

# I4. Detoxikace amoniaku

## ornithinový cyklus, odbourání nukleotidů

# METABOLISMUS AMONIAKU

- Aminokupiny se použijí:
  - při synthese dusík obsahujících částí biomolekul sloučenin (aminokyseliny puriny a pirimidiny, karbamoylové nebo guanidylové deriváty)
  - nebo jsou po převedení na vhodnou odpadní formu z organismu vyloučeny

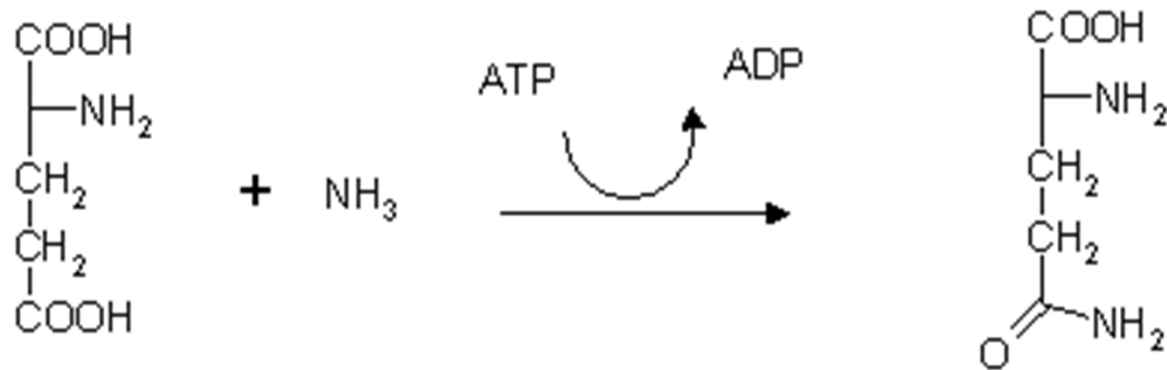


## ASIMILACE AMONIAKU

- Důležitou úlohu při využívání amoniaku při biosyntetických dějích mají amidy **asparagin** a zejména **glutamin**.
  - **transportéry** (lehce přecházejí buněčnou membránou) a **donory amoniaku** v organismech;
  - vytvářejí latentní rezervu amoniaku.
- Asparagin je metabolicky méně versatilní než glutamin a jeho amidový dusík nelze přímo přenášet do syntetických reakcí.



- K převedení amoniaku do amidové skupiny glutaminu slouží reakce katalysovaná ligasou glutaminsynthetasou:



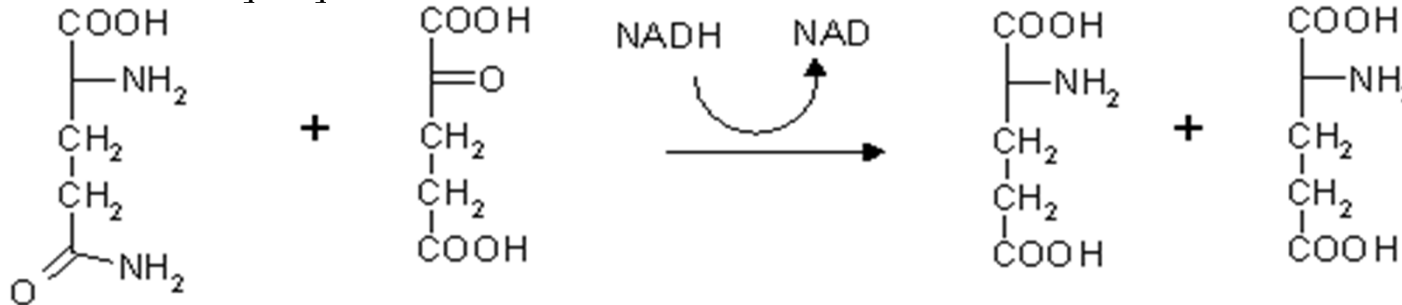
U živočichů probíhá tento děj hlavně v játrech a mozku.

**Analogicky se tvoří asparagin za katalysy asparaginsynthetasou.**

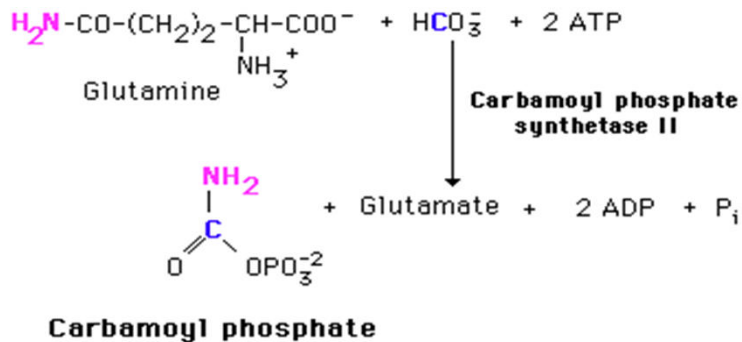


## Amidový dusík glutaminu se uplatňuje při různých reakcích:

- a) **Synthesa aminokyselin transaminací.** Převedením amoniaku z amidové skupiny glutaminu na 2-oxoglutarát se získá glutamát, vhodný donor aminoskupin pro transaminační reakce:



- b) **Výroba karbamoylfosfátu.** Glutamin může dále sloužit jako zdroj dusíku pro syntézu karbamoylfosfátu



Karbamoylfosfát poskytuje atomy C<sub>2</sub> a N<sub>3</sub> při syntéze pyrimidinového skeletu a podílí se na tvorbě guanidylové skupiny argininu.



**c) Synthesa purinů**

Glutamin poskytuje dusíkové atomy N<sub>3</sub> a N<sub>9</sub> purinového kruhu a 2-aminoskupinu guaninu.

**d) Synthesa dalších dusíkatých látek**

Dusík amidové skupiny glutaminu je dále používán při syntese histidinu, aminocukrů a při aminaci UTP za vzniku CTP

**e) Transfer amoniaku na aspartát**

V některých organismech se amidová skupina glutaminu přenáší na aspartát činností asparaginsynthetasy.

**Hlavní formy vstupu amoniaku do metabolismu jsou tedy glutamin, glutamát a karbamoylfosfát**



# VYLUČOVÁNÍ AMONIAKU

Živočichové :

- **Amonotelní** – u vodních živočichů; ve vodném prostředí se přebytečný snadno rozpustný amoniak vylučovaný žábami rozptýlí a tím ztratí svůj toxický účinek
- **Urikotelní** - u vejcorodých živočichů (plazi, ptáci, paryby) - amoniak metabolisován na močovou kyselinu (trioxopurin), která pro svou malou rozpustnost není toxická. a ptáci)
- **Ureotelní** - u savců
  - hlavním dusíkatým odpadním produktem rozpustná močovina (urea)
  - Ve formě močoviny odchází u savců 80 až 90% celkového dusíku konečných dusíkatých metabolitů
  - Zbytek slouží k neutralizaci kyselin a je pak vylučován močí ve formě amonných solí a nepatrného množství volného amoniaku.
- Amoniak určený k odstranění je předáván do krevního oběhu hlavně v amidové skupině glutaminu a aminové skupině alaninu.
- Glutamin a alanin jsou přijímány játry, kde probíhá syntéza močoviny, a ledvinami, kde přecházejí ionty  $\text{NH}_4^+$  do moči (jejich hlavním zdrojem je glutamin)



# TVORBA MOČOVINY

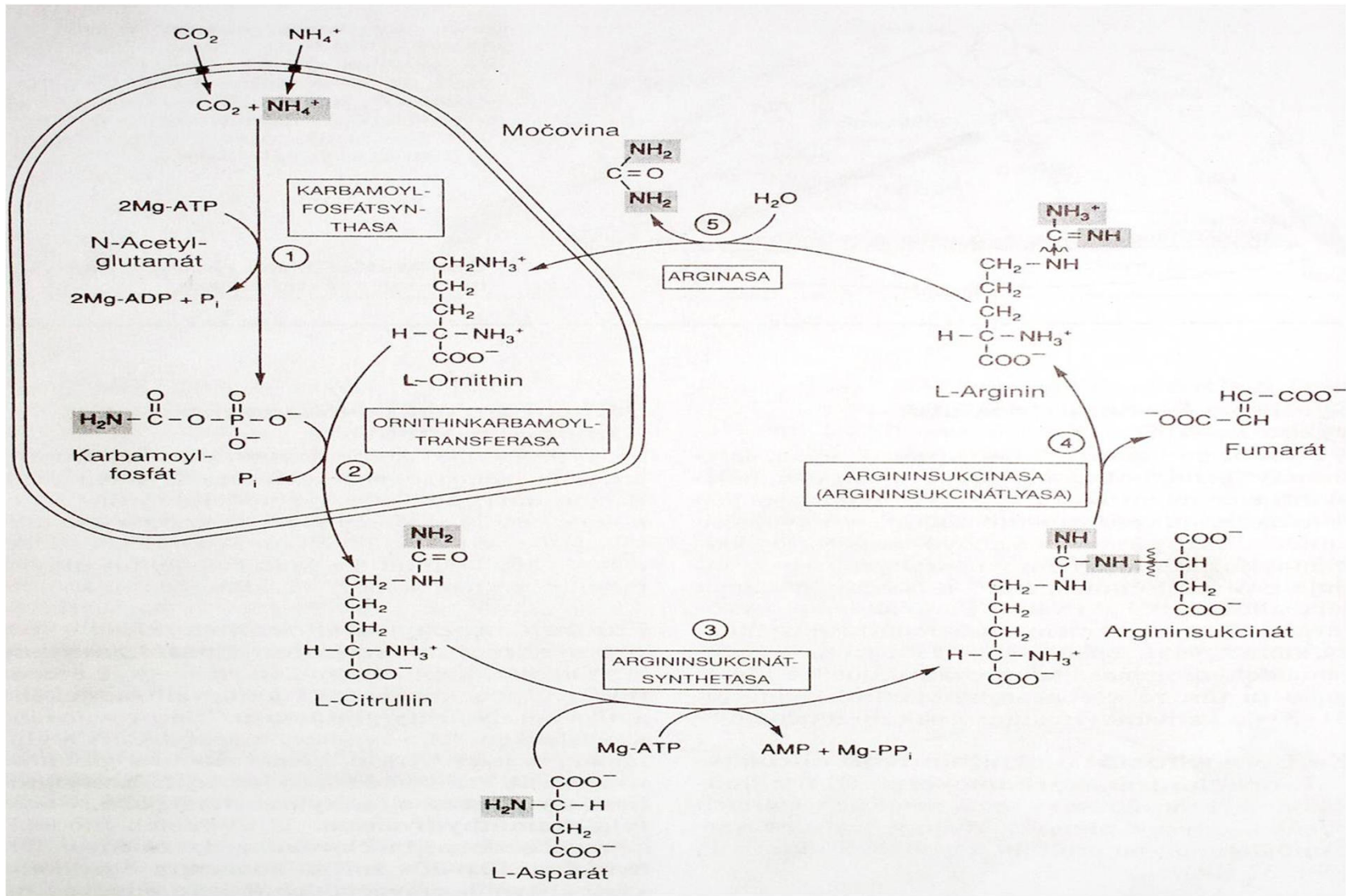
- Močovina se tvoří u ureotelních živočichů speciálním metabolickým pochodem:  
**močovinový, ureosynthetický nebo ornithinový cyklus** nebo též **malý Krebsův cyklus**
- Děj biosynthetický
- Do ureosynthetického cyklu vstupuje:
  - Jedna molekula  $\text{CO}_2$  a dvě aminoskupiny, pocházející z aminokyseliny ornithinu
  - Tato část probíhá zhruba ve všech organismech schopných biosynthesy argininu. Avšak pouze ureotelní živočichové mají vysokou hladinu enzymu arginasy, která katalysuje hydrolytické štěpení argininu na močovinu a ornithin
    - Močovina, neutrální, ve vodě rozpustná látka, se pak vyloučí močí a ornithin je k dispozici pro další cyklus děje.



# UREOSYNTHETICKÝ CYKLUS

- Tento cyklus probíhá nepřetržitě v játrech
- U dospělého člověka se denně vytvoří a vylučuje v průměru **25 až 35 g močoviny** ( asi 0,5 mol) -> přechází do krve a v ledvinách se z krve dostává glomerulární filtrací do moče.
- Buňky, které nemají všechny enzymy potřebné k synthese močoviny, detoxikují amoniak vazbou na glutamát, za vzniku glutaminu -> přenášen krví do jater - odevzdá amoniak do močovinového cyklu a menší část do ledvin, kde glutaminasou uvolněný amoniak neutralizuje kyseliny, vznikající v metabolismu a vylučuje se s nimi močí.
  - silně exergonická reakce – vznikají energeticky bohaté meziprodukty – vynaložení značného množství energie.





○ Rozdělení do pěti dílčích dějů:

1. **Tvorba Karbamoylfosfátu.**

- Fosforečný ester karbamové kyseliny je aktivovaný vstupní produkt, který vnáší do cyklu jednu aminoskupinu, pokutovanou hlavně glutamátem, vznikajícím z transportní formy aminoskupin
- Probíhá v matrix mitochondrií, kde je dostatek  $\text{CO}_2$ , který je zdrojem uhlíku pro karbamoylfosfát;  $\text{CO}_2$  je uvolňován dekarboxylačními reakcemi citrátového cyklu a dekarboxylační pirimidinů

2. **Vznik citrulinu.**

- probíhá opět v matrix mitochondrií, se karbamoylová skupina přenáší na  $\delta$ -aminoskupinu aminokyseliny ornithinu za vzniku citrulinu a uvolnění fosfátu
- Citrulin pak vystoupí z mitochondrií do cytoplasmy, kde se odehrávají další reakce cyklu

3. **Zapojení druhé aminoskupiny**

- kondensace citrulinu s aspartátem.
- Pro vznik argininu je zapotřebí další aminoskupina - přináší ji do cyklu aspartát za tvorby argininosukcinátu.
  - Vznik této makroergické sloučeniny katalysuje ligasa argininosukcinátsynthetasa za použití energie odpovídající dvěma jednotkám ATP: ATP se štěpí na AMP a  $\text{PP}_i$ , který se dále hydrolysuje na 2  $\text{P}_i$



#### 4. Štěpení argininosukcinátu na arginin a fumarát

- Aminokupiny aspartátu vytvoří arginin, zatímco jeho uhlíkový skelet zůstává zachován a uvolní se jako fumarát
- Vznik fumarátu umožňuje napojení močovinného cyklu na citrátový cyklus.
- Fumarát se v citrátovém cyklu přemění přes malát na oxalacetát, z něhož transaminací může opět vznikat aspartát pro další cyklus výroby močoviny
- Při přeměně malátu na oxalacetát se navíc získají dva aktivované atomy vodíku, ekvivalentní 3 jednotkám ATP, o něž se sníží energie potřebná na syntézu močoviny

#### 5. Štěpení argininu.

- Arginin, uvolněný rozpadem argininosukcinátu, se hydrolyticky štěpí za katalýsy argininasou na močovinu a ornithin, čímž se cyklus uzavírá
- Ornithin přechází z cytosolu zpět do mitochondrií, kde zahajuje další reakční cyklus
- Močovina postupně přechází do moč



# ENERGETICKÁ STRÁNKA MOČOVINOVÉHO CYKLU

- K průběhu močovinného cyklu je potřebná energie odpovídající čtyřem jednotkám ATP: dvě jsou zapotřebí na syntézu karbamoylfosfátu a další dvě na kondensaci citrulinu s asparátem
- Zapojením fumarátu do citrátového cyklu lze uhradit tři jednotky ATP

**Čistý výdej energie tedy představuje 1 ATP  
na 1 molekulu močoviny**



## ODBOURÁVÁNÍ NUKLEOVÝCH KYSELIN

- **Obměně podléhají pouze RNA**
- DNA se neodbourává ani v eukaryotních ani v prokaryotních buňkách
- Odbourávání veškeré DNA nastává jen u mrtvých buněk nebo při tvorbě bezjaderných buněk (např. zralé erythrocyty)
- **Nukleové kyseliny z potravy jsou během trávení hydrolyzovány na stavební jednotky -> oxidačně degradovány**



## *HYDROLYSA NA STAVEBNÍ JEDNOTKY*

- Při trávení nukleových kyselin a nukleoproteinových komplexů potravy se účinkem HCl v žaludku odštěpí bílkovinná složka (histon, protamin a další)  
-> hydrolyza za katalysy proteolytických trávicích enzymů
- Rozpad na nukleotidy uskutečňují hydrolasy ze skupiny fosfodiesteras (polynukleotidas) = nukleasy - deoxyribo- , nebo ribonukleasy a endo- nebo exonukleasy
- Hydrolytické štěpení nukleotidů pokračuje za katalysy mononukleotidasami (fosfomonoesterasami) a uvolňuje se kyselina fosforečná



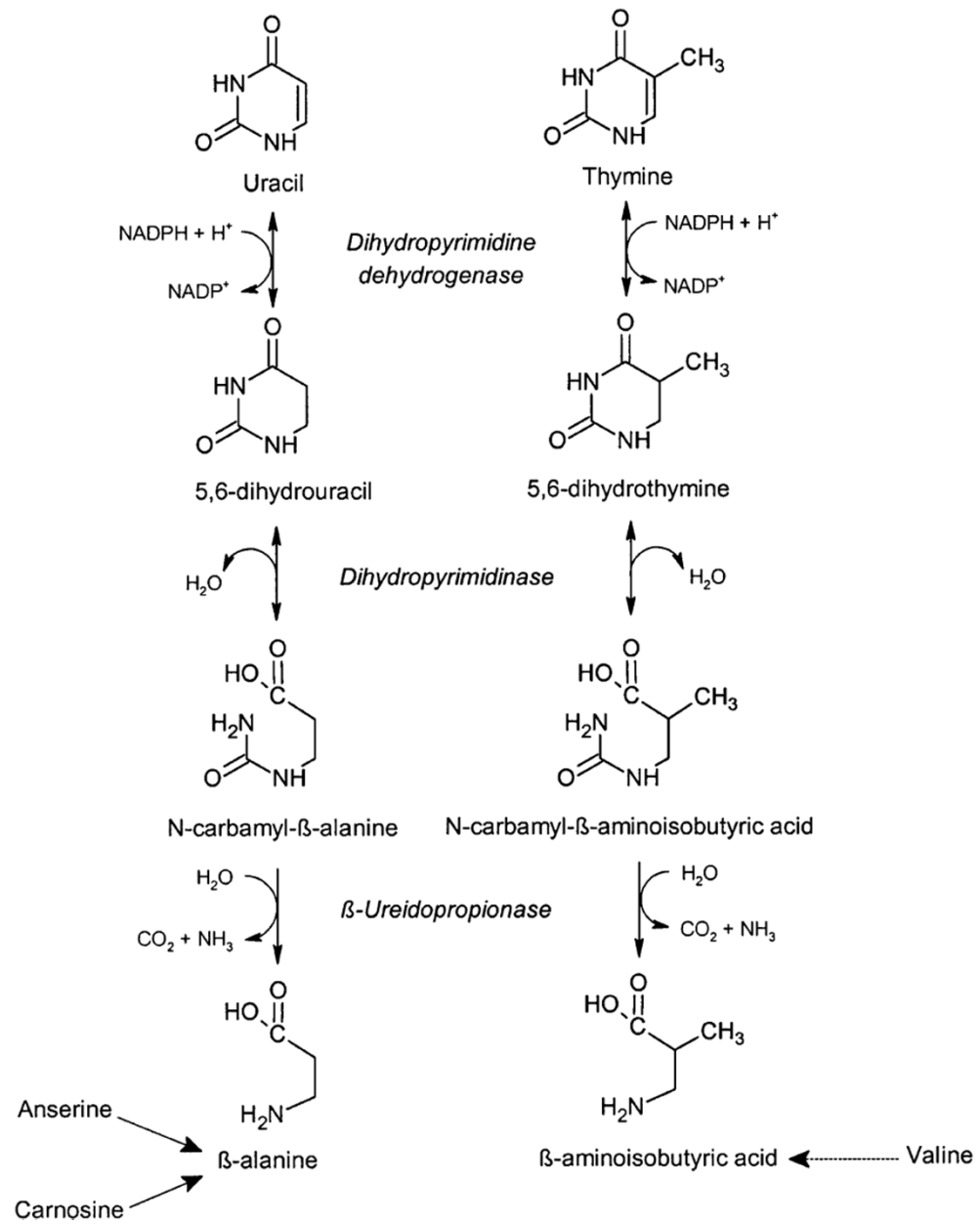
- Při trávení se uplatňují tzv. **alkalické fosfatasy** s optimem účinnosti při pH kolem 8.
- Nukleosidy se štěpí hydrolysou glykosidové vazby mezi pentosou a basí za součinnosti **nukleosidas** (nukleosidfosforylas) ze skupiny glykosidas
- Za přítomnosti kyseliny fosforečné nebo i difosforečné vznikne pentosa-1-fosfát (nebo 1-difosfát)
- Odbourávání tkáňových ribonukleových kyselin v rámci jejich neustálé obnovy probíhá hlavně v **lysosomech**



## *ODBOURÁVÁNÍ PYRIMIDINOVÝCH BASÍ*

- Oxidační odbourávání pyrimidinových basí probíhá u různých organismů různě
  - **Např. hlavní cesta u živočichů zahrnuje redukci uracilu a thyminu za vzniku plně hydrogenovaného kruhu**
  - U cytosinu nastává hydrogenace po jeho deaminaci na uracil
    - > Následuje otevírání kruhu mezi  $N_1$  a  $C_6$ , čímž z uracilu a na něj převedeného cytosinu vzniká karbamoyl- $\beta$ -alanin ( $\beta$ -ureidopropionát) a z thyminu karbamoylyl- $\beta$ -aminobutyryát
    - > Tyto aminokyseliny se dále hydrolyzují na  $\beta$ -alanin, resp.  $\beta$ -aminoisobutyryát a karbamát, který se rozpadá na  $CO_2$  a  $NH_3$
    - >  $\beta$ -Alanin a  $\beta$ -aminoisobutyryát se dále metabolizují jako aminokyseliny;  $\beta$ -alanin může být též využit na výrobu CoA, dipeptidů eserinu a karnosinu apod.

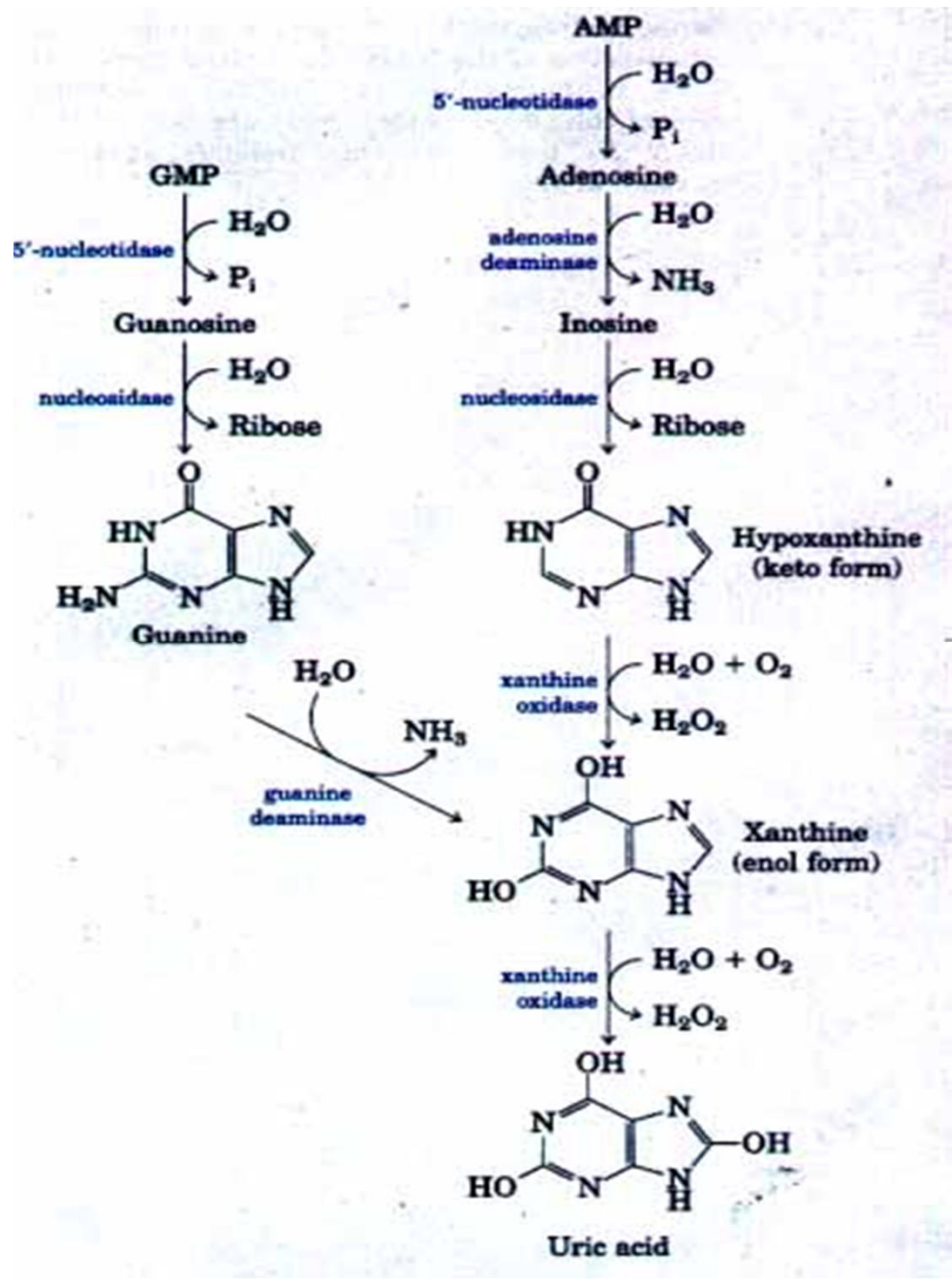




## *ODBOURÁVÁNÍ PURINOVÝCH BASÍ*

- Většina purinových derivátů se odbourává v organismech na urát
- **Oxidace guaninu začíná z volní base, oxidace adeninu z nukleosidu adenosinu**
- Ribosový zbytek je odštěpován fosforolyticky jako 5-fosfo- $\alpha$ -D-ribosyl-1-difosfát (PRPP)
- Xanthin je dále oxidován až na urát (anion močové kyseliny trioxopurinu)
- Oxidaci hypoxanthinu přes xanthin na urát katalyzuje xanthinoxidasa, flavoproteinový enzym, obsahující molybden a železo
  - Stejně jako jiné flavinové oxidasy přenáší odebrané atomy vodíku přímo na molekulový kyslík
  - Jeho redukcí vzniklý  $H_2O_2$  je pak katalasou rozkládán na  $H_2O$  a  $O_2$ .
- U primátů, ale i u ptáků, některých plazů a některých druhů hmyzu je urát konečným produktem degradace purinů a je vylučován močí





Zdroj: <http://www.bioinfo.org.cn/book/biochemistry/chapt21/bio8.htm>

## LITERATURA

- Mathews, Ch. K. – Halde, K. E. – Ahern, K. G.,  
Biochemistry, 3. vydání, San Francisco,  
Benjamin Cummings, 1999, 1186 s., ISBN 99-  
043683
- Voet, D. – Voet, J. G. – Pratt, Ch. W.,  
Fundamentals of Biochemistry: life at the  
molecular level, 2. vydání, USA, Willey, 2006,  
1264 s., ISBN 0-471-21495-7

