



# GYÓGYSZERÉSZI BIOKÉMIA

FARKAS VIKTÓRIA, SIPOS KATALIN, VERES BALÁZS

„Az élettudományi-klinikai felsőoktatás gyakorlatorientált és hallgatóbarát korszerűsítése a vidéki képzőhelyek nemzetközi versenyképességének erősítésére”

TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar  
Gyógyszerészi Biológia Tanszék – 2015

**SZÉCHENYI** 2020



MAGYARORSZÁG  
KORMÁNYA

**Európai Unió**  
Európai Szociális  
Alap



**BEFEKTETÉS A JÖVŐBE**

Kézirat lezárva: 2015. október

A kiadásért felel a: Pécsi Tudományegyetem

Felelős szerkesztő: dr. Sipos Katalin

Lektorálta: dr. Farkas Viktória, dr. Sipos Katalin, dr. Veres Balázs

Műszaki szerkesztő: Czulák Szilvia

Terjedelem: 190 oldal

# TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés a gyógyszerészi biokémiába .....	13
2. A metabolizmus fő szabályozó útvonalai .....	15
2.1. Energiatermelés és szabályozás .....	15
Energiatöltet .....	15
2.2. Metabolikus útvonalak közös molekulái .....	16
Aktivált csoportátvivők .....	16
2.3. Fő metabolikus szabályozó mechanizmusok .....	16
Koncentrációk .....	16
Enzimaktivitás szabályozások .....	16
Hormonok .....	16
Kompartmentalizáció .....	16
2.4. A metabolizmus alap kémiai reakciói .....	17
3. Táplálkozás és vitaminok .....	19
3.1. A táplálék makromolekulái .....	20
3.2. Vitaminok .....	20
Zsírban oldódó vitaminok .....	20
Vízben oldódó vitaminok .....	21
Vitaminok, amelyek az energiatermelésben szerepelnek .....	21
Vitaminok, amelyek a vérképzésben vesznek részt (hiányuk megaloblasztos anémiát okoz) .....	21
Biokémiailag fontos ásványi anyagok .....	22
4. Makromolekulák a biokémiában .....	23
4.1. Nukleinsavak .....	23
4.2. Fehérjék .....	23
4.3. Szénhidrátok .....	23
4.4. Lipidek .....	24
4.5. A makromolekulákkal kapcsolatos diétás megfontolások .....	24
5. A termodinamika alapjai .....	25
6. Enzimológia .....	27
6.1. Bevezetés, enzimosztályok .....	27
6.2. Az enzimek működése .....	27
Az enzimek aktív helye .....	28
Koenzimek és kofaktorok .....	28
Enzim kinetika .....	29

6.3. Enzimgátlók.....	30
Irreverzibilis gátlószerke .....	30
6.4. Enzimaktivitás szabályozása .....	31
Alloszterikus szabályozás .....	31
Izoenzimek .....	32
Enzimek kovalens módosítása .....	32
Proteolitikus hasítás általi aktiválás .....	33
7. Szénhidrátok.....	35
7.1. Általános jellemzők és nevezéktan .....	35
7.2. Egyszerű cukrok: Monoszacharidok .....	35
7.3. Sztereokémia .....	35
7.4. Ciklizáció .....	36
7.5. Reaktivitás és legyakoribb származékok .....	37
7.6. Diszacharidok.....	38
7.7. Poliszacharidok .....	38
7.8. Egyéb jelentős természetes poliszacharidok .....	40
7.9. Szénhidrátok az extracelluláris térben .....	40
7.10. Glukokonjugátumok: Proteoglikánok, Glukoproteinek és Glukolipidek.....	42
Proteoglikánok .....	42
Glikolipidek.....	43
Glikoproteinek .....	43
7.11. Klinikai alkalmazások .....	44
Véralvadás és a heparin .....	44
Hemoglobin glikoziláció és a diabetes .....	44
Vércsoport antigének .....	45
A penicillin hatásmechanizmusa.....	45
8. Glikolízis .....	47
8.1. Szabályozás .....	48
9. Glukoneogenesis .....	49
10. Glikogén metabolizmus .....	51
10.1. Szintézis .....	51
10.2. Lebontás.....	51
10.3. Szabályozás .....	52

11. Pentóz-foszfát út.....	55
11.1. Oxidatív szakasz .....	55
11.2. Nem oxidatív szakasz .....	55
11.3. Szabályozás .....	55
12. Komplex poliszacharidok metabolizmusa .....	57
13. A piruvát sorsa.....	59
13.1. A PDC szabályozása .....	59
14. Citrátkör .....	61
14.1. Szabályozás .....	61
15. A citrátkörhöz kapcsolódó transzport folyamatok.....	63
16. Terminális oxidáció.....	65
16.1. Szabályozás .....	66
17. Lipidek .....	69
17.1. Csoportosítás és kémiai jellemzők.....	69
17.2. A lipidek biológiai funkciói .....	69
17.3. Zsírsavak.....	69
17.4. Nevezéktan .....	69
17.5. $\omega$ -3 (omega-3) zsírsavak .....	70
17.6. Esszenciális zsírsavak .....	70
17.7. A zsírsavak néhány egyéb, fontos jellemzője .....	70
17.8. Triacilglicerolok (trigliceridek, triacilgliceridek vagy neutrális zsírok).....	71
17.9. A zsír mint tápanyag .....	71
17.10. Foszfolipidek, szfingolipidek és eikozanoidok.....	72
17.11. Koleszterol.....	72
17.12. A koleszterol szerkezete és kémiai jellemzői.....	72
17.13. A koleszterol biológiai funkciói .....	72
18. Membránok és transzport folyamatok .....	73
18.1. Membránon át történő diffúzió .....	73
18.2. Transzporterek .....	73
ATP által hajtott pumpák.....	74
Kalcium-ion pumpa .....	74
18.3. ABC transzporterek.....	75

18.4. Gyógyszer transzportáló molekulák .....	75
18.5. Csatornák .....	75
loncsatornák.....	75
19. A lipidek klinikai jelentősége.....	77
20. Lipidelbontás – zsírsavak béta oxidációja .....	79
21. Ketontestek.....	81
21.1. Ketogenezis.....	81
21.2. A ketontest szintézis szabályozása.....	82
21.3. Ketontestek lebontása.....	82
21.4. Ketózis, ketonuria és ketoacidózis .....	82
21.5. Diabetes mellitus .....	83
22. Zsírsavak bioszintézise .....	85
22.1. A zsírsav bioszintézis áttekintése .....	85
A zsírsav szintézis iniciációja.....	85
Az acetyl-KoA karboxilálása az acetyl-KoA karboxiláz (ACC) katalizálta reakcióban.....	85
A zsírsav-szintáz (FAS) szerkezete .....	86
A zsírsav szintáz feltöltése.....	86
A zsírsav szintézis ismétlődő lépései .....	86
Terminációs lépés .....	86
22.2. Palmitinsav szintézis .....	87
22.3. Citrát inga (shuttle).....	87
22.4. A citoszólos NADPH forrása .....	87
22.5. A zsírsav bioszintézis szabályozása .....	88
A zsírsavak elongációja (láncosszabbítás).....	88
A zsírsavak deszaturációja .....	88
A zsírsavak egyéb módosításai .....	89
23. Komplex lipidek metabolizmusa .....	91
23.1. Glicerofosfolipidek (foszfogliceridek).....	91
23.2. A foszfolipidek fő biológiai funkciói.....	91
23.3. Triacilglicerolok és foszfolipidek bioszintézise .....	92
A foszfatidsav szintézise .....	92
Triglicerid Bioszintézis .....	92
Membrán foszfolipidek szintézise .....	93
Foszfatidilszerin bioszintézis.....	93
Foszfatidilkolin bioszintézis.....	93
Foszfatidiletanolamin bioszintézis.....	93

Foszfatidilinozitol bioszintézis .....	93
Remodelling reakciók.....	93
23.4. Sphingolipids .....	94
23.5. A szfingolipidek szerkezete .....	94
23.6. Szfingolipid bioszintézis .....	95
23.7. A foszfolipidek és szfingolipidek lebontása .....	95
23.8. Prostaglandinok, tromboxánok és leukotriének bioszintézise .....	96
A ciklikus útvonal.....	96
A lineáris útvonal.....	97
24. Koleszterin metabolizmus.....	99
24.1. A koleszterin bioszintézise .....	99
A szintézis négy szakaszban megy végbe: .....	99
A koleszterin észteresítése .....	100
24.2. A koleszterin transzportja .....	100
24.3. A koleszterin bioszintézis szabályozása .....	100
24.4. Epesavak.....	101
24.5. Sztteroid Hormonok .....	102
24.6. A koleszterin bioszintézisben szereplő intermedierek alternatív sorsa.....	102
25. A lipid anyagcsere szabályozása .....	105
25.1. Lipid szintézis szabályozása .....	105
25.2. A zsírsav lebontás szabályozása .....	106
26. Aminosavak és fehérjék .....	107
26.1. Aminosavak.....	107
Az aminosavak szerepe.....	107
Az aminosavak általános jellemzői .....	107
Az aminosavak osztályozása tulajdonságaik alapján .....	107
Az aminosavak és fehérjék töltése .....	109
Peptidek .....	109
26.2. Fehérjék .....	110
A fehérjék szerkezete .....	110
Másodlagos szerkezet .....	111
Harmadlagos szerkezet .....	112
Kollagén .....	112
Negyedleges szerkezet.....	113
Strukturálatlan fehérjék .....	113
Protein komplexek, hálózatok .....	113
Konjugált proteinek .....	113

26.3. Protein folding .....	113
A fehérje foldinghoz aszisztáló molekulák .....	114
26.4. Protein denaturáció .....	114
In vitro denaturáció .....	115
26.5. Protein turnover .....	115
A lizoszómális rendszer .....	116
Az ubikvitin/proteoszóma-rendszer .....	116
A fehérje lebontás defektusai .....	116
26.6. A fehérjék elválasztása .....	117
Egyéb protein analizáló módszerek .....	117
Spektroszkópiás módszerek .....	118
Mag mágneses rezonancia (NMR) .....	118
27. Fehérjék és aminosavak metabolizmusa .....	119
27.1. A glutamát család bioszintézise (Glu, Gln, Pro, Arg) .....	119
27.2. Az aszpartát család bioszintézise (Asp, Asn, Met, Thr, Iso, Lys) .....	120
27.3. Az alanin család bioszintézise (Ala, Val, Leu) .....	120
27.4. A szerin család bioszintézise (Ser, Cys, Gly) .....	120
27.5. Gyűrűs aminosavak bioszintézise (Phe, Tyr, Trp, His) .....	120
27.6. Aminosavak lebontása .....	121
28. Ureaciklus (ornitinciklus, karbamidciklus).....	123
28.1. Szabályozás .....	123
29. Az aminosav metabolizmus klinikai vonatkozásai.....	125
29.1. Az aminosavak szerepe a lipid szintézisben:.....	125
29.2. Az aminosavak szerepe a nukleotid bioszintézisben:.....	125
29.3. Jelentős neurotranszmitterek, hormonok és pigmentek a tirozin származékai .....	125
29.4. A triptofán a NAD, szerotonin és melatonin prekursora.....	126
29.5. Egyéb, aminosavak dekarboxilációjával képződő biogén aminok .....	126
29.6. A karnitin lizinből származik .....	126
29.7. Aminosavak a kreatin és glutation szintézis prekursorai .....	126
Aminosavak transzportja a $\gamma$ -glutamil ciklussal .....	127
29.8. Hem bioszintézis .....	127
29.9. Hem degradáció .....	128
Intravaszkuláris hemolízis .....	129
29.10. Az aminosav metabolizmus betegségei.....	129
Fenilketonuria (PKU).....	129
Alkaptonuria .....	129
Juharszirup betegség (MSUD).....	130



30. Nukleinsavak .....	131
30.1. Építőkövek és szerkezetek .....	131
30.2. Bázisok, Nukleozidok, és Nukleotidok .....	131
Fiziko-kémiai jellemzők .....	131
30.3. A DNS és RNS elsődleges szerkezete .....	132
30.4. Másodlagos szerkezet .....	133
30.5. DNS másodlagos szerkezete .....	133
A DNS kettős hélix .....	133
A DNA balmenetes (Z-forma) hélixet is formálhat .....	133
30.6. Szokatlan DNS szerkezetek.....	134
30.7. RNS másodlagos szerkezet.....	134
30.8. DNA denaturáció és renaturáció .....	135
31. Nukleotidok bioszintézise .....	137
31.1. Purin nukleotidok de novo szintézise .....	137
31.2. Szabályozás .....	138
31.3. Salvage útvonal .....	138
31.4. Pirimidin nukleotidok szintézise .....	139
31.5. Dezoxiribonukleotidok szintézise .....	140
31.6. Timidin trifoszfát szintézise .....	140
32. Nukleotidok lebontása. A nukleotid metabolizmus klinikai aspektusai.....	143
32.1. A purinok lebontása .....	143
32.2. A pirimidin nukleotidok lebontása.....	143
32.3. A purin és pirimidin metabolizmus klinikai aspektusai .....	144
32.4. A mentő „salvage”útvonalak defektusai .....	144
32.5. A megnövekedett húgysav szint köszvényet okoz.....	144
32.6. A nukleotid metabolizmus enzimeire ható kemoterápiás és antibakteriális szerek .....	145
32.7. A timidilát szintézis és folát metabolizmus gátlószerei .....	145
32.8. Egyéb antimetabolitok (bázisok és nukleozidok szerkezeti analógjai) .....	146
32.9. Egyéb nukleotid metabolizmussal interferáló szerek .....	146
32.10. Purin és pirimidin analógok, mint antivirális szerek .....	146
33. Az aminosav és nukleotid metabolizmus szabályozása .....	147
33.1. Aminosav metabolizmus .....	147
Az éjszakai éhezés hatása az aminosav metabolizmusra .....	147
Szövetek közötti aminosav anyagcsere.....	147
33.2. A purin szintézis szabályozása .....	148
33.3. Pirimidin szintézis szabályozása.....	148

34. A vasanyagcsere biokémiai vonatkozásai.....	149
34.1. Hem szintézis .....	149
A hem lebomlása .....	149
34.2. Vas-kén fehérjék .....	149
34.3. A szervezet vas anyagcseréje .....	150
35. Biotranszformáció – a Citokróm P450 rendszer.....	151
35.1. A citokróm P450 rendszer fő jellemzői.....	151
35.2. Citokróm P450 izoformák.....	151
35.3. A citokróm P450 rendszer szubsztrátjai.....	151
35.4. Xenobiotikumok metabolizmusa .....	151
35.5. A citokróm P450 rendszer indukciója és gátlása .....	152
35.6. A gyógyszermetabolizáló enzimek genetikai polimorfizmusa.....	152
36. Metabolikus kapcsolatok különböző tápláltsági állapotokban (táplált-éhező ciklus).....	153
36.1. Táplált állapot.....	153
36.2. Kezdeti éhező állapot.....	154
36.3. Éhező állapot.....	154
36.4. Az éhezést követi korai táplált állapot.....	154
36.5. Kalória homeosztázis .....	155
37. Az alkohol metabolizmusa.....	157
37.1. Az etanol oxidatív katabolizmusa.....	157
Alkohol dehidrogenáz .....	157
Az etanol mikroszómális (citokrom P450 rendszer általi) oxidációja .....	157
Az etanol kataláz általi oxidációja .....	158
37.2. Az acetaldehid oxidációja acetáttá.....	158
37.3. Az acetát aktiválása acetil-KoA-vá.....	158
37.4. Metabolikus változások rendszeres, nagy dózisu alkohol fogyasztás esetén .....	159
38. Diabetes mellitus .....	161
38.1. Terhességi diabetes mellitus.....	161
38.2. Az inzulin termelése és hatásai a vérglükóz szintre .....	161
38.3. Inzulin jelátviteli útvonalak.....	162
38.4. Elhízás.....	162
38.5. Az elhízás egészségkárosító hatású és hajlamosít a kettes típusú diabetes mellitusra .	163
38.6. A szövetek közötti metabolikus kapcsolatok 2-típusú diabetesben .....	164
38.7. Metabolikus kapcsolatok 1-típusú diabetes mellitusban .....	164
38.8. A diabetes komplikációiért felelős metabolikus abnormalitások .....	164
38.9. A 2-típusú diabetes kezelése .....	165

39. A máj szerepe az anyagcsere szabályozásában .....	167
39.1. A máj szerepe a biotranszformációban és detoxifikációban.....	167
39.2. A máj energia igénye .....	167
39.3. A máj aminosav anyagcseréje .....	167
39.4. Fehérje szintézis .....	168
39.5. Pentóz foszfát út.....	168
39.6. A vércukor szint szabályozása.....	168
39.7. Lipid anyagcsere .....	168
39.8. A máj betegségei.....	168
40. Metabolikus integráció.....	169
40.1. Agy .....	169
40.2. Vázizom.....	169
40.3. Szívizom.....	170
40.4. Vese .....	170
40.5. Terhesség .....	170
40.6. Szoptatás .....	171
41. Makronutriensek emésztése és felszívódása .....	173
41.1. Fehérjék emésztése és felszívódása .....	173
Proteázok .....	174
41.2. Szénhidrátok emésztése és felszívódása.....	174
41.3. Lipidek emésztése és felszívódása.....	175
41.4. Rostok .....	177
42. A hemoglobin biokémiája .....	179
42.1. A hemoglobin szerkezete.....	179
Az oxigénkötés kooperativitása a hemoglobinban.....	179
42.2. Hemoglobin származékok.....	180
Methemoglobin.....	180
Karboxihemoglobin .....	180
Glikolizált hemoglobin .....	180
42.3. Hemoglobinopátiák .....	180
43. Az érzékek biokémiája.....	181
43.1. Szaglás.....	181
43.2. Íz érzékelés .....	181
43.3. Látás.....	182
43.4. Hallás .....	182
43.5. Tapintás.....	183

44. A neurotranszmitterek metabolizmusa .....	185
44.1. A neurotranszmitterek jellemzői .....	185
Katekolaminok metabolizmusa .....	185
Szerotonin metabolizmus .....	186
Hisztamin metabolizmus .....	186
Acetilolin (Ach) .....	186
Glutamát és $\gamma$ -aminobutirát (GABA) .....	186
Egyéb neurotranszmitterek .....	187
45. Gyógyszerfejlesztés .....	189
45.1. ADME .....	189
45.2. Gyógyszer toxicitás .....	189
45.3. Potenciális gyógyszerek felfedezése .....	190
45.4. A genetika alkalmazása a gyógyszerfejlesztésben .....	190
45.5. Gyógyszer rezisztencia .....	190

# 1. BEVEZETÉS A GYÓGYSZERÉSZI BIOKÉMIÁBA

A biokémia tudománya a szerves kémia, az enzimológia, a bioenergetika és a molekuláris biológia fejlődésének talaján **alakult ki**. Korábban a molekuláris biológiai tanulmányok során láttuk, hogy az élő sejtben hogyan viszonyul a struktúra és a funkció a sejtalkotók működése alapján. Megvizsgáltuk, hogy reagál általában a sejt a külső ingerekre (stimulusok). A szintetikus reakciókat figyelembe véve a molekuláris biológia elsősorban a sejt makromolekuláinak szintézisével foglalkozott (DNS, RNS, fehérjék). A **biokémia azt vizsgálja**, hogyan reagál a sejt és az organizmus a metabolikus változásokra, hogyan szintetizálódnak a makromolekulák építőkövei (nukleotidok, aminosavak, cukrok, lipidek) hogyan hasznosulnak a táplálék alkotóelemei. Tanulmányozni fogjuk a metabolikus folyamatok **szabályozását** egy sejtben, egy specifikus szöveten (máj, izom, szívizom, zsírszövet) és az egész szervezeten belül. Ezek a szabályozó folyamatok reagálnak a táplálékfelvétel minőségi és időbeli különbségeire, valamint különböző fiziológiai (éjszakai éhezés, sportolás, terhesség és szoptatás) és patofiziológiai (máj- és vesebetegségek, gyulladások, krónikus megbetegedések) állapotokra.

A Föld valamennyi élőlénye számára a végső **energiaforrás** a természetes napfény. A növények és a mikroorganizmusok egy része közvetlenül használja ezt az energiát. Az emberi szervezet táplálékát növényi és állati eredetű komponensek alkotják. A táplálék szerves alkotóelemei a sejtben elégnek, széndioxidot kibocsátva és redukáló ekvivalenseket (főként NSDH formájában) generálva. A redukáló ekvivalensek az oxigénnel találkozva energiát termelnek, amely **ATP** (a sejt legfőbb energiaszolgáltató molekulája) szintézisére fordítódik. A sejtekben az energia két formában tárolódik: kémiai kötések (pl. ATP) és (elektro)kémiai gradiens formájában (erről bővebben a későbbiek során). A raktározott **energia** bioszintetikus reakciókra, aktív transzport folyamatokra, izommunkára, hőtermelésre, a sejtben belüli, az extracelluláris tértől eltérő környezet megőrzésére fordítódik.

A biokémiai **metabolikus útvonalakon** számos reakció követi egymást szabályozott módon. Minden útvonalnak kiindulási szubsztrátja(i) és végterméke(i) van(nak). A **katabolikus** utak lebontó (degradatív) folyamatok, amelyek során nagyobb molekulák kisebbekre bomlanak, miközben energia termelődik vagy közvetlenül ATP/GTP formájában, vagy közvetve NADH/FADH<sub>2</sub> képződésével. Az **anabolikus** utak szintetikus folyamatok: egyszerű prekursorokból (előanyagok) nagy, komplex molekulák képződnek. Számos lépésben ennek során redukció történik NADPH részvételével. Valamennyi metabolikus útvonal szigorúan **szabályozott** enzimek és/vagy hormonok által a sejt szükségleteinek és energia ellátottságának megfelelően.

A biokémiai reakciókat alkalmazzuk a veleszületett anyagcsere-betegségek és más patofiziológiai állapotok (máj- és vesebetegségek, szívizom és vázizom károsodások, metabolikus rendellenességek, mint például diabetes mellitus) **diagnózisára**. Egyes veleszületett enzim hiányok kezelhetők specifikus diétás megszorításokkal.

A biokémiai folyamatokban jelentős **kémiai erők** hasonlóak a molekuláris biológia tanulmányokban megismertekhez: kovalens kötések (egyes és kettős, enzimatis reakciók révén általában), nem-kovalens kötések (elektrosztatikus interakciók, hidrogén hidak, van der Waals interakciók). A víz jelenlétének szerepe, valamint a hidrofób interakciók hasonló jelentőségűek a molekuláris biológiában megismertekhez.

A strukturális és funkcionális szempontból alapvető **makromolekulák** a következők: szénhidrátok, fehérjék, nukleinsavak (DNS, RNS) és lipidek. Ezeknek a molekuláknak a metabolizmusa, beleértve az építőkövek szintézisét is a biokémiai tanulmányok fő témakörei.

A biokémiai folyamatokban központi **kulcs molekulák** szerepelnek (pl. piruvát, acetyl-CoA), amelyek több útvonalnak is szereplői, így szabályozási lehetőséget biztosítanak. Különböző fajokban az egyes metabolikus útvonalak hasonló vonásokat mutatnak, amely segíti az emberi szervezetben zajló folyamatok könnyebb megértését. Faj specifikus molekulák, biokémiai lépések vagy szabályozó mechanizmusok teszik a képet komplexszé.

A biokémia tanulmányok során *szokatlan* lehet: a kémiai reakcióegyenletek nem mindig tökéletesek; a reakciókban résztvevő fémionok sokszor nincsenek jelölve; rövidítéseket alkalmazunk; nyilak jelölhetik molekulák felvételét vagy leadását; a biokémiai reakciókat az őket katalizáló enzim nevével azonosítjuk.

## 2. A METABOLIZMUS FŐ SZABÁLYOZÓ ÚTVONALAI

A fő biokémiai útvonalak vagy **anabolikusak**, vagy **katabolikusak**. Az energia igényes és az energia-termelő útvonalak ATP-hez kapcsolódnak, amely a sejt legfontosabb energiaraktározó molekulája. A különböző útvonalak néhány közös **kulcsmolekulát** tartalmaznak, és ugyanolyan **típusú reakciókkal** működnek.

Egy **metabolikus útvonal** reakciók sorozata, amelyek egymást követik. Általában az egyik reakció terméke a következő szubsztrátja. A fő reakció útvonal **típusok**: lineáris, elágazó, egymással kapcsolódó vagy körfolyamat (példák az előadásanyagban).

Egy reakciósor **elkötelezett lépése**: ezt a lépést követően a folyamat folytatódik a végtermék előállításáig. Fontos megjegyezni, hogy ez a lépés általában irreverzibilis és a reakciósor legjobban szabályozott lépése.

A szabályozások néhány **alaptípusa**: *feedback* (visszacsatolási szabályozás)- *negatív*: a végtermék gátolja az elkötelezett lépést; *pozitív*: a végtermék vagy egy melléktermék az elkötelezett lépés enzimét aktiválja. *Feed forward* szabályozás: felhalmozódó prekursor molekulák egy adott útvonalat aktiválnak. Ha **enzimatis blokk** (genetikai okok és / vagy gyógyszer-gátlás miatt) alakul ki egy útvonalban akkor a blokk előtti metabolitok felhalmozódnak, míg a blokk utáni termék gyakorlatilag hiányzik. Esetenként szokatlan melléktermék jelenhet meg, mivel a sejt megpróbálja eliminálni a túl nagy mennyiségben jelen lévő anyagokat.

### 2.1. ENERGIATERMELÉS ÉS SZABÁLYOZÁS

**Táplálékunkban** a zsírok, poliszacharidok és a fehérjék a legfőbb komponensek. Kisebb molekulákká emésztődnek (zsírsav, glicerin, glukóz, és más monoszacharidok, aminosavak), és a sejten belül a katabolikus útvonalakon lebomlanak (béta oxidáció és / vagy glikolízis). Ezekben a lebontó folyamatokban a közös molekula, ami keletkezik az acetil-CoA, amely a citrátkörbe belépve teljesen el tud égni. Ahogy korábban megjegyeztük ezek a lépések ATP szintézishez vezetnek.

Az ATP mellett más molekulák is rendelkeznek olyan specifikus csoportokkal, amelyek hidrolízise „nagy” energia felszabadulással jár. Ezek között a **nagy energiájú molekulák** között találjuk: 1,3-biszfoszoglicerint (1,3 BPG, glikolitikus intermedier), foszfoenolpiruvát (PEP, glikolízis), kreatin foszfát (CP, az izomsejtek energiaraktározó molekulája), ATP és GTP. Fontos: foszfátészterek, mint pl. a glukóz-6-foszfát NEM tartalmaznak nagy energiájú kötések. A fent említett nagy energiájú molekulák **kapcsolt reakciókban** gyakran szerepelnek. Ezekben az esetekben termodinamikailag kedvezőtlen reakció kapcsolódik egy energetikailag kedvező, (spontán) reakcióhoz. Az utóbbi reakcióban felszabaduló energia elegendő ahhoz, hogy az első reakciót véghezvigye.

#### Energiatöltet

Az ATP foszfoanhidrid kötéseinek hidrolízise nagy mennyiségű azonnal elérhető energiát biztosít. Ezeknek a kötéseknek az aránya a teljes adenin nukleotid mennyiséghez adja az energiatöltet számát a sejtben, amely általában 0,8- 0,95 között található. A sejt energiatöltete az **anyagcsere szabályozás** fontos komponense az energiatermelő útvonalakat a magas energiatöltet gátolja.

## 2.2. METABOLIKUS ÚTVONALAK KÖZÖS MOLEKULÁI

### Aktivált csoportátvivők

Számos olyan biokémiai molekula létezik, amelyek több útvonalnak is komponensei és mindegyikben ugyanazt a funkciót töltik be: különböző reakciókban **csoportátvivők**. Ebből a szempontból az ATP is tekinthető egy foszforcsoport átvivő molekulának.

**NAD és FAD** az oxidatív folyamatok elektronhordozói. A NAD reaktív csoportja a nikotinamid gyűrű, amely a *niacin vitamin* származéka. Ez a molekularész hidrid ion felvételére alkalmas. Hasonlóan a FAD dehidrogenáz reakciókban elektronfelvevő molekula, jellemzően azokban ahol kettős kötés jelentkezik. A FAD aktív molekula része az izoalloxazin gyűrű, a *riboflavin vitamin* származéka. Az FMN (flavin mononukleotid, AMP nélkül) ehhez hasonló elektronszállító molekula. **NADPH** a NADH-hoz viszonyítva egy járulékos foszfátcsoporthoz hordoz 2<sup>-</sup> hidroxilhoz kapcsolódva, és ez a kis különbség jelentős funkcióbeli változást okoz: a NADPH a bioszintetikus útvonalak redukív reakcióiban vesz részt.

**Coenzim A (CoA)** az acil csoportok aktivált szállítója (acil-CoA, acetil-CoA). Tartalmaz egy nukleotidot, egy vitaminszármazékot (*pantoténát*) és egy reaktív részt, egy terminális SH csoporttal. Az összes felsorolt hordozó molekula önmagában, katalizátor nélkül stabil. Nagyon sok fajta reakcióban vesz részt ez a néhány specifikus molekula, amely bizonyítja a hatékony és gazdaságos sejten belüli megoldásokat.

## 2.3. FŐ METABOLIKUS SZABÁLYOZÓ MECHANIZMUSOK

### Koncentrációk

Egy enzim mennyisége transzkripcionális és translációnális szabályozás eredménye, és az enzim fél élet idejétől is függ. A metabolikus folyamatok sebességét a szubsztrátok és kofaktorok koncentrációja is befolyásolja.

### Enzimaktivitás szabályozások

Két fő típusa az *allosterikus* és *kovalens* módosítások (ezekről bővebben az enzimológia fejezetben). A sejt *energia töltete* jellemző szabályozó faktor az energiatermelő és energia felhasználó mechanizmusokban.

### Hormonok

A hormonok biztosítják a metabolikus folyamatok kontrollját az szövetek között, jelezve az egész szervezet szükségleteit. Számos esetben intracelluláris jelátviteli utakon keresztül hatnak, amely eredménye lehet metabolikus útvonalak központi enzimeinek reverzibilis módosítása.

### Kompartmentalizáció

Számos biokémiai folyamat különböző sejt organellumokban *elkülönülve* játszódik, ezek közül legjelentősebb a mitokondrium. Ezáltal lehetővé válik közös molekulák különböző útvonalakban való felhasználása (acetyl-CoA a mitokondriumban a citrátkörbe lép, a citoszolban zsírsav szintézisre használható), valamint a molekulák kompartmentekbe való *transzportja* is szabályozhatóvá válik.



## 2.4. A METABOLIZMUS ALAP KÉMIAI REAKCIÓI

A biokémiai útvonalak igen nagyszámú lépései valójában hat alap kémiai reakció típus variációi. Ezek a következők:

- oxido-redukció elektron transzfer mellett
- ligálási reakció ATP hidrolízis energiájával, kovalens kötés létrehozására
- molekulán belüli izomerizáció
- molekulák közötti funkcionális csoportátvitel
- hidrolízis
- csoport hozzáadás vagy eltávolítás kettős kötés részvételével.



### 3. TÁPLÁLKOZÁS ÉS VITAMINOK

Az emberi szervezet **energia igénye** számos tényezőtől függ: kor, nem, fiziológiai és patofiziológiai körülmények, a fizikai aktivitás szintje, hogy csak néhányat említsünk. Azonban egészséges önkénteseken végzett megfigyelések és statisztikai elemzések alapján az energia igénynek és felhasználásnak elfogadott értékei vannak.

**DEE (daily energy expenditure: napi energia felhasználás)** a következők összege: **BMR (basal metabolic rate: alap metabolikus érték)**, **DIT (diet induced thermogenesis: a táplálék által indukált hőtermelés)** és a fizikai aktivitás energia igénye. A *BMR* általában alacsonyabb nőkben, csökken a korral, láz esetén emelkedik, befolyásolja a testfelszín mérete és hormonok (tiroxin, növekedési hormon, epinefrin, kortizol, nemi hormonok). A *BMR* átlagban: 24 kcal/nap/testsúly kg. A különböző aktivitások energia igénye a következő: tanulás: 30% BMR; 2 óra közepes intenzitású testedzés/nap: 60-70 % BMR. A *DIT* az az energia, amely a táplálék felszívódására, emésztésére és raktározására fordítódik, amely a felvett tápláléknak kb. 10 %-a. Hosszabb idejű éhezés a *BMR* jelentős csökkenését idézi elő.

Normál viszonyok között a szervezetben a metabolikus homeosztázis (egyensúly) áll fenn. Az elérhető táplálékok és a szervezet energia igénye egyensúlyban van. Ebben segít a véráramlás, amely a tápanyagokat megfelelő koncentrációban szállítja a szövetekhez, a központi idegrendszer pedig közvetlenül, vagy hormonok útján irányít. A felvett kalória az energiát igénylő anyagcsere folyamatokra fordítódik, a felesleg glikogén vagy triacil-glicerín (TAG) formájában raktározódik.

A **táplálék fő alkotóelemei** a szénhidrátok, zsírok és fehérjék. Az emésztést és felszívódást követően a makromolekulák építőkövei a véráramba kerülnek, a sejtek felveszik őket és energiatermelésre, biomolekulák szintézisére vagy raktározásra használják őket. Az energia igényes folyamatok az alap fiziológiai funkciók, a fizikai aktivitás, és néhány más állapot, például terhesség, szoptatás vagy betegség.

A táplálékban nemcsak energiát szolgáltató molekulák találhatók, hanem a strukturális és funkcionális molekulák felépítéséhez szükséges építőkövek is. Néhány esszenciális alkotóelemet fel kell vennünk a táplálékkal, mint az esszenciális zsírsavakat, aminosavakat, a vitaminokat, nyomelemeket és a vizet. A nem hasznosítható metabolikus végtermékek és az idegen anyagok a szervezetből a széklet és a vizelet útján kiválasztódnak.

Ahogy már korábban megjegyeztük, az **energiaszolgáltató anyagokból** elektronok képződnek, valamint néhány kulcs molekula, mint például az acetil-CoA. Az utóbbi belép a citrát körbe, további elektronokat és CO<sub>2</sub>-t termel. Az elektronokat a mitokondriális elektron transzportáló lánc használja fel ATP szintézisre.

A **tápanyagok kalóriatartalma** a következő:

- szénhidrát..... 4 kcal/g
- zsír..... 9 kcal/g
- fehérje ..... 4 kcal/g
- alkohol..... 7 kcal/g.

A **napi energia szükséglet** kb. 2000-3000 kcal. Szándékos fogyáshoz maximum 1000 kcal-val kevesebbet szabad fogyasztani naponta. Ez kb. 0,9 kg heti súlyvesztést jelent. A diéta megkezdésekor átmenetileg nagyobb arányú a súlyvesztés, a glikogén lebomlása miatt, amely erősen hidratált molekula.

### 3.1. A TÁPLÁLÉK MAKROMOLEKULÁI

A táplálék **szénhidrát** tartalma elsősorban növényekből származó keményítő, valamint mono- és diszacharidok. Nincsen esszenciális szénhidrát igény, mivel minden monoszacharid típust meg tud a szervezet szintetizálni glukoneogenezis illetve a cukrok interkonverziója (egymásba átalakítás) által.

A táplálék **fehérje** tartalma aminosavakra bomlik, és vagy elég (CO<sub>2</sub>, víz és ammónium) vagy a sejt saját fehérjébe épül be. Aminosavakból számos fontos vegyület származik, mivel nitrogént szolgáltatnak szintetikus reakciókban (nukleotid, hem szintézis). Egy felnőtt fehérje szükséglete 50-60 g naponként, amelynek az esszenciális aminosavakat is tartalmaznia kell.

A táplálék **lipidjeinek** az esszenciális zsírsavakat kell tartalmaznia (növényi vagy halolaj eredetű), mivel ezek olyan molekulák prekursorai, amelyek (pato)fiziológiai folyamatokban vesznek részt (prostaglandinok, leukotriének, tromboxánok). Más lipidekből membrán alkotókat szintetizál a sejt (szfingolipidek, foszfolipidek), amelyek nemcsak szerkezeti alkotók, hanem fontos funkcióik is vannak (például jelátvitel). A zsírsavak zöme a zsírszövetben TAG formában raktározódik, amely egy redukált molekula, így oxidáció révén nagy energiamennyiség felszabadulására van lehetőség.

Az **alkohol** energiaszolgáltató molekula.

A **szervezet raktározott energiája** (a teljes mennyiség %-ában):

- glikogén (poláros molekula, nagy mennyiségű vizet köt)
  - izom ..... 0,4% (izomkontrakcióra fordítódik)
  - máj ..... 0,2% (vércukor szint szabályozása)
- fehérje ..... 14,4% (funkcionális molekulák, csak éhezésben és betegségekben szolgál energiaként)
- TAG ..... 85%.

### 3.2. VITAMINOK

A **vitaminokra** a szervezetnek kis mennyiségben van szüksége (mg - µg). Amikor egy vitamin hiányzik vagy túl alacsony a koncentrációja, jellegzetes tünetek lépnek fel, amelyek segítik a vitaminhiány diagnózisát. A vitaminok két fő csoportja: a vízben és a zsírban oldódó (A, D, E, K) vitaminok. A szervezetben a vitaminok módosulhatnak, és kofaktorként, proszretikus csoportként segíthetik enzimek működését. Más esetekben hormonként viselkednek. A zsírban oldódó vitaminok magas koncentrációban károsak, mivel a szervezetben elraktározódnak, és toxikus szintet érhetnek el. Emellett a vízben oldódó vitaminokból sem ajánlott extrém nagy mennyiséget a szervezetbe juttatni.

#### Zsírban oldódó vitaminok

##### A vitamin

Az **A vitamin** sejten belüli aktív formái a retinol, retinál és a retinolsav. Ezek a karotinoidok származékai. Egy módosult retinol (retinil foszfát) részt vesz a glikoprotein szintézisben, amely az A vitamin nyákszekrécióban és így a nyálkahártya védelemben betöltött szerepének az alapja. A retinál a látási folyamat esszenciális komponense. A retinolsav hormonként működik, a növekedés és differenciálódás szabályozásában vesz részt.

##### D vitamin

A **D vitamin** szintézise koleszterinből indul, igényli a napsugárzás UV frakcióját, és két hidroxilálási reakciót tartalmaz: az 1-OH származék a májban, míg a 25-OH módosulat a vesében képződik. Az

aktív 1,25-dihidroxi-kolekalciferol más néven calcitriolként is ismert (a reakció útvonalat lásd az előadásban).

A D vitamin fő élettani hatása a kalcium és foszfor homeosztázis ellenőrzése (a parathormonnal együtt). A D vitamin hormonként működik: a sejtproliferációt, immunrendszert, inzulin szekréciót szabályozza.

#### K vitamin

A **K vitamin** különböző formái a kinonok közé tartoznak. Ennek a vitaminnak a biokémiai funkciója a vérárvadásban és a csont szerkezetében szerepet játszó egyes fehérjék meghatározott glutamát oldalláncainak  $\gamma$ -karboxilációja. Ennek a módosításnak köszönhetően ezek a fehérjék  $\text{Ca}^{2+}$ -t tudnak kötni, így aktívan részt vesznek a vérárvadásban. A dicumarol és rokon vegyületei azt a reduktazt gátolják, amely a K vitamin aktív formává alakulásához szükséges, így gátolják a vérrögképződést (vérárvadást).

#### E vitamin

Az **E vitamin** (tokoferol) antioxidáns hatású molekula, védi a membrán szerkezetét, más vitaminokat, zsírsavakat az oxidálódástól.

#### Vízben oldódó vitaminok

Ebben a fejezetben csak a **legfontosabb biokémiai jellemzőket** mutatjuk be: név, biokémiailag jelentős származék, reakciók, ahol ez utóbbi koenzimként működik. A többi információt az előadás és szeminárium anyagban megtalálhatják.

#### Vitaminok, amelyek az energiatermelésben szerepelnek

B<sub>1</sub> vitamin – tiamin: tiamin pirofoszfát (TPP) – PDC,  $\alpha$ KG-DH, transzketoláz, transzaldoláz)

B<sub>2</sub> vitamin – riboflavin: FAD, FMN – elektron transzfer (szukcinát DH és még számos más enzim)

Niacin, nikotinamid: NAD, NADP – elektron transzfer ( $\alpha$ KG-DH, malát DH és még sok más enzim)

B<sub>6</sub> vitamin – piridoxál és rokon vegyületei (PLP) – aminosav anyagcsere, transzamináz reakció, neurotranszmitter szintézis, hem szintézis

Pantoténsav – CoA alkotója (zsírsav anyagcsere, citrátkör stb.)

Biotin – karboxiláz reakciók (piruvát-, acetyl-CoA-, propionil-CoA-karboxiláz)

C-vitamin: nem lesz belőle koenzim – antioxidáns, kollagén (aminosavak OH-származékai), karnitin, norepinefrin szintézisben vesz részt, serkenti a vasszívódást.

#### Vitaminok, amelyek a vérképzésben vesznek részt (hiányuk megaloblasztos anémiát okoz)

Folsav – tetrahidrofolát (THF): egy C-atomos csoportok hordozója (szerin, glicin, purinok, dTMP, metionin szintézis – utóbbi B<sub>12</sub> vitaminnal együtt)

B<sub>12</sub> vitamin – (ciano)kobalamin: metionin szintézis, metilmalonil-CoA mutáz (páratlan szénatom számú zsírsavak lebontása).

A kolin egy esszenciális biomolekula – acetilkolin és foszfolipid szintézis.

A karnitin kondicionálisan esszenciális (mitokondriális zsírsav lebontás).

### **Biokémiailag fontos ásványi anyagok**

Magnézium: számos enzimreakcióban az ATP magnézium-ionnal komplexált.

Réz: enzimek fém kofaktora: ceruloplazmin (vas anyagcsere), citokróm c oxidáz (elektron transzport lánc), norepinefrin szintézis, kollagén keresztkötések kialakítása, szuperoxid dizmutáz, hosszú láncú zsírsavak deszaturációja.

Szelén: enzimek között található szelenoproteinek – glutation peroxidáz, tioredoxin reduktáz.

## 4. MAKROMOLEKULÁK A BIOKÉMIÁBAN

A biológia világa igen változatos, de az élőlényekben található közös vonások. Az organizmusok sejtekből épülnek fel, amelyek azonos vagy nagyon hasonló **makromolekulákat** tartalmaznak: nukleinsavakat, fehérjéket, szénhidrátokat és lipideket. Ezen nagy molekulák **építőkövei** csaknem azonosak, eredetüktől függetlenül hasonló szerkezettel és funkcióval rendelkeznek. A biokémiai folyamatok igen hasonlóak a prokariótákban, az egysejtű és többsejtű eukariótákban. Akárcsak a molekuláris biológia esetében, biokémiai tudásunk jelentős része is baktériumokkal vagy élesztősejtekkel elvégzett kísérletekből származik. Természetesen az egyszerű és komplex élőlények között alapvető különbségek vannak, főként a metabolikus szabályozó folyamatok területén: az egysejtű élőlényeknek a környezet változására gyorsabban kell reagálniuk, míg a többsejtűekben a szabályozás sokkal komplexebb, szervek és szövetek közötti szabályozást, hormonok és neurotranszmitterek működését, és a központi idegrendszer irányító szerepét is jelenti.

### 4.1. NUKLEINSAVAK

Minden sejtben a két fő polinukleotid az **RNS és a DNS**. Építőköveik a **nukleotidok**, amelyek egy öt szénatomos cukorból (ribóz vagy dezoxiribóz), foszfátból és nitrogéntartalmú szerves bázisból (purin vagy pirimidin) állnak. Ezeket a makromolekulákat (és a többieket is) kovalens és **nem-kovalens erők** tartják össze. A biokémiában fontos nem-kovalens erők: hidrogénkötés, elektrosztatikus interakciók és van der Waals erők. Ezek a nem-kovalens interakciók önmagukban gyengék, de nagy számban elég erősek ahhoz, hogy a struktúrákat egybetartsák. Az is fontos, hogy a nem-kovalens interakciók viszonylag kis energia-befektetéssel felbonthatók, hogy új, stabil interakciók keletkezzenek.

### 4.2. FEHÉRJÉK

Valamennyi sejtben a fehérjék rendelkeznek a legváltozatosabb **szerkezettel és funkcióval**. Szerepelhetnek katalizátorként, számos molekulát tudnak szállítani vagy raktározni, a sejt számára támaszt biztosítanak, immunreakciókban, a sejt mozgásában, ellenőrző és jelátviteli folyamatokban vesznek részt. Szerkezetileg **peptid kötéssel** kapcsolódó aminosavakból épülnek fel. A lineáris polipeptid lánc bonyolult **háromdimenziós** szerkezet kialakítására képes. A szerkezet szoros kapcsolatban van a fehérje funkciójával: viszonylag merev vagy nagyon rugalmas is lehet. Az **építőkövek (aminosavak)** nagyszámú variációja lehetővé teszi, hogy a fehérjék változatos kapcsolatot alakítsanak ki más molekulákkal. Sok folyamatban fehérje komplexek játszanak fő szerepet.

### 4.3. SZÉNHIRÁTOK

A szénhidrátok sokkal több szerepet játszanak, mint energiaszolgáltatás és szerkezeti funkciók. Kapcsolódhatnak más makromolekulákhoz (fehérjék, lipidek) és **módosíthatják** őket. Ez a módosítás nemcsak szerkezeti (oldékonyság és vízkötés növelése), de számos esetben a jelátvitelben, sejtek közötti kapcsolatokban, patogének inváziójában és sok más folyamatban funkcionális változást is jelent. A szénhidrátok **építőkövei** a monoszacharidok, amelyek nagyszámú **szerkezeti variációval** rendelkeznek: a monoszacharidok száma nagy és számos derivátumuk létezik. Az oligoszacharidok változatosságát a felépítő monoszacharidok száma, típusa, sorrendje és kapcsolódásuk módja biztosítja. Az oligoszacharidok szintéziséhez és lebontásához a sejt az egyes lépéseket katalizáló specifikus enzimekkel rendelkezik. Ha a lebontó enzimek közül valamelyik hiányzik, (lizoszomális) **raktározási betegség** alakul ki.

A **monoszacharidok** közül a glukóz, galaktóz, fruktóz és ribóz a legjelentősebb. Az utóbbi a nukleinsavak komponense. Az étrendben található legjelentősebb **diszacharidok** a szukróz, laktóz és maltóz (szerkezetük és egyéb jellemzők az előadás anyagban találhatóak). A szénhidrátok raktározási formái a

**poliszacharidok**, glikogén az állati és emberi sejtekben, és keményítő a növényekben. A humán glikogén főként a májban és a vázizomzatban található. A glikogén elágazó láncú polimer. Mivel a glikogén lebontása a végek felől indulhat, az elágazódás biztosítja, hogy szükség esetén rövid idő alatt sok cukor szabaduljon fel. A cellulóz növényi strukturális poliszacharid, amely az emberi diétában rostként szerepel.

A **fehérjék esetében két fő formája** van a kovalensen kötött szénhidrátoknak. Az egyik forma a **glikoproteinek**, amikor a molekula nagy részét fehérje alkotja, és ehhez kapcsolódik a szénhidrát rész *O*-kapcsolt (szerin vagy treonin) vagy *N*-kapcsolt (aszparagin) módon. Néhány membrán fehérje és számos szekretált fehérje módosul ilyen módon, hogy specifikus kötőhely, felismerő hely keletkezzen, vagy a fehérje oldékonysága növekedjen. A másik típusú fehérje és poliszacharid kapcsolódás eredménye a **proteoglikánok**: ezekben a molekulákban a kisebb részt adják a fehérjék, és a szénhidrát részt glukozaminoglikánok adják. Ezek a szerepe első sorban az extracelluláris tér szerkezetének biztosítása. A glukozaminoglikánokat ismétlődő diszacharid egységek építik fel, amelyek módosult cukrokat tartalmaznak (aminoszarmazékok, negatív töltésű karboxil és szulfát csoportok).

#### 4.4. LIPIDEK

A lipidek önmagukban nem tartoznak a makromolekulák közé, de **komplex molekulák** (triacil gliceridek, foszfolipidek, glikolipidek) alkotóelemei. A triacil gliceridek (TAG) a koleszterin észterekkel együtt a **neutrális lipidek** közé tartoznak. A TAG molekulák az izom- és zsírsejtekben **energia** raktározóként szerepelnek. Mivel neutrálisak, nem kötnek vizet. Emellett a bennük található zsírsav molekulák erősen redukáltak, így oxidálódás során sok energiát biztosítanak. A foszfolipidek és glikolipidek **membránok alkotói**. A foszfolipidek közé tartoznak a glicerofoszfolipidek (foszfatidilkolin, foszfatidiletanolamin, foszfatidil szerin, foszfatidil inozitol, kardiolipin) és az egyik típusú szfingolipid (szfingomielin). A többi szfingolipid a glikolipidek közé tartozik, mivel egy (cerebrozidok) vagy több (gangliozidok) cukor egység kapcsolódik a szfingozin vázhoz (lásd a Komplex lipidek szintézise előadást).

#### 4.5. A MAKROMOLEKULÁKKAL KAPCSOLATOS DIÉTÁS MEGFONTOLÁSOK

A diéta a szénhidrátokat főként keményítő, di- és monoszacharidok formájában tartalmazza. A sejteknek nincsen szüksége semmilyen különleges szénhidrát típusra, mivel a glukoneogenezis révén glicerinből és aminosavakból glukózt tud szintetizálni, abból pedig minden más típusú cukrot. A szénhidrátok 4 kcal/g energiát szolgáltatnak teljes elégetésük során.

A fehérjék ugyanannyi energiát szolgáltatnak, mint a szénhidrátok. A fehérjékben található aminosavak jelentős mennyiségű nitrogént tartalmaznak, amely forrását képezi az egyéb nitrogén tartalmú szerves molekulák szintézisének. Az esszenciális aminosavakat a táplálékkal kell felvinnünk. A fehérjék a sejt saját fehérjeinek szintéziséhez biztosítanak forrást, néhány aminosav energiát is szolgáltat. A felesleges mennyiségű fehérje TAG formájában raktározódik.

A TAG molekulák adják a legtöbb energiát, 9 kcal/g. Néhány speciális lipid az ember számára esszenciális, így a táplálékkal fel kell venni.



## 5. A TERMODINAMIKA ALAPJAI

A témát részletesen tárgyalták a Fizikai kémia keretén belül. Most csak felelevenítjük a biokémiában fontos fogalmakat anélkül, hogy a matematikai háttérrel részletesen taglalnánk.

A biokémiai reakciókban a **szubsztrátok és a termékek** az ütközéses elmélet komponenseiként szerepelnek. A reakciókat rátákkal jellemezzük: **előremenő, visszafelé menő és ráta konstans**. Az utóbbit befolyásolják a komponensek koncentrációi, a hőmérséklet, valamint reagensek ionerőssége. A reakció rátájának **egysége**: koncentráció/idő. **Ekvilibriumról** beszélünk, amikor az előre- és visszafelé menő reakciók egyenlők. A **steady state** az ekvilibrium valós biológiai megjelenése, és magába foglalja a szubsztrátot, az *intermediert* (köztermék) és a terméket. A steady state állapota akkor áll fenn, ha az intermedierek koncentrációja konstans; nem azonos az ekvilibriummal.

A termodinamika alaptörvényei igazak az élőlényekre is. A sejten belül a makromolekulák lebontásával és oxidálásával keletkezik a sejt szükségleteinek megfelelő energia. A sejt nyitott rendszernek tekinthető, amely környezetével anyag- és energiakicserélésben áll. Az **energiaszolgáltató molekulák felvétele folyamatos** a komplex molekulák bioszintézisét, mozgást, és transzport folyamatokat (a sejt diszekvilibriumának biztosítása a környezethez képest) biztosítandó. Egy rendszer az energiát munkára vagy hő kicserélésre **használja** (+ a jelzés, ha a rendszer hőt vesz fel, illetve ha munkát végez).

Egy élő organizmusban **különböző energiaformák léteznek**: hő, kémiai, kinetikai és potenciális. A sejten belül egy adott *energiaforma másikká alakítható* (kémiai kötés létrehozásával energia szabadul fel, amely alkalmas lehet másik kötés létrehozására, kibocsátható hőként, vagy elraktározható potenciális energiaként) – **termodinamika első törvénye**. Egy rendszer belső energiája (entalpia – H) önmagában nem informatív, sokkal inkább az **entalpia változása** a biokémiai folyamat elején és végén ( $\Delta H$ ). Ha a  $\Delta H$  negatív, akkor a reakció exoterm, energia kerül a környezetbe. Az energiaváltozásnak csak egy része fordítható munkavégzésre, más része a rendszer **entrópiáját (S)** fogja megváltoztatni. Entrópiának egy rendszer rendezetlenségét nevezzük. Amikor a  $\Delta S$  pozitív, a reakció végén kisebb a rend (nagyobb a rendezetlenség) – amely a spontán reakciók jellemzője (a **termodinamika második fő törvénye**).

**Gibbs-féle szabadenergiának (G)** nevezzük az energia ténylegesen munkavégzésre fordított részét.  **$\Delta G$**  a kezdeti és végső állapot szabadenergiája közötti különbség. Az energetikailag kedvező reakció negatív  $\Delta G$ -vel rendelkezik, míg ekvilibrium esetén a  $\Delta G$  nulla. A  **$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$**  egyenlet mutatja, hogy az entalpia és entrópia változás nagyságától és irányától függetlenül ha a szabadenergia változás negatív, a reakció **energetikailag kedvező**. Mindezek eredménye, hogy a  $\Delta G$  meghatározza, egy reakció egyáltalán végbemehet-e. Fontos tudnunk, hogy a kedvező reakció elegendő energiát szolgáltat ahhoz, hogy egy kedvezőtlen reakció is végbemenjen (kapcsolt biokémiai reakciók).

Standard körülmények között véghezvitt reakciók esetében meg lehet határozni a **standard szabadenergia változást ( $\Delta G^0$ )**. A tényleges szabadenergia változás a következő egyenletnek megfelelően viszonyul a standard szabadenergia változáshoz:  **$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln[Y]/[X]$** , így nyilvánvaló, hogy a reagensek kiindulási koncentrációja fogja meghatározni a reakció irányát. Ekvilibriumban  $\Delta G$  nulla, így  **$\Delta G^0 = -RT \ln[Y]/[X]$** , ekvilibrium esetén a reagensek egymáshoz viszonyított koncentrációja határozza meg a szabadenergiát. Az ekvilibrium (egyensúlyi) állandó ( $K_{eq}$ ) az előremenő és visszafelé menő reakciók reakció-állandójától függ. Ez azt jelenti, hogy az egyensúlyi állandó a reakció szabadenergia változásához viszonyul. Fontos megjegyezni, hogy a szabadenergiában történő kis változás az ekvilibrium konstans sokkal jelentősebb változását idézi elő. A standard szabadenergia változás megmutatja, hogy a reakció energetikailag kedvező-e, míg a termékek és reagensek aránya azt mutatja, hogy ekvilibrium esetén milyen messzire jut a reakció.

Az élő rendszerekben egy biokémiai reakció sebessége nem írható le pontosan egyik fenti fogalommal sem, mert a reakciót katalizáló enzim a döntő tényező (lásd az enzimológia fejezetet).



## 6. ENZIMOLÓGIA

### 6.1. BEVEZETÉS, ENZIMOSZTÁLYOK

Az enzimek nélkülözhetetlenek csaknem valamennyi ismert biokémiai reakcióhoz. Főként fehérjék, néhány közülük RNS vagy RNP. Az enzimek jelenlétének fő **előnyei**: a reakciók rátáját (sebességét) növelni képesek, specifikusak, csak egy vagy néhány molekulát ismernek fel; aktivitásuk szabályozható, és rajtuk keresztül az egész szervezet metabolizmusa irányítható. Az enzimek a reakciók során csak átmenetileg változnak meg. Miután a termék leválik az enzimről, az újabb reakciót képes katalizálni. Az enzimek katalitikus ereje kiszámolható, ha megmérjük egy reakció rátáját az enzim jelenlétében és hiányában.

Az enzim **fő funkciója** a szubsztrát specifikus megkötése az aktív centrumban, és így a megfelelő környezet biztosítása az adott reakció lejátszódásához, majd a termék leválása. Energetikailag ez azt jelenti, hogy egy katalizált reakcióban az ekvilíbrio hamarabb kialakul, mint enzim jelenléte nélkül, de a  $K_{eq}$  értéke nem változik. Irreverzibilis reakció esetében a kiindulási anyag koncentrációja nem detekálhatóan alacsony a végtermék koncentrációjához képest.

Az enzimek működése számos specifikus *gyógyszernek támadáspontja*. Sok esetben egy enzimnek izoenzim formái is léteznek, amely azt jelenti, hogy különböző enzimformák találhatóak a különböző szövetekben vagy sejten belüli organelumokban, amelyeknek a szabályozása is eltérő. A szelektív gyógyszerek sok esetben specifikusan valamelyik izoenzimre hatnak, így csökkentve a mellékhatások számát.

Nemzetközi megállapodás alapján az enzimeket **hat fő osztályba** soroljuk:

1. Oxidoreduktázok. Elektronmozgást katalizálnak a donor és az akceptor (fogadó) molekula között. Mono- és dioxigenázok is közéjük tartoznak.
2. Transzferázok. Molekulák közötti csoportátvitelt végeznek. A kinázok foszfát csoportot visznek át, a donor többnyire ATP. Más típusok például az aminosztransferázok, acetil transzferázok, glikozil transzferázok.
3. Hidrolázok. Általában irreverzibilis reakciót katalizálnak. Kovalens kötést hasítanak OH-csoport és proton hozzáadásával.
4. Liázok. Többnyire szén-szén kötést hasítanak (aldoláz, dekarboxiláz).
5. Izomerázok. Az izomerázok csoportokat vagy kettős kötést mozgatnak egy molekulán belül (epimeráz, mutáz).
6. Ligázok. Atomokat kapcsolnak össze (C – C, S, O, N) szintézisek során energia felhasználásával (ATP hidrolízise – szintetázok).

Mindegyik reakciótípusra példákat talál az előadásanyagban.

### 6.2. AZ ENZIMEK MŰKÖDÉSE

Ahhoz, hogy a szubsztrátból termék lehessen, az enzimnek meg kell azt kötnie specifikus módon, az aktív helyén. Ebben a specifikus kapcsolatban az enzim **csökkenti a reakció aktivációs energiáját**, amely az átmeneti állapot kialakulásához szükséges. Az **átmeneti állapot** a szubsztrát-termék átmenet legmagasabb energiájú köztiterméke, amelyben a kémiai kötések és interakciók már kezdenek átrendeződni, de még nem nyerték el a termékre jellemző végső formájukat. Energetikailag a reakció

kezdeti és végső energiaszintje ugyanaz enzimmel és nélküle, ahogy a reakció egyensúlyi állandója is jelöli ( $K_{eq}$ ). Az aktivációs energia csökkentése egyenesen arányos a reakció rátájával (sebesség, velocitás). A legerősebb kötés az enzim és az átmeneti állapotban lévő molekula között alakul ki (lásd a megfelelő diagramot az előadás anyagban).

Az enzim specificitását **két modellel** jellemzik. A kulcs-és-zár modell merev struktúrákat (enzim és szubsztrát) tételez fel, amelyek az enzim aktív helyén pontosan illeszkednek. Az indukált illeszkedés modellje szerint mindkét molekulának flexibilitása növekszik és változtatja konformációját, ahogy egymás közelébe kerülnek.

Az enzimek **számos mechanizmussal** képesek működni. Még egyetlen reakcióban is több mechanizmus léphet fel. A leggyakoribb reakció típusok az általános sav és általános bázisreakciók, amelyekben a proton mozgása egy nukleofil generál (negatíván töltött csoport), amely egy pozitív központot tud támadni. Ez a típusú ionos interakció a fő komponense a részlegesen töltött csoportok létrehozásának szén- szén kötések, dekarboxilálási reakciók ( $\alpha$  – ketosavak koenzimek segítségével), oxidálási reakciók, (alkoholból aldehid, vagy szén- szén kettős kötés), proteázok, kinázok (ATP-ről foszfát csoport átvitele magnézium ion jelenlétében) esetében. A reakció alatti protonmozgás következtében a legtöbb ilyen enzimnek pH optimuma van, amely mellett a legjobban tud működni. Más típusú katalitikus mechanizmusok során a szubsztrát átmenetileg kovalensen kötődhet az enzimhez (kimotripszin – lásd bővebben a makromolekulák emésztése és felszívódása fejezetben).

### Az enzimek aktív helye

Az enzim aktív helye vagy aktív centruma felelős a tulajdonképpeni biokémiai reakciók kivitelezéséért, és az átmenti állapot stabilizálásáért. Azoknak az aminosavaknak az oldallánca, amelyek részt vesznek a biokémiai reakcióban, hozza létre a **katalitikus csoportot**. A legtöbb esetben poláros aminosavak szerepelnek, mivel ők képesek a protonmozgásokat segíteni. A fehérje primér struktúrájában szereplő aminosavak akár nagy távolságra is lehetnek egymástól, így alkotják a katalitikus csoportot. Az egész enzim méretéhez képest az aktív hely nagyon kicsi, de az aktivitáshoz az enzim molekula egésze szükség van: így biztosítja a molekula megfelelő háromdimenziós szerkezetét, beleértve az aktív centrumot is. A teljes molekula biztosítja az enzim nagyfokú specificitását, molekulák sztereoisomérije közötti különbségtétel képességét.

### Koenzimek és kofaktorok

Az enzimek egy csoportja nem rendelkezik az aktív centrumban megfelelő aminosavakkal, hogy a biokémiai reakciót egymagában kivitelezni tudja. Ezek az enzimek kofaktorokat vagy koenzimeket (szerves vagy szervetlen molekulák) vesznek igénybe, segítő elemekként a biokémiai folyamatokban. A kofaktorok többnyire fémionok. A koenzimek aktivációs, transzferfolyamatokban vagy oxidoredukációs reakciókban vesznek részt. Számos koenzim **vitaminok származéka** (lásd táplálkozás és vitaminok). Szubsztrátként viselkedhetnek és a reakció során megváltoznak, amely azt jelenti, hogy regenerálódniuk szükséges. A koenzimek sejten belüli koncentrációja viszonylag stabil. A koenzim nélküli fehérje részt apoenzimnek, a koenzimmel együtt **holoenzimnek** nevezzük. A szerves molekulák egy csoportja az apoenzimhez kovalensen kötődik, ezeket **prosztetikus csoportnak** nevezzük (flavinok: FMN, FAD; hem; biotin). A koenzimek viszonylag szabadon mozognak (NAD, koenzim A).

A **NAD és NADP** a niacin származékai. Funkciós csoportjuk a nikotinamid gyűrű, amely redukálódik, amikor a szubsztrátról egy hidrid iont vesz fel, miközben egy protont bocsájt ki. Ezt a reakciót követően a redukált koenzim leválik az enzimről és részt vehet egy másik reakcióban. Az oxidált és redukált NAD aránya fontos információt szolgáltat a sejt oxidoredukációs állapotáról.

A flavin mononukleotid (**FMN**) és a flavin adenin dinukleotid (**FAD**) prekursora a riboflavin. A molekula aktív része az izoalloxazin gyűrű, amely két elektront képes felvenni vagy leadni az oxidoredukációs

reakciókban. A flavin koenzimek általában proszтетikus csoportok, az apoenzimhez szorosan kötődnek.

Az **ATP** mellett hogy energiaszolgáltatóként szerepel a sejtben, kosubsztrátként is részt vehet egyes reakciókban. Egy kináz reakcióban foszfát csoport kerül a szubsztrátra, míg az ATP-ből ADP lesz. Fontos megjegyezni, hogy az ATP egyben alloszterikus effektor molekula is, számos kulcsfontosságú enzim aktivitását szabályozza a sejt energiaellátottságának jelzésével.

A **metalloenzimek** átmeneti fémet tartalmaznak, amely vagy a szubsztrát kötéshez, vagy a reakció folyamán az intermedierek stabilizálásához szükségesek. Szerepük lehet a fehérje enzim megfelelő magasabb rendű szerkezetének fenntartásában is. Más esetekben a szubsztrát kötését követően az enzim aktív helyének konformációs változását generálják. A vas-kén fehérjék elektron transzferfolyamatokban vesznek részt. A citokrómok hem proszтетikus csoportot tartalmaznak. A hem hasonlóan a vashoz és a rézhez, részt vehet a kémiai reakcióban is.

## Enzim kinetika

Hasonlóan a termodinamikához, az enzim kinetika is része volt a fizikai kémiai tanulmányoknak. A következőkben csak az alapvető tudnivalókat foglaljuk össze, melyek nélkülözhetetlenek a biokémiai mechanizmusok megértéshez, anélkül hogy matematikai részletekben bonyolódnánk.

Egy **biokémiai reakció rátája** jellemezhető azzal a szubsztrát (S) mennyiséggel, amely eltűnik, vagy a termék (P) mennyiséggel, amely megjelenik egy egységnyi idő alatt (sec). A reakció sebessége (a termék koncentráció növekedés sebessége) a  $k$  sebességi konstanssal aránylik a S koncentrációjával ([S]). A **sebességi állandó** a reakció különböző fizikokémiai jellemzőitől függ, és befolyásolja az aktivációs energia. Nagyobb  $k$  érték azt jelenti, hogy a szubsztrát rövidebb idő alatt átalakul. Egy reverzibilis **reakció ekvilibriumát** elérve a [S] és [P] nettó értékben nem változik. Az előre menő és a visszafelé zajló reakció sebességi állandójának aránya adja az egyensúlyi állandó értékét ( $K_{eq}$ ), ami egyenlő a [P] és [S] arányával.

Az enzimkinetika **Michaelis-Menten modellje** a katalitikus ráta, a S koncentráció és az enzim viszonyát írja le. Állandó enzim koncentráció mellett a szubsztrát koncentráció növelése a reakció sebességét fokozza, amíg valamennyi enzim nem köt szubsztrátot (szaturáció). A szubsztrát és az enzim komplexet alkot (ES), amelynek két sorsa lehet: disszociálhat ismét S-ra és enzime (E), vagy az E a szubsztrátból terméket (P) készít és bocsát el (a reakció kezdeti fázisában nincs vagy csak nagyon kevés P van, így a P nem fog S-tá visszaalakulni). Ez a folyamat steady state állapothoz vezet, amely azt jelenti, hogy az ES komplex képződése és lebomlása egyensúlyban van. A három sebességi állandó aránya szolgáltatja a  $K_M$  értékét (Michaelis konstans). Amennyiben nagy mennyiségű S van jelen a reakcióban, maximális sebességnél ( $V_{max}$ ) valamennyi enzim szubsztrátot köt. A fenti feltételezésekből és egyszerűsítésekből következik a **Michaelis-Menten egyenlet**:

$$V_0 = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

Ha  $K_M$  helyére [S]-t helyettesítünk, akkor az aktuális sebesség a maximális sebesség fele, tehát a  $K_M$  az a szubsztrát koncentráció, amely mellett a reakció a  $V_{max}$  felével működik. A  **$K_M$  meghatározható** kettős reciprok ábrázolásban ( $1/V$  az  $1/[S]$  függvényében, részleteket lásd az előadás anyagban). Leegyszerűsítve a  $K_M$  tekinthető az **enzim és egy adott szubsztrát affinitásának**: kisebb  $K_M$  nagyobb affinitást jelent, azaz alacsonyabb szubsztrát koncentráció mellett éri el a reakció a maximális sebesség felét. A  $K_M$  érték fontos jellemzője egy enzimnek egy adott szubsztrát vonatkozásában. Sok esetben izoenzimek  $K_M$  értéke közötti különbségek eredményeznek eltérő funkciót vagy szabályozást.

A reakció maximális sebessége idején valamennyi enzim foglalt, tehát a sebességi állandó katalitikus állandónak is nevezhető ( $k_{cat}$ ). Ez szolgáltatja az **átfordulási szám** fogalmát: azoknak a szubsztrát

molekuláknak a száma, amelyek egységnyi idő alatt terméké alakulnak ( $1/\text{sec}$ ). A sejtben lévő viszonyok között általában nem lesz foglalt az összes enzim molekula, így az aktuális enzimatikus ráta a katalitikus rátánál kisebb.

Egy enzim legjellemzőbb sajátossága a **katalitikus hatékonyság (efficiencia)**, amelyet  $k_{\text{cat}}/K_M$  arány határoz meg. Abban az esetben, amikor a termék képződése gyorsabb, mint az ES komplex disszociációja, a reakció sebességének a határa az ES komplex kialakulása. A sejten belül ennek a lépésnek a korlátja a diffúzió sebessége. Azok az enzimek, amelyek ebben a sebesség tartományban képesek működni, a **kinetikai tökéletesség** jelenségét mutatják (szuperoxid dizmutáz, acetil- kolinészteráz). Hogy elérjék ezt a sebességet, az enzimek egymás közötti csatornázást vagy az aktív helyen elektrosztatikus erők kialakítását alkalmazzák.

A fenti számítások az egy-szubsztrátos reakciók különböző lehetőségeit mutatják be. **Két szubsztrát** esetében két eltérő lehetőség van: szekvenciális (szabályozott vagy random) és ping-pong reakciók (példákat lásd az előadásanyagban).

### 6.3. ENZIMGÁTLÓK

Számos természetes és szintetikus molekula rendelkezik specifikus enzimgátló aktivitással. Néhány természetes vegyület az enzimaktivitás szabályozójaként működik. Sok gyógyszer is enzimgátló aktivitással rendelkezik. Mindemellett a gátlószerek segítenek lokalizálni az enzimmolekulákban azokat az aminosavakat, amelyek az aktív hely kialakításban vesznek részt.

Az enzimgátlás **irreverzibilisnek** tekinthető, ha a gátló szer erősen kötődik, akár kovalensen, akár nem-kovalensen (penicillin, aszpirin). A **reverzibilis** gátlás lehet kompetitív, unkompetitív és non-kompetitív.

A **kompetitív** enzim gátlók a szubsztrát kötőhelyet ismerik fel, a szabad enzimhez kötődnek és így megakadályozzák a szubsztrát kötődését. A katalízis sebességét csökkentik, és a hatékony ES komplexek aránya is csökken. Sok esetben a gátló szer szerkezete hasonló a szubsztrátéhoz (methotrexate). A szubsztrát koncentrációjának emelkedésével a kompetitív inhibitor gátló hatása kiküszöbölhető, mivel mindkét molekula az enzimnek ugyanahhoz a helyéhez kötődik (versenyeznek a kötődésért). Számos gyógyszer kompetitív inhibitoroként hat (Ibuprofen és sztatínok).

Az **unkompetitív** inhibitorok az enzim-szubsztrát komplexhez kötődnek, mert az enzimnek először konformációs átalakuláson kell átesnie, hogy a gátló szer számára kötőhelyet biztosítson. Egy „tripla” (ESI: enzim- szubsztrát inhibitor) komplex nem képes terméket létrehozni, ezáltal a maximális sebesség csökkenni fog.

A **non-kompetitív** gátlószerek a szabad enzimhez és az ES komplexhez is képesek kötődni. Elsősorban a funkcióképes enzim koncentrációjának csökkentésén keresztül hatnak. A látszólagos  $V_{\text{max}}$  alacsonyabb lesz. Speciális fajtája a kevert gátlás, amikor a szubsztrát kötés gátolt és az enzim átfordulási száma csökken.

Ezek a reverzibilis gátlási típusok jól elkülöníthetők a kettős reciprok ábrázolással. A kompetitív gátlószerek növelik a  $K_M$  értékét, de a  $V_{\text{max}}$  nem változik. Az unkompetitív gátlás esetén a görbe hajlásszöge nem változik, a  $K_M$  és a  $V_{\text{max}}$  azonos arányban csökken. Non-kompetitív gátlásnál a  $K_M$  értéke stabil, a  $V_{\text{max}}$  csökkenni fog (lásd ábrákat az előadás anyagban).

#### Irreverzibilis gátlószerek

**Három** jól elkülöníthető csoportjuk: csoportspecifikus reagensek, reaktív szubsztrát analógok és öngyilkos gátlószerek.

A **csoportspecifikus reagensek** az enzim aktív centrumában egy vagy több aminosav oldallánchoz kötődnek (szerinhez a kimotripszinben, acetil-kolinészterázban). Sok esetben nem egy enzimre specifikusak, hanem bizonyos reaktív oldalláncokat ismernek fel.

**Reaktív szubsztrát analógok** (vagy affinitás jelölők) specifikusabbak, egy enzim aktív helyét ismerik fel és kötik meg.

**Öngyilkos gátlószerek (mechanizmus-alapú gátlók)** egy enzim aktív helyéhez kötődnek, majd a biokémiai reakció eredményeképpen a gátlószerek olyan reaktív származéka keletkezik, amely kovalensen köti és inaktíválja az enzimet (MAO gátló Deprenyl).

Az **átmeneti állapot analóg** molekulák a leghatékonyabb gyógyszerek között szerepelnek. Az átmeneti állapotban lévő molekula szerkezetére emlékeztetnek, és ilyen módon igen specifikusak. Másik előnyük, hogy antigénként használhatók katalitikus aktivitással rendelkező ellenanyagok (abzymes) előállítására.

## 6.4. ENZIMAKTIVITÁS SZABÁLYOZÁSA

Az enzimaktivitás szabályozása különböző szinteken történik, eltérő sebességgel. Közös eredményük az adott szövet és az egész szervezet szükségleteinek megfelelő enzimaktivitás. A szabályozásra öt lehetőség adódik: alloszterikus, izoenzimek léte, kovalens módosítások, fehérjehasítás (proteolízis) révén történő aktiválás, az enzim mennyiségének szabályozása.

### Alloszterikus szabályozás

Az alloszterikusan szabályozható enzimekben az aktív centrum mellett egy szabályozó hely is található, amely a szabályozó molekulát (**effektor vagy modulátor**) köt meg, amelynek aktiváló vagy gátló hatása van. A bioszintetikus útvonalak esetében gyakran látni **feed-back gátlást**, amikor a végtermék az útvonal egyik korai lépését (elkötelezett lépés) gátolja. Az energiatermelő útvonalak esetében gyakran lehet találkozni **feed forward** aktivációval, amikor nagy mennyiségű kiindulási anyag aktivál egy útvonalat.

**Homotróp** interakció esetében a szubsztrát az effektor molekula is, amely a szabályozó helyhez kötődve általában aktiváló hatást fejt ki. A **heterotróp** interakciók során a szubsztráttól eltérő molekula a szabályozó (aktiváló vagy gátló). Az effektorok meg tudják változtatni a reakció  $K_M$  (K osztályú) vagy  $V_{max}$  (V osztályú) értékét.

Sok esetben az alloszterikusan szabályozott enzim **több alegységből (multisubunit)** áll, a katalitikus és a regulatorikus helyek külön alegységen is elhelyezkedhetnek. Gyakran a több alegységes enzimek a kooperativitás jelenségét mutatják.

Monomer (egy alegységből álló) enzimek esetében az alloszterikus aktivátor kötődése nyomán megváltozik az enzim konformációja, a szubsztrát kötése könnyebbé válik. Ezzel ellentétesen a gátló molekula kötődése olyan szerkezeti változást okoz az enzimben, amely miatt a szubsztrát kötése csökkenni fog.

Az alloszterikusan szabályozott enzimek egyik alaposan tanulmányozott **példája az aszpartát transzkarbamoiláz (ATCáz)**, amely a pirimidin bázisok szintézisében szerepel; az útvonal végterméke a CTP. Növekvő CTP koncentráció mellett az ATCáz aktivitása egyre csökken. A CTP-nek másik kötőhelyének kell lennie az enzimen, mint a szubsztrátoknak (karbamoil foszfát és aszpartát), mert teljesen eltérő a szerkezetük. A **CTP egy klasszikus feed-back gátlószere** az ATCáz-nak. Ha az ATCáz aktivitását ábrázoljuk az aszpartát (szubsztrát) koncentrációjának függvényében, akkor a megszokott hiperbola helyett szigmoid görbét kapunk. Ennek a jelenségnek a magyarázatához az enzim

szerkezetét kell megvizsgálnunk. Az enzim alegységei (katalitikus és regulatorikus) két különböző háromdimenziós szerkezetet képesek felvenni: T (tense – feszült, szoros) és R (relaxed – laza). A T állapotban az enzim inkább a CTP kötésére képes, a szubsztrátot nehezen köti. Ez a konformáció a CTP-kötött állapotban stabilabb. Az R állapotban az enzim a szubsztrátot köti meg könnyen. Az ATCáz **szigmoid görbéje** a T és R szerkezetű enzimek keveredéséből adódik (részleteket lásd az előadás anyagban).

A szubsztrát kötésének hatására az ATCáz aktivitása meredeken emelkedik kis szubsztrát koncentráció emelkedés hatására is. Ez az élettanilag fontos jelenség az alegységek **kooperativitásából** adódik, ami azt jelenti, hogy a több alegységes enzimek aktív helyei nem egymástól függetlenül működnek. Az **összehangolt modell** szerint az enzim valamennyi alegysége vagy az R, vagy a T helyzetben van (ATCáz). A **szekvenciális mechanizmus** az a kooperativitás típusa, amikor a szubsztrát kötés megváltoztatja az adott és a szomszédos alegység szerkezetét, de nem valamennyi alegységét. Sok alloszterikusan szabályozott enzim a kooperativitás két mechanizmusának a keverékét mutatja.

Az ATCáz másik alloszterikus regulátora az **ATP szint**. Az ATP verseng a CTP-vel az enzimhez való kötődésben. Magas ATP koncentráció mellett a CTP gátló hatása nem egyértelmű. A jelenség magyarázata, hogy a purin és pirimidin bázisok szintézisének összhangban kell lennie a megfelelő nukleinsav szintézis érdekében. Emellett a magas ATP koncentráció azt is jelzi, hogy megfelelő az energia ellátottság a sejt számára az RNS és DNS szintézishez.

### Izoenzimek

Az enzimek számára másik szabályozási lehetőség az izoenzimek léte. Az **izoenzimek (izozimek)** különböző szövetekben, vagy sejtalkotókban találhatóak, vagy eltérő fejlődési fázisokban aktívak. Ugyanazt a biokémiai reakciót katalizálják, de eltérő gének kódolják őket. Különbözőképpen szabályozódhatnak, és kinetikai paramétereik sem egyformák. Biokémiai tulajdonságaik alapján elkülöníthetők, amely egyes esetekben diagnosztikus értékű lehet. Az izoenzimek léte finom szabályozásra adhat lehetőséget, mert egy adott helyzetben a szervezet egészének igénye szerint a különböző szövetek többféle választ adhatnak.

Jól ismert példa az izoenzimekre a **laktát dehidrogenáz (LDH)**. A tetramer enzim két típusú polipeptid láncot tartalmaz. Öt lehetőség van a két fehérje lánc (H - heart, szív típusú és M - muscle, izom típusú) komplexszé rendezésére: H<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>M<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>M<sub>2</sub>, H<sub>1</sub>M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>. A két szélső helyzetben az enzimek ellentétesen viselkednek: a H<sub>4</sub> összetételű izoenzim a laktátot szubsztrátként tudja használni, piruvát keletkezik, amely a citrát körbe lépve aerob módon elég és energiát szolgáltat a szívizom számára. Ezt az enzimet a piruvát gátolja. A vázizomban található M<sub>4</sub> izoenzim a piruvátból laktátot állít elő anaerob módon, amely a Cori körbe tud majd lépni.

### Enzimek kovalens módosítása

A reverzibilis kovalens fehérje módosítások poszttranszlációs keletkeznek (lásd molekuláris biológiai tanulmányok). Emlékezzünk például a hiszton acetilációjára, amely génaktivitás módosítást idézhet elő (a hiszton acetiláz enzim is módosítható foszforiláció révén). Az irreverzibilis kovalens módosítások egyik típusa a lipidek fehérjéhez való kapcsolódása, amely a fehérjét a membránhoz irányítja. Ubikvitinálás segítségével a fehérje lebontásra tud megjelölni. A fehérjék között, így az enzimek esetében is a leggyakoribb kovalens módosítás a foszforiláció és defoszforiláció. Egy alloszterikusan szabályozott enzim kovalensen is módosulhat (foszforiláció).

A sejten belül a fehérjék a nagy számban található **kinázok** valamelyike által foszforilálódnak, amelyek révén szöveti függően és időben is szabályozódnak. A kináz reakciókban általában az ATP a foszfát donor. A fogadó aminosav oldalláncától függően megkülönböztetünk szerin/treonin és tirozin kinázokat. Néhány kináz elkötelezett (csak néhány rokon fehérje a szubsztrát), más kinázok multi-



funkcionálisak (több szubsztrátjuk van). A megfelelő aminosavat a foszforiláláshoz a fehérje környező szekvenciája és konformációja is segít azonosítani. A fordított reakciót, a foszforcsoport hidrolízisét foszfatázok végzik.

A **foszforiláció biokémiai jelentősége** a következő:

- nem történik spontán, hanem enzimatis reakció révén, azaz szabályozott
- a foszforiláció által a negatív töltések száma megemelkedik, tehát új kötések, esetleg új struktúra keletkezhet
- az enzimatis reakció lehet gyors vagy lassú, a körülményektől függően
- kulcs molekulák foszforilációja révén sorozatreakció (kaszád) indítható el
- mivel ATP általában a foszfát csoport donor, a sejt energia státusza és a metabolikus szabályozás összekapcsolódik.

Az **alloszterikus és kovalens szabályozás kapcsolatára** jó példa a protein kináz A (PKA) aktiválásának folyamata. Ez a központi jelentőségű kináz hormonális hatásra, a cAMP koncentráció emelkedés következtében aktiválódik. A PKA két regulatorikus és két katalitikus alegységet hordoz. Az enzim inaktív állapotában a regulatorikus alegység egy része a katalitikus alegységhez kötődik, és pszeudoszubsztrátként gátolja azt. Amikor a cAMP a regulatorikus alegységhez kapcsolódik, az ledisszociál a katalitikus alegységről, amely így már meg tudja kötni a valódi szubsztrátját.

### Proteolitikus hasítás általi aktiválás

Ez a típusú enzimaktiválás irreverzibilis, és a sejten kívül (extracellulárisan) is történhet. Proenzimek (zimogének) specifikusan hasítódnak ATP energiájának felhasználása nélkül, és inaktívól aktív enzimé válnak. Példák erre a típusú aktiválódásra: emésztő enzimek, véralvadás komponensei, hormonok (inzulin), prokollagénből kollagén, a kollagén lebontáshoz a prokollagenáz (egyedfejlődés, remodelling), apoptózis.

#### Emésztő enzimek

Az emésztő enzimek zömét a pankreász termeli zimogén formában és vezikulumokban raktározza. Hormonális vagy idegrendszeri hatásra a bél lumenábe szekretálódnak. A kimotripszinogént egyetlen hasítással a tripszin aktiválja, majd az aktivált kimotripszin végez más hasításokat. Az eredmény három, diszulfid hidakkal összekötött polipeptid lánc lesz, amely konformációja révén most már képes megkötni a szubsztrátot. A táplálék protein tartalma miatt különböző emésztő enzimek együttműködésére van szükség, ezért rövid idő alatt számos zimogén aktiválódására kerül sor. Tripszin a fő aktivátor; az első tripszin molekulákat az enteropeptidáz, egy enterociták által termelt enzim aktiválja. Az emésztő enzimek inaktiválása specifikus és erősen kötődő inhibitor molekulák révén történik (pankreász tripszin inhibitor és alfa-1-antitripszin). Az alfa-1-antitripszin (A1AT) inkább elasztáz inhibitor. Az A1AT genetikai mutációja megnövekedett elasztáz aktivitáshoz vezet, amelynek eredménye kötőszövet lebomlás lesz, főként a tüdőben (emfizéma). Ezt az állapotot a dohányzás rontja, mert annak hatására egy kitüntetett metionin oxidálódik az A1AT-ben, és így az inhibitor inaktiválódik.

A **véralvadás komponenseinek** aktiválódását proteolízis hatására lásd a Véralvadás előadás anyagban.



## 7. SZÉNHIDRÁTOK

A szénhidrátok (cukrok és polimereik) a Földön legnagyobb mennyiségben előforduló makromolekulák.

- Bizonyos szénhidrátok (cukor és keményítő) alapvető tápanyagok a föld legnagyobb részén, és a glükóz a sejtek központi energiaforrása.
- A szénhidrát polimerek (glikánok) a baktériumok és növények sejtfalában és az állatok kötőszövetében szerkezeti és védő funkciót töltenek be.
- Állatokban a glukozaminoglikánok (cukorláncokból felépülő komplex polimerek) síkosítják és kipárnázzák az ízületeket, a bőr, haj és tollak alkotóelemei, részt vesznek a véralvadás és az immunrendszer szabályozásában, segítenek a sejt-sejt adhézió és interakció szabályozásában.
- Fehérjékhez vagy lipidekhez kovalensen kapcsolt komplex szénhidrát polimerek (*glikokonjugátok*) szignálként működve meghatározzák ezen polimerek intracelluláris lokalizációját, funkcióját vagy metabolikus sorsát

### 7.1. ÁLTALÁNOS JELLEMZŐK ÉS NEVEZÉKTAN

A szénhidrátok **polihidroxi- aldehydeid vagy ketonok**, vagy hidrolízissel azokká alakíthatók. Sok szénhidrát általános összetétele:  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ ; némelyik nitrogént, foszfort vagy ként is tartalmaz.

Méretük alapján három fő csoportra oszthatók: monoszacharidok, oligoszacharidok és poliszacharidok. **A monoszacharidok**, vagy egyszerű cukrok egyszerű polihidroxi aldehyd vagy ketonok, amelyek nem hidrolizálnak.

**Az oligoszacharidok** glikozidos kötéssel kapcsolódó néhány monosaccharidból felépülő cukor láncok, amelyek monoszacharidokká hidrolizálhatók. A leggyakrabban előfordulók a diszacharidok, amelyek két monoszacharid egységből épülnek fel. Minden közönséges mono-és diszacharid neve „-óz”-ra végződik. A sejtekben a legtöbb három vagy több egységből felépülő oligoszacharid nem szabad formában, hanem lipid vagy fehérjékhez kapcsolódva, glikokonjugátumok formájában fordul elő.

A **poliszacharidok** 20 vagy több monoszacharidból álló cukor polimerek (némely több száz vagy ezer egységet is tartalmaz). Némelyek (például a cellulóz) lineáris láncot alkotnak, mások (glikogén) elágazó láncúak.

### 7.2. EGYSZERŰ CUKROK: MONOSZACHARIDOK

A monoszacharidok színtelen, kristályos, szilárd anyagok, jól oldódnak vízben, nem oldódnak apoláros oldószerekben. Legtöbb édes ízű. Az aldóz az aldehydből, a ketóz a ketonból származik. A trióz három szénatomos szénhidrát; a tetróz négy; a pentóz öt; a hexóz hat stb. A két legegyszerűbb monoszacharid három szénatomos trióz: a gliceraldehyd, egy aldotrióz és a dihidroxiaceton, egy ketotrióz.

### 7.3. SZTEREOKÉMIA

A cukrok igen fontos jellemzője a **nagyszámú lehetséges izomer** az általános molekuláris formulán belül, még az egyszerű pentózok és hexózok esetében is.

- Sztereoizomer: azonos molekuláris formula, de a felépítő atomok különböző térbeli elhelyezkedése.

- Az enantiomerek asszimmetria centrumot tartalmaznak (rendszerint a szénatomon) és egymás tükörképei.
  - Azonos fizikai tulajdonságokkal bírnak, kivéve hogy a polarizált fényt ellenkező irányba forgatják.
  - Konvenció szerint, a + jel jelöli a jobbra, a – jel a balra forgatást.
  - Mivel fizikai tulajdonságaik megegyeznek, gyakran nehéz az enantiomereket fizikailag elválasztani.
- A Diasztereomerek sztereoisomerek amelyek nem tükörképek.
  - Fizikai tulajdonságaik különböznek, ez megkönnyíti fizikai elválasztásukat.
  - Egy pár sztereoisomer ami nem enantiomer az diasztereomer.

A dihidroxiaceton kivételével mindegyik monoszacharid tartalmaz egy vagy több asszimétrikus (**királis**) szén atomot, így optikailag aktív izomer formákban fordul elő. Általában, egy molekula  $n$  királis centrummal  $2^n$  sztereoisomer formában fordulhat elő. A legegyszerűbb aldóz, a gliceraldehid egy királis centrumot tartalmaz, így két különböző optikai izomerje vagy enantiomerje lehetséges (az előadás ábra illusztrálja a két formát).

Megegyezés szerint a C1 az aldehid szén atom, és a szénatomok függőleges tengelyének tetején helyezkedik el. A királis szén a C2, ha a -OH csoport a királis szénatomon jobbra jelölt, az a D-izomer, míg az L izomerben ez a csoport ezen szénatom bal oldalára rajzolt.

- A gliceraldehidnél, a D izomer a polarizált fényt jobbra; az L izomer balra forgatja.
- Más monoszacharidoknál a D isomer az, amelynél a karbonil szénatomtól legtávolabbi királis centrum körül a konfiguráció a D-glicerinaldehiddel megegyező, de a polarizált fényt nem feltétlenül jobbra forgatja.
- A D,L konvenció más egyszerű királis molekulákra, olyan mint az aminosavak is alkalmazható.
  - Itt a D, L szimbólum csak a sztereokémiát jelöli.
  - A + vagy – jel specifikusan a fény rotáció irányát jelöli; + jobbra forgatás – balra forgatás.

Habár az élőlényekben a **legtöbb cukor D izomer**, néhány cukor természetesen L-formában fordul elő, például az L-arabinóz és néhány cukor származék L-izomerje, amelyek glikokonjugátok komponensei.

Az előadás ábra mutatja az öt- és hat- szénatomos aldózok és ketózok D izomerjének szerkezetét. A szénatomok számozása a lánc karbonil csoporthoz legközelebb eső szénatomján kezdődik. Mind a nyolc, C-2, C-3 és C-4 sztereokémiájában eltérő D aldohexóznak saját neve van. A négy-és öt szénatomos ketózok neve a megfelelő aldózokból származik egy „ul”-tag behelyezésével. A ketohexózok elnevezése eltérő. A D-(+)-glükóz másik neve *dextróz*, míg a *levulóz* a D-(-)-fruktóz..

A csak egy szénatom körüli konfigurációban eltérő cukrok az **epimerek**: a D-glükóz és a D-mannóz , amely csak a C-2 sztereokémiájában különbözik, epimerek, csakúgy mint a D-glükóz és a D-galaktóz (amelyek a C-4-nél különböznek) (előadás ábra).

## 7.4. CIKLIZÁCIÓ

Aldopentózok és hexózok oldatban **ciklizálódnak** öt- vagy hattagú gyűrűvé. A gyűrű egyik tagja egy oxigén atom. Az öttagú gyűrűvel rendelkező cukrok a furánra, a hattagúval a piránra emlékeztetnek (Ez vezetett a **furanózok** és **piranózok** elnevezésre).

Piranózként a glükóz **hemiacetállá** ciklizál (egy aldehid egy alkohollal való reakciójának terméke), amely viszonylag stabil, ciklikus szerkezetének köszönhetően. Ez egy új királis centert hoz létre a C1-en és két új optikailag aktív formához vezet, ezek az **anomerek**. Jelölésük  **$\alpha$ -D-glükopiranóz** és  **$\beta$ -D-glükopiranóz**. Az  $\alpha$  jelölés jelzi hogy a hidroxil csoport az anomer centernél a Fisher kivetítésben

ugyanazon az oldalon van, mint a legtávolabbi királis centerhez kapcsolódó hidroxil csoport, míg a  $\beta$  jelöli, hogy ezek a hidroxil csoportok az ellenkező oldalon vannak.

Mindazonáltal a hattagú piranóz gyűrű nem planáris (egy síkban lévő), hanem hajlamos a két szék konformáció egyikét felvenni. A kötések a gyűrű szénatomokon a szubsztituensekhez és hidrogén atomhoz lehetnek axiálisak ( $\alpha$  anomer), párhuzamosan kinyúlva a gyűrűn keresztülmennő függőleges tengelyre, vagy ekvatoriálisak ( $\beta$  anomer), durván merőlegesen kinyúlva a tengelyhez képest. A D-glükóz  $\alpha$  és  $\beta$  anomerje egymásba alakulhat vizes oldatban (ez a folyamat a **mutarotáció**).

A fruktóz ciklizálhat piranóz vagy furanóz gyűrűvé **hemiketál** formálásán keresztül ( egy alkohol egy keton karbonil csoportjával való reakciójának terméke). Mind piranóz mind furanóz esetében két anomer lehetséges,  $\alpha$ -és  $\beta$ -D-fruktofuránóz és  $\alpha$ - és  $\beta$ -D-fruktopiranóz (Előadás ábra) . Kombinált formában a leggyakoribb anomer a  $\beta$ -D-fruktofuránóz..

A ribóz és dezoxiribóz furanózzá ciklizálhat két anomerrel (előadás ábra)

## 7.5. REAKTIVITÁS ÉS LEGYAKORIBB SZÁRMAZÉKOK

A pentózek és hexózek ciklikus formái equilibriumban vannak a nyílt láncú formákkal.

Az equilibrium meghagy valamennyi "szabad" aldehid vagy ketont további reakcióhoz. Ezek reagálhatnak oxidáló ágensekkel, pozitív eredményt adva a „redukáló cukrok” meghatározására szolgáló tesztekben.

A glükóz karbonil (aldehid) szénatomjának **oxidációja** karboxil csoporttá **glukonsavat** eredményez, más aldózek esetében **aldonsavat**.

Az aldózek és ketózek karbonil csoportja **redukálódhat** alkohollá. A **szorbitol** és a **mannitol** két fontos cukor alkohol. A D-szorbitolt D-glucitolnak is hívják. Diabetes mellitusban a szorbitol felhalmozódik a szemlencsében és szürkehályog képződéséhez vezethet. A szürkehályog kialakulásában valószínűleg redox reakciók is szerepet játszanak, olyan mint a glükóz redukciója szorbitollá és a fehérjékben az oxidatív keresztkötések kialakulása diszulfid hidakon keresztül.

Enzimek oxidálhatják a monoszacharidokat különböző karboxilsavakká. A szénlánc másik végén levő szénatom oxidációja (C-6 ) a megfelelő uronsavat eredményezi:glukoronsav (glükóz), galakturonsav (galaktóz) vagy mannuronsav (mannóz esetében). A glükózból származó két fontos uronsav a glukuronsav és iduronsav, amelyek epimerek (előadás ábra)

A hemiacetál vagy hemiketál alkohollal való reakciója **acetált** vagy **ketált** hoz létre (**glikozidok**). A glikozidok nem redukáló cukrok. Azonosított cukor esetében ez lehet glükozid (glükózból) vagy galaktozid (galaktózból).

A glükozidok széles körben elterjedtek a növény és állatvilágban.

Meglehetősen stabilak, lúggal kevésbé hasíthatók. Enzimatikusan hasíthatók **glikozidázokkal** vagy savas hidrolízissel.

A cukrok foszforsavval való reakciója **foszfát-észtereket** hoz létre (ábra). Ezek különösen fontosak a szénhidrátok metabolizmusában. A cukor-foszfát észterek viszonylag stabilak semleges pH-n, és negatív töltésűek. A cukor foszforilálása a sejten belül csapdába ejti a cukrot a sejtben, mivel a sejt nem tartalmaz plazmamembrán transzportereket foszforilált cukrokra. A foszforilálás ezenkívül aktiválja a cukrokat a további reakcióhoz..

A természetben előforduló poliszacharidok tartalmazhatnak **szulfáttal** vagy **amino csoporttal** módosított cukrokat. Két általánosan előforduló aminocukor a  $\beta$ -D-glükózamin és  $\beta$ -D-galaktózamin. Ezek

az aminocukrok tovább módosulhatnak **acetilálással** vagy más átalakítással. Az **N-acetilglükózamin** sok szerkezeti polimer alkotórésze, beleértve a baktériumok sejtfalát. A baktériumok sejtfa szintén tartalmaz egy glükózamin származékot, az N-acetilmuraminsavat, amelyben a tejsav éterkötésben kapcsolódik az N-acetilglükózamin C-3 oxigénjéhez. Ezekon a hexóz származékokon kívül egy savas cukor méltó még említésre: **N-acetilneuraminsav** (sziálsav), egy N-acetilmannózamin származék, amely sok állati glikoprotein és glikolipid komponense. Ezenkívül a természetes poliszacharidokban a szulfát csoport számos módon kapcsolódhat a cukor részhez.

## 7.6. DISZACHARIDOK

A diszacharidok (pl. maltóz, laktóz, szacharóz) két O-glikozidos kötéssel kovalensen kapcsolódó monoszacharidból állnak. Ez a kötés akkor jön létre amikor az egyik cukor hidroxil csoportja reagál a másik (anomer) szénatomjával. Ez a reakció az acetál képződését reprezentálja hemiacetálból és alkoholból, így a kapott komponens egy **glikozid**. A glikozidos kötések savas hidrolízissel felbonthatók, de a lúgos hidrolízisnek ellenállnak. Így a diszacharidok híg savval való forralással, vagy glikozidáz enzimekkel hidrolizálhatók monoszacharidokká..

Ha az anomer szénatom glikozidos kötésben van, a cukor nem tudja felvenni a lineáris formát, ezáltal **nem redukáló** cukorrá válik. A diszacharidok vagy poliszacharidok leírásában, a szabad anomer szénatomot tartalmazó láncvéget ( amelyik nincs glikozidos kötésben) hívják **redukáló végnek**.

**A szacharóz** (asztali cukor) egy glükózból és egy fruktózból álló diszacharid (előadás ábra). Növényekben képződik (állatokban nem). A szacharóz nem tartalmaz szabad anomer szénatomot, mivel minkét monoszacharid anomer szénatomja részt vesz a glikozidos kötésben. Ezáltal a szacharóz **nem redukáló cukor**.(megegyezés szerint egy komponens leírásában a nem redukáló vég van balra, ezáltal a szacharóz glukozid és fruktozid is). A szacharóz a fotoszintézis fő intermediere; sok növényben ez a cukrok szállításának fő formája a levelekből a növény más részeibe. Kereskedelmiileg cukornád-ból vagy cukorrépből nyerik.

**A laktóz** a tej fő diszacharidja, kb. 5% koncentrációban fordul elő benne, kereskedelmiileg tejipari melléktermékként keletkezik. **Galaktózból és glükózból** felépülő diszacharid, **redukáló cukor**, amelyben a glükóz a galaktóz 1-es szénatomjához kapcsolódó oxigéne keresztül kapcsolódik (előadás ábra). Ez teszi a laktózt technikailag galaktoziddá és nem glükoziddá. A felépítő glükóz „szabad” hemiacetálja teszi redukáló cukorrá. Formálisan a laktóz neve 4-β-D-galaktopiranozil-D-glükóz.

A diszacharid **maltóz** (előadás ábra) két glükóz egységből épül fel, ahol a glikozidos kötés az egyik glükóz C-1-ja ( anomer szénatom) és a másik glükóz C-4-ja között jön létre.A keményítő lebontásával keletkezik. Mivel a diszacharid megőrzi egy szabad anomer szénatomot ( a jobb oldali glükóz C-1-én), így a maltóz redukáló cukor.. Az anomer szén konfigurációja a glikozidos kötésben α.. A glükóz a szabad anomer szénatommal lehet α-és β-piranoz formában.

**A Trehalóz**, Glc(α1↔1α)Glc- egy két D-glükózból álló diszacharid, ami a szacharózhoz hasonlóan nem redukáló cukor- a rovarok hemolimfájának fő komponense, ahol energia raktározó szerepet tölt be. A gombákban szintén megtalálható, ez a kereskedelmi forrása ennek a cukornak.

## 7.7. POLISZACHARIDOK

A poliszacharidok (glikánok) különböznek a felépítő monoszacharid egységekben, a szénlánc hosszában, az egységek közötti kötéstípusban , és az elágazás mértékében. A **homopoliszacharidok** egyféle, a **heteropoliszacharidok** két vagy többféle monomerekből épülnek fel.

Némely poliszacharid **tápanyagraktárként** szolgál (keményítő és glikogén), mások (pl. cellulóz és kitin) **szerkezeti elemek** a növényi sejtfalban vagy az állatok kültakarójában. A heteropoliszacharidok különböző organizmusoknak **extracelluláris vázat** nyújtanak.

A fehérjékkel ellentétben a poliszacharidoknak általában **nincs meghatározott molsúlyuk**. A poliszacharid szintézisnél nincs templát, a szintézis a monomereket polimerizáló enzimek belső programja, és nincs specifikus végpont a szintézisben.

A legfontosabb **raktározó poliszacharid** a növényekben a keményítő, az állatokban a glikogén. Mindkét poliszacharid a sejten belül, nagy raktározó granulumokban fordul elő. A keményítő és a glikogén erősen hidratált, a sok víznek kitett hidroxil csoport következtében, amelyek hidrogén kötésbe léphetnek a vízzel.

**A keményítő**, a növényi poliszacharid egy **vízoldható glükóz polimer**, kétféle alkotórészrel: amilóz és amilopektin.

**Az amilóz** egy körülbelül 200  $\alpha(1\rightarrow4)$  kötéssel kapcsolódó glükóz egységből álló lineáris polimer..

**Az amilopektin** szintén egy glükóz polimer, de legalább 1000 glükóz egységet tartalmaz molekulánként. Legtöbb glükóz egység  $\alpha(1\rightarrow4)$  kötéssel kapcsolódik, de kb. 24-30 egységenként  $\alpha(1\rightarrow6)$  kötéssel létrehozott elágazásokat is tartalmaz. A keményítő granulumokban az amilopektin szálak kettős hélixeket formálnak egymással vagy az amilóz szálakkal (előadás ábra). A külső elágazások nem redukáló végén levő glükóz egységek enzimatis hasításával történik a keményítő mobilizálása energia termelés céljából.

**A glikogén** (előadás ábra), az **állati glükóz polimer**, hasonló az amilopektinhez, csak **több elágazást** tartalmaz (átlagban 8-12 egységenként). Gerincesekben a glikogén elsősorban a májban és vázizomban raktározódik. Ezekben a sejtekben a glikogén nagy granulumokban található, amelyek maguk is egy csoport kisebb granulumból épülnek fel, amelyek egyetlen, nagy molsúlyu, sokszorosán elágazó glikogén molekulából állnak. Mindegyik elágazás egy nem redukáló véggel végződik, míg a molekula egyetlen redukáló vége a granulum belsejében van elrejtve. Ezek a glikogén granulumok szintén tartalmazzák kapcsolatosan a glikogén szintézis és lebontás enzimeit.

**A Cellulóz**, (előadás ábra) egy fibrózus, erős, **vízoldhatatlan** glükóz polimer a növények sejtfalában, elsősorban szárban, törzsben és a növénytest fás részeiben. A cellulóz teszi ki nagy részét a fák tömegének, a gyapot majdnem tiszta cellulóz.

Az amilózhoz hasonlóan, a cellulóz molekula egy **lineáris, elágazásmentes** 10000-15 000 D-glükóz egységből álló **homopoliszacharid**, de a cellulózban a glükóz egységek  $(\beta 1\rightarrow 4)$  **glikozidos kötéssel** kapcsolódnak, ellentétesen az amilóz  $(\alpha 1\rightarrow 4)$  kötéseivel.

Az emberek és legtöbb állat nem képes megemészteni a  $(\beta 1\rightarrow 4)$  kötést hidrolizáló enzim hiánya miatt. A kérődzők és némely rovar (pl. a természetek) bele tartalmaz bizonyos baktérium törzset, amely cellulázt,  $(\beta 1\rightarrow 4)$  kötést hidrolizáló enzimet szekretál, képessé téve ezen állati gazdákat a cellulóz emésztésére. A fát korhasztó gombák és baktériumok szintén termelnek cellulázt.

A sejtfal részeként az egymás mellett fekvő cellulóz polimer láncok kötegeket alkotnak, ezek a kötegek egymás köré felcsavarodva szálakat és végül látható rostokat képeznek (előadás ábra). A fa **lignint** (keresztkötött C9 aromás egységeket, amelyek szerkezetben és bioszintézisben az aromás aminosavakkal rokonok) is tartalmaz a cellulóz rostokba ágyazva; a lignin nagy szilárdságot ad a fának.

## 7.8. EGYÉB JELENTŐS TERMÉSZETES POLISZACHARIDOK

**A Dextránok** ( $\alpha$  1→6) kötésekkel kapcsolódó poli-D-glükózból álló bakteriális és élesztő poliszacharidok. Mind tartalmaz ( $\alpha$  1→3) elágazásokat, és némelyik ( $\alpha$  1→2) vagy ( $\alpha$  1→4) elágazásokat. A fogak felszínén növő baktériumok által képzett dentális plakkok dextránban gazdagok. A kereskedelmi termékként létrehozott szintetikus dextránokat (például Sephadex) fehérjék frakcionálására használják a gélszűrésnél. Ezekben a termékekben levő dextránok kémiai keresztkötéseket tartalmaznak, így különböző pórusnagyságú oldhatatlan anyagokat hoznak létre.

**A kitin** egy ( $\beta$ 1→4) kötésekkel kapcsolódó N-acetilglükózamin egységekből álló lineáris homopoliszacharid (előadás ábra). A cellulózhoz képest az egyetlen kémiai különbség a hidroxil csoport kicserélése a C-2-n egy acetilált amino csoportra. A kitin is a cellulózhoz hasonló kinyújtott rostokból épül fel, és hasonlóan a cellulózhoz emészthetelen a gerincesek számára. A kitin számos arthropoda (rovarok, rákok, kagylók) kemény vázának alapvető komponense, és valószínűleg a második legnagyobb mennyiségben előforduló poliszacharid a cellulóz mellett a természetben.

Bizonyos tengeri vörös algák sejtfa tartalmaz **agart**; szulfatált és nem-szulfatált heteropoliszacharidok keverékét, amelyek C-3 és C-6 között éterkötéssel kapcsolódó D- és L-galaktóz származékokból épülnek fel. Az agar szintén használják baktérium kolóniák növekedéséhez szükséges felszín létrehozására. Az agar egy másik kereskedelmi alkalmazása kapszulák készítése vitaminok és gyógyszerek számára; a szárított agar könnyen oldódik a gyomorban és metabolikusan inert. Az **agaróz** az agar főleg nem szulfatált részéből származik. Ha feloldják forró vízben, aztán lehűtik, gélt formál, ami a laborban elektroforézisre használható; táplálék adalékanyagként is használják, folyadék szuszpenziók kocsonyásításához.

## 7.9. SZÉNHIDRÁTOK AZ EXTRACELLULÁRIS TÉRBEN

A soksejtű állatok szöveteiben található sejtek közötti teret egy gélszerű anyag tölti ki, az extracelluláris mátrix (ECM), amelyik összetartja a sejteket, és porózus útvonalat biztosít a tápanyagok és oxigén különböző sejtekhez történő diffúziójához.

A retikuláris ECM, ami körülveszi a fibroblasztokat és más kötőszöveti sejteket, **heteropoliszacharidok** és **fibrozus fehérjék** (olyan mint a fibrilláris **kollagén**, **elasztin** és **fibronektin**) szövetes hálózatából épül fel. A bazális membrán egy specializált ECM, ami az epithél sejtek alapjául szolgál; ez a membrán speciális kollagénből, lamininből és heteropoliszacharidokból épül fel.

Ezek a heteropoliszacharidok, a **glükózaminoglikánok**, **ismétlődő diszacharid egységekből** felépülő lineáris polimer családok. Csak az állatokra és baktériumokra jellemzőek, nem találhatók meg a növényekben. Az egyik a két monoszacharidból mindig N-acetilglükózamin vagy N-acetilgalaktózamin, a másik legtöbb esetben egy uronsav, rendszerint D-glükuronsav vagy L-iduronsav. Némely glükózaminoglikán szulfát csoportokkal észteressített. A szulfát és karboxil csoportok kombinációja **nagy negatív töltést** ad a glükózaminoglikánoknak. A szomszédos töltéssel rendelkező csoportok közötti taszítóerők csökkentésére a molekula oldatban kinyújtott konformációban, pálcaszerű hélixet alkotva fordul elő. Ezenfelül a töltések víz molekulákat vonzanak, így a lánc **erősen hidratált**. A glükózaminoglikánokban a **szulfatált és nem szulfatált cukor egységek specifikus mintázata** specifikus felismerési helyet biztosít számos fehérje ligand számára, amelyek elektrosztatikusan kötődnek ezekhez a molekulákhoz.

A szulfatált glükózaminoglikánok extracelluláris fehérjékhez kapcsolódva **proteoglikánokat (mukopoliszacharidokat)** alkotnak. A proteoglikánokban a szénhidrát rész dominál, így tulajdonságaikat főleg a szénhidrát rész határozza meg.



A glukózaminoglikánoknak számos típusa létezik, beleértve a kondroitin szulfátot, hialuronsavat, heparán szulfátot és keratán szulfátot (előadás ábra). Ezek a sejten kívül, a sejt felszínén, vagy a sejtek közötti térben találhatóak. Számos funkciót töltenek be, olyan mint az ízületek kipárnázása és mechanikai támasza, valamint lehetnek a sejtproliferáció és sejtvándorlás irányításában részt vevő sejt szignál molekulák vagy bizonyos kulcsenzimek gátlószerei is

**A hialuronsav** (HA vagy hialuronát) egy váltakozó N-acetilglukózamin és glukoronsav egységekből felépülő hosszú polimer. Az ízületekben kenőanyagként szolgál, ízületi folyadékot létrhozva. A hialuronsav szintén alapvető komponens az üvegtestben (szem) és a porcban. Eltérően más glukózaminoglikánoktól a hialuronsav nem tartalmaz szulfátot, és nem kapcsolódik fehérjéhez. Közvetlenül az extracelluláris térbe szekretálódik. Szöveti sérülést követően a hialuronsav degradációja kisebb láncokat szabadít fel, amelyek részt vesznek a sejtproliferációban, migrációban és differenciációban; ezek a degradációs termékek szintén részt vesznek a leukociták sérülés helyére történő toborzásában. Tisztított HA intraartikuláris injekcióját terápiásan alkalmazzák csonttritkulás kezelésére

**A kondroitin szulfát** egy váltakozó glukoronsav és galaktóz N-acetil-4-szulfonát egységekből álló viszonylag rövid polimer. Mechanikai támaszt és flexibilitást nyújt a szöveteknek; hozzájárul a porc ínszalagok és aorta fal feszítőszilárdságához. A **dermatán szulfát** (DS) egy rokon GAG, amely uduronsavból és N-acetilgalaktózaminból épül fel. Ez biztosítja a bőr rugalmasságát, valamint a véredényekben és a szívbíelyüben is megtalálható. A membránokban a CS és DS részt vesz a növekedési faktorok receptoraikkal való kölcsönhatásában, így növekedési faktorokhoz kofaktorként szolgálhat.

**A keratán szulfát** (KS) nem tartalmaz uronsavat és szulfát tartalma változó. Váltakozó galaktóz és szulfatált N-acetilglükózamin egységekből épül fel. Proteoglikánokban háromféle formában fordul elő, amelyek közül kettő elágazó. A keratán szulfát megtalálható a korneában, porcban, csontban és számos szaruszerű képződményben, amelyek elhalt sejtekből épülnek fel: szarv, haj, köröm, pata. Ezekben főleg mechanikai/szerkezeti szereppel bír.

**A heparán szulfát** (HS) egy szulfatált poliszacharid, sejt felszíni proteoglikánok alkotórésze a hízósejtekben és az ereket bélelő endothel sejtek felszínén. Ismétlődő N-acetilglükózamin és uronsav (glukuron-vagy uduronsav) egységekből épül fel. A szulfát számos pozícióban előfordulhat, még az N-acetilglükózamin acetyl csoportja is kicserélődhet szulfátra. Szöveti sérülést követően ebből a glukózaminoglikánból származó oligoszacharidok szabadulnak fel, és vesznek részt az immunválasz kiváltásában. Némely így felszabadult oligomer növekedési faktorok, kemokinek és citokinek aktivitását segíti elő, mások leukocitákat vonzanak a sérülés helyére.

Nagyon fontos egy különleges pentaszacharid szekvencia (előadás ábra), amely antikoaguláns hatással bír. Ez a pentaszacharid egy ritka 3-O-szulfatált glükózamint tartalmaz (előadás ábra). A heparán szulfátnak ezt a pentaszacharidot tartalmazó oligomer frakciója a **heparin**. A pentaszacharid hozzákötődik az antitrombin III fehérjéhez és aktiválja azt. Ez az fehérje felelős a trombin, egy véralvadásban szerepet játszó proteáz gátlásáért, így a véralvadás gátlásáért. A heparin sokkal kisebb mint a heparán szulfát és nem kapcsolódik fehérjéhez. A heparin jóval több szulfátot is tartalmaz, mint az átlagos random pentaszacharid szekvencia a heparán szulfátban. A kulcs pentaszacharid szintetikus verziója a klinikumban antikoagulánsként használatos.

## 7.10. GLUKOKONJUGÁTUMOK: PROTEOGLIKÁNOK, GLUKOPROTEINEK ÉS GLUKOLIPIDEK

### Proteoglikánok

A **proteoglikánok** a sejtfelszínen vagy az extracelluláris térben található makromolekulák, amelyekben egy vagy több szulfátot tartalmazó glukózaminoglikán lánc kovalensen kapcsolódik egy membrán- vagy szekretált fehérjéhez. Az emlős sejtek több mint 40 típusú proteoglikánt képeznek. Ezek a molekulák részt vesznek a szövetek szerveződésének kialakításában, hatással vannak különböző sejtaktivitásra, olyan mint a szöveti faktor aktiváció és adhézió. A proteoglikánok szerkezetében egy tipikus tetraszacharid szekvencia kapcsolja a glukozaminoglikánt a fehérje egy szerin maradékához (előadás ábra).

Sok proteoglikán szekretálódik az extracelluláris térbe, de vannak köztük integrális membrán fehérjék is. Például a membrán heparánszulfát proteoglikánok két fő családja a szindekán és glikipán. A szindekánok egy transzmembrán doménből és egy extracelluláris doménből állnak, az utóbbi 3-5 db heparán szulfát és némely esetben kondroitin szulfát láncokkal dekorált. A glikipánok a membránhoz egy lipiddel vannak kihorgonyozva, amely a membrán lipid foszfatidilinozitol származéka (előadás ábra). Egy proteáz az ECM-ban a membrán felszín közelében hasítva felszabadítja a szindekán ektodomént (a plazmamembránon kívüli domént), míg egy foszfolipáz amely a membrán lipidhez való kapcsolódást szünteti meg, felszabadítja a glikipánokat. Számos kondroitin szulfát és dermatán szulfát proteoglikán is előfordul, némelyek membrán kötöttek, mások az extracelluláris mátrixba szekretált termékek.

A proteoglikánok glukózaminoglikán láncai számos extracelluláris ligandot köthetnek elektrosztatikus kölcsönhatásokon keresztül, és ezáltal modulálhatják a ligandok specifikus sejtfelszíni receptorokkal való interakcióit (előadás ábra).

Némely proteoglikán **proteoglikán aggregátumokat** hoz létre. Ezek hatalmas szupramolekuláris képződmények, amelyekben sok glukozaminoglikán láncal dekorált fehérje egyetlen hosszú hialuronsav lánchoz kapcsolódik (előadás ábra)

Az ezekkel a hatalmas, extracelluláris proteoglikánokkal átszőtt ECM-ban fibrózus fehérjék is találhatóak, olyan mint a kollagén, elasztin és fibronektin, amely komponensek együtt egy bonyolult keresztkötött hálózatot hoznak létre, amely a teljes matrix erejét és rugalmasságát biztosítja.

Az emlős proteoglikánok és kapcsolt glukózaminoglikánok **bioszintézise** egy xilóz maradék kapcsolódásával kezdődik a törzsfehérje egy szerin maradékához. Azután két galaktóz és egy glukuronsav kapcsolódik a xilózhoz (előadás ábra). A különböző GAG-hoz vezető útvonal ezen a ponton elágazik, különböző enzimekkel, amelyek a cukormaradékok kapcsolódását katalizálják, és más enzimekkel, amelyek a kapcsolt egységek módosítását végzik. A lánc iniciáció az endoplazmás retikulumban megy végbe, míg az elongáció és módosítások a Golgiban történnek. A proteoglikánok azután a sejtfelszínhez és az ECM-ba szállítódnak a Golgiról lefűződő vezikulákkal. Ez a bioszintetikus útvonal nem érvényes a hialuronsavra, mivel ez a GAG nem kapcsolódik fehérjéhez, helyette közvetlenül az ECM-ba kerül.

A **szulfát** csoport kapcsolódása mind az endoplazmás retikulumban mind a Golgiban végbemehet. A szulfát csoport donor a PAPS nevű komponens, amely ATP-ből és szulfátból származik (előadás ábra).

## Glikolipidek

A **glikolipidek**, amelyekben a cukrok lipidekhez kapcsolódnak, a biomembránokban fordulnak elő. A lipid rész nagyrészt szfingolipid, a membrán lipidek egy csoportja, amelyek egy hosszú láncú aminoalkoholból, a szfingozinból, egy hosszú láncú zsírsavból, és egy poláros fejcsoportból állnak. A glikoszfingolipidek a szfingolipidek egy alosztálya, a melyekben a cukrok egy ceramid molekulához (a szfingozin N-acil származéka) kapcsolódnak. A szénhidrát rész lehet egy monoszacharid, vagy hosszabb, esetleg elágazó cukor lánc. A ceramid és egy cukor maradék kombinációja a cerebrozid. A globozid esetében néhány cukorból álló rövid lánc kapcsolódik a ceramidhoz, míg a gangliozid ceramidhoz kapcsolódó komplex cukorláncból áll, és egy vagy több N-acetilneuraminsavat (sziálsavat) is tartalmaz a láncvégnél (előadás ábra). A gangliozidok főleg a neuronok membránjában találhatóak.

A glikolipidek cukorrésze kifelé nyúlik a sejtmembrán felszínéről, és ezek a csoportok gyakran fontos szerepet játszanak a sejt-sejt közötti interakciókban.

A cerebrozidok és gangliozidok lebontását hexozidázok katalizálják, amelyek egy cukoregységet távolítanak el egyszerre. Ezek az enzimek a sejtben a lizoszómákban találhatóak. Ezen enzimek defektusa súlyos betegségekhez vezethet (lipidózisok), például a Tay-Sach betegség (előadás táblázat sorol fel néhányat ezekből a glikolipid tárolási betegségekből).

## Glikoproteinek

Sok celluláris fehérje módosul egy vagy több szénhidrát lánc kapcsolódásával, ezek a glikoproteinek.

A proteoglikánoktól eltérően, a glikoproteinek **főleg fehérjék**, amelyekhez szénhidrát (oligoszacharid) láncok kapcsolódnak. Tulajdonságaikat főleg a fehérjerész határozza meg, nem pedig a szénhidrát rész.

A kapcsolódó **szénhidrát láncok** általában **rövidebbek, több elágazást** tartalmaznak, és a cukor **szekvenciában nagyobb változatosságot** mutatnak a proteoglikánok cukor láncaihoz képest. A szénhidrát anomer szénatomján keresztül, glikozidos kötéssel kapcsolódik egy szerin maradék -OH-csoportjához (O-kapcsolt) vagy N-glikozil kötéssel egy Asn maradék amid nitrogénjéhez (N-kapcsolt).

Emlősökben a legtöbb sejt felszíni fehérje glikozilált. Glikoproteinek szintén vannak a szekretált fehérjék között (mucin, hormonok, például TSH és eritropoetin, antitestek, laktalbumin). A sejtben oldott fehérjék szintén lehetnek glikoziláltak, például a ribonukleáz B a ribonukleáz A-tól csak egy specifikus aszparagin maradékhoz kapcsolt cukorláncban tér el.

**Az extracelluláris mátrix** szintén tartalmaz számos **multiadhezív glikoproteint**, amelyek számos doménből állnak, és mindegyik domén specifikus kötőhelyeket tartalmaz különböző molekulákhoz és sejt felszíni receptorokhoz való kapcsolódáshoz. Ezek a glikoproteinek segítik elő a mátrix összeszerveződését, és a sejtek mátrixhoz való kapcsolódását. A **fibronektin** például egy oldható multiadhezív mátrix glikoprotein. A fibronektinek segítenek a sejt alakjának szabályozásában és a citoskeleton organizálásában. Ezenkívül alapvető fontossággal bírnak sok sejt típus migrációjánál és differenciálódásánál az embriogenezis folyamán, és fontosak a sebhegedéshez és véralváadáshoz is. A **laminin** egy multiadhezív glikoprotein család, amely minden bazális lamina alapvető alkotórésze.

A fehérjeszintézist követően, eukariotákban a polipeptid lánc **belép az endoplazmás retikulim üregébe, majd keresztülhalad a Golgi komplexen**. Ezeken való áthaladás alatt cukrok kapcsolódhatnak a polipeptidek Asn oldalláncának nitrogénjéhez vagy Ser vagy Thr oldalláncok oxigénjéhez. Az **N-glikozidos kötések** az **endoplazmás retikulumban vagy a Golgiban** jönnek létre, míg az **O-glikozidos kötések** csak a **Golgi komplexben** alakulnak ki. Az Asn-hoz való kapcsolódásra szánt komplex szénhidrát láncok összeszerelődése egy speciális lipiden, **dolichol foszfáton** (az endoplazmás retikulum membránjába ágyazva) történik. Az összeállított lánc aztán transzferálódik a

fehérjére a dolichol foszfátról. Egyszerűbb szénhidrát láncok szintézise egy cukor maradék kapcsolódásával kezdődik a célfehérjéhez, azután a lánc hosszabbítását speciális enzimek végzik. Az endoplazmás retikulumban való érés után a glikoproteinek **tovább módosulnak a Golgikomplexben**. Végül ezek a glikoproteinek a Golgi komplexben osztályozódnak a megfelelő helyre való szállításhoz.

A minden élőlényben megtalálható **lektinek** specifikusan szénhidrát láncokhoz kötődő fehérjék. Számos sejt-sejt felismerésben, sejt-szignálban, adhéziós folyamatban játszanak szerepet, éppúgy mint ujonnan szintetizált fehérjék intracelluláris helyéhez való juttatásában.

- A lektinek egyik osztálya, a C-típusú lektinek, kalcium ionokat igényelnek a protein-szénhidrát komplexek formálásához.
- Némely mikrobiális patogén lektinet tartalmaz, amelyek a baktérium gazdasejtbe való adhézióját közvetítik, vagy a toxin bejutását a sejtbe.
- Vírusok a hemagglutinin fehérjét használják a sejtbe való belépéshez, ami a sejtmembránba ágyazott glikoproteinek szíálsav maradékjához kötődik. A „H” rész az influenzavírus törzs jelölésében (pl. a H1N1 influenzavírus törzs, vagy madárinfluenza) a hemagglutinire utal; ennek a virális fehérjének számos különböző, de közeli rokonságban levő formája létezik. Az influenzavírus elnevezésében az „N”rész a neuraminidázra (szialidázra) utal, ez egy másik vírusfehérje számos variánssal. A neuraminidáz egy enzim, ami a szíálsav beágyazott fehérjéhez kapcsolódását biztosító glikozidos kötést hasítja, miután a vírus belép a sejtbe-ez a működés felszabadítja a vírust a kicsomagoláshoz és replikációhoz.
- Szelektinek (lektinek) bizonyos sejtek plamamembránjában sejt-sejt interakciókat közvetítenek, például neutrofil leukociták interakcióját a kapillárisok falának endotél sejtjeivel az infekció helyén.
- A lektineknek intracelluláris szerepe is van. A transz Golgi komplex mannóz-6-foszfát receptora (egy lektin) lizoszómális enzimek oligoszacharidjához kötődik, elősegítve a lizoszómákba történő transzfert.

## 7.11. KLINIKAI ALKALMAZÁSOK

### Véralvadás és a heparin

- A heparin a heparán szulfát egy frakciója. Alapjában ez egy **erősen szulfatált, ismétlődő** glukózamin és udoronsav **diszacharid** egységekből felépülő glukózaminoglikán.
- Ezen glukózaminoglikánon belül egy pentamer szekvenciának nagy az affinitása az **antithrombin III** plazma fehérjéhez., ami a vérrög kialakításában szerepet játszó proteázok gátlószere.
- A heparin-antitrombin komplex létrejötte nagyban **növeli az antitrombin aktivitását**, így a heparin, és különösen a pentaszacharid szekvencia az **antikoaguláns terápiában** jéelentős szereppel bír.
- A heparint általában bélmukózából preparálják, mivel az gazdag heparán szulfát proteoglikánokban.

### Hemoglobin glikoziláció és a diabetes

- A glükóz, mint redukáló cukor **kovalensen és nem-enzimatikusan** kötődhet fehérjéhez, a lizin oldallánc aminocsoportján vagy a fehérje lánc terminális –NH<sub>2</sub> csoportján keresztül.
- Egyes fehérjék, például a keringő vörösvértestekben levő hemoglobin glikozilációjának mértéke a **szabad glükóz koncentrációjától függ**.
- Diabetes mellitusban a vér glükóz szintje szokatlanul magas, így a hemoglobin glikozilálódhat. A glikozilált hemoglobint **HbA1-nek jelöljük**; a **fő cukor származék** a glükóz reakciójából származik a Hb β alegységén levő amino terminális csoporttal. Ez a termék a

**HbA<sub>1c</sub>**, ami megfelelő laboratóriumi eszközökkel detektálható és mennyiségileg meghatározható

- A vörösvértestek élettartama 110-120 nap, így a glikozilált hemoglobin mennyisége az előző néhány hónap vérglükóz szintjének átlagát mutatja. A HbA<sub>1c</sub> magas értéke magas vércukor szinteket jelez, ami a vércukor szint szabályozásának defektusára utal; ezzel ellentétesen, az ellenőrzés kielégítő vércukorszint szabályozást mutat diabetes mellitusban szenvedő egyéneknél, ha csökkenés detektálható HbA<sub>1c</sub> szintben.

### Vércsoport antigének

- A vörösvértest membrán glikolipideket tartalmaz, amelyek az immunrendszer által felismert oligoszacharidokat hordoznak.
- A lipid a szfingozin származéka.
- Az oligoszacharid rész a lipidhez közvetlenül kapcsolódó glükózzal kezdődik, amelyet egy galaktóz, egy N-acetilglükózamin, majd egy galaktóz követ. A szerkezet általában egy terminális fukózzal végződik 1→2 kötésben.
- A vércsoportot a cukrok pontos szekvenciája, kapcsolódási módja és a glikoziltranszferáz által létrehozott elágazódás határozza meg (előadás ábra).
  - A glikoziltranszferázok egyik típusa elágazó N-acetilgalaktózamint kapcsol a galaktóz maradékhoz a lánc végénél, ez adja az „A” vércsoportot.
  - Egy másik típus galaktózt kapcsol helyette, a „B” vércsoport típust eredményezve.
  - A „O” vércsoport típusban egyik enzim sem aktív, így a lánc nem elágazó.
  - Egy, az L-fukózt kapcsoló enzim defektusa egy ritka vércsoport típust hoz létre; ez a „I” vércsoport típus.
  - Egy másik ritka típus jön létre a fukóz 1→4 kapcsolásával az 1→2 kötés helyett.
- Az immunrendszer ellenanyagokat termel a különböző rövid oligoszacharidok ellen. Az A vércsoportú ember antitesteket hoz létre B-típusú oligoszachariddal szemben.; ezzel ellentétesen, a B vércsoportú egyén antitesteket képez az A-típusú antigén ellen. Az ellenanyagok a vvt. összecsapódását okozzák, súlyos keringési zavart előidézve, ezért fontos transfúzió során a véradó és a recipiens vércsoportjának azonossága. A O-típusú antigénnel rendelkező egyének univerzális donorok, mivel az A és B típusú egyéneknek nincsenek ellenanyagaik a O antigénnel szemben. Azonban O vértípusú egyéneknek azonos típusú vért kell kapniuk, mivel ezek mind az A mind a B antigének ellen ellenanyagot termelnek.

### A penicillin hatásmechanizmusa

A bakteriális sejtfall fő komponense a **peptidoglikán**, amelyben a **hosszú heteropoliszacharid** (váltakozó N-acetilglükózamin és N-acetilmuraminsav) láncokat **rövid peptid láncok** kötik össze (előadás ábra).

A peptid láncban sokszor a szokásos L-aminosavak helyett **D-aminosavak** találhatók. Ezek a peptidok **keresztkötéseket** alkotnak a poliszacharid láncok között.

A keresztkötéseket **peptidoglikán transzpeptidáz** hozza létre. Ez az **enzim a penicillin támadáspontja**. A penicillin a keresztkötések kialakulását megakadályozva gyengíti a sejtfallat, ami nélkül a baktérium nem tud túlélni.



## 8. GLIKOLÍZIS

A glukóz alapvető jelentőségű molekula a sejtek anyagcseréjében. Lebontása energiát szolgáltat illetve a lebontás során keletkező intermedierek prekursoraként szolgálnak különféle biomolekulák szintéziséhez. A glukóz  $O_2$ -t nem igénylő, *anaerob* körülmények mellett zajsó lebontását **glikolízisnek** nevezzük. A glikolízis a sejt citoplazmájában játszódik le, mivel a folyamat során a foszforilált intermedierek nem tudják elhagyni ezt a teret. A glikolízist 6 szénatomos „**előkészítő**” és a hasítást követően 3 szénatomos „**visszafizető**” szakaszokra bonthatjuk.

1. Az első lépésben a glukóz foszforilálódik a 6-os szénatomján és **glukóz-6-foszfát** keletkezik. A foszfát csoport **ATP** hasításából származik (irreverzibilis reakció). A reakciót a **hexokináz** (nem specifikus a glukózra) enzim katalizálja. Ennek az enzimnek a máj specifikus izoenzimje a **glukokináz**, ami viszont specifikus a glukózra, mint szubsztrátra. A két izoenzim szabályozása is eltérő: a hexokinázt a reakció terméke a glukóz-6-foszfát alloszterikusan gátolja, míg a glukokinázt nem.
2. A következő lépésben a glukóz-6-foszfát (aldóz) reverzibilisen **fruktóz-6-foszfáttá** (ketóz) alakul a **foszfohexóz izomeráz** enzim segítségével.
3. A glikolízis elkötelező és legfontosabb szabályozott lépése a **foszfofruktokináz 1 (PFK-1)** reakció, amelyben a reakció terméke „elköteleződik” a glikolízis felé. Ebben az irreverzibilis lépésben egy újabb **ATP** szolgáltatja a foszfát csoportot, amivel **fruktóz-1,6-biszfoszfát** keletkezik.
4. Az előkészítő szakasz utolsó reakciójaként az **aldoláz** enzim hasítja el a fruktóz-1,6-biszfoszfátot két trióz foszfátra: **dihidroxi-aceton-foszfátra** (ketóz) és **glicerinaldehid-3-foszfátra** (aldóz).
5. A fenti két termék reverzibilisen képes egymásba átalakulni a **trióz-foszfát izomeráz** enzim által. A glikolízisben az aldóz forma (glicerinaldehid-3-foszfát) alakul tovább (2 trióz-foszfát egy hexózból).
6. A következő reverzibilis reakcióban a **glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH)** enzim segítségével **1,3-biszfoszfoglicerát** keletkezik. A reakció során **anorganikus foszfát** épül be savanhidrid kötéssel és NAD koenzim redukálódik **NADH**-vá. Ez a dehidrogenáz enzim SH enzim (cisztein van az aktív centrumában) és monojódot acetáttal gátolható. Az arzén mérgezés egyik molekuláris mechanizmusa is ehhez az enzimhez köthető: az arzénat nagyfokú hasonlósága a foszfáthoz lehetővé teszi, hogy arzén jelenlétében a glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz foszfát helyett arzént építsen be a szubsztrátba, létrehozva ezzel egy instabil – spontán bomló – terméket. Bár a glikolízis végbemegy a piruvátig, a következő lépésben keletkező ATP kiesése miatt a végelszámolást tekintve nulla nettó ATP termelés az eredmény.
7. A **foszfofoglicerát-kináz** az 1,3-biszfoszfoglicerát 1-es (magas kötési energiájú) foszfátját viszi át ADP-re reverzibilis módon. Ez a **szubsztrát szintű foszforilálás** az első **ATP** termelő lépése a glikolízisnek.
8. A kialakuló **3-foszfoglicerátot** a **foszfofoglicerát-mutáz** alakítja **2-foszfogliceráttá**.
9. A 2-foszfoglicerát **enoláz** enzim hatására vízkilépés közben alakul **foszfoenol-piruváttá (PEP)**, amiben a foszfát nagy csoportátviteli potenciállal rendelkezik. Az enzim fluoriddal gátolható, aminek klinikai vércukorszint méréskor van gyakorlati jelentősége.
10. A glikolízis utolsó lépésében a foszfoenol-piruvát **piruváttá** alakul. Ezt az **irreverzibilis** lépést a **piruvát kináz** enzim katalizálja, melynek során a magas csoportátviteli potenciállal rendelkező foszfát ADP-re kerül (**szubsztrát szintű foszforilálás**) megtermelve ezzel a visszafizető szakasz második **ATP**-jét. A keletkezett piruvát lehetséges sorsára a későbbiekben térünk majd vissza.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy **egy glukóz molekula anaerob lebontásából 2 NADH és 4 ATP keletkezik**, amiből 2 ATP felhasználása szükséges a bevezető szakasz két kináz reakciójához. Így a tényleges (nettó) energiamérleg: **glukóz + 2NAD + 2ADP → 2 piruvát + 2NADH + 2ATP**.

A glukóz mellett más cukrok is képesek csatlakozni a glikolízis lebontó folyamatához. Ezek közül a **fruktóz** és a **galaktóz** a legfontosabbak.

A **fruktóz** metabolizmusa jelentős részben a májban megy végbe. A lebontás első lépéseként a **fruktokináz** enzim **fruktóz-1-foszfáttá** alakítja a fruktózt, ami ezután a **fruktóz-1-foszfát aldoláz** enzim segítségével **glicerinaldehidre** és **dihidroxiaceton-foszfátra** hasad. Utóbbi a korábban ismertetett módon (trióz-foszfát izomeráz) alakul **glicerinaldehid-3-foszfáttá**. A glicerinaldehid szintén glicerinaldehid-3-foszfáttá alakul a **trióz kináz** enzim segítségével.

A laktózból keletkező **galaktóz** szintén a májban metabolizálódik. Első lépésként a **galaktokináz** foszforilálja **ATP** felhasználásával **galaktóz-1-foszfáttá**, ami az **UDP-glukóz:galaktóz-1-foszfát uridiltranszferáz** enzim segítségével **UDP-galaktózzá** alakul, miközben **glukóz-1-foszfát** is keletkezik. Az UDP-galaktóz egy **epimeráz** lépésen keresztül **UDP-glukózzá**, majd az **glukóz-1-foszfáttá** és végül **glukóz-6-foszfáttá** alakul. A folyamatban résztvevő uridiltranszferáz és galaktokináz enzimek hiánya **galaktozémia** kialakulásához vezet. Galaktozémiában a felhalmozódó galaktóz aldóz-reduktáz enzim hatására **galaktitolá** alakul, ami a szemlencsében szürkehályog kialakulásához vezet.

## 8.1. SZABÁLYOZÁS

A glikolízis és a glukózt felépítő glukoneogenezis folyamatai összehangoltan és ellentétes előjellel szabályozottak: amikor az egyik sebessége csökken, a másiké fokozódik. A glikolízis szabályozása a három irreverzibilis lépésen keresztül történik meg (a hexokináz szabályozását korábban már tárgyaltuk), ezen belül is a legfontosabb szabályozási pont a **PFK-1** lépés. Ezt a reakciót a sejt energia állapotától függően az **ATP** és a **citrát** gátolja, míg az **AMP** és az **ADP** serkenti. A PFK-1 hormonális szabályozása a **fruktóz-2,6-biszfoszfáton** keresztül érvényesül. **Glukagon** hatására **cAMP-PKA** útvonalon keresztül aktiválódik a bifunkcionális **PFK-2/fruktóz biszfoszfátáz-2** enzim foszfatáz aktivitása, ami a fruktóz-2,6-biszfoszfát szintjének csökkenésén keresztül gátolja a glikolízist és ezzel párhuzamosan serkenti a glukoneogenezist. **Inzulin** hatására a **foszfoprotein foszfatáz (PP)** enzim a PFK-2 kináz aktivitásán keresztül növeli a fruktóz-2,6-biszfoszfát szintjét, ezáltal serkentve a glikolízist és gátolva a glukoneogenezist. A harmadik irreverzibilis lépés a **piruvát kináz** reakció. Ennek **alloszterikus** szabályozásában az **ATP**, **acetyl-KoA**, **hosszú láncú zsírsavak** mellett az **alanin** gátló, míg a **fruktóz-1,6-biszfoszfát** serkentő hatással bír. A piruvát kináz májban előforduló izoformáját a glukagon hormon hatására aktiválódó **PKA** képes **kovalensen** is szabályozni: a foszforilált forma az enzim inaktív formája. A PKA-val ellentétes hatású, inzulin által aktivált **PP** defoszforilálva aktiválja a piruvát kinázt.



## 9. GLUKONEOGENEZIS

A glukoneogenezis a glukóz bioszintézise **laktát, glukoplasztikus aminosavak, glicerol** illetve **propionsav** prekursorokból kiindulva. A folyamat enzimei jórészt megegyeznek a glikolízis reverzibilis lépéseit katalizáló enzimeivel, ugyanakkor a három irreverzibilis glikolitikus lépésnél más enzimekre van szükség. A piruvát kináz reakció megfordított folyamatában a piruvát – foszfoenol piruvát (PEP) átalakulás két lépésben történik meg, míg a maradék két irreverzibilis kináz reakciót (hexokináz, PFK-1) a glukoneogenezis egy-egy foszfatáz enzimmel kerüli meg.

1. A **piruvát – oxálacetát** átalakulást a **mitokondriális piruvát karboxiláz** enzim katalizálja **ATP** felhasználásával és **biotin** kofaktoral.
2. Az oxálacetátot a mitokondriális és citoszolikus izoformával is rendelkező **foszfoenol-piruvát karboxikináz** alakítja tovább **foszfoenol-piruváttá** egy **GTP** hidrolízisének a terhére. Ha elegendő citoszolikus NADH áll rendelkezésre (a laktát dehidrogenáz enzim működése folytán) ez a lépés a mitokondriumban játszódik le és a keletkezett PEP hagyja el a mitokondriumot folytatva a glukoneogenezist a citoszolban. Ha azonban a citoszolikus NADH/NAD arány alacsony az oxálacetát a mitokondriumban előbb **maláttá** alakul (**mitokondriális malát dehidrogenáz**) majd a citoszolba transzportálódva újra **oxálacetáttá** (**citoszolikus malát dehidrogenáz**), ami aztán a **citoszolikus PEP karboxikináz** segítségével foszfoenol-piruváttá alakulva folytatja útját a glukoneogenezisben. A közbeiktatott két malát dehidrogenáz lépés lényege a mitokondriális NADH „kicsempészése” a citoszolba malát formájában (maga a NAD nem tud átjutni a mitokondrium membránján). Ennek a folyamatnak a jelentősége abban áll, hogy a későbbi gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz lépéshez redukált NAD-ra (NADH) van szükség, ami tehát vagy a laktát dehidrogenáz reakcióból vagy a mitokondriális NADH készletből származik.
3. A **fruktóz-1,6-biszfoszfát** átalakítását **fruktóz-6-foszfáttá** a **fruktóz-1,6-biszfoszfatáz** enzim katalizálja lehasítva az 1-es pozícióban lévő foszfátot (hidrolízis: **nincs ATP termelés!**). Ez a lépés a korábban tárgyalt módon a fruktóz-2,6-biszfoszfát által szabályozott.
4. Utolsó lépésként a **glukóz-6-foszfatáz** glukózt termel a maradék foszfát lehasításával (hidrolízis: **nincs ATP termelés!**). Ez az enzim –ellentétben a többi citoszolikus enzimmel – az **endoplazmatikus retikulum** membránjához kötött, aktív centrumával a lumen felé fordulva. A glukóz-6-foszfát egy transzporterrel keresztül (T1) jut a lumenbe, ahonnan aztán a glukóz (T2) és a foszfát is (T3) transzporterekkel keresztül kerül vissza a citoszolba. A glukóz ezek után **GLUT2** segítségével hagyja el a sejtet és lép be a véráramba. Mivel a glukóz-6-foszfatáz csak a májban található meg (kisebb jelentőséggel a vesében is) a szabad glukóz termelésében és ezen keresztül a vércukor szint növelésében ennek a szervnek kiemelkedő jelentősége van.

A glukóz szintézise energetikailag 2 piruvátból kiindulva **4 ATP** és **2 GTP** energiájának felhasználását igényli **2 NADH** oxidációja mellett.

A glukoneogenezishez szükséges szénváz a piruváton kívül jöhet a **Cori-cikluson** keresztül laktátból, az **alanin ciklus** segítségével alaninból. Előbbi a vörösvértestekből illetve az izomból, míg utóbbi elsősorban az izomból szállítja a szénvázat a májba. A lizin és a leucin kivételével az összes aminosav is képes glukózzá alakulni (**glukogénikus/glukoplasztikus** aminosavak) vagy közvetlenül piruváton keresztül vagy közvetetten a citrát kör valamelyik köztes termékén keresztül. Acetil-KoA-ból nem képződik piruvát így a zsírsavak lebontása nem szolgáltat prekuzort a glukóz szintéziséhez. Ugyanakkor, a trigliceridek **glicerol** része (a zsírsavak lehasadása után) három lépésben gliceraldehid-3-foszfáttá alakulhat és beléphet mind a glikolízisbe mind a glukoneogenezisbe; másrészt a páratlan szénatomszámú zsírsavak a béta oxidáció során **propionil-KoA**-vá bomlanak, ami szintén három lépésben szukcinil-KoA-vá alakulhat és belépve a citrát körbe oxálacetáton keresztül szolgáltatathat szénvázat a glukóz szintéziséhez.

A glukoneogenezis és a glikolízis összehangolt szabályozását (a fruktóz-2,6-biszfoszfáton keresztül) a glikolízis kapcsán már tárgyaltuk.

## 10. GLIKOGÉN METABOLIZMUS

A **glukóz-6-foszfát** (G6P) központi szerepet tölt be a sejtek szénhidrát metabolizmusában. Szerepét a glikolízisben és a glukoneogenezisben korábban már tárgyaltuk. Kiindulási molekula a pentóz foszfát útvonalhoz is, amiről a későbbiekben lesz majd szó. Mindezek mellett a glikogén metabolizmus alap molekulája is, mely folyamat részleteit most tárgyaljuk.

A **glikogén** a glukóz raktározott formája; két legfontosabb glikogén raktárunk a máj és a vázizom. A glikogénben történő raktározás előnye, hogy a benne tárolt glukóz gyorsan mobilizálható, hátránya, hogy a zsírsavakhoz képest nagyobb helyet igényel (adott térfogatnyi glikogén kevesebb energiát tárol, mint ugyanakkora térfogatnyi zsírsav). Szerkezetét tekintve a glikogén **1,4-kötéssel** kapcsolódó D-glukóz egységekből felépülő láncból és az ezeken a láncokon **1,6 kötéssel** kialakuló elágazási pontokból áll. Az elágazási pontok újabb láncok kialakulásának a kezdetét jelentik, ezáltal egy többszörösen elágazó, több ezer **nem redukáló** véget tartalmazó kb. 50 ezer glukózból álló molekula jön létre. Mivel mind a szintézis mind a lebontás a nem redukáló végeken zajlik, ezek nagy száma gyorsítja ezeket a folyamatokat, illetve növeli a glikogén vízdékonyságát is. A glikogén egyetlen redukáló vége (az első glukóz molekula redukáló OH- csoportja) a molekula belsejében a **glikogenin** nevű fehérjéhez kötve helyezkedik el. A májban és az izomban tárolt glikogén funkciója eltér egymástól, ennek megfelelően a szabályozásuk is különböző. A máj glikogén alapvetően a vércukorszint szabályozására, míg az izom glikogén az izommunka energia fedezetére használdik fel.

### 10.1. SZINTÉZIS

- 1-2. A kiindulási G6P először **glukóz-1-foszfáttá** alakul a **foszfofoglukomutáz** enzim segítségével, ami az **UDP-glukóz-pirofoszforiláz** enzim által egy UTP-hez kapcsolódva **UDP-glukózt** eredményez. A felszabaduló pirofoszfát az **anorganikus pirofoszfát** által azonnal anorganikus foszfátokra hasad, így ez a reakció esszenciálisan irreverzibilis. A keletkezett UDP-glukóz „kijelöli” a glukóz molekulát a glikogén szintézisre, ezáltal különböztetve meg a sejt glukóz készletében megtalálható többi glukóztól. Emellett az UDP kiváló aktiváló csoport, ami a következő reakcióban lehasadva kedvez a glukóz glikogén lánchoz való kapcsolódásának.
3. A **glikogén szintáz** az UDP-glukózt elhasítva a glukóz egységet hozzáadja egy már meglévő legalább 8 glukóz molekulát tartalmazó glikogén lánc nem redukáló végéhez. Ez a szintézis elkötelező lépése.
4. Az elágazások kialakításában az elágazást létrehozó vagy „**branching**” enzim vesz részt. Ez a **transzglykóziláz** (vagy glikozil transzferáz) enzim egy már legalább 11 glukózból álló lánc 7 glukóz által alkotott lánchrészét helyezi át az eredeti vagy egy másik láncre 1,6 kötést kialakítva. Ezzel a lépéssel egy újabb nem redukáló vég alakul ki.
5. A glikogén szintézis kezdő 8 glukóz egységét a **glikogenin** nevű fehérje kapcsolja össze. Ez az **autokatalitikus glikoziláló** enzim amellett, hogy elindítja a glikogén szintézisét mindvégig köti is az első glukóz redukáló végét a glikogén partikulum belsejében.

### 10.2. LEBONTÁS

1. A glikogén lebontás fő enzimje a **glikogén foszforiláz**. A reakcióban a glukóz foszforilálva válik le a glikogénlánc nem redukáló végéről és **glukóz-1-foszfát** keletkezik. Az enzim **piridoxál-foszfát (PLP)** kofaktorral működik. A glikogén foszforiláz a láncvégi glukózok hasítását az elágazási ponttól 4 glukóz molekuláig képes katalizálni, innen az elágazást megszüntető enzim veszi át a lebontás fonalát.

2. Az elágazást megszüntető vagy „**debranching**” enzim két enzimaktivitással rendelkezik: a **transzferáz** aktivitása áthelyezi az elágazó lánc 3 glukóznyi részét az egyenes lánc nem redukáló végére, egy glukózt meghagyva elágazásonként (az 1,6 kötést nem bontja!); a **glikozidáz** hidrolízissel távolítja el az egyetlen visszamaradó glukózt az elágazási pontból (1,6 glikozides kötés), így ez az egyetlen lépés a lebontás során, ahol szabad glukóz és nem glukóz-1-foszfát keletkezik.
3. A képződött glukóz-1-foszfátból **G6P** lesz a **foszfoglukomutáz** által katalizált reakcióban, amely vagy a glikolízisben alakul tovább (izom), vagy a **glukóz-6-foszfát** hatására glukózzá alakul (máj) és a keringésbe jut.

### 10.3. SZABÁLYOZÁS

A glikogén metabolizmus komplex hormonális és alloszterikus szabályozás alatt áll, amelynek kulcsenzimjei a **glikogén foszforiláz** és a **glikogén szintáz**. A **glukagon** és az **epinefrin** stimulálja a glikogén lebontást és gátolja a szintézist, míg az **inzulin** fordított hatású: serkenti a glikogén felépítést és gátolja a lebontást.

A glikogén foszforiláz foszforilált formája aktív, defoszforilált formája inaktív. A foszforilációt a **foszforiláz kináz**, a defoszforilációt a **foszfoprotein foszfátáz (PP)** enzimek végzik. Mindkét enzim hormonális szabályozás alatt áll. **Glukagon** (máj) vagy **epinefrin** (izom) hatására G-fehérjén keresztül aktiválódik a **cAMP** útvonal, ami **PKA** (cAMP-függő protein kináz A) aktiválódáshoz vezet. A PKA megfoszforilálja és aktiválja a **foszforiláz kinázt**, ami tovább aktiválja a **glikogén foszforilázt** így vezetve glikogén lebontáshoz. Ez az útvonal az izomban a glikogén foszforilázon keresztül **AMP** által; a foszforiláz kinázon keresztül **Ca<sup>++</sup>** által **alloszterikusan** is szabályozott. Mindkét esetben serkentő szabályozásról van szó, ami alacsony energia telítettséggel (AMP) vagy izom összehúzódással (**Ca<sup>++</sup>**) áll összefüggésben. Az itt vázolt hormonális szabályozás fontos velejárója a jelerősítés, ami egy glukagon hormon esetében 10 ezer szerez is lehet, azaz egy hormon receptorhoz való kötődése 10 ezer glukóz molekula vérbe jutását eredményezi. A glikogén foszforiláz a májban **glukóz szenzorként** működik, ugyanis a sejten belüli glukóz mennyisége képes az enzimet alloszterikusan szabályozni. A magas hepatocelluláris glukóz koncentráció – elősegítve a PP működését és ezáltal a glikogén foszforiláz defoszforilálását - inaktíválja az enzimet. A PP emellett inzulin hatására aktiválódva gátolja a glikogén lebontást, tehát a két ellentétes hormonális hatás (glukagon – inzulin) a glikogén foszforiláz foszforilálásán és defoszforilálásán keresztül képes szabályozni a glikogén lebontást.

A glikogén szintézis stimulálása alapvetően az **inzulin** jelátvitelhez köthető. Magas vércukorszint hatására az inzulin kapcsolódik a receptorához és aktiválja azt. Ez a  **tirozin kináz receptor** egyrésztől aktiválja az **inzulin-szenzitív protein kinázt**, ami tovább aktiválja a PP-t, ezáltal defoszforilálva és aktiválva a glikogén szintázt, illetve defoszforilálva és inaktíválva a glikogén foszforilázt. Másrésztől, az inzulin receptor a **protein kináz B-t** aktiválva (**PI-3K-on** és **PDK-n** keresztül) inaktíválja a **glikogén szintáz kináz (GSK)-3** at. Mivel a GSK3 egy gátló kináza a glikogén szintáznak, ennek az enzimnek az inaktíválása a glikogén szintáz aktiválását eredményezi. A GSK3 mellett a **PKA** is képes foszforilálni (inaktíválni) a glikogén szintázt, ami azt jelenti, hogy a PKA a glikogén foszforilázon keresztül a lebontást serkenti a glikogén szintázon keresztül pedig a felépítést gátolja. A hormonális szabályozás mellett a glikogén szintáz defoszforilálását a glukóz és a G6P alloszterikusan serkenti, ezáltal stimulálva a glikogén felépítést.

A PP további szabályozását teszi lehetővé izomban a **glikogén targeting** fehérje, ami inzulin hatására **egyszeresen foszforilált** állapotban aktiválja a PP-t, míg epinefrin (PKA) hatására **kétszeresen foszforilált** állapotban gátolja azt. Mivel a PP a glikogén metabolizmus kulcsenzimjeinek defoszforilálásán keresztül ellentétesen képes szabályozni a felépítést és a lebontást a glikogén targeting fehérje újabb példa a reciprok hormonális szabályozásra.

**Glikogén-tárolási betegségek**

- **von Gierke-kór:** glukóz-6-foszfátáz hiány –glikogén mennyisége megnő, mert glukóz nem tud foszforilálva kilépni a májsejtből
- **McArdle-kór:** nincs glikogén lebontás, mivel hiányzik a glikogén-foszforiláz. Elégtelen izommunka – nincs ATP utánpótlás
- **Andersen betegség:** nincsenek elágazások a glikogénben, nem alakulnak ki megfelelő glikogén-granulumok, nem tartható fenn a vércukorszint – halálos kórkép
- **Pompe-kór:** alfa-1,4-glukozidáz hiány – lizoszómában felszaporodó glikogén a károsodott lebontás következtében



## 11. PENTÓZ-FOSZFÁT ÚT

A glukóz lebontása nem csak a glikolízis irányában folyhat. Alternatív lebontó folyamat a glukóz direkt oxidációja (valójában nem a glukóz, hanem a glukóz-6-foszfát oxidálódik) vagy az úgynevezett pentóz-foszfát út. A pentóz-foszfát út során **NADPH** és **ribóz-5-foszfát** keletkezik glukóz-6-foszfátból. A folyamat a citoszolban játszódik le és két részre osztható: oxidatív és nem oxidatív szakaszra.

### 11.1. OXIDATÍV SZAKASZ

1. A pentóz-foszfát út első és egyben elkötelező lépése a glukóz-6-foszfát irreverzibilis átalakulása **6-foszfoglukono-delta-laktonná**. A **glukóz-6-foszfát dehidrogenáz** által katalizált reakcióban **NADPH** keletkezik.
2. A **laktonáz** reakcióban, az egyébként spontán módon is felnyíló, laktongyűrű felszakadása gyorsabban megy végbe miközben **6-foszfoglukonát** képződik.
3. A következő dehidrogenáz lépésben is **NADPH** keletkezik ám a **6-foszfoglukonát-dehidrogenáz** által katalizált reakció **oxidatív dekarboxilezés**, azaz **CO<sub>2</sub>** kilépése mellett öt szénatomos termék keletkezik: **ribulóz-5-foszfát**. Idáig tart a szoros értelemben vett oxidációs folyamat, melynek során **2NADPH** és **CO<sub>2</sub>** keletkezik.

A ribulóz-5-foszfát elágazási pont: **izomerizációval ribóz-5-foszfáttá** alakulhat (ketóz-aldóz átalakulás), ami a nukleotid bioszintézis kiindulási molekulája; **epimerizációval xilulóz-5-foszfáttá** alakulhat, ami a nem oxidatív szakasz első lépése.

### 11.2. NEM OXIDATÍV SZAKASZ

Reverzibilis lépések sorozata alakítja a ribulóz-5-foszfátot glukóz-6-foszfáttá fruktóz-6-foszfáton és gliceraldehid-3-foszfáton keresztül. A hexóz kialakulása nem CO<sub>2</sub> hozzáadásával történik meg (nincs karboxilezés), hanem **6 pentóz** szénvázának egymásba alakításával jön létre az **5 hexóz** molekula. Ezekben a szénváz-átrendező reakciókban van két kiemelt reakció típus: a **transzketoláz** és a **transzaldoláz** lépések. A transzketoláz reakcióban egy ketóz donorról helyeződik át a kétszénatomos „ketol” csoport egy aldóz akceptorra. A ketózból így aldóz, míg az aldózból ketóz lesz. A reakció kofaktora **TPP**. A nem oxidatív szakaszban két lépésben találkozunk ezzel a reakcióval: az elsőben xilulóz-5-foszfátból (5C) és ribóz-5-foszfátból (5C) gliceraldehid-3-foszfát (3C) és szedoheptulóz-7-foszfát (7C) jön létre, a másodikban xilulóz-5-foszfátból (5C) és eritróz-4-foszfátból (4C) gliceraldehid-3-foszfát (3C) és fruktóz-6-foszfát (6C) keletkezik. A transzaldoláz reakció hasonlóan zajlik le, de itt három szénatomos egységet mozgat az enzim egy ketózzal egy aldózra: szedoheptulóz-7-foszfátból (7C) és gliceraldehid-3-foszfátból (3C) eritróz-4-foszfát (4C) és szintén fruktóz-6-foszfát (6C) keletkezik. A további lépések eredményeképpen, amik jórészt megegyeznek a glukoneogenezis lépéseivel, kialakul a glukóz-6-foszfát és ezzel lezárul a nem oxidatív szakasz.

### 11.3. SZABÁLYOZÁS

A pentóz-foszfát út szabályozásának alapja a sejt aktuális **NADP/NADPH** aránya. Az útvonal első lépéséhez (glukóz-6-foszfát dehidrogenáz) szükséges oxidált NADP jelenléte dönti el a glukóz-6-foszfát sorsát. Gyorsan osztódó, növekedő sejtek, aktív bioszintetikus útvonalak mellett a NADP mennyisége megnő, alloszterikusan aktiválva a glukóz-6-foszfát dehidrogenázt. Amikor a sejt NADPH igénye és ezzel együtt a NADP mennyisége csökken vagy a NADPH termelés gyorsabb, mint annak fogyasztása a bioszintetikus folyamatokban és a glutation redukciójában, a pentóz-foszfát útvonal gátlódik. Ilyenkor a megemelkedett NADPH koncentráció a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz gátlásán keresztül a glukóz-6-foszfátot a pentóz-foszfát út helyett a glikolízisbe tereli.

A pentóz-foszfát út jelentősége kettős: egyrészt a NADPH termelés, másrészt a pentóz-foszfát szintézise.

A NADPH szerepét a sejtek antioxidáns rendszerében, közelebbről a **glutation** visszaredukálásában (glutation-reduktáz reakció) korábban már tárgyaltuk. A glutation ugyanakkor, az ismert antioxidáns kapacitása mellett, fontos szerepet játszik a **fázis II. detoxifikációs** folyamatokban is. Különböző xenobiotikumokkal alkothat konjugátumot elősegítve ezzel azok kiürülését a szervezetből. A detoxifikáció folyamatában a pentóz-foszfát út által termelt NADPH-nak is fontos szerepe van. A **citokróm P450 monooxygenáz** rendszer működéséhez NADPH szolgáltatja a redukáló erőt. E folyamat részleteit a későbbiekben fogjuk tárgyalni. A NADPH emellett számos bioszintetikus folyamat redukációs lépéséhez is elengedhetetlen, ilyen folyamatok pl. a zsírsavak, koleszterin, szteroidok szintézise.

A ribóz-5-foszfát, illetve származékai nélkülözhetetlenek a nukleotidok és nukleinsavak szintézisében. Mind a purin mind a pirimidin bázisok kialakulásánál a kiindulási vegyület az **5-foszforibozil-1-pirofoszfát (PRPP)**, ami a **PRPP szintetáz** lépésben keletkezik ribóz-5-foszfát foszforilálásával.

A NADPH és a pentóz-foszfát termelés igénye azonban nem mindig esik egybe a sejten belül. Ennek megfelelően a reakcióút különböző módon működhet a mindenkori metabolikus állapothoz igazodva.

1. **Pentóz-foszfátra van igény.** Gyorsan osztódó sejtekben a nukleotid (DNS, RNS) bioszintézishez nagy mennyiségű pentóz-foszfátra van szükség ugyanakkor a NADPH igény alacsony. Ilyenkor a magas NADPH koncentráció a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz gátlásán keresztül gátolja az oxidatív szakaszt, míg a nem oxidatív szakasz a glikolízisben megtermelt fruktóz-6-foszfátból és gliceraldehid-3-foszfátból pentóz-foszfátot termel a sejt számára.
2. **Pentóz-foszfátra és NADPH-ra is igény van.** Ilyen esetben az oxidatív szakasz aktív és a nem oxidatív szakasz inaktív. Az útvonal két NADPH-t produkál miközben egy hexóz-foszfát pentóz-foszfáttá alakul. Mivel mindkét termékre szükség van a nem oxidatív szakasz szénváz visszaalakítása fölösleges.
3. **NADPH-ra van igény.** Ebben az esetben valóban megtörténik a glukóz direkt oxidációja. Mind az oxidatív mind a nem oxidatív szakasz működik és a keletkezett pentóz-foszfátok visszaalakulnak glukóz-6-foszfáttá. Hat ciklus alatt a glukóz valamennyi szénatomja CO<sub>2</sub>-vé oxidálódik miközben 12 molekula NADPH keletkezik.
4. **NADPH-ra és ATP-re van igény.** Az oxidatív szakaszban megtermelt NADPH mellett a keletkezett ribóz-5-foszfát fruktóz-6-foszfáton és gliceraldehid-3-foszfáton keresztül belép a glikolízisbe. A glikolízisben megtermelt ATP-k mellett a piruvát további oxidációja szolgáltat még energiát a piruvát-dehidrogenáz-komplexen és a citrátkör enzimein keresztül.

A glukóz-6-foszfát dehidrogenáz enzim hiánya vagy csökkent működése az egyike a legtöbb embert érintő enzimdefektusoknak. Fő tünete a hemolitikus anémia, ami gyakran együtt jár a vörösvértestekben megjelenő denaturálódott és egymáshoz csapódott hemoglobin molekulák az úgynevezett **Heinz-testek** megjelenésével. A vörösvértestek különösen érzékenyek a pentóz-foszfát út zavarára mivel ezekben a sejtekben a NADPH elsősorban a redukált glutation szint fenntartásához kell. Fokozott oxidáns hatásra bekövetkező fokozott glutation oxidáció a válasz, ami intenzív NADPH oxidációval jár együtt. Mivel a pentóz-foszfát út nem képes ezt a fokozott NADPH igényt kielégíteni a sejt oxidatív stressz elleni védekező rendszere sérül. Ez a kórkép azonban jelentős szelekciós előnnyel ruházta fel a **maláriával** fertőzött területen élőket, mert a betegség kórokozója a Plasmodium falciparum szaporodásának a megemelkedett oxidatív stressz nem kedvez. Szintén a pentóz-foszfát úthoz kapcsolható a **Wernicke-Korsakoff-szindróma**, ami a tiamin és ezen keresztül a TPP hiányára vezethető vissza. A betegség B-vitamin hiány illetve a transzketoláz enzim genetikai defektusa esetén manifesztálódik, leginkább krónikusan alultáplált vagy alkoholista betegek esetében.



## 12. KOMPLEX POLISZACHARIDOK METABOLIZMUSA

A molekulák glikozilációja történhet fehérjéken (poszttranszlációsan) - **glikoproteinek**, vagy lipideken – **glikolipidek**. A **poliszacharid komplex** az építő egységek nagyszámú variációját tartalmazza, akárcsak a monoszacharidok közötti kötés típusok. Ezek a komplex poliszacharidok *szokatlan cukrokat* illetve *cukorszármazékokat* is tartalmaznak (lásd előadásanyagot). Mindezek a tényezők együttesen *nagyszámú strukturális variációra* adnak lehetőséget a hozzájuk kapcsolódó specifikus élettani funkciókkal együtt: sejtfelszíni receptorok, sejt-sejt interakciók, patogének megtapadása a sejtfelszínen, endocitózis, jelátvitel – hogy csak néhányat említsünk. Ezen poliszacharidok bioszintézisében specifikus **glikoziltranszferázok** vesznek részt, amelyek szubsztrátja a cukrok nukleotid származékai. A poliszacharidok lebontásában **glikozidázok** vesznek részt, amelyek az adott glikozidos kötéstípust specifikusan hidrolizálják.

Glukózból számos különböző cukor szintetizálható. Ezen ú.n. **interkonvertáló** (egymásba átalakító) reakciókba minden cukor ATP általi foszforilációval lép be. Ezt követően izomerizáció, foszforiláció, oxido-redukció, dekarboxiláció és traszamidálás (glutamin) révén szintetizálódnak a cukor származékok (derivátumok). Ezek különböző **nukleotidokhoz** (UTP, GTP, TTP) kötődnek, amely egyrészt azt jelenti, hogy a szintetikus reakciókhoz aktiválódnak, másrészt „megjelölődnek”, hogy nem energiatermelésre fordítódnak. Valamennyi szintetikus útvonal a végtermék által negatív visszacsatolási (feedback) kontroll alatt áll.

A **nukleotidhoz kapcsolt cukrok** pirofoszforiláz enzimek termékei (pl. UDP-glukóz pirofoszforiláz). A reakcióban képződő pirofoszfát a pirofoszfatáz által gyorsan hidrolizálódik, így válik az első reakció energetikailag kedvezővé. A *glukuronsav*, egy fontos intermedier képződését az UDP-glukóz dehidrogenáz katalizálja (lásd előadásanyagot). Számos exogén (gyógyszerek, mérgek) és endogén (bilirubin) anyag konjugálódik glukuronsavval a kiválasztást segítő.

A poliszacharidok egyik típusa a **glükozaminoglikánok (GAG)**, amelyek ismétlődő diszacharid egységekből épülnek fel, számos hordoz közöttük negatív töltésű (szulfát, karboxil) csoportot (lásd részletesen a Szénhidrátok szerkezete fejezetben). A **proteoglikánok** olyan komplex molekulák, amelyekben egy fehérje maghoz GAG láncok kapcsolódnak, és amelyekben a fehérje rész mennyiségileg kisebb, mint a szénhidrát rész.

A **proteoglikánok szintézisé**t a kondroitinszulfát példáján mutatjuk be. Először a polipeptid lánc szintetizálódik, amelyhez az aktivált (UDP-kötött) monoszacharidok egymás után kapcsolódnak. Néhány cukor egység hozzáadását követően a megfelelő diszacharid egységek kapcsolódnak ismétlődően, miközben a szükséges szulfatálási reakciók lejátszódnak a PAPS (3'-foszfoadenozin 5'-foszfoszulfát) mint szulfát csoport donor és a szulfotranszferáz enzimek segítségével.

A **glikoproteinek** az endoplazmás retikulumban (ER) és a Golgi rendszerben történő poszttranszlációs fehérjemódosítások eredményei. Ezek a hozzáadott poliszacharid egységek rövidebbek, mint a proteoglikánok esetében. A fehérjékhez *N*-kapcsolt (aszparagin oldallánchoz) vagy *O*-kapcsolt (szerin, treonin, 5-OH lizin) glikozidos kötésként jelennek meg, szimpla (*O*-kapcsolt) vagy komplex típus formájában. Az *N*-kapcsolt poliszacharidoknak két fő típusa van: nagy mannóz tartalmú és komplex. Mindkettőben találunk egy pentaszacharid magot, a további módosítások az ER-ban és a Golgi apparátusban történnek. Az *O*-kapcsolt módosulások színtere csak az ER.

Az *N*-kapcsolt poliszacharid komplex **szintézise** az ER membránjában található *dolikol foszfáttal* kezdődik. A mag oligoszacharid egység annak elkészülte után az egész komplex az ER lumenébe fordul. A többi cukoregység dolikol foszfát által aktivált formában kapcsolódik. Az oligoszacharid komplex ezután a fogadó polipeptid lánc megfelelő aszparaginjéhez kapcsolódik. A glikoprotein *érése* és *minőségi ellenőrzése* során az ER-ból való továbbjutás előtt a cukoregységek még változásokon esnek át (részletek lásd a molekuláris biológiában és az előadás anyagban). Számos *antibiotikum* létezik, amelyek az oligoszacharid szintézis valamely specifikus lépésével lépnek interakcióba.

A komplex poliszacharid szintézisnek ismertek enzimdefektusai, szerteágazó klinikai képet mutatva.

A glikolipidek, glikoproteinek, proteoglikánok részben közös enzimek (glikozidázok, deacetilázok, szulfatázok) révén **bomlanak le**. Egy adott lizoszomális enzim hiánya felelős ezeknek a glikozilált molekuláknak a hiányos lebontásáért, aminek eredményeként az eredeti molekula vagy annak részlegesen lebomlott származéka fog a lizoszómákban **felhalmozódni**. Ezen **raktározási betegségeknek** egyik csoportját alkotják a mukopoliszacharidózisok, amelyek a proteoglikánok lebomlási zavarai. Ritka betegség az I-sejt betegség, amelyben a lizoszómák nem tartalmaznak funkcionális degradatív (lebontó) enzimet. Ennek hátterében a lizoszomális enzimekhez targeting szekvenciaként hozzáadandó mannóz-6 foszfát szintézisének enzimatis blockkja áll. Az enzimek megszintetizálódnak, megtalálhatók a vérben és a vizeletben, de nem tudnak a lizoszómákban eljutni.

## 13. A PIRUVÁT SORSA

1. A glikolízisben keletkezett piruvát *anaerob* körülmények között **etanollá** alakulhat (alkoholos erjedés). Első lépésként a piruvátot a **piruvát dekarboxiláz** enzim **acetaldehiddé** alakítja, majd az **alkohol dehidrogenáz etanollá**. Az első reakcióban történik meg a dekarboxilezés (**TPP** a kofaktor) a másodikban a redukció miközben NADH oxidálódik **NAD**-dá. A folyamat lényege a NADH visszaoxidálása és ezáltal az *anaerob* glikolízis fenntartása.
2. Szintén *anaerob* körülmények között a piruvát **laktáttá** is alakulhat a **laktát dehidrogenáz (LDH)** enzim segítségével (tejsavas erjedés). A reakció lényege itt is a NADH oxidálása és ezáltal a glikolízishez szükséges **NAD** folyamatos újratermelése. A leginkább az **izomban** és **vörösvértestekben** lezajló folyamat eredményeképpen keletkező laktát a májba szállítódva alakul vissza piruváttá szintén a laktát dehidrogenáz segítségével. A piruvát ezután a glukoneogenezis enzimjei segítségével glukózzá alakul és visszajutva az izomba energiát szolgáltat. Ezt a ciklust hívjuk **Cori-ciklusnak**. A laktát dehidrogenáz enzim négy alegységből épül fel. Ezek az alegységek két különböző gén termékei (M és H) lehetnek és ennek megfelelően öt különböző alegység szerkezettel rendelkező laktát dehidrogenáz **izoenzim** ismert. Ezek az izoenzimek szöveti előfordulásukban és a szubsztráthoz való affinitásukban térnek el egymástól.
3. A Cori-ciklushoz hasonlóan a piruvát szénváza **alaninként** is eljuthat az izomból a májba. Ez a folyamat az **alanin ciklus**. Ebben az esetben a piruvát **transzaminálással** alakul alaninná az izomban, ami a májban a fordított reakció során újra piruvátot és ammóniumot szolgáltat. Előbbi a glukoneogenezisbe lépve glukózzá alakul, míg utóbbi az urea cikluson keresztül ureává.
4. Az *aerob* glikolízis során képződő piruvát a piruvát transzporterén keresztül jut be a mitokondrium mátrixába, ahol a **piruvát dehidrogenáz komplex (PDC) oxidatív dekarboxilezés** során **acetyl koenzim A**-vá alakítja. A reakció során **NADH** (ezért oxidatív) és **CO<sub>2</sub>** (ezért dekarboxilezés) keletkezik és a reakcióhoz öt kofaktorra van szükség: **koenzim A, NAD, FAD, TPP, liponsav**. A PDC egy három enzimből álló komplex: **piruvát-dehidrogenáz (E1), dihidrolipoid-transzacetiláz (E2), dihidrolipoid-dehidrogenáz (E3)**.

### Reakciólépések:

E1: prosztetikus csoportja a **TPP**, aminek negatív töltésű szénatomja támadja a piruvát alfa szénatomját, ezáltal a piruvát a karboxilcsoportját elveszíti és létrejön a hidroxietil-tiamin-pirofoszfát: **DEKARBOXILÁCIÓ**. Ez a lépés a leglassabb ezért az egész reakció sebességét ez határozza meg.

E2: prosztetikus csoportja a **liponsav**, ami hosszú karként helyezi át az acetyl csoportot a KoA-ra létrehozva az acetyl-KoA-t, miközben szubsztrátját (hidroxietil-tiamin-pirofoszfát) oxidálja, egy tiol csoportja pedig redukálódik: **OXIDÁCIÓ**.

E3: a dihidroliponsav hidrogénjei **FAD**-ra majd onnan **NAD**-ra kerülnek

A PDC által katalizált reakció **irreverzibilis!** Nincs olyan folyamat, amely az acetyl-KoA-t piruváttá alakítja!

### 13.1. A PDC SZABÁLYOZÁSA

Az enzim komplex alloszterikus és kovalens szabályozás alatt áll. **Alloszterikusan** az E1 a sejt energia töltöttségét jelző **AMP/ATP** arány, az E2 a reakció szubsztrát-termék szintű **KoA/acetyl-KoA** arány, az E3 a sejt redox állapotát jelző **NAD/NADH** arány által szabályozott. A **kovalens** szabályozás alapja az E1 enzim foszforilálása (inaktív) és defoszforilálása (aktív). Előbbit a **PDH kináz** katalizálja,

ami szintén allosztétikus szabályozás alatt áll: a **NADH** és az **acetyl-KoA** serkenti, míg a **piruvát** és az **ADP** gátolja. Az E1 defoszforilálását a **PDH foszfatáz** katalizálja, amit viszont a hormon mediált **Ca<sup>++</sup>**, mint másodlagos hírvivő stimulál. Összefoglalva elmondható, hogy mindazok a folyamatok, amik a sejtet energia termelésre ösztönzik stimulálják a PDC-t, míg az energia töltöttséget jelző szignálok gátolják azt, meghatározva ezzel a piruvát-acetyl-KoA átalakulás és ezen keresztül a citrát kör és az ahhoz kapcsolódó folyamatok sebességét.

## 14. CITRÁTKÖR

Az acetil-KoA oxidációja a **mitokondriumban** zajlik a citrátkör enzimeivel. A folyamat során **két CO<sub>2</sub>** molekula válik szabaddá miközben **4 redukált koenzim** (3 NADH, 1 FADH) és **1 GTP** keletkezik. A citrátkör köztitermékei más biomolekulák lebontási folyamataiban is képződnek, illetve prekuzorként szolgálnak különböző szintetikus útvonalakhoz, azaz ez a folyamat az anyagcsere gyűjtőmedencéjének tekinthető.

A citrátkör felfedezésében jelentős szerepet játszott **Szent-Györgyi Albert**. Alapvető felfedezése, hogy a szukcinátnak, fumarátnak, malátnak vagy oxálacetátnak izomkivonathoz adása sokkal nagyobb oxigénfelvételt eredményez, mint a hozzáadott sav mennyiségéből számítható. Ez csak úgy értelmezhető, hogy a hozzáadott sav valamilyen módon más molekulák oxidációját is lehetővé teszi. További részletek felderítése után Hans Krebs ismerte fel a reakciók körfolyamatba rendeződését (Szent-Györgyi–Krebs-ciklus).

1. A ciklust beindító lépés az **acetil-KoA** acetyl csoportjának reagálása az **oxálacetát** karbonil szénatomjával. A hidrolízissel leszakadó KoA mellett **citrát** keletkezik. Ennek az **irreverzibilis** lépésnek az enzime a **citrát-szintáz**.
2. Az **akonitáz** enzim egy OH csoport áthelyezésével citrátból reverzibilisen **izocitrátot** hoz létre. A reakció során végbemenő dehidráls-hidráls lépésekben az enzim FeS-központja is részt vesz.
3. Az **izocitrát-dehidrogenáz** által katalizált lépésben **oxidatív dekarboxilezés** történik: **CO<sub>2</sub>** kilépése mellett **NADH** és **alfa-ketoglutarát** keletkezik.
4. A következő szintén egy **oxidatív dekarboxilezéses** lépés. Az **alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplex** által katalizált reakcióban **CO<sub>2</sub>** kilépése mellett **NADH** és **szukcinil-KoA** keletkezik. Mindkét reakció **irreverzibilis**. Az alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplex ugyan úgy 3 egységből áll, mint a piruvát dehidrogenáz komplex és működéséhez is ugyanaz az 5 kofaktor szükséges: **NAD, FAD, KoA, TPP, liponsav**.
5. A **szukcinil-KoA szintetáz** által katalizált reverzibilis lépésben a makroerg tioészter kötés hasítása elég energiát biztosít egy GDP – GTP átalakuláshoz. A **szubsztrát szintű foszforilációval** keletkezett **GTP** egyenértékű egy ATP-vel.
6. A keletkezett szukcinát a citrátkör egyetlen membránhoz kötött enzime által katalizált lépésben **fumaráttá** alakul, miközben **FADH<sub>2</sub>** keletkezik. A **szukcinát-dehidrogenáz** enzim több FeS-központot tartalmazó flavoprotein és része a belső membránban elhelyezkedő légzési lánc II. komplexének. A keletkezett FADH<sub>2</sub> elektronjai az **ubikinont** redukálva lépnek be a légzési láncba.
7. A **fumaráz** enzim a fumarát malát reverzibilis átalakulást katalizálja víz belépése mellett. Az enzim sztereospecifikus: mindig **L-malát** keletkezik.
8. A ciklus záró lépése a **malát-dehidrogenáz** lépés, melyben reverzibilisen **oxálacetát** én **NADH** keletkezik. Mivel az oxálacetát koncentrációja a mitokondriumban igen alacsony a maláté pedig magas a reakció az oxálacetát képződésének irányába van eltolódva. Szükséges még hozzá a **[NADH]:[NAD]** arány megfelelően alacsony értéke: ezt a légzés által oxidált NADH tartja fent, ennek hiányában a ciklus szabályozás nélkül is leáll.

### 14.1. SZABÁLYOZÁS

A citrátkör szabályozása az energetikai viszonyok figyelembe vételével történik. A fő szabályozási pontok a ciklust bevezető és a ciklusban megtalálható **irreverzibilis** reakciók (**piruvát-dehidrogenáz komplex, citrát-szintáz, izocitrát-dehidrogenáz, alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplex**) illetve az oxálacetát koncentrációjának változtatása. A **NADH/NAD** valamint az **ATP/ADP** arány a ciklus legfontosabb kontrollja. Előbbi befolyásolja a malát-oxálacetát átalakulást és allostérikusan gátolja a PDC mellett a három irreverzibilis lépést. Utóbbi gátolja a PDC-t, a citrát szintázt és az izocitrát-

dehidrogenázt. A **szukcinil-KoA** is gátolja a citrát szintázt és az alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplexet, míg a **Ca<sup>2+</sup>** az izom összehúzódás (és az energia igény) jeleként aktiválja a PDC-t, az izocitrát-dehidrogenázt és az alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplexet. A szabályozás másik fontos szempontja az **oxálacetát koncentrációjának** alakulása. A ciklust feltöltő (**anaplerotikus**) reakciók emelik, illetve biztosítják az oxálacetát mennyiségét és ezáltal a citrátkör folyamatos működését.

A legfontosabb **anaplerotikus** reakció a piruvát oxálacetát átalakulás, amit a **piruvát-karboxiláz** enzim katalizál **biotin** kofaktor és **ATP** felhasználásával. A keletkezett oxálacetát a citrátkör mellett a májban és a vesében a glukoneogenezist is táplálhatja. További feltöltő reakció a **foszfoenol piruvát karboxikináz** (alacsonyabb rendűekben karboxiláz), ami GTP termelés mellett ad oxálacetátot a citrátkörnek. A **malát enzim** a piruvát malát átalakulást katalizálja, ahol a képződött malát egy lépésben tovább tud alakulni oxálacetáttá. Ez a reverzibilis reakció azért is fontos mert visszafelé lejátszódva **NADPH** keletkezik a malát redukálása során, ami a bioszintetikus folyamatok redukáló igényét elégíti ki vagy hozzájárul a glutation antioxidáns kapacitásának fenntartásához. A fentiekén kívül **transzaminálási** reakciókban aminosavakból is képződhetnek citrátköri ketosav intermedierek; úgy mint alfa-ketoglutarát glutamátból vagy oxálacetát aszpartátból. Végül az anaplerotikus reakciók közé sorolható a **glutamát oxidatív dezaminálása** is (alfa-ketoglutaráttá), amit a **glutamát-dehidrogenáz** katalizál.

## 15. A CITRÁTKÖRHÖZ KAPCSOLÓDÓ TRANSZPORT FOLYAMATOK

Mivel a mitokondrium belső membránja gyakorlatilag átjárhatatlan, a biokémiai folyamatokban résztvevő molekulák szállítását a citoszol és a mitokondriális mátrix között speciális transzport folyamatok teszik lehetővé.

1. A terminális oxidáció során képződő ATP szintéziséhez ADP-t és foszfátot kell be-, illetve a kész ATP-t kiszállítani a mitokondriumból. Az ADP/ATP cserét az **adenin nukleotid transzlokáz** végzi, a foszfát transzferjét pedig a **foszfát transzlokáz**. Előbbi egy antiporter (ellentétes irányban szállítja a két szubsztrátot), utóbbi egy szimporter, ami **H<sup>+</sup> transzporttal** köti össze a foszfát mátrixba szállítását.
2. A citoszolikus NADH transzportja a mitokondriumba I. A **glicerín foszfát dehidrogenáz inga**:

A **glicerín foszfát dehidrogenáz** mind a citoszolban mind a mitokondrium belső membránjának külső felszínén megtalálható enzim, ami a glicerín-3-foszfát – dihidroxiaceton foszfát átalakulást katalizálja. A **citoszolikus** izoforma **NAD** koenzimmel működik és miközben a dihidroxiaceton foszfátot redukálja glicerín-3-foszfáttá, a glikolízisben megtermelt NADH NAD-dá oxidálódik. A **mitokondriális** izoforma aztán az ellentétes irányú reakciót katalizálva az elektronokat **FAD**-ra viszi át, amik onnan a légzési lánc **ubikinonjára (Q)** kerülnek. Ez a leginkább **izomban** és **agyban** működő inga, a citoszolikus NADH elektronjait az ubikinonon keresztül a légzési lánc III-as komplexére juttatja (tehát kikerüli a proton pumpa aktivitással rendelkező I-es komplexet), ezáltal **1,5 P/O** arányt hozva létre. Ez azt jelenti, hogy a foszforiláció (ATP képződés) ilyen mértékben aránylik az oxidációhoz (NADH → NAD), azaz 1,5 ATP keletkezik 1 NADH oxidációja során.

3. A citoszolikus NADH transzportja a mitokondriumba II. A **malát-aszpartát inga**:

A **májban, vesében, szívben** termelődött citoszolikus NADH elektronjai ezen az ingán keresztül jutnak a légzési láncba. A ciklikus folyamat első lépéseként a **citoszolikus malát-dehidrogenáz** a NADH segítségével maláttá redukálja az oxálacetátot, ami a malát - alfa-ketoglutarát transzporterén keresztül átjut a mitokondrium belső membránján a mátrixba. Ott a **mitokondriális malát-dehidrogenáz** visszaoxidálja oxálacetáttá miközben **NADH** keletkezik. Az elektronok tehát már bejutottak a mátrixba, a ciklus további részében a szállító szénvázat kell visszavinni a citoszolba. Ehhez az oxálacetát egy **transzaminálási** lépésben először aszpartáttá alakul, ami a glutamát – aszpartát transzporterén keresztül hagyja el a mitokondriumot és a citoszolban a fordított irányú transzaminálással újra oxálacetáttá alakul. A transzaminálási reakciókhoz szükséges partnerek (glutamát, alfa-ketoglutarát) az említett két transzporterén keresztül szállítódnak a belső membrán két oldala között. Mivel a citoszolikus NADH elektronjai ezen az úton a légzési lánc I-es komplexére kerülnek, ez az inga magasabb P/O hányadost produkál: egy NADH oxidálása 2,5 ATP szintézisét teszi lehetővé (**P/O = 2,5**). Vegyük észre, hogy mindkét inga esetében csak az elektronok szállításáról van szó! Maga a NAD(H) molekula nem tud átjutni a mitokondrium belső membránján, így a mitokondriális és a citoszolikus NAD készlet egymással nincs direkt kapcsolatban.

4. A 14 szénatomnál hosszabb **aktivált zsírsavak (acil-KoA)** mitokondriumba szállítását (ott játszódik le a béta-oxidáció) a **karnitin-aciltranszferáz inga** végzi. Mivel a mitokondrium belső membránja a KoA molekulára nem átjárható, a zsírsavak a **karnitin** alkoholos OH csoportjához kapcsolódva (**acil-karnitin**) jutnak be a mátrixba. Ott az acil-karnitin visszaalakul acil-KoA-vá mitokondriális KoA felhasználásával. A felszabaduló karnitin visszajut a

citoszolba, ahol újabb aktivált zsírsav KoA csoportját helyettesítheti, folytatva ezzel a transzport folyamatot. Hasonlóan a korábban említett NAD(H)-hoz, a KoA molekula esetében is két elkülönített készletről beszélhetünk (mitokondriális és citoszolikus), amik a mitokondrium belső membránja által vannak elválasztva egymástól.

5. A citoszolban lejátszódó zsírsav szintézishez az **acetyl csoportok** a mitokondriumból érkeznek. Mind a cukrok, mind a fehérjék lebontásából származó acetyl-KoA a mitokondrium mátrixában keletkezik, ám a belső membrán az acetyl-KoA számára átjárhatatlan. A szállítást a membránon keresztül a **citrát** végzi. A citrát-szintáz által képződött citrát a **citrát transzporter**en keresztül hagyja el a mitokondriumot, majd a citoszolban az **ATP-citrát-liáz** enzim hatására citoplazmatikus KoA felhasználásával acetyl-KoA és oxálacetát keletkezik. Az oxálacetát maláttá alakul, ami a malát-aszpartát ingánál ismertetett úton vissza tud jutni a mitokondriumba. Ugyanakkor, ha a malát a citoszolban előbb piruváttá alakul a **malát-enzim** közreműködésével, a reakció során képződött **NADPH** redukáló koenzimként hozzá tud járulni a zsírsav szintézishez. A piruvát ebben az esetben a piruvát transzporterén keresztül jut be a mitokondriumba, ahol a piruvát-karboxiláz hatására oxálacetáttá alakul befejezve ezt a ciklikus transzport folyamatot. Azt hogy a citrát a citrátkörben alakul-e tovább vagy a zsírsav szintézishez szállít acetyl csoportot a citoszolba, a sejt energia telítettsége határozza meg. A citrátköri **izocitrát-dehidrogenáz** enzimet a magas **ATP** koncentráció gátolja, ami megteremti a lehetőségét az energia zsírsav formájában történő raktározására.



## 16. TERMINÁLIS OXIDÁCIÓ

A lebontó folyamatok során képződött **redukált koenzimek (NADH, FADH)** visszaoxidálása a terminális oxidáció (elektrontranszport lánc, oxidatív foszforiláció) folyamatában megy végbe. A végső elektron akceptor az  $O_2$ , ami a folyamatban vízzé redukálódik. A terminális oxidáció helye a mitokondrium belső membránja. A belső membránba ágyazott enzim komplexek (komplex I, II, III, IV.) mellett a membránban (ubikinon, Q) illetve a két membrán közötti térben (citokróm C) szabadon mozgó komponensek vesznek részt az elektronok szállításában. A komplexekhez kapcsolódó fémtartalmú proszтетikus csoportok szintén fontos szerepet játszanak az elektronok transzferjében. Ilyenek a (1) **citokrómok**, amelyek proszтетikus csoportként **hemet** tartalmaznak; a (2) **vas-kén komplex** proszтетikus csoportok; és (3) végül egyes komplexek **rézionokat** tartalmaznak. Az elektron donoroktól (NADH, FADH) érkező elektronok a légzési láncon végighaladva elegendő energiát szabadítanak fel protonok a mátrixból az intermembrán térbe való kipumpálásához. Az így létrejövő **elektrokémiai gradiens**, azaz a **proton motoros erő**, szolgáltatja végső soron az energiát az ATP szintéziséhez. Mivel az ADP foszforilálása ATP-vé össze van kapcsolva a koenzimek oxidációjával a folyamatot **oxidatív foszforilációnak** hívjuk.

### 1. Komplex I. (NADH dehidrogenáz; NADH-ubikinon-oxidoreduktáz)

A komplex I. által katalizált két reakció: (1)  $NADH^+ + H^+ + Q \rightarrow NAD^+ + QH_2$ ; (2)  $4H^+_N \rightarrow 4H^+_P$ , ahol az N és a P a belső membrán negatív (belső) és pozitív (külső) oldalát jelöli. Összesítve tehát:  $NADH^+ + 5H^+_N + Q \rightarrow NAD^+ + QH_2 + 4H^+_P$ . A mitokondriális NADH-ról érkező elektronok a komplex I. közvetítésével flavoprotein és vas-kén központok segítségével érik el az ubikinont, miközben 4 proton pumpálódik ki a két membrán közötti térbe. A komplex I. specifikus inhibitorai a **rotenon**, az **amitál** és a **piericidin A**.

### 2. Komplex II. (szukcinát dehidrogenáz)

A citrátkörben megismert, membránhoz kötött szukcinát dehidrogenáz, szintén vas-kén központok közreműködésével juttatja a szukcinátról az elektronokat FAD-on keresztül az ubikinonra. Mivel a komplex II. a belső membránba ágyazott, de nem transzmembrán fehérje, **protonpumpa aktivitása nincs**, így közvetlenül nem járul hozzá a protongradiens kialakításához.

Az **ubikinon** központi szerepet játszik az elektronok „begyűjtésében”. A már tárgyalt **komplex I.** és **II.** mellett az ubikinonra kerülnek az elektronok a **glicerín-3-foszfát dehidrogenáz ingáról** (citoszolikus NADH) és az **elektron transzport flavoproteinről** is. Ez utóbbi a zsírsavak béta-oxidációjában keletkezett FADH (acil-KoA-dehidrogenáz lépés) elektronjait adja az ubikinonnak.

### 3. Komplex III. (ubikinon-citokróm C-oxidoreduktáz)

A komplex III. citokrómok és vas-kén fehérjék segítségével szállítja az elektronokat a redukált ubikinonról ( $QH_2$ ) a két membrán közötti térben lévő **citokróm C** fehérjére. Mivel az ubikinon két elektront képes leadni a citokróm C viszont csak egyet tud felvenni, egy ubikinon teljes oxidációjához két citokróm C redukciója kell. A komplex III. által katalizált oxidálás/redukálás során 4 proton pumpálódik az intermembrán térbe. A folyamat nettó egyenlete:  $QH_2 + 2 \text{ cit c (oxidált)} + 2H^+_N \rightarrow Q + 2 \text{ cit c (redukált)} + 4H^+_P$ . A komplex III. specifikus inhibitorai az **antimicin A** és a **mixotiazol**.

### 4. Komplex IV. (citokróm oxidáz)

A negyedik komplexben történik meg az oxigén redukciója vízzé a citokróm C-ről érkező elektronok segítségével. Ez a szintén protonpumpa aktivitással rendelkező komplex kritikus szerepet játszik, mivel a részlegesen redukált oxigénszármazékok szabaddá válása,

azaz reaktív szabadgyökök keletkezése súlyos veszélyeket jelent a sejt számára. Ezért az oxigén redukciója pontosan koordinált folyamat. A citokróm oxidáz négy elektron átvitelét katalizálja négy citokróm C redukálása közben. A négy elektron szállításában négy fém vesz részt: két vas és két réz ion. Az összesített reakció:  $4 \text{ cit c (red.)} + 8\text{H}^+_N + \text{O}_2 \rightarrow 4 \text{ cit c (ox.)} + 4 \text{H}^+_P + 2\text{H}_2\text{O}$ . A komplex IV. specifikus inhibitorai a **CN** és a **CO**.

A teljes elektron transzport lánc nettó egyenlete:  $\text{NADH} + 11\text{H}^+_N + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} + 10\text{H}^+_P$ . Az így kialakuló protongradiens a hajtóereje a komplex V. által katalizált ATP szintézisnek.

### 5. Komplex V. ( $\text{F}_0\text{F}_1$ ATP-szintáz)

Ez az F típusú ATPáz két részből áll. Az  $\text{F}_1$  rész a mitokondrium belső membránjának belső, a mátrix felé eső részén található 9 alegységből ( $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ ) felépülő fehérje. Ez az egység felelős az ADP foszforilációjáért, tehát az **ATP szintéziséért**. Az  $\text{F}_0$  rész négy polipeptidláncból álló fehérje, ami a belső membránon átnyúló **protoncsatornát** képez. Ez az egység, és ezáltal a protongradiens kiegyenlítődése és az ATP szintézis, **oligomicinnel** gátolható (ezért az index „o” és nem nulla). Az ATP szintézisét az úgynevezett rotációs katalízis mechanizmus alapján írták le. Az  $\text{F}_1$  egység három béta alegysége egy adott pillanatban három különböző állapotban lehet: vagy ADP-t és foszfátot köt, vagy ATP-t köt vagy üres. Az  $\text{F}_1$ , a protonok áramlásától hajtva a tengelye körül forog, és három fordulattal teljesít egy teljes kört (360 fok), aminek végén az átáramló kb. 10 proton három ATP szintézisét generálja. Első lépésben egy üres béta alegység megköt egy ADP-t és egy foszfátot, majd a foszforiláció után a kész ATP elhagyja az enzimet újra egy üres béta alegységet hagyva maga után. Ez a három lépés ismétlődik 120 fokos elfordulásonként, létrehozva a rotációs katalízist. Egyenlettel leírva:  $\text{ADP} + \text{Pi} + n\text{H}^+_P \rightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} + n\text{H}^+_N$ .

Az ATP szintézis kapcsán a **P/O** arány az ATP-be beépült inorganikus foszfát és az ehhez szükséges O atom arányát mutatja meg az oxidatív foszforiláció során. Ez az arány mitokondriális NADH esetén 2,5; citoszolikus NADH esetén az ingáktól függően 2,5 (malát – aszpartát inga) vagy 1,5 (glicerin-3-foszfát inga); FADH esetén 1,5.

## 16.1. SZABÁLYOZÁS

Az oxidatív foszforilációnak nincs klasszikus értelemben vett alloszterikus vagy kovalens szabályozása. A folyamatot a sejt energetikai állapota szabályozza, azaz a mindenkori ATP igény és készlet függvényében lassul vagy gyorsul. Habár konkrétan az ATP szintézis (tehát az  $\text{F}_0\text{F}_1$  ATP-szintáz) szabályozódik, ezen keresztül a légzési lánc működése is szabályozott mert a két folyamat egymáshoz kapcsolódik. A **kapcsolt mitokondriumban** a terminális oxidáció van kapcsolva az ATP szintézishez, más szóval a légzési lánc a foszforilációhoz. Ha ez a kapcsolat megszűnik különállóvá válnak a folyamatok. Ez az úgynevezett **szétkapcsolt mitokondrium**. Különböző szétkapcsoló szerek használatával tehát a légzési lánc működésének fenntartása mellett meg lehet szüntetni az ATP szintézist. Ezen szerek közül a legfontosabb a **dinitrofenol (DNP)**, ami neutrális molekulaként át tud diffundálni a mitokondrium belső membránján, magával szállítva egy protont, csökkentve vagy megszüntetve ezzel a membrán két oldala között lévő protongradienst. Az így felszabaduló energia hő képződésére fordítódik. A szétkapcsolás fiziológiás körülmények között is megtörténhet. Az úgynevezett barna zsír szövet nagy mennyiségű mitokondriumot tartalmaz (innen a barna szín: sok mitokondrium  $\rightarrow$  sok hem), amelyek belső membránjában egy különleges transzmembrán fehérje a **termogenin** vagy **UCP** (uncoupling protein) található. Ez a fehérje alternatív utat kínál a protonok számára a mátrix felé, így a protongradiens kiegyenlítődése nem ATP hanem hő képződésével jár. A termogenin hormonális hatásra felszabaduló szabad zsírsavak által aktiválódik. Ez a hőtermelés újszülött csecsemőkben, téli álmat alvó és hideghez alkalmazkodott állatokban játszik fontos szerepet.

A mitokondriális légzési lánc számos lépése magában rejti részlegesen redukált oxigén gyökök képződését és felszabadulását. Az oxigén teljes redukciója négy elektron felvételét jelenti a citokróm-oxidáz által katalizált reakcióban. Ez az a lépés, ahol a reaktív oxigén származékok képződésének a kockázata a legnagyobb. Emellett azonban az ubikinon redukciója komplex I. és II. által illetve oxidációja a komplex III. által is magában rejti a szabadgyökök képződésének lehetőségét. Az oxigén nem teljes redukciója **szuperoxid**, **hidrogén peroxid** és **hidroxil gyök** képződéséhez vezet, a hidrogén peroxid pedig további reakciókban vehet részt (Fenton-, Haber-Weiss-reakció) további hidroxil gyököket képezve. Ezek az igen reaktív molekulák gyorsan reakcióba lépnek környezetükkel és károsítják mind a fehérjéket, mind a lipideket, mind a nukleinsavakat. A mitokondriális folyamatok mellett fagociták és limfociták plazmamembránjához asszociált **NADPH-oxidázok** is képesek reaktív gyököket termelni, amik a baktériumok elleni védekezésben játszanak fontos szerepet. Ezek a NADPH-oxidázok a védekező funkció mellett különböző redox szenzitív jelátviteli útvonalakat is képesek szabályozni.

Az oxigéntartalmú szabad gyökök eliminálása enzimatis és nem enzimatis úton történhet. Előbbi csoportba tartoznak a **szuperoxid-diszmutáz**, a **kataláz** és a **peroxidáz** enzimek. A szuperoxid-diszmutáz által katalizált reakció ( $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ ) során hidrogén peroxid keletkezik szuperoxid gyökökből. Az enzim citoplazmatikus izoformája **Cu** illetve **Zn**, a mitokondriális **Mn** iont tartalmaz. A kataláz főleg májban, vesében és a vér alakos elemiben megtalálható enzim, ami a hidrogén peroxid redukcióját ( $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ) katalizálja. A hidrogén peroxid eliminálásának másik lehetősége a **glutation peroxidáz** enzim, ami redukált **glutation (GSH)** segítségével redukálja azt:  $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$ . Az oxidált **glutation (GSSG)** visszaredukálását a **glutation-reduktáz** enzim katalizálja **NADPH** felhasználásával. A **NADPH** forrása a pentóz-foszfát útvonal, ezért a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz hiánya a glutation-reduktáz elégtelen működésén keresztül, az oxigéntartalmú szabad gyökök felhalmozódását eredményezi. A nem enzimatis eliminálás legfontosabb molekulái antioxidáns vitaminok úgy, mint a C-vitamin és az E-vitamin. Emellett a bilirubin, az A-vitamin, az urát és számos más molekula is természetes antioxidáns.

Összefoglalva, a mitokondriális és egyéb forrásokból származó oxigéntartalmú szabad gyökök rendkívül veszélyesek a sejt számára; eliminálásukra számos enzimatis és nem enzimatis mechanizmus alakult ki.



## 17. LIPIDEK

### 17.1. CSOPORTOSÍTÁS ÉS KÉMIAI JELLEMZŐK

A biológiai lipidek a komponensek egy kémiaailag változatos csoportja, amelyeknek közös és meghatározó jellemzője a rossz vízoldhatóság. A különböző lipidek szerkezetük alapján **öt fő csoportba oszthatók** (előadás ábra):

- **A zsírsavak** terminális karboxil csoportból és hosszú telített vagy telítetlen szénláncból álló molekulák.
- A gliceril észterek vagy acil-gliceridek a glicerin zsírsavakkal alkotott észterei; a **foszfogliceridek** ( vagy glicerofoszfolipidek) zsírsavakból és glicerol 3-foszfátból képződnek, míg a **trigliceridek** a glicerin három zsírsavval alkotott észterei.
- **A szfingolipidek** zsírsavakból és szfingozinból, egy hosszú láncú aminoalkoholból épülnek fel.
- **A szterolok** közös jellemzője a négy fuzionált gyűrűből álló szerkezet (a szteroid mag).
- **A terpének** izoprén egységek (2-metil-1,3-butadién) fej-farok kondenzációjával jönnek létre. A terpének közé tartoznak az A, E, és K vitamin; biológiai pigmentek olyan mint a  $\beta$ -karotén, és sok növényekből származó esszenciális olaj.

### 17.2. A LIPIDEK BIOLÓGIAI FUNKCIÓI

- A biomembránokban található foszfolipidek és glikolipidek alkotórészei;
- Hormonként és másodlagos messengerként a sejten belüli kommunikációban és szabályozásban vesznek részt;
- Tápanyag molekulák és a sejt energia tartalékai;
- A molekuláris felismerésben játszanak szerepet, a fehérjéket a membránokba vagy organellumokba irányítják.
- Antioxidánsok, pigmentek, detergensok, illatanyagok és membrán kofaktorok.

### 17.3. ZSÍRSAVAK

A zsírsavak különböző hosszúságú szénhidrogén láncsal ( $C_4$ - $C_{36}$ ) rendelkező karboxilsavak. Egyes zsírsavakban ez a lánc elágazásmentes és telített (nem tartalmaz kettős kötést-**telített zsírsavak**), másokban a lánc egy vagy több kettős kötést tartalmaz (**egyszeresen- vagy többszörösen telítetlen zsírsavak**) (előadás ábra).

A leggyakrabban előforduló zsírsavak páros számú szénatomot tartalmaznak egy elágazásmentes 12-24 szénatomból álló láncban. A legtöbb egyszeresen telítetlen zsírsavban a kettős kötés a C9 és C10 között található ( $\Delta^9$ ), és a többszörösen telítetlen zsírsavakban a következő kettős kötések általában a  $\Delta^{12}$  és  $\Delta^{15}$ . (az arachidonsav kivétel ezt az általánosítást tekintve). A többszörösen telítetlen zsírsavak kettős kötései szinte sohasem konjugáltak, hanem egy metilén csoport választja el őket, és cisz konfigurációban vannak. (A transz zsírok természetes, többszörösen telítetlen zsírokból (pl szója olaj) képződnek ipari hidrogenálási folyamatban, ami néhány kettős kötést transz geometriában hagy).

### 17.4. NEVEZÉKTAN

- **$\Delta$  számozás:** a karboxilát végen kezdődik, ez lesz az 1-es szénatom.
- **n vagy  $\omega$  számozás:** az ellenkező végen (metil csoportnál) kezdődik.

- **görög betűk:** a 2-es és 3-as szén ( $\Delta$  számozás) az  $\alpha$  és  $\beta$ . A végen levő metil csoport az  $\omega$ .
- **A kettős kötés helyének jelölésére** szintén több konvenció alkalmazható.
  1. cisz- $\Delta^9$  –cisz kettős kötés a 9- és 10-es szénatom között
  2. 18:3(9,12,15)- $C_{18}$  zsírsav három kettős kötéssel a 9, 12 és 15 pozícióban (linolénsav)
  3.  $\omega^9$  or  $\omega$ -9-a terminális metil csoporttól való távolságot jelöli

## 17.5. $\Omega$ -3 (OMEGA-3) ZSÍRSAVAK

Az emberi táplálkozás szempontjából jelentős **többszörösen telítetlen zsírsav** család (PUFA). Az Omega-3 zsírsavak a halolaj fő komponensei, és valószínűleg ezek felelősek annak kardio-protéktív (szívvédő) hatásáért. Ezek a zsírsavak a fitoplanktonból származnak és a táplálékláncon keresztül jutnak el az emberig.

A két legáltalánosabban előforduló omega-3 zsírsav a eikozapentanoinsav (**EPA**; 20:5( $\Delta^{5,8,11,14,17}$ )), amelyik 20 szénatomos lánc 5 kettős kötéssel, és a dokozahexanoinsav (**DHA**; 22:6( $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ )), amelyik 22 szénatomot és 6 kettős kötetést tartalmaz (előadás ábra).

## 17.6. ESZENCIÁLIS ZSÍRSAVAK

Eszenciális: az emberi szervezet nem képes a szintézisére, de más, a szervezetnek szükséges, és általa szintetizálható biomolekulák prekursora (előanyag)

- **Linolsav** (18:2( $\Delta^{9,12}$ )) eszenciális, a táplálékból kell fedezni. Más eikozanoidok prekursora (előadás ábra).
- Arachidonsav némely szerző szerint eszenciális, habár linolsavból szintetizálható, így nem abszolút megkövetelt a táplálékban. Az arachidonsav a leukotriének, prosztaglandinok és tromboxánok prekursora.
- **$\alpha$ -linolénsav** (18:3( $\Delta^{9,12,15}$ )) szintén eszenciális, más omega-3 zsírsavak (EPA, DHA) prekursora, fontos a sejtfunkciók szempontjából.

Néhány, az emlős szövetekben előforduló fontos zsírsav az **ecetsav**, amely szorosan kapcsolódik az **acetyl-CoA-hoz**, egy központi intermedierhez, a **palmitin-sztearin- és olajsav**, amelyek túlnyomó többségben szerepelnek a foszfolipidekben és trigliceridekben, és gyakoriak a biomembránokban és a zsírszövet zsírraktáraiban (előadás ábra). A **linolsav, linolénsav és arachidonsav** a foszfolipidek kisebb arányú komponensei, így főleg biomembránokban fordulnak elő.

Az előadás táblázatban látható a zsírsavak(állati és növényi egyaránt) néhány táplálékforrása.

Az állati zsírok nagyobb arányba tartalmaznak telített és hosszú szénláncú zsírsavakat, mint a növényi olajok (a kókuszolaj kivételével).

## 17.7. A ZSÍRSAVAK NÉHÁNY EGYÉB, FONTOS JELLEMZŐJE

- A zsírsavak **karboxilsavak** ( $pK_a$  érték 4.8 körül); fiziológias körülmények között ionizáltak.
- **Hosszú apoláros "farkuk"** csökkenti vízdoldhatóságukat (minél hosszabb a zsírsavlánc és kevesebb a kettős kötés, annál kisebb a vízdoldhatóság).
  - Legtöbb zsírsav **csekély mértékben vízdékony**, de savas pH-n a vízdékonyság elhanyagolható.

- Egy vagy több **kettős kötés** jelenléte **csökkenti** a szabad zsírsavak **olvadáspontját**.
  - A kettős kötés cisz geometriája miatti hajlás akadályozza a farkak szoros pakolását. Ez a biomembránok fluiditásának hőmérséklet függését is befolyásolja.
  - A telítetlen zsírsavak (pl. foszfolipidek) modulálják a farkak szoros pakolását a membránok lipid kettős rétegében, így változtatják a lokális fluiditást vagy viszkozitást. Ez azután megváltoztathatja a membránba ágyazott enzimek és transzport rendszerek aktivitását.

Gerincesekben a szabad zsírsavak egy fehérje karrierhez, szérum **albuminhoz** kapcsoltnak (nem kovalensen) szállítódnak a vérben. Mindazonáltal legtöbb zsírsav a vérplazmában karboxilsav származék formájában, mint észter vagy amid van jelen. A töltéssel rendelkező karboxilát hiánya miatt ezek a zsírsav származékok még kevésbé vízdoldékonyak, mint a szabad zsírsavak, így **lipoproteinekben** szállítódnak.

## 17.8. TRIACILGLICEROLOK (TRIGLICERIDEK, TRIACILGLICERIDEK VAGY NEUTRÁLIS ZSÍROK)

A triacilglicerolok glicerol észterek, ahol a glicerol mind a három pozíciójában egy-egy zsírsavval észteresített. Lehet egyfajta zsírsav mind a három pozícióban (ezek az egyszerű triacilglicerolok), de a legtöbb természetesen előforduló triacilglicerol kevert, két vagy három különböző zsírsavval a glicerol egyes pozícióiban.

Mivel a glicerol poláros hidroxil csoportja és a zsírsavak poláros karboxilcsoportja észterkötésben van, a triacilglicerolok **apoláros, hidrofób molekulák**, lényegében **vízdoldhatatlanok**. A lipidek **fajsúlya alacsonyabb a vízénél**, ami magyarázza, miért válik az olaj és víz elegye két fázisra, ahol az olaj a víz felszínén lebeg.

## 17.9. A ZSÍR MINT TÁPANYAG

A trigliceridek zsíros/olajos cseppek formájában tárolódnak a zsírszövetben vagy a növények magjában (előadás ábra). Az zsírszövetek (adipociták) és a zsírszövetek lipáz enzimeket tartalmaznak, amik hidrolizálják a raktározott triacilglicerolokat, felszabadítva a zsírsavakat a szállításhoz azokra a helyekre, ahol tápanyagként felhasználódnak.

Két jelentős **előnye** van a trigliceridek raktározott tápanyagként való alkalmazásának a poliszacharidok helyett, olyan mint a glikogén és keményítő. .

- Először a zsírsavak szénatomjai redukáltabbak, mint a cukoré, és a trigliceridek oxidációja több mint kétszer annyi energiát termel, mint a szénhidrátok oxidációja (kb.38 kJ/g a glikogén és keményítő 17kJ/g energiájával szemben) .
- Másodsorban, mivel a trigliceridek hidrofóbok, és ezáltal nem hidratáltak, a szervezetnek nem kell a kötött vízből eredő extra súlyt hordozni, mint a raktározott poliszacharidok esetében.

Mérsékeltén kövér egyén 15-20 kg, a zsírszövetben raktározott trigliceriddel rendelkezik, ami mobilizálás esetén hónapokra képes fedezni az energia szükségletét. Ezzel szemben az emberi test kevesebb mint egy napra elegendő energiát képes raktározni glikogén formájában.

A szénhidrátok, mint a glükóz és glikogén gyors metabolikus energiaforrásként nyújt előnyöket, ez egyrészt jó vízdoldhatóságukból adódik.

A zsírsavak oxidációja biztosítja az oxidatív energia több mint felét a fő szervekben és szövetekben.

**A monogliceridek** (monoacilglicerolok) és **digliceridek** egy, illetve két, glicerolhoz észteresített zsírsavat tartalmaznak (előadás ábra). A monogliceridek részben vízdoldhatóak, a trigliceridek rendszerint

nem vízdíszíthetők Monogliceridek vagy digliceridek esetében az acil csoport a glicerol 1,2 vagy 3 pozíciójához egyaránt kapcsolódhat.

## 17.10. FOSZFOLIPIDEK, SZFINGOLIPIDEK ÉS EIKOZANOIDOK

Lásd a komplex lipidek metabolizmusa fejezetben

## 17.11. KOLESZTEROL

### 17.12. A KOLESZTEROL SZERKEZETE ÉS KÉMIAI JELLEMZŐI

- A koleszterol jellegzetes szerkezete a **négy fuzionált gyűrűből** álló szerkezet (szteroid mag). (a számozást és a gyűrűk betűs jelölését lásd az előadás ábrán) A szteroid mag majdnem egy síkban fekszik és viszonylag merev, a fuzionált gyűrű nem engedi meg a C-C kötés körüli rotációt.
- A koleszterol **amfipatikus**, egy poláros fejcsoporttal (hidroxil csoport C3-on), és egy apoláros szénhidrogén testtel (szteroid mag és a szénhidrogén lánc C17-en), körülbelül olyan hosszú mint egy C<sub>16</sub> zsírsav kinyújtott formában.
- Az egyetlen poláros funkcionális csoport jelenléte a koleszterol meglehetősen apolárossá teszi, **alacsony vízdíszíthetőséggel és jó lipidoldékonysággal**.
- A koleszterol a fő szterol állati szövetekben, és hasonló szterolok találhatóak más eukariótákban: a **sztigmaszterol** növényekben és az **ergoszterol** gombákban fordul elő. A baktériumok nem tudnak szterolokat szintetizálni, de néhány baktérium be tud építeni exogén szterolokat a membránjába.
- A koleszterol egyszerű, öt szénatomos izoprén egységekből szintetizálódik..
- **Észtereződhet zsírsavakkal** (pl., palmitinsavval vagy linolsavval), ami növeli a hidrofób karakterét.
- - A plazma koleszterol kb. 70% észtereződik.
  - A normál szérum koleszterin szint 3.9-6.2 mmol/L, vagy 150-240 mg/dL között mozog. ez különböző faktoroktól függ, olyan mint nem, életkor, táplálkozás, emocionális állapot.
  - Ez magas érték főleg a plazma lipoproteinekhez kötött koleszterolnak köszönhető.

### 17.13. A KOLESZTEROL BIOLÓGIAI FUNKCIÓI

- A koleszterol **fontos membrán összetevő**, ami merevíti a környező acil csoportokat és csökkenti a flexibilitásukat, ennél fogva csökkenti a membrán fluiditást.
  - Ez jelentős lehet a membránba ágyazott fehérjék működése szempontjából (membrán átszelő transzporterek és csatornák, enzimek, különböző receptorok) és a celluláris folyamatok szempontjából, mint a sejtosztódás vagy fagocitózis.
- A koleszterol és a szfingolipidek asszociálódhatnak felismerhető doméneket képezve (úgynevezett „lipid raftokat”) a biomembrán lipid kettősrétegének külső részén.
- A koleszterol emésztő és emulgeáló szereket **prekurzora (epesavak)**, úgymint kolsav, és glicin vagy taurin konjugátjai).
- **Szteroid hormonok prekurzora**, például a gonád (ivarszervi) hormonok, az ösztadiol és tesztoszteron, vagy az adrenokortikoid hormon hidrokortizon (kortizol) (előadás ábra).
- Vitamin **prekurzor (vitamin D3** vagy kolekalciferol) (előadás ábra)



## 18. MEMBRÁNOK ÉS TRANSZPORT FOLYAMATOK

A membránok **lipidekből és proteinekből** épülnek fel. A két fő alkotóelem aránya függ a szövettől és a membrán sejten belüli elhelyezkedésétől. A membránt felépítő alap lipidek: glicerophospholipidek, szfingolipidek és koleszterin. Ezeknek az alkotóknak a pontos aránya nem azonos a sejtmembránokban és a sejten belüli organellumokban. A membrán lipid komponensei sajátos mozgásokat végezhetnek: rotáció, oldalirányú diffúzió. A membrán fehérje komponensei is képesek oldalirányú diffúzióra. A membránfehérjék lehetnek integráns fehérjék, egy vagy több transzmembrán (TM) szakasszal (szegmens), vagy kapcsolódhatnak a membránhoz kovalensen illetve nem-kovalens interakciók (elektrosztatikus, hidrofób) révén. A membrán belső és külső rétegének összetétele eltér egymástól.

A membránok **szelektív permeabilitással** rendelkeznek, hiszen védelmezniük kell a sejten belüli közeget, ugyanakkor transzportrendszerek segítségével biztosítani kell a sejt számára az építőelemeket és az energiát szolgáltató molekulákat, valamint a sejtől a káros bomlási termékek eltávolítását. A membrán belső rétegének hidrofób jellege miatt átereszti a kisméretű, neutrális, hidrofób molekulákat (gázok, lipofil molekulák), és kis mértékben a vizet, de átjárhatatlan a nagy, poláros molekulák és ionok számára (a fehérjék transzmembrán transzportját lásd a molekuláris biológiai tanulmányokban).

A membrán transzport fehérjék **két fő csoportra** oszthatók: csatornák (és pórusok) és transzporterek (karrier – szállító fehérje, vagy permeáz).

A **csatornák fő jellemzői**: szelektivitás, kapuzási mechanizmus (ligand, feszültség, feszülés vagy hőmérséklet által aktivált), facilitált diffúziót végeznek (koncentráció grádiensnek megfelelő anyagmozgás).

**Transzporterek**: primér aktív (pumpák) – ATP vagy fény energiájának segítségével létrehoznak és fenntartanak koncentráció vagy elektrokémiai grádiens; másodlagos aktív transzporterek – a pumpák által kialakított grádiens felhasználva szállítanak anyagot koncentráció grádiens ellenében; passzív transzporterek – facilitált diffúzió. A **mozgás irányát** tekintve lehetnek: uniporterek (egy irány), szimporterek (két anyag, azonos irányba – kotranszporter), antiporter (két anyag, ellentétes irányba – exchanger).

A **mechanizmus**, amivel a szállított anyag átjut a membránon eltérő a csatorna és a transzporter esetében: a csatorna, miután megnyílt, átjárhatóvá válik az ion vagy más komponens számára; míg a transzporter megköti a szállítandó molekulát, majd konformáció változást követően elengedi azt, de a membrán másik oldalán.

### 18.1. MEMBRÁNON ÁT TÖRTÉNŐ DIFFÚZIÓ

A membránon passzívan csak inert, kisméretű és/vagy lipofil molekulák tudnak átdiffundálni. A reakció közvetlenül arányos a molekula koncentrációjával, és csak a koncentráció grádiensnek megfelelő irányban történhet. A diffúzió számos fizikokémiai tulajdonságtól függ: a komponens oldékonysága, diffúziós koefficiense (alakja, mérete).

### 18.2. TRANSZPORTEREK

A szállított molekula csak nagyon kis távolságot tesz meg a membránon belül a transzport négy lépése során: a molekula felismerése (kötése), membránon át való transzport, a molekula eleresztése a membrán másik oldalán, a transzporter regenerálódása. Töltéssel rendelkező molekula transzportja lehet **elektrogén** (membrán potenciál kialakulásához vezet) vagy neutrális. A transzporterek bizonyos tekintetben hasonlóak az enzimekhez: specifikusak, gátolhatók, növelik az egyensúly elérésének sebességét, de azt nem változtatják meg, telíthetők (szaturabilitás).

Az ATP által működtetett **primér transzporterek**: P-típusú (SERCA, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPáz), V-típusú és F-típusú. A **másodlagos aktív** transzportereket elektro-kémiai potenciál hajtja (SMF: sodium motive force – nátrium koncentráció grádiens; PMF: proton motive force – proton grádiens), és lehetnek szimporterek vagy antiporterek. A **passzív transzporterek** facilitált diffúziót végeznek a koncentráció grádiensnek megfelelően (uniport).

A transzporterek egyik példája a **GLUT család**, amelynek tagjai glukózt szállítanak *facilitált transzport* révén. A család különböző tagjai eltérő szövetekben találhatók, mint a bélhám sejt, hasnyálmirigy, máj, szívizom, vázizom, és eltérő szabályozódást mutatnak. A *másodlagos aktív transzporterek* között a nátrium/glukóz kotranszporter (szimport) jelentős, akárcsak a bélhámsejtek és a vese sejtjeiben található cukrokat és aminosavakat szállító transzporterek. A szinaptikus részbe került *neurotranszmittereket* is nátrium-kapcsolt szimporterek veszik fel, amelyek számos gyógyszernek támadáspontjai: gátolva őket a neurotranszmitterek koncentrációja emelhető. *Polarizált sejtekben* (pl. enterocita), különböző típusú transzporterek működnek az apikális és bazális felszíneken (részleteket lásd az előadásanyagban). Számos antiporter rendszer segít fenntartani az intracelluláris környezetet: ezek vagy Na<sup>+</sup>-hajtott exchangerek (H<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) vagy független exchangerek, mint Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> antiporter a pH szinten tartására.

### ATP által hajtott pumpák

Az ATP által hajtott pumpák a primér aktív transzporterek közé tartoznak, amelyek az ATP hidrolízis során felszabaduló energia segítségével szállítanak anyagokat a koncentráció grádiens ellenében. Ezek a pumpák kémiai vagy elektrokémiai grádiens hoznak létre. A pumpák telíthetők, gátolhatók és specifikusak. A transzporter fehérje átmenetileg foszforilálódhat.

Anorganikus ion-transzporterek alcsaládjai: P-típusú (foszforilálódik és defoszforilálódik); V-típusú (proton pumpa, vakuolumok acidifikálására); F-típusú (ellentétesen működik: a mitokondriumban proton transzportál ATP szintézissel). A P-típusú ATPázok közül a kalcium-ion pumpát és a Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pumpát (vagy ATPázt) említjük.

A **Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pumpa** az állatvilágban minden sejtben megtalálható, kialakítja és fenntartja a sejtben belüli magas kálium-ion koncentrációt. Elektrogén pumpa, míg 2 kálium-ion jut a sejtbe, azalatt 3 nátrium-ion lép ki. Ennek a pumpának a működése teszi lehetővé a membrán potenciál kiépülését. A pumpa működése gyors és energiaigényes. Három doménnel rendelkezik: N (nukleotid kötő), P (foszforilációs) és A (aktiváló) domén. A szívglikozidok gátolják ezt a pumpát és fokozzák a szívizom kontraktilitását.

### Kalcium-ion pumpa

A citoszolban a kalcium-ion koncentráció alacsony. Amikor az akciós potenciál az izomkontrakció során a Ca<sup>2+</sup> kiáramlását idézi elő az ER raktárból, ezt a megemelkedett Ca-ion koncentrációt is csökkenteni kell. Két Ca<sup>2+</sup> pumpa (SERCA az ER, és PMCA a plazma membránban), valamint a Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> antiporter (exchanger) felelősek az alacsony citoszolikus Ca-ion koncentráció visszaállításáért. A SERCA működési mechanizmusa: Ca-ionok jelenlétében a SERCA egy specifikus Asp aminosavon foszforilálódik. Az így képződött foszoprotein a Ca-iont erősebben köti, és így abban konformációváltozás lép fel, majd a Ca-iont a membrán másik oldalán elengedi.

A vakuoláris ATPáz **V-típusú transzporter**. Funkciója, hogy protont pumpáljon az alacsony pH-jú sejt organellekbe (endoszómák, lizoszómák). A pumpa két nagy domént tartalmaz, a citoszolikus domén ATP-t köt és katalitikus aktivitása van (hidrolízis), míg a membránhoz kötött domén felelős a protonok citoszolból a sejtorganellekbe juttatásáért. Ahogy korábban említettük, számos exchanger segíti a citoszolikus pH fenntartását.

### 18.3. ABC TRANSZPORTEREK

Nagy szupercsalád, számos taggal. Nevüket onnan nyerték, hogy konzervált ATP kötő domént („kazzettát”) tartalmaznak. A két ATP mellett sokféle molekulát tudnak kötni. Az ATP-kötést követően a transzporter konformáció változást szenved, így a megkötött kismolekula a membrán másik oldalán ledisszociál. Az ATP molekulák hidrolízise után a transzporter visszatér az eredeti állapotába. A legtöbb ABC transzporter különféle anyagok (peptidek, toxikus komponensek és gyógyszerek) **sejtből való kijuttatását** végzi, csak egy irányban. Ezeknek a transzportereknek egy speciális csoportja az **MDR (multidrug resistance)** család. Ezen család glikoprotein tagjai felelősek számos gyógyszer, köztük citosztatikumok sejtből történő kipumpálásáért.

### 18.4. GYÓGYSZER TRANSZPORTÁLÓ MOLEKULÁK

A gyógyszer transzportáló molekulákat influx és efflux transzporterekre osztjuk. Az első csoportba az SLC (solute carrier) család tagjai tartoznak, amelyek facilitált diffúziót vagy másodlagos aktív transzportot végeznek. Az efflux transzporterek (ABC transzporterek) eltávolítják a gyógyszereket a sejtből. A gyógyszer szállító molekulák másik felosztása: abszorbeáló ( a bél lumenéből az enterocitán keresztül a vérbe) és szekretáló (epébe, vizeletbe, bél lumenbe) transzporterek.

### 18.5. CSATORNÁK

Számos speciális csatorna létezik, köztük a sejtek közötti réskapcsolatok és a sejtmag membrán pórusai (fehérjék, RNS, RNP). Ebben a fejezetben a plazmamembrán keskeny, igen **szelektív, kapuzott** csatornáit tárgyaljuk, amelyek gyors és ellenőrzött facilitált iondiffúziót hoznak létre. Ezeknek a csatornáknak a szerkezete lehet alfa-típus vagy béta-típus, attól függően, hogy a fehérje TM doménje milyen másodlagos szerkezettel rendelkezik. A **példák**, amiket nézünk: akvaporinok, feszültség-szabályozott ion csatornák és a ligand-szabályozott (nikotinos) acetilkolin (ACh) csatorna.

A csatornák specifikus inhibitorokkal **gátolhatók**. A fő kapuzási mechanizmusok a transzmembrán potenciál változásán keresztül (feszültségfüggő) vagy specifikus ligand kötésével (sejten kívüli, például neurotranszmitterek, vagy intracelluláris messenger molekulák: cAMP, Ca<sup>2+</sup>, IP<sub>3</sub>) történnek. Egy különleges csoportja ezeknek az ioncsatornáknak a G-protein receptorhoz kötött csatornák, amelyeket a molekuláris biológiában már tárgyaltunk (muszkarinos Ach, neurotranszmitterek, érzékelő receptorok, hormonok). Mind a ligand, mind a feszültség-szabályozott csatornáknak **különböző pozíciói** léteznek: nyitott (aktív), zárt (alap) és inaktivált, amikor a csatorna a nyitottnak tűnik, de valójában inaktiváló mechanizmus miatt blokkolt (lásd a labda és lánc teóriát a csatornák gyors zárására). A csatorna konformációs változása és nyitása vagy a ligand kötése által (ligand szabályozott) vagy egy adott TM szegmens mozdulása által (feszültség szabályozott) történik.

Az **akvaporinok** speciális csatornák. Megnövelik a vízmolekulák diffúziós sebességét (vese epiteliális sejtei, endokrin szövetek). Vízre szelektíveknek kell lenniük, hogy a sejt ezeken keresztül ne veszítsen, vagy ne vegyen fel ionokat. Ezt úgy oldja meg a csatorna, hogy nagyon keskeny a nyílása, amely nem enged át vízburokkal körülvett ionokat. Emellett specifikus aminosav odalláncok irányítják a dipólus víz molekulákat megfelelő pozícióba.

#### Ioncsatornák

Az ioncsatornák a kérdéses ionra szelektívek, mivel a TM doménjük keskeny szakaszán egy **szelektivitás filtert** tartalmaznak. Az ionkoncentráció emelkedésével az ionok áramlása egy bizonyos szintig emelkedik, de a szelektivitás filter a szállítás sebességének határt szab. A csatornák specifikus stimulusra nyílnak, de csak egy nagyon rövid időre, mivel az ionok mozgása a koncentráció különbségnek megfelelően igen gyors. Hosszabb időt követően a csatornáknak az impulzusok

inaktiválódnak (**deszenzitizáció**) és a stimulust meg kell szüntetni a későbbi aktiválás lehetősége érdekében. Az ioncsatornák működése nélkülözhetetlen az idegsejtekben és az elektromosan izgatható izomsejtekben.

#### K<sup>+</sup> ion csatornák

A **kapuzási mechanizmus** alapján több típusú kálium-ion csatorna létezik: K<sup>+</sup> „leak” (szivárgás) csatornák felelősek a membrán potenciál fenntartásáért, míg a feszültségfüggő, ligand által szabályozott, ATP érzékeny és Ca<sup>2+</sup>- aktivált csatornáknak specifikus funkciói vannak. A csatorna szerkezete a kapuzási mechanizmustól függ, de a szelektivitás filter mindegyikben hasonló. Bár a filter nagyon keskeny és az ionok erősen kötődnek, mozgásuk mégis gyors az egymás között fellépő taszító hatás miatt. Néhány jól ismert betegséget (szív- és neurológiai tünetekkel) a kálium-ion csatornákat kódoló szakaszok genetikai mutációi okoznak. Az acetil kolin által szabályozott csatornák nátrium és kálium ionra permeábilisak, miután kinyílnak. A nagy átvezetésű csatornák (high conductance) a kalcium ion koncentrációra is érzékenyek (sima izomsejtek). Az ATP érzékeny kálium- ion csatornák közvetlenül érzékelik a sejt metabolikus állapotát (szívizomsejtek , inzulin szekréció).

**Na<sup>+</sup> csatornák** többféle módon szabályozhatók feszültség és ligandok által is. A feszültség által szabályozott csatornák számos gyógyszer támadáspontját adják (anesztetikumok, antiarritmiás szerek, antiepileptikumok). A nátrium-ion csatornák az akciós potenciál létrehozásához nélkülözhetetlenek.

Az **epiteliális Na<sup>+</sup> csatornák** hormonálisan szabályozottak. Részt vesznek a nyáleválasztásban, és a vizelet kiválasztó rendszerben a nátrium visszaszívásában. Ez utóbbiak az antidiuretikumok támadáspontjai. A nátrium ion transzportja összetett , primér aktív transzporterek, másodlagos aktív transzporterek és ioncsatornák is részt vesznek benne.

#### Ca<sup>2+</sup> csatornák

A plazmamembrán Ca-ion csatornái extra celluláris ligandok, feszültség, vagy sejten belüli kalcium-ion koncentráció által szabályozottak. A magas vérnyomás, szívritmuszavarok, epilepszia és a szorongásos betegségek kezelésében a *gyógyszerek célpontjai*. A neuronális szinapszisokban a preszinaptikus membrán akciós potenciálja feszültség szabályozott kalcium csatornákat nyit. A megnövekedett kalcium-ion koncentráció a **neurotranszmittereket** tartalmazó vezikulumok fúzióját okozza a preszinaptikus membránnal. A membrán fúziót követően a neurotranszmitter kijut a szinaptikus részbe, ahol hozzákötődik a ligand függő ion csatornához, azokat megnyitja, és a posztzinaptikus membránon **akciós potenciált** indít (az izgató neurotranszmitterek nátrium-ion és néha kalcium csatornákat nyitnak). Az *izomsejtekben* a Ca<sup>2+</sup> csatornák másképpen működnek. Az ingerelhető sejtek membránjában az akciós potenciál ioncsatornák (nátrium és kálium) jól összehangolt nyitásával és inaktiválásával jön létre. Az izomsejtekben a kalcium ion csatornák is fontos szerepet játszanak. Az akciós potenciál létrehozásában feszültségfüggő, ligand által szabályozott csatornák, beleértve az antiportereket is, vesznek részt. Az eredeti membrán potenciál visszaállításához a Na<sup>+</sup>- K<sup>+</sup> ATPáz működésére van szükség. Az izomsejtekben az akciós potenciál által létrehozott kontrakciót követően az intracelluláris kalcium ion koncentrációt a normálisra kell csökkenteni. A gátló neurotranszmitterek K<sup>+</sup> vagy Cl<sup>-</sup> csatornákat nyitnak.

## 19. A LIPIDEK KLINIKAI JELENTŐSÉGE

A lipidek a szervezet energiaraktárai, emellett fontos szerkezeti (membránok), funkcionális (jelátvitel, transzport, emésztés) és bioszintetikus prekursor (hormonok, intracelluláris jelátvivők, vitaminok) komponensek. A nagyszámú lehetséges funkció közül most három olyanra fókuszálunk, amelyeknek gyógyszerészeti vonatkozása is van: az eikozanoidok metabolizmusa, lipopoliszaccharidok és a lizoszomális raktározási betegségek.

Az **eikozanoidok** 20-szénatomos zsírsavak, amelyek közé olyan (pato)fiziológiailag jelentős molekulák tartoznak, mint a prosztaglandinok (PG), leukotriének és tromboxánok. Ezeknek a molekuláknak a prekuzora az **arachidonsav** (20:4), amely az esszenciális linolsav származéka. Az arachidonsavat a sejtmembrán foszfolipidjei hordozzák, ahonnan a foszfolipáz A<sub>2</sub> segítségével hasad le. A prosztaglandinoknak számos **élettani szerepe** van: egyesek a gyulladásban vagy a trombocita aggregációban vesznek részt, mások gátolják a gyomor savtermelését vagy a reprodukcióban van szerepük. A **leukotriének** pontos szerepe nem ismert: részt vesznek a fehérvérsejtek funkcióiban, a légutak simaizmainak összehúzódásában, bronchokonstriktióban. A tromboxánok közül egyesek a trombocita aggregációban szerepelnek.

Az arachidonsav származékai szintézisének egyik enzime a **prosztaglandin H szintáz**, amely két enzimatis aktivitással rendelkezik: *ciklooxygenáz (COX)* és *hidroperoxidáz*. A termék, PGH<sub>2</sub> más prosztaglandinok, valamint prosztaciklinek és tromboxánok forrása. Ezek a molekulák a fenti aktivitásaikat mint helyi hormonok fejtik ki. A leukotriének szintén arachidonsavból képződnek, de eltérő útvonalon, a *lipoxigenáz* enzimek révén, amelyek számos szövetben megtalálható kevert funkciójú oxidázok.

Emberben két típusa van a COX enzimnek, **COX1 és COX2**. Az első folyamatosan szintetizálódik, és a gyomor nyálkahártyáját valamint a vese funkcióit védi. A COX2 aktivitása hozza létre a prosztaglandinokat, amelyek a **gyulladásos** jelek, fájdalom és láz kialakulásáért felelnek. A gyógyszerek egy csoportja, amelyeket nem-szteroid gyulladáscsökkentőknek nevezünk (**NSAID**), hatással van a COX szintézisére. Régi, jól ismert képviselője a csoportnak az **aspirin** (acetilszalicil sav), amely irreverzibilisen inaktíválja a COX enzimet azzal, hogy acetilálja az aktív centrumában lévő szerint. Számos más NSAID nem-kovalens módon gátolja a COX aktivitását. Ezek a gyógyszerek a COX1 és COX2 aktivitást is gátolják. Számos törekvés történt **szelektív COX2 gátló** szer kifejlesztésére, amelynek nincs mellékhatása a gyomornyálkahártyára és a trombocita aggregációra.

Az **5-lipoxigenáz** enzim vesz részt a leukotriéne arachidonsavból való előállításában. Az asztma bronchiale tüneteivel való küzdelemben az 5-lipoxigenázt vagy a leukotriéne receptort blokkolják.

A Gram-negatív baktériumok külső membránja **lipopoliszaccharidot (LPS)** tartalmaz, amely egy lipi A magból és a hozzá kapcsolódó poliszaccharidokból épül fel. Ez az összetett molekula emberben lázat és gyulladást idéz elő, és halálos toxikus sokkot tud előidézni.

A lipidózisok **lizoszomális tárolási betegségek**, amelyeket a lipidlebontási útvonal valamely enzimének károsodása idéz elő. A klinikai tüneteket a lizoszómákban felhalmozódó anyagok okozzák. Az enzimatis defektus előfordulhat a cerebrozid, koleszterin-észter, gangliozid lebontási útvonalban. A szövetek közül általában a máj, lép, agy és a vesék érintettek.



## 20. LIPIDELBONTÁS – ZSÍRSAVAK BÉTA OXIDÁCIÓJA

A zsírsav (fatty acid – FA) szintézis és lebontás összehasonlítása során azt találjuk, hogy négy lépés ismétlődik a lánc két szénatommal való hosszabbítása (szintézis) és rövidülés (lebontás) során is, amely lépések szinte egymás fordítottjai.

A zsírsav lebontás során **acetyl-CoA** egységek hasítódnak le és a béta pozíciójú szénatom oxidálódik. Az acetyl-CoA beléphet a *citrát körbe*, vagy a *keton test* szintézis kiinduló anyaga lehet. A zsírsavak főként az adipocitákban (zsírsejtek) tárolódnak **triacyl glicerol (TAG)** formájában. Igen hatékony energiaszolgáltatók, mivel a molekula nem hordoz kifelé töltést, ezért vizet nem köt meg, és erősen redukált. A zsírsavak azon kívül, hogy energiát szolgáltatnak, a membránok felépítésében, a membrán fehérjék kovalens módosításában vesznek részt, és hormonok prekursorai is lehetnek.

A **táplálék lipid tartalma** elsősorban TAG, ami a koleszterin-származék epesavak segítségével emulzifikálódik a bélumenben, és emésztődik a pankréasz eredetű lipáz segítségével zsírsavakká és monoacyl-glicerinné. Ezekből a felszívódott komponensekből specifikus fehérjékkel együtt az enterocitákban (bélhámsejtek) **kilomikronok** szintetizálódnak. A kilomikronok a nyirokkeringés révén jutnak a véráramba. A zsírszövet sejtjei felveszik a zsírsavakat és a monoacyl-glicerint, és újraszintetizálnak **TAG-t raktározás** céljára (többi részletet lásd a Makromolekulák emésztése és transzportja fejezetben).

A raktározott TAG mobilizálását hormonok indukálják (glukagon és epinefrin) an intracelluláris **hormonszenzitív lipázon (HSL)** keresztül, amelynek termékei zsírsavak és glicerol. A zsírsavak a sejten belül **zsírsav-kötő fehérjékhez** kapcsolódnak, míg a véráramban az albuminhoz. Amikor más szövetekhez jutnak (izomszövet pl.), kötő- és transzportáló fehérjék veszik fel őket. A zsírsavak lebontása a sejten belül a **mitokondriumban** zajlik, ehhez azonban először a zsírsavaknak aktiválódni és a mitokondriumba transzportálódni szükséges. A **glicerol** a májba kerül, a hepatociták felveszik, glicerol kináz által foszforilálják, a glicerolfoszfát dehidrogenáz pedig dihidroxiaceton foszfáttá alakítja, amely a glikolízis és a glikoneogenezis intermedierje is (dihidroxiaceton foszfátból képződhet glicerol a fenti lépések fordítottjaként).

A **zsírsavak aktivációja** a mitokondrium külső membránjában történik az acetyl-CoA szintetáz hatására, ATP jelenlétében, pirofoszfát kihaladásával. A pirofoszfát ortofoszfáttá hidrolizálódik, az itt felszabaduló energia a szintetáz reakció egyensúlyát is befolyásolva. A termék **acetyl-CoA** nagy energiájú tioészter kötést hordoz.

Az aktivált acetyl-CoA a mitokondrium külső membránjában ülő **karnitin aciltranszferáz I** enzim révén a karnitinnel reagál. Az acetyl-karnitin konjugátum a belső mitokondriális membrán **transzlokáza** által a mitokondrium mátrixába kerül. A belső membrán **karnitin acil transzferáz II** enzime az acetyl-karnitint visszaalakítja acetyl-CoA-vá. Ezt a sajátos transzport mechanizmust csak a hosszú láncú zsírsavak veszik igénybe, a közepes szénláncú (C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>) zsírsavak a karnitin nélkül is bejutnak a mitokondriumba.

A **karnitin hiányban** szenvedő betegek izomgyengeségben szenvednek, különösen hosszabb idejű izommunka illetve éhezéskor; hipoglikémia (alacsony vércukorszint) és a vér ammóniaszint megemelkedése jelentkezik az elégtelen zsírbontás miatt. Ezeknek a betegeknek extra karnitin bevitelre van szükségük, és kerülniük kell az éhezést valamint a hosszú láncú zsírsavak fogyasztását.

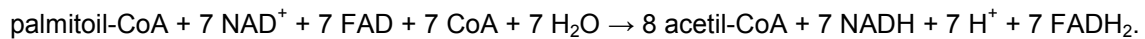
A zsírsavszintézis kezdeti lépésének intermedierje a **malonyl-CoA**, amely **gátolja** a karnitin acil transzferáz I működését, amelynek eredményeképpen a zsírsavszintézis ideje alatt a mitokondrium nem vesz fel zsírsavakat étetésre (lásd bővebben a lipid metabolizmus szabályozásában).

Egy acetyl-CoA molekula lebontása során egy négy lépésből álló kör a következő **enzimeket** tartalmazza: acetyl-CoA dehidrogenáz (FADH<sub>2</sub> képződése), enoyl-CoA hidratáz, 3-OH acetyl-CoA dehidrogenáz (NADH termelődése) és béta-ketotioláz. Ezen reakciók **végterméke** egy acetyl-CoA és két szénatom-

mal rövidebb acil-CoA, amely készen áll a fenti reakciósor megismétlésére. Az első enzim, acil-CoA dehidrogenáz több izoenzimmel rendelkezik, külön a hosszú, közepes és rövid szénláncú zsírsavakra.

Összegezve egy **palmitát (C16) teljes lebontása** során, amikor az acetyl-CoA molekulák belépnek a citrát körbe (egy FADH<sub>2</sub> 1,5 ATP, egy NADH 2,5 ATP előállítására alkalmas), összesen 106 ATP molekula tud szintetizálódni (ne feledkezzünk meg az aktivációs lépéshez használt ATP-ről!).

Egy palmitát molekula béta oxidációjának **egyenlete**:



A **kettős kötést** tartalmazó zsírsavak járulékos enzimeket igényelnek a lebontáshoz: izomeráz és esetleg reduktáz, a kettős kötés pozíciójától függően. **Páratlan szénláncú** zsírsavak lebontása során acetyl-CoA mellett propionil-CoA is képződik. Az utóbbit a propionil-CoA karboxiláz és a metilmalonil-CoA mutáz (egyike annak a három reakciónak, amelyek kobalamint – B<sub>12</sub> vitamint – használnak koenzimként) szukcinil-CoA-vá alakítja.

Számos hosszú láncú zsírsav a **peroxiszóma**ban megrövidül. Ebben a sejtalkotóban az acil-CoA dehidrogenáz által előállított FADH<sub>2</sub> az elektronokat közvetlenül az oxigénnek adja át, hidrogénperoxidot képezve. A peroxiszómaiban magas aktivitású a hidrogénperoxiddal reagáló kataláz. A peroxiszómaiban megrövidült zsírsavakat a mitokondriumok tovább bontják.



## 21. KETONTESTEK

- A ketontestek (**acetoacetát,  $\beta$ -D-hidroxiacetát, és acetón**) lipidekből származó, kis vízdékony molekulák.
- Csökkent vagy teljesen szénhidrátmentes táplálkozás során keletkeznek nagyobb mennyiségben, amikor a metabolizmusban az egyensúly a zsírsavak oxidációja felé tolódik el.
- A lipidek lebontása során keletkeznek. Oxidálódva a metabolikusan aktív szövetekben (például agy) részlegesen helyettesíthetik energiaforrásként a glükózt.
- Elsősorban a májban szintetizálódnak (kisebb mértékben a vesében).
- Az acetoacetát és a  $\beta$ -D-hidroxiacetát a máj mitokondriumában keletkeznek acetyl-CoA-ból. (Az acetyl-CoA belép a TCA ciklusba ha van elég oxaloacetát. Amennyiben nincs, ketontestekké alakul.)
- Az acetón vagy az acetoacetát spontán(nem enzimatis) dekarboxilációjával vagy az acetoacetát dekarboxiláz katabolizálta reakcióban keletkezik kisebb mennyiségben mint a többi ketontest, és kilégzéssel távozik..
- Acetoacetát és  $\beta$ -D-hidroxiacetát a vérrel a különböző szövetekhez szállítódik ( a máj kivételével), ahol acetyl-CoA-vá alakul és oxidálódik a citrát ciklusban, ezáltal energiát termel. A szív- és vázizom, valamint a vesekéreg közvetlenül használja a ketontesteket, az agy éhezésben adaptálódik a fogyasztására. A májban hiányzik egy kulcsenzim a ketontestek lebontásához, így nem használja csak termeli a ketontesteket..
- A ketontestek termelése és exportja a májba az extrahepatikus szövetekhez lehetővé teszi a zsírsav oxidáció folytatását a májban, amikor az acetyl-CoA nem képes oxidálódni a citrátciklusban.

### 21.1. KETOGENEZIS

A ketogenezis a ketontestek szintézisének az útvonala (előadás ábra).

1. Az acetoacetát képződéséhez vezető első lépés a májban két acetyl-CoA kondenzációja, amelyet a tioláz enzim katalizál (előadás ábra).
2. A keletkezett acetoacetyl-CoA azután kondenzál egy újabb acetyl-CoA-val  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA-vá (HMG-CoA) a HMG-CoA szintáz katalizálta reakcióban.
3. A HMG-CoA ezután szabad acetoacetáttá és acetyl-CoA-vá hasítódik (a HMG-CoA liáz enzim által).
4. Az acetoacetát reverzibilisen redukálódik D-  $\beta$ -hidroxiacetáttá. A reakciót katalizáló enzim a D- $\beta$ -hidroxiacetát dehidrogenáz, egy mitokondriális enzim, amely specifikus a D sztereoisomerre.
5. Egészséges egyénekben csak kis mennyiségű acetón képződik acetoacetátból, spontán vagy az acetoacetát dekarboxiláz enzim által.

Mivel a kezeletlen diabeteszes egyénekben nagy mennyiségű acetoacetát képződik, ezek vére nagy mennyiségű acetont tartalmaz, ami toxikus.

Az acetón illékony, kilégzése jellegzetes szagot ad a lehetetnek, ami hasznos lehet a diabetesz diagnosztizálásában.

## 21.2. A KETONTEST SZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

- A HMG-KoA a ketogenezis fontos intermediere. Szintézise a ketogenezis sebesség meghatározó lépése, és a máj az egyetlen szerv, ami a lépést katalizáló enzimet jelentős mértékben tartalmazza. Az enzim, a mitokondriális HMG-KoA szintetáz szintézisét a zsírsavak indukálják.
- A HMG-KoA a koleszterol szintézisben is intermediér, és a ketontest szintéziséhez vezető lépések megegyeznek a koleszterol bioszintézishez vezető lépésekkel, mindazonáltal a két folyamat különböző kompartmentben történik (ketontest szintézis- mitokondrium, koleszterol szintézis-citoszol).
- Ennélfogva a máj kétféle HMG-KoA szintetáz tartalmaz, egy citoszólost a koleszterin szintézishez, és egy mitokondriális szintetázhoz.
- Az utóbbi kovalens módosítással, szukcinilálás/deszukcinilálással szabályozódik. Ez az enzimek kovalens módosításának egy ritka formáját példázza.

## 21.3. KETONTESTEK LEBONTÁSA

Az extrahepatikus szövetekben:

1. D- $\beta$ -hidroxibutirátot a D- $\beta$ -hidroxibutirát dehidrogenáz oxidálja acetoacetáttá (Előadás ábra).
2. Az acetoacetát aktiválódik acetoacetyl-Koenzim A észterré egy KoA átadásával szukcinil-KoA-ról, egy citrát ciklus intermedierről, a  $\beta$ -ketoacetyl-KoA transzferáz (vagy más néven tioforáz) által katalizált reakcióban...
3. Az acetoacetyl-KoA-t azután a tioláz enzim elhasítja két acetyl-KoA-ra, amelyek belépnek a citrátkörbe.

Az első és harmadik reakció megegyezik a ketontest szintézis lépéseivel, a középső reakció azonban különbözik. Valójában a második reakció a sebességhatározó lépés az átalakulásban. Ezenfelül ezt a lépést katalizáló tioforáz a májban nem expresszálódik. Ezáltal a máj ketontesteket szintetizál más szövetek részére, de maga nem tudja őket felhasználni.

A máj általi ketontest szintézis és export lehetővé teszi a zsírsav oxidáció folytatását energiatermelés céljából, amikor az acetyl-KoA oxidációja minimális. Például amikor a citrát ciklus intermediereket (különösen az oxálacetátot, amely csak kis koncentrációban fordul elő) a glukoneogenezis elviszi a glükóz szintéziséhez, a ciklus intermedierek oxidációja lelassul- így az acetyl-KoA oxidációja is.

Ezenfelül a máj csak korlátozott mennyiségű KoA-t tartalmaz, és amikor az acetyl-KoA formájában kötve van, a  $\beta$ -oxidáció lelassul szabad KoA hiányában. A ketontest termelés és export felszabadítja a szabad KoA-t, így lehetővé teszi a zsírsav oxidáció folytatását.

## 21.4. KETÓZIS, KETONURIA ÉS KETOACIDÓZIS

A ketontestek túltermelése vagy **ketózis**, a ketontestek vérbeli koncentrációjának nagymértékű megemelkedéséhez vezet (**ketonémia**), ami számszerűen 0.3 és 7.0 mmol/L közötti vér ketontest koncentráció.

Ketózishoz vezető körülmények

- **Alacsony szénhidrát tartalmú táplálékfelvétel** (csak lipidek; vagy teljes koplalás): Táplálékból származó szénhidrátok hiányában a test zsírsavakat és aminosavakat metabolizál. A

glicerol és bizonyos aminosavak lesznek a glukoneogenezis prekursorai, ahogy a test igyekszik fenntartani a vér glükóz szintet az idegsejtek, izom, és a többi szövet részére.

- **Diabetes:** A szövetek nem képesek a normális glükóz felvételre, és a test úgy érzi, mintha energiahányban szenvedne. A metabolizmus olyan irányba tolódik el, mint tartós éhezés vagy koplálás esetén.

A ketontest felesleget a véráramból a vese szűri ki, és a vizelettel távozik. Ez az állapot a **ketonuria**. Az oldott ketontestek ozmotikus hatására több vizelet ürül a vesén át a megszokottnál. Az egyensúly ily módon való felborulása komoly következményekkel jár, ha a **test (és szérum) iontartalmái kimerülnek** (olyan mint nátrium, kálium, foszfát). A **kiszáradás** a másik következmény.

A ketontestek szerves savak, és lesavasítják a környezetüket.

Ha ezen szerves savak koncentrációja a vérben meghaladja az intracelluláris és extracelluláris testfolyadékok pufferkapacitását, a **vér pH-ja 7.3 alá csökken**. Ez az **acidózis**, illetve pontosabban az eredeete miatt **ketoacidózis**.

Az acidózis más hatásai mellett a vörösvértestek oxigén szállító kapacitását is csökkenti, így igen súlyos kóros állapot.

## 21.5. DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus az inzulin termelés hiánya esetén, vagy az inzulinra való válaszkészség károsodásának következményeként alakul ki.

- 1-es típusú diabetes mellitusban a hasnyálmirigy  $\beta$ -sejtjei károsodtak, ennek következtében nincs inzulin termelés. Az eredmény megnövekedett vércukor szint (hiperglikémia), mivel az inzulin indukálja a glükóz felvételét a vérből a sejtekbe
- 2-es típusú diabetes mellitusban (eleinte)nincs károsodás az inzulin termelésben és szekrécióban, de az inzulinra való válaszkészség csökkent, mivel az abban résztvevő valamely komponens nem működik.

Mindkét esetben, a test energiahányos állapotot érzékel, mivel a szövetek nem képesek felvenni a vérben keringő glükózt. A folyamatos glükóz éhség a máj glikogén raktárának kiürüléséhez vezet, amelyet a fehérjék és lipidek energianyeres szempontjából való lebontása követ, megnövekedett ketontest szintézissel.

A glukoneogenezis sebessége is megnő, mivel a sejtek glükózhányt tapasztalnak a vérben keringő glükóz jelenléte ellenére.

A magas vérglükóz koncentráció a vizelettel való glükóz ürítéshez vezet diabetes mellitusban.

- Az egyik mellékhatás a kiszáradás, mivel a megnövekedett ketontest és cukor kiválasztás növekedett össz vizeletürítéshez vezet.
- A másik mellékhatás a hemoglobin és más fehérjék megnövekedett nem-enzimatis glikozilációja. Valójában, a stabil glikozilált termék, a hemoglobin A1c koncentrációjának meghatározása diagnosztikus értékű a hiperglikémia súlyosságának megítélésében.

(A diabetes insipidus egy teljesen más betegség- egy agyalapi mirigy rendellenesség, amely a vese működésére van közvetlen hatással; abban az esetben nincs rendellenes glükózsint a vizeletben (a vizelet íztelen (insipid) és nem édes.



## 22. ZSÍRSAVAK BIOSZINTÉZISE

- A zsírsavak bioszintézise a **citoszólban**, míg a zsírsav oxidáció a mitokondriumban megy végbe.
- A bioszintézis reakciói majdnem a  $\beta$ -oxidáció ellenkező irányú lépései.
- A zsírsavlánc **két szénatomos egységek egymás utáni adásával** épül fel. A két szénatomos egységek **acetyl-KoA-ból** származnak.
- A két ellentétes útvonal **kofaktor szükséglete különbözik**:
  - A bioszintézis enzimeit **NADP<sup>+</sup>/NADPH**- használják NAD<sup>+</sup>/NADH helyett (ez általában is jellemző a bioszintézisekre).
  - Egy speciális tiol (az acil karrier protein, vagy **ACP**) helyettesíti az oxidációs reakciókban használt KoA-t.

### 22.1. A ZSÍRSAV BIOSZINTÉZIS ÁTTEKINTÉSE

- A folyamat két acetyl-KoA egységgel kezdődik. Az egyik a zsírsav szintáz (FAS) egy tiol maradékjára transzferálódik.
- A másik először karboxilálással aktiválódik (egy másik enzimmel) malonil-KoA-vá; a malonil-KoA azután egy másik, közeli tiol helyre kötődik a FAS komplexen.
- Azután ezek az acil komponensek számos lépésben a második tiol helyhez kapcsolt butirát tioészterre alakulnak.
- Majd másik malonil egység kapcsolódik az első tiol helyre, és a szomszédos acil csoportok kapcsolódnak, és átalakulnak egy, a második tiol helyhez kötött terméké.
- Ezen reakció ciklusok ismétlődésével hosszabbodik a szénlánc két szénatomos egységenként, malonil-KoA molekulák felhasználásával. A folyamat általában befejeződik, amikor a lánc eléri a 16 szénatomos hosszúságot.

#### A zsírsav szintézis iniciációja

- A két indító lépés a malonil-KoA szintézise, és a szintáz komplex feltöltése a két szubsztráttal:
1. **Az acetyl-KoA karboxilációja malonil-KoA-vá:** Egy különálló enzim (acetyl-KoA karboxiláz vagy ACC), nem a FAS katalizálja a reakciót.
  2. **A FAS feltöltése:** Egy acetyl-KoA és egy malonil-KoA kapcsolódik a megfelelő tiol csoportokhoz a zsírsav szintáz komplexen..

#### Az acetyl-KoA karboxilálása az acetyl-KoA karboxiláz (ACC) katalizálta reakcióban



- Az ACC enzim katalizálja a malonil-KoA képződését acetyl-KoA-ból egy kétlépéses, ATP hidrolízis által elősegített reakcióban. Ez egy irreverzibilis lépés, és a zsírsav bioszintézis elkötelezett lépése.
- Az ACC biotin kofaktort igényel a karboxil csoport átadásához a szubsztrátról a termékre.
- Az enzim bakteriális formája erősen eltér az eukarióta formától, ezért a bakteriális forma antibiotikum fejlesztés célpontja.
- Az emlős ACC-nek két különböző izoformája van, az ACC- $\alpha$  (vagy ACC-1) és ACC- $\beta$  (ACC-2), amelyek eltérnek egymástól a kódoló génekben, aminosav szekvenciában és szöveti expresszióban.
- Mindkét forma, az ACC- $\alpha$  és az ACC- $\beta$  kovalens (foszforilálás) és allosztérikus (a citrát pozitív allosztérikus regulátor) szabályozás alatt áll.

### A zsírsav-szintáz (FAS) szerkezete

- Eukariótákban a zsírsav szintáz két, azonos polipeptid láncból álló dimer formájában fordul elő.
- Mindegyik lánc számos, eltérő aktivitású domént tartalmaz.
- A zsírsav szintézis folyamata alatt az intermedierek kovalensen, tioészter kötéssel kapcsolódnak két tiol csoport egyikéhez. Az egyik kapcsolódási pont a  $\beta$ -ketoacil-ACP szintáz (KS) egyik Cys oldalláncának –SH csoportja, a másik az acil-karrier fehérje (ACP) –SH csoportja.
- Az acil-carrier protein (ACP) kapcsolja össze a rendszert. Foszfopantetein prosztetikus csoportja flexibilis karként szolgál, ami mozogni képes az aktív helyek között.
- Ez a foszfopantetein kar és az aktív helyek sűrű elrendezése biztosítja az intermedierek hatékony szállítását egyik katalitikus helyről a másikra.
- A zsírsav szintáz bakteriális formája eltér az eukariótákétól. Ez számos különböző polipeptidláncból épül fel, minden egyes lánc csak egyféle, eltérő enzimaktivitással rendelkezik.

### A zsírsav szintáz feltöltése

- Először az acetil-KoA acetil csoportja áthelyeződik ACP-re, a multifunkcionális polipeptid **malonil/acetil-CoA-ACP transzferáz (MAT)** doménje által katalizált reakcióban.
- Azután az acetil csoport áthelyeződik a  $\beta$ -ketoacil-ACP szintáz (KS) Cys oldalláncának –SH csoportjára.
- A második reakcióban, a malonil-KoA malonil csoportja transzferálódik az ACP –SH csoportjára. Ezt a lépést szintén a malonil/acetil-CoA-ACP transzferáz (MAT) katalizálja.
- Az így feltöltött szintáz komplexben az acetil és malonil csoportok aktiváltak a lánchosszabítási folyamathoz.

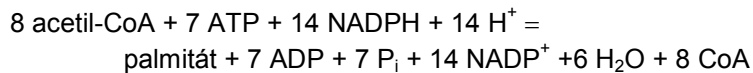
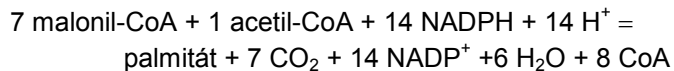
### A zsírsav szintézis ismétlődő lépései

- Amint a zsírsav szintáz fel van töltve szubsztrátokkal, elkezdődhet a szintézis, amely négy lépésből áll.
- Az első egy **kondenzációs** lépés, amelyben a malonil csoport dekarboxilációjával keletkezett karbanion megtámadja a szomszédos acetil csoportot, és egy 3-ketocsoportot tartalmazó ACP-hez kapcsolt ketoacil csoport jön létre. A reakciót a ketoacil-ACP szintáz (KS) katalizálja..
- A következő lépés a  $\beta$ -ketoacil-ACP reduktáz (KR) által katalizált **redukciós** lépés, ami NADPH-t használ a 3-ketocsoport redukálásához a megfelelő alkohollá.
- Ezt követi a hidroxiacil-ACP dehidratáz (DH) által katalizált **dehidratálási** lépés, ami transz konfigurációjú szén-szén kettős kötést hoz létre.
- Majd ezt egy második, NADPH-t használó **redukciós** lépés követi, amelyet az enoil-ACP-reduktáz (ER) enzim katalizál. Ez a lépés a telített alkil lánc keletkezéséhez vezet.

### Terminációs lépés

- Az előző, négy lépésből álló ciklus ismétlődik, amíg a megfelelő hosszúságú alkil lánc megszintetizálódik.
- Emberben a folyamat a 16 szénatomos palmitoil lánc szintéziséig folytatódik..
- Azután a **tioészteráz** enzim (TE) **elhidrolizálja a tioészter kötést**, ami felszabadítja a szabad zsírsav terméket (palmitátot) és regenerálja a zsírsav szintáz..

## 22.2. PALMITINSAV SZINTÉZIS



- Egy acetil egység lép be közvetlenül az útvonalba, a többi (plusz hét a palmitinsav szintéziséhez) malonil-KoA formájában. A karboxilációhoz így plusz energiabefektetésre van szükség, éppúgy mint a redox reakciókban.
- Figyelje meg az ATP és NADPH formájában befektetett energia költségeket. A C-16 zsírsav szintéziséhez 7 ATP molekulára (nem 8-ra) és 14 NADPH –ra van szükség.
- Vegye észre, hogy csak 6 nettó vízmolekula képződik, mert egy felhasználódik a tioészter kötés hidrolíziséhez, ami a palmitát terméket az enzimhez kapcsolja..
- A dekarboxilálási, CO<sub>2</sub> felszabadulással járó reakció segíti elő a kondenzálási lépést, ez részben kompenzál az ATP fogyasztás költségéért.

További megjegyzések

- Mivel a zsírsavak C2 egységekkel hosszabbodnak, a legtöbb zsírsav **páros szénatomszámú**
- A citoszolban található zsírsav szintáz **maximum 16 C**-atom hosszúságú, telített zsírsavakat hoz létre.
- A hosszabb, és/vagy telítetlen zsírsavakat a mitokondrium és az ER enzimrendszerei hozzák létre
- Páratlan C-atomszámú zsírsavak akkor jönnek létre, ha az AT tévedésből propionil-CoA-t fogad el szubsztrátként .

## 22.3. CITRÁT INGA (SHUTTLE)

- A szénhidrátok vagy fehérjék lebontása acetil csoportot eredményez, de ezek a mitokondriumban keletkeznek.
- Ezek az acetil csoportok felhasználhatók zsírsav szintézisre, azonban ehhez az **acetilcsoportokat át kell szállítani a citoszolba**, mivel a mitokondrium belső membránja nem átjárható az acetil-KoA számára.
- Ezt a szállító funkciót a citrát inga tölti be.
- Először a mitokondriumban citrát képződik acetil-KoA-ból és oxálacetátból a **citrát szintáz** által katalizált reakcióban, majd a **citrát transzporter** ezt a citoszólba szállítja. A citoszolban a **citrát liáz** elhasítja a citrátot acetil Ko-A-ra és oxálacetátra egy **ATP függő reakcióban**. Majd a citoszólos malát dehidrogenáz redukálja az oxálacetátot maláttá (mivel a membránban nincs oxálacetát transzporter), ami visszakerül a mitokondrium matrixba a malát- $\alpha$ -ketoglutarát transzporterrel keresztül egy citrátért cserébe. A mátrixban a malát reoxidációja oxálacetáttá zárja a ciklust..
- A citoszolban a citrát a sejt energiaállapotának indikátoraként is szolgálhat, bizonyos enzimek alloszterikus regulátoraként.

## 22.4. A CITOSZÓLOS NADPH FORRÁSA

- Máj és zsírsejtekben a zsírsav szintézishez szükséges citoszólos NADPH a **pentóz foszfát útvonalon** és a **malát enzim** által katalizált reakcióban keletkezik..

- A citoszólban képződött malát (citrát inga) nagy része citoszólos NADPH képzésére fordítódik a malát enzim által. A képződött piruvátot a piruvát transzporter a mitokondriumba szállítja, és ott a piruvát karboxiláz visszaalakítja oxálacetáttá.
- Ez a ciklus két plusz ATP-t fogyaszt minden egyes zsírsav szintézishez felhasznált acetyl-KoA szállításáért.

## 22.5. A ZSÍRSAV BIOSZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

- A rövid távú szabályozás hormonális szignálokat és enzim kaszkádokat foglal magába. A szabályozás mind az acetyl-KoA karboxiláz, min a zsírsav szintáz komplex aktivitásának kontrollálásán keresztül történik. A rövid távú szabályozást (ami csak perceket vesz igénybe) a sejt energia igénye határozza meg. A sejt energiaállapotának egyik jelzője a citrát, ami az enzimek allostérikus regulátora. Az enzimek foszforiláltsági állapota, amely a sejt ATP szintjétől függ, szintén az energiaszintek indikátora lehet.
- A zsírsav metabolizmus hosszú távú szabályozása az enzim szintézis és lebontás arányának változásán keresztül megy végbe (adaptív kontrol). Ez a szabályozás szintén a zsírsav szintáz és az acetyl-KoA karboxilázon keresztül történik..

### A zsírsavak elongációja (lánc hosszabbítás)

- Állati sejtekben a zsírsav szintáz működésének fő terméke a **palmitát**, ami a hosszabb/telítetlen szénláncú zsírsavak prekursora.
- A lánc hosszabbítás két szénatomos egységenként történik, ahol **malonil-KoA** vagy **acetyl-KoA** a két szénatomos egységek forrása.
- A folyamatot nem a zsírsav szintáz, hanem más, speciális szintázok katalizálják.
- A reakciók hasonlóak a zsírsav szintáz által katalizált lépésekhez, ugyanazt a négylépéses mintát követik, tioészter aktiváció, karbonil csoport redukció, dehidratálás, szén-szén kettős kötés redukció, azonban itt **KoA és nem ACP** az acil hordozó a reakcióban. A **redukáló ekvivalenst NADH vagy NADPH szolgáltatja**, szövettől és sejten belüli helyszíntől függően.
- Ezek a reakciók a **mitokondriumban** vagy az **endoplazmatikus retikulumban** mennek végbe.

### A zsírsavak deszaturációja

- Egyszeresen telítetlen zsírsavak létrehozása az endoplazmás retikulumban megy végbe, ahol **kevert funkciójú oxidázok** (zsírsav acil-KoA deszaturáz) szimultán oxidálják a zsírsavat (kettős kötést beépítésével) és a NADPH-t. Az elektron áramlás útvonala egy citokromon (citokrom b5) és egy flavoproteinen (citokrom b5 reduktáz) keresztül történik. Ez egy *cisz* kettős kötést hoz létre, a lánc végétől legalább 6 szénatom távolságra.
- Többszörösen telítetlen zsírsavak ( *cisz* kettős kötésekkel) lánc elongációs és deszaturációs reakciók kombinálásával jönnek létre. Erre példa az arachidonsav, amely a prosztaglandinok és tromboxánok prekursora.
- Emberben ezen reakciók némelyike nem megy végbe, például az olajsav linolsavvá, és a linolsav  $\alpha$ -linolénsavvá való deszaturációja (emlősök képesek kettős kötést beépíteni  $\Delta 9$  zsírsav pozícióba, de nem tudnak beépíteni további kettős kötések a C-10 és a metil vég közé). Ez az oka hogy a **linolsav és az  $\alpha$ -linolénsav eszenciális zsírsavak**, amelyeket a táplálékból kell felvenni.



### A zsírsavak egyéb módosításai

- Elágazások létrehozása (branching): Elágazó láncú zsírsavak ritkák magasabbrendű állatokban, növényekben azonban általánosak. Az "elágazás" egy metil csoport, ami akkor jön létre, amikor malonil-KoA helyett metilmalonil-KoA használódik fel a lánc hosszabbítási reakcióban.
  - "Elágazás" emberben előfordulhat patológiásan B12 vitamin hiány következtében.
- Alkoholok: A zsírsavak redukálódhatnak egy NADPH-függő folyamatban megfelelő zsíralkohollá. Ez az endoplazmás retikulumban megy végbe. A zsíralkoholok azután beépülhetnek bizonyos foszfolipidekbe. Zsíralkoholok előfordulnak a bőrolajokban, fülzsírban stb., ahol síkosítóként és vízzel és baktériumokkal szembeni akadályként szolgálnak.



## 23. KOMPLEX LIPIDEK METABOLIZMUSA

### 23.1. GLICEROFOSZFOLIPIDEK (FOSZFOGLICERIDEK)

A glicerofoszfolipidek **membrán lipidek**, amelyekben **két zsírsav kapcsolódik észter kötéssel a glicerol egyes és kettős szénatomjához**, és egy **poláros és töltéssel rendelkező csoport kapcsolódik foszfodiészter kötéssel a harmadik szénatomhoz** (előadás ábra).

A glicerofoszfolipidek mint a kiinduló komponens, a **foszfatidsav** (diacilglicerol-foszfát), származékai vannak elnevezve a fejcsoportban található poláros komponens alapján. Például a **foszfatidilszerin** és **foszfatidiletanolamin** szerin és etanolamin poláros fejcsoportot tartalmaznak. A **foszfatidilkolin** (kolin fejcsoporttal) lecitinként is ismert. Az **inozitidek** olyan foszfolipidek, amelyekben inozitol a kapcsolott alkohol. Az inozitideknek fontos szerepe van a biológiai jelátviteli folyamatokban és a glikoproteinek plazmamembránhoz való kihorgonyzásában.

Mindezen komponensekben a fejcsoport a glicerinhez foszfodiészter kötésen keresztül kapcsolódik, amelyben a foszfát csoport semleges pH-n negatív töltéssel rendelkezik. A poláros alkohol lehet negatív töltésű (mint a foszfatidilinozitol-4,5 biszfoszfátban), semleges (foszfatidilszerin), vagy pozitív töltésű (foszfatidilkolin, foszfatidiletanolamin). Ezek a töltések hozzájárulnak a membránok felszíni jellemzőihez.

A **zsírsavak változatosak lehetnek** a glicerofoszfolipidekben, így egy adott foszfolipid számos fajta lehet, sajátos zsírsavösszetétellel. Általában a glicerofoszfolipidek egy C<sub>16</sub> vagy C<sub>18</sub> telített zsírsavat tartalmaznak C-1 pozícióban, és egy C<sub>18</sub> vagy C<sub>20</sub> telítetlen zsírsavat C-2-n.

Ha csak egy zsírsav kapcsolódik a glicerolhoz, **lizofoszfatidsavnak** nevezzük a komponens (monoacilglicerol foszfát) (előadás ábra). Az acil csoport kapcsolódhat akár a C-1-hez akár a C-2-höz ebben az esetben. A lizolecitin az 1-acilglicerolfoszfokolin (a „lizo” rész a névben a komponens detergens hatásából származik, mivel az biomembránokat szolubilizálhat és sejt lízist okozhat).

A **kardiolipin** egy komplex foszfolipid, amelyben a glicerol nemcsak a komponens”gerince”, de a foszfát csoporthoz észteresített alkohol is (előadás ábra). Ez a komponens a biológiai membránok merevítésében játszhat szerepet.

Némely állati szövet és egysejtű organizmus gazdag **éter lipidekben**, amelyekben egy a két acil lánc közül éter kötésben kapcsolódik a glicerinhez (előadás ábra).Az éter-kötött lánc lehet telített, mint a vérlemezke aktiváló faktorban, vagy tartalmazhat egy kettős kötést C1 és C2 között, mint a **plazmalogénekben**. A gerincesek szíve gazdag éter lipidekben, és a baktériumok és bizonyos gerinctelenek membránja szintén nagy arányban tartalmaz éter lipideket.Az éter lipidek funkciója ezekben a membránokban nem ismert, talán a foszfolipázok (amelyek az észter-kötött zsírsavakat hasítják a membránból) elleni rezisztencia játszhat jelentős szerepet.

Legalább egy éter-lipid, a **vérlemezke aktiváló faktor** (PAF), hatékony molekuláris szignál. A leukocitákból szabadul fel, és stimulálja a v érlemezke aggregációt és szerotonin felszabadulását a vérlemezkékből. Fontos szerepet játszik a gyulladásban és az allergiás válaszban is.

### 23.2. A FOSZFOLIPIDEK FŐ BIOLÓGIAI FUNKCIÓI

#### 1. Membrán komponensek:

- A foszfolipidek a legtöbb biomembrán domináns alkotórészei. Fehérjéknek a membránok kettős lipid rétegéhez való kihorgonyzásában is szerepet játszanak ( pl. inozitidek és glukoproteinek).

## 2. Surfactant hatás:

- A dipalmitoilecitin a tüdőben csökkenti az alveolusokban a felületi feszültséget, ami lehetővé teszi a tüdőszövet szabad tágulását és összehúzódását.
- A foszfatidilkolin detergensként/szulubilizáló ágensként szolgál az epében, elősegítve a koleszterol oldását és transzportját.

## 3. Kommunikáció:

- A foszfatidilinositol 4,5-*bis*foszfát központi szerepet játszik a fő jelátviteli utak egyikében.

### 23.3. TRIACILGLICEROLOK ÉS FOSZFOLIPIDEK BIOSZINTÉZISE

A szervezet által felvett vagy szintetizált zsírsavaknak két fő sorsa lehet:

1. Triglicerid szintézisére fordítódik (metabolikus energia raktározás)- amikor a szervezet nincs növekedésben és táplálék ellátása bőséges
2. Membrán foszfolipidek szintézisére fordítódik- növekedés alatt, amikor az új membránok szintéziséhez membrán foszfolipidekre van szükség

A foszfatidsav és az 1,2-diacil-glicerol közös intermedierek a foszfolipidek és triacilglicerolok bioszintézisének útvonalában és mindkét útvonal közös enzimeket is igényel.

#### A foszfatidsav szintézise

- A foszfatidsav glicerol-3-foszfátból és acil-KoA-ból szintetizálódik.
- A glicerol-3-foszfát többsége a glicerol-3-foszfát dehidrogenáz enzim által katalizált NADH - függő redukciós reakcióban képződik a glikolítikus intermedier dihidroxiaceton-foszfátból (DHAP),.
- Májban és vesében glicerinnél is keletkezhet glicerol-3-foszfát kis mennyiségben a glicerol kináz által. .
- Az acil-KoA zsírsavból jön létre az acil-KoA szintetáz enzim működése által (uganez az enzim felelős a zsírsavak aktivációjáért a zsírsavlebontáshoz).
- A glicerol-3-foszfát két szabad hidroxil csoportja egymás után acilálódik két acil-KoA által diacil-glicerol-3-foszfáttá, vagy közönséges nevén foszfatidsavvá vagy foszfatidáttá. Ezeket a reakciókat acil transzferáz enzimek katalizálják.
- A másik útvonal a diacilglicerol foszforilálásán keresztül vezet a foszfatidsavhoz.
- Eukariótákban a foszfatidsav szintézis főleg az endoplazmás retikulumban megy végbe, de a mitokondriumban is előfordulhat.

#### Triglicerid Bioszintézis

- Triacilglicerol bioszintézis csak a májban, zsírszövetben és bélben fordul elő.
- A trigliceridek foszfatidsavból szintetizálódnak (ami már tartalmaz két zsírsavláncot).
- Azután a foszfatidsavat a citoszólos foszfatidsav-foszfatáz hidrolizálja 1,2-diacilglicerollá.
- A diacilglicerolok azután átalakulnak triacilglicerollá transzészterifikációval egy harmadik acil-KoA felhasználásával.
- A három zsírsav a trigliceridben lehet azonos vagy eltérő.

### Membrán foszfolipidek szintézise

- Alapvetően minden sejt képes bizonyos mértékig foszfolipid szintézisre (kivéve az érett vörösvértestek)
- A membrán foszfolipidek két útvonalon keresztül szintetizálódhatnak.
- Az egyik út egy „alkoholt” kapcsol az aktivált diacil-glicerolhoz.
- A másik út az alkoholt aktiválja és azután adja azt a diacilglicerolhoz.

### Foszfadilszerin bioszintézis

- Baktériumokban először a foszfatisav aktiválódik (CTP segítségével) CDP-diacilglicerollá.
  - Ez hasonló az UTP használatához a cukor aktiválásához a bioszintézisekben, ahol UDP-cukor konjugátum keletkezik és pirofoszfát szabadul fel.
- Azután a citidin-monofoszfát felszabadul és egy foszfátészter kötés kapcsolódik az alkoholhoz (pl. szerin) létrehozva a terméket, a foszfadilszerint.
- Emlősökben a foszfadilszerin foszfadiletanolaminból vagy foszfadilkolinból keletkezik fejcsoport kicserélődési reakciókban, amik az endoplazmás retikulumban mennek végbe.

### Foszfadilkolin bioszintézis

- Először az „alcohol” (kolin) aktiválódik ATP segítségével foszfokolinná a kolin kináz által katalizált reakcióban.
- Majd CDP-kolinná alakul.
- Ezután a CDP-kolin diacilglicerollal kapcsolódva foszfadilkolinná alakul egy kolin foszfotranszferáz katalizált reakcióban.
- A májban foszfadilkolin keletkezhet a foszfadiletanolamin metilációjával is (itt S-adenozilmetionin a metil csoport donor).

### Foszfadiletanolamin bioszintézis

- Egyik útvonalon a foszfadilkolinhoz hasonlóan először az etanolamin aktiválódik (ATP-vel) egy kináz által foszfoetanolaminná, amelyik azután átalakul CDP-etanolaminná. Végül ez diacilglicerolhoz kapcsolódik egy etanolamin foszfotranszferáz katalizált reakcióban, foszfadiletanolamint eredményezve.
- A másik úton a foszfadilszerin szerin része dekarboxilálódik a foszfadilszerin dekarboxiláz által foszfadiletanolaminná.

### Foszfadilinozitol bioszintézis

A CDP-glicerol inozitollal való kondenzációja a foszfadilinozitol transzferáz által katalizált reakcióban hozza létre a foszfadilinozitol.

### Remodelling reakciók

- A zsírsavak asszimmetrikus eloszlása a foszfolipidekben remodelling reakciók eredménye.
- Két foszfolipáz, a foszfolipáz A1 és foszfolipáz A2 sok szövetben megtalálható, és szerepet játszik a specifikus foszfolipid szerkezet kialakításában, ami a megfelelő zsírsavakat tartalmazza az sn-1 és sn-2 pozícióban.
- A nemkívánt zsírsav eltávolítása után a foszfolipáz A1 vagy A2 által lizofoszfatisav marad vissza. Az új zsírsav beépítése történhet 1. direkt acilálással acil-KoA-ból (zsírsav specifikus acil-transzferáz által), vagy 2. más foszfolipidekből kicserélődési reakciókban.

## 23.4. SPHINGOLIPIDS

A szfingolipidek a szfingozin származékai. **Szerepük** igen sokrétű:

- Bizonyos szfingolipidek intracellulárisan jelátviteli utakban másodlagos messengerként működnek, részt vesznek a sejtosztódás, differenciáció, migráció és apoptózis (programozott sejthalál) szabályozásában.
- Membrán komponensként merevebbé teszik a lipid kettősréteget és csökkentik az integrált membrán komponensek diffuzibilitását.
- Különböző szénhidrát módosulatokkal a szfingolipidek a sejtmembránban biológiai felismerőhelyként működnek, mint a humán vércsoport típusok esetében.

## 23.5. A SZFINGOLIPIDEK SZERKEZETE

A szfingolipidek, a membrán lipidek negyedik osztálya, szintén tartalmaz egy poláros „fejcsoportot” és két nem poláros „farkat”, de nem tartalmaz glicerolt. A szfingolipidek egy **hosszú láncú aminoalkoholból (szfingozinból)**, egy **hosszú-láncú zsírsavból**, és egy **poláros fejcsoportból** épülnek fel. A poláros fejcsoport némely esetben glikozidos kötéssel, más esetben foszfodiészter kötéssel kapcsolódik (előadás ábra).

A **szfingozin** palmitoil CoA-ból és szerinből származik, egy sorozat átalakuláson keresztül.

Tartalmaz egy „farkat”, egy C-C kettős kötést és egy amino csoportot, ami amid kötéssel zsírsavakhoz kapcsolódhat, ceramidot létrehozva.

A szervezetben lényegében nincs szabad szfingozin; azonnal kolin vagy cukor származékokká alakul, ceramid intermedieren keresztül. (A ceramid egy zsírsav amid kötéssel való kapcsolódásával jön létre a szfingozin C2-én levő –NH<sub>2</sub>-hoz.) A ceramid nemcsak egy intermedier, ez minden szfingolipid szerkezeti „felmenője”.

A szfingolipideket három alosztályba sorolhatjuk. mind a ceramid származékai, de különböznek a fejcsoportban:

- szfingomielinek,
- neutrális (nem töltött) glikolipidek és
- gangliozidok.

A **szfingomielinekben** foszfokolin vagy foszfoetanolamin a poláros fejcsoport, ezáltal a foszfolipidek csoportjába sorolhatók (a glicerofoszfolipidekhez hasonlóan). A szfingolipidek semlegesek fiziológiás pH-n, és szövettől függően különböző zsírsavakat tartalmazhatnak. Az állatok sejtjeinek plazmamembránjában fordulnak elő, különösen a mielinben (némely neuron axonját körülvevő membránszerű hüvely). Niemann-Pick betegségben (amelyet a szfingomielináz enzim genetikai defektusa okoz, ami foszfokolint hasítja le a szfingomielinről) a szfingomielin felhalmozódik az agyban, lépben és a májban, ami mentális retardációhoz és korai halálhoz vezet.

A **glikoszfingolipidek** esetében, amelyek nagyrészt a plazmamembránok külső felszínén találhatók, a fejcsoport egy vagy több cukor, ami közvetlenül a ceramid C1 –OH csoportjához kapcsolódik; ezek nem tartalmaznak foszfátot.

A **cerebrozidokban** egyetlen cukor kapcsolódik a ceramidhoz: galaktóz (az idegszövetben levő sejtek plazmamembránjában) vagy glükóz (nem idegszövetben levő sejtek plazmamembránjában)

**A globozidok** két vagy több cukrot tartalmazó glikoszfinolipidek, ami rendszerint D-glükóz, D-galaktóz vagy N-acetil-D-galaktózamin. A cerebrozidok és globozidok általában semleges glikolipidek, mivel pH7-nél nincs töltésük..

**A gangliozidok** a legkomplexbbszfinolipidek, poláros fejcsoportként oligoszacharidokat tartalmaznak, és egy vagy több N-acetilneuraminsavat, egy szíálsavat a végén. A szíálsav negatív töltést ad a gangliozidoknak pH7-nél. A gangliozidok egy szíálsavval a GM sorozatba tartoznak (M a mono=1 miatt), kettővel a GD sorozatba (D a di=2) és így tovább. A gangliozidok a ganglion sejtekre jellemzőek. A sejtek külső felszínén koncentrálnak, ahol felismerési pontokat biztosítanak extracelluláris molekulák számára, vagy a szomszédos sejteknek. A kolera toxin egy, a bélmukózán előforduló gangliozidhoz kötődik. A gangliozidok felhalmozódása (ami lizoszomális enzimek defektusának a következménye) mentális retardációhoz, májmegnagyobbodáshoz és korai halálhoz vezet.

Szulfát csoportok kapcsolása a galaktocerebrozidokhoz **szulfatidokat**, (vagy szulfogalaktozidokat) hoz létre; a donor ezekben a reakciókban a 3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát (PAPS).

## 23.6. SZFINGOLIPID BIOSZINTÉZIS

- A szfinolipidek bioszintézise az endoplazmás retikulumban kezdődik a **szfingozin** szintézisével **palmitoil KoA-ból és szerinből**. A szerin dekarboxiláláson keresztül aktivált zsírsavhoz kapcsolódik egy piridoxál foszfát kofaktor függő reakcióban. Ezt két redox reakció követi-az első egy NADPH-t igénylő redukció, a második egy FAD használó oxidáció-szfingozint eredményezve.
- A szfingozin csak intermedier, nem halmozódik fel jelentős mértékben, hanem felhasználódik **ceramid** szintéziséhez (egy zsírsavlánc hozzákapcsolása által a szfingozin amino csoportjához).
- **Szfingomielin** akkor keletkezik, amikor egy foszfokolin tevődik át foszfatidilkolinról (lecitinről) a ceramid hidroxil csoportjára. A szfingomielin egy fő membrán komponens néhány sejtben és organellumban, és a membrán merevségéhez járul hozzá.
  - Ha egy vagy több cukor kapcsolódik a ceramid hidroxil csoportjához, az eredmény egy **glikoszfinolipid**. (Glikoszfinolipidek ceramidból és aktivált cukrokból (UDP-cukor) képződnek.
  - Ha csak egy monoszaharid kapcsolódik, a komponens neve **cerebrozid**.
- Több cukor egység is kapcsolódhat, beleértve a módosított cukrokat, olyan mint acetilgalaktózamin és N-acetilneuraminsav (szíálsav). A **Globozidok** neutrális glikoszfinolipidek, mint a cerebrozidok, két vagy több cukor egységgel, ami rendszerint D-glükóz, D-galaktóz vagy N-acetil-D-galaktózamin. A **Gangliozidok** a legkomplexbb szfinolipidek, oligoszacharidokat tartalmaznak poláros fejcsoportként és egy vagy több N-acetilneuraminsavat, egy szíálsavat a láncvégen. A szíálsav negatív töltést ad a gangliozidoknak pH7-nél.
- Ezek a komplex glikoszfinolipidek a sejtmembránokban úgy helyezkednek el, hogy a szacharid rész a sejtből kifelé nyúlik; így fontos extracelluláris felismerő helyek(pl., az immun rendszerben a vércsoport antigének)
- A bioszintézis ezen későbbi lépéseit a Golgi rendszer a felelős.

## 23.7. A FOSZFOLIPIDEK ÉS SZFINGOLIPIDEK LEBONTÁSA

Legtöbb sejt folyamatosan lebontja és megújítja membrán lipidjeit. Minden egyes kötés hidrolizálására a glicerofoszfolipidekben **specifikus hidrolitikus enzimek** találhatóak a **lizoszómákban**. (előadás ábra). Az **A-típusú (A1 és A2) foszfolipázok** egyet távolítanak el a két zsírsavból (C1 illetve C2-ről), lizofoszfolipidet eredményezve (Ezek az észterázok nem támadják a plazmalogének éter kötéseit).

**Lizofoszfolipázok** távolítják el a maradék zsírsavat. a **foszfolipáz C és D** hasítja a foszfodiészter kötéseket (egyik vagy másik oldalról) a fejcsoportban.

A gangliozidokat egy sorozat lizozomális enzim bontja le, amik a cukor egységek lépésenkénti eltávolítását végzik, ami végül ceramidhoz vezet.

Bizonyos genetikai betegségek lipid raktározási zavarokhoz vezetnek. Ezek az úgynevezett **lipid tárolási betegségek, vagy lipidózisok** egy vagy több szfingolipid és szterol katabolizmusában résztvevő enzim működésképtelensége következtében alakulnak ki.

## 23.8. PROSZTAGLANDINOK, TROMBOXÁNOK ÉS LEUKOTRIÉNEK BIOSZINTÉZISE

**Az eikozanoidok** (magukban foglalják a prosztaglandinokat, leukotriéneket és tromboxánokat) húsz szénatomos zsírsav származékok. Másodlagos hírvivőként szolgálnak a sejteken belül és a környező sejtek között, **helyi hormonokként**.

Az **eikozanoidok** fontos **prekurzora az arachidonsav**. Az arachidonsav egy 20:4, **linoleil-KoA-ból származó** FA. Képződésének útvonala lánchosszabbító lépéseket és két további C-C kettős kötés beépítését foglalja magába. A táplálékból származó linolénsav hiány gátolja az arachidonsav bioszintézist.

- **Az Arachidonsav** a sejtmembránok foszfolipidjeibe épül be. Onnét a **foszfolipáz A2** hasítja le a glicerol középső szénatomjáról, és azután számos reakción keresztül prosztaglandinokká, prosztaciklinekké, tromboxánokká és leukotriénekké alakul. A gyulladásgátló szteroidok az arachidonsav felszabadulásának gátlásán keresztül (a foszfolipáz A2 gátlása által) fejtik ki hatásukat.
- Különböző bioszintetikus útvonalak vezetnek az arachidonsavból a prosztaglandinokhoz, tromboxánokhoz és a leukotriénekhez.

### A ciklikus útvonal

- A sima endoplazmás retikulum enzimeit alakítják át az arachidonsavat prosztaglandinokká. A folyamat a **prosztaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>)** szintézisével kezdődik. Ez azután a közvetlen prekursor sok más prosztaglandin és a tromboxánok szintéziséhez.
- A PGH<sub>2</sub>-höz vezető két reakciót egy bifunkcionális enzim katalizálja, a **ciklooxygenáz (COX)**, vagy más néven **prosztaglandin H<sub>2</sub> szintáz**. A két lépés közül az elsőben, az enzim ciklooxygenáz aktivitása beépít egy oxigén molekulát, átalakítva az arachidonsavat PGG<sub>2</sub>-vé. A második lépés, amit a COX peroxidáz aktivitása katalizál, a PGG<sub>2</sub>-t átalakítja PGH<sub>2</sub>-vé.
  - Emlősökben a prosztaglandin H<sub>2</sub> szintáznak két izozimje van, COX-1 és COX-2. Mindkét forma ugyanazt a típusú reakciót katalizálja: egy peroxid létrehozását és egy ciklopentán gyűrűt az arachidonsavon. Az aspirin és más nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek (NSAID-ok) inaktíválják mindkét izozim ciklooxygenáz aktivitását (az aspirin irreverzibilisen hat, egy Ser maradék acetilálásával a COX aktív helyén; az ibuprofen, naproxen valószínűleg a szubsztrát vagy intermedier szerkezetének utánozásával). A COX1 gátlás nemkívánatos mellékhatásai miatt szelektív COX2 gátló NSAID-ok állnak fejlesztés alatt (Lásd lipidek klinikai jelentősége fejezetet).
  - A PGH<sub>2</sub>-t különböző enzimek (szintázok) átalakítják prosztaciklinné, tromboxánokká és más prosztaglandinokká.



### A lineáris útvonal

- A lineáris útvonal vezet az arachidonsavból a leukotriénekhez, amelyek lineáris komponensek. A leukotriéneket elsősorban a gyulladásozó sejtek szintetizálják, olyanok mint a makrofágok, hízósejtek, és polimorfonukleáris leukociták.
- Számos lipooxigenáz enzim katalizálja a molekuláris oxigén beépítését az arachidonsavba.
  - A lipooxigenázok nem azonosak a ciklo-oxigenázokkal; a lipooxigenázok a leukotriének szintézisét katalizálják.
  - Számos izozimjűk van, ezek felelősek a leukotriének diverzitásáért. Ezek az enzimek a fehérvérsejtekben, lépben, májban, szívben és az agyban találhatóak. Ezek a citokróm P450 családhoz tartozó kevert-funkciójú oxidázok. **Az aszpirin nem gátolja a lipooxigenázokat**; az aszpirin célpontjai a ciklo-oxigenázok.



## 24. KOLESZTERIN METABOLIZMUS

A koleszterin a sejtmembránok alapvető alkotórésze és a szteroid hormonok és epesavak prekursora. Ennélfogva eszenciális molekula sok állatban, az embert is beleértve. Azonban nem szükséges a táplálékkal felvenni- minden sejt képes az egyszerűbb prekursorokból való szintézisére.

### 24.1. A KOLESZTERIN BIOSZINTÉZISE

- Habár jelentős mennyiségű koleszterin származik a táplálékból (a koleszterin gazdag ételekből olyan mint a hús, tojás és tejtermékek), a test is képes megszintetizálni.
- A máj a koleszterin szintézis fő szerve, habár más szövetek is szintetizálják (pl. szteroid hormon termelő mirigyek).
- A bioszintézis az endoplazmás retikulumban és a citoszolban megy végbe, és egy közös prekurból, acetyl-KoA-ból indul.

#### A szintézis négy szakaszban megy végbe:

1. Három acetát egység kondenzációja hat szénatomos intermedierré, mevalonsavvá.
2. A mevalonát átalakítása aktivált izoprén egységekké.
3. Hat öt szénatomos izoprén egység polimerizációja 30 szénatomos lineáris szkvalénné.
4. A szkvalén ciklizációja a négy gyűrűből álló szteroid maggá, a további átalakításokkal (oxidáció, metil csoportok eltávolítása vagy áthelyezése) koleszterinné.

#### 1. szakasz Mevalonsav szintézise acetátból

Két acetyl-KoA molekula kondenzálódik acetoacetyl-KoA-vá, ami kondenzál egy harmadik acetyl-KoA-val hat szénatomos  **$\beta$ -hidroxil- $\beta$ -metilglutaril-KoA-vá (HMG-KoA)** (előadás ábra). Az első két reakciót a tioláz és a HMG--KoA szintáz enzim katalizálja. A citoszolban HMG-KoA szintáz ebben az útvonalban különbözik a mitokondriális izozimtól, ami a HMG-KoA szintézisét katalizálja a ketontest szintézisben.

A harmadik reakció az elkötelezett és sebesség-meghatározó lépés: a HMG-KoA redukciója mevalonsavvá. Ebben a lépésben két molekula NADPH adja a két-két elektront a redukcióhoz. A HMG-KoA reductáz a sima endoplazmás retikulum egy gyors turnovervel rendelkező integrális membrán fehérjéje, a fő szabályozási pont a koleszterin szintézisben.

#### 2. szakasz A mevalonát átalakítása két aktivált izopréné

Ebben a szakaszban három foszfát csoport transzferálódik három ATP-ről a mevalonátra. A következő lépésben a mevalonát C-3 hidroxil csoportjához kapcsolódó foszfát, és a közeli karboxil csoport távozik, kettős kötést létrehozva az öt szénatomos termékben, a  **$\Delta^3$ -izopentenil pirofoszfátban** (ez az első a két koleszterin szintézisben központi izoprén egység közül). A  $\Delta^3$ -izopentenil pirofoszfát izomerizációja eredményezi a második aktivált izoprént, a **dimetilallil pirofoszfátot** (előadás ábra).

#### 3. szakasz Hat aktivált izoprén egység kondenzációja szkvalénné.

Az izopentenil pirofoszfát és a dimetilallil pirofoszfát fej-farok kondenzáción megy át, amelyben egy pirofoszfát csoport távozik, és létrejön a tíz szénatomos **geranil pirofoszfát** (a fej a pirofoszfát felőli vég). A geranil pirofoszfát újabb fej-farok kondenzációja egy izopentenil pirofoszfáttal létrehozza a 15 szénatomos **farnezil pirofoszfát** intermediert. Végül két farnezil pirofoszfát fej-fej kondenzációja két pirofoszfát eliminálásával eredményezi a szkvalént.

#### 4. szakasz A szkvalén átalakítása a négy gyűrűből álló szteroid maggá

A szkvalén monooxygenáz az  $O_2$  egyik oxigén atomját a szkvalén lánc egyik végéhez kapcsolja, epoxidot létrehozva (ez az enzim egy kevert-funkciójú oxidáz; NADPH redukálja a másik oxigén atomot  $H_2O$ -zé).

A termékben, a szkvalén 2,3-epoxidban található kettős kötések egy sorozat gyűrűzáródási lépésen mennek át, valamint néhány hidrid transzfer és metil csoport átrendeződés eredményezi a lanoszterolt. A lanoszterol három demetilációval, a gyűrű kettős kötéseinek átrendeződésével, és az alkil farokban található kettős kötés telítésével számos lépésben koleszterinné alakul.

#### A koleszterin észteresítése

- A koleszterin hidroxil csoportja észtereződhet zsírsavval (emberben gyakran olajsavval vagy linolsavval). Az intracellulárisan végbemenő észteresítést az acil-KoA: koleszterol-acil-transzferáz enzim (ACAT) katalizálja, acil-KoA-t használva ko-szubsztrátként.
- A másik lehetőség: a szérumban a foszfatidil-kolinról egy zsírsav transzferálódhat a koleszterinre. Ezt a reakciót a lecitin-koleszterol aciltranszferáz enzim (LCAT) katalizálja. A szérum reakció főleg a HDL-ben megy végbe, és segít a koleszterin „csapdába ejtésében” a HDL-részecskén belül.

## 24.2. A KOLESZTERIN TRANSPORTJA

Az újonnan szintetizált koleszterin a májból a keringéssel más szövetekbe szállítódik, ahol membrán szintézisre vagy hormon bioszintézisre használandó. A transzport lipoproteineken keresztül történik.

- VLDL (nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein) szállítja a koleszterint, koleszterin észtereket és triacilglicerolokat a májból más szövetekhez, ahol a triacilglicerolokat a lipoprotein lipáz lebontja. A trigliceridek eltávolítása átalakítja a VLDL-t LDL-lé (alacsony sűrűségű lipoprotein).
- Az LDL, a fő koleszterin szállító, gazdag koleszterinben és észterekben, receptor mediált endocitózissal jut be a sejtekbe (a célsejt plazmamembránjában receptorok (LDL receptor) felismeri az LDL felszínén az apolipoprotein B-100-at).
- A májból és a vékonybélből származó HDL (nagy sűrűségű lipoprotein) kicsi, protein-gazdag részecskéként keletkezik, ami viszonylag kevés koleszterint tartalmaz, nem tartalmaz koleszterin-észtert, de tartalmazza az LCAT enzimet, eltávolítja a koleszterolt a szövetekből és a plazmából, és visszaviszi a májba.
- A kilomikron, ami a vékonybélben szintetizálódik, szállítja a táplálékból származó lipideket és koleszterint a bélből más szövetekhez. A kilomikronok először leadják triacilglicerol tartalmukat a célszövetekben a lipoprotein lipáz segítségével, ezáltal átalakulnak kilomikron-maradvánnyá, amely gazdag (táplálék) koleszterinben (szabad és észter) és zsírolható vitaminokban. Ezeket a májsejtek veszik fel receptor-mediálta endocitózissal.
- Az LDL receptor gén transzkripcióját a koleszterin szintek szabályozzák. A koleszterin szintek csökkenése stimulálja a gén transzkripcióját, megnöveli az LDL receptor fehérje szintézisét, ennélfogva a koleszterin felvételét a sejtekbe a szérumból.

## 24.3. A KOLESZTERIN BIOSZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

- A koleszterin szintézis komplex és energia igényes folyamat, így a szervezet számára előnyös a szintézist összehangolni a táplálékfelvétellel.
- A koleszterin szintézis feed-back szabályozása a HMG-CoA reduktáz lépésén keresztül történik (ez az útvonal sebesség meghatározó lépése).

- Az energia szintek általi és a hormonális szabályozás a HMG-KoA reduktáz kovalens módosításán keresztül történik. Az enzim lehet foszforilált (inaktív) és defoszforilált (aktív) formában. Alacsony energia szint (magas AMP koncentráció) és a glukagon hormon stimulálja az enzim foszforilálását (inaktiválását), míg az inzulin hatása ellentétes, ez stimulálja a defoszforilálást, így növeli az enzim aktivitását.
- Az intracelluláris koleszterinszint növekedése szintén csökkenti a HMG-KoA reduktáz génjének transzkripcióját ( egy fehérjecsaldon keresztül, amelyet szterol szabályozó elem-kötő fehérjéknek hívnak (SREBP-sterol regulatory element binding proteins)). Ez valamint az enzim lebontásának növekedése az enzim mennyiségének csökkenéséhez vezet, ennél fogva csökkent koleszterin bioszintézishez.
- Az enzim turnover viszonylag gyors. A közvetlen enzim gátlás, és a közvetett enzimszint csökkenés kombinációja hatékonyan csökkenti az általános bioszintetikus aktivitást a májban órákon belül.
- A **sztatinek** csoportjába tartozó gyógyszerek specifikusan gátolják a HMG-KoA reduktázt ( szerkezetük hasonlít a mevalonátra), így blokkolják a koleszterin bioszintézist.
- Két másik szabályozó mechanizmus is hatással van a sejten belüli koleszterol szintre: 1. A magas intracelluláris koleszterin koncentráció aktiválja az ACAT-ot, amely serkenti a koleszterol észteresítését raktározás céljára, és 2. A magas sejtbeli koleszterin szint csökkenti (SREBP- keresztül) az LDL receptort kódoló gén transzkripcióját, így csökkentve a receptor szintézisét és a koleszterin felvételét a vérből.

A szabályozatlan koleszterin termelés súlyos betegségekhez vezethet. Amikor a szintetizált és táplálékkal felvett koleszterol össz mennyisége meghaladja a membránok, epesavak, szteroid hormonok szintéziséhez szükséges mennyiséget, ez a koleszterin véredényekben való patológiás felhalmozódásához vezethet (atheroszklerotikus plakkok), ami a véredények elzáródását okozhatja (atheroszklerózis).

- **Az Atheroszklerózis** magas vérkoleszterol szintekkel, különösen **magas LDL-koleszterin szinttel** függ össze, míg a HDL szintek és érrendszeri betegségek között fordítottan arányos az összefüggés.. Familiáris hiperkoleszterolémia egy humán genetikai rendellenesség, amelyben a vér koleszterol szintek extrém magasak, és komoly atheroszklerózis alakul ki már gyerekkorban. Ezekben az egyéneknél hiányzik a működőképes LDL receptor (vagy az apo B-100 abnormális, ennek az LDL receptorhoz való kapcsolódása szükséges a receptor-mediált endocitózishoz), így az LDL szállított koleszterin receptor-mediált felvétele a sejtekbe nem megy végbe..
- **Familiáris HDL deficienciában** a HDL szintek nagyon alacsonyak, vagy csaknem detektálhatatlan úgynevezett **Tangier betegségben** (mindkét betegség rendkívül ritka). Mindkét genetikai rendellenesség az **ABC1 protein mutációjának** eredménye. ABC1 fehérje hiányában a koleszterol-hiányos HDL nem tudja felvenni a koleszterint a sejtekből, és a koleszterin-szegény HDL gyorsan eltávolodik a vérből és lebomlik.

## 24.4. EPESAVAK

- Az epesavak a koleszterin metabolizmus végtermékei.
- A májban szintetizálódnak koleszterinből, azután az epehólyagba szállítódnak, ott raktározódnak, majd szekretálódnak az emésztőtraktusba zsírban gazdag táplálékfelvételt követően.
- A három fő epesav a kolsav, glikokolsav és taurokolsav.
- A kolsav kolil-KoA formájában keletkezik koleszterolból számos lépésen keresztül. Glicinnel való reakciója eredményezi a glikokolsavat, ami a fő epesav. A kolil-KoA konjugációja taurinnal (ami a cisztein aminosav katabolizma) adja a taurokolsavat.

- A koleszterin epesavvá való alakításához szükséges lépések 1. a 3 $\beta$ -OH csoport epimerizációja 2. a C-5 kettős kötés redukciója 3. OH csoport létrehozása C-7-en és C-12-n és 4. C-27 oldallánc átalakítása C-24 karboxilsavvá egy propil csoport eliminációjával.
- Az epesavak az epe fő komponensei, ami az epehólyagból az emésztőtraktusba szekretálódó emésztőnedv.
- Az epesavak hatékony biológiai detergenssek, mivel mind apoláros (szterol gyűrű), mind poláros részeket tartalmaznak (az ionos sav csoportok).
- Micellákat alkotnak, és elősegítik a táplálék lipidek oldását, lehetővé téve azok emésztését..
- A máj epesav termelő kapacitása nem elég a fiziológias igények kielégítéséhez, így a test szükséglete a hatékony újra felhasználástól függ az enterohepatikus cirkuláción keresztül.
- Az epesavak adják az egyetlen jelentős utat a koleszterin ürítéséhez; a koleszterin szénváza nem oxidálódik CO<sub>2</sub>-dá és H<sub>2</sub>O-zé emberben, hanem az epével ürül szabad koleszterin és epesav formájában. (Embernek nem képesek a szterolgyűrűt lebontani, így a koleszterol és más szterolok ép gyűrűrendszerrel ürülnek. Rossz vízdékonyságuk miatt, a szterolok főleg a széklettel ürülnek.)

## 24.5. SZTEROID HORMONOK

- Emberben az összes szteroid hormon koleszterinből származik.
- A szteroid hormonok három csoportra oszthatók.
- A nemi hormonok a nemi érésben és a szaporodásban játszanak fontos szerepet.
- A glukokortikoidok a glukoneogenesis és az immunrendszer működésének szabályozásában működnek közre.
- A mineralokortikoidok a vesében az ionok reabszorpciójának szabályozásában vesznek részt. (pl., Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, és bikarbonát).
- A szteroid hormonok már igen kis koncentrációban hatékonyak, ezáltal viszonylag kis mennyiségben szintetizálódnak. Az epesavakkal összehasonlítva termelésük viszonylag kevés koleszterint fogyaszt.
- Az összes szteroid hormon a koleszterolból pregnenolon keresztül szintetizálódik.
- A szteroid hormonok szintéziséhez néhány vagy az összes szénatomot el kell távolítani a koleszterol D gyűrűjének C-17-hez kapcsolódó oldalláncáról. Az oldallánc eltávolítása a szteroidogén szövetek mitokondriumában megy végbe. Ez két lépésben történik. Az első az oldallánc két szomszédos szénatomjának (C-20 és C-22) hidroxilálása, amit a köztük levő kötés hasítása követ a második lépésben.
- A progeszteron azután a pregnenolonból képződik a 3-hidroxil csoport oxidálásával ketonná, és a kettős kötések áthelyeződésével. A különböző hormonok szintézise oxigén atom beépülését is magában foglalja. A szteroidok bioszintézisében az összes hidroxilálási és oxigenálási reakciót kevert funkciójú oxidázok katalizálnak, amik NADPH-t, O<sub>2</sub>-t és mitokondriális citokrom P-450 rendszert használnak.
- A szteroid hormonok a koleszterin katabolizmus csak kis hányadéért felelősek. Inaktivációjukat (redukcióval), és glucoroniddal vagy szulfáttal való konjugációjukat követően a vizelettel ürülnek..

## 24.6. A KOLESZTERIN BIOSZINTÉZISBEN SZEREPLŐ INTERMEDIEREK ALTERNATÍV SORSA

- A koleszterol bioszintézis biztosítja a szubsztrátot a bőrben fotokémiai reakcióban képződő D3 vitamin szintéziséhez. A **7-Dehidrokoleszterol** a koleszterin bioszintézis útvonalában szereplő intermedier, ami a bőrben D3 provitaminné alakul a nap UV sugarai hatására. Ezt azután a májban és vesében végbemenő két hidroxilálási lépés alakítja aktív hormonná

(kalcitriol), ami nukleáris receptorokon keresztül a Ca és foszfát metabolizmus szabályozásában vesz részt.

- A koleszterin bioszintézisben intermediereként betöltött szerepe mellett az **izopentenil pirofoszfát aktivált prekurzoraként is szolgál** számos, eltérő funkciójú **biomolekula szintéziséhez**. Ilyenek például az A, E és K vitamin; a dolichol, ami lipid oldékony hordozóként a komplex poliszacharid szintézisben játszik szerepet; az ubikinon, ami a mitokondriumban elektron szállító; növényi pigmentek, mint a karotin és a klorofil; sok esszenciális olaj. Ezen molekulák gyűjtőneve: **izoprenoidok**.
- **A preniláció** (izoprenoidok hozzákapcsolásával történő kovalens módosítás) egy általános mechanizmus, ami lehetővé teszi a fehérjék sejtmembránok belső felszínéhez való kihorgonyozását emlősökben. Ezen fehérjék némelyikében a kapcsolt lipid 15 szénatomos farnezil, másokban a 20 szénatomos geranylgeranyl csoport. Valószínűleg a prenilálási reakció a fehérjéket a megfelelő membránokhoz irányítja, a kapcsolt lipidtől függően.





## 25. A LIPID ANYAGCSERE SZABÁLYOZÁSA

A táplálék lipid tartalma az epesavak segítségével szolubilizálódik, és a lipázok révén megemésztődik (lásd: A lipidek emésztése és felszívódása). Az **enterociták** (bél hámsejtek) a lipideket passzív diffúzió vagy specifikus transzporterek segítségével veszik fel. A rövidebb zsírsavak (FA) a vérbe kerülnek, míg a hosszabb zsírsavakat fehérjék kötik meg a citoszolban, amelyek az endoplazmás retikulumba (ER) szállítják őket. Az ER-ban triacilglicerin (TAG) molekulák szintetizálódnak. Az enterocitákban **képződnek a kilomikronok**, amelyek TAG-ből, koleszterinből, észterekből, foszfolipidekből és apoproteinekből állnak. Az apoproteinek funkciói: lipidek transzportja, a specifikus felvevő receptorok felismerése, az endotél lipoprotein lipázok aktiválása. A kilomikronok a nyirokkeringésbe kerülnek.

Étkezést követően a máj az a szerv, amely a **triacilglicerint (TAG)**, a fő lipid rakározó molekulát szintetizálja. A keletkezett TAG a **VLDL alkotóeleme** lesz, és a májsejtekből a véráramba kerül. A VLDL-ből az **adipociták** veszik fel a TAG-t, és gyakorlatilag bármekkora mennyiségben tudják azt raktározni, hiszen a lipid és szénhidrát feleslegből származik a zsírraktár. Az **izomsejtek** is vesznek fel TAG-t a kilomikronból és a VLDL-ből is, és használják energia forrásként.

A szervezet éhezési állapotában az adipociták triacilglicerin tartalma zsírsavakra és glicerinre hasad. A zsírsavak biztosítanak energiát a legtöbb szövet számára, a későbbi stádiumban ketontestek formájában. A glicerinvázból glukóz képződik a májban.

A lipid metabolizmust szabályoz két fő hormon az **inzulin és a glukagon**. Fontos megjegyeznünk, hogy ez a szabályozás összhangban van a szénhidrát metabolizmus, és bizonyos fokig a fehérje anyagcsere szabályozásával is. A lipid anyagcsere **szabályozása több szinten** történik: alloszterikus, kovalens, enzim indukció (a hormonok hosszú idejű hatása az enzimek expressziójának megváltoztatása), és intracelluláris kompartmentalizáció (FA szintézis a citoszolban, lebontás a mitokondriumban).

### 25.1. LIPID SZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

A **máj az a fő szövet**, ahol FA és TAG szintézis zajlik. A TAG glicerin részének forrása a glukóz, míg a citrátkörben termelt citrátból származik a citoszolikus acetyl-CoA a zsírsav szintézishez. A mitokondriumban a piruvát dehidrogenáz vagy a piruvát karboxiláz enzimek révén képződhet citrát. Étkezést követően a májban nemcsak a zsírsavak **használódnak TAG szintézisre**, hanem a feleslegben lévő szénhidrátok és fehérjék is. Az inzulint több módon is szabályozza a TAG szintézist: indukál a szintézisben szereplő több enzimet is, mint az acetyl-CoA karboxilázt (ACC), zsírsav szintázt és a NADPH-t előállító enzimeket.

A **zsírsav szintézis elkötelezett lépése** az ACC által katalizált lépés. Ez az enzim összetett szabályozás alatt áll: **alloszterikusan** citrát aktiválja, palmitoil-CoA (a szintetikus útvonal végterméke) gátolja. Az ACC **kovalens** szabályozása: az inzulint aktivál egy foszfatázt, aminek hatására az ACC defoszforilálódik és aktiválódik. Az ACC a sejt **energia ellátottságát** is érzékeli: magas AMP szint mellett az AMP-aktivált proteinkináz foszforilálja, és így inaktiválja az ACC-t. Ennek oka, hogy a magas AMP szint alacsony energiatöltést jelent, amely esetben a zsírsavak lebontása (béta oxidáció) aktiválódik, nem a zsírsav szintézis.

A **glikolízis aktiválása** nemcsak acetyl-CoA-t szolgáltat a zsírsav szintézishez, de a TAG glicerin vázát is biztosítja. Az adipocitákban az **inzulin egy járulékos hatása** a glukóz transzporterek számának növekedése. Emellett, részben az inzulint hatására, az endotél sejtek lipoprotein lipáz enzime aktiválódik, így a keringő lipoproteinekből szabad zsírsavak szabadulnak fel, és kerülnek felvételre az adipocitákban. Ez a lipoprotein lipáz aktivitás a lipoproteinek átalakulásához vezet: a kilomikronból kilomikron maradvány (remnant), a VLDL-ből IDL és LDL keletkezik ilyen módon.

A zsírsav szintézishez a NADPH elengedhetetlen. A **NADPH fő forrásai** a pentóz foszfát út és az úgy nevezett malic enzim reakció. Az utóbbi egy NADP függő citoszolikus malát dehidrogenáz reakció, amely piruvátot eredményez. Így a mitokondriumból történő citrát transzport nemcsak a citoszolikus acetyl-CoA forrás (citrát liáz reakció) a zsírsav szintézishez, de a citrát liáz által előállított oxálacetát lesz a kiindulása a fent említett malic enzim reakciónak. A malic enzim által előállított piruvát visszatér a mitokondriumba.

Az ACC reakció aktiválódásának másik hatása az, hogy az emelkedő **malonil-CoA koncentráció gátolni** fogja a karnitin-acil-transzferáz I enzimet, amely enzim a mitokondriumba történő zsírsav transzportért felelős (béta oxidáció színtere). Így a zsírsav szintézis és lebontás egymást kölcsönösen kizáró útvonalak.

## 25.2. A ZSÍRSAV LEBONTÁS SZABÁLYOZÁSA

Éhezés alatt az inzulin szint lecsökken, míg a **glukagon szint** megemelkedik a vérben. A glukagon aktiválja az adipociták hormon szenzitív lipázát. Ennek és más lipázoknak a hatására a **raktározott TAG** glicerinre és zsírsavakra bomlik. Más hormonoknak (epinefrin, növekedési hormon) hasonló hatása van. A felszabaduló zsírsavak számos szövethez eljutva ott ATP szintézishez használnak fel. A zsírsavak lebontásának (béta oxidáció) eredményeként megemelkedik az **acetyl-CoA és a NADH** szintje. Ennek következményei az alábbiak: a piruvát dehidrogenázt az acetyl CoA gátolni fogja, a piruvát karboxiláz aktiválódni fog (oxálacetátot hoz létre a glukoneogenezishez); a magas NADH szint gátolja az izocitrát dehidrogenázt, és következményesen a citrát szintázt – így az oxálacetát glukoneogenezisre fordítható. A májban a béta oxidációból származó acetyl-CoA zöme **keton testeket** képez, így a glukoneogenezisre és a fehérjelebontásra csökken az igény.

## 26. AMINOSAVAK ÉS FEHÉRJÉK

### 26.1. AMINOSAVAK

#### Az aminosavak szerepe

Az aminosavak számos biológiai funkcióval bírnak:

- Polimerizálódhatnak peptidekké és főleg fehérjékké (polipeptidekké);
- Számos más biomolekula prekursorai lehetnek, pl. purinok, pirimidinek, porfirinek, etc.;
- Oxidálódhatnak és a sejtek energiaforrásaként szolgálhatnak.

#### Az aminosavak általános jellemzői

Az aminosavak két jellemző funkcionális csoportot tartalmaznak: egy amino csoportot és egy karboxil csoportot.

- A fehérjékben előforduló aminosavakban ( $\alpha$ -aminoavak) ezek egy központi szénatomhoz kapcsolódnak,  $C\alpha$ , amelyikhez még egy hidrogén atom és egy szerves oldallánc (R) is kapcsolódik.
- A 20 alap aminosav definíció szerint azokat foglalja magába, amelyeket legalább egy specifikus kodon kódol a DNS genetikai kódban.
- A központi szén királis center 19-ben a 20 aminosav közül, és messze a legáltalánosabban előforduló sztereoizomer forma az L izomer. Az aminosavak D izomerje ritka (bakteriális sejtekben és peptid antibiotikumokban fordul elő).

Az aminosavak néhány jellemzője:

Az aminosavak magas forráspontú, fehér, kristályos anyagok szilárd állapotban, szerves oldószerekben rosszul oldódnak (mérsékelten vízoldhatóak).

Vízben dipoláros ionként vagy ikerionként oldódnak, a karboxil és aminocsoportnak köszönhetően (az oldalláncok szintén tartalmazhatnak titrálható csoportokat és ionizálódhatnak fiziológias körülmények között).

Az  $\alpha$ -karboxil csoport  $pK_a$  értéke általában 2.0 - 2.4 körüli és az  $\alpha$ -amino csoport  $pK_a$  értéke 9.0 - 9.7 körül van.

Az oldallánc titrálható csoportjainak  $pK_a$  értékei igen eltérőek.

#### Az aminosavak osztályozása tulajdonságaik alapján

A 20 alapamino sav az oldallánc jellemzői alapján kilenc csoportba sorolható:

- **Glicin** (Gly) maga egy osztály.
- **Alanin** (Ala), **Valin** (Val), **Leucin** (Leu), and **Izoleucin** (Ile) alkil oldalláncot tartalmaznak.
- **Prolin** (Pro) magában egy osztály.
- **Fenilalanin** (Phe), **Tirozin** (Tyr), és **Triptofán** (Trp) aromás oldalláncot tartalmaznak.
- **Cisztein** (Cys) és **Metionin** (Met) kénatomot tartalmaznak.
- **Szerin** (Ser) és **Treonin** (Thr) –OH csoportot tartalmaznak.
- **Glutamát** (Glu) és **Aszpartát** (Asp) savas oldalláncúak.
- **Glutamin** (Gln) és **Aszparagin** (Asn) az előző savas csoportok amidjai.

- **Lizin** (Lys), **Arginin** (Arg), és **Hisztidin** (His) bázisos oldalláncúak.

*Első* a glicin, amelynek az oldallánca egy **hidrogén atom**, magában egy osztály. A hidrogén atom adja a legnagyobb rotációs szabadságot és lehetővé teszi a közeli csoportoka térbeli szoros pakolását, így erősen hozzájárul a fehérje **flexibilitásához**. Savas pH-n a Gly főleg kation, míg lúgos pH-n főleg anion.

Fiziológiás pH-n, pH 7 körül (az izoelektromos pont-pI- 5.97 a Gly-nél) a glicin főleg ikerion formájában fordul elő (dipoláris ion), és csak kevés elektromosan neutrális, kation vagy anion forma van jelen.

*A második csoport* az **alkil oldalláncot** tartalmazó aminosavak: Ala, Val, Leu, Ile. Az **oldallánc apoláros karaktere** ezen aminosavak felszínét hidrofóbbá teszi, így ezek az oldalláncok a globuláris fehérje belsejébe pakolódnak, a víztől távol, így segítenek a szerkezet stabilizálásában. Ezen oldalláncok alakja szintén részt vehet specifikus kötőhelyek kialakításában a fehérjék felszínén..

*A harmadik*, a Pro maga egy osztály; alifás, **ciklikus szerkezetű** oldalláncával. A prolin másodlagos amino (imino) csoportja **merevvé** teszi a szerkezetét, ami csökkenti a prolint tartalmazó polipeptid régió szerkezeti flexibilitását.

*A negyedik osztály* az aromás aminosavakat: Phe, Tyr, and Trp-t tartalmazza.. Az **aromás oldallánc** nagy és hidrofób; ezek az oldalláncok szintén használhatók molekuláris felismerésre a fehérje felszínén található kötőhelyeknél. A Tyr és Trp jelentősen polárosabb mint a Phe, a Tyr hidroxil csoportja, a Trp az indol gyűrű nitrogénje miatt. A Trp és Tyr, és kisebb mértékben a Phe **abszorbeálják az UV fényt**. Ez adja a legtöbb fehérje jellegzetes erős fényelnyelését 280 nm hullámhossznál.

*A kéntartalmú* aminosavak, Cys és Met adják az **ötödik** osztályt. A Cys oldalláncán levő tiol csoport gyenge sav, ionizálhat nem túl messze a fiziológiás pH-tól, ez a sav-bázis viselkedés jelentős lehet bizonyos enzimek katalitikus mechanizmusában. A cisztein diszulfid hidakat képezhet közeli tiolokkal, különösen Cys-Cys **diszulfid hidakat**, amelyek gyakran fontosak a fehérjék térbeli harmadlagos szerkezetének stabilizálásában. Két diszulfid hiddal kapcsolódó Cys maradék kombinációja a **cisztin** aminosav. A diszulfid híd két tiol csoport oxidációjával jön létre, felbontása redukcióval történik. A Met-ban a kén atom gyengén polarizálható, és hozzájárulhat a molekuláris felismeréshez kötőhelyeken.

*A hatodik osztályba* a két aminosav alkohol tartozik, a Ser és a Thr. Az oldalláncon levő **hidroxil csoport** csak nagyon gyengén savas, de fontos fehérje módosítási hely (pl. foszforilálás, glikoziláció) ami a fehérje funkcióját befolyásolja.

*A hetedik osztály* a **savas aminosavakat** tartalmazza Glu-ot és Asp-ot. Oldalláncukon a karboxil csoport anionná ionizál fiziológiás pH-n, ez hozzájárul a fehérje nettó töltéséhez, fontos az oldékonyághoz és kötési partnerek felismeréséhez.

*A nyolcadik osztályt*, ami az Asn-t és Gln-t tartalmazza, a **savas aminosavak amidjai** alkotják. Ezek az amidok nem ionizálnak, de erősen polárosak, részt vesznek hidrogén kötések kialakításában.

*A kilencedik osztály* a **bázisos aminosavakat** Lys, Arg és His-t gyűjti egybe... A His imidazol gyűrűje felvehet vagy leadhat protont közel a semleges pH-hoz, ez egy fontos faktor sok enzim sav-bázis katalízisében. Az imidazol gyűrű nitrogén segíthet fém ionok megkötésében is. A Lys amino csoportja egy viszonylag hosszú lánc végén helyezkedik el, ami flexibilitást biztosít a (rendszerint pozitív töltésű) vég pozícionálásában az aktív helyen, vagy amid kötést létesíthet kofaktorok, olyan mint a biotin karboxil csoportjával,. Az Arg oldalláncán levő pozitív töltésű guanídium csoport gyakran részt vesz negatív ionokkal való (olyan mint karboxilátok vagy foszfátok) különösen erős ionos vagy hidrogén kötés interakciókban.

## Az aminosavak és fehérjék töltése

Vizes oldatban az aminosavak ionizálnak (gyenge savként és bázisként viselkednek-**amfoter** vagy **amfolit** (amfoter elektrolit) vegyületek). A fehérjékben és aminosavakban található közös ionizálható csoportok az  $\text{NH}_2$ -terminális maradék peptidekben és Lys-ben;  $\text{COOH}$ -terminális maradék peptidekben, Glu-ban, Asp-ban; és az Arg, Cys, His, és Tyr oldallánc csoportjai. Az ionizáló csoportok ionizációs állapota (és az aminosavak és fehérjék töltése) az oldat pH-jától függ. Egy ionizáló oldalláncot nem tartalmazó aminosav titrálási görbéje két ionizációs szakaszt tartalmaz, két **ionizációs középponttal** (előadás ábra). Ionizálható R csoportot tartalmazó aminosavak titrálási görbéje összetettebb, három szakasszal, ami a három lehetséges ionizációs lépésnek felel meg, és három pK értékük van. Egy jellemző pH-n a molekula nettó elektromos töltése nulla. Ez az **izoelektromos pont** vagy **izoelektromos pH** (**pI**-vel jelölik). Az izoelektromos pont az ionizáló R csoport természetét tükrözi.

A peptidek csak egy szabad  $\alpha$ -amino csoportot és egy szabad  $\alpha$ -karboxil csoportot tartalmaznak a lánc ellenkező végein, mivel a többiek kovalensen kapcsolódnak a peptid kötésben, ami nem ionizál és így nem járul hozzá a peptidek sav-bázis viselkedéséhez. Egy peptid (protein) össz töltése az ionizáló R csoportok természetétől és számától függ egy adott pH-n.

Az elektroforézis, izoelektromos fókuszálás és ioncserélő kromatográfia a biológiai molekulákat pI érték eltérésük alapján választja el és jellemzi. (Amikor a  $\text{pH} > \text{pI}$ , a protein töltése negatív; ha a  $\text{pH} < \text{pI}$ , a protein töltése pozitív). A klinikai orvostanban a plazma fehérjék elektroforézissel való elválasztása a fehérjék relatív elektroforetikus mobilitása alapján való osztályozásához vezet. Az elválasztás gyakran pH 8.6-on történik, ami magasabb a legtöbb plazmafehérje izoelektromos pontjánál. Ennélfogva a fehérjék negatív töltésűek és az anód felé mozognak nettó töltésüknek megfelelően különböző sebességgel. Bizonyos betegségekben az elektroforetikus mobilitási mintázat karakterisztikusan megváltozik (előadás ábra).

## Néhány fontos, de kevésbé általános aminosav

- **Hidroxi-prolin** és **hidroxilizin** a kötőszöveti fehérjében, a kollagénben fordul elő.
- Ser, Thr, Tyr, és Arg **foszforilálódhat** az oldalláncán.
- **Selenocisztein** szerkezete a Cys-re emlékeztet, csak itt szelén atom helyettesíti a kén atomot az oldalláncban.
- **Ornitin** hasonlít a Lys-re, és az urea ciklusban és egyéb reakciókban fontos intermediér.
- **Homocisztein** a metionin katabolizmusának intermediere.
- **$\gamma$ -Aminobutirát (GABA)** fontos gátló neurotranszmitter.

## Peptidek

Két aminosav kovalensen kapcsolódhat egymással szubsztituált amid kötésen, úgynevezett **peptid kötésen** keresztül, **dipeptidet** eredményezve. Ez a kötés az egyik aminosav  $\alpha$ -karboxil csoportja és a másik aminosav  $\alpha$ -amino csoportja közötti kovalens kötés kialakulásával jön létre. A peptid kötés *termodinamikailag instabil* a hidrolízis szempontjából (az egyensúly a hidrolízisnek kedvez). Mindazonáltal a kötés *kinetikailag stabil* semleges vizes oldatban (a peptid kötés hidrolízise exergonikus, de nagy aktivációs energiát igényel). A peptid kötés *planáris* a C-N kötés részleges kettős kötés karaktere miatt, ez magában foglalja a rezonancia hibridizációt és az elektronok megosztását az amid nitrogén a karbonil szénatom között. Szintén mivel a nitrogén elektronjai megosztottak, nem képesek protonokat kötni az oldatból, ezért az amid nem titrálható és *elektromosan neutrális funkciós csoport*. A rotáció a peptid kötés körül *energetikailag korlátozott* annak részleges kettős kötés karaktere miatt. Ez nem áll a C-C kötésre a  $\text{C}\alpha$  és a karboxil csoport között vagy az amid csoportot a szomszédos  $\text{C}\alpha$  –val összekötő N-C kötésre. Ezen egyes kötések közötti viszonylag szabad rotáció nagyfokú konformációs szabadságot tesz lehetővé a polipeptidlánc számára.

Az aminosavak kapcsolódása a peptid láncban a lánc egyik végén szabad amino csoportot (N-vég), a másik végén szabad karboxil csoportot (C-terminus) hagy. Megegyezés szerint egy polipeptid **amino-sav szekvenciájának leírása az N-véggel kezdődik**(balra) és a **C-vég felé tart** (jobbra).

Három aminosav kapcsolódása két peptid kötéssel **tripeptidet** eredményez és így tovább. Ha néhány aminosav kapcsolódik össze ily módon, **oligopeptidről** beszélünk. Mikor sok aminosav kapcsolódik, a termék **polipeptid**. Rendszerint a 10 000 alatti molekulásúlyú molekulát polipeptidnek hívjuk, a magasabb molekulásúlyúakat pedig fehérjének.

A **peptidek** más tekintetben is **különböznek a fehérjéktől**:

- A peptidek tartalmazhatnak más aminosavakat is a 20 alap aminosavon kívül.
- Némely peptid tartalmazhat  $\alpha$ -amino csoportot nem tartalmazó aminosavakat is (pl.  $\beta$ -alanin).
- Peptidekben nem csak az  $\alpha$ -amino vagy  $\alpha$ -carboxyl csoport vehet részt a peptid kötésben.
- Néhány peptid ciklikus szerkezetű, nem tartalmaz N-terminális vagy C-terminális aminosavat, mert minden amino és karboxil csoport részt vesz a peptid kötések kialakításában.
- A peptidek D aminosavakat is tartalmazhatnak.

Biologailag aktív peptidek és polipeptidek számos méretben és összetételben fordulnak elő. Sok kis peptid hatásos igen kis koncentrációban. Például, számos *gerinces hormon* kis peptid (inzulin, oxytocin, TRH). A *Glutation*, ami számos sejtben megtalálható, egy fontos tripeptid. Némely különösen toxikus *gombaméreg*, olyan mint az amanitin, is kis peptid, éppúgy mint sok *antibiotikum*.

## 26.2. FEHÉRJÉK

### A fehérjék szerkezete

A fehérjé peptid kötéssel kapcsolt aminosavakból álló hosszú polimerek.

Négy fehérjeszerkezeti szintet különböztetünk meg.

**Az elsődleges szerkezet** az aminosavakat összekapcsoló összes kovalens kötés leírása egy polipeptid láncban. Az elsődleges szerkezet legfontosabb eleme az *amino-sav szekvencia*.

A **másodlagos szerkezet** a *lánc gerince* mentén elhelyezkedő *atomok szabályos, térbeli elrendeződése*. A másodlagos szerkezetet *gyenge, nem kovalens interakciók stabilizálják*, hidrogén kötések, hidrofób és elektrosztatikus interakciók.. Három alapvető másodlagos szerkezet fordul elő a polipeptid láncban, az  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -lemez és a kollagén hélix.

**A harmadlagos szerkezet** az összes aminosav közötti térbeli kapcsolatot írja le a polipeptid láncban. Ez a polipeptid *komplett három dimenziós szerkezetének* leírását jelenti..

Amikor egy fehérje *kettő vagy több polipeptidláncból vagy alegységből* áll, ezek térbeli kapcsolata a **negyedleges szerkezet**.

Az elsődleges szerkezet összehasonlítását használják a fehérjék közötti szerkezeti és funkcióbeli hasonlóság jóslására. A szekvencia egyeztetés a szekvenciák egymás mellé fektetését igényli az azonos maradékok számának maximalizálása és az inszerciók és deléciók számának minimalizálása érdekében..

Két szekvencia **homológ**, ha szekvenciáik nagyban hasonlóak és genetikai (evolúciós) kapcsolat van köztük.. **Analógia** azt jelenti, hogy két fehérje szekvenciája hasonló, de evolúciós kapcsolat nem mutatható ki köztük.

Egy aminosav helyettesítése másik, hasonló polaritású aminosavval **konzervatív helyettesítés**, és különböző fajok azonos fehérjéinek aminosav szekvenciáinál figyelhető meg általában. Ha egy adott aminosav mindig azonos pozícióban található, **invariáns maradéknak** hívják és feltehetőleg ezeknek alapvető szerepük van a szerkezet és funkció megőrzésében. Ezzel szemben a **nem-konzervatív szubsztitúciók** aminosavaknak egész más polaritásúval való kicserélődését jelenti. A polaritás mellett az aminosavak más fizikai tulajdonsága, mint a térfogat és felszíni terület is meghatározza hogy egy helyettesítés jelentősen megváltoztatja-e a fehérje funkcióját.

## Másodlagos szerkezet

### Az $\alpha$ -hélix

Az  $\alpha$ -hélix **egy polipeptidláncból** jön létre. Ezt a szerkezetet egy amid karbonil csoportja és a láncban **négy maradékkal távolabbi** amid NH-ja között kialakuló **hidrogén kötések stabilizálják**. Ezek a hidrogén kötések kb. egy irányba mutatnak, párhuzamosan a hélix tengelyével. A fő lánc összes karbonil és NH maradéka részt vesz a hidrogén kötésekben, kivéve a hélix vég közelében.. Az  $\alpha$ -hélix **jobbmenetes hélix**. A hélix menetemelkedése 5.4 Å, és 3.6 maradék alkotja (egy maradék emelkedése 1.5 Å) A szomszédos maradékok a hélix ellentétes oldalára néznek. Az aminosav oldalláncok oldalra kinyúlnak a hélixről.

A szekvencia befolyásolja a hélix stabilitását. Pl. Pro nem tud részt venni a normál H-kötési sémában és nem tud rotálni a N-C $\alpha$  kötés körül; így a hélix törését vagy hajlását okozza, ezért a **Pro nem kedvez, töri az  $\alpha$ -hélixet**. A **Gly ritkán fordul elő az  $\alpha$ -hélix-ben** más okból, ennek nagyobb a konformációs flexibilitása a többi aminosavnál. Gly polimerek az  $\alpha$ -hélixről eltérően feltekeredett szerkezeteket vesznek fel.

Egyéb a stabilitást befolyásoló faktorok :

- taszítás az egymást követő maradékok között
- a szomszédos oldalláncok nagy térkitöltése
- a 3-4 maradékkal távolabbi R-csoportok közötti interakciók
- interakciók a végeknél

### A $\beta$ -lap

A  $\beta$ -lemez szerkezet **két vagy több lánc(rész) között jön létre**. A láncok **kinyújtottabbak**, és fő lánc atomjai a szál mentén **durván koplánárisak**. Hasonlóan az  $\alpha$ -hélix-hez, a  $\beta$ -lemezt is H kötések stabilizálják a fő lánc karbonil és amino csoportjai között. De ezek a hidrogén kötések a különböző lánc vagy láncrészek között alakulnak ki. A szomszédos szálak iránya lehet **parallel** (egy irányba futó) vagy **antiparallel**.

A „lemez” leírás a résztvevő szálak gerinc atomjainak koplánaritásából jön. A „**redőzött lemez**” leírás az C $\alpha$  atomok váltakozására utal a lemez síkja alatt és felett. Valódi fehérjékben a lemez nem teljesen planáris, hanem egy kicsit jobb-kéz felé csavarodik. Az oldalláncok kinyúlnak a lemez síkja alatt és felett.

### A $\beta$ -kanyar

Szorosan feltekeredett fehérjében a maradékok nagy része a fő gerinc kanyaraiban vesz részt. Ezek a kanyarok lehetnek aminosavak nagyobb szegmenseit tartalmazó **flexibilis hurkok**, amelyek a másodlagos szerkezeteket kapcsolják össze, vagy **élesebb kanyarok** (rövidebb nem szabályos szegmensek), amelyek a lánc irányát fordítják meg. Egy közös szerkezeti elem az antiparallel  $\beta$ -lemezekkel kapcsolatban a  $\beta$ -kanyar. Ennek a kanyarnak több variációja létezik, a két legáltalánosabban egy maradék a nála hárommal előrébb levővel képez H-kötést. Ez a szerkezet négy aminosavat használ a

lánc irányának  $180^\circ$  megfordításához. Gly és Pro gyakran előfordul a  $\beta$ -kanyarokban (Pro cis konformációt vesz fel a hélix szűkítéséhez).

### Harmadlagos szerkezet

A harmadlagos szerkezet a fehérje **három dimenziós szerkezete**. Ez a polipeptid lánc magasabb szintű szerveződésére utal, hogy hogyan kapcsolódnak egymáshoz és pakolódnak össze a másodlagos szerkezetek elemei. A harmadlagos szerkezetet **nem kovalens. másodlagos interakciók** stabilizálják, habár kovalens kötések (diszulfid kötések Cys maradékok között) is fontosak lehetnek. A fehérjék két fő típusa, a **fibrilláris** és **globuláris**, eltérnek harmadlagos szerkezetükben és kémiai tulajdonságaikban.

A különböző fehérjékben előforduló két vagy több másodlagos szerkezeti elem közös feltekeredési mintázata a motívum. A **motívum** így egy két vagy több másodlagos szerkezeti elemet és a közöttük levő kapcsolatot magába foglaló felismerhető szerkezeti minta (pl.  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  hurok). A motívumok inkább szomszédos, mint távoli szegmentekből formálódnak, és önmagukban nem stabilak. Ha izoláljuk őket a teljes fehérjeszerkezetből, hajlamosak széttekeredni. Számos típusa létezik.

A második szerkezeti/tekeredési minta a **domén**. A domén egy kompakt szerkezeti egység a fehérjén belül, amely önálló egységként tekeredik fel. A különböző doméneknek általában különböző a szerepük, például kismolekulák kötése, vagy más fehérjékkel való interakció.

### Globuláris proteinek

A globuláris fehérjék **vízoldható fehérjék** számos funkcióval. Ezek számos harmadlagos szerkezetet vehetnek fel. Mint a nevükből is adódik, közel **gömb alakúak** és általában **szoros feltekeredésűek**. Az apoláros oldalláncú aminosavak a fehérje belsejében találhatóak, míg a poláros vagy ionos oldalláncúak inkább a fehérje felszíne felé néznek. Ilyen módon a poláros és ionos oldalláncok a fehérjék oldását segítik elő, a hidrofób oldalláncok a víztől elzárva burkolódnak a molekula belsejébe.

### Fibrózus proteinek (kollagén, keratin, tropomiozin, selyem fibroin)

- A fibrózus fehérjékben a polipeptid láncok hosszú szálakba vagy lapokba rendeződnek.
- Ezek többségében egy típusú másodlagos szerkezetből épülnek fel, és harmadlagos szerkezetük viszonylag egyszerű.
- Szerepük eltér a globuláris fehérjékétől: külső védelmet, alakot, támaszt adnak a gerinceknek; míg a legtöbb enzim és szabályozó fehérje globuláris protein.

### Kollagén

- Tipikus fibrózus protein **számos altípussal** (több mint 20).
- A kötőszövet **feszítőszilárdságát adja** (pl. ínban, porcban, csontban, korneában, bőrben).
- Nagy arányban tartalmaz **Gly-t, Ala-t, Pro-t, és hidroxiprolint**.
- A kollagén hélix **balmenetes**, és **egy fordulót három aminosav tesz ki**.
- A kollagének sajátos, tripla helikális másodlagos szerkezete van. A láncok **jobbmenetes három-szálú hélixbe** csavaródnak fel, ami különbözik az  $\alpha$ -hélix-től
- Az aminosav szekvenciában főleg egy **három aminosavból álló egység ismétlődik**, Gly-X-Y, ahol X gyakran Pro, és Y gyakran 4-Hyp.
- Csak a Gly maradékok teszik lehetővé a láncok egymás köré való szoros feltekeredését, míg a Pro és 4-Hyp maradékok adják a hélix jellegzetes csavaródását. Együttvéve, az ismétlődő tripeptid egységek segítenek a három szál pálcaszerű köteggé szerelődésében.
- A kötőszövetben, a kollagén tripla hélixek összehajlódnak fibrillumokká, amelyet kovalens keresztkötések stabilizálnak Lys, HylLys vagy His maradékok között( ami szintén előfordul



néhány pozícióban). A kollagén fibrillumok aggregálódhatnak még nagyobb kábelszerű kötegekbe (kollagén rostok), ami nagyban hozzájárul a kötőszövet erősítéséhez és stabilitásához.

### Negyedleges szerkezet

A negyedleges szerkezetet az alegységek közötti interakciók leírása adja több alegységes (multimer) fehérjékben vagy nagy protein összeszerelődésekben. Az alegységek azonos vagy különböző, nemkovalensen kapcsolódó polipeptid láncok lehetnek. Számos multimer protein egy, vagy egy csoport alegységből álló ismétlődő egységet tartalmaz.

### Strukturálatlan fehérjék

Némely fehérje vagy fehérje szegment **belsőleg rendezetlen**, hiányzik belőle a definiálható szerkezet. Ezen fehérjék aminosav összetétele sajátos (gazdag poláros és töltéssel rendelkező aminosavakban és prolinban), ami flexibilisebb szerkezetet tesz lehetővé. Ezek dinamikus szerkezetek, hasonlóak a feltekeredési útvonalak intermedierjeihez.

Néhány ilyen rendezetlen fehérje szerkezeti komponensekként vagy segítőként (scavenger) működik, mások különböző fehérje partnerekkel tudnak interakcióba lépni. Ezek a protein interakciós hálózatok központi komponensekként vagy inhibitoroként szolgálnak. Gyakran más fehérjékkel való interakciókor vesznek fel bizonyos szerkezeteket, de a szerkezet változhat eltérő kötési partnereikkel..

### Protein komplexek, hálózatok

Némely fehérje 5-10, 20-30 fehérjéből álló protein komplexeket hoz létre. Több mint három komplexel kapcsolódó komplex neve „**hub**”. Ez jó gyógyszer terápiás célpont lehet.

Az egymással kapcsolódó komplexek funkcionális hálózatát „**interactome**”-nak nevezik.

### Konjugált proteinek

Néhány fehérje az aminosavakon kívül más, permanensen asszociált kémiai komponenseket is tartalmaz, ezek a konjugált fehérjék. A konjugált fehérjéket prosztetikus csoportjuk kémiai természeténél alapján csoportosítjuk; például a **lipoproteinek** lipidet, a **glükoproteinek** cukor csoportot és a **metalloproteinek** bizonyos fémet tartalmaznak.

## 26.3. PROTEIN FOLDING

A protein folding egy **spontán, nem random folyamat**, ami az aktív konformáció eléréséhez vezet. A fehérje konformáció az aminosav szekvenciához tartozó, egy fiziológiás időkeretben a **legkisebb szabad energiával** elérhető konformáció. Így a folding (feltekeredés) termodinamikai és kinetikai szabályozás alatt áll. Rövid hatótávú interakciókkal kezdődik (nemkovalens interakciók), másodlagos szerkezetek kialakításával a polipeptid helyi régióiban. A **nemkovalens erők**-olyan mint a *hidrofób interakciók* (vízmolekulák entrópiájának növekedése), *hidrogén kötések* formálása, *elektrosztatikus interakciók* és *Van der Waals kölcsönhatások*- vezetnek a *protein foldinghoz* és járulnak hozzá a fehérje stabilitásához.. A folding **intermediereken keresztül** történik. Polipeptid szakaszok, úgynevezett iniciációs helyek tekerednek másodlagos szerkezetek kis régióiba. A részben feltekeredett szerkezetek azután kondenzálnak egymással, létrehozva egy úgynevezett „**molten globule**” állapotot (kondenzált folding intermedier, ami tartalmazza a natív szerkezet másodlagos elemeinek többségét, de számos inkorrekt harmadlagos szerkezet interakciót is). A megfelelő médium- és a hosszú hatótávú

interakciókkal különböző iniciációs helyek között, amely az olvadt globulon belüli átrendeződésekkel jöhet létre, valamint az alacsony szabad energiának megfelelően alakul ki a harmadlagos szerkezet. A natív harmadlagos szerkezet kialakulásával a **megfelelő diszulfid hidak is létrejönnek**. Általában a folding a sejtben gyors, in vivo másodperceken belül megtörténik.

#### A fehérje foldinghoz aszisztáló molekulák

A fehérje folding gyakran segítik chaperon fehérjék, nagy multiszubunit komplexek.

**A Chaperonok**nak számos funkciója van a fehérje foldinggal összefüggésben:

- Segítik az újonnan szintetizált láncok helyes feltekeredését
- A fehérjék szállítását segítik a membránokon keresztül a helyes organellumba, vagy a sejten kívüli szekrécióra
- Segítik a helytelenül tekeredett fehérjék széttekerését és újratekeredését, különösen hő sokkot vagy stresszt követően
- Segítenek a „misfolded” fehérjék aggregációjának megakadályozásában, és aszisztálnak az aggregált fehérjék újraoldásához és újratekeredéséhez
- Aszisztálnak a multimer fehérje struktúrák összeszereléséhez
- A sejtben jelátviteli utak komponensei

A chaperonok két fő családját a **Hsp70** család és a **chaperonin**.

**Hsp70** proteinek a hő sokknak kitett sejtekben található nagy mennyiségben. Az „unfolded” polipeptidok hidrofób régióikhoz kötődnek, és védik azokat. A Hsp70 proteinek ciklusban kötik és szabadítják fel a polipeptideket, ami az ATP hidrolízis energiáját használja, és számos más fehérjét is magában foglal (egy Hsp40-nek nevezett osztály is beleértve).

**A chaperoninok** (GroEL/GroES baktériumokban, hsp60 eukariotákban) hosszú, több alegységes szerkezetek, amik némely celluláris fehérje foldingjához szükségesek. Üregükben megkötik az „unfolded” proteinek és megakadályozzák a helytelen fehérje aggregációt.

Némely fehérje foldingjához szükség van két enzimre, amik izomerizációs reakciókat katalizálnak.

**A protein diszulfid izomeráz (PDI)** egy széles körben előforduló enzim, ami a diszulfid hidak átalakulását vagy áthelyeződését katalizálja, amíg a natív konformációnak megfelelő kötések kialakulnak. Funkciói között szerepel a helytelen diszulfid keresztkötésekkel rendelkező intermedierek eliminálása is.

A prolin maradékok főleg *transz* geometriában vannak, de a  $\beta$ -kanyar létrejöttének elősegítéséhez a *cisz* geometria az előnyös. A sejt tartalmaz **peptid prolin cisz-transz izomerázokat (PPI)**, amik specifikusan izomerizálják a prolin maradékokat transzból cisz geometriába ezen okból kifolyólag.

## 26.4. PROTEIN DENATURÁCIÓ

Egy fehérje denaturációja a **magasabbrendű szerkezet** (másodlagos, harmadlagos és negyedleges szerkezet) **funkcióval együtt való elvesztését** jelenti. (The denaturált állapot nem szükségszerűen egyenlő a fehérje teljes széttekeredésével és a konformáció randomizálásával. Legtöbb kondícióban a denaturált fehérje egy sorozat részlegesen tekeredett állapotban van jelen.)

Habár a denaturált és natív szerkezet közötti konformációs különbségek jelentősek lehetnek, a szabad energia különbség ugyanakkor olyan alacsony lehet, mint három vagy négy nem-kovalens kötés szabad energiája.

A nem-kovalens kötések stabilitásában való változását a denaturációt okozhatja a pH-ban, ionerősségben vagy hőmérsékletben való változás.

### In vitro denaturáció

#### 1. Hődenaturáció:

Még szobahőmérsékleten is egy fehérje feltekeredett formáját stabilizáló gyenge nem-kovalens interakciók átmenetileg megszakadhatnak, és újra formálódhatnak. Az ilyen fluktuációk fontosak lehetnek a fehérje helyes működéséhez. A hőmérséklet emelése több termális fluktuációt okoz egy fehérje szerkezetében, mivel több gyenge interakció szakad meg, amíg bekövetkezik a kritikus stabilitásvesztés. A natívból az „unfolded” konformációba való átmenet középpontjának hőmérséklete az úgynevezett  $T_m$  („melting temperature” vagy olvadási hőmérséklet).

2. Extrém pH, erős savak vagy bázisok, szerves oldószerek (aceton, etanol), bizonyos oldott anyagok (urea, guanidin hidroklorid), vagy detergensok által okozott fehérje denaturáció:

- Szerves oldószerek, urea és detergensok elsődlegesen a hidrofób interakciók megszakítását eredményezik, amik a globurális fehérjék stabil magját képezik;
- Az urea szintén felbontja a hidrogén kötések;
- Extrém pH megváltoztatja a fehérje nettó töltését, ezáltal elektrosztatikus taszítást hoz létre, és némely hidrogén kötés felszakítását okozza.

A széttekeredési folyamat nyomon követhető spektroszkópiásan a fehérje abszorpciójában vagy fluoreszcenciájában való, a hőabszorpcióban való (kalorimetria), vagy az oldat viszkozitásában való változás követésével.

Egy sejtben a fehérjekoncentrációt a szintézis és lebontás sebessége határozza meg. Számos esetben a fehérje denaturációja a sebességmeghatározó lépés annak lebontásában. Bizonyos fehérje emésztő enzimek és organellumok „felismerik” a denaturált fehérje konformációt, és gyorsan eliminálják azokat.

## 26.5. PROTEIN TURNOVER

A turnover a fehérjék reciklizációjának folyamata az őket felépítő aminosavakra a sejt általi újrahasznosításra.

Turnoverre több okból is szükség van:

- A helytelenül tekeredett vagy károsodott fehérjék eliminálása céljából, mielőtt aggregálódnak és gátolják a sejtben végbemenő folyamatokat.;
- A sejt cilus szabályozásához, a sejt ciklus alatt időlegesen használt fehérjék pontosan időzített lebontása által;
- Az immunrendszerben az idegen antigén fehérjék szükséges hasítását biztosítja más immunrendszeri sejteknek való prezentáláshoz, hogy azok fel tudják ismerni.

A fehérjék élettartama különböző, lehet percek vagy akár a sejt élethossza (ez utóbbi pl. hemoglobin és a szemlencse fehérjéi). Ezzel szemben a vérárvadási fehérjék turnover-e néhány nap, az inzuliné néhány óra, a transzkripciós faktoroké néhány perc.

Összefüggést találtak a fehérjék fél-életideje és az amino terminális aminosav maradékok között (előadás ábra). Sok fehérje esetében, az amino terminális Met eltávolítása után maradék első maradék identitása, valamint az amino terminális vég valamely más poszttranszlációs proteolitikus módosítása

kifejezett hatással volt a fél-életidőre. Összetettebb szignálokat (olyan mint a „destrukciós box”) is azonosítottak az amino terminális végen.

Emlős sejtkben **két fő fehérje degradációs rendszer** működik a lizoszómális rendszer és a proteoszoma/ubikvitin rendszer.

### A lizoszómális rendszer

A lizoszómák erősen savasak, 3.8-5.0 közötti pH tartománnyal, ami elősegíti a fehérjék és nukleinsavak denaturációját. A lizoszómák számos hidrolitikus enzimet is tartalmaznak, amik feltörik a bakteriális sejtfaalat, lipideket emésztenek és hasítják a fő lánc kötéseit a fehérje és nukleinsav polimerekben. Ezen makromolekulákat felépítő monomerek azután kikerülnek a lizoszómákból és újra hasznosítodnak a sejtkben.

### Az ubikvitin/proteoszóma-rendszer

Ez főleg a sejt saját fehérjéinek turnoveréért felelős, de hozzájárul az idegen fehérjék lebontásához is.

**Az ubikvitin egy** 76-maradékból álló erősen konzervált polipeptid, ami más fehérjékhez kapcsolódhat, és *kijelöli őket degradációra*. Az ubikvitin kovalensen kapcsolódik a lebontásra szánt fehérjékhez egy ATP-függő útvonalon keresztül, ami három különböző enzim típust foglal magába, az E1 aktiváló enzimeket, az E2.konjugáló enzimeket, és E3 ligázokat (lsd. előadás ábra).

A többszörösen ubikvitinált fehérjéket a **proteaszóma** ismeri fel. A proteoszóma egy nagy, sokalegységből álló fehérje komplex, ami *lebontja a fehérje láncokat rövid polipeptidekre*.

Az eukarióta 26S proteaszóma két fő típusú szubkomplexet tartalmaz, egy hordó-szerű mag részecskét és szabályozó részecskéket a hordó két végén. A központi 20S cilinderszerű mag részecske négy gyűrűből jön létre. Mindegyik gyűrű alegységekből, ( $\alpha$  vagy  $\beta$ ) áll. A 19S *sapkák szabályozó egységekként működnek, segítenek a polipeptid felismerésében, kötésében, széttekerésében, és transzlokálják a széttekerett polipeptidet a mag részecskébe lebontásra*. A 19S részecske *de-ubikvitinálja is a fehérjéket*, amikor lebomlanak a proteoszómában. A proteoszóma *központi cilindere* tartalmaz egy üreges központi kamrát, amelyben számos proteolitikus aktivitás működik, ami a  $\beta$  alegységekhez kapcsolódik (előadás ábra).

### A fehérje lebontás defektusai

A degradációs útvonal defektusai számos betegséggel összekapcsolhatók:

- rák,
- vese betegségek,
- asztma,
- neurodegeneratív rendellenességek olyan mint a
- Huntington betegség (mutáns huntingtin protein felhalmozódás),
- Alzheimer kór (amiloid  $\beta$  prekursor protein (APP) termék-béta amiloid-felhalmozódás),
- Parkinson kór ( $\alpha$ -synuklein-egy szinaptikus protein-depozitok a neuronokban, ami aggregátumok képződéséhez vezet-Lewy testek)
- Fiatalkori Parkinsonizmus (Parkin protein mutáció az E3-ubikvitin ligáz-enzimaktivitás elvesztéséhez vezet)

## 26.6. A FEHÉRJÉK ELVÁLASZTÁSA

A fehérjék elválasztása lehet méret, töltés, oldékonyság és specifikus kötőképesség alapján

1. Töltésen alapuló fehérje elválasztási módszerek:

- Elektroforézis (oldott fehérjék elektromos térben való vándorlása)
- Izoelektromos fókuszálás (fehérjék izoelektromos pontján alapuló elválasztás)
- Ion-cserélő kromatográfia (a proteinek kötődnek egy oszlopba töltött ellenkező töltésű gyöngyökhöz)

2. Méreten alapuló elválasztási módszerek:

- Ultracentrifugálás (a centrifugális erőnek kitett fehérjék tömegüktől függő sebességgel mozognak az erő irányában. Megfelelő optikai detektálási rendszerrel a mozgás sebessége mérhető, és a szedimentációs együttható Svedberg egységben kiszámolható (S,  $10^{-13}$  s))
- Gélszűrés kromatográfia (porózus gél kis oldhatatlan gyöngyök formájában egy oszlopba töltve. A kis fehérjék be tudnak menni a gél pórusain, így később jönnek le az oszlopról, mint a nagyobb fehérjék.)

3. HPLC-kromatográfias technikák használhatók aminosavak, peptidek és fehérjék elválasztására (Magas nyomású folyadékkromatográfiában az azonosítandó komponenseket tartalmazó oldat egy kis átmérőjű oldhatatlan gyöngyszerű gyantával töltött oszlopon áramlik keresztül. A gyanta gyöngyei kémiai csoportokkal vannak bevonva a töltött csoportok elválasztására vagy hidrofób csoportokkal a hidrofób, apoláros molekulák visszatartására. Az utóbbi típust reverz-fázisú HPLC-nek hívják.)

4. Affinitás kromatográfia (egyedi fehérjék specifikus affinitásán alapul szubsztrátokhoz, proszretikus csoportokhoz, membrán receptorokhoz, specifikus nem-kovalens inhibitorokhoz és antitestekhez.)

5. Két-dimenziós elektroforézis (az izoelektromos fókuszálás SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel való kombinálása)

### Egyéb protein analízáló módszerek

#### AA szekvenálás

A polipeptid láncokat leggyakrabban Edmann reakcióval szekvenálják, amelyben a polipeptid lánc fenilizotiocianáttal reagál, ami kovalensen kötődik az  $\text{NH}_2$ -terminális aminosavhoz. Ebben a származékban a savas körülmények intramolekuláris ciklizációt katalizálnak, ami az  $\text{NH}_2$ -terminális aminosav lehasítását eredményezi a polipeptid láncról feniltiohidantoin származék formájában. Ez a származékot kromatográfiásan elkülöníthető és standardokkal azonosítható. A lépések ismétlésével rövidebb polipeptid lánc szekvenciája meghatározható. Hosszabb polipeptid láncokat először kémiai vagy enzimatisz módszerekkel kisebb fragmentekre hidrolizálnak, és részekben szekvenálják.

Tömegspektrometria szintén használható rövidebb polipeptidek szekvenálására (tandem MS, vagy MS/MS).

**Röntgen krisztallográfia** egy fehérje három dimenziós szerkezetének atomi szintű feltárását teszi lehetővé. Ehhez a technikához protein kristály létrehozása szükséges, és a röntgen sugarak elektron-szórásai képességén alapul.

## Spektroszkópiás módszerek

### UV fény spektroszkópia:

A Tyr, Phe, és Trp oldalláncai, valamint a peptid kötések a fehérjékben elnyelik az ultraibolya (UV) fényt. Az  $\alpha$ -hélix konformációban levő peptid kötés interakcióba lép a spirális konformációban alatta és felette levő peptid kötésekkel egy exciton rendszert képezve delokalizált elektronokkal. Az eredmény egy eltolódás az abszorpció maximumában. Így az UV spektroszkópia használható a fehérje másodlagos és harmadlagos szerkezetében való változások vizsgálatára.

### Fluoreszcencia

Egy fényelnyeléssel gerjesztett elektron energiája számos módon elveszhet, némely esetben ez fluoreszcencia kibocsátásával történik. A fluoreszcens fényemisszió mindig hosszabb hullámhosszú (kiseb energiájú), mint a fluorofór abszorpció hullámhossza. A fehérjék aromás csoportjai jellegzetes fluoreszcenciával rendelkeznek. Ha egy második kromofor elég közel van az elsőhöz, az első (donor) molekula által kibocsátott fény energiája közvetlenül átadódik a másodiknak (akceptor). Amikor az akceptor molekula nem-fluoreszcens folyamatban elveszti a gerjesztési energiáját, kioltja a donor molekula fluoreszcenciáját. Mivel a gerjesztési transzfer hatékonysága a donor és akceptor távolságától és orientációjától függ, az eredményezett fluoreszcencia a fehérje konformációjától függ. (feltehetően állapotban a kromofór oldallánccok közelebb vannak egymáshoz, mint denaturált állapotban)

### Cirkuláris dichroizmus (CD)

Az L-aminosavak optikailag aktív molekulák, a polarizált fényt bizonyos irányban forgatják. Fehérjékben az aromás aminosavak és a polipeptid lánc egy optikai rotációt és CD spektrumot generál. Az  $\alpha$ -hélix,  $\beta$ -lemez és a random polipeptid spektrum közötti különbségek miatt a cirkuláris dichroizmus érzékeny módszer a fehérjékben levő másodlagos szerkezetek mennyiségének és típusának meghatározására.

### Mag mágneses rezonancia (NMR)

Két-dimenziós (2-D) NMR-rel és megfelelő NMR spektrométerekkel lehetővé válik kis, kb. 150 vagy kevesebb aminosavat tartalmazó fehérjék oldott konformációjának meghatározása. A multifunkcionális NMR és hármas rezonancia kiterjeszti az NMR alkalmazását 250 aminosavat tartalmazó fehérje szerkezetének meghatározásáig.

## 27. FEHÉRJÉK ÉS AMINOSAVAK METABOLIZMUSA

Az állati szervezet a fehérjéinek előállításához szükséges húszféle aminosavhoz két úton juthat hozzá. Kívülről felvett fehérjetartalmú táplálék hidrolitikus termékeként vagy endogén úton előállított aminosavként. Az aminosavak szintéziséhez szénhidrátokra (szénváz) és felhasználható formában lévő nitrogénre azaz ammóniára (amino csoport) van szükség. A szénvázon keresztül az aminosavak metabolizmusa szoros kapcsolatban áll a szénhidrátok és a zsírok anyagcseréjével, illetve az amino csoporton keresztül az urea ciklussal is.

A humán sejtek nem képesek mind a 20 aminosav szintézisére ezért bizonyos aminosavak kizárólag a táplálékkal tudnak bejutni a fehérjeszintézis folyamatába. Ezeket **esszenciális** aminosavaknak hívjuk. Néhány aminosavat elő tudunk ugyan állítani, de a szintézis sebessége nem fedezi az igényeket ezért ebben az esetben is a táplálékkal bevitt forrásra kell támaszkodnunk. Ezek a **szemiesszenciális** aminosavak. Végül azokat az aminosavakat, amelyeket a humán szervezet elegendő mennyiségben képes szintetizálni, **nem esszenciális** aminosavaknak nevezzük.

A táplálékkal felvett fehérjék lebontása több lépésben, számos enzim (proteázok) által katalizálva zajlik le. A gyomor széles szubsztrát specificitással rendelkező proteáza a **pepszin**. A fehérjék degradálásának ezen lépése nagyobb peptideket eredményez. A gyomorban megkezdett emésztés a bélben folytatódik. Az itt található enzimek a **tripszin**, a **kimotripszin**, a **karboxipeptidázok** és az **elasztáz**, rövidebb peptidekre és szabad aminosavakra bontják a gyomorból érkező peptideket. A bél lumenébe bejutott kisebb peptidek és aminosavak a bélbolyhokba kerülnek, ahol további **peptidázok** közreműködésével hidrolizálnak, majd az aminosavak a portális vérbe jutnak. A májba transzportált aminosavak aztán amino csoportra és szénvázra szétválva folytatják útjukat.

Az aminosavak bioszintézise nagy mennyiségű nitrogént igényel. A forrás lehet  $N_2$ , ez esetben a folyamatot **nitrogénfixálásnak** nevezik, vagy  $NO_3^-$ , ez esetben a **nitrát redukciójával** kapjuk meg a szintézishez szükséges  $NH_4^+$ -ot. A nitrogénfixálás során működő, a nitrogént redukáló enzimrendszert **nitrogenáznak** nevezik. Az enzim felépítése rendkívül komplex: két alegységből álló Fe-S-fehérje és négy alegységből álló Fe-Mo fehérje összekapcsolásával épül fel. A folyamat energiaigényes, amihez az energiát ATP adja:  $N_2 + 10H^+ + 8e^- + 16ATP \rightarrow 2 NH_4^+ + 16ADP + 16 P_i + H_2$ . A nitrát redukció folyamata két lépésben megy végbe: először a **nitrát-reduktáz** nitráttá redukálja, majd ezt a **nitrit-reduktáz** ammóniává:  $NO_3^- + 2e^- \rightarrow NO_2^- + 6e^- \rightarrow NH_4^+$ . A folyamathoz az elektronok NADH-ról és ferredoxinról származnak.

A nitrát és a nitrogén redukciója során keletkező ammónia a glutamáton illetve a glutaminon keresztül épül be a többi aminosavba és a nitrogéntartalmú egyéb vegyületekbe. A glutamát központi szerepet játszik az aminosavak anyagcseréjében. Szintézisében és lebontásában a **transzaminázok** mellett a **glutamát-dehidrogenáz** a legfontosabb enzim. A reverzibilis reakcióban az alfa-ketoglutarát alakul át glutamáttá. Az enzim a glutamát irányába szabad ammóniumot használ fel és NADPH-t oxidál, míg a fordított irányba ammónium és NADH keletkezik. A mitokondrium mátrixában megtalálható enzim emberben leginkább az alfa-ketoglutarát irányába folyó reakciót katalizálja. Az ammónium beépülésének másik útja a **glutamin-szintetáz** reakció. Ebben a lépésben a glutamát gamma-karboxil csoportjának OH része amid csoportra cserélődik. A folyamat energiaigényét ATP fedezi. Emberben ez az ammónium beépülésének legfontosabb reakciója ennek megfelelően a glutamin-szintetáz mind alloszterikusan (termékek által), mind kovalensen (baktériumokban) szabályozott.

### 27.1. A GLUTAMÁT CSALÁD BIOSZINTÉZISE (GLU, GLN, PRO, ARG)

Ahogy az korábban már láttuk a glutamát **alfa-ketoglutarátból** keletkezik **transzaminálással**. A glutamátból a **glutamin-szintetáz** ATP felhasználásával állítja elő a **glutamint**. A glutamát a **prolinnak** és az állatok egy része és az ember számára esszenciális **argininnak** is a prekursora. Az arginin és a prolin bioszintézisének első lépései közösek: ATP és NADH felhasználásával egy

szemialdehid közttermék keletkezik. Ez a közttermék NADPH hatására redukálódik prolinná, vagy acilezés és transzaminálás után ornitin keletkezik belőle, ami az urea cikluson keresztül alakul argininné. Az arginin bioszintézise nem tudja kielégíteni a növekedésben lévő szervezet igényeit ezért tartozik az esszenciális vagy más besorolás szerint a szemiesszenciális aminosavak közé. A glutamát a prekursora a  **$\gamma$ -aminobutirátnak (GABA)** is: a **PLP** kofaktoral működő **glutamát-dekarboxiláz** enzim hasít le a glutamátról egy  $\text{CO}_2$ -t kialakítva ezzel a neurotranszmittert. Az argininnal kapcsolatban meg kell említenünk a **nitrogén monoxid-szintáz (NOS)** reakciót, ami az NO termelésért felelős. A NOS által katalizált reakcióban argininből citrullin képződik NADPH felhasználásával, miközben NO termelődik. Az NO neurotranszmitterként és vazodilatátorként is fontos szerepet játszó gáztranszmitter, pontos szerepére később térünk vissza.

## 27.2. AZ ASZPARTÁT CSALÁD BIOSZINTÉZISE (ASP, ASN, MET, THR, ISO, LYS)

Az oxálacetátból **transzaminálással** keletkezik az **aszpartát**: az aminodonor a glutamát. Az aszpartát **amidálása aszparagint** eredményez. Az ehhez szükséges amino csoport glutaminból származik. Az aszpartátból ATP és NADPH felhasználásával keletkező szemialdehid a kiindulási molekulája az ember számára esszenciális **lizin, treonin, izoleucin** és **metionin** aminosavaknak.

## 27.3. AZ ALANIN CSALÁD BIOSZINTÉZISE (ALA, VAL, LEU)

Az **alanin** szintézise a piruvát egyszerű **transzaminálási** reakciója, ahol az aminodonor glutamát vagy valin. Emberben a piruvátból kiinduló **valin** és **leucin** szintézis nem működik, ezért ezek az aminosavak is az esszenciális kategóriába tartoznak.

## 27.4. A SZERIN CSALÁD BIOSZINTÉZISE (SER, CYS, GLY)

A gerincesek májában a szerin bioszintézis kiindulási vegyülete a glikolízis során keletkező **3-foszfoglicerát**, ami NAD felhasználásával oxidálódik majd transzaminálással és hidrolízissel alakul **szerrinné**. A folyamat első lépése, a foszfoglicerát-dehidrogenáz reakció, alloszterikus szabályozott a végtermék szerin által. A szerinből tetrahidrofolát (THF) közreműködésével **glicin** képződhet. Ezt a reakciót a PLP kofaktoral működő **szerin hidroximetil-transzferáz** enzim katalizálja. Glicin ugyanakkor a **glicin-szintáz** vagy más néven **glicin hasító enzim** segítségével is képződhet. Ez a gerincesek májában lezajló reakció is tetrahidrofolátot igényel:  $\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{N}^5, \text{N}^{10}\text{-metilén-THF} + \text{NADH} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{glicin} + \text{THF} + \text{NAD}^+$ . A glicin számos bioszintetikus útvonal prekursor molekulája. A purin nukleotidok, a porfirin gyűrű, a kreatin, az epesavak és a glutation képződéséhez is szükség van glicinre. A **cisztein** eltérő úton keletkezik baktériumokban és növényi illetve állati sejtekben. Előbbiek a ciszteint inorganikus szulfátból és O-acetilszerinből is elő tudják állítani. A cisztein szintéziséhez szükséges ként az állatok csak **metionin** forrásból képesek fedezni. A metionin először **S-adenozil-metioninná** alakul, amiről először a metil csoport majd az adenzin is hidrolizál és visszamarad a **homocisztein**. A homocisztein és a szerin vízkilépéssel **cisztationná** alakul majd  $\alpha$ -ketobutirátra és ciszteinre bomlik. A homocisztein emellett egy metil-THF metil csoportjával **metioninná** tud alakulni. A szerin fontos szerepet játszik a cisztein és a metionin bioszintézise mellett a foszfolipidek szintézisében is.

## 27.5. GYŰRŰS AMINOSAVAK BIOSZINTÉZISE (PHE, TYR, TRP, HIS)

Az aromás aminosavak (Phe, Tyr, Trp) szintézise **eritróz-4-foszfátból** és **foszfo-enolpiruvátból** indul ki. A szintézis elágazási pontja a korizmasav, ami dehidratálódás útján fenil-piruváton keresztül **fenil alaninné** vagy pedig dehidratálódás nélkül **tirozinná** alakul. A **triptofán** szintézise ugyancsak korizmasavból indul ki. Az indolgyűrű nitrogénje glutamátból származik és a folyamatban foszfo-



ribozil-pirofoszfát is részt vesz. Fenilalanint és triptofánt nem tudunk de novo szintetizálni (esszenciális aminosavak) ugyanakkor elegendő fenilalanin jelenlétében a **fenilalanin-hidroxiláz** tirozint képes szintetizálni. A reakció oxigént és tetrahydrobiopterint (THB) igényel. A THB-ből dihydrobiopterin (DHP) keletkezik, ami NADPH segítségével visszaredukálódhat THB-vé a dihydrobiopterin-reduktáz közreműködésével. A tirozin rendkívül fontos prekursor a katekolaminok bioszintézisében. A tirozin-hidroxiláz THB közreműködésével dopává majd az aromás aminosav-dekarboxiláz PLP-vel **dopaminná** alakítja. A dopamin tovább alakulhat **norepinefrinné** és **epinefrinné**. A triptofán hasonló módon egy hidroxiláz és egy dekarboxiláz enzim segítségével alakul **szero-toninná**. A **hisztidin** bioszintézis kiindulási vegyületei az **5-foszforibozil-1-pirofoszfát (PRPP)**, az **ATP** és a **glutamin**. A hisztidin szénváza a ribózból, az imidazolgyűrű egyik szénatomja és nitrogénatomja adeninből, a másik nitrogénatomja glutaminból származik, míg az aminosav  $\alpha$ -amino csoportja glutamátról transzaminálással kerül át a hisztidinre. Ez az útvonal csak baktériumokban és növényekben működik ezért a hisztidin az ember számára esszenciális aminosav. Prekuzorként fontos a **hisztamin** szintéziséhez (hisztidin-dekarboxiláz).

Az aminosavak szintézise komplex alloszterikus szabályozás alatt áll. Általánosan elmondható, hogy a bioszintetikus útvonalak első enzime szabályozott a végtermék (vagy több termék) által. Így a rendszer a sejt mindenkor aminosav szükségletének megfelelően képes működni. Az azonos prekuzorból képződő aminosavak esetében individuálisan szabályozott izoenzimek biztosítják, hogy a végtermékek csak a saját szintézisüket tudják „feedback” szabályozással gátolni.

## 27.6. AMINOSAVAK LEBONTÁSA

Az aminosavak lebontása során az amino csoport (konkrétan a nitrogén) és a szénváz sorsa szétválik. Általánosságban elmondhatjuk, hogy az amino csoportból ammónia keletkezik, a szénváz pedig a citrátkörbe kerül.

Attól függően, hogy az aminosavak szénváza milyen reakció utakra kapcsolódhat be megkülönböztetünk: acetoacetyl-KoA-n és/vagy acetyl-KoA-n keresztül zsírsav és ketontest szintézishez vezető ún. **ketoplasztikus** (Leu, Lys); piruváton,  $\alpha$ -ketoglutaráton, szukcináton vagy oxálacetáton keresztül a glükoneogenezisbe belépő **glukoplasztikus** és mindkét csoportba tartozó aminosavakat (Trp, Tyr, Phe, Thr, Ile).

Az amino csoport és a szénváz szétválasztása több módon is megtörténhet. Az átalakulás gyakori formája a **transzaminálás**. Ilyenkor egy aminosav amino csoportja kerül át  $\alpha$ -ketoglutarátra ( $\alpha$ -ketosav) miközben az aminosavból  $\alpha$ -ketosav az  $\alpha$ -ketoglutarátból pedig glutamát keletkezik. A transzamináz enzimek **PLP** kofaktorról működnek és az amino csoportok mozgásában van szerepük, de szabad ammónium ezekben a reverzibilis reakciókban nem keletkezik. A PLP a B<sub>6</sub> vitamin (piridoxál) származéka, ami a reakció során piridoxamin-foszfátként veszi át az amino csoportot az aminosav szubsztrátról, majd visszaalakulva piridoxál-foszfáttá adja le a ketosav szubsztrátnak. A glutamát ezek után **oxidatív dezaminálódik** visszatermelve az  $\alpha$ -ketoglutarátot, a felszabaduló ammónium pedig **urea** formájában (uroetel szervezetek) ürül ki a szervezetből. Ezt a két reakcióból álló kapcsolt folyamatot (transzaminálás + oxidatív dezaminálás) hívjuk **transz-dezaminálásnak**. A glutamáthoz hasonlóan a szerin, a hisztidin és a treonin is részt vehet direkt dezaminálásban, ammóniumot és a megfelelő ketosavat eredményezve. Ez a szerin esetében piruvát, míg a treonin esetében  $\alpha$ -ketobutirát. A treonin emellett a **treonin-dehidrogenáz** enzim közreműködésével 2-amino-3-ketobutiráttá alakulhat, ami aztán vagy glicinné vagy dekarboxilálás és dezaminálás után laktáttá alakul tovább.

Az eddig említett májban lejátszódó reakciók mellett dezaminálás a vesében is végbe mehet **aminosav-oxidázok** katalízisével, ezek a folyamatok azonban az aminosavak katabolizmusa szempontjából kisebb jelentőségűek. Az aminosav-oxidázok sztereospecifitását illetően magától értetődőnek látszana, hogy az L-aminosavakra specifikusak. Ezzel szemben az állati szervezetben megtalálható a D-

aminosavakra specifikus izoforma is, aminek szerepe a növényi vagy bakteriális eredetű D-aminosavak lebontása. A glicin lebontásának egyik útja ilyen **D-aminosav-oxidázon** keresztül vezet glioxilát majd annak oxidációján keresztül oxalát képződéséhez.

A glicin lebontásának másik két útja közül az első szerint eredményez a **szerin-hidroximetil-transzferáz** lépésén keresztül. Ez az enzim THF és PLP koenzimokkal működik és a keletkezett szerin a korábban ismertetett szerin-dehidratáz reakción keresztül alakul piruváttá. A glicin lebontásának harmadik és egyben legjelentősebb útja a glicin oxidatív hasítása a **glicin hasító enzim** által. A reakció során  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$  és metilén csoport keletkezik, ez utóbbit egy THF veszi fel, ezáltal a glicin két szénatomja nem a citrátkörbe jut, hanem széndioxidként és a bioszintetikus utakhoz felhasználható metilén csoportként szabadul fel. Szabad ammónia keletkezhet még a glutamin amidjából is a **glutamináz** reakció során. Ezt a máj mitokondriumban található enzimet a sejt energetikai állapota szabályozza: magas ATP, GTP és NADH koncentráció gátolja; magas ADP, GDP koncentráció serkenti. Amint láthattuk a glutamát központi szerepet játszik az aminosavak anabolizmusában és katabolizmusában is: az ammónium beépülésének és a szabad ammónium keletkezésének is kulcs molekulája.

Habár az aminosavak lebontása legfőképpen a májban megy végbe, a három **elágazó láncú aminosav (Val, Ile, Leu)** lebontása extrahepatikus szövetekben (izom, zsír, vese, agy) játszódik le. A lebontáshoz szükséges **elágazó láncú aminotranszferáz** enzim ugyanis csak ezekben a szövetekben található meg. A keletkezett  $\alpha$ -ketosavak az **elágazó láncú  $\alpha$ -ketosav-dehidrogenáz komplex** közreműködésével oxidatív dekarboxilálódnak (hasonlóan, mint a piruvát és az  $\alpha$ -ketoglutarát) és acil-KoA molekulákká alakulnak. Ehhez a reakcióhoz csakúgy, mint a korábban említett másik két dehidrogenáz komplexhez, öt kofaktorra van szükség: TPP, liponsav, KoA, NAD, FAD. Az enzim komplex defektusa okozza a **maple syrup (jávorfaszörp)** betegséget.

## 28. UREACIKLUS (ORNITINCIKLUS, KARBAMIDCIKLUS)

A szervezetben az ammóniumion koncentrációja egy bizonyos határon felül toxikus. Ennek elsődleges oka, hogy az ammónium koncentráció befolyásolja a glutamát -  $\alpha$ -ketoglutarát egyensúlyt. Magas ammóniumion koncentráció ezt az egyensúlyt a glutamát irányába tolja el, lecsökkentve ezáltal az  $\alpha$ -ketoglutarát koncentrációját és ezen keresztül a citrátkör sebességét. Az ammónia eliminációjának legfontosabb útja az **ureaciklus**, melynek lényege, hogy a májban az ammóniából, bikarbonátból és aszpartátból urea szintetizálódik. A ciklushoz szükséges szabad ammónia **glutamátból** vagy **glutaminból** származik a korábban leírt glutamát-dehidrogenáz illetve glutamináz enzimek közreműködésével. A perifériás szövetekből e két aminosav mellett az **alanin** általi transzport bír még jelentőséggel. A korábban szintén tárgyalt alanin ciklus eredményeképpen a legfőképpen az izomból érkező alanin amino csoportját szintén a glutamáton keresztül (alanin-aminotranszferáz reakció) juttatja el az ureaciklusba.

1. Az ureaciklus első lépése a máj mitokondrium mátrixában lejátszódó **karbamoil-foszfát-szintetáz I.** által katalizált reakció, amelyben  $\text{CO}_2$  és ammónium alakul **karbamoil-foszfáttá** két ATP hidrolízise mellett. Az enzim citoszolikus izoformája (karbamoil-foszfát-szintetáz II.) a nukleotid anyagcserében játszik fontos szerepet és mind a szubsztrátja (glutamin) mind a szabályozása eltér a mitokondriális izoformáétól.
2. A következő, még mindig mitokondriális, lépésben a karbamoil-foszfát ornitinnal **citrullint** képez. Az **ornitin-transzkarbamoiláz** által katalizált reakcióban az előző lépésben hozzáadott foszfát lehasad.
3. A citrullin ezután a citoszolba transzportálódik és aszpartáttal **argininoszukcináttá** kondenzálódik. Az **argininoszukcinát-szintetáz** lépés **irreverzibilis** mert az ATP hasításából keletkező  $\text{PP}_i$  azonnal tovább hasad két inorganikus foszfáttá. Az aszpartát amino csoportja szolgáltatja a második amino csoportot az urea szintéziséhez.
4. Az argininoszukcinát **argininoszukcináz** segítségével hasad **argininre** és **fumarátra**. A fumarát (gyakorlatilag az aszpartát szénváza) előbb maláttá alakul majd visszajutva a mitokondriumba csatlakozik a citrátkörhöz.
5. A ciklus utolsó lépéseként az arginin, **argináz** jelenlétében **ureára** és **ornitinre** hidrolizál. Az urea a citoszolból a vérkeringésbe kerül, majd a vese kiválasztja. Az ornitin vissza transzportálódik a mitokondriumba, lezárva a ciklust. Az ornitin hasonló szerepet tölt be az ureaciklusban, mint az oxálacetát a citrátkörben.

Ahogy láthattuk a két ciklus szorosan kapcsolódik egymáshoz: az aszpartát szénváza oxálacetátból származik, amino csoportja pedig glutamátból. A transzaminálás során  $\alpha$ -ketoglutarát keletkezik, míg az ureaciklusból felszabaduló fumarát végső soron az oxálacetát szénvázát juttatja vissza a citrátkörbe. Mivel mindkét ciklus leírása Hans Krebs nevéhez fűződik a kapcsolt metabolikus köröket Krebs bicikliként szokták emlegetni.

### 28.1. SZABÁLYOZÁS

Az ureaciklus szabályozásának legfőbb pontja a ciklus sebesség meghatározó lépése a **karbamoil-foszfát-szintetáz I.** reakció. Az enzim alloszterikus aktivátora az N-acetil-glutamát, ami az N-acetil-glutamát-szintetáz enzim terméke:  $\text{Glu} + \text{acetyl-CoA} \rightarrow \text{N-acetyl-glutamát} + \text{CoA}$ . Ezt a reakciót a szubsztrátok koncentrációja mellett az arginin koncentrációja szabályozza, mint alloszterikus aktivátor. Magas fehérje tartalmú diéta illetve hosszan tartó éhezés (fehérjebontásból származik az energia) szintén felgyorsítja a ciklust.

Az ureaciklus fenntartása létfontosságú, teljes blokkolása nem egyeztethető össze az étellel. A részleges enzimdefektusok következtében fellépő **hiperammonémia** kezelésének lehetőségei a fehérjeszegény diéta, illetve az esszenciális aminosavaknak megfelelő ketosavak szervezetbe juttatása, amelyek transzaminálása csökkenti az ammóniaterhelést és pótolja az esszenciális aminosavakat.



## 29. AZ AMINOSAV METABOLIZMUS KLINIKAI VONATKOZÁSAI

Az aminosavak nemcsak a fehérjék, hanem számos más biomolekula felépítésében is részt vesznek, ilyenek például komplex lipidek, hormonok, koenzimek, nukleotidok, neurotranszmitterek, porfirinek, alkaloidok, antibiotikumok és pigmentek.

### 29.1. AZ AMINOSAVAK SZEREPE A LIPID SZINTÉZISBEN:

Szerin, etanolamin és kolin (mindkettő szerin származék) a foszfolipidek alkotórészei. A szerin (és palmitoil-KoA) a ceramid szintézis prekursorai (a ceramid a szfingolipidek szerkezetének alapköve).

### 29.2. AZ AMINOSAVAK SZEREPE A NUKLEOTID BIOSZINTÉZISBEN:

A glicin a purin bioszintézis, míg az aszpartát a pirimidin szintézis prekursora. A glutamin és aszpartát az amino csoportok forrása a de novo nukleotid szintézis számos lépésében.

### 29.3. JELENTŐS NEUROTRANZMITTEREK, HORMONOK ÉS PIGMENTEK A TIROZIN SZÁRMAZÉKAI

A tirozin metabolizmus szorosan összefügg a fenilalanin metabolizmussal, mivel a tirozin a fenilalanin hidroxilálásával képződik. A reakciót a **fenilalanin hidroxiláz** enzim katalizálja (ea. ábra), ami egy tetrahydrobiopterin függő enzim. (a biopterin a folsavtól eltérően, amelyre emlékeztet pteridin gyűrűje miatt, nem vitamin, GTP-ből szintetizálódik).

A fehérjékbe be nem épült tirozin többsége metabolizálódik acetoacetáttá és fumaráttá, de egy része **katekolaminok** prekursoraként szolgál (ea. ábra). A katekolamin szintézis a tirozin hidroxiláz reakcióval kezdődik, amely a Phe hidroxilázhoz hasonlóan, tetrahydrobiopterin függő. A reakcióban **DOPA** képződik. Majd a DOPA **dopaminná**, az aktív neurotranszmitterré alakul. Az agy némely részében ez az útvonal utolsó enzimje. A mellékvesekéregben a dopamin noradrenalinná és adrenalinná alakul (epinefrinnek is nevezik). Az adrenalin metil csoportja S-adenozil-metioninből származik. A katekolaminok szintje, más körülmények mellett korrelál a vérnyomás változásával. A neurológiai betegség, a Parkinson kór a dopamin elégtelen termelésével függ össze, amit hagyományosan L-DOPA adásával kezelnek. A dopamin túltermelése az agyban fiziológiás betegségekhez kapcsolódhat, olyan mint a skizofrénia.

A katekolaminok katabolizmusát a monoamino oxidáz és a katekolamin O-metiltransferáz katalizálják (ea. ábra). A metabolitok hiánya a vizeletben diagnosztikus értékű, a katekolamin szintézis defektusára utal.

A tirozin szintén prekursor a **melanin** és tiroid hormonok szintéziséhez. A tirozin melaninná való átalakulását a **tirozináz** enzim (egy réztartalmú enzim) katalizálja (ea. ábra). Ez a reakció dopakinont hoz létre két lépésben, és DOPA-t használ a közbünső lépésben. Melanogenezis alatt, UV fény hatására a tirozináz és egy ugynevezett tirozináz-függő fehérje indukálódik. A tirozináz aktivitás hiánya albinizmushoz vezet. A melaninnak különböző típusai vannak (sötét, sárga és színtelen). Mindegyik aromás kinon, és a szín a konjugált kötés rendszernek köszönhető.

A tirozin szintén szükséges prekursor a **tiroid hormonok** szintéziséhez. A tiroid hormonok szintézise jódbelépülését igényli a tiroglobulin tirozin oldalláncára (részleteket lásd a hormonok fejezetben).

A fenilalanin és tirozin szintén részt vesz számos, kereskedelmileg jelentős természetes termék felépítésében, olyan mint a **tanin**, ami a borban az oxidációt gátolja, alkaloidok (pl. **morfin**); és a **fahéj**,

**szerecsendió, szegfűszeg, vanília, cayenne bors** és más termékek aromájának meghatározásában.

#### 29.4. A TRIPTOFÁN A NAD, SZEROTONIN ÉS MELATONIN PREKURZORA

A triptofán katabolizmus intermedierei prekurzorként szolgálnak más biomolekulák szintéziséhez. Ezek között szerepel a nikotinsav, amely állatokban a **NAD** és **NADP** prekurzora, a szerotonin, amely gerincesekben egy neurotranszmitter, a melatonin, egy alvást indukáló molekula, és az indolacetát, amely növényekben egy növekedési faktor.

A **szerotonin** (5-hidroxitriptamin) a triptofán hidroxilációjával (egy tetrahydropterin függő enzim által), és az ezt követő dekarboxilációval (egy piridoxálfoszfátot tartalmazó enzim által) képződik (lásd előadás ábra). A szerotonin egy neurotranszmitter az agyban, és a arteriolák és bronchiolák simaizom kontrakcióját stimulálja. A testben számos helyen előfordul és egyéb fiziológiai szerepei is vannak ezeken kívül. Az 5-hidroxiindol-3-ecetsav hiánya a szerotonin szintézis hiányának az indikátora.

A **melatonin** vagy N-acetil-5-metoxitriptamin a tobozmirigyben és a retinában szintetizálódik. Főleg sötétben képződik és a cirkadián ritmus szabályozásában játszik szerepet. Úgy tűnik, más neurotranszmitterek (olyan mint a dopamin és GABA) szintézisének és szekréciójának gátlásával fejti ki hatását.

#### 29.5. EGYÉB, AMINOSAVAK DEKARBOXILÁCIÓJÁVAL KÉPZŐDŐ BIOGÉN AMINOK

**GABA** ( $\gamma$ -aminobutirát) egy gátló neurotranszmitter, ami a glutamátból szintetizálódik dekarboxilációval. Elégtelen termelése összefügg az epileptikus rohamokkal. A GABA analógokat az epilepszia és magas vérnyomás kezelésében használják. A GABA szint növelése szintén lehetséges a GABA lebontó enzim, a GABA aminotranszferáz inhibitorainak adásával.

A hisztidin dekarboxilációja **hisztamin** eredményez, ami hatékony vazodilatátor állatokban. A hisztamin nagy mennyiségben szabadul fel az allergiás válaszreakció részeként, valamint szintén stimulálja a gyomorsav szekrécióját. Egyre növekszik azon gyógyszerkészítmények sora, ami a hisztamin szintézisét vagy hatását csökkenti (például a cimetidin egy hisztamin receptor antagonistá).

#### 29.6. A KARNITIN LIZINBŐL SZÁRMAZIK

A közepes és hosszú láncú zsírsavak karnitin-konjugált formában szállítódnak a mitokondriumba a  $\beta$ -oxidációhoz. A karnitin nem szabad lizinből, hanem bizonyos fehérjék lizin oldalláncából szintetizálódik. Az első lépés a lizin oldallánc  $\epsilon$ -amino csoportjának trimetilézése, S-AdoMet-nal, mint amino csoport donor. Szabad trimetillizin a fehérjéből hidrolízissel szabadul fel, majd négy lépésben átalakul karnitinné (ea. ábra).

#### 29.7. AMINOSAVAK A KREATIN ÉS GLUTATION SZINTÉZIS PREKURZORAI

A **kreatin glicinből** és **argininből**, valamint **metioninből**, mint metil csoport donor szintetizálódik. A kreatinból származó foszfokreatin jelentős energia puffer a vázizmokban. A kreatin mennyisége a testben szorosan kapcsolódik az izomtömeggel, és egy bizonyos százaléka turnoveren megy keresztül minden nap. A meglévő kreatin(foszfát) kb. 1-2 %-a nem-enzimatikusan átalakul kreatininné, ami távozik a vizelettel, és a helyébe új kreatin szintetizálódik. A vizelet kreatinin mennyisége hűen reprezentálja a napi vizelet mennyiséget.

A **glutacion** ( $\gamma$ -glutamil-ciszteinil-glicin tripeptid) számos fontos biológiai funkcióval bír.

Redukálószer, gyógyszerekhez konjugálódva azokat vízdékonyabbá teszi, részt vesz az aminosavak sejtmembránon keresztüli transzportjában, enzimatikus reakciók kofaktora, és segíti a fehérje diszulfid hidak átrendeződését.

A glutation három aminosavból, glutamátból, ciszteinből és glicinből képződik (ea. ábra). A szintézis a dipeptid  $\gamma$ -glutamil-cisztein formálásával kezdődik, amit a glicin hozzáadása követ. Mindkét reakció ATP segítségével való karboxil csoport aktivációt igényel. Főleg a cisztein elérhetősége szabályozza a glutation szintézisét.

A glutation oxidált formája (GSSG) redox aktivitásának betöltése során képződik. Ez két diszulfid kötéssel összekacsolt glutationból áll. A glutation segít a fehérjék szulfhidril csoportjainak, és a hem vas redukált ( $\text{Fe}^{2+}$ ) állapotban való fenntartásában. Redox funkciójához tartozik még az aerob körülmények között folyó normál növekedés és metabolizmus során képződött toxikus peroxidok eltávolítása is (ea. ábra). A reakciót a glutation peroxidáz katalizálja (ez az enzim egy kovalensen kötött szelén (Se) atomot is tartalmaz szelenocisztein formájában, ami esszenciális a z aktivitásához).

Az oxidált glutation a glutation reduktáz reakcióban redukálódik vissza, ami NADPH-t használ redukáló ekvivalensként.

### Aminosavak transzportja a $\gamma$ -glutamil ciklussal

A  $\gamma$ -glutamil ciklus egy példa a „csoport transzfer” transzportra (ea. ábra). Energia igényesebb, mint más mechanizmusok, de gyors és nagy kapacitású, és a vesében és néhány más szövetben működik. Különösen jelentős a vese epithélium sejtekben.

A  $\gamma$ -glutamil transzpeptidáz enzim a sejtmembránban helyezkedik el. Ez a GSH-t a sejt felszínre juttatja az aminosavval való interakcióhoz. A  $\gamma$ -glutamil aminosav a sejtbe szállítódik, és a komplex hidrolizál, így az aminosav felszabadul. A glutamát 5-oxoprolinként szabadul fel, és a ciszteinil-glicin hasítódik aminosav komponenseire. A GSH regenerálásához a glutamát újraképződik oxoprolinból, és a GSH újrászintetizálódik a három részkomponensből. Három ATP használódik fel a glutation regenerációjához.

## 29.8. HEM BIOSZINTÉZIS

Hem lényegében minden emlős szövetben képződik (főleg a csontvelőben és a májban). Egy  $\text{Fe}^{2+}$  iont és a tetrapirrol gyűrűt (protoporfirin IX) tartalmaz. A testben számos jelentős hem tartalmú komponens található (hemoglobin, mioglobin, kataláz, peroxidáz, citokrómok...) A hem szerves része nyolc glicinből és nyolc szukcinil-KoA-ból származik. A hem bioszintézis enzimeit megtalálhatók mind a mitokondriumban, mind a citoszolban.

A hem bioszintézis lépései:

### 1. Delta aminolevulinsav szintáz (DALAS)

Az első lépésben a glicin szukcinil-KoA-val való reakciója  $\alpha$ -amino- $\beta$ -ketoacidat eredményez, ami aztán dekarboxilálódik  $\delta$ -aminolevulinsavvá. Ez a hem szintézis sebességmeghatározó lépése. A DALAS egy mitokondriális, PLP-t igénylő enzim. A DALAS-nak két izozimje van, csak a vörösvértest forma tartalmaz IRE-t („iron response element” = vas válasz elem). Számos anyag szabályozza mind az enzim szintézisét, mind az aktivitását. A hem allosztérikusan gátolja az enzimet, a glükóz gátolja a hem szintézist transzkripció faktorok inaktivációján keresztül. Bizonyos szteroid hormonok aktiválják az enzimet, és számos gyógyszer is indukálja.

**2. ALA dehidratáz**

Ebben a citoszolikus lépésben két molekula ALA asszimmetrikusan kondenzál porfobilinogénné. Az ALA dehidratáz egy szulfhidril enzim, ami igen érzékeny nehéz fémekkel való gátlásra.

**3. Porfobilinogén deamináz**

Az enzim a négy molekula porfobilinogént lineáris tetrapirrollá alakítja, ami egy enzimfüggetlen lépésben záródik uroporfirinogén I-gyé, ha plusz faktorok nincsenek jelen. Uroporfirinogén III kozsintáz jelenlétében az uroporfirinogén III izomer jön létre.

**4. Uroporfirinogén dekarboxiláz**

Az enzim az uroporfirinogének oldalláncain hatva koproporfirinogének képződését segíti elő(I és III izomereket egyaránt). Vas sók gátolják az enzimet. Az enzim egygénés defektusa a „porphyria cutanea tarda” nevű betegséghez vezet, ami fényérzékenységekben manifesztálódik. Ez csak bizonyos körülmények között fejeződik ki, például bizonyos gyógyszerek szedése esetén (amik fokozzák a porfirin szintézist) vagy nagy mennyiségű alkoholfogyasztás után (ami vas felhalmozódáshoz vezet).

**5. Koproporfirinogén oxidáz**

Ebben a mitokondriális lépésben a koproporfirinogén III átalakul protoporfirinogén III-má. Az enzim hiányával összefüggő domináns betegség az örökletes hepatikus (máj) porfíria, ami örökletes koproporfíria néven ismert.

**6. Protoporfirinogén oxidáz**

Ez a mitokondriális enzim protoporfirin IX-et hoz létre, ami ellentétben más hem prekursorokkal igen vízdékony. A fölös mennyiségű protoporfirin IX az epével választódik ki. Az enzim hiánya **egy domináns betegséghez, a „variegate porphyria”-hoz vezet.**

**7. Ferrokelatáz**

A ferrokelatáz a  $Fe^{2+}$ -ot építi be a protoporfirin IX-be a hem szintézis utolsó lépésében. Az enzim érzékeny nehézfémekre (különösen ólomra), és vas hiányra.

**29.9. HEM DEGRADÁCIÓ**

A (főként hemoglobin) hem csoport(ja), ami felszabadul a haldokló vörösvértestekből a lépben, lebomlik szabad  $Fe^{3+}$ -ra és bilirubinra egy kétlépéses útvonalon.

1. Az első lépést a hem oxigenáz katalizálja, ami átalakítja a hemet biliverdinné, egy lineáris tetrapirrol származékká (ea. ábra). A reakció egyéb termékei a szabad  $Fe^{3+}$  és CO, ami főleg a légzőrendszeren keresztül távozik.

Emberben legalább három hem oxigenáz (HO) izozim van. A HO-1-et számos stresszhelyzet indukálja. A HO-2 főleg az agyban és a herében található, ahol folyamatosan expresszálódik.

2. A második lépésben a biliverdin redukálódik bilirubinná, amit a biliverdin reduktáz enzim katalizál.

A retikuloendoteliális rendszerben termelt bilirubin lényegében nem vízdékony, a véráramban albuminhoz kötve szállítódik. (magas koncentrációban toxikus, ezt „kemicterus-nak” hívják, ami a bilirubin lipid membránokhoz való kapcsolódásában manifesztálódik.) A májban a bilirubin bilirubin-diglukuroniddá (epe pigment) alakul. A reakció uridin-difoszfoglukuronsavat használ, ami uridin-difoszfoglükóz oxidációjából származik (ea. ábra). A bilirubin-diglukuronid elég vízdékony ahhoz, hogy az epével a vékonybélbe szekretálódjon, ahol a mikrobiális enzimek számos terméké, elsősor-



ban urobilinogénné alakítják. Némi urobilinogén oxidálódik színes termékekké, urobilinné, szterkobilinné, ami kiürül a széklettel; az urobilinogén egy kis hányada reabszorbeálódik a vérbe, ahonnan a májsejtek eltávolítják és újraszekretálják az epével, vagy urobilin formában exkrécióra kerül a vese által.

Károsodott máj funkció vagy gátolt epe szekréció a bilirubin a májból a vérbe való kiszivárgásához vezet, ami a bőr és a szemgolyó besárgulásához (sárgasághoz) vezet.

Normál állapotban a plazma bilirubin többsége nem-konjugált formában van (indirekt bilirubin), ami lipid-oldékony, nem exkretálódik a vesén keresztül. A szérum konjugált-bilirubin szint emelkedése (Rotor szindróma) máj vagy/és epevezeték betegségek (extra- vagy intrahepatikus), vagy epevezeték elzáródás következménye lehet. „Dubin-Johnson” szindrómában a májból az epébe való bilirubin transzport (szekréció) a defektív.

### Intravaszkuláris hemolízis

Bizonyos betegségekben a vörösvértestek destrukciója intravaszkuláris kompartmentekben megy végbe (nem a RES-ben) A szabad hemoglobin és hem megjelenése a vérplazmában ezen anyagok kiürítéséhez, így vasvesztéshez vezethet a vesén keresztül. „Scavenge” mechanizmusok segítenek ennek a megakadályozásában: a transferrin köti a szabad vasat, így lehetővé teszi annak újrahasonosítását. A szabad hemoglobin oxigenálást és dimerekre való disszociációt követően haptoglobinokhoz ( $\alpha_2$  globulinokhoz) kötődik, ami a retikuloendoteliális sejtekhez közvetíti a hemoglobint degradációra.

A plazmában megjelenő szabad hemet és hematint (hem  $\text{Fe}^{3+}$  ionnal) egy  $\beta$ -globulin, a hemopexin köti, ami a hemet a májhoz szállítja további metabolizmusra a hem-oxigenáz által.

## 29.10. AZ AMINOSAV METABOLIZMUS BETEGSÉGEI

### Fenilketonuria (PKU)

A fenilketonuria a veleszületett anyagcserebetegségek egy klasszikus példája.-ebben az esetben a fenilalanin metabolizmus a károsodott. A **fenilalanin hidroxiláz** enzim hiánya vagy defektusa az oka a legtöbb esetben (97%)- ez a klasszikus forma; vagy ritka esetben a bipterin defektusa is okozhatja (a fenilalanin hidroxiláz kofaktora). Az enzimaktivitás hiánya gátolja a fenilalanin normális átalakulását tirozinná, ami fenilalanin felhalmozódáshoz vezet a testfolyadékokban. Számos, normálisan alacsony szinten végbemenő mellék reakció jöhet létre. A fenilalanin transzaminálódhat piruváttal **fenilpiruváttá**. A fenilpiruvát nagy része dekarboxilálódik **fenilacetáttá** vagy redukálódik **fenillaktáttá**. Ezek a termékek felhalmozódnak a vérben és a szövetekben és exkretálódnak a vizeletben (a fenilacetát jellegzetes szagot kölcsönöz a vizeletnek).

A fenilalanin vagy metabolitjainak felhalmozódása károsítja az agy normál fejlődését, és komoly mentális retardációhoz vezet. Ennek oka lehet, hogy a fenilalanin többlet vetélkedik más aminosavakkal a vér-agy gáton keresztül történő transzportban. A korai felismeréshez nagyon fontos az újszülöttek szűrése. A kezelése magában foglalja a fenilalanin mentes diéta alkalmazását, és tirozin és némely esetben bipterin szupplementációját.

### Alkaptonuria

A fenilalanin és tirozin katabolizmus egy másik öröklött betegsége az alkaptonuria, amelyben a **homogentizát dioxigenáz** a károsodott enzim. Ez az enzim oxidálja normál esetben a homogentizátot (Phe és Tyr lebontás intermedier) maleilacetoacetáttá, ami azután tovább hasadhat

fumarátra és acetoacetátra. Alkaptonuriában a homogentizát felhalmozódik, és a vizelettel ürül. Állás közben a homogentizát sötét színű komponenssé polimerizálódik, ami lilás színű vizeletet eredményez. Ez az állapot kevésbé súlyos, mint a fenilketonuria, de idősebb korra arthritis kialakulásához vezet.

### Juharszirup betegség (MSUD)

A Val, Ile és Leu lebontásában az első lépés ezek transzaminálása a megfelelő ketosav származékká. A ketosavak ezt követően oxidatív dekarboxiláción mennek keresztül a normál metabolizmusban. MSUD-ben azonban az **elágazó-láncú  $\alpha$ -ketosav dehidrogenáz enzim (BCDH)** nem működik, ami gátolja az  $\alpha$ -ketosavak további metabolizmusát. Ez az  $\alpha$ -ketosavak felhalmozódásához vezet, ami a betegséghez kapcsolódó jellegzetes szagot okoz.

Néhány más, az aminosav metabolizmushoz kapcsolódó veleszületett betegséget lásd az előadás ábrán.

## 30. NUKLEINSAVAK

### 30.1. ÉPÍTŐKÖVEK ÉS SZERKEZETEK

A **deoxiribonukleinsav (DNS)** és ribonukleinsav (RNS) nagy, deoxiribonukleotidokból és ribonukleotidokból felépülő polimerek.

A **DNS** a genetikai örökítőanyag. A DNS egyetlen ismert funkciója a biológiai információ tárolása és átadása.

Az **RNS**-ek funkciója sokrétűbb, és számos osztálya megtalálható a sejtekben. A **riboszómális RNS-ek (rRNA)** a riboszómák alkotórészei. A **mesenger RNS-ek (mRNAs)** a genetikai információ közvetítői, a génektől a riboszómáig, ahol a megfelelő fehérje szintetizálódik. A **transzfer RNS-ek (tRNAs)** adapter molekulák, amik lefordítják a mRNS-ben levő információt specifikus aminosav szekvenciára. A fő osztályokon kívül számos, speciális funkciójú RNS típust azonosítottak.

A **nukleotidok** számos fontos szerepet töltenek be a sejtekben:

- DNS és RNS prekursorai
- Kémiai energia szállítók (ATP, GTP)
- Kofaktorok alkotórészei (NAD, FAD, S-adenosilmetionin, Koenzim A)
- Aktivált intermedierek metabolikus reakciókban (UDP-glucose, CDP-diacylglycerol)
- Másodlagos messengerek (cAMP, cGMP)

A nukleotidok három fő alkotórészből épülnek fel:

1. egy **nitrogéntartalmú bázis**
2. egy **pentóz**, és
3. egy vagy több **foszfát**.

A molekula foszfát csoport nélkül egy **nukleozid**.

A nitrogén tartalmú bázisok két alap komponens, a **pirimidin** és **purin** származékai, A nukleotidok bázisai és pentózai heterociklusos komponensek.

### 30.2. BÁZISOK, NUKLEOZIDOK, ÉS NUKLEOTIDOK

Mind a DNS, mind az RNS két fő purin bázist tartalmaz, az **adenint (A)** és **guanint (G)**, és két fő pirimidin bázist. Mindkettőben, a DNS-ben és az RNS-ben az egyik pirimidin a **citozin (C)**, de a második pirimidin bázis különböző a két nukleinsavban, ez a **timin (T)** a **DNS**-ben és az **uracil (U)** az **RNS**-ben.

A purin család más, jelentős tagjai például a koffein és teobromin (a kávéban és a csokoládéban található), és egy rákellenes szer, a 6-merkaptopurin. A pirimidin család néhány tagja szintén hatékony rákellenes szer (5-fluorouracil vagy citarabin)

#### Fiziko-kémiai jellemzők

A **purinok és a pirimidinek gyenge bázisok** -NH<sub>2</sub> csoportjuknak köszönhetően. Savas közegben ezek a csoportok protont vehetnek fel (pozitív töltést létrehozva a bázison). Lúgos oldatban egy proton (a pirimidin N3-ről, vagy a purin N1-ről) disszociálhat; a bázis így funkcionálisan gyenge savként vi-

selkedhet. Ezenfelül, a bázisok **tautomerizálódhatnak**. A keto-enol tautomerizációban a keto forma dominál fiziológiás pH-n.

Oldatban, a **nukleotidok hidrogén kötéssel kapcsolódhatnak egymáshoz**. A legismertebb hidrogén kötési séma a híres Watson és Crick által leírt, amelyekben az adenin a timinhez, a guanin a citozinhez kapcsolódik hidrogén kötésekkel (a keto formák vesznek részt a Watson-Crick bázispárok alkotásában). Ez a bázis párosodási típus nagyon fontos a nukleinsav polimer szálainak kapcsolódásához. Vizes oldatban a szabad egyes nukleotidok kapcsolódásában kevés a Watson-Crick féle bázispár; a bázisok inkább alternatív hidrogén kötési mintákkal és gyűrűik egymásra rétegzésével kapcsolódnak.

**A bázisok heterociklusos gyűrűiket egymás tetjére pakolhatják**, hidrofób interakciókkal stabilizálva a gyűrűk kapcsolatát.. Ez a kapcsolódás „stacking” van der Waals és dipólus-dipólus kölcsönhatások kombinációját is magában foglalja a bázisok között. Ez a bázis „stacking” segít a bázisok vízzel való érintkezésének minimalizálásában, és ezek a bázis „stacking” interakciók igen fontosak a nukleinsavak három dimenziós szerkezetének stabilizálásában.

A purin és pirimidin **bázisok**, különösen néhány purin származék (xantin, húgysav) **vízoldékonysága** gyenge. A poláros cukor rész és az ionos foszfát csoportok kapcsolódása jelentősen javítja a nukleotidok vízoldékonyságát.

A nukleinsavak kétféle **pentózt** tartalmaznak. A DNS ismétlődő deoxiribonukleotid egységei **2'-deoxy-D-ribózt** (a ribóz hidroxilcsoportja a C2 pozícióban hiányzik), az RNS ribonukleotid egységei **D-ribózt** tartalmaznak. A nukleotidokban mindkét típusú pentóz  $\beta$ -furanóz (zárt öt-tagú gyűrű) formában van. A pentóz gyűrű nem planáris (egy síkban levő), hanem enyhén gyűrt „puckered” konformációk egyikében található (négy az öt atomból egy síkban van, az ötödik a sík egyik oldalán).

A nukleotidok bázisai N- $\beta$ -glikozidos kötéssel kovalensen kapcsolódnak a pentóz 1' szénatomjához (a pirimidinek N-1-en és a purinok N-9-en keresztül), és a foszfát az 5' szénatomhoz kapcsolódik észter kötéssel.

**A nukleotidok negatív töltést hordoznak**, a foszfát ionizációja következtében. Nukleotidokba épülve a mono-, di- és tri-foszfát csoportok ionizálnak. Például, az adenzin trifoszfát (ATP) négy disszociábilis protont tartalmaz, ezek közül három pK értéke pH5 alatt van, míg a negyedik pK értéke kb. 6.9. Oldatban, fiziológiás pH-n, egy ATP oldat számos, három vagy négy negatív töltéssel rendelkező titrált formát tartalmazhat.

Habár a fő purin és pirimidinek tartalmazó nukleotidok a leggyakoribbak, mind a DNS, mind az RNS tartalmazhat **minor bázisokat**. DNA-ben ezek közül a leggyakoribbak a fő bázisok metilált formái, néhány virális DNS-ben bizonyos bázisok hidroximetiláltak vagy glikoziláltak. A DNS-ben ezeknek a bázisoknak a genetikai információ szabályozásában vagy védelmében van gyakran szerepük. Az RNS-ben, különösen a tRNS-ben a minor bázisoknak számos típusa megtalálható (előadás ábra).

### 30.3. A DNS ÉS RNS ELSŐDLEGES SZERKEZETE

A polinukleotid elsődleges szerkezete a **nukleotidok szekvenciáját** írja le, amikor azok kovalensen kapcsolódnak egymáshoz lineáris polinukleotid láncot alkotva..

Az egymást követő nukleotidok a DNS-ben és RNS-ben **foszfodiészter kötésekkel** kapcsolódnak, ahol az egyik nukleotid 5' foszfát csoportja a következő nukleotid 3' hidroxil csoportjához kapcsolódik.

Megegyezés szerint, egyes szálú DNS vagy RNS esetében a lánc **5'-véget a bal oldalra, a 3'-véget a jobb oldalra írják**; vagyis a bázis szekvencia leírása 5'  $\rightarrow$  3' irányban történik.(előadás ábra).

A DNS és RNS kovalens gerincében a foszfodiészter kötések lassú, nem-enzimatis hidrolízise mehet végbe. Tesztcsőben az RNS gyorsan hidrolizál lúgos körülmények között, míg a DNS nem; az RNS-ben a 2'-hidroxil csoport (ami hiányzik a DNS-ből) ezért a felelős. Ciklikus 2',3'-monofoszfát nukleotidok lesznek az első termékek, amik gyorsan tovább hidrolizálnak 2' és 3'-nukleozid monofoszfátok elegyére.

### 30.4. MÁSODLAGOS SZERKEZET

A másodlagos szerkezet a **stabil, ismétlődő konformációs mintázat** egy polimerben. A DNS és RNS másodlagos szerkezete különböző, ami az őket alkotó nukleotidok eltéréseiből adódik.

### 30.5. DNS MÁSODLAGOS SZERKEZETE

#### A DNS kettős hélix

- A DNS stabil, oldott konformációja a híres **B-forma kettős hélix**.
- A bázisok a hélix belsejében egymás tetejére pakolódva helyezkednek el.
- A cukor-foszfát gerinc kifelé, az oldószerek kitéve helyezkedik el.
- A hélix jobbménetesen csavarodik. A hélix menetemelkedése 3.4 nm, amit kb. 10.5 maradék tesz ki. A hélix átlagos átmérője 2.0 nm.
- A szálak lefutása antiparallel; egyik szál 3'→5' irányban, a másik 5'→3' irányban fut..
- Kétféle árok van a hélixben (nagy és kicsi) , ahol a bázisok szélei ki vannak téve az oldószerek
- A adenin a timinnel, a guanin a citozinnal képez bázispárt.
- A bázispárok hidrogén kötésekkel kapcsolódnak, két hidrogén kötés kapcsolja össze az adenint és a timint, míg a guanin és citozin három hidrogén kötéssel kapcsolódik egymáshoz..
- A hidrogén kötések a két párosodott bázist egy síkba kényszeríti.
- A bázispárok átfedően pakolódnak egymás tetejére, egy spirális lépcsősor fokaira emlékeztető módon.
- Mivel a két szál egymás komplementere a bázispárok tekintetében, egyik szál bázissorrendje szükségszerűen meghatározza a másik szál szekvenciáját.

#### A DNA balmenetes (Z-forma) hélixet is formálhat

- Ezt bizonyos oldatbeli körülmények kényszerítik ki (magas sókoncentráció vagy bizonyos szerves oldószerek).
- A bázisok itt is Watson-Crick párokban kapcsolódnak, a cukor-foszfát gerinc kifelé, a bázispárok a hélix belsejében található. A bázispárok még mindig közel merőlegesek a hélix hossz tengelyére, és a szálak lefutása antiparallel.
- A Z-forma legszembeötlőbb sajátága, hogy a hélix balmenetes, ami épp az ellentéte a B-forma hélixnek.
- 12 bázispár hoz létre egy teljes csavarulatot, és egy csavarulat hossza 4.4 nm.
- A foszfodiészter gerinc „zig-zag” (cikk-cakk) lefutású, nem pedig lágyabb kanyarulatú..
- A hélix karcsúbb, mint a B-formánál, 1.8 nm átmérővel.
- A nagy árok alig kivehető, és a kis árok mélyebb és keskenyebb, mint a B hélixben.

Feltehetőleg a DNA duplex többsége oldatban B-formában van, néha kis szakaszokon megszakítva Z-formával. A Z-forma hélix részek fontosak lehetnek a gén expresszió szabályozása szempontjából.

Mesterséges körülmények között (pl.. alkoholos oldatokban, amelyek dehidratálják a polimert), DNA **A-forma hélixet** alkothat.

- Ez jobbmenetes, dupla szálú hélix, ami antiparalel szálakat tartalmaz, a B-formához hasonlóan.
- A B-formához hasonlítva a kis árok alig kivehető, míg a nagy árok mélyebb.
- A hélix csavarodása kifejezettebb, és a szomszédos bázispárok közötti emelkedés csak 0.26 nm.
- A bázispárok dőlése élesebb, mint a B-formánál, és a cukor gyűrű gyűrődése is eltérő.

In vivo körülmények között (hidratált körülmények között) az A-forma hélix kialakulása valószínűtlen, így valószínűleg a sejtfunkció szempontjából nincs jelentősége.

### 30.6. SZOKATLAN DNS SZERKEZETEK

„**Inverted repeat**” **szekvenciák** vagy **palindrómok** (DNA szekvenciák amik megegyeznek előre vagy hátrafelé olvasva a két szálát tekintve, kétszeres szimmetriát mutatva) párosodhatnak mindegyik szálon, dupla **hajtú** vagy **kereszt** szerkezetet létrehozva (előadás ábra).

Nukleinsavak szintén formálhatnak **tripla hélixeket** vagy **triplexeket**- amik három szálú szerkezetek, amelyeket a gyűrűk egymásra pakolása és a harmadik szálát a pár egyik tagjához kapcsoló extra hidrogén kötések kapcsolnak össze (előadás ábra).

- A bázisokat összekapcsoló hidrogén kötések többszörös variációjának köszönhetően a standard Watson-Crick párok egy harmadik bázishoz is kapcsolódhatnak (itt a pirimidinek sav-bázis viselkedése is szerepet játszik). A harmadik bázis általában egy purinhez kapcsolja magát, így a triplex formáláshoz általában az egyik szálon hosszabb lefutású csak purint tartalmazó szakasz szükséges, amihez a harmadik szál kapcsolhatja magát. Ilyen szerkezetek a pH-tól függenek, és csak savas körülmények között stabilak.

Bizonyos szokatlan DNS szekvenciák ismételten visszahajolhatnak önmagukon, **quadruplex** szerkezetet létrehozva (előadás ábra);

- Ezek a szekvenciák gazdagok guanin bázisban, és valójában a guanin maradékok formálnak hidrogén kötésekkel egymással, egy négy bázisos szerkezetet, a G-quartettet létrehozva, amely még egy egyértékű iont is tartalmaz a négy bázishoz koordinálva. A szerkezet kialakulásához a guaninok hosszabb lefutását megszakító más bázisok is kellenek, amelyek a kapcsoló egyes szálú hurkokat hozzák létre.

**A G-quartetek** és quadruplex szerkezetek a telomerek (az eukarióta kromoszómák végén fekvő fehérje-DNS komplexek) fontos szerkezeti elemei.

### 30.7. RNS MÁSODLAGOS SZERKEZET

- Az RNS általában **egyes láncokat** alkot, míg a DNS-nél a kettős hélix a természetes forma.
- Az RNS-ben a timin helyett uracil fordul elő.
  - Duplex formákban az uracil adeninnel alkot kiegészítő párt.
  - Ezt a bázispárt két hidrogén kötés stabilizálja, éppen mint az adenin-timin párt.
- A dupla szálú (duplex) régiók az RNS lánc önmagán való visszahajlásával alakulnak ki, kiegészítő bázis párosodást használva. A szálak (szálrészek) antiparalel módon rendeződnek el mint a DNS-ben.

### Az RNS dupla hélix számos tekintetben eltér a DNS B-hélixétől.

- Az RNS duplexek főleg **A-forma hélixet** képeznek, amely jelentősen eltér a DNS B-forma hélixétől.
- A hélix átmérője vastagabb, a 2.6 nm-rel.
- A bázispárok jelentős szögben dőlnek a hélix tengelyéhez képest (körülbelül 20°).
- A hélix teljes fordulata 11 bázispárt foglal magába, és a menetemelkedés hossza 2.9 nm.
- A nagy árok keskenyebb és mélyebb, a kis árok szélesebb és laposabb, mint a B-forma hélixben.
- Az extra –OH csoport a ribózon a deoxiribózhoz képest, a változások a cukor konformációjában és a maradékok hidratációjában vezet a B-hélixétől való fenntartó különbségekhez.

A **tRNS** molekulák másodlagos szerkezete lóherére emlékeztet. A jellemző sajátosságok:

- Számos (4-5) rövid, 4-6 bázispárt tartalmazó helikális lefutású szakasz;
- Számos egyes szálú régió, némely hurkot formál egy hélix szakasz végén (úgynevezett „stem-loop” szerkezetek);
- Számos módosított bázis és cukor, gyakran metilálással módosítva;
- Egy rövid lefutású egyes szálú RNS, egy kidudorodás („bulge”) a molekula közepén, ami nem vesz részt a „stem-loop” szerkezetben (ezt a jellemzőt nem minden tRNA molekula tartalmazza);
- Egy kinyúló egyes szálú régió az RNS molekula 3' végén.

A **messenger RNS** szintén visszahajolhat önmagán „stem-loop” szerkezetet létrehozva.

Eukariótákban a molekula 5' vége egy 7-metilguanin „sapkát” hordoz, ami egy szokatlan 5' foszfát csoporttal kapcsolódik a lánchoz, a szokott 3' kapcsolódás helyett. Ezenfelül, a mRNS 3' vége gyakran egy hosszú lefutású (200 maradékig) adenilát maradékot hordoz (poli A “fark”).

Hasonlóan a kisebb tRNA molekulákhoz, a **riboszómális RNS** molekulák visszahajolnak magukon, többszörös rövid lefutású hélixet, „stem-loop” szerkezeteket és egyes-szálú dudorokat “bulges” alkotva. Szintén mint a tRNS molekulák, ezek a rRNS molekulák gyakran módosulnak, szokatlan bázisokat hordozva.

## 30.8. DNA DENATURÁCIÓ ÉS RENATURÁCIÓ

A DNS kettős hélix stabil fiziológiás hőmérsékleti, sókoncentrációs, és pH körülmények között. Azonban amikor a hőmérséklet túl magas, a pH túl savas vagy lúgos, vagy a sókoncentráció túl alacsony az oldatban, a DNS kettős hélix szétválhat két különálló egyes szálúvá. Ez a folyamat a **DNS denaturáció** vagy „**olvadás**” vagy „**helix-coil**” átmenet. Az oldatbeli körülmények visszafordítása a szálak re-asszociációját, és a kettős hélix újra-formálását eredményezi.

A DNS kettős hélixnek ez a felnyílás-záródási képessége igen fontos számos alapvető folyamatban, olyan mint a DNS replikáció, génexpresszió, és a károsodott DNS javítása (repair)..

Ez a folyamat csak korlátozott hőmérsékleti tartományba megy végbe, és az átmenet középpontja, amikor a nukleotidok fele egyes szálú, az úgynevezett olvadási hőmérséklet „**melting temperature**” (**T<sub>m</sub>**), vagy formálisabban tranzíciós középpont hőmérséklet.

Mikor a nukleinsav bázisok egymásra pakolódnak („stacked”), a bázisok közötti elektronikus interakciók csökkentik az optikai fényelnyelésüket az „unstacked” konformációhoz képest. Ezzel ellentétesen, amikor a polinukleotid hélixet melegítik, a fényelnyelés nő, amint a bázisok szétválnak egymástól (a legnagyobb változás az abszorpcióban 260 nm körül van). Ez lehetővé teszi a „hélix-coil” átmenet követését UV abszorpciós méréssel.

**A hélix stabilitását meghatározó fő termodinamikai faktorok:**

- A töltött foszfátokból eredő Coulomb taszítás a gerinc mentén, és az ellenionok vonzása ezen foszfátokhoz;
- Hidrogén kötések a bázispárok között;
- Az egyes nukleotidokat körülvevő víz entrópiásan kedvező felszabadulása, amint a helix formálódik;
- A polinukleotid szálak kevésbé organizált, „olvadt” állapotának relatív entrópiás előnye;
- A szomszédos bázisok és bázispárok közötti „stacking”interakció.

Általában a hosszabb hélixek stabilabbak, mint a rövidebbek. A rövid kettős-hélixek hajlamosak viszonylag könnyen „elkopni”a végek felől, míg ez kevésbé fordul elő hosszabb molekuláknál. Ezek denaturálása általában belső egyes szálú régiók létrejöttén és nagyobbodásán keresztül megy végbe („denaturációs buborékok”).

A bázis szekvencia is, nemcsak a bázisok százalékos összetétele hatással van a stabilitásra és az olvadási hőmérsékletre



## 31. NUKLEOTIDOK BIOSZINTÉZISE

A nukleotidok kiemelt szerepet töltenek be az élővilág biokémiai folyamataiban. Az energiatárolásban az ATP és GTP, aktivációs folyamatokban az UTP, jelátviteli rendszerekben a cAMP és cGMP szerepét számos metabolikus folyamat során tárgyaltuk már. Nukleotid részekből épülnek fel a legfontosabb koenzimek; a NAD, a NADP, a FAD és a koenzim-A. És végül, de nem utolsó sorban a genetikai információ tárolása és továbbítása is nukleotid egységekből felépülő nukleinsavak (DNS, RNS) segítségével megy végbe.

A nukleotidok **heterociklusos bázist** (purin vagy pirimidin), **pentózt** (ribóz vagy dezoxiribóz), és **foszforsavat** tartalmaznak. A bázis és a pentóz együtt alkot egy **nukleozidot**, ha ehhez foszfát kapcsolódik **nukleotidról** beszélünk. A nukleotidok bioszintézisének két útja ismert: a **de novo** és a **mentő (salvage)** útvonal. A de novo szintézis során a nukleotidok metabolikus prekursorokból épülnek fel. Ezek lehetnek **aminosavak**, **ribóz-5-foszfát**, **CO<sub>2</sub>**, **NH<sub>3</sub>**. A salvage útvonal **szabad bázisok** és **nukleozidok** összeszerelése ("újrahasznosítása") segítségével szintetizál új nukleotidokat. Az élő szervezetben mindkét útvonal rendkívül fontos, ugyanis a sejt nukleotid készlete limitált, így folyamatos bioszintézis szükséges a különböző nukleotid igények kielégítése céljából. Gyorsan osztódó sejtekben ez a folyamat még hangsúlyozottabb (DNS szintézis) ezért a nukleotid bioszintézis szabályozásának (blokkolásának) rendkívül fontos szerepe van a különböző rákellenes terápiákban.

### 31.1. PURIN NUKLEOTIDOK DE NOVO SZINTÉZISE

A purinvázat alkotó atomok különböző eredetűek: két nitrogén glutaminból, egy aszpartátból egy pedig glicinből származik, ami a nitrogéneken kívül két szénatomot is szolgáltat; a maradék szénatomok közül kettő THF formil csoportjából egy pedig CO<sub>2</sub>-ből származik.

1. A bioszintézis a pentóz-foszfát út során keletkező ribóz-5-foszfátból indul ki, ami először **5-foszforibozil-1-pirofoszfáttá (PRPP)** alakul a **PRPP-szintetáz** reakcióban.
2. Ez a **makroerg** kötésekkel tartalmazó prekursor alakul tovább glutamin jelenlétében **5-foszforibozil-1-aminná**. A reakciót a **PRPP-amidotranszferáz** katalizálja. Ahogyan a neve is jelzi az enzim az amido csoportot viszi át a PRPP-re miközben a glutamin glutamáttá alakul. Az aminos csoport nitrogénje lesz, ahol a purinváz szintézise elkezdődik és a cukor rész is ezen keresztül kapcsolódik. Mindkét lépés (szintetáz, transzferáz) gátolható a nukleotid szintézis közti és végtermékeivel: IMP-vel, AMP-vel és GMP-vel.
3. A következő lépésben egy ATP hasítása mellett egy glicin három atomja épül be a képződő gyűrűbe létrehozva a **glicinamid ribonukleotidot (GAR)**. A lépést a **GAR-szintetáz** enzim katalizálja.
4. A **GAR-transzformiláz** formil-THF-ről tesz át egy formil csoportot, létrehozva a **formilglicinamid ribonukleotidot (FGAR)**.
5. Az **FGAR-amidotranszferáz** közreműködésével az FGAR egy újabb glutamin aminos csoportjával **formilglicinamidin ribonukleotiddá alakul (FGAM)**. Ehhez a lépéshez is szükség van egy ATP hidrolízisére.
6. Végül az **FGAM-cikláz** egy újabb ATP költségére zárja a gyűrűt, kialakítva ezzel az **imidazolgyűrűt (AIR)**. A purinváz második gyűrűjéhez szükséges hat atomból az AIR kialakulásával három már a helyére került. A következő lépésekben a fennmaradó három atom beépülése történik meg.

7. Először egy **biotin és ATP független (!) karboxilezés** során  $\text{CO}_2$  ad egy szénatomot (AIR-karboxiláz). A termék (**CAIR**) kialakulása alacsonyabb rendűekben (baktériumok, gombák) két, magasabb rendűekben egy lépésben történik meg.
- 8-9. A következő donor az aszpartát, amiből ugyan csak egy N atom kell a gyűrűhöz, mégis az egész molekula beépül (**SAICAR**), hogy aztán a szénváz fumarátként kihasadjon, létrehozva a N atommal bővült terméket (**AICAR**). Az első (ATP függő) lépést a **SAICAR-szintetáz**, a másodikat a **SAICAR-liáz** katalizálja. Az aszpartát ebben a folyamatban nitrogén donorként vesz részt miközben a szénvázát fumarátként elveszíti, ami analógja az ureaciklusban látott lépésnek.
10. Az utolsó szénatom formil-THF-ből **AICAR-transzformiláz** hatására épül be a gyűrűbe (**FAICAR**), ami ezután vízkilépés mellett záródik, létrehozva a folyamat végtermékét az **inozinsavat (IMP)**.

Az IMP bioszintézise energiaigényes folyamat: a PRPP szintéziséhez **2 ATP**, míg a további lépésekhez újabb **4 ATP** használódik fel. Prokariótákban minden reakciót külön enzim katalizál. Eukariótákban azonban az evolúció során génfüzióval multifunkcionális enzimrendszerek jöttek létre, amelyek hatékonyabban működnek és pontosabban képesek szabályozni a sokszor instabil és rövid fél élet idejű köztes termékek átalakulását.

Az IMP-ből AMP és GMP intermediereken keresztül **ATP** és **GTP** szintetizálódik. Az AMP képződéséhez két lépésben aszpartát szolgáltatja az amino csoportot és GTP az energiát egy szintetáz és egy liáz enzim közreműködésével. A GMP képződéshez az amino csoport glutaminból az energia ATP-ből érkezik. Ez is egy kétlépéses reakció, ahol az első dehidrogenáz reakciót (NAD-ot igényel) egy amidotranszferáz lépés követ. Ebben a folyamatban is található feedback szabályozás: az AMP szintézisben részt vevő szintetáz enzimet az AMP; a GMP szintézisben részt vevő dehidrogenázt a GMP gátolja.

## 31.2. SZABÁLYOZÁS

A purin nukleotidok szintézise alapvetően a sejten belüli AMP és GMP szint révén szabályozott. A termékek általi szabályozás első pontja a szintézis kezdő lépésénél van: a **PRPP-amidotranszferáz** enzim **alloszterikusan** gátolt **AMP**, **GMP** és **IMP** által. Az AMP és a GMP szinergisztikusan hat az enzimre, tehát bármelyik akkumulációja részben gátolja ezt a lépést megakadályozva a további szintézist. A következő kontroll pont az AMP és a GMP termelődését külön-külön, egymástól függetlenül képes szabályozni, az IMP után kettévált és elkülönült szintetikus utakon. Ebben az esetben az **IMP-dehidrogenázt** a **GMP**, míg az **adeniloszukcinát-szintetázt** az **AMP** gátolja alloszterikusan. A harmadik szabályozási mechanizmus azon alapul, hogy az IMP  $\rightarrow$  AMP átalakuláshoz GTP, míg az IMP  $\rightarrow$  GMP átalakuláshoz ATP szükséges. Ez a **reciprok szabályozás** tart egyensúlyt a két képződött nukleotid mennyisége között. Végül az egész bioszintézis legelső lépése a PRPP kialakulása is alloszterikus szabályozás alatt áll. A **PRPP-szintetáz** **ADP** és **GDP** által is gátolt enzim tovább finomítva ezáltal a rendkívül összehangolt szabályozást.

## 31.3. SALVAGE ÚTVONAL

A purin nukleotidok szintézisében a salvage útvonalak is fontos szerepet játszanak. Ebben az esetben már meglévő építőköveket használ fel a sejt a nukleotidok felépítéséhez. A purinbázisok és nukleozidok közvetlenül átalakulhatnak nukleotidokká, újra felhasználva a nukleinsavak degradációja során képződő purinbázisokat. A mentő utak egyik típusa, amikor **PRPP** reagál egy **szabad purinbázissal**. Az így keletkező mononukleotid szintéziséhez szükséges energia a PRPP pirofoszfát csoportjának hidrolíziséből származik. A reakciókat a résztvevő bázisok szerint az **adenin-**, illetve a

**hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz** enzimek katalizálják, aminek eredményeként AMP (adeninből) és IMP (hipoxantinból) illetve GMP (guanin) keletkezik. A keletkező termékek alloszterikusan gátolják a transzferáz enzimeket, létrehozva ezáltal egy feedback gátlást. Ugyanakkor a korábban ismertetett módon a de novo szintézist is gátolják kialakítva egy összehangolt szabályozást a két bioszintetikus út között. A salvage útvonal másik típusa, amikor nem szabad bázis hanem **nukleozid** (adenozin, guanozin) foszforilálódik **ATP** felhasználásával AMP-vé és GMP-vé, miközben ADP keletkezik. A reakciókat az **adenozin-**, és a **guanozin-kinázok** katalizálják.

### 31.4. PIRIMIDIN NUKLEOTIDOK SZINTÉZISE

A **de novo** pirimidin nukleotid szintézis legszembeötlőbb különbsége a purin nukleotidoknál látot-takhoz képest az, hogy itt először kialakul a hat tagú gyűrű, ami ezután kapcsolódik a PRPP-ből származó ribóz-5-foszfáthoz. A gyűrű felépítéséhez szükséges atomok **karbamoil-foszfátból** és **aszpartátból** érkeznek.

1. A **karbamoil-foszfát** a **citoszolikus karbamoil-foszfát-szintetáz II.** által katalizált reakcióban keletkezik. A korábban az ureaciklus kapcsán megismert mitokondriális izoformához képest, a citoszolikus izoforma glutamint használ amino csoport donorként szabad ammónium helyett. A reakcióhoz 2 ATP-re van szükség és a lépés alloszterikus gátlószere az UTP, serkentője pedig a PRPP.
2. A következő lépés a karbamoil-foszfát és az aszpartát kondenzációja, aminek terméke a **karbamoil-aszpartát**. Az **aszpartát-transzkarbamoiláz** reakció a szintézis **elkötelező** lépése, és mint ilyen szintén szabályozott. A folyamat végterméke a CTP alloszterikusan gátolja az enzimet. Ha ATP is jelen van a CTP gátló hatása nem érvényesül.
- 3-4. A keletkezett termék vízvesztés közben gyűrűvé záródik (dihidroorotát) majd egy NAD konzimmal oxidálódik **orotáttá** miközben NADH keletkezik. Az első lépést a dihidroorotáz, a másodikat a dihidroorotát-dehidrogenáz katalizálja. Ezeket a lépéseket – a dihidroorotát kialakulásáig - eukariotákban nem különálló enzimek, hanem egy multienzim komplex (**CAD**) katalizálja.
5. A gyűrű kialakulása után az orotát kapcsolódik a ribóz-5-foszfáthoz, ami ebben az esetben is PRPP-ből származik és létrejön az **orotidilát**. Ezt a lépést az **orotát-foszforibozil-transzferáz** enzim katalizálja.
6. Ezt a lépést dekarboxilálás követi, melynek eredménye az **UMP** képződése. Az **orotidilát-dekarboxiláz** és az előző foszforibozil-transzferáz enzimek szintén komplexként működnek eukariotákban.
7. Az UMP-ből foszforilálódás útján alakul ki az **UTP**, amiből aztán a **citidilát-szintetáz** (CTP-szintetáz) közreműködésével glutamin és ATP jelenlétében **CTP** képződhet. Az amino csoport nem csak glutaminból de más aminosavakból, sőt egyes esetekben szabad ammóniából is érkezik.

A de novo szintézis mellett a pirimidin bázisok esetében is beszélhetünk **salvage** útvonalakról. Ilyen az **uridin-citidin kinázok** által katalizált ATP-függő nukleozid – nukleozid-monofoszfát átalakulás: **uridin + ATP -> UMP + ADP; citidin + ATP -> CMP + ADP**. A másik mentő útvonal során a pirimidinbázis PRPP-vel reagál az **uracil-foszforibozil-transzferáz** reakcióban: **uracil + PRPP -> UMP + PP<sub>i</sub>**.

Ahogy az korábban említettük a pirimidin nukleotidok szintézisének legfőbb szabályozói emlős sejtekben a **PRPP**, ami stimulálja, illetve az **UTP**, ami gátolja karbamoil-foszfát-szintetáz II. reakciót.

A bioszintetikus utak során képződő nukleotidok (nukleozid-monofoszfátok) nukleozid-trifoszfátokká alakulnak tovább. Ezek a reakciók általánosak minden sejttypusban és több lépésben alakítják át a szubsztrátokat:

1. **Az adenilát kináz reakció:  $AMP + ATP \leftrightarrow 2ADP$**

A keletkező ADP három úton foszforilálódhat ATP-vé: (i) szubsztrát szintű foszforiláció (glikolízis); (ii) oxidatív foszforiláció (légzési lánc); (iii) fotofoszforiláció (fotoszintézis)

2. Az ATP különböző nukleozid-monofoszfát szubsztrátoknak adhat foszfát csoportot a **nukleozid-monofoszfát-kináz** reakciókban:  $NMP + ATP \leftrightarrow NDP + ADP$ . Ezek az enzimek specifikusak a bázisokra de nem specifikusak a pentóz részre (ribóz vagy dezoxiribóz).

3. Végül a **nukleozid-difoszfát-kinázok** trifoszfátokká alakítják a szubsztrátokat:  $NTP_D + NDP_A \leftrightarrow NDP_D + NDP_A$ . Habár ez az enzim sem a bázisra sem a pentóz részre nem specifikus, a nukleozid-trifoszfát donor (D) majdnem mindig ATP és ebből kifolyólag a nukleozid-difoszfát akceptor (A) ADP.

### 31.5. DEZOXIRIBONUKLEOTIDOK SZINTÉZISE

A dezoxiribonukleotidok szintézisének kulcs enzime a **ribonukleotid-reduktáz**, ami a ribóz 2' szénatomján lévő hidroxilcsoportot redukálja, miközben az oxigénből víz keletkezik. Az enzim szubsztrátként az összes nukleozid-difoszfátot felismeri és ezeket dezoxiribonukleozid-difoszfáttá alakítja. Az enzim két alegységből áll: egy kisebb katalitikus és egy nagyobb szabályozó alegységből. Utóbbi tartalmaz két SH csoportot, amelyek a reakció során eloxidálódva (diszulfid hidat hozva létre) a hidrogéneket szolgáltatják a ribóznak. A kialakult diszulfid híd visszaredukálását az enzim részét képező prosztetikus csoport végzi, ami eukariótákban **glutathion**, prokariótákban **tioredoxin**. Ezt a redukciót a **glutathion-**, vagy a **tioredoxin-reduktáz** enzim katalizálja, ami NADPH-t használ hidrogén donorként. A ribonukleotid-reduktáz aktivitása a különböző nukleozid trifoszfátok koncentrációja által szabályozott, melynek célja a DNS polimerizációhoz szükséges nukleotidok megfelelő arányban történő előállítás. Általánosságban elmondható, hogy a dATP minden keletkezését gátol, a dCTP-nek viszont nincs szabályozó szerepe.

### 31.6. TIMIDIN TRIFOSZFÁT SZINTÉZISE

A dTTP képződés prekurzora a dTMP, melynek szintézise alapvetően két úton valósulhat meg. Az egyik a **dUMP metilálása**, a másik a **dezoxi timidin direkt foszforilációja**. Az első esetben a metiláláshoz szükséges metilcsoportot **N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-metilén-tetrahidrofolát (THF)** szolgáltatja és a reakciót a **timidilát-szintáz** enzim katalizálja. A reakcióban keletkező **dihidrofolát (DHF)** tetrahidrofoláttá redukálását a **NADPH-val működő dihidrofolát-reduktáz** végzi el. A THF továbbalakításához szükséges metilcsoport szerinből származhat és a lépést **szerin-hidroximetil-transzferáz** enzim katalizálja PLP kofaktorral.

Mind a timidilát-szintáz enzim, mind a tetrahidro-dihidrofolát ciklus gátlása csökkenti a dTTP szintet és ezen keresztül a DNS szintézis sebességét, ezért a folyamat gátlása a gyorsan osztódó sejtek (daganat sejtek) esetében kemoterápiás szerek támadáspontját jelenti. A timidilát-szintáz enzim gátlására példa az **5-fluorouracil**, ami foszforiláció után az enzimhez kötődve gátolja annak működését. A másik csoportba tartozó **tetrahidrofolát analógok** a dihidrofolát-reduktáz kompetitív gátlószerei így akadályozva meg a dUMP metilálását.

A dTMP és ebből a dTTP keletkezésének másik útja a **dezoxi timidin direkt foszforilációja**. Ezt az ATP-függő lépést a **timidin-kináz** katalizálja majd a keletkezett dTMP először a **timidilát-kináz** reakcióban dTDP-vé majd ez a **nukleozid difoszfát-kináz** reakcióban dTTP-vé alakul.



## 32. NUKLEOTIDOK LEBONTÁSA. A NUKLEOTID METABOLIZMUS KLINIKAI ASPEKTUSAI

A nukleinsavak „turnover”-e purin és pirimidin nukleotidok felszabadulásához vezet. A sejten belül a nukleotidok folyamatos szintézise és lebontása megy végbe. Némely felszabadult bázis a mentő útvonalakon újra hasznosítható, míg mások lebomlanak, majd a lebomlás végtermékei kiürülnek a szervezetből.

### 32.1. A PURINOK LEBONTÁSA

A purin nukleotidok, nukleozidok és bázisok lebontása közös útvonalba torkollik, és végül húgysav képződéséhez vezet. A lebontásban szereplő enzimek specificitása eltérő. A **nukleázok** specifikusak RNS-re vagy DNS-re, a bázisra, valamint a foszfodiészter kötésnél való hasítási hely pozíciójára. A **nukleotidázok** között vannak specifikusak és széles specificitásúak. A **purin nukleozid foszforilázok** reverzibilis reakciókat katalizálnak, de a szabad purin bázisok és ribóz-1-foszfát alacsony koncentrációja miatt a sejten belül, főleg a lebontó útvonalak irányában működnek.

A nukleotidáz az adenilátot adenzinná alakítja, amelyet az **adenozin deamináz** deaminál inozinná, és az inozin foszforolízise hipoxantint (a purin bázisát) és ribóz-1-foszfátot eredményez. A hipoxantint a xantin oxidáz először xantinná majd húgysavvá oxidálja (előadás ábra).

A GMP-t először az 5' nukleotidáz hidrolizálja guanozinná, amely aztán szabad guaninra hasad a nukleozid foszforiláz által. A guanin hidrolitikus deaminálása xantinhez vezet, amelyet a xantin oxidáz húgysavvá alakít. A deaminálási lépésben keletkezett ammónia az ornitin ciklusban urea képződését eredményezi.

A **xantin oxidáz** egy flavoenzim, amely egy molibdén atomot és négy vas-kén centrumot tartalmaz a prosztetikus csoportjában. A reakcióban molekuláris oxigén az elektron akceptor, amely vízzel hidrogén peroxiddá alakul. A keletkezett hidrogén peroxidot a kataláz hasítja vízre és oxigénre.

A **húgysav** a purin katabolizmus ürített végterméke főemlősökben, madarakban és néhány más állatban. A húgysav jó antioxidáns, hatékony a reaktív oxigén származékok hatástalanításában. Sajnos a húgysav oldhatósága mérsékelt, és az emberben a húgysav szérumszintje az oldhatóság felső határán van, ami problémákhoz vezethet további koncentráció növekedés esetén.

A legtöbb emlősben és sok más gerincesben a húgysav tovább degradálódik allantoinná az urát oxidáz enzim által. (Allantoin emberben is képződik a húgysav spontán (nem enzimatis) oxidációjával, és az oxidatív stressz mértékéül szolgálhat). Egyes élőlényekben a lebontási útvonal tovább folytatódhat (előadás ábra).

### 32.2. A PIRIMIDIN NUKLEOTIDOK LEBONTÁSA

A pirimidin nukleotidok lebontása  **$\beta$ -aminosavakat** eredményez

Ezen útvonalakon a pirimidin nukleotidokat nem-specifikus **foszfatázok** nukleozidokká alakítják. A citidin és a deoxicitidin deaminálódik uridinná és deoksiuridinná a **pirimidin nukleozid deamináz** enzim által. Az **uridin foszforiláz** katalizálja az uridin, deoksiuridin és timidin foszforolízisét uracillá és timinná. Az uracil és a timin analóg reakciókon keresztül degradálódik tovább (redukció, hidrolízissel való gyűrű nyílás, majd másik hidrolízis), de a végső termék különböző (előadás ábra). Az uracil lebontás termékei  **$\beta$ -alanin,  $\text{NH}_4^+$  és  $\text{CO}_2$** . A timin degradációja  **$\beta$ -aminoizobutirátot,  $\text{NH}_4^+$ -t és  $\text{CO}_2$ -t** eredményez. Emberben a  $\beta$ -aminoizobutirát a vizelettel ürül, ennek vizelet szintje a timin lebontás indikátora (szintje a vizeletben megnőhet magas DNS tartalmu diéta esetén vagy tumoros betegségek-

ben). A  $\beta$ -aminoizobutirát szintén transzaminálódhat metilmalonil-KoA-vá, ami szukcinil-KoA-vá alakulása után belép a citrátkörbe.

### 32.3. A PURIN ÉS PIRIMIDIN METABOLIZMUS KLINIKAI ASPEKTUSAI

A purin nukleozid lebontás defektusai **immunhiányos betegségek**hez vezethetnek. Az **adenozin deamináz (ADA)** és **purin nukleozid foszforiláz (PNP)** hiánya emberben betegséget okoz. Az ADA deficiencia **súlyos kombinált immundeficienciához** vezet, amely a B- és T-sejt funkcióit egyaránt érinti. PNP hiányban az immundeficiencia csak a T-sejtek funkcióvesztéséhez vezet. ADA hiányos páciensekben a dATP és S-adenozilhomocisztein intracelluláris koncentrációja erősen emelkedett: 1. A magas dATP szint gátolja a ribonukleotidáz aktivitását, ennélfogva gátolja a DNS szintézist. 2. A deoxiadenozin inaktiválja az S-adenozil homocisztein hidrolázt, ami csökkenti a SAM szintet (ami szükséges a bázisok metilációjához a DNS-ben és RNS-ben), és 3. a növekedett adenozin szint növekedett cAMP szintet eredményez. Ezek a lehetséges magyarázatok a funkcióvesztésre.

### 32.4. A MENTŐ „SALVAGE”ÚTVONALAK DEFEKTUSAI

A hipoxantint (az adenin deamináció terméke) és a guanint ugyanaz az enzim, a **hipoxantin-guanin foszforibozil transzferáz (HGPRT)** reciklizálja vissza nukleotiddá (előadás ábra). A HGPRT genetikai defektusa **Lesch-Nyhan szindrómához** vezet, amely főleg fiúkat érint (X kromoszómához kötött). A szindróma tünetei között szerepel a kényszeres öncsonkító viselkedés, mentális defektus, görcsök.

A HGPRT aktivitás hiánya növekedett PRPP és csökkent IMP vagy GMP szinteket eredményezhet, ami megnöveli a de novo purin szintézist, ami azután megnőtt húgysav termeléshez és köszvényeszerű szövetkárosodáshoz vezet (Lásd lejjebb). A purin lebontás termékei (hipoxantin, xantin, húgysav) toxikusak lehetnek a fejlődő agyra, vagy az enzim hiánya a purin nukleotid koncentrációk egyensúlyában való eltolódáshoz vezet.

### 32.5. A MEGNÖVEKEDETT HUGYSAV SZINT KÖSZVÉNYT OKOZ

A **köszvény** fő jellemzője az **emelkedett húgysav szint** a vérben és a vizeletben, ami számos metabolikus abnormalitás következménye lehet: a purin nukleotidok de novo útvonalon való túltermelése (magas PRPP aktivitás, részleges HGPRT aktivitás), a húgysav csökkent ürítése (vesebetegségek), glükóz 6 foszfatáz defektus. Megnövekedett sejthalál (rákkezelés), fehérjében és purinokban gazdag táplálék, alkohol fogyasztás szintén megnőtt húgysav szintekhez vezethet. Purinok fogyasztása nyilvánvalóan megemeli a húgysav szintet, protein gazdag táplálék hasonlóképpen magasabb koncentrációhoz vezet, mivel bizonyos aminosavak de novo purin szintézisre használnak. Az alkohol diuretikus hatású, és dehidratációt okoz, ami húgysav precipitációhoz vezet.

Az **alacsony oldhatóság és magas szérum koncentráció miatt a nátrium-urát kristályok kicsapódhatnak a vesében és az ízületekben**. Izületi fájdalom, gyulladás és arthritis léphet fel.

A **köszvény kezelésére használt gyógyszerek (allopurinol, kolhicin, húgysavürítést fokozó szerek) hatásmechanizmusa eltérő**.

- Az **allopurinol** egy hipoxantin analóg, ami irreverzibilisen gátolja a xantin oxidázt. Az allopurinol a xantin oxidáz szubsztrátja, az enzim oxypurinollá (alloxantinná) alakítja. Az oxipurinol szorosan kötve marad az enzim aktív helyéhez, így inaktiválja azt a redukált formában. Ha a xantin oxidáz gátolt, a purin lebontás ürített végtermékei a xantin és hipoxantin lesznek, amelyek vízzoldékonyabbak, és kevésbé hajlamosak a kikristályosodásra.
- A **kolhicin** egy növényi alkaloid, amely a húgysav kristályok kicsapódásával összefüggő gyulladást csökkenti, ezáltal enyhíti a köszvény tüneteit. Valószínűleg gátolja a fehérvérsej-



tek vándorlását és fagocitotikus aktivitását azáltal, hogy a a tubulinhoz kötődik és depolimerizálja (a mikrotubulusok szükségesek a sejtmigációhoz és fagocitózishoz.). A kolhicin szintén gátolja a leukotriének szintézisét és felszabadulását.

- A **hugysavürítést fokozó szerek** (probenecid, szulfonpirazon) a vesére hatnak, fokozzák a hugysavürítést. A hugysav áthalad a vese glomeruluson, de reabszorbeálódik, majd újra excretálódik a proximális tubulusokban bizonyos aktív transzporter fehérjék segítségével, amelyek specifikusak gyenge savakra (olyan mint a hugysav). Ezek az urikozuriás szerek gátolják ezeket az aktív transzportereket, aminek a nettó eredménye a hugysav reabszorpció csökkentése. Más gyenge savakra vonatkozóan a nettó eredmény ezzel ellentétes lehet. (A probenecid csökkenti a penicillin és számos egyéb gyógyszer excrecióját.)

## 32.6. A NUKLEOTID METABOLIZMUS ENZIMEIRE HATÓ KEMOTERÁPIÁS ÉS ANTIBAKTERIÁLIS SZEREK

A **glutamin antagonisták** gátolják azokat az enzimeket, amelyek glutamint használnak nitrogén donorként. Emlős sejtekben számos reakció használ glutamint amino csoport donorként. (a purin nukleotid de novo szintézisében az amidálási reakciók, GMP szintézise IMP-ből, CTP szintézis UTP-ből, NAD szintézis, és a citoszólos karbamoil foszfát képződés) A baktérium sejtek, ettől eltérően elsősorban ammóniát használnak amino donorként.

Ezen reakciókat gátló komponensekre utalnak „glutamin antagonistaként”. Az azaszerin (O-diazoacetil-L-szerin), Acivicin és a 6-diazo-5-oxo-L-norleucin (DON) glutamin antagonisták, és rák elleni kemoterápiásként használják őket, mivel a ráksejtek gyorsabban nőnek a normál sejteknél, így nagyobb DNS és RNS prekurzorként használt nukleotid igényük. Ezáltal érzékenyebbek a nukleotid bioszintézist gátló szerekre.

## 32.7. A TIMIDILÁT SZINTÉZIS ÉS FOLÁT METABOLIZMUS GÁTLÓSZEREI

A ráksejtek szintén különösen érzékenyek a dTMP szintézis gátlására. Ebben a folyamatban a két kulcsenzim a **timidilát szintáz** és a **dihydrofolát reduktáz**, mindkettő számos rákellenes szer célpontja (előadás ábra).

Az **5-fluorouracil**, egy uracil pirimidin analóg, a **timidilát szintázra ható** gátlószer, és fontos kemoterápiás szer. A fluorouracil nem az aktív komponens., de a sejt mentesítő rendszere átalaktja aktív komponensé, 5-fluorouridin 5-trifoszfáttá (FUTP) és 5-fluoro-2-deoxiuridin 5-monofoszfáttá (FdUMP). A FdUMP a timidilát szintázhoz kötődik és inaktiválja azt (mechanizmus alapú enzim inaktiváció).

### Az antifolátok gátolják a tetrahydrofolát (újra)szintézisét

Az antifolátok a **dihydrofolát reduktáz** gátlásával akadályozzák a tetrahydrofolát képződését folátból vagy dihydrofolátból. A **methotrexát (MTX)** egy folát analóg, amit antitumor szerként humán rákok kezelésére használnak. Ez a folát analóg kompetitív inhibitorként működik, az enzim 100x nagyobb affinitással köti, mint a (dihydro)folátot. Az **aminopterin** egy hasonló szer, ami hasonlóképpen hat. A tetrahydrofolát szükséges mind a de novo purin bioszintézishez, mind a dTMP formáláshoz.

Az antifolátok antibakteriális szerként is hasznosak. A bakteriális DHFR eltér az emlős enzimtől aminosav szekvenciában, és az aktív hely körüli rész szerkezetében. A bakteriális enzim szelektíven gátolható **trimethoprimmel (TMP)**, egy kompetitív inhibitorral.

A baktériumok képesek megszintetizálni saját folsavjukat p-aminobenzoátból (PABA), pteridinből és glutamátból. Az aryl **szulfonamidok** („szulfa” szerek) **PABA analógok**, és vetélkednek a PABA-val a bakteriális enzim, dihydrobiopteroát szintáz által katalizált reakcióban (ea. Ábra); a szulfonamidok az

enzim kompetitív inhibitorai. A baktériumok így képtelenek megfelelő mennyiségű folátot szintetizálni, és növekedésük gátlódik (bakteriosztatikus hatás).

A „**Co-trimethoxazole**” a szulfomethoxazol és a trimethoprim kombinációja (gátolja mind a folát képződést, mind a hasznosítást).

### 32.8. EGYÉB ANTIMETABOLITOK (BÁZISOK ÉS NUKLEOZIDOK SZERKEZETI ANALÓGJAI)

- **6-merkaptopurin (6-MP)** hasznos antitumor szer emberben. Átalakul merkaptopurin ribonukleotiddá és 6-merkaptopurin ribonukleozid 5' monofoszfáttá. Az utóbbi a PRPP amidotranszferáz negatív effektor, a nukleotid szintén gátolja az IMP átalakulását GMP és AMP-vé.
- **Citozin arabinozid (araC)** (ls. ea. Ábra) számos humán tumor kezelésében használatos. Az araC-t a sejt enzimeinek át kell alakítani araCTP-vé ahhoz hogy kifejtse citotoxikus hatását. Az araCTP vetélkedik a dCTP-vel a DNS polimeráz reakcióban, és az araCMP beépül a DNS-be, ami gátolja a DNS szál további szintézisét.

### 32.9. EGYÉB NUKLEOTID METABOLIZMUSAL INTERFERÁLÓ SZEREK

- A **hidroxiurea** specifikusan gátolja a DNS szintézist. Ez a ribonukleotid redukáz inhibitor, gátolja a CDP, UDP, GDP és ADP redukcióját a megfelelő deoxi-ribonukleotidokká. A szer toxicitása a DNS replikációhoz szükséges dNTP szintek csökkentésének köszönhető.
- A **tiazofurint** a sejt enzimek átalakítják tiazofurin adenin dinukleotiddá (TAD), egy NAD analóggá. A TAD gátolja az IMP dehidrogenáz, így a GTP koncentrációja erősen lecsökken.

### 32.10. PURIN ÉS PIRIMIDIN ANALÓGOK, MINT ANTIVIRÁLIS SZEREK

Egy-egy antimetabolit használatos a **herpesvírus (HSV)** illetve a **humán immundeficiencia vírus (HIV)** kezelésében (nem gyógyítás!).

Ezek a szerek az **acyclovir (acikloguanozin)**, egy purin analóg; és a **3'-azido-3'-deoxi-timidin (AZT)**, egy pirimidin analóg (ea. Ábra)- ezeknek aktív szerré való átalakulásukhoz foszforilált komponensekké kell metabolizálniuk.

- Az **acikloguanozin** monofoszfáttá való aktiválására csak egy specifikus HSV-timidin kináz képes, amit a HSV genom kódol. Az acikloguanozin monofoszfátot azután a sejt enzimek foszforilálják di- és trifoszfáttá, amely azután szubsztrátként szolgál a HSV specifikus DNS polimeráz számára, és beépül a növekvő virális DNS láncba, korai lánc terminációt okozva.
- Az **AZT**-t a sejt kinázai foszforilálják AZT-trifoszfáttá, amely gátolja a HIV replikációt a HIV polimeráz gátlásával (egy RNS-függő polimeráz, ami legalább 100-szor érzékenyebb AZT-trifoszfátra, mint a gazdasejt DNS-függő DNS polimeráza).

## 33. AZ AMINOSAV ÉS NUKLEOTID METABOLIZMUS SZABÁLYOZÁSA

### 33.1. AMINOSAV METABOLIZMUS

A szervezetben a fehérjék folyamatosan lebomlanak és újak szintetizálódnak. Ezek az útvonalak a táplálékkal felvett aminosavakkal együtt szolgáltatják a vér **szabad aminosav készletét**, amely fehérjésintézisre és aminosav származékok (hormonok, neurotranszmitterek, hem, purin és pirimidin nukleotidok, kreatin foszfát) előállítására **fordítódik**. Az aminosavak **energiát is** szolgáltathatnak (főként az izomszövet számára), valamint ammóniát (pH szabályozás, szintetikus reakciók). Az izomszövet tartalmazza a legnagyobb fehérjetömeget, és ott zajlik a legintenzívebb fehérjésintézis. A másik szövet, ahol nagy mennyiségű fehérje termelődik, a máj: számos, a vérbe szekretálódó fehérje termelődik a májban folyamatosan. A táplálékkal feleslegben felvett aminosavak vagy közvetlenül energiát szolgáltatnak, vagy glikogén illetve lipid formájában elraktározódnak.

#### Az éjszakai éhezés hatása az aminosav metabolizmusra

A **vázizomzatban éhezés alatt** elágazó láncú aminosavak (valin, leucin, izoleucin) oxidálódnak, viszonylag nagy mennyiségű  $\text{NADH}^+$ -t és  $\text{FADH}_2$ -t biztosítva az ATP szintézishez. Ezeknek az aminosavaknak az **amino csoportja** alanin és glutamin formájában szállítódik. Az **alanint** a máj veszi fel és glukoneogenezisre használja, míg a glutamin a vese és a bélműködés sejtjei számára biztosít táplálékot. A nem használt aminosavak alanin formájában a májba jutnak. A **glutamin** másik szerepe, hogy a vesében a metabolikus acidózist segít korigálni.

Éhezést követően az inzulin szint alacsony, míg a glukagon és a glukokortikoidok szintje magas. A májban aktiválódik a **glukoneogenezis**, az aminosavak szolgáltatják ehhez részben a kiindulási anyagot: a májba kerülő alaninból glukóz képződik, az urea ciklus aktiválódva pedig kiválasztja az ammóniát. Az **idegrendszer sejtjei** tudják használni az elágazó láncú aminosavakat energiaszolgáltatóként, a felszabaduló nitrogén neurotranszmitter szintézisre használódik.

#### Szövetek közötti aminosav anyagcsere

Az **ammónia** alanin és glutamin formájában jut a májba, hogy az urea cikluson át kiválasztódjék. A **glutamin biokémiai szerepei** a következők: fehérjésintézis, aminosav és nitrogén tartalmú vegyületek szintézise, neurotranszmitter szintézis, energia az enterociták és a vese sejtjei számára, az agyból az ammónia elszállítása, protonkiválasztás metabolikus acidózisban a vesén át. Az elágazó láncú aminosavak energiát tudnak biztosítani és szintetikus reakciókhoz is használhatók. A legtöbb aminosav **lebontása** a májban történik. Az aminosavakból lehet glukóz vagy ketontestek, amelyekből energia nyerhető.

A vázizom sejtjeiben a **fehérje lebontás és szintézis** igen gyors. Étkezés után, amikor a vér inzulin szintje megemelkedik, az izomsejtben az aminosav felvétel és a fehérjésintézis aktiválódik. Éhezésben és szepszis során hormonális (kortizol) változás hatására fehérje degradáció kezdődik, amikor az ammónia alanin és glutamin formájában jelenik meg.

Az **enterociták** a glutamint energitermelésre használják. A glutamin szénváza laktát vagy citrullin formájában jut a májba. Mivel az enterociták folyamatosan osztódnak, a fehérjésintézis mértéke igen magas bennük.

A máj az aminosav lebontás és az urea ciklus (alanin és glutamin felvétel) fő szerve. A **hepatocitákban** (májsejt) a vérplazma fehérjéi és nem-esszenciális aminosavak szintetizálódnak. A

májban a hem, a nukleotidok és a glutation (GSH) szintézise is intenzív; emellett a xenobiotikumok (idegen szerves anyagok) konjugációja is esszenciális funkció (lásd: Biotranszformáció).

Az **agyban a glutamin** szintézise dominál. A glutamin sorsa, hogy az ammóniát az agyszövetből a májba szállítsa, emellett neurotranszmitterek forrása (glutamát, GABA). Az összes többi peptid és nitrogén tartalmú neurotranszmitter szintéziséhez aminosavakra van szükség.

Magas fehérjetartalmú étel fogyasztását követően az **enterociták** nagy mennyiségű aminosavat égetnek. A máj veszi fel a többi aminosavat és egy részéből glukózt állít elő. Tiszta fehérje diéta mellett az **inzulin szint** elég magas ahhoz, hogy serkentse az izomszövet aminosav felvételét és fehérjeszintézisét, de nem túl magas ahhoz, hogy megakadályozza a májban a glukoneogenezist. A magas fehérje és alacsony szénhidrát tartalmú diéta segít abban, hogy a szövetek az aminosavakat fehérjeszintézisre használják, míg az energiát a zsírraktárak mobilizálása révén nyerik.

Az aminosav metabolizmus szabályozása néhány **alapvető jellegzetességgel** bír. A legtöbb szintetikus útvonal elkötelezett lépése a végtermék által gátolt (**negatív feed-back**). Más esetekben, amikor az aminosav szintetizáló útvonalak egy közös intermediernél elágaznak, a szabályozás a különböző végtermékekből **azonos mennyiségek** előállítását segíti. Ismét más esetekben több aminosav szintézisének van egy közös elkötelezett lépése. Ezt a lépést több enzim katalizálja, amelyeknek hasonló a katalitikus aktivitásuk, de eltérő szabályozási tulajdonságaik vannak.

### 33.2. A PURIN SZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

A *de novo* útvonal **elkötelezett lépése** a glutamin PRPP-amidotranszferáz reakció, amely 5-foszforibozilamint eredményez. Ezt az enzimet **alloszterikusan gátolja** a két végtermék (GMP és AMP), valamint az IMP. A PRPP **pozitív effektora** az enzimnek. Az enzim aktivitását a PRPP koncentrációja sokkal inkább befolyásolja, mint a glutaminé, mivel ez utóbbi sokkal stabilabb a sejtben. A három negatívan szabályozó molekula hatása összegződik. Az **IMP elágazás** után az XMP negatív alloszterikus hatással van az IMP dehidrogenázra, és az AMP az adeniloszukcinát szintetázra, azaz mindkét molekula a saját szintézisére (negatív feed-back). A **salvage reakciók** is a három nukleotid által (AMP, GMP, IMP) negatív feed-back kontroll alatt állnak. Lényeges, hogy a sejtben egyensúly legyen az AMP és GMP között. A **purin nukleotidok interkonverziója** IMP előállításán keresztül zajlik. A tényleges enzimek (GMP reduktáz és AMP deamináz) olyan módon szabályozottak, hogy a megfelelő arány a GTP és ATP között a sejtben biztosított legyen (a sejtek zömében az adenin nukleotidok magasabb koncentrációban találhatók, mint a guanin nukleotidok).

### 33.3. PIRIMIDIN SZINTÉZIS SZABÁLYOZÁSA

A pirimidin szintézis útvonal leginkább **szabályozott lépése** a karbamoil foszfát szintetáz II. Ez az enzim a citoszolban található, UTP gátolja, PRPP aktiválja. Ezt a lépést az UMP nem gátolja, de gátolja az UMP előállítását OMP-ből (orotidin 5'-monofoszfát). A CTP szintetáz az UTP aktiválja, míg a CTP alloszterikusan gátolja, így teremtődik meg az egyensúly a két pirimidin nukleotid között.

## 34. A VASANYAGCSERE BIOKÉMIAI VONATKOZÁSAI

A vas a szervezet egyik esszenciális eleme. Szintje a vérben és szövetekben gondosan szabályozott, mivel a vas hiánya és feleslege is **káros a szervezetre** nézve. A vas számos oxido-reduktív reakcióban szerepel; ha a sejtben nagy mennyiségben tárolódik, a lipidek és más makromolekulák **oxidatív károsodását** idézheti elő. A vas számos **funkciója** közül a legfontosabbak az oxigén transzportja és egyes enzimikus reakciókban való részvétel. Számos vasat tartalmazó enzim a mitokondriumban található. Mivel a mitokondriumban zajlik a terminális oxidáció, a magas vas szint és az oxigén jelenléte könnyen káros oxidációs melléktermékeket teremthet. Így érthető, hogy a **mitokondrium** vas felhalmozása igen sok kárt idéz elő.

A **vas fő formái**: hem tartalmú fehérjék (hemoglobin, mioglobin, citokrómok, kataláz, peroxidáz), vas-kén fehérjék (enzimek, mint pl. nitrogenáz, elektron transzport lánc tagjai), más enzimek (tirozin és fenilalanin hidroxiláz, ribonukleotid reduktáz, zsírsav deszaturáz, aminosav oxidáz), a vérben a vasat szállító transferrin és ferritin (vagy hemosziderin) a sejtben raktározásra.

### 34.1. HEM SZINTÉZIS

A hem szintézis legintenzívebben a májban és az eritroid prekursor sejtekben zajlik. A sejtben belül a szintézis a mitokondriumban és a citoszolban történik. A porfirin gyűrű **prekursor molekulái** a glicin (aminosav) és a citrát köri intermedier szukcinil-CoA. A szintetikus út első lépése a **sebesség meghatározó reakció**, amelyet a mitokondriális  $\delta$ -amino levulinsav (ALA) szintáz katalizál (PLP kofaktort használó enzim). A következő lépés a citoszolban zajlik. A porfobilinogén szintáz cinket tartalmaz, és igen érzékeny az ólom gátló hatására. Néhány további lépést követően a protoporfirin IX gyűrű megszintetizálódik. A bioszintézis utolsó lépései, akárcsak a vas beépítése a gyűrűbe a **ferrokelatáz** révén, a mitokondriumban zajlanak. A szintetikus út bármelyik enzimjének lehet genetikai károsodása. Ezek az öröklött metabolikus megbetegedések változatos tüneteket okozhatnak, beleértve neuropátia (idegrendszeri zavar), sziderózis (vaslerakódás), dermatopátia (bőrtünetek), visszatérő láz, hasi fájdalom tüneteit. Az egyik leggyakoribb forma, a **porphyria cutanea tarda**, az uroporfirinogén dekarboxiláz, egy vasérzékeny enzim zavara. A tüneteket fényérzékenység idézi elő, de általában valamilyen gyógyszer vagy alkohol fogyasztása után lépnek fel. Az alkoholizmus miatti cirrózis (máj kötőszövetes átépülése) következtében fellépő kután porfíria hátterében a hepatociták vasfelhalmozása áll.

#### A hem lebomlása

A hem zöme a vörösvérsejtek hemoglobin tartalmának lebomlásából származik. A degradáció első lépését a **hem oxigenáz** enzim végzi, amely segít a szervezetnek a vas visszatartásban és CO-ot is termel. A hem oxigenáznak két izomérje van, az egyik a szubsztrátja által indukálható. A termék a biliverdin, amelyet a biliverdin reduktáz, egy NADPH-t igénylő enzim tovább alakít. A termék, a bilirubin a májban glukuronsavval konjugálódik (**bilirubin UDP glukuronil transzferáz** – lásd a Máj szerepe a metabolizmusban fejezetben).

### 34.2. VAS-KÉN FEHÉRJÉK

A mitokondriális elektron transzport rendszer számos fehérjéje tartalmaz hemet és/vagy **vas-kén komplexet** kofaktorként. A vas-kén fehérjék emellett megtalálhatók a sejtmagban és a citoszolban is. A vas-kén komplexek egy, 2 vagy 4 vasat tartalmazhatnak, amelyek kén atomokkal és az apoprotein cisztein oldalláncaival koordinálódnak. A citoszolikus vas-kén fehérjék egyike az IRP1 (iron regulatory protein 1: vas szabályozó fehérje 1). Ez a fehérje részt vesz a celluláris vas anyagcsere szabályozásában néhány olyan mRNS **IRE (Iron regulatory element: vas szabályozó elem)** szekvenciáján

keresztül, amelyek által kódolt fehérjék a vas felvételét, transzportját vagy raktározását végzik. Röviden az IRP1 egy akonitáz, amely alacsony celluláris vas szint mellett elveszti vas-kén komplexét. Ezután már képes megkötni az IRE szakaszokat a megfelelő mRNS-ek végén: ha az IRE az mRNS 3' végén van, akkor az **IRP1 kötés stabilizálja** az mRNS-t, mivel megvédi az RNázok hatásától. Ha az IRE szakasz az mRNS 5' végén van, akkor az IRP1 kötés **gátolja a transzlációs** apparátust. A következmény az lesz, hogy alacsony celluláris vastartalom mellett azoknak a fehérjéknek az expressziója növekszik, amelyek a vas transzportjéért és felvételéért felelősek, míg a vas raktározást végző ferritinből kevesebb szintetizálódik. Miután a sejtben lévő vas mennyisége megemelkedik, a folyamat az ellenkezőjébe fordul. Más vas-kén fehérjék a DNS replikációban és repairban, az aminosav bioszintézisben, a riboszómák összeszerelésében, a transzlációban vesznek részt.

A vas-kén komplex a mitokondriumban szintetizálódik. A folyamat **fő fehérje komponensei**: cisztein deszulfuráz (kén biztosítása), mitoferrin (vas transzport a mitokondriumba), ferredoxin (elektron transzport és redukció), frataxin (vas donor molekula). Számos betegség hátterében áll a vas-kén komplex bioszintézis zavara (szívizom és idegszövet károsodás – lásd az ide vonatkozó táblázatot az előadás anyagban).

### 34.3. A SZERVEZET VAS ANYAGCSERÉJE

A szervezet megfelelő vas ellátottsága érdekében viszonylag nagy mennyiségű vasat kell a táplálékkal elfogyasztani, mivel csupán 5-10 százaléka **szívódik fel** a bejutott vasnak. A szervezetben a vas zöme a vörösvérsejtek **hemoglobinjában** található, valamint raktározott vas formájában a makrofágokban és a hepatocitákban. A vérben **transzferrinhez kötve** keringő vas mennyisége relatíve kevés. A szervezet vasvesztése nem szabályozható, így az enterociták növelik vagy csökkentik a vasfelvételt a táplálékból a szervezet igénye szerint. A vas nagy részét a makrofágok recirkulálják.

Az enterocitákban speciális transzport rendszerek segítik a vas felvételét. Az enterocitákból a ferroportinon, egy vas exporteren át jut ki a vas a véráramba, ahol a transzferrinhez kötődik. A sejtek **receptor mediálta endocitózissal** veszik fel a vasat, a vas a lizoszómákban leválik a transzferrinről, a citoszolba kerül, ahol fehérjékhez vagy komplexáló molekulákhoz kötődik. A transzferrin receptor a transzferrinnel együtt visszakerül a sejtmembránba. A vas zömét a mitokondrium használja hem vagy vas-kén komplex **szintézisre**. A raktározott vas ferritinhez kötődik. A szervezet egészének vas anyagcseréjét a **hepcidin nevű hormon** szabályozza, amely főként a májban szintetizálódik. A hepcidin fő hatása, hogy a ferroportinhoz, a vas exportáló molekulához kötődve megakadályozza a májsejtekből, enterocitákból és makrofágokból a vas véráramba jutását.

## 35. BIOTRANSZFORMÁCIÓ – A CITOKRÓM P450 RENDSZER

A gyógyszereket, miután kifejtették hatásukat, **el kell távolítani** a szervezetből. A gyógyszerek egy része változatlan formában ürül ki, míg mások kémiai módon módosulnak (transzformálódnak) az oldékonyságuk növelése érdekében. Azokat az enzimeket, amelyek idegen anyagok (xenobiotikumok) módosítását végzik, két fő kategóriába soroljuk: **fázis I és fázis II** útvonalak (lásd később). Az egyik legismertebb komponense az előbb említett útvonalaknak a citokróm P450 rendszer.

### 35.1. A CITOKRÓM P450 RENDSZER FŐ JELLEMZŐI

Ezek az enzimek membránhoz kötött, heme-t tartalmazó, ubikviter molekulák. Egy **nagycsaládnak** tagjai, amelyek megtalálhatók minden szervezetben. Nevüket a CO-kötött forma jellegzetes fényelnyelési spektrumáról kapták. Számos különböző (exogén és endogén) szubsztrát mono-oxigenizációját katalizálják (a szubsztrátok felsorolását lásd az előadásanyagban). A **reakció NADPH-t** és NADPH-függő flavoprotein reduktazt igényel. A citokróm P450 család két fő intracelluláris típusa a **mikroszomális** (ER membránhoz kötött) és a **mitokondriális**. Elsősorban a máj- és bélszövetben található.

A mikroszomális citokróm P450 a citokróm P450 reduktazt szoros közelségében található, amely utóbbi enzim FAD és FMN proszтетikus csoportot is hordoz. Ennek a szokatlan elrendezésnek az az oka, hogy a NADPH két elektront szolgáltat, de a heme csak egyet tud egyszerre fogadni. A citokróm P450 először megköti a szubsztrátot. Az első elektron megérkezését követően a hemben lévő vas redukálódik. A következő lépés az oxigén megkötése. A második elektron jelenléte aktiválja és hasítja az oxigént: az egyik oxigén atom a szubsztrátba épül be, míg a másik vízmolekulát képez. A mitokondriális citokróm P450 adrenodoxinnal (egy vas-kén fehérje) és FAD tartalmú adrenodoxin reduktazzal működik együtt. A mitokondriális formák csak endogén vegyületek átalakítását végzik (szteroid hormonok hidroxilációja, D vitamin szintézis).

### 35.2. CITOKRÓM P450 IZOFORMÁK

A citokróm P450 izoformák nagy száma szekvencia hasonlóság alapján elvégzett csoportosítást tett szükségessé. Az így kialakított **családokat** számmal, az alcsaládokat nagybetűvel, és a tagokat egy újabb számmal jelöljük. Eddig 57 humán izoformát ismerünk. Közülük az első három családba tartoznak azok az enzimek, amelyek exogén szubsztrátokkal reagálnak.

### 35.3. A CITOKRÓM P450 RENDSZER SZUBSZTRÁTJAI

**Endogén** szubsztrátok: szteroid hormonok, zsírsavak, arachidonsav, leukotriének, D<sub>3</sub> vitamin. Ezekben a reakciókban a citokrómok specifikusabban ismerik fel a szubsztrátot, mint az exogén szubsztrátok esetében. Az exogén szubsztrát **xenobiotikumok** közé számos gyógyszer, a környezetből és a táplálékból származó vegyszer szerepel. Ezekben az esetekben egy vegyület több citokróm enzim szubsztrátja is lehet, és egy enzim több szubsztrátot is oxidálhat.

### 35.4. XENOBOTIKUMOK METABOLIZMUSA

A gyógyszermetabolizmusban két fő útvonal aktív: fázis I és fázis II reakciók. A **fázis I reakciók** között oxidáció (ide tartozik a citokróm P450 is), redukció és hidrolízis zajlik. A **fázis II reakciókat** konjugáló enzimek viszik végbe: acetiltranszferázok, metiltranszferázok, UDP-glukuroniltranszferáz, szulfo-transzferázok és glutation S-transzferáz. A két rendszer együttes **hatása** a szubsztrátok hidrofilitásának növekedése. (Példák a reakciókra az előadásanyagban.) Az esetek zömében a fázis I reakciók

megelőzik a fázis II reakciókat, de előfordulhat, hogy a molekula már tartalmaz egy aktív csoportot, amely konjugálásra alkalmas.

A **gyógyszer metabolizáló reakciók eredménye** általában a vegyület inaktiválása, előkészítése a kiválasztásra. Más esetekben egy inaktív prodrug (gyógyszer előalak) aktiválódik a szervezetben a citokróm P450 rendszer reakciója révén. Esetenként egy semleges molekulából toxikus komponens is képződhet a citokróm P450 enzimjei hatására. Egy adott gyógyszer metabolikus sorsa számos tényezőtől függ: a kérdéses személy korától, nemétől, általános egészségi és tápláltsági állapotától, más gyógyszerek vagy alkohol egyidejű jelenlététől, vagy az illető genetikai predispozíciójától, valamint egyes patológiai állapotoktól (májbetegség, gyulladás).

### 35.5. A CITOKRÓM P450 RENDSZER INDUKCIÓJA ÉS GÁTLÁSA

Csaknem valamennyi citokróm P450 izoforma indukálható vagy gátolható más gyógyszer vagy természetes anyag által. Egy enzim indukciója általában transzkripció vagy poszttranszkripcionális szinten zajlik (mRNS vagy fehérje stabilitás). Egyes specifikus receptorok ligand által aktiválhatók: a ligand kötését követően a komplex a sejtmagba transzlokálódik és meghatározott géneket aktivál. **Gyógyszerkölsönhatások** háttérében állhat citokróm P450 enzim indukció vagy gátlás. Ha egy kiválasztó enzim gátolódik, a gyógyszer toxikus szintet érhet el a vérben. Ha egy gyógyszeraktiváló enzim gátolt, a hatékony gyógyszer szint túl alacsony lehet. Enzimindukciót követően az ellentétes hatások láthatók.

### 35.6. A GYÓGYSZERMETABOLIZÁLÓ ENZIMEK GENETIKAI POLIMORFIZMUSA

Ahogy láttuk korábban, a gyógyszerek metabolizmusát számos tényező befolyásolja, a genetikai háttér csak egy ezek közül. Ez utóbbiak között a legjelentősebb a citokróm P450 rendszer polimorfizmusa, de érdemes megemlíteni, hogy más (konjugáló) enzimek és gyógyszertranszportáló molekulák is mutatják ugyanezt az egyének közötti különbséget. A **genetikai eltérés** típusa lehet SNP (single nucleotide polymorphism), inszerciók, deléciók, sőt a gén duplikációja vagy hiánya is. A mutáció helyétől függően (kódoló vagy szabályozó DNS szakasz) különböző következmények lehetnek.

Általánosságban az emberek a következő **gyógyszer metabolizáló csoportokba** oszthatók: ultragyors (több allél), extenzív (normál, általános, mutáció nélkül, vagy enyhe hatású mutációval), intermedier (mindkét allél mutációval), és gyenge metabolizálók (nincs jól funkcionáló allél). A helyzet hasonló az enzim indukció és gátlás eseteivel: az enzim hatásától függően (gyógyszer eliminálása vagy prodrug aktiválása) a metabolizmus sebességének különbségéből adódó következmények változatosak lehetnek. Például egy ultragyors metabolizáló egyén esetében, ha az enzim a gyógyszert eliminálja, a vér gyógyszer szintje nem lesz hatékony (a kiválasztás gyors, a gyógyszer szint rövid idő alatt leesik). Ha azonban az ultragyors enzim egy prodrugot aktív gyógyszerre alakít, annak vérszintje túl gyorsan emelkedik, a gyógyszer toxikussá válhat.



## 36. METABOLIKUS KAPCSOLATOK KÜLÖNBÖZŐ TÁPLÁLTSÁGI ÁLLAPOTOKBAN (TÁPLÁLT-ÉHEZŐ CIKLUS)

### 36.1. TÁPLÁLT ÁLLAPOT

Táplált állapotban az energia a táplálékból származik.

A táplálékfelvételt és emésztést követően a glükóz és aminosavak a bélből a vérbe transzportálódnak. A táplálék lipidek kilomikronokba pakolódnak, és a nyirokrendszeren keresztül a vérbe szállítódnak. A magas vércukor szint és a paraszimpatikus idegrendszer stimulálja az inzulin szekrécióját. Az inzulin a jel a táplált állapotra-stimulálja a tápanyagok raktározását és a fehérjék szintézisét. Például az inzulin protein kináz kaskádát indít be-stimulálja a glikogén szintézist a májban és izomban, szupresszálja a glukoneogenezist a májban. Az inzulin a glikolízist is felgyorsítja a májban, amely azután a zsírsav-szintézis növekedéséhez vezet. A magas inzulin szint a glükóz izom és zsírszövetbe való felvételét is stimulálja. Az inzulin hatása kiterjed az aminosav és fehérje metabolizmusra is. Általános stimuláló hatást fejt ki a fehérje szintézisre, és gátolja a fehérjék lebontását a sejtekben.

A májban a táplálék **glükóz** átalakulhat glikogénné (glikogenezis), piruváttá (glikolízis), vagy felhasználódhat NADPH termelésre a pentóz foszfát útvonalon. A piruvát acetyl-KoA-vá oxidálódik, amely azután triacilglicerollá alakul vagy oxidálódik  $\text{CO}_2$ -dá és vízzé.

A glükóz nagy része nem lép be a májba, hanem más szervekhez szállítódik, így az agyba, aminek az energiatermelése majdnem teljesen a glükóztól függ, vörös vértestekbe és mellékvesevelőbe, amelyek csak glikolízisre képesek, és a zsírszövetbe, amely nagyrészt triacilglicerol glicerol komponensévé alakítja.

Az izom szintén felveszi a glükózt, és glikogénné alakítja vagy energiatermelésre használja fel.

Az egyéb szövetekben glikolízissel képződött tejsavat és piruvátot a máj veszi fel, majd oxidálja széndioxiddá vagy triacilglicerollá alakítja. A Cori ciklus nem működik ilyenkor, mivel a májban nem megy a glukoneogenezis.

A belsejtek felhasználnak valamennyit a táplálék **aminosavakból** energiatermelésre, de a többség a portális vérbe jut. A máj felvesz egy részt az abszorbeált aminosavakból, és fehérje szintézisre fordítja, de a többség továbbhalad. A szintézishez fel nem használt aminosavak a májban teljesen oxidálódhatnak  $\text{CO}_2$ -dá, ureává és vízzé, vagy a keletkezett intermedierek lipogenezisre használódnak fel. A májat elkerülő aminosavak más szövetekben fehérje szintézisre vagy energiatermelésre fordítódnak.

A táplálékból származó **trigliceridek** a véráramot kilomikron formájában érik el, amelyekből a triacilglicerolok nagy része a zsír és izomszövet kapillárisaiban eltávolítódik, az endotel sejtek felszínén levő lipoprotein lipáz segítségével, amely hidrolizálja a triglicerideket zsírsavra és glicerolra. A zsírsavakat felveszik a zsírsejtek, majd a (glükózból származó) glicerol 3-foszfáttal újra észterestik és zsírcseppek formájában raktározzák. A kilomikron maradványokat a vérből a máj veszi fel, majd hidrolizálódnak a lipoprotein lipáz segítségével, azután újra észtereződnek glicerol 3-foszfáttal (szabad glicerolból vagy glükózból) triacilglicerollá. Ez a glükózból és aminosavakból de novo szintetizált trigliceriddel együtt VLDL-be pakolódik, és a vérbe szekretálódik. A VLDL triacilglicerol tartalmát a lipoprotein lipáz hidrolizálja, és a sejtekbe felvett szabad zsírsavak a zsírszövetben trigliceriddé alakulnak, az izomban pedig energiatermelésre használódnak.

## 36.2. KEZDETI ÉHEZŐ ÁLLAPOT

Korai éhezésben a máj glikogén lebontásából származó glükóz segítségével tartja fenn a vércukorszintet. A tejsav, piruvát és alanin ekkor oxidáció és zsírsavszintézis helyett glükóz termelésre fordítódik a májban, teljessé téve a Cori és alanin ciklust.

## 36.3. ÉHEZŐ ÁLLAPOT

10-12 óra éhezés után a máj glikogéntartalékai kimerülnek, így a test a **májban végbemenő glukoneogenezisre** (főleg laktátból, piruvátból és alaninból) támaszkodik. A **Cori és alanin ciklus** működik, de nem járul hozzá a nettó glükóztermeléshez. Az agy a glükózt CO<sub>2</sub>-dá és vízzé oxidálja, ezért más glukoneogenezis forrásokra is szükség van. A **glicerol**, a zsírszövet lipolízisének mellékterméke az egyik fontos szubsztrát a glükóz szintézishez, azonban elsősorban a vázizomból származó **fehérjék** biztosítják a szénatomok többségét a glükóz szintézishez. Az izomfehérjék egy része lebomlik, és az aminosavak részben metabolizálódnak. Az aminosavak közül többségében alanin és glutamin szabadul fel a vérbe. Más aminosavak olyan intermedierekké metabolizálódnak, amelyek alanin és glutaminná alakulnak. Az elágazó láncú aminosavak a fő nitrogén források az alanin és glutamin képződéséhez az izomban. A képződött elágazó láncú ketosavak részben felszabadulnak a vérbe, majd felvételre kerülnek a májban, ahol glükóz vagy ketontest szintézisére fordítódnak. Az izomból felszabadult Gln egy részét a bélhámsejtek, limfociták és makrofágok (gyorsan osztódó sejtek, amelyeknek szükségük van rá purin és pirimidin szintézishez) használják fel. Ezekben a sejtekben a Gln részlegesen oxidálódik (glutaminolízis, lsd. előadás ábra), ami alanin (enterociták) vagy aszpartát (limfociták) (és ammónia) felszabadulásához vezet. A glükóz szintézis a májban szorosan kapcsolódik az urea szintéziséhez.

Éhezés alatt az **alacsony inzulin/magas glukagon szinteknek** köszönhetően a **lipolízis** aktiválódik a **zsírszövetben**. Ez megemeli a vér szabad zsírsav szintjeit, amiket sok szövet preferál a glükózzal szemben. A szívben és az izomban a zsírsav oxidáció gátolja a glikolízist és a piruvát oxidációt. Májban a zsírsav oxidáció szolgáltatja a glukoneogenezishez szükséges energia nagy részét. A májban a zsírsav oxidációban keletkezett acetil-KoA kis része oxidálódik teljesen, a többség **ketontestekké** alakul, amelyek felszabadulnak a vérbe, és energiaforrásként szolgálnak sok szövet számára. A zsírsavakhoz hasonlóan, sok szövet preferálja őket a glükózzal szemben. Az agy nem tudja a zsírsavakat oxidálni, mivel azok nem jutnak át a vér-agy gáton. A ketontestek, amint elég magas vérbeli koncentrációt érnek el, belépnek az agyba, és alternatív energiaforrásként működnek (habár nem képesek teljesen helyettesíteni a glükózt). Hetekig tartó éhezés után a ketontestek válnak az agy fő energiaforrásává. A ketontestek szintén szupresszálják a proteolízist és az elágazó láncú aminosavak oxidációját az izomban. Ez csökkenti az izom degradációját és a májban szintetizált glükóz mennyiségét hosszú távú éhezés esetén. Ezek a metabolikus adaptációk minimalizálják a fehérje degradációt hosszabb éhezésben.

Tehát a metabolikus kapcsolatok a máj, izom és zsírszövet között létfontosságúak az agy részére való energiaellátáshoz éhezésben. A máj szintetizálja a glükózt, az izom és a bél adja hozzá a szubsztrátot (alanin, glutamin) és a zsírszövet biztosítja a máj glukoneogenezishez szükséges ATP-t (a zsírsavoxidáción keresztül a májban). Ez a szövetek közötti kooperáció a megfelelő vérhormon szintektől függ. Éhezésben a glükóz szintek alacsonyabbak, ez csökkenti az inzulin szekrécióját, de növeli a glukagon felszabadulását a hasnyálmirigyből és az adrenalinét a mellékveséből. Az éhezés szintén csökkenti a tiroid hormonok szintézisét, így a napi alap energia szükségletet is.

## 36.4. AZ ÉHEZÉST KÖVETI KORAI TÁPLÁLT ÁLLAPOT

Korai táplált állapotban a trigliceridek a jól táplált állapothoz hasonlóan metabolizálódnak, a máj azonban glukoneogenezis módjában marad néhány óráig a táplálkozást követően. A laktátból (perifériás

szövetek) és aminosavakból (bél) történő glukoneogenezis glikogén, és nem glükóz szintézisét eredményezi, így módon segít újra feltölteni a máj glikogén tartalékát. Miután a glükóz szintézis csökken, a máj glikogént a glükózból való közvetlen szintézis tartja fenn.

### 36.5. KALÓRIA HOMEOSZTÁZIS

Az állandó üzemanyag elérhetőséget a vérben hívják kalória homeosztázisnak. Ez olyan üzemanyag-szinteket jelent a vérben, ami lehetővé teszi az ATP szintek bizonyos határok közötti fenntartását, tekintet nélkül az aktuális tápláltsági állapotra. A legszorosabb határok között a vérglükóz koncentráció szabályozódik, míg a zsírsav és ketontest koncentrációk a vérben egy-két nagyságrendet változhatnak. A vércukor szint szigorú szabályozásának az oka az agy feltétlen glükózszükséglete. Az éhezés hatását a **glükóz homeosztázisra** öt fázisra lehet osztani (ea. ábra):

Az I. fázis a táplált állapot, amelyben a táplálék szénhidrátok biztosítják a glükózt a vérben.

Amikor ez az ellátás kimerül, a máj glikogén lebontása tartja fenn a vérglükóz szinteket, ez a II fázis.

Ahogy ez a glükóz forrás merül ki, a máj glukoneogenezis laktátból, glicerolból és alaninból egyre fontosabbá válik, amíg a III. fázisban a glukoneogenezis válik a vérglükóz fő forrásává.

Számos napig tartó éhezés vezet a IV. fázishoz, amikor a glukoneogenezistől való függés csökken, és a ketontestek részben felváltják a glükózt az agynak való üzemanyagként. A vesében végbemenő glukoneogenezis szintén jelentőssé válik ebben a szakaszban.

Az V. fázis különösen elhízott egyén nagyon hosszú éhezése után következik be, és ezt a glukoneogenezistől való még kisebb függés jellemzi. Ennél már majdnem minden szövet energiaszükségletét a zsírsav és ketontest oxidáció fedezi.

Miután az összes zsírtartalék elhasználódott és a ketontest szintek lecsökkentek, a testnek a funkcionális izomfehérjéit kell elhasználnia, amely végül halálhoz vezet.



## 37. AZ ALKOHOL METABOLIZMUSA

Az etilalkoholt (etanolt) általában alkoholos italok formájában fogyasztjuk, és ezt nevezzük egyszerűen alkoholnak. Az etanol poláros és apoláros csoporttal egyaránt rendelkezik. Hatással van a biomembránok polaritására és fluiditására, ami megzavarja a neurotranszmissziót és szignál folyamatokat. Nagyrészt ez a felelős idegrendszeri és pszichológiai hatásaiért. Nagy mennyiségű, rendszeres alkohol fogyasztás az egész szervezetet károsítja. Az etanol toxicitás fő célpontjai a központi idegrendszer, máj, szív, emésztőrendszer és hasnyálmirigy. Krónikus alkohol fogyasztás hozzájárulást és függőséget okoz, alkoholizmushoz vezet.

Az etanol nagy hatékonysággal szívódik fel az emésztőrendszerből a vérbe, és csak kis része távozik változatlan formában a tüdőn vagy a vesén keresztül. A felvett alkohol többsége acetáttá alakul, ami azután tovább oxidálódik vagy lipidekbe épül be. Óránként körülbelül 10 g etanol metabolizálódik átlagos testsúlyú egészséges felnőttben, de a metabolizmus sebessége szintén függ a tápláltsági állapottól, nemtől, egyéni kapacitástól és az alkoholfogyasztás rendszerességétől. Az etanol oxidációjában résztvevő enzimek számos sejtben megtalálhatók, de legnagyobb mennyiségben a májban expresszálódnak. A fogyasztott alkohol többsége a májban metabolizálódik.

### 37.1. AZ ETANOL OXIDATÍV KATABOLIZMUSA

A lebontás első lépése az etanol oxidációja acetaldehiddé. Ezt a lépést három alternatív enzim katalizálhatja, amelyek különböző kofaktorokkal működnek, és a sejt három eltérő kompartmentjében lokalizálódnak:

1. Alkohol dehidrogenáz (ADH)-citoszol
2. Mikroszómális etanol oxidáló rendszer (MEOS) vagy citokróm P450- endoplazmás retikulum
3. Kataláz- peroxiszóma

#### Alkohol dehidrogenáz

Az **alkohol dehidrogenáz** egy citoszolban található enzim, ami az etanolt acetaldehiddé oxidálja, miközben egy  $\text{NAD}^+$  redukálódik. Az enzimnek nagy az affinitása az etanolhoz (alacsony  $K_m$ ), normál esetben (kis dózis és alkalmi fogyasztás) a teljes alkohol metabolizmus kétharmadáért felelős, de az enzim telítődik néhány millimólos koncentrációnál (enyhe intoxikáció). Az alkohol dehidrogenáz enzim aktivitása jelentős genetikai polimorfizmust mutat.

#### Az etanol mikroszómális (citokróm P450 rendszer általi) oxidációja

Az etanol monooxigenációját bizonyos citokróm P450 izozimek (főleg CYP2E1) katalizálják, amik molekuláris oxigént és NADPH-t használnak, és az endoplazmás retikulum membránjában helyezkednek el. A CYP2E1 affinitása az etanolhoz jóval kisebb (magas  $K_m$ ), és csak a teljes etanol metabolizmus kb. egyharmadáért felelős alacsony szérumalkohol szintnél. Azonban az enzimet alkohol és más szubsztrátok indukálhatják. Ennélfogva ez válik a domináns metabolizálóvá nagy mennyiségű és ismételt/rendszeres alkohol fogyasztás esetén. Az enzim által termelt acetaldehid általában nem hagyja el az aktív helyet, mivel ez is szubsztrátja az enzimnek, hanem tovább monooxigenálódik acetáttá.

Az enzimnek (más biotranszformációban részt vevő enzimekhez hasonlóan) kicsi a szubsztrát specifitása. A CYP enzimek az etanolon kívül számos gyógyszert és hormont is metabolizálnak (aceton, éterek, kloroform, széntetraklorid, acetaminofen, benzén, környezeti szennyező anyagok, szteroid hormonok stb.). A CYP450 izozimek aktivitása sokszorosára növekedhet bizonyos körülmé-

nyek között ( szubsztrátok általi indukció, tartós éhezés, diabetes mellitus). Ebben az esetben a sejt oxigén igénye jelentősen megnő, NADPH termelő kapacitása csökken, és a reaktív szabad gyökök képződése károsan megemelkedik a citokrom enzimek „hanyagsága” következtében. A monooxigenálás megnövekedett aránya a májban (a hipoxia, oxidatív stressz és NADPH kimerülés mellett) további problémákhoz vezethet:

#### Toxikus intermedierek felhalmozódása

A biotranszformáció első szakaszában való átalakulás (monooxigenálás) gyakran növeli bizonyos endogén/exogén anyagok ( toxinok, prokarcinogének) toxicitását, míg a második szakaszban való átalakulás (konjugáció) rendszerint csökkenti azt. Így a toxikus intermedierek termelésének felgyorsulása és a csökkent glutation konjugáció (az oxidatív stressznek köszönhető glutation depleció miatt) együttvéve némely anyagot hepatotoxikussá tesz a szokásos dózisban alkalmazva (pl. Acetaminofen).

#### Gyógyszerek, hormonok hatékonyságának módosulása

A felgyorsult metabolizmus gyakran csökkenti a gyógyszerek hatékonyságát (nagyobb dózisban kell alkalmazni alkoholisták páciensekben).

Mindazonáltal, némely gyógyszer csak a biotranszformáció első fázisában való átalakulás által válik aktív szerré. Ezek hatékonysága megnő alkoholistákban, így kisebb dózis szükséges.

#### Az etanol kataláz általi oxidációja

A kataláz enzim a peroxiszómákban, a hidrogén peroxid folyamatos képződésének helyén található. Szerepe a képződött hidrogén peroxid eliminálása. Mindazonáltal az enzim etanol peroxidázként is működhet, mivel az etanolt is oxidálja hidrogén peroxid segítségével (előadás ábra). Ez az aktivitás a májsejtek hidrogén peroxid termelésétől függ, így normál körülmények között az etanol oxidációhoz való hozzájárulása nem jelentős (azonban az enzim indukálódik bizonyos körülmények között, például magas zsírsav szintekkel járó állapotokban).

### 37.2. AZ ACETALDEHID OXIDÁCIÓJA ACETÁTTÁ

Az acetaldehid dehidrogenáz az acetaldehidet acetáttá alakítja  $\text{NAD}^+$  redukálásával egyidejűleg. A mitokondriális izozim aktivitása a legnagyobb, de mennyiségileg kisebb jelentőségű izozimjei is előfordulnak a citoszólban és a peroxiszómákban.

Az etanol lebontásában rendszerint az első oxidációs lépés (az etanol oxidációja acetaldehiddé) a sebesség meghatározó lépés, ezáltal a sejtben az acetaldehid koncentráció kicsi normál körülmények között. Azonban ha az etanol oxidációja felgyorsul (ADH izozimek vagy a CYP rendszer indukciójának következtében), vagy/és az acetaldehid oxidációja lelassul/gátolt valamely okból (mutáció, gyógyszerek, mitokondriális károsodás rendszeres ivókban), az ártalmas acetaldehid felhalmozódik a májban és a testben.

### 37.3. AZ ACETÁT AKTIVÁLÁSA ACETIL-KoA-VÁ

Az acetát tiokináz (acetil-KoA szintetáz) katalizálja az acetát aktivációját acetil-KoA-vá (előadás ábra). Az enzim megtalálható a citoszólban, peroxiszómában és a mitokondriumban, és a reakció a szabad KoA elérhetőségétől függ a sejtben.

A termelt acetil-KoA belép a citrátkörbe, vagy zsírsav, koleszterin vagy ketontest szintézisére fordítódik.

Az etanol kis mennyiségben fogyasztva hatékony energiaforrás (30 kJ/g energia). Azonban gyakori és nagy dózisú alkoholfogyasztás esetén az alkoholos sejt károsodás csökkenti az energiatermelés hatékonyságát (kevesebb ATP, több hő) az etanol, acetaldehid és CYP2E1 által okozott membrán károsodás következtében.

### **37.4. METABOLIKUS VÁLTOZÁSOK RENDSZERES, NAGY DÓZISÚ ALKOHOL FOGYASZTÁS ESETÉN**

A magas etanol szintek káros metabolikus változásokhoz vezetnek, különösen a májban. Az alkohol lebontása nem áll allosztérikus és hormonális szabályozás alatt. Az oxidáció sebessége nem alkalmazkodik a szervezet metabolikus igényeihez, és csak az enzimek kapacitásától, és a szubsztrátok és kofaktorok elérhetőségétől függ. Az etanol metabolikus toxicitása nagymértékben a NADH és acetát túltermelésének köszönhető. Ezen körülmények között a NADH/NAD aránya jelentősen megnő a májsejtekben, amit redox eltolódásnak neveznek. Ez a magas NADH koncentráció gátolja a glukoneogenezist a laktát piruváttá oxidálásának gátlása által. A laktát felhalmozódik a sejtben és a vérben, ami laktát acidózishoz és hipoglikémiához vezethet.

A magas NADH arány a glükóz és a zsírsav lebontását is gátolja, és a metabolizmust a zsírsav, triacilglicerol, koleszterin és ketontest szintézis irányába tolja el. A trigliceridek felhalmozódnak a májban, ami úgynevezett „zsírmáj” kialakulásához vezet.

Mind az etanol, mind az acetaldehid membrán károsító molekulák, ezenfelül az acetaldehid protein denaturáló és glutathion depléciót okozó mérgező anyag is. Az acetaldehid-protein adduktok képződése által okozott fehérje károsodás és enzim inaktiváció számos sejtfunkció működését gátolhatja (DNS repair, vezikuláris transzport, kollagén szintézis szabályozása, proteozomális lebontási folyamatok, antioxidáns védelem). A szabad ecetsav/acetát intracelluláris acidózishoz vezethet. Ezenfelül, a megnövekedett CYP aktivitás káros melléktermékek képződésének növekedésével jár együtt (szabad gyökök, ROS), ami oxidatív stresszhez vezet.





## 38. DIABETES MELLITUS

A diabetes mellitus (DM) egy krónikus betegség, ami zavarokat okoz mind a szénhidrát, mind a zsír és az aminosav metabolizmusban is.

A DM két fő klinikai típusa:

- egyes típusú diabetes (inzulin-függő (IDDM) vagy gyermekkori diabetes), ahol a metabolikus defektus a hasnyálmirigy  $\beta$  sejteinek autoimmun károsodásából, és ennek következtében az inzulintermelés hiányából fakad.
- és a kettes típusú diabetes (nem-inzulin-függő diabetes mellitus (NIDDM) vagy inzulin-rezisztens DM). Ez valójában egy betegség csoportot, amelyikben az inzulin szabályozó hatása nem érvényesül: inzulin termelődik, de az inzulin válaszrendszer valamely eleme nem működik.

A diabetes mellitus jellemző tünetei:

- erős szomjúságérzet, és gyakori vizelet (poliuria), ami nagy mennyiségű vízfogyasztáshoz vezet (polidipszia),
- hiperglikémia (a vérből való hatékony glükózfelvétel hiánya)
- glükózuria
- ketózis (ketontest túltermelés), ami megnövekedett ketontest koncentrációhoz vezet a vérben (ketonémia) és a vizeletben (ketonuria), valamint a vér pH-jának csökkenéséhez (ketoacidózis).

### 38.1. TERHESSÉGI DIABETES MELLITUS

Terhesség alatt egy jelentős metabolikus adaptáció az inzulin érzékenység csökkenése, ami elősegíti, hogy a magzat elegendő glükózhhoz jusson. Azonban ez némely terhes nőben glükóz intolerancia kialakulásához ( terhességi diabeteshez (GDM)) vezet. Az inzulin rezisztencia úgy tűnik a vázizmot érinti leginkább, és a defektus inkább az inzulin hatás csökkenéséből ered, mint az inzulin receptor kötési affinitásának csökkenéséből. A terhességi diabetesben szenvedő nők vázizom sejtjei overexpresszálják sejt felszíni glükoproteineket, amelyek gátolják az inzulin receptor tirozin kináz aktivitását. Ez együttesen az inzulin receptor szubsztrát-1 csökkent expressziójával és foszforilációjával inzulin rezisztenciához vezethet terhességi diabetesben.

### 38.2. AZ INZULIN TERMELÉSE ÉS HATÁSAI A VÉRGLÜKÓZ SZINTRE

Az inzulint a hasnyálmirigy  $\beta$  sejtejei termelik és szekretálják az emelkedett vérglükóz szintre válaszul.

#### **Az inzulin hatásai a vérglükóz szintre**

Az inzulin növeli a glükózfelvételt az izom- és zsírsejtekbe (GLUT4 glükóz transzporter aktiváció), stimulálja a glükózfelvételt a májba (a glükokináz expressziójának fokozásával), stimulálja a glikolízist (a glikolitikus enzimek expressziójának és aktivitásának növelésével), elősegíti a glükóz glikogén formájában való raktározását (glikogén szintáz aktiváció, glikogén foszforiláz gátlás), gátolja a máj glükóz termelését. Az inzulin szintén stimulálja a lipidek szintézisét (zsírsavak, trigliceridek, koleszterin) és a főleg energia raktározását zsír formájában a zsírszövetben. Összegezve az inzulin hatása elősegíteni a vérglükóz felesleg átalakítását két raktározható formába: glikogén (a májban és az izomban) és triacilglicerol (a zsírszövetben).

### 38.3. INZULIN JELÁTVITELI ÚTVONALAK

Az inzulin szabályozza mind a metabolikus enzimek működését, mind a génexpressziót. Az inzulin maga nem lép be a sejtbe, hanem egy szignált indukál, ami elágazó útvonalakon jut el a plazma-membrán receptoroktól az inzulin-szenzitív enzimekhez a citoszolban, valamint a sejtmagba, ahol specifikus gének expresszióját módosítja. Az inzulin kötődése az inzulin receptorhoz indukálja a receptor autofoszforilációját, ami azután citoszólos kötő fehérjék (olyan mint az inzulin receptor szubsztrát (IRS) család tagjai, Shc és Cbl) kötődését segíti elő.

Ezek a szubsztrátok foszforilált formában kikötő helyekként szolgálnak más, inzulin hatást közvetítő fehérjék számára. Az inzulin stimulálja egyes fehérjék foszforilálását, más fehérjék defoszforilálását, ami azután specifikus enzimek aktivációjához vagy gátlásához vezet. Különböző jelátviteli útvonalak indulnak az inzulin receptortól, némelyik még nincs is azonosítva. Néhány az aktivált útvonalak közül a PI3 kináz (foszfatidil-inozitol-3 kináz), Ras (egy kis GTP kötő fehérje), a MAP kináz (mitogén aktivált protein kináz), és TC10 (egy kis GTP-kötő fehérje). Ezek az útvonalak összehangolt módon működnek a vezikuláris transzport (GLUT4 transzlokáció a plazma membránba (PI3 kináz és TC10)), fehérje szintézis, enzim aktiváció és inaktiváció, és génexpresszió szabályozásának koordinálásában (előadás ábra). A különböző útvonalak nettó eredménye a glükóz, lipid és fehérje szintézis szabályozása éppúgy, mint a sejt növekedés, túlélés és differenciálódás kontrollálása.

### 38.4. ELHÍZÁS

Az elhízás a legáltalánosabb táplálkozási probléma a fejlett országokban, amit a testtömeg indexxel (BMI) tudunk definiálni (előadás ábra). Ez egy ártalmas kondíció, ami szignifikánsan megnöveli a kettes típusú diabetes kialakulásának esélyét éppúgy mint a szívroham, agyvérzés és némely rákfajta esélyét.

Az **elhízás okai** komplexek, kialakulásában táplálkozási és genetikai tényezők egyaránt szerepet játszanak:

- A túlzott táplálékfelvétel éppúgy mint a mozgáshiány fontos szerepet játszik sok egyén esetében
- Ritkábban tumorok, az idegrendszer éhség szabályozó központjának nem megfelelő fejlődése a hipotalamuszban az oka
- Ritka esetben másodlagosan alakulhat ki endokrin betegségek következtében, olyan mint a hipotireózis vagy Cushing szindróma
- vagy szintén ritkán a táplálékfelvétel és energia felhasználás közötti egyensúly idegi kontrolja abnormális
- a táplálékfelvételt szabályozó hormonok géneinek mutációja, olyan mint a leptin vagy receptora szintén lehet az oka

A **leptin** (az OB gén terméke) egy adipokin (adipociták által termelt) hormon. A zsírszövet általi termelése egyenesen arányos a zsírsejtek számával és tömegével. Vérbe való felszabadulása után az agyba szállítódik, ahol a hipotalamuszban a receptorához kötődést követően (a DB gén kódolja a leptin receptort) csökkenti az étvágyat.

Az „arcuate nucleusban” (a hipotalamuszban) kétféle neuron szabályozza a táplálékfelvételt és metabolizmust.

- Az **orexigén** (étvágyfokozó) neuronok stimulálják a táplálékfelvételt **neuropeptid Y (NPY)** termelése és felszabadítása által, ami a következő neuronokon keresztül jelet küld az agynak: Egyéll!
- Az **anorexigén** (étvágycsökkentő) neuronok az arcuate nucleusban  **$\alpha$ -melanocita-stimuláló hormont ( $\alpha$ -MSH)** termelnek, ami átviszi a jelzést a következő neuronnak a hálózatban: Fejezd be az evést!

Különböző szövetek által termelt eltérő hormonok vesznek részt a táplálékfelvétel szabályozásában: az **inzulin** csökkenti az étvágyat az anorexigén neuronok aktiválása és az orexigén neuronok gátlása által. A **leptin** szintén csökkenti az étvágyat ugyanazzal a mechanizmussal. A rövid-távú evési viselkedésre két másik hormon is hatással van: a **ghrelin** és a **PYY**. A ghrelin egy gyomorban termelődő peptid hormon. Éhséget okoz az orexigén neuronok stimulálása, és NPY felszabadulás indukálása által. A PYY a vékony- és vastagbél falát szegélyező endokrin sejtek által termelt peptid hormon, ami a gyomorból a bélbe érkező táplálékra válaszképpen szabadul fel. Ez csökkenti az éhséget az orexigén neuronok és NPY felszabadulás gátlása által.

### 38.5. AZ ELHÍZÁS EGÉSZSÉGHÁRÓSÍTÓ HATÁSÚ ÉS HAJLAMOSÍT A KETTES TÍPUSÚ DIABETES MELLITUSRA

Elhízott egyéneknél jelentős emelkedés figyelhető meg a szérumban szabad zsírsav, koleszterin és triglicerid szintekben. Miért? A kövérség az adipociták számának és/vagy méretének növekedésével függ össze.

A zsírszövet endokrin szerv, ami peptid hormonokat, adipokineket termel (leptin, adiponektin, rezisztin). Kóvér egyénben a zsírsejtek túltermelnek bizonyos hormonokat (leptin, rezisztin) és citokineket (TNF $\alpha$ ). Ezek némelyike inzulin rezisztenciát okoz az inzulin receptor autofoszforilációjának, és a rá következő inzulin receptor szubsztrát foszforiláció gátlásával. Ugyanakkor a lipid-telített adipociták csökkentik más hormonok szintézisét (adiponektin), amely növelné az inzulin válaszkézséget.

A TNF $\alpha$  parakrin hatással van az adipocitákra:

1. Aktiválja a hormon-szenzitív lipázt, ami a szabad zsírsav szint növekedéséhez vezet a vérben
2. Gátolja a lipoprotein-lipázt, ami a VLDL vérből való felvételének csökkenéséhez vezet
3. Csökkenti az LCAT expresszióját és aktivitását, az ATP-kötő kazetta, apo-A1 és apo-A4 expresszióját, ami a HDL szint csökkenéséhez vezet

A TNF $\alpha$  szintén aktiválja a SREBP1-c transzkripciósfaktort a májban, ami a zsírsav- és triacilglicerol szintézis gének expressziójának növekedéséhez, és következésképpen a VLDL termelés növeléséhez vezet. Ezek az események diszlipidémiához vezetnek (megrögzött VLDL, csökkent HDL szintek).

A szabad zsírsavak gátolják a glükóz felvételt és hasznosítást, gátolják a mitokondriális biogenezist, növelik a ROS termelést, aktiválnak transzkripciósfaktorokat és PKC izoformákat, amelyek hozzájárulnak az inzulin rezisztenciához.

Egy darabig a hasnyálmirigy  $\beta$  sejtek elég inzulin szekretálnak, hogy ellensúlyozzák a csökkent inzulin érzékenységet az izomban és a zsírban. De a  $\beta$  sejtek végül nem bírják, és az elegendő inzulin hiánya nyilvánvalóvá válik abban, hogy a test nem tudja szabályozni a vércukor szintet, és kifejlődik a kettes típusú diabetes. A közbülső lépést, ami megelőzi a 2-es típusú diabetes mellitust hívják metabolikus szindrómának, vagy X-szindrómának (előadás ábra).

**A metabolikus szindróma** jellemző tünetei az elhízás (hasi), hipertenzió (magas vérnyomás), abnormális vér lipid szintek, enyhén emelkedett vér glükóz, és csökkent képesség ennek megszüntetésére. Abnormális véralvadás (magas fibrinogén koncentráció) vagy gyulladás szintén előfordul.

A metabolikus szindróma kettes típusú diabetesbe való progressziója nem történik meg minden kóvér páciensben, becslések szerint az inzulin rezisztencia diabetesbe fejlődése 5-10 év alatt a páciensek 40%-ában történik meg.

### 38.6. A SZÖVETEK KÖZÖTTI METABOLIKUS KAPCSOLATOK 2-TÍPUSÚ DIABETESBEN

Ezek általában középkorú vagy idősebb emberek inzulin rezisztenciával, és magasabb, mégis elégtelen inzulin termeléssel a rezisztencia kompenzálásához. (hiperinzulinémia, több hormon, kevesebb receptor, károsodott  $\beta$  sejt funkció). Az inzulin nem tudja szabályozni a máj glükóz termelését, és az izom és zsír glükóz felvételét. A ketoacidózis ritka, mert ahhoz elég inzulin van jelen, hogy megakadályozza a kontrollálatlan zsírsav felszabadulást az adipocitákból, és a májat elérő zsírsavak triacilglicerollá alakulnak. A növekedés a VLDL-ben hipertriacilglicerolémiát eredményez hiperkilomokronémia nélkül. A máj folyamatosan glukoneogenikus és lipogenikus, ami a különböző jelátviteli útvonalak kevert inzulin rezisztenciájából adódik (nem tudja szabályozni a glukoneogenezist, de van némi kontrol a zsírsav szintézisben és észteresítésben, ami triacilglicerol túltermeléshez vezet.)

### 38.7. METABOLIKUS KAPCSOLATOK 1-TÍPUSÚ DIABETES MELLITUSBAN

Itt jellemző az inzulin termelés teljes hiánya, a glukagon hatás dominál. A máj folyamatosan glukoneogenikus és ketogén, és nem tudja szabályozni a vérglükóz szinteket. Nincs glükóz felvétel az izomba és a zsírszövetbe (nincs GLUT4 transzlokáció). A vázizomra jellemző a kontrollálatlan proteolízis, ami ellátja üzemanyaggal a felgyorsult glukoneogenezist a májban. A zsírszövetben végbemenő kontrollálatlan lipolízis megnöveli a plazma zsírsav szinteket, és a máj ketontest termelését (ketoacidózis). A zsírsav oxidáció és ketogenezis nem tudja mind elhasználni a máj által felvett zsírsavakat, a felesleg észtereződik és VLDL szintézisre fordítódik. Lipoprotein lipáz hiányában (ennek expressziója inzulin függő) hipertriacilglicerolémia alakul ki (VLDL és kilomikron szintek egyaránt megnönek). Minden szövet katabolikus szerepet játszik, ami a test szöveteinek csökkenéséhez vezet.

A diabetes kardiovaszkuláris betegségekhez, veseelégtelenséghez, vaksághoz, neuropátiához, és amputációt igénylő sebhegédési elégtelenségekhez vezethet a végtagokban.

### 38.8. A DIABETES KOMPLIKÁCIÓIÉRT FELELŐS METABOLIKUS ABNORMALITÁSOK

- **Növekedett fehérje glikáció („Advanced glycated end products” (AGEP) formálása)**  
A fehérjék nem-enzimatikus glikációja módosíthatja azok aktivitását, oldékonyságát és degradációját, és hozzájárulhat a vese, retina, és szív és érrendszer károsodásához diabetesben a glikozilált hemoglobin (A1c) szint mérése információt ad az előző hónapok átlagos vérglükóz szintjéről
- **A poliol útvonal aktivációja**  
A szemlencse, perifériás idegek, vese papillák, Schwann sejtek, a vese glomerulusok és a retina tartalmazza a poliol utvonal két enzimjét: az aldóz reduktázt, ami NADPH-t használ a glükóz redukálásához szorbitollá, és a szorbitol dehidrogenázt, ami NAD<sup>+</sup>-ot használ a szorbitol oxidációjához fruktózzá (előadás ábra). Az aldóz reduktáz Km értéke glükózra magas, ez az útvonal csak hiperglikémia esetén aktív. Diabeteszes egyéneknél a szorbitol koncentráció megnő a lencsében, idegekben és glomerulusokban, ami ozmotikus hatásánál fogva duzzadást okoz, és károsíthatja ezen szöveteket.
- **A protein kináz C aktivációja**
- **A hexózamin útvonal aktivációja**

Ezen abnormalitások mindegyike szorosan kapcsolódik a mitokondriális reaktív oxigén származékok glükóz indukálta képződéséhez, így hozzájárul a diabetes komplikációihoz.

### 38.9. A 2-TÍPUSÚ DIABETESZ KEZELÉSE

Három tényező szükséges a 2-típusú DM-ban szenvedő egyének egészségének javításához: a táplálékfelvétel korlátozása, a rendszeres testmozgás, és gyógyszerek, amik növelik az inzulin érzékenységet vagy inzulin termelést.

- A **táplálék csökkentése** (súlyvesztés) csökkenti a zsírsavak kezelésének általános terhét. A táplálék lipidösszetétele hatással van a PPAR és más transzkripciós faktorokon keresztül olyan gének expressziójára, amik a zsírsav oxidációban és termogenezisen keresztüli energia felhasználásban résztvevő fehérjéket kódolnak.
- A **testgyakorlás**, az adiponektinhez hasonlóan aktiválja az AMP kinázt; Az AMPK a metabolizmust a zsírsav oxidáció irányába tolja el, és gátolja a zsírsav szintézisét.
- **Számos gyógyszer** csoportot használnak a 2-es típusú DM kezelésében (előadás ábra).

A szulfonilurea szerek a  $\beta$ -sejtekben az ATP-függő ioncsatornákra hatva serkentik az inzulin felszabadulást. A metformin aktiválja az AMPK-t. A tiazolidindionok a PPAR $\gamma$ -n keresztül hatva növelik az adiponektin koncentrációt a plazmában és stimulálják az adipocita differenciálódást, ezáltal növelik a triglicerid raktározás kapacitását.

A dipeptidil proteáz IV (DPP-IV) gátlószerek megakadályozzák a GLP-1 lebontását, ami egy bélben termelődő olyan peptid hormon, ami stimulálja a hasnyálmirigy inzulin szekrécióját.



## 39. A MÁJ SZEREPE AZ ANYAGCSERE SZABÁLYOZÁSÁBAN

A szervezet legfőbb anyagcsere szabályozó szerve a máj. Gyakorlatilag minden biokémiai szintetikus, lebontó és detoxifikáló reakcióútban részt vesz. A felszívott és emésztett táplálékban gazdag vér a portális vénán át éri el a májat. A máj sajátos keringése teszi lehetővé számos molekula kicserélődését (glukóz, aminosavak, kiválasztott fehérjék, VLDL, triacil-glicerín (TAG), foszfolipidek, koleszterin, toxinok). Ilyen módon a máj képes a vérből kiválasztani a szükségtelen anyagokat, azokat lebontja vagy recirkulálja, más molekulákká alakítja, vagy detoxifikálást hajt végre. Hasonlóképp a hepatociták (májsejtek) által szintetizált molekulák el tudják érni a véráramot.

### 39.1. A MÁJ SZEREPE A BIOTRANSZFORMÁCIÓBAN ÉS DETOXIFIKÁCIÓBAN.

Lásd a biotranszformáció fejezetet.

### 39.2. A MÁJ ENERGIA IGÉNYE

Magas szénhidrát tartalmú étkezés után a máj energiaigényét a **glikolízis és citrát kör** révén elégíti ki. A máj az etanol metabolizmus fő szerve is. **Éhezésben** a máj zsírsavakat éget, de a ketontesteket nem használja fel. A máj képes a galaktózt és fruktózt glikolitikus intermedierekké alakítani. A **GLUT2** (a hepatociták glukóz transzportere) és a **glukokináz** egyaránt magas  $K_M$  értékkel rendelkezik glukózra, így a májsejtek csak magas vércukor érték mellett veszik fel és foszforilálják a glukózt.

**A szénhidrátok sorsa a májban:**

- energiaszolgáltatás (glikolízis és citrátkör)
- energia raktározás glikogén formájában
- zsírsav szintézis, VLDL-ként szekretálódik
- foszfolipid szintézis
- glikolízis intermedierek származékainak szintézise (glicerín, szerin)
- a komplex szénhidrátok szintéziséhez szükséges cukrok előállítása
- pentóz foszfát út.

Éhezésben a máj hosszú láncú zsírsavakat használ energia szolgáltatóként. A májsejtek peroxiszómájában a hosszú láncú zsírsavak lebontása aktívan zajlik.

### 39.3. A MÁJ AMINOSAV ANYAGCSERÉJE

A máj képes minden aminosavat metabolizálni, vagy oxidálja, vagy keton testté alakítja, vagy glukoneogenezisre használja.

Az **urea ciklus** a hepatocitákban zajlik.

**Magas fehérje tartalmú étkezés** után a máj az aszparátot, glutamátot és glutamint energiaforrásként tudja használni; az aminosavak általában a máj saját és szekretált fehérjéinek szintézisére fordítódnak. Az **elágazó láncú aminosavakat** más szervek (enterociták, izomszövet) számára őrzi meg a máj energia szolgáltatónak.

A más szövetekben felhasznált aminosavakból származó **nitrogén** alanin vagy glutamin formájában éri el a májat.

Számos aminosav származék (hem, purinok, pirimidinek) szintetizálódik a májszövetben.

### 39.4. FEHÉRJE SZINTÉZIS

A májban történik a **vér alvadási faktorok** szintézise. A vérben nagy mennyiségben található **albumin** is a máj állítja elő. Az albumin döntő jelentőségű a vér ozmotikus nyomásának biztosításában és számos hidrofób molekula szállítója is (zsírsavak, aminosavak, vitaminok, gyógyszerek). A máj ezen felül még számos glikoprotein, fém- (vas, réz) és hem-kötő fehérje, valamint az ú.n. akut fázis fehérjék szintéziséért felelős. A lipoproteinek fehérje komponensei és egyes proteáz inhibitorok is itt termelődnek. A **glikoproteinek** és proteoglikánok cukor komponensei a glukoneogenezis termékei lehetnek.

### 39.5. PENTÓZ FOSZFÁT ÚT

A máj különösen **nagy mennyiségű NADPH-t** igényel a szintetikus reakciókhoz. Táplálkozást követően a zsírsav, koleszterin és triglicerid szintézis fokozódik. Emellett a foszfolipid, VLDL és epesav előállítása is NADPH-t igényel. A **glutation (GSH) reduktáz** és a **citokróm P450 rendszer** is NADPH-t használ. A glutation és a citokróm P450 rendszer is védelmet nyújt az oxidatív hatású molekuláktól és a xenobiotikumoktól.

### 39.6. A VÉRCUKOR SZINT SZABÁLYOZÁSA

Ahogy láttuk korábban, magas vércukor szint mellett a máj felveszi a glukózt és energia előállításra valamint raktározásra (glikogén, TAG) használja.

Alacsony vércukor koncentrációnál a glikogén lebontás (**glikogenolízis**) aktiválódik, szabad glukózt biztosítva a véráramba, amely a többi szervhez jut. Később a májban **glukoneogenezis** kezdődik, piruvátból, laktátból, glicerinnél és aminosavakból. Ezekhez a folyamatokhoz a zsírsavak béta oxidációja szolgáltatja az energiát. A lebontott triacil-glicerinnél glicerinnél váza glukózzal szintézisre fordítódik. Ha glukoneogenezis nem lehetséges, a béta oxidáció által nagy mennyiségben előállított acetyl-CoA-ból a máj **keton testeket szintetizál**. A máj maga nem éget ketontesteket, de azok elsőrendű energia szolgáltatók más szervek, főként a szív és az agy számára.

### 39.7. LIPID ANYAGCSERE

Éhezésben a máj a hosszú láncú zsírsavak lebontásából nyer energiát. A **béta oxidáció** a forrása a ketontest szintézisnek is. Elsősorban a májban zajlik a koleszterin, foszfolipid, TAG, VLDL és apoprotein **szintézis**. A koleszterin feleslege epesavak formájában választódik ki, amelyet szintén a hepatociták szintetizálnak. Számos glikolipid is a májban kerül szintézisre.

### 39.8. A MÁJ BETEGSÉGEI

A máj súlyos fibrózisának (kötőszövetes átépülés: **cirrhosis**) hiperammonémia lesz a következménye, mivel az urea ciklus nem működik megfelelően, a glutamin ciklus károsodott és az ammónia termelést vérvételek fokozhatják (tágult vénás sötötök és csökkent véralvadási faktorok szintézise). A szérumból albumin szint csökkenése ödémához vezet. Az aminosavak metabolizmusa és szintézise károsodhat, ami a neurotranszmitter szintézis zavarához vezethet. A végső stádiumban hipoglikémia léphet fel, mivel a glukoneogenezis hiányzik.



## 40. METABOLIKUS INTEGRÁCIÓ

### 40.1. AGY

A **glükóz** lényegében az egyedüli energiaforrás az agy számára a tartós éhezést kivéve. Az agynak nincsenek jelentős üzemanyag raktárai (glikogén, lipid, fehérje), így folytonos glükóz ellátást igényel (kb 120g/nap). Az agy nagyon aktív aerob metabolizmust folytat. Az energia többsége a transzport mechanizmusokra fordítódik, a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  membrán potenciál fenntartására, ami az idegimpulzusok átadásához kell, és a neurotranszmitterek és receptoraik szintézisére.

Zsírsvakat nem tud felvenni az agy, mivel ezek albuminhoz kötve szállítódnak a plazmában, és így nem jutnak át a vér-agy gáton. Éhezésben a májban képződött **ketontestek** ( $\beta$ -hidroxibutirát) részben helyettesíthetik a glükózt energiaforrásként az agyban.

### 40.2. VÁZIZOM

A vázizom metabolizmusa ATP szintézisére specializálódott, ami az izomkontrakció közvetlen forrása. Az izomszövetnek két fő típusa van, amelyek különböznek fiziológiás szerepükben és tápanyag hasznosításban. A **lassú-tónusú izom (vörös izom)** – gazdag mitokondriumban és jó a vérellátása – viszonylag alacsony feszítő erejű, de ellenálló a fáradtsággal szemben. Ez oxidatív foszforilációval termel ATP-t. A **gyors-tónusú izom (fehér izom)** kevesebb mitokondriumot tartalmaz, kevésbé jó a vérellátása, de nagyobb feszítésre képes és gyorsabban. Ez a glükóz anaerob fermentációjával, és a kreatin-foszfát raktárak felhasználásával termel főleg energiát.

A vázizom használhat üzemanyagként **zsírsvakat, ketontesteket vagy glükózt** az izomaktivitás mértékétől függően. Pihenő izomban a zsírszövetből származó szabad zsírsvak (85%) és a májból származó ketontestek az elsődleges energiaforrások. Mérsékeltén aktív izom a zsírsvak és ketontestek mellett vérglükózt is használ. Ezek az üzemanyagforrások oxidatív katabolizmussal metabolizálódnak.

Maximálisan aktív gyors-tónusú izomnak anaerob körülmények között kell működnie, amikor a raktározott **izom glikogén** fermentálódik tejsavvá. A laktát a májba szállítódik, ahol glükózzá alakul (Cori ciklus). Ezenkívül nagy mennyiségű alanin is képződik az aktív izomban a piruvát transzaminációjával. Az alanin, a laktáthoz hasonlóan glükózzá alakulhat a májban (alanin ciklus). A viszonylag kis mennyiségű glikogén korlátozza az ebből elérhető glikolitikus energia mennyiségét kimerítő testgyakorlás esetén, és a felhalmozódó tejsav és a rákövetkező csökkenés a pH-ban korlátozza az izomműködés hatékonyságot. A vázizom azonban rendelkezik egy másik ATP forrással, **kreatin foszfát** formájában (10-30 mM), amely gyorsan regenerálja az ATP-t ADP-ből a kreatin kináz reakcióban (ld ea. ábra). Az aktív kontrakció és glikolízis periódusában, ez a reakció túlnyomóan az ATP szintézis irányában megy végbe; a testgyakorlást követő regenerálódási periódusban ugyanaz az enzim újraszintetizálja a foszfo kreatint kreatinból és ATP-ből. A kreatin és kreatinfoszfát spontán bomlik kreatininné, amely a vesén keresztül ürül ki. A magas kreatin szintek fenntartásához a veszteséget pótolni kell a táplálékból vagy de novo szintézissel glicinből, argininből és metioninből, ami főleg a májban és a vesében megy végbe.

Testgyakorlás hatása a metabolikus útvonalakra vázizomban: az izomösszehúzódás energiaigénye megnöveli az AMP szinteket és aktiválja az AMPK-t. Az AMPK serkenti a GLUT4 kihelyeződését a plazmamembránba, ami a glükózfelvétel és katabolizmus növekedéséhez vezet az ATP termelés növelése céljából. Az AMPK által közvetített foszforilálás a malonil-KoA szinteket is csökkenti az ACC inaktiválása és a malonil-KoA dekarboxiláz aktiválása által. A lecsökkent malonil-KoA szintek megnövekedett karnitin-palmitoiltranszferáz 1 aktivitáshoz és zsírsvak oxidációhoz vezetnek, ami segít kielégíteni az izom növekedett ATP igényét.

### 40.3. SZÍVIZOM

A szívizom különbözik a vázizomtól abban, hogy folyamatosan aktív és teljesen **aerob metabolizmust** folytat (nagyon sok mitokondrium). A szív főleg zsírsavakat használ, de számos más energiaforrást is felhasználhat, ezeket az üzemanyagokat oxidálja a citrát cikluson és oxidatív foszforilációon keresztül ATP nyerés céljából. Valójában számos különböző metabolikus üzemanyagot használhat eltérő fiziológiai körülmények között. **Glükóz, piruvát és tejsav** használódik elsősorban táplálkozást követően, amikor a szabad zsírsav szint a vérben alacsony. Rövid távú éhezésben **szabad zsírsavak és elágazó láncú aminosavak** használódnak energiatermelésre. Hosszú távú éhezésben a **ketontestek** válnak preferált üzemanyaggá. Glükóz és az endogén glikogén használata 10-20-szorosára nő anoxiás körülmények között. **Acetát**, amely csak etanol fogyasztása után van jelen a vérben jelentős mennyiségben, szintén használható energia forrásként a szívben.

A vázizomhoz hasonlóan, a szívizom nem raktároz nagy mennyiségben lipideket vagy glikogént. Van némi energiataraléka foszfokreatin formájában, ami néhány másodpercnyi kontrakcióra elegendő.

### 40.4. VESE

A vese fő szerepe a vizelet termelése, amely a **metabolikus melléktermékek ürítésére**, és a **testfolyadékok ozmolaritásának fenntartására** szolgál. A vérplazma majdnem 60-szor átszűrődik naponta a vese tubulusokban. A vérből kiszűrt anyagok többsége reabszorbeálódik. A plazmában levő vízoldható anyagok, olyan mint a glükóz, és a víz reabszorbeálódik a nagyfokú vesztést megakadályozandó. A vese sok energiát igényel ehhez a folyamathoz (a sejtlegzésben használt oxigén 10%-a).

Éhezésben a vesében végbemenő **glukoneogenezis** fontossá válik, akár a vérglükóz 50%-át is biztosíthatja. A vese szintén részt vesz (megosztva a májjal) a **sav-bázis egyensúly** szabályozásában is. A pozitív töltésű és kéntartalmú aminosavak teljes katabolizmusa protont termel, a negatív töltésű aminosavak teljes lebontása protont fogyaszt. A sav-bázis egyensúly fenntartásához a vese fel tud venni glutamint a vérből, amit átalakít glükózzá., ami ammónium és bikarbonát ionok termelésével jár együtt (ld ea. ábra). Az ammónium ionok kiürülnek a glomerulus szűrlettel, míg a bikarbonát ionok a vérbe kerülve neutralizálják a protonokat és a képződött széndioxid távozik a tüdőben, ezáltal a felesleges protonok eliminálódnak.

A vese egyéb funkciói magukban foglalják az **arginin, kreatin és karnitin szintézisét**.

A bélből felszabadult citrullin a vesében argininné alakul, amely kreatinné alakulhat, vagy felszabadulhat a vérbe más szövetekben való felhasználásra.

A vese (és a máj) szintén képes a karnitin bioszintézis teljes útvonására, így ezek látják el a többi szövetet karnitinnel.

### 40.5. TERHESSÉG

A magzat igen energiaigényes szervezet. Főként **glükózt** használ energiatermelésre, de emellett **aminosavakat, laktátot, zsírsavakat és ketontesteket** is. A placenta által glikolízissal termelt laktát egy része a magzati keringésbe kerül energiatermelés céljából, másik része a májba jut. Az anyai LDL koleszterol a placentális szteroidok előanyaga (ösztradiol és progeszteron).

Terhesség alatt a tápláltság-éhezés ciklusa zavart szenved. A placenta placentális laktogént, és két szteroid hormont szekretál. A placentális laktogén fokozza a lipolízist a zsírszövetben, ami fokozza a ketontest termelést a májban, és a szteroid hormonok. inzulin rezisztenciát indukálnak. Táplálékfelvétel követően a terhes nő gyorsabban lép az éhezési ciklusba, a plazma glükóz, aminosav és inzulin szintek gyorsan csökkennek, ami anyai hipoglikémiához vezethet.

## 40.6. SZOPTATÁS

A terhesség késői szakaszában a placentális progeszteron és az anyai prolaktin fokozzák az emlő lipoprotein lipáz működését és elősegítik a tejtermelő sejtek és tejcsatornák kialakulását.

Szoptatás alatt az emlő sejtei glükózt használnak a laktóz és a triacilglicerol szintéziséhez és az energiatermeléshez; aminosavakat a fehérjeszintézishez; kilomikront és VLDL-t a TG szintézishez.

Csökkent táplálékbevitel esetén a növekedett proteolízis, glükoneogenezis és lipolízis anyai alultápláltsághoz és a tej gyenge minőségéhez vezethet.

A laktáló emlő Parathyroid Hormone-Related Protein-t (PTHrP) termel (PTH-hoz hasonló hatású), ami elősegíti a kalcium és foszfor abszorpcióját a bélből és a csontokból.



# 41. MAKRONUTRIENSEK EMÉSZTÉSE ÉS FELSZÍVÓDÁSA

## 41.1. FEHÉRJÉK EMÉSZTÉSE ÉS FELSZÍVÓDÁSA

A táplálékból, emésztőenzimekből és lebomló epiteliális sejtekből származó fehérjék lebontása aminosavakká az emésztőtraktusban megy végbe. Emberben ez igen hatékony folyamat (csak kb. 1-2 g nitrogén ürül ki a széklettel naponta). A táplálék fehérjék belépése a gyomorba stimulálja a **gasztrin** hormon szekrécióját a gyomor mukóza sejtekből, amely rákövetkezőleg indukálja a **sósav** felszabadulását a gyomormirigyek parietális sejtjeiből és a **pepszinogén** szekréciót a mirigyek fő sejtjeiből. A savas gyomornedv (pH 1.0-2.5) egyrészt antiszeptikus, másrészt elősegíti a fehérjék denaturációját. A pepszinogén egy inaktív prekursor vagy zimogén, ami aktív pepszinné alakul egy intramolekuláris reakcióban (autoaktivációval) pH 5 alatt, vagy maga az aktív pepszin által (autokatalízissal). A pepszinek csak savas pH-nál aktívak. A **karboxil proteázok** csoportjába tartoznak (az aktív helyen két karboxil csoport jelenléte szükséges a katalitikus aktivitáshoz), és a fő pepszin (pepszin A) az aromás aminosavak amino oldalán levő peptidkötéseket hasítja. A pepszin hatás következtében a hosszú polipeptid láncok átalakulnak rövidebb peptidok elegyévé. Ahogy a savas gyomortartalom továbbhalad a vékonybélbe, az alacsony pH stimulálja a **szekretin** hormon szekrécióját a vérbe. A szekretin stimulálja a **bikarbonát** szekrécióját a hasnyálmirigyből a vékonybélbe, ami neutralizálja a gyomorból származó sósavat, így semleges pH-t hoz létre. A fehérjék emésztése a vékonybélben folytatódik. Az aminosavak duodénumba érkezése stimulálja a **kolecisztokinin** hormon felszabadulását a vérbe, ami azután számos hasnyálmirigy zimogén felszabadulását serkenti: **endopeptidázok, tripszinogén, kimotripszinogén, proelasztáz és prokarboxipeptidáz A és B**. Egy a duodénium epitél sejtjei által termelt proteáz, az **enteropeptidáz** aktiválja a hasnyálmirigyből származó tripszinogént átalakítva tripszinné (prteolitikus hasítással). A **tripszin** ezután autokatalitikusan aktivál több tripszinogént tripszinné, valamint aktiválja többi zimogént is proteolitikus hasítással (előadás ábra). A hasnyálmirigy egy specifikus inhibitor, a hasnyálmirigy **tripszin inhibitor** termelésével védi meg magát az önmérsztéstől, ami megakadályozza a zimogének idő előtti aktivációját.

A **tripszin, kimotripszin és elasztáz** szubsztrátspecifitása eltérő (előadás ábra). Ezek az enzimek csak semleges pH-n aktívak, és a **szerin proteázok** csoportjába tartoznak (katalitikus mechanizmusuk egy esszenciális szerin maradékot igényel). Az előadás ábrán látható néhány természetes fehérje (ugynevezett **szerpinek**), amelyek gátolják a szerin proteázok aktivitását. A hasnyálmirigynedv szintén tartalmaz **karboxipeptidáz A és B**-t, amelyek **Zn<sup>2+</sup> tartalmú metalloenzimek** (cink peptidázok), és katalitikus mechanizmusuk eltér a karboxil- és szerin peptidázokétól. A különböző hasnyálmirigy peptidázok együttes működése szabad aminosavak és kis peptidok keletkezését eredményezi.

A rövid peptidok, és di-és tripeptidek szabad aminosavakká való emésztését a vékonybél felszínén levő enzimek katalizálják (**endopeptidázok, aminoszintázok és dipeptidázok**). A keletkezett termékek vékonybél epiteliális sejtekbe való abszorpciója specifikus aminosav- és peptidtranszport rendszereken keresztül történik. A felvett di- és tripeptideket általában a vékonybélhám sejtjeinek citoszoljában levő di- és tripeptidázok hidrolizálják szabad aminosavakra, mielőtt elhagyják a sejtet, és belépnek a vér kapillárisaiba.

Az aminosavak és peptidok felvétele a vékonybél sejtekbe **karrier mediált transzporttal** történik. Legalább hétféle kefeszegély specifikus transzport rendszert azonosítottak a különböző aminosavak és kis peptidok felvételére a vékonybélből (előadás ábra). Az aminosavak vérbe való felszabadítása ismét más specifikus transzporterekkel történik. Sok transzporter (a vékonybélüreg felé eső membránban) **Ná<sup>+</sup>-függő kotranszporter**, amit az elektrokémiai Ná<sup>+</sup> grádiens energetizál, vagy **Ná<sup>+</sup> független, facilitált diffúzió** típusú transzporter. A transzporter típusa függhet az aminosav töltésétől, és némely aminosav több mint egyféle transzporterrel keresztül szállítható. A semleges dipeptidek a kefeszegély membránon protonnal együtt kotranszportálódnak, így ennek energiáját a proton elektrokémiai potenciálkülönbség biztosítja. A **dipeptid transzporter** elfogadja a  $\beta$ -laktám antibiotikumokat

(aminopenicillinek), így fontos az ezen csoportba tartozó szájon át adott antibiotikumok felszívódásában.

### Proteázok

A proteázok **feladatai**: a táplálék fehérje tartalmának emésztése, a sejten belüli fehérjék szükség szerinti lebontása (turnover), más fehérjék aktiválása proteolitikus hasítás által. A peptid kötés különleges és igen erős, így a proteázok sajátos mechanizmusok segítségével hasítják a fehérjéket specifikusan és nagy sebességgel.

Az enzim aktív centruma alapján való **csoportosítása** a proteázoknak: szerin proteázok, cisztein proteázok, aszpartil proteázok és metalloproteázok. A hasítás helye alapján léteznek **endoproteázok** (a molekulán belül, specifikus szekvenciánál hasítanak) és **exoproteázok** (az N- vagy C-terminális aminosavat választják le). A proteázok zöme igen **specifikus**. Azok a proteázok, amelyek azonos mechanizmus szerint működnek, hasonló térszerkezettel rendelkeznek. Számos proteáz aktivitásának szabályozására **proteáz inhibitorok** vannak jelen (például a szerpinek családja, amelyek szerin proteáz gátlók). Genetikailag hiányzó proteáz gátlók különböző betegségek kialakulását idézik elő (trombózis, emfizéma). Egyes esetekben a proteázok gyógyszeres gátlása kerül szóba (például a HIV vírus proteázának gátlása, így a nagy prekursor fehérjéből nem keletkezhetnek aktív, érett fehérjék).

#### Szerin proteázok

Az emésztőenzim kimotripszin a legtöbbet vizsgált szerin proteáz. Az enzim célpontja a nagy hidrofób aminosavak (triptofán, fenilalanin, metionin, tirozin) karbonil oldala. Az enzim által katalizált fehérjehasítás a **kovalens katalízis** egyik típusa, amely két fázisban játszódik le. Az első fázisban egy acil-enzim, kovalensen kötött intermedier képződik, amely a második fázisban hidrolizálódik. Ezeket a lépéseket főként az enzim katalitikus triádja viszi végbe, amely szerinből, hisztidinből és aszpartátból áll. Az enzim molekulát három polipeptid lánc építi fel, amelyeket diszulfid-kötések tartanak össze. A katalitikus triád (His 57, Asp 102, Ser 195) tagjai szoros közelségben helyezkednek el egy mélyedésben, amely mély és hidrofób a cél hidrofób aminosav befogadására.

Más proteázok is léteznek, amelyekben katalitikus triádot találunk. Néhány közülük (tripszin és elasztáz) közeli rokonai a kimotripszinnek, de mindegyik kissé eltérő magasabb rendű szerkezettel rendelkezik a szubsztrát specifitásuknak megfelelően.

#### Cisztein proteázok

A **cisztein proteázok** két nélkülözhetetlen aminosavat hordoznak az aktív centrumukban: ciszteint és hisztidint. Ennek a különbségnek az az oka, hogy a ciszteinben lévő kén reaktívabb, mint a szerin oxigénje. Ilyen aktív centrummal rendelkeznek a **kaszpázok**. Az **aszpartil proteázok** két aszpartáttal rendelkeznek az aktív centrumukban, amelyek a víz megkötését és hidrolízisét segítik. Ebbe a csoportba tartozik a renin és a retrovírusok proteáza. A metalloproteázokban kötött fémiont, főként cinket találunk, amely vízmolekulát aktivál a hasításhoz (karboxipeptidáz A).

## 41.2. SZÉNHIDRÁTOK EMÉSZTÉSE ÉS FELSZÍVÓDÁSA

A táplálék szénhidrátok biztosítják a napi kalóriefelvétel nagy részét (40-45%). Ezek poliszaharidokból (keményítő, glikogén), diszaharidokból (szaharóz, laktóz) és monoszaharidokból (glükóz, fruktóz) tevődnek össze.

Legtöbb emberben a keményítő a táplálékból származó fő szénhidrát forrás. A hidratált poliszaharidok emésztése (keményítő és glikogén) a szájüregben kezdődik, ahol a **nyál  $\alpha$ -amiláz** elkezd hidrolizálni a poliszaharidok belső ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ ) glikozidos kötéseit (ez endoglikozidáz, ami specifikus az ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ ) köté-

sekre), ami rövid poliszaharid és diszaharid fragmentumok keletkezéséhez vezet ( a poliszaharidok hidratálása melegítéssel történik, és eszenciális a hatékony emésztéshez). A gyomorban a nyál  $\alpha$ -amiláz inaktíválódik a savas pH-n, de egy másik, a hasnyálmirigy által szekretált  $\alpha$ -amiláz, folytatja a lebontási folyamatot. A **hasnyálmirigy amiláz** ( amely emésztési szempontból jelentősebb, mint a nyál izoforma) általi emésztés termékei a **maltóz**, **maltotrióz** (a glükóz di- és triszaharidja) és az oligoszaharid  **$\alpha$ -limit dextrin**, ami egy ( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6) elágazásokat tartalmazó amilopektin fragment.

Az oligo- és diszaharidok végső hidrolízisét monoszaharidokká a vékonybél felszínéhez kapcsolódó enzimek végzik (előadás ábra). Ezek a felszíni **oligoszaharidázok** többségében exoenzimek (egyszerre egy monoszaharidot hasítanak le a nem-redukáló végről). Az  **$\alpha$ -glukozidáz** és **szaharáz** enzim kapacitása normálisan jóval nagyobb, mint ami a táplálék keményítő emésztéséhez szükséges. Azonban a  **$\beta$ -galaktozidáz (laktáz)** sebességmeghatározó lehet emberben a laktóz, a fő tejcukor hasznosítása és emésztése szempontjából (defektusa, ami **laktóz intoleranciához** vezet, igen gyakori emberben).

A nem-hidrolizált di-oligo- és poliszaharidok nem abszorbeálódnak, továbbhaladnak a vékonybél alsó részébe, amely az alsó ileumtól kezdődően baktériumokat tartalmaz, amelyek képesek a maradék szénhidrát hasznosítására (jóval többféle szaharidáz enzimmel rendelkeznek mint az ember). A képződött monoszaharidokat azután maguk a baktériumok metabolizálják anaerob fermentációval, amely olyan lebontási termékek keletkezéséhez vezet, mint a rövid láncú zsírsavak, laktát, hidrogén ( $H_2$ ), metán ( $CH_4$ ) és széndioxid ( $CO_2$ ) gáz. Ezek a komponensek folyadék szekréciót, növekedett bélmozgást és görcsöket eredményeznek, részben a növekedett intraluminális ozmotikus nyomás, a bél diszkomfortja, és a degradációs termékek közvetlen irritáló hatása miatt a bélmukózára (a hüvelyesek, bab, borsó fogyasztása puffadáshoz, megnőtt gázképződéshez vezet, mivel ezek olyan oligoszaharidokat tartalmaznak (pl. a raffinóz), amelyek  $\alpha$ -kötéssel kapcsolódó galaktózt tartalmaznak, amit az emberi enzimek nem tudnak hidrolizálni).

A di- és poliszaharidok emésztéséből származó fő monoszaharidok a **D-glükóz**, **D-galaktóz** és a **D-fruktóz**. Ezek abszorpciója karrier-mediált transzport. Legalább két monoszaharid transzporter típus katalizálja a monoszaharidok felvételét a bélüregből a sejtbe (előadás ábra). 1. Egy  **$Na^+$  monoszaharid kotranszporter (SGLT)**, amelyik specifikus D-glükózra és D-galaktózra, és aktív transzportot katalizál (az energiát  $Na^+$  elektrokémiai potenciál biztosítja), és 2. egy  **$Na^+$  független facilitált diffúzió típusú monoszaharid transzport** rendszer, ami specifikus D-fruktózra (**GLUT5**). Ezenkívül egy  **$Na^+$  független monoszaharid transzporter (GLUT2)** működik az ellenkező oldali (kontraluminális) membránban, és segíti elő mindhárom monoszaharid bélsejtből a vérbe való kijutását. A GLUT2 szintén megtalálható a májban és a hasnyálmirigyben (ahol részt vesz az extra- és intracelluláris glükóz koncentráció kiegyenlítésében, illetve a hasnyálmirigyből való inzulin felszabadulás szabályozásában), míg más glükóz transzporterek (GLUT1-12), jellegzetes szöveti eloszlással és funkcióval eltérő szövetekben expresszálódnak.

### 41.3. LIPIDEK EMÉSZTÉSE ÉS FELSZÍVÓDÁSA

Egy felnőtt férfi naponta körülbelül 60-150 g lipidet fogyaszt. A **triacilglicerolok** teszik ki a táplálék zsírok több mint 90%-át. A maradékot **foszfolipidek**, **koleszterol**, **koleszterol észterek** és **szabad zsírsavak** alkotják. Ezenfelül kb. 1-2 g koleszterol és 7-22 g foszfatidilkolin szekretálódik a vékonybélbe az epével.

Gerincesekben a felvett triacilglicerolok rossz vízoldékonyságuk miatt nagy, nem vízoldékony zsírcseppeket alkotnak, amit át kell alakítani kisebb, finoman diszpergált micellákká a bélbe való abszorpció előtt. A vízoldékonyság növelésében az **epesavaknak** van jelentős szerepe, amik a májban szintetizálódnak koleszterolból, majd az epehólyagban raktározódnak, és onnan szabadulnak fel a vékonybélbe a zsírtartalmú táplálék fogyasztását követően.. Az epesavak és sóik **amfipatikus komponensek**, amelyek **biológiai detergensként** működnek. Ezek segítenek nagy a zsírcseppek kisebb emulzi-

ós cseppekké való diszpergálásában, amely jobban elérhetővé teszi a lipideket a vízdékony lipázok számára, majd a részben emésztett lipidekkel együtt kevert micellákat alkotnak. Ezek a micellák szintén fontos szerepet játszanak a lipidek, koleszterol és zsírodékony vitaminok bélüregből a sejtfelszínhez való szállításában, így elősegítve azok abszorpcióját a vékonybélhám sejtekbe. A lipidek, koleszterol és zsírodékony vitaminok hatékony abszorpciója így az epesavak jelenlététől függ.

A triacilglicerolok emésztése és felszívódása öt lépést igényel. Ezek:

1. A trigliceridek hidrolízise szabad zsírsavakra és monoacil glicerolokra
2. A detergenssel (epesavakkal) való „szolubilizálása” és transzportja a bélüregből a sejt-felszínhez.
3. A szabad zsírsavak és monoacilglicerolok abszorpciója a sejtekbe, majd ezek triacilglicerollá való visszaalakítása
4. Az újrászintetizált trigliceridek (foszfolipidekkel, koleszterinnel és lipoproteinekkal együtt) kilomikronokba való pakolása, és
5. A kilomikronok exocitózisa a sejtekből a nyirokkeringésbe.

A lipidek emésztését a **sav stabilis lipáz** indítja a gyomorban (az enzim többségét a nyelv mögötti mirigyek termelik. Ez a triacilglicerolok egy részét hidrolizálja zsírsavra és diacilglicerolra, ami elősegíti a zsírcseppek kisebb cseppekké való diszperzióját és növeli a zsírcseppek felületét, ami több lipáz kapcsolódását teszi lehetővé, így felerősíti a lipáz hatását.

A triacilglicerol hidrolízis nagy részét azonban a **hasnyálmirigy lipáz** végzi, amely specifikus a glicerol  $\alpha$  pozíciójában kapcsolódó észterekre, és a hosszabb szénláncú zsírsavakat preferálja (10 C atom felett). Az enzim működése szabad zsírsavakat és monoacilglicerolokat eredményez, amelyek abszorbeálódnak a bélsejtekbe. Az epesavak gátolják az enzim aktivitását, ennek a problémának a megoldásában a **kolipáznak** van jelentős szerepe. Ez a hasnyálmirigyből szabadul fel inaktív prekursor, prokolipáz formájában és tripszin általi hasítással aktiválódik, majd . kapcsolódik mind a víz-lipid interfázishoz, mind a lipázhoz, így segít kihorgonyozni és aktiválni a lipázt.

Más **kevésbé specifikus észterázok** hasítják a koleszterin észtereket, monoglicerideket és más lipid észtereket, például az A-vitamin karboxilsav észtereit. Ezek a lipid észterázok epesav jelenlétében aktívak.

A foszfolipideket specifikus **foszfolipázok** hidrolizálják, például a foszfolipáz A2 (előadás ábra), ami szintén a hasnyálmirigyből szabadul fel proenzim formában, és tripszin által aktiválódik. A foszfolipáz A2 epesavat igényel az aktivitásához.

A vékonybél sejtekben az abszorbeált zsírsavak sorsa a lánchosszuktól függ. A közepes szénláncú zsírsavak (6-10 szénatomos) közvetlenül áthaladnak a sejteken és módosítás nélkül a portális vérbe kerülnek. A hosszú láncú zsírsavak (>12 szénatom) citoszólos zsírsavkötő fehérjéhez kapcsolódnak (I-FABP) és az endoplazmás retikulumba szállítódnak, ahol újból triacilglicerolokká szintetizálódnak. A triacilglicerolok koleszterinnel és apolipoproteinekkal kilomikronokba épülnek be, és a Golgin keresztül a bazolaterális membránhoz vándorolnak és elhagyják a sejteket a nyirokerekben keresztül. A **kilomikronok** azután a nyirokrendszeren és a véren keresztül a szövetekhez szállítódnak. Az apo CII aktiválja a lipoprotein lipázt a kapillárisokban, ami hidrolizálja a triacilglicerolokat zsírsavakra és glicerolra. A zsírsavak belépnek a sejtbe, és üzemanyagként oxidálódnak (izomsejtekben), vagy újra észtereződnek raktározásra (adipocitákban). A kilomikron maradvány a májhoz szállítódik felvételre.

Az **epesavak** többségében reabszorbeálódnak a vékonybél alsó részének epithéliumán keresztül a portális vérbe és onnan a máj veszi fel őket. (**enterohepatikus cirkuláció**)



## 41.4. ROSTOK

A rostok olyan táplálék komponensek, amelyeket az emberi enzimek nem képesek lebontani (néhányt a bélbaktériumok részben lebontanak).

Az előadás ábra mutatja a rostok fő típusait és jellemzőiket.

A **cellulóz** és **hemicellulóz** növeli a széklet mennyiségét és csökkenti az áthaladás idejét. Csökkentik a nyomást a bélben, és előnyösen hatnak a divertikuláris betegségekre. Kihigítják a potenciális karcinogéneket, és szétterítik áthaladásukat a vastagbélen, így csökkentik a vastagbélrák esélyét.

A **ligninek** növelik a széklet tömegét, valamint abszorbeálnak szerves anyagokat, olyant mint a koleszterol (koleszterol csökkentő hatásuk van).

A **mucilózus rostok**, olyan mint a **pektin** és a **gumik**, viszkózus gélt formálnak a gyomorban és a bélben és lassítják sok tápanyag felszívódását (lassítják a szénhidrát emésztését és felszívódását, így a vércukor és inzulin szint emelkedését!)

A vízoldható rostok (pektin, gyanták, némely hemicellulóz és raktározó poliszaharid) szintén segítenek a szérum koleszterin szintek csökkentésében.



## 42. A HEMOGLOBIN BIOKÉMIÁJA

A jól ismert hemoglobin az egyik legjobb példa annak bemutatására, hogy egy fehérje molekulában a **szerkezet (struktúra) és a funkciók** között szoros kapcsolat van. Ebben a fejezetben megvizsgáljuk a hemoglobin élettani funkcióinak háttérében álló biokémiai jellemzőket.

A **hemoglobin fő funkciói** az oxigén szállítása a tüdőből a szövetekhez az ezt kísérő CO<sub>2</sub> szállítással együtt, valamint a sejtek pH szabályozásában való részvétel. Ezek az összekapcsolt funkciók, a hemoglobin negyedleges szerkezete, valamint egyéb szabályozó faktorok jelenléte biztosítja, hogy a szövetek a lehető legjobb oxigén ellátottságban legyenek.

### 42.1. A HEMOGLOBIN SZERKEZETE

A hemoglobin fehérje része 4 polipeptid láncból áll (**apoprotein**). Mindegyik lánc meg tud kötni egy hem proszтетikus csoportot (**holoprotein**). A heme protoporfirin IX gyűrűből, és annak közepén egy funkcionális ferro-vasból (Fe<sup>2+</sup>) áll. A **vas** négy kötéssel kapcsolódik a porfirin nitrogénjeihez, az ötödik kötéssel a globin molekula egy speciális (proximális - közeli) hisztidinjének nitrogénjéhez (deoxi-hemoglobin). A hatodik koordinációs hely képes az oxigén kötésére (oxihemoglobin), amely a vas és a globin lánc egy másik (távoli) hisztidin aminosava között van. Az oxigén kötés hatására a hemoglobin molekula szerkezete megváltozik, mivel a vas a porfirin síkjába mozdul.

A hemoglobin **fehérje** része két pár azonos polipeptid láncból áll, amelyek a fejlődés egyes szakaszaiban eltérőek (embrionális, fetális, felnőtt). A leggyakoribb felnőtt hemoglobin jelölése HbA<sub>1</sub>, amelynek összetétele: α<sub>2</sub>β<sub>2</sub>. A fehérje alegységek elsősorban α-héliceket tartalmaznak, létrehozva az ún. **globin szerkezetet**. A **negyedleges** szerkezete a hemoglobinnak úgy jellemezhető, hogy két αβ dimérből áll. A diméreken belül hidrofób (erős) interakciók léteznek, míg a két dimér között poláros kötések. Az utóbbiak gyengébbek, így az oxigén kötését követően elmozdulást tesznek lehetővé.

#### Az oxigénkötés kooperativitása a hemoglobinban

Ha a hemoglobin oxigén szaturációját a pO<sub>2</sub> függvényében ábrázoljuk, egy szigmoid görbét kapunk. Ennek a jelenségnek az az oka, hogy az egyes oxigénkötő helyek egymástól nem függetlenek: az oxigén kötése vagy elengedése az egyik helyen serkenti a hasonló történést a többi oxigénkötő helyen. Ez az egyik oka annak, hogy a vörösvérsejtek a megfelelő oxigénellátást tudják a szöveteknek biztosítani. Az oxigén kötés természetében látható funkcionális változás mögött a hemoglobin szerkezeti viselkedése áll: a **T (tense – feszes) és R (relaxed – laza)** konformációs átalakulás (további magyarázatot lásd: Az enzimaktivitás szabályozása – alloszterikus szabályozás).

Az oxigén affinitás további **szabályozása** történik a vörösvérsejtekben a **2,3-biszfoszoglicerát** (2,3-BPG) jelenlétével. Ez a molekula egy glikolitikus intermedier származéka, és a hemoglobin oxigén affinitásának alloszterikus modulátora. A hemoglobinhoz kötődve a 2,3-BPG stabilizálja a molekula T állapotát. Érdekesség, hogy a fetális hemoglobin összetétele olyan módon tér el a felnőttétől, hogy az előbbi a 2,3-BPG-t kisebb affinitással köti. Ennek eredményeként a fetális hemoglobin magasabb affinitással köti az oxigént.

A hidrogén ionok és a széndioxid jelenléte a szövetekben serkenti a hemoglobin oxigén leadását a szövetekben (Bohr-effektus: lásd az Élettanban).

## 42.2. HEMOGLOBIN SZÁRMAZÉKOK

### Methemoglobin

Az az állapot, amikor a hemben lévő vas **oxidált** formában lesz jelen. Ez a hemoglobin funkcióvesztését idézi elő. A transzformáció okai lehetnek: oxidatív hatású szer vagy toxin jelenléte, a vörösvérsejtek redukáló, védekező mechanizmusának károsodása, vagy a hemoglobin molekula genetikai károsodásai.

### Karboxihemoglobin

A **CO** a hemoglobin oxigénkötő helyéhez az oxigénnél sokkal nagyobb affinitással kötődik. Emellett a hemoglobin molekula R konformációt vesz fel, így a szövetekben nem könnyen adja le az oxigént.

### Glikolizált hemoglobin

Tartósan magas vércukor szint mellett a hemoglobin polipeptid láncai nem-enzimatikusan glikolizáltakká válnak. Ez a **diabeteszes** betegek vörösvérsejtjeiben lévő hemoglobin béta láncán történik a leggyakrabban. A HbA1C szint laboratóriumi meghatározása segít megbecsülni az utolsó három hónap átlagos vércukor szintjét, és ilyen módon ellenőrizni a diéta és a terápia hatékonyságát a betegekben.

## 42.3. HEMOGLOBINOPÁTIÁK

A genetikai betegségek ezen csoportjában strukturálisan kóros hemoglobin szintetizálódik, vagy a különböző globin láncok nem azonos mennyiségben keletkeznek.

Az első esetre a leggyakoribb példa a **sarlósejtes anémia**. Ennek hátterében a hemoglobin béta láncának pontmutációja áll, amelynek következtében a 6. pozícióban lévő glutamát helyett valin szerepel, azaz egy töltéssel rendelkező oldallánc helyett egy **hidrofób**. A hemoglobin deoxigenált állapotában ez az aminosav a molekula felszínére kerül és a fehérje **aggregációját** idézi elő. Az összecsapzódott hemoglobin deformálja a vörösvérsejteket (következésményes kísér elzáródások) és azok lízisét okozza.

A **talasszémiák** olyan hemoglobinopátiák, amikor a hemoglobin egyik lánc csökkent mennyiségben van jelen, vagy hiányzik. Az érintett fehérjelánc típusától függően beszélünk alfa vagy béta talasszémiáról. A genetikai megbetegedés egyéntől függően különböző súlyosságú lehet.

## 43. AZ ÉRZÉKEK BIOKÉMIÁJA

### 43.1. SZAGLÁS

A **szaglóhám** az emberben az orrnyálkahártya egy részét foglalja el, az **érzékhámsejtek** az orrüreg felső részében találhatóak. A szaglóhám egy többmagsoros hengerhám, melyben támasztósejtek vannak, és köztük szaglópálcák nyúlnak át. A szaglósejtek egyik nyúlványa tehát a felület felé néz, a másik a mélyben a többi sejtől jövő nyúlvánnyal alkotja a **fila olfactoriát**, ami a koponyába a szaglóközpont felé vezeti a szaglóhámról érkező ingerületet. A nyálkahártya felületén filmszerűen elhelyezkedő alvadtt folyadék van, a szaganyagok ebben a folyadékban oldódnak fel, és így elérhetővé válnak a szaglópálcák számára. A szaglásban részt vevő receptorok G fehérjéhez kötött receptorok (GPCR), a rájuk jellemző 7-traszmembrán  $\alpha$  helikális szerkezettel (7TM). Az emberek több ezernyi különböző szag érzékelésére és megkülönböztetésére képesek. Maga az illat függ a kiváltó molekula alakjától és ebből kifolyólag a molekula és a szagló receptor speciális kapcsolódásától. A szagok közötti különbségtétel a különböző szagló receptorok aktivációján és az agy integráló képességén alapul: minden egyes illat molekula több receptort képes aktiválni egyszerre (ráadásul az aktiváció mértéke is változó) és majd minden receptort több illat molekula is képes aktiválni. Ezek alapján minden illat egy meghatározott aktivációs mintázat eredménye, amit az agy kombinatorikus mechanizmusa útján képes dekodezni. Ez a magyarázata annak, hogy az általunk érzett és megkülönböztetett illatok száma jóval meghaladja a szaglásban résztvevő receptorok számát.

A szaglás szaglósejtek csillóiban lejátszódó molekuláris mechanizmusa az előadás diákon részletesen ki van fejtve.

### 43.2. ÍZ ÉRZÉKELÉS

Az ízek érzékelése a nyelven elhelyezkedő különböző receptorok működésének összessége. Az érzékelő neuronok a nyelven megtalálható **érzékelő bimbókba** csoportosulnak, amely sejtek hosszú **nyúlványokkal** rendelkeznek, melyek a nyelv felszínén rengeteg íz érzékelő receptort tartalmaznak. Öt alap ízt tudunk megkülönböztetni: **keserű, édes, savanyú, sós, umami** (a glutamát íze). A különböző ízekért felelős molekulák jelentősen eltérnek egymástól. A receptorok közül az édes, a keserű és az umami ízek érzékeléséért felelősek GPCR receptorok (7TM), amikhez egy heterotrimer G fehérje a **gusztducin** kapcsolódik.

Minden ízlelő sejt több, különböző receptor gént expresszál. Ez a fajta expressziós mintázat alapján különbözik a szaglásnál látott egy érzékelő sejt – egy receptor mintázattól. Ez a különbség az alapja annak, hogy a szaglásunk lényegesen „kifinomultabb” mint az ízlelésünk. Míg a szaglás során minden egyes szag molekula számos neuront stimulál (egy adott mintázat szerint), addig az ízlelésnél számos íz molekula stimulál egy adott neuront.

Az **édes** íz érzékelésének molekuláris mechanizmusa az előadás dián részletesen ki van fejtve.

A **sós** íz érzékelését nem 7TM receptorok végzik. Maga az íz érzékelése a nátrium ionok speciális csatornákon való áthaladásához köthető, mely csatornák a nyelv felszínén lévő sejteken találhatóak. Az **amilorid** képes a sós íz érzékelését blokkolni és csökkenteni a szenzoros neuronok nátrium hatására bekövetkező aktivációját. A nátrium ionok **amilorid-szenzitív csatornákon** való áthaladása transzmembrán áramot produkál, melynek blokkolása az íz érzékelésre is hatással van. Ezen csatornák mellett más ioncsatornák is szerepet játszhatnak a sós íz érzékelésében.

A **savanyú** íz érzékelése is **ion csatornákhöz** köthető, de ebben az esetben nem nátrium hanem **hidrogén** ionok mozgása az érzékelés alapja. A hidrogén ionok jelenléte más mechanizmusok által is befolyással van az íz érzékelésre, mivel a kálium csatornákat blokkolja, míg más ioncsatornákat akti-

vál a megemelkedett hidrogén ion koncentráció. Ezen folyamatok összessége a membránpolarizáltság megváltozásához vezet, ami szenzoros neuronokon keresztül a savanyú íz érzetét kelti.

### 43.3. LÁTÁS

A látás folyamata során a környező világból a látható fény útján érkező információkat dolgozzuk fel. Ez a fény tartomány a 300 és 850 nm hullámhossz közé eső fényt jelenti. Gerincesek esetében a fény a pupillán keresztül jut el a **fényérzékelő neuronokig**. Ezen neuronoknak két típusa ismert: a **pálcák** (ember esetében 100 millió retinánként), amik a fényérzékelésért felelősek, de színeket nem tudnak megkülönböztetni; és a **csapok** (emberben 3 millió retinánként), amelyek a szín- és alakérzékelésért felelősek és erős fényben működnek. Mindkét sejtípus jellemzően hosszúkás, specializált érzékelő neuron, két elkülöníthető résszel: a külső rész tartalmazza azt a bonyolult membránrendszert, amiben a receptor fehérjék és azok fényre szenzitív kromofórja a **retinal** található meg; a belső rész tartalmazza a mitokondriumokat, a sejtmagot és egyéb sejtalkotókat. A pálcikákban található fényérzékeny molekula a **rodopszin**, ami az **opszin** fehérjéből és annak proszretikus csoportjából a **11-cis-retinalból** áll. Maga a rodopszin molekula a GPCR-hez hasonló 7TM szerkezetű, membránhoz kötött fehérje. A látás folyamatában kulcsfontosságú 11-cis-retinal kovalensen kapcsolódik az opszinhez. Fény (foton energiájának) hatására az érzékelő molekulában (rodopszin) fotokémiai változás játszódik le: a 11-cis-retinal **all-trans-retinallá** alakul. Ez a molekuláris változás szerkezeti változást idéz elő a rodopszinban, amely változás az első lépést jelenti a látás folyamatában.

A pálcákban és a csapokban meglévő membránpotenciált **Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPázok** tartják fenn, egyidejűleg kipumpálva 3 Na<sup>+</sup>-t és bepumpálva 2 K<sup>+</sup>-t. Ez a membránpotenciál lecsökken, amikor a neuronok külső részében található **cGMP-hez kötött kation csatornákon** keresztül Na<sup>+</sup> és Ca<sup>2+</sup> áramlik be a sejtekbe. A rodopszin molekulában a fény hatására bekövetkező változás a neuronok külső részében lévő cGMP degradációjához vezet, aminek következtében a fentebb említett ioncsatornák bezárulnak. A kationok beáramlásának megszűnése a sejt **hiperpolarizációjához** vezet. Ez lesz az az elektromos szignál, ami különböző neuronokon és a látóidegen keresztül eléri az agyat.

A pálcák külső részében fényabszorpció hatására bekövetkező pontos molekuláris változásokat (exitáció és visszatérés az alapállapotba) az előadás dia taglalja.

A csapokhoz köthető **színlátás** folyamata lényegét tekintve megegyezik a korábban tárgyaltakkal, habár a detektálásban különböző fényérzékeny receptorok vesznek részt. A látható fény különböző tartományait három specializálódott csapsejt típus képes detektálni: vannak **vörös, zöld és kék** fényre érzékeny csapok. A színek érzékelése és megkülönböztetése ezen három sejtípus összehangolt működésén alapul, amelyek mindegyike egy féle fotoreceptort tartalmaz a fent említett hátról.

A színvakság a rendellenes színlátásnak egy fajtája, aminek következtében az érintett képtelen megkülönböztetni a különböző színeket. A színvakok és színtévesztők nem tudnak különbséget tenni olyan színek között (vörös és zöld), amelyeket az egészséges emberek eltérőként érzékelnek. Ezek a zavarok az opszin gén mutációjára vezethetők vissza. A zöld és vörös színért felelős gének egymás mellett helyezkednek el, és mivel 98%-ban azonos a nukleotid szekvenciájuk nagymértékben vannak kitéve egyenlőtlen homológ rekombinációnak. A rekombináció az átíródó gének között vagy az adott génen belül is bekövetkezhet. A létrejövő genetikai átrendeződés következménye lehet valamilyik pigmentért felelős gén eltűnése vagy hibrid pigmentek megjelenése, amelyek a spektrum eltérő részeire lesznek érzékenyek.

### 43.4. HALLÁS

A hallás folyamata **mechanikai** változáson alapul. Az emberi fül 20 és 20 000 Hz közötti tartománya eső hangokat képes detektálni. A hanghullámokat a belső fülben elhelyezkedő **cochlea** (csiga) érzé-

keli, ami egy tekeresszerűen felcsavarodó, folyadékkal telt cső. A csigában megtalálható speciális neuronok, a **szőrsejtek** képesek a hanghullámok elsődleges érzékelésére. A csigában ezernyi szőrsejt található, mindegyiknek számos nyúlványa van, amiket **sztereociliáknak** hívunk. A hanghullámok mozgásba hozzák a csigában található folyadékot és ez a mozgás terjed át a szőrsejtekre illetve azok sztereociliáira. Ez a mozgás membránpotenciál változást generál, ami **ion csatornák** direkt szabályozásán keresztül valósul meg. A sztereociliumok csúcsán **mechanoszenzitív kationcsatornák** vannak, melyek nyílását - zárását a csúcson végighúzó **tip-link** szabályozza. Ha a ciliumok a legnagyobb irányába mozdulnak el, a csatornák nyílnak; ellenkező irányba záródnak. A nyitott csatornán a sejtbe főleg  $K^+$  áramlik be. Nyugalmi körülmények között a csatornák kb. 15%-a nyitott állapotban van, ami egy bazális depolarizációt hoz létre. A mechano-elektromos transzdukció hatására létrejövő depolarizáció hatására a sejtek bazális felszínéhez közeli feszültségfüggő  $Ca^{2+}$ -csatornák megnyílnak, és  $Ca^{2+}$  áramlik be a sejtbe. A belső szőrsejtekben az ide-oda kitérés oszcilláló depolarizációt hoz létre.

### 43.5. TAPINTÁS

A tapintás, mint érzékelés, a bőr által közvetített nyomás, hő és fájdalom érzet összefoglaló neve. A **nociceptorok** különleges érzékelő idegsejtek, amelyek ezeket az érzeteket érzékelik és fájdalomként továbbítják a központi idegrendszer felé. A fájdalom érzékeléséért felelős receptor leírása a **kapszaicinhez** való kötődésén keresztül történt meg. A kapszaicin a csípős, erős íz érzetért felelős molekula. A kapszaicin receptor, vagy más néven **vanilloid receptor 1 (VR1)** egy **kation csatorna**, ami aktiválódása során képes idegi impulzus kiváltására. Ezek a VR1 receptorok a kapszaicinen kívül hőmérséklet és savas közeg hatására is aktiválódnak jelezve, hogy ezek az alapvetően káros hatások nem egymástól függetlenek. A VR1 receptorok szerepe tehát az is, hogy ezeket a különböző stimulusokat összegezve fájdalomként továbbítsák, megakadályozva a károsító körülmény további fennállását.

Az összes eddig tárgyalt G fehérjéhez kötött receptoron keresztül mediálódó jelátviteli út jellemzően hasonló folyamatokon keresztül valósul meg: (i) receptoroknak 7TM szerkezetük van; (ii) a ligand kötődése a receptorhoz aktiválja a kapcsolt G fehérjét, ami (iii) aktivál vagy gátol bizonyos cél enzimeket: adenilát cikláz (AC), foszfolipáz C (PLC), foszfodiészterázok (PDE); ami (iv) megváltoztatja az útvonalra jellemző másodlagos hírvivő koncentrációját: cAMP, cGMP,  $IP_3$ ,  $Ca^{2+}$ . A jelátvitel végpontja vagy egy aktiválódott protein kináz, vagy a membránpotenciál megváltozása, ami elektromos szignálként jut el az agyba.





## 44. A NEUROTRANZMITTEREK METABOLIZMUSA

Az idegrendszer neuronok és glia sejtek építik fel. A **neuronok** felelősek az akciós potenciál továbbításáért és a neurotranszmitterek (NT) szintéziséért. A **glia sejtek** támaszt és tápanyagot biztosítanak a neuronoknak. A **vér-agy gát (blood-brain barrier: BBB)** speciális felépítése folytán védi a központi idegrendszert (KIR) a káros anyagoktól és összetevőktől. A KIR ereinek endotél sejtjeit a poláros molekulák (köztük gyógyszerek is) passzívan penetrálni képesek, de közülük néhányat a sejtek aktívan visszapumpálnak a vérbe. Egyes gyógyszereket már az endotél sejtek metabolizálnak, mivel számos, más szövetben is található enzimmel rendelkeznek. Más molekulák, metabolitok facilitált diffúzióval jutnak a KIR-be, míg sok nem-esszenciális vegyületet az idegrendszer sejtjei szintetizálnak.

Általánosságban a **KIR metabolizmusára** az alábbiak jellemzőek:

- nagy **energiaszükséglet**, amelyet elsősorban glukózból fedez
- a citrát kör ATP-t szolgáltat és számos NT-nek a forrása
- az **ATP** energiája az ion-grádiens fenntartására, a pumpák működtetésére, molekulák szintézisére, tárolására és transzportjára fordítódik
- intenzív **lipid** szintézis zajlik, beleértve a speciális lipideket is (mielin)
- a **fehérjék** zöme gyorsan lebomlik és újraszintetizálódik (gyors turn over).

A KIR számára a legfontosabb energiaszolgáltató molekula a **glukóz**. Az endotél és glia sejtekben a GLUT1 a glukóz transzporter. A neuronokban GLUT3 található; a neuronok az intersticiális folyadékból veszik fel a glukózt. Alacsony vércukor szint mellett a GLUT1-en át történő transzport lelassul, így a hipoglikémia veszélyes lehet az agy számára. A laktát, piruvát, acetát és ketontest transzporter lassúbb működésű, mint a glukóz transzporter. **Éhezés alatt** a ketontestek koncentrációja a vérben megemelkedik, a transzportert ez indukálja, így éhezésben az agy fő energiaforrását a ketontestek adják.

Az **aminosavak** vagy az agyba szállítódnak vagy ott szintetizálódnak. A transzport esetében a nagy neutrális aminosavak egy közös transzportert használnak, így versengés alakul ki közöttük. A kis aminosavak szintézise jól szabályozott, hiszen sok NT ezekből származik.

Néhány különleges fehérje (inzulin, transferrin – vasszállítás) az idegrendszer sejtjeit az endotél sejteken át történő receptor mediálta transzcitózis révén éri el.

### 44.1. A NEUROTRANZMITTEREK JELLEMZŐI

A KIR-ben aktív neurotranszmitterek két fő **csoportja** a peptidek és a kis, nitrogén tartalmú vegyületek, amelyek közül számos aminosavak, citrátköri vagy glikolitikus intermedierek származékai. **Hatásuk alapján** excitatórikus (serkentő) vagy inhibitoros (gátló) csoportjaik vannak. A szintézist követően a NT-ek vezikulumokban raktározódnak, és a Ca-ion koncentráció emelkedését követően **ürülnek a szinaptikus részbe**. A Ca-ion koncentráció emelkedését az akciós potenciál által aktivált feszültség szabályozott Ca-ion csatornák idézik elő. Miután a vezikulum membránja fuzionál a preszinaptikus membránnal, a NT a szinaptikus részbe ürül, ahol specifikus receptorhoz kötődik. A NT **inaktiválásának** lehetőségei: a preszinaptikus membránon történő újrafelvétel (re-uptake); diffúzió; glia sejtek által történő felvétel; enzimatis lebonthatás.

#### Katekolaminok metabolizmusa

A dopamint, epinefrint és norepinefrint nevezzük közös néven katekolaminoknak a bennük található gyűrű szerkezet miatt. Szintézisük a **tirozinból** indul a tirozin hidroxiláz révén, amely az útvonal sebesség meghatározó (rate limiting) lépése. Ez az enzim tetrahydro-biopterint használ és dihidroxi-fenilalanint (DOPA) eredményez. Dekarboxilálást (PLP-vel) követően dopamin keletkezik. A dopamin  $\beta$ -hidroxiláz a raktározó vezikulumokban található, kevert funkciójú oxidáz, amelynek rézre és C vita-

minra van szüksége a **norepinefrin** előállításához. **Epinefrin** elsősorban a mellékvese velőben, de néhány neuronban is szintetizálódik feniletanolamin *N*-metiltranszferáz révén, amely SAM-t használ metil donorként (SAM szintéziséhez folátra és B<sub>12</sub> vitaminra van szükség).

A katekolaminok **vezikulumokban** tárolódnak, ahová másodlagos aktív transzport révén jutnak. A tárolás során ATP-vel és specifikus fehérjékkel komplexet alkotnak. Ez a nagy koncentrációjú tárolás teszi lehetővé rövid időn belül nagyszámú NT molekula kibocsátását.

A katekolaminok enzimatis **lebontása** vagy monoamino-oxidáz (MAO) vagy katekol-O-metiltranszferáz (COMT) révén történik. Mindkét enzim megtalálható a legtöbb sejtben. A lebontási folyamat néhány olyan **metabolitot** eredményez, amelyek a vizeletben is megtalálhatók, és mennyiségük meghatározható.

A katekolamin szintézis jól szabályozott. A tirozin hidroxilázt citoszolikus katekolaminok gátolják, depolarizáció aktiválja.

### Szerotonin metabolizmus

A szerotonin szintézis útvonala a norepinefrinéhez hasonló. **Triptofánból** először egy hidroxiláz, majd egy dekarboxiláz reakció után szerotonin képződik. A szerotonin lebontását is a MAO végzi

### Hisztamin metabolizmus

A hisztamin szintézis a **hisztidin** egyszerű dekarboxilezési reakciója. Ez a lépés a hízósejtekben, és néhány neuronban megy végbe. A szintézist követően **vezikulumokban** tárolódik, kibocsátást követően pre- és poszt-szinaptikus receptorokhoz kötődik. A hisztamint az asztrociták veszik fel. Lebontásában metiláció és MAO katalizált reakció szerepel.

### Acetilcolin (Ach)

Az acetilkolint a **kolin acetil transzferáz** állítja elő acetil-CoA-ból és kolinból. A **kolin** származhat a szinapsziszból recirkulált kolinból, vagy membrán lipidekből (foszfatidilkolin, szfingomielin) hasadhat le. Egyébként a kolin megtalálható a táplálékban, vagy származhat foszfatidilkolinból, amely a foszfatidiletanolamin metilálódásából áll elő. Az **acetil-CoA** fő forrása a glukóz.

Az acetilkolint az **acetilkolinészteráz** hidrolizálja, amely enzim egy szerint hordoz az aktív centrumában. Számos vegyület (gyógyszerek és toxinok) tudja inaktiválni ezt az enzimet a reaktív szerinhez kötődve.

### Glutamát és $\gamma$ -aminobutirát (GABA)

A **glutamát** serkentő NT, amelyet a neuronok glukózból állítanak elő, **három lehetséges útvonal** révén: glutamináz; glutamát dehidrogenáz; transzamináz reakció  $\alpha$ -ketoglutarát részvételével. A glutamát a tároló vezikulumokból a többi NT-hez hasonlóan szabadul ki, és a szinapsziszokból felvevő (uptake) rendszerek segítségével távolítódik el.

**GABA** a fő gátló (inhibitoros) NT, glutamátból szintetizálódik glutamát dekarboxiláz enzim hatására. A KIR-ben recirkulál a GABA-shunt által, amely azt jelenti, hogy a glia sejtekben GABA-ból glutamát, majd glutamin lesz, amely a glutamát transzportálható formája a központi idegrendszerben.

### Egyéb neurotranszmitterek

Az **aszpartát** oxálacetátból (citrátköri intermedier) képződik egy transzaminálási reakció révén. A **glicin** elsősorban a gerincvelőben szerepel mint NT. A glicin forrása a szerin, amely a glikolitikus intermedier 3-foszfoglicerátból képződik. A **nitrogén oxid (NO)** specifikus jelátvivő molekula, argininből szintetizálódik a NO szintáz enzim segítségével.



## 45. GYÓGYSZERFEJLESZTÉS

Mivel a gyógyszerek fő hatása, hogy receptorhoz vagy enzimhez kötődnek, ezért lényeges, hogy minden részletében ismerjük a metabolikus és jelátviteli utakat. A gyógyszereknek **specifikusan** kell hatniuk, annak érdekében, hogy csak a célmolekula aktivitását változtassák meg, és még a rokon molekulákra sem legyenek hatással. A gyógyszerek zöme **tablettaként** kerül felhasználásra, így túl kell jutniuk a gyomorbél rendszeren, felszívódás után a vérárammal el kell jutniuk a szövetekhez a megfelelő koncentrációban. Ahhoz, hogy olyan molekulákat találjunk, amelyek gyógyszerek kiindulási anyagai lehetnek, **két alap megközelítést** használhatunk: vagy rendelkezünk valamilyen anyaggal, amelynek fiziológiás hatása van, vagy ismerjük a célmolekulát, amelynek aktivitását szeretnénk megváltoztatni. Ez utóbbihoz olyan vegyületeket keresünk, amelyek kötődnek a cél molekulához, és hatással is vannak rá. Ezt szűréssel (screening) érhetjük el, vagy a célmolekula fizikokémiai sajátosságainak ismeretében specifikus molekulákat tervezhetünk.

Egy lehetséges gyógyszernek **sajátos jellemzőkkel** kell rendelkeznie. El kell érnie a cél sejteket a megfelelő koncentrációban. Emellett **hatást is kell gyakorolnia** a cél molekulára. Ez utóbbi kifejezhető mint kötődési hatékonyság, biológiai válasz kiváltása vagy gátló hatás kifejtése. A cél és a gyógyszer-molekula (ligand) közötti **kötődés erősségét** a disszociációs konstanssal ( $K_d$ ) tudjuk kifejezni, amely kötési esszékkel meghatározható. Más esetekben **biológiai tesztekkel** vizsgálják egy szer hatékonyságát.  $EC_{50}$  az a gyógyszer koncentráció, amely a vizsgált testben a maximális biológiai hatás 50%-át eredményezi. **Gátló hatás** esetén ugyanez az érték az  $IC_{50}$ . Ha a ligand kötődése nem specifikus, akkor a cél molekulától eltérő molekulák aktivitását is megváltoztatva mellékhatásokat idézhet elő. Egy enzim kompetitív gátlószere esetében a szer gátló hatása függ az enzim természetes szubsztrátjának koncentrációjától és  $K_M$  értékétől.

### 45.1. ADME

Egy potenciális gyógyszernek fel kell szívódnia (abszorpció), eloszlni a szervezetben (disztribúció), metabolizálódnia és kiválasztódnia (exkréció) – ADME. A sejtmembránon való átjutáshoz a molekulának kicsinek és apolárosnak kell lennie. Minden lehetséges gyógyszer esetében meghatározzák az orális **bioavailability** értékét, amely vérben mért koncentrációk aránya szájon át és intravénásan adott gyógyszer esetében. A **Lipinski szabályok** megjósolják egy szer bioavailability értékét (lásd az előadás anyagban), de ezek csak irányelvek a gyógyszerfejlesztési kísérletekhez. A **megfelelő eloszláshoz** ismerni kell a hordozó molekula (általában albumin) koncentrációját és a hozzá való kötődés arányát. Néhány szövet, pl. a központi idegrendszer vagy gyulladásban lévő szövetek a véráram útján nehezen érhetők el.

A gyógyszerek **metabolizmusa** a biotranszformáció fejezetben van összefoglalva.

A **kiválasztás** két fő útvonala a veséken keresztül és az epével történő aktív kiválasztás. Az utóbbi esetben a kiválasztott molekula eltávozhat, újra felszívódhat, tovább degradálódhat vagy részt vehet az enterohepatikus körforgásban. Abban az esetben, amikor időegység alatt egy meghatározott százaléka kiürül a vizsgált anyagnak, a vegyületre jellemző **felezési idő** ( $t_{1/2}$ ) meghatározza a gyógyszer napi adagolásának ritmusát.

### 45.2. GYÓGYSZER TOXICITÁS

Egy gyógyszer toxikus (mérgező) lehet, ha túl magas effektív koncentrációt ér el akár túladagolás, akár gyógyszer-gyógyszer kölcsönhatás, akár genetikai polimorfizmus miatt. Egy szernek lehetnek **mellékhatásai**, ha a célmolekulához hasonló, vagy akár attól teljesen eltérő molekulákhoz is kötődik. Más esetekben egy szer metabolitjai vagy melléktermékei lehetnek **toxikusak**, amely esetek májbetegségben sokkal gyakoribbak. A toxicitás becsléséhez a **terápiás index** (az  $LD_{50}$  [lethal dose] és az

EC<sub>50</sub> [effective dose] aránya) használható szám. Sok gyógyszerjelölt molekula azért nem használható a klinikai gyakorlatban, mert az ADME nehézségeket okoz, vagy túl nagy az eltérés az állatkísérletes és a humán eredmények között. A jövőben várhatóan egy szer toxicitását komputer programok segítségével fogják megbecsülni.

### 45.3. POTENCIÁLIS GYÓGYSZEREK FELFEDEZÉSE

Új, potenciális gyógyszer molekulák felfedezésére a **három fő lehetőség**: véletlenül; természetes vagy mesterséges anyagok nagy mennyiségének szűrése; ismert célmolekulákat kötő specifikus molekulák tervezése. Példák új gyógyszer **véletlen** felfedezésére: Penicillin, dopamin receptor gátló és Viagra (lásd az előadás anyagot). A Penicillin esetében érdekes, hogy ma már nagy mennyiségben gyártjuk, az eredeti molekulának szintetikus származékai ismertek, és a szer pontos hatásmechanizmusa csak sokkal később került felismerésre, mint hogy a gyógyszer már alkalmazásban állt.

Másik módja a gyógyszerek felfedezésének, hogy természetes vagy mesterséges anyagok nagy **számát (könyvtár – library) szűrjük**. Az Aspirin a fűzfakéreg kivonatból lett izolálva. Később egy acetil csoport hozzáadásával módosították, amelynek révén sokkal hatékonyabb ciklooxygenáz gátló lett. A HMG-CoA reduktáz gátlószerei csökkentik a vér koleszterin szintjét. Néhányat természetes anyagokból vontak ki, mások teljesen szintetikusak.

A nagy áteresztőképességű (**high throughput**) **szűrések (HTS)** segítségével nagyszámú (rokon) molekula közül lehet kiválasztani a gyógyszernek alkalmasat. Egymáshoz hasonló molekulák előállításához **kombinációs kémia** vagy a **split-pool** (megosztásos-keveréses) szintézis használható (részleteket lásd az előadás anyagban).

### 45.4. A GENETIKA ALKALMAZÁSA A GYÓGYSZERFEJLESZTÉSBEN

Számos gyógyszer támadáspontja **nagy fehérjecsaldoknak** (kinázok, receptorok) a tagja, így lényeges, hogy megtaláljuk a nagy géncsalád termékek egyes tagjainak sajátosságait, hogy szelektív gátlószereket fejleszthessünk ellenük. Egy olyan szer, amely egy egész fehérje családot gátol, számos mellékhatást mutat. A molekuláris biológia és a genetika másik módon úgy segíthet még, hogy összehasonlítva az **egészséges és beteg struktúrákat** (sejtek, szövetek, organizmusok) potenciális célmolekulákat talál. Genetikailag módosított (KO) állatok segítségével is megfelelő célmolekulák találhatóak. Egyséjtű patogének **teljes genetikai állományának** ismerete a törzsre jellemző és humán genomtól eltérő szekvenciákat mint potenciális célokat találhat. Emberben egyéni különbségek léteznek egy adott gyógyszerre adott válaszban. A számos más ok (kor, nem, tápláltsági állapot, más betegségek) mellett a genetikai eltérések is lényegesek. A gyógyszer transzportban és metabolizmusban részt vevő molekulák **genetikai variációi** a gyógyszerhatások sokfeliségét okozhatják.

### 45.5. GYÓGYSZER REZISZTENCIA

Az antibiotikumok és a tumorellenes szerek alkalmazásának egyre fokozódó gondja a mikroorganizmusok, vírusok és a malignus sejtek rezisztenciája. Az alkalmazott szer **szelektív nyomása** alatt a néhány előforduló mutáns sejtnek nagyobb az esélye a túlélésre. A baktériumok egymás között olyan **plazmidok** transzferjét tudják végezni, amelyek antibiotikumokat hatástalanító enzimeket kódolnak. A tumor sejtekben a gyógyszer célmolekulája új mutációt szerezhet, amely a kezelésnek már ellenáll. Egyes tumorsejtek speciális **ABC transzporter fehérjét** overexpresszálnak, amelyek a tumorsejtből eltávolítják a tumor ellenes gyógyszereket, ezáltal a daganatsejt populációban multidrug rezisztenciát idéznek elő.