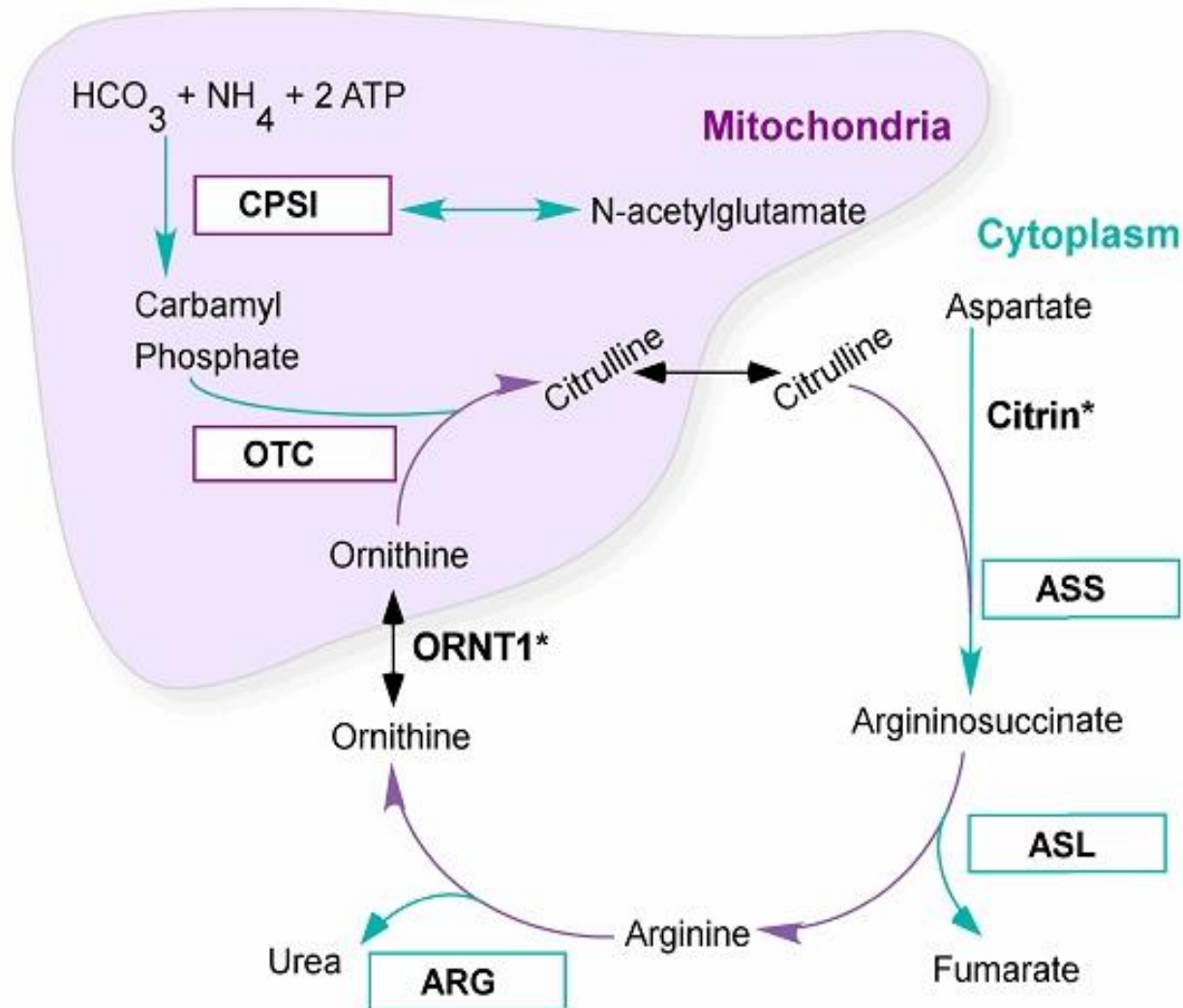
Amoniak w formie gazowej może być oznaczany na skórze i w wydychanym powietrzu

Główne enzymy uczestniczące w metabolizmie wolnych jonów amonowych to:

- **syntetaza glutaminowa:** cytozolowy enzym, który katalizuje syntezę glutaminy z glutaminianu i wolnych jonów NH_4^+ w ATP-zależnej reakcji.
- **glutaminaza** enzym mitochondrialny katalizujący reakcję hydrolizy glutaminy do glutaminianu i wolnych jonów NH_4^+
- **asparaginaza** enzym katalizujący przemianę asparaginy do asparaginianu i wolnych jonów NH_4^+
- **dehydrogenaza glutaminianu** enzym mitochondrialny katalizujący reakcje odwracalnej deaminacji oksydacyjnej glutaminianu do α -ketoglutaranu i wolnych jonów amonowych
- **Aminotransferazy,** enzymy uczestniczące w przenoszeniu grup aminowych pomiędzy aminokwasami a ketokwasem bez syntetyzowania lub zużywania wolnych jonów amonowych

Tworzenie mocznika

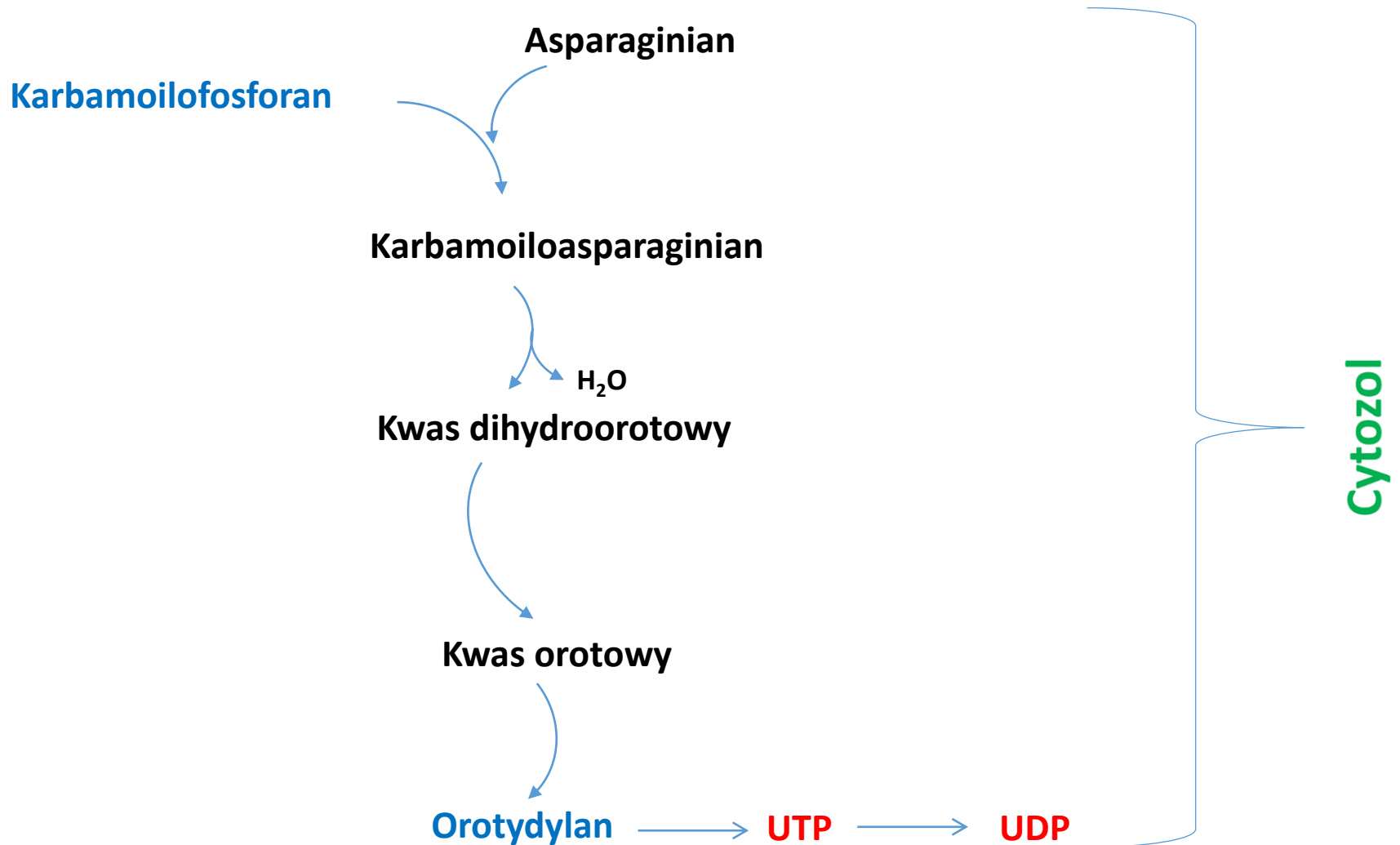
Cykl mocznikowy



W matrix zachodzi tworzenie NH_4^+ z udziałem dehydrogenazy Glu, włączenie NH_4^+ do karbamoilofosforanu oraz syntezy cytruliny.

Pozostałe reakcje przebiegają w cytozolu.

Cykl mocznikowy a synteza kwasu orotowego



Karbamoilofosforan w syntezie pirymidyn

Pirymidyny są syntetyzowane na drodze:

- *De novo* – inicjowana reakcją z syntetazą karbamoilofosforanową
- Głównym produktem takiej reakcji jest UMP
- W syntezie UMP uczestniczą dwa enzymy:
fosforybozylotransferaza orotowa (OPRT)
dekarboksylaza monofosforanu orotydyny (OPD),
które są „połączone” w jedno białko, enzym syntazę UMP, kodowane jest przez pojedynczy gen.

Zaburzenia metabolizmu pirymidyn

Zaburzenie	Markery biochemiczne	Objawy kliniczne
Acyduria orotowa – deficyt syntetazy UMP (UMPS): - fosforybozylotransferaza (OPRT) - dekarboksylaza orotydyno-5-MP	Kwas orotowy – podwyższony urydyna - podwyższona	Opóźnienie psychoruchowe, anemia megaloblastyczna
Deficyt dehydrogenazy dihydropirymidyny (DPD)	Uracyl – podwyższony Tymina podwyższona 5-fluorouracyl	Bez objawowy

Wszystkie wady enzymów cyklu mocznikowego mogą prowadzić do podwyższonego stężenia NH_4^+ **HIPERAMONEMII**

Zwiększone stężenie NH_4^+ prowadzi do niekontrolowanego wzrostu stężenia glutaminy.

Wzrost stężenia NH_4^+ stymuluje syntezę kwasu orotowego

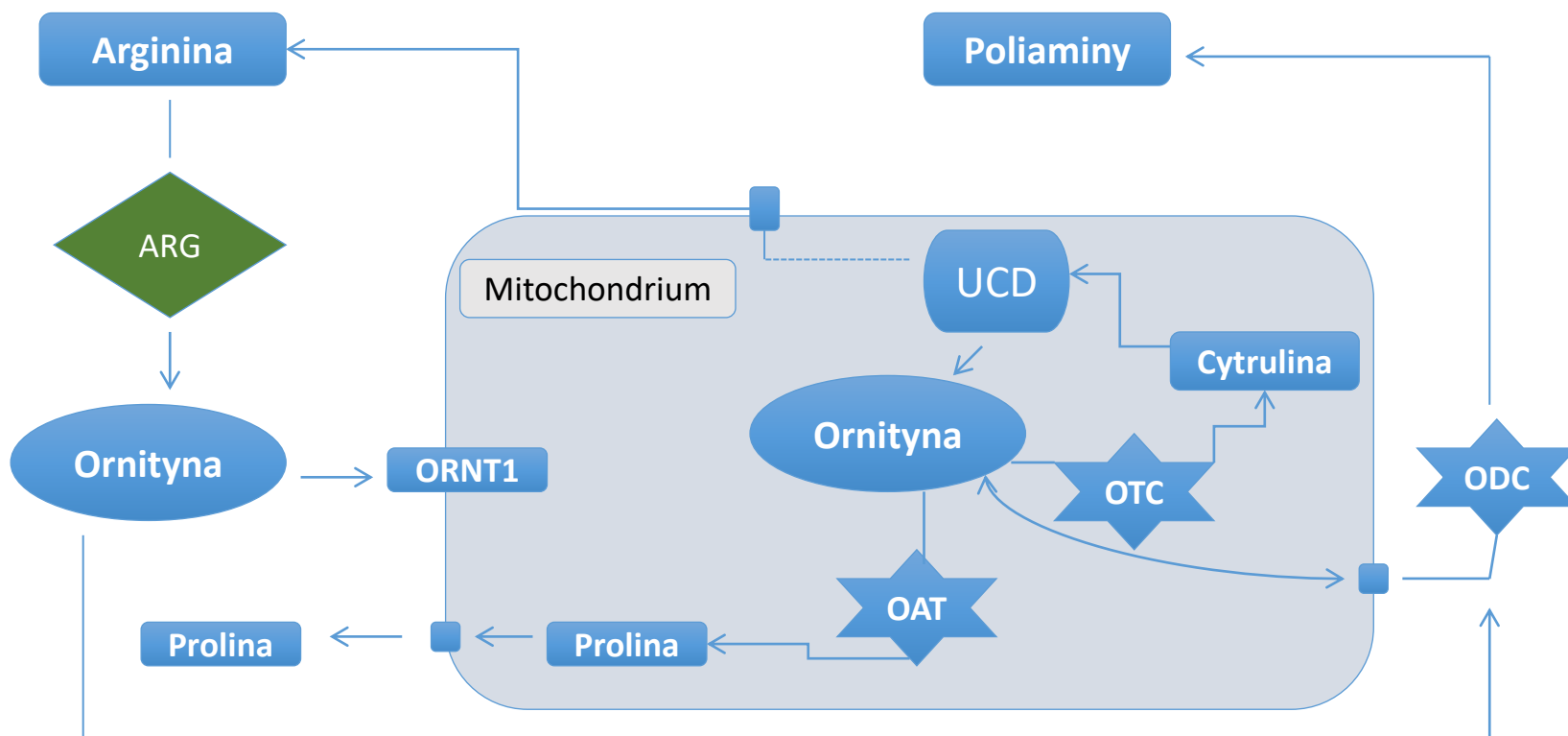
Wzrost kwasu orotowego jest dobrym wskaźnikiem niedoboru argininy

Obniżone stężenie argininy zmniejsza wydajność detoksykacji amoniaku oraz redukcje tlenu azotu

Produkcja kwasu orotowego jest redukowana przez podanie argininy, która stymuluje aktywność cyklu mocznikowego

Ornityna i jej rola w chorobach metabolicznych

- Ornityna jest kluczowym składnikiem cyklu mocznikowego – jest produkowana przez arginazę z argininy. W cytoplazmie syntetyzowana ornityna jest transportowana do mitochondrium przez ORNT1
- Ornityna odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu wątroby i pracy układu immunologicznego
- Jest substratem dla transkarbamyazy ornitynowej (OTC), aminotransferazy ornitynowej (OAT) i dekarboksylazy ornitynowej (ODC), które syntetyzują odpowiednio cytrulinę, prolinę i poliaminy



Wrodzone zaburzenia syntezy mocznika

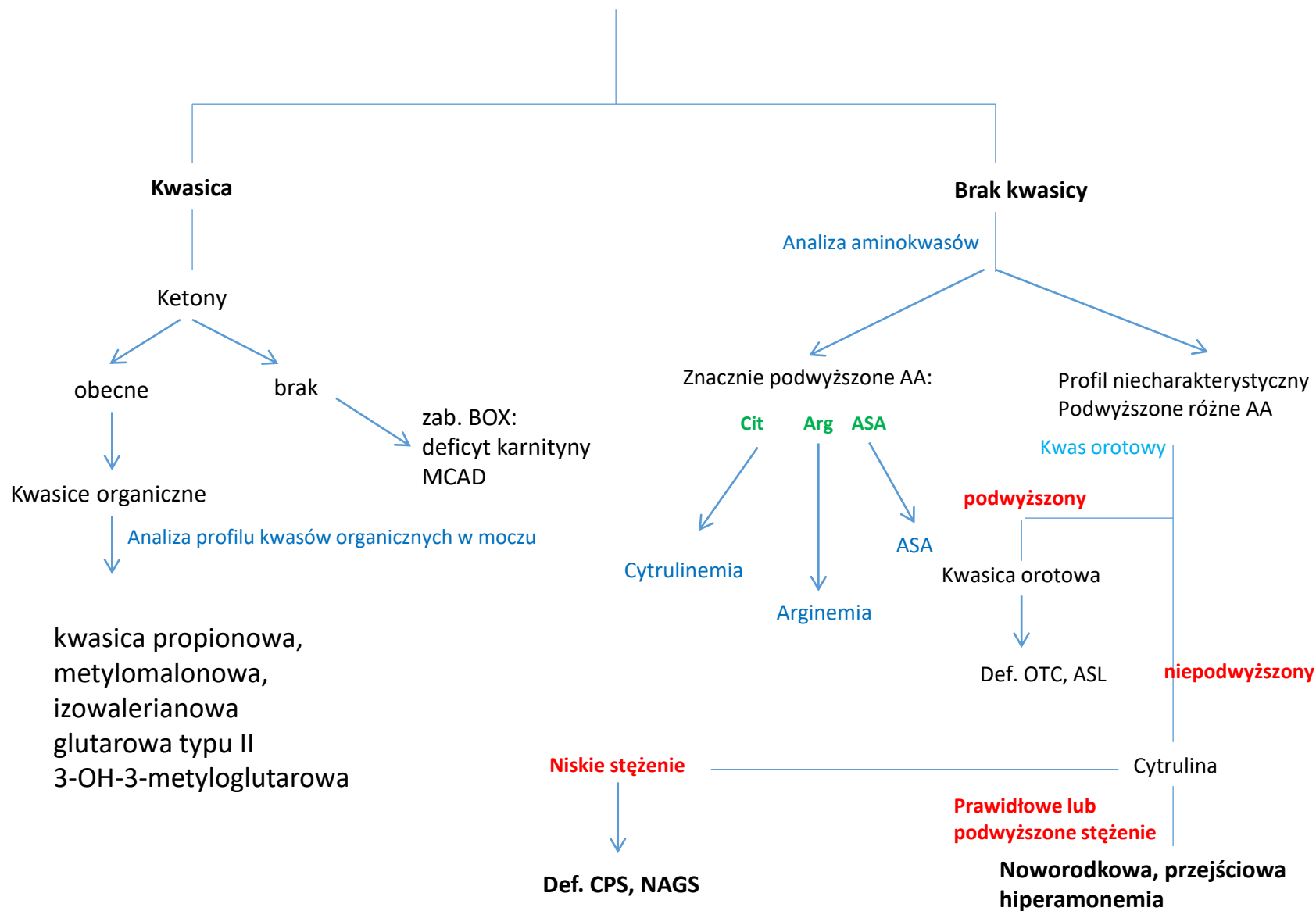
Zaburzenia cyklu mocznikowego występują 1 : 8000 urodzeń

Częstotliwość poszczególnych defektów enzymatycznych cyklu mocznikowego:

- Deficyt OTC - 1 : 14 000
- Deficyt CPS - 1 : 62 000
- Deficyt AS - 1 : 57 000
- Deficyt AL - 1 : 70 000
- Deficyt Arginazy - 1 : 363 000

Hiperamonemia występuje we wszystkich defektach enzymatycznych cyklu mocznikowego: CPS, OTC, AS i AL (oprócz deficytu arginazy).

Hiperamonemia



Cykl mocznikowy

- jeden z wielu przykładów wskazujących na to, że aminokwasy pełnią w naszym organizmie rolę nie tylko budulcową,
- przy braku chociaż jednego aminokwasu, przebieg całego cyklu ulega zahamowaniu.
- pośrednio, jako kofaktor do produkcji ornityny z glutaminianu o przebiegu cyklu mocznikowego decyduje witamina B₆. Tempo przebiegu cyklu mocznikowego jest dodatnio skorelowane z początkowym stężeniem amoniaku.
- nieprawidłowy przebieg cyklu mocznikowego prowadzi do wzrostu stężenia amoniaku we krwi, co odpowiada za zaburzenia równowagi kwasowo – zasadowej w organizmie, może przyczyniać się do wystąpienia encefalopatii, zaburzeń neurologicznych.

Cykl mocznikowy

Zaburzenia cyklu mocznikowego wynikają najczęściej z:

- niewydolności wątroby (np. marskość wątroby, encefalopatia wątrobowa)
- przeciążenia wątroby w przypadku zatrucia
- zaburzeń ze strony enzymów uczestniczących w tym cyklu
- silnego niedoboru witaminy B₆ (kofaktora do syntezy ornityny) lub zaburzenia metabolizmu glutaminy
- niedoboru manganu

Glutaminian

- Jest wzbudzającym neurotransmiterem w ośrodkowym układzie nerwowym i odpowiada za uczenie, pamięć oraz wyższe funkcje poznawcze
- Jest potrzebny do syntezy kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) i glutationu
- Jest prekursorem N-acetyloglutaminianu, który jest wykorzystywany do detoksykacji amoniaku w cyklu moczniowym
- Stężenie glutaminianu rośnie w erytrocytach w zaburzeniach cyklu moczniowego

Aminokwasy a karnityna (maślan beta-hydroksy-trimetyloamonu)

Karnityna powstaje z dwóch aminokwasów: metioniny i lizyny.

Karnitynowe estry KT są przenoszone do przestrzeni macierzy przez translokazę.

Następnie estry ulegają hydrolizie, a karnityna odtworzeniu



Aminokwasy a kreatyna

Kreatyna:

- jest uznawana za nieistotny składnik odżywczy, który można uzyskać ze związków pozyskiwanych z diety;
- jest syntetyzowana w wątrobie, nerkach i trzustce z aminokwasów tj. arginina, glicyna i metionina,
- arginina - aminokwas „poł-niezbędny” czy niezbędny? - stężenie zależy od wieku i rozwoju; wcześniaki nie są w stanie wystarczająco syntetyzować argininy z powodu niedoboru enzymów syntezy argininy w jelicie, co może ostatecznie wpłynąć na stężenie kreatyny.
- glicyna - aminokwas niezbędny w diecie człowieka, pełni funkcje neuroprzekaźnika, uczestniczy w transporcie grup metylowych.

Koenzymy a aminokwasy

Fosforan pirydoksalu

tworzy intermediaty o charakterze zasady Schiffa, pozwalające na wymianę grupy α -aminowej na ketonową, katalizowaną przez aminotransferazy

Witamina B₁₂

dostarcza wolnych rodników do zmiany szkieletów węglowych

Tetrahydrobiopteryna (BH₄)

ulega utlenieniu do dihydrobiopteryny w reakcji z hydroksylazą fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu

Metylenotetrahydrofolian (MTHF)

odpowiada za transport grup metylowych



Homocysteina, metionina, S-adenozylometionina i S-adenozylhomocysteina

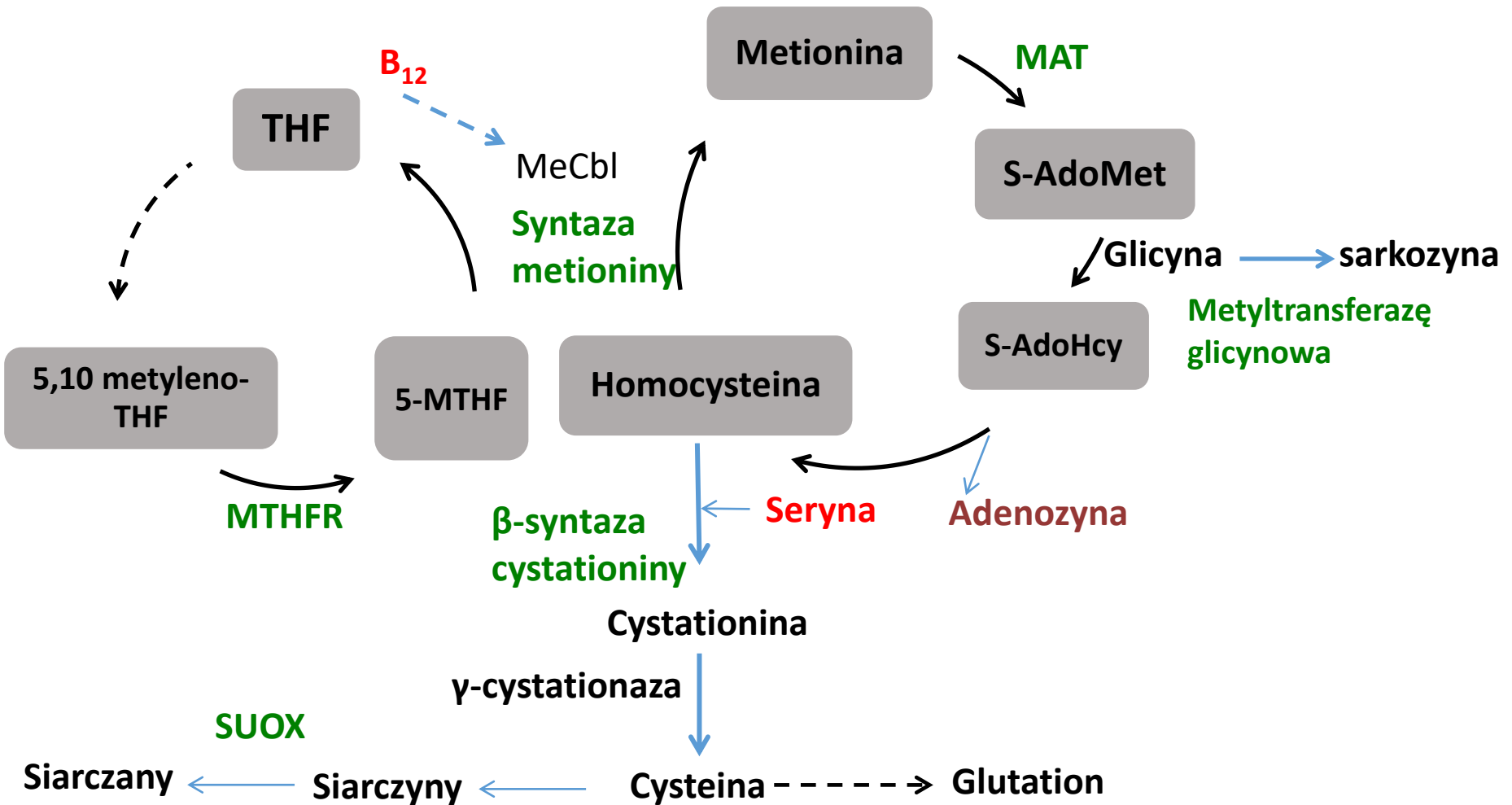
Metionina jest:

potrzebna do syntezy białka
donorem grup metylowych
donorem grupy siarkowej
prekursorem dla cystationiny, cysteiny i tauryny

Homocysteina jest:

ściśle związana z metioniną
ważna w metabolizmie kwasu foliowego

Podstawowy metabolizm aminokwasów siarkowych i rola witaminy B₁₂



Zaburzenia metabolizmu aminokwasów siarkowych

- **deficyt β -syntazy cystationiny (CBS)** - wysokie stężenie Hcy i Met w osoczu (stężenie Hcy: 100 – 500 $\mu\text{mol/L}$) – klasyczna homocystynuria
- **deficyt MTHF reduktazy** – wysokie stężenie Hcy i niskie Met w osoczu (stężenie Hcy: 100 – 250 $\mu\text{mol/l}$)
- **deficyt syntazy metioniny** – wysokie stężenie Hcy, niskie lub w dolnej granicy normy stężenie Met
- **deficyt wewnątrzkomórkowego metabolizmu kobalaminy: CblF, CblC, CblD** - wysokie stężenie Hcy i prawidłowe Met w osoczu (stężenie Hcy: 100 – 250 $\mu\text{mol/l}$)
- **Deficyt kwasu foliowego**: wysokie stężenie Hcy i prawidłowe stężenie Met w osoczu (stężenie Hcy: 25 – 65 $\mu\text{mol/l}$)
- **Deficyt B₁₂**: podwyższone stężenie Hcy (stężenie Hcy: 20 – 40 $\mu\text{mol/l}$)

Glicyna

ulega procesom: przekształcaniu, degradacji i utlenianiu

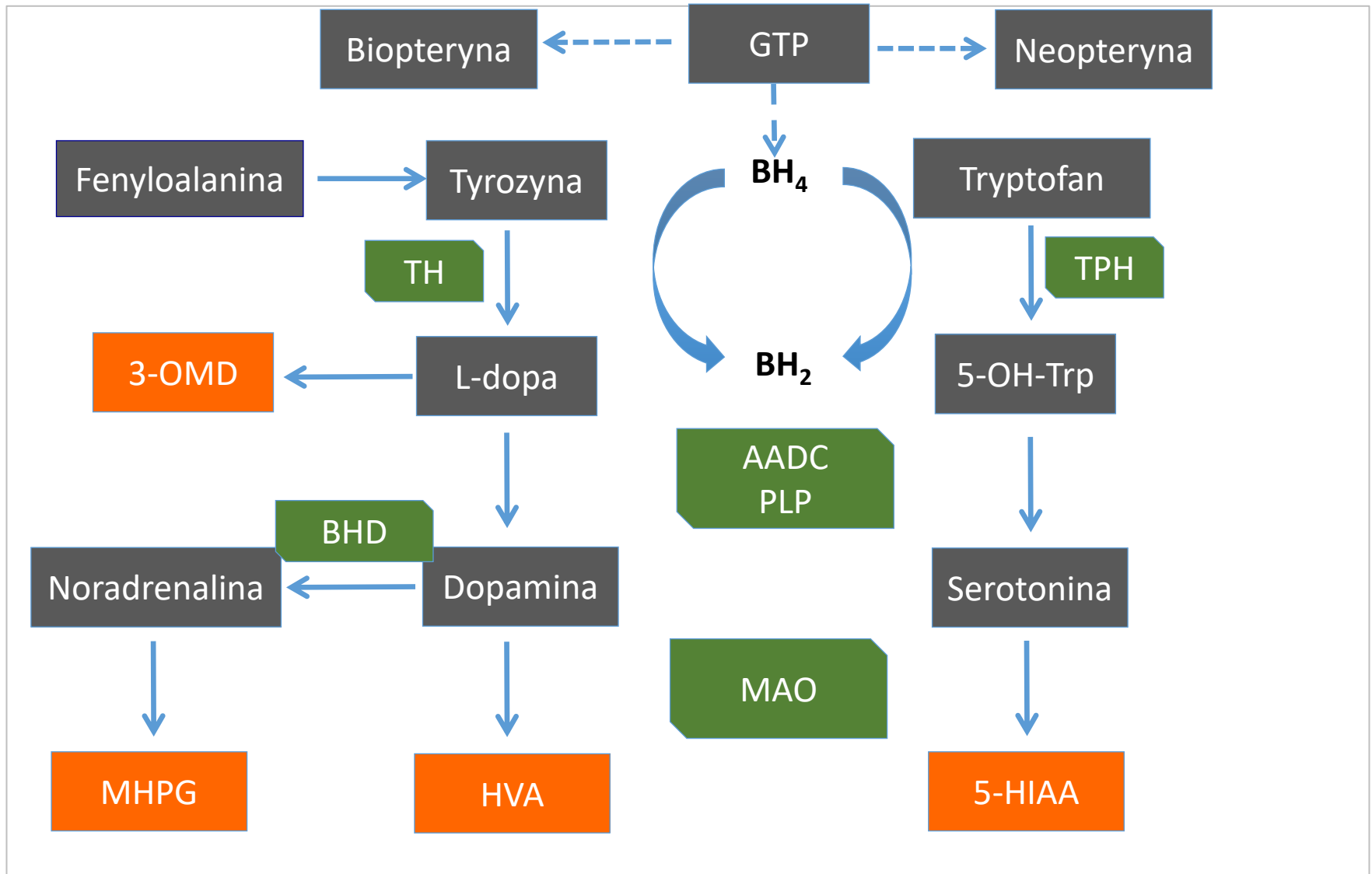
- Glicyna ulega przekształceniu w serynę w reakcji z hydroksymetylotransferazą serynową w obecności THF i PLP;
- Degradacja glicyny ma miejsce w wątrobie za pomocą mitochondrialnego kompleksu syntezy glicynowej, który rozkłada glicynę do CO_2 i NH_4^+ tworząc 5,10-metyleno-THF w obecności PLP jako kofaktora;
- Glicyna jest utleniana przez oksydazę D-aminokwasów do glioksalanu, który następnie ulega utlenieniu w obecności NAD^+ do szczawianu.

Metabolizm aminokwasów rozgałęzionych

Izoleucyna, leucyna i walina – odpowiadają za prawidłowy metabolizm komórki?

- wysokie stężenie – uniemożliwia transport innych aminokwasów i związków potrzebnych do prawidłowego funkcjonowania OUN, przez barierę krew – mózg
- wysokie stężenie – jest toksyczne dla organizmu
- zaburzenie metabolizmu aminokwasów rozgałęzionych odpowiada za kwasice organiczne, w tym kwasicę metylomalonową i propionową.
- mają silny wpływ na metabolizm kwasu glutaminowego, w tym w OUN

Aminokwasy w syntezie amin biogennych





DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ

