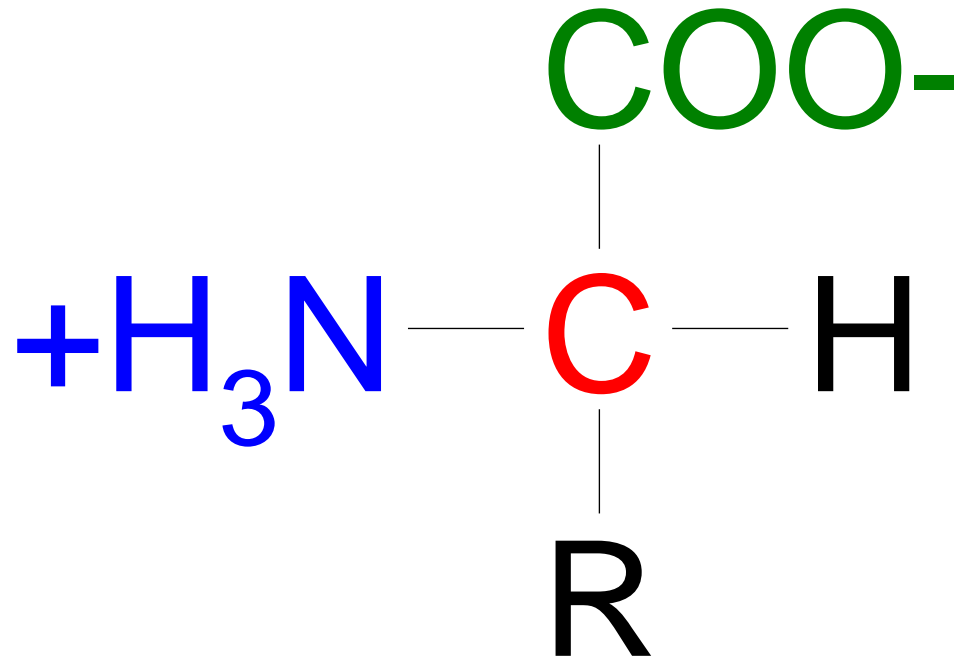


Aminosäurestoffwechsel I

Grundlagen und Ammoniak-Stoffwechsel



Johannes Schmidt; Matthias Schnepfer

Gliederung:

- Einführung
- Struktur und Einteilung der Aminosäuren
- Grundzüge des Aminosäurestoffwechsels
- Ammoniakstoffwechsel
- Stoffwechsel der Aminogruppen der Aminosäuren

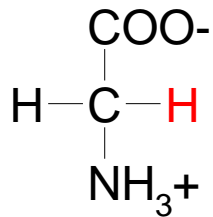
Einführung:

Die Aminosäuren besitzen 4 Funktionen im Stoffwechsel der Zellen:

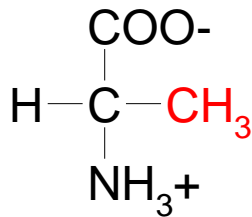
1. als Bausteine für die Biosynthese der Proteine
2. als Aminogruppen- bzw. Stickstoffdonatoren bei der Biosynthese von stickstoffhaltigen Verbindungen
3. als Substrat für die Gluconeogenese („Glucosehomöostase“)
4. als exzitatorische (anregende) und inhibitorische Neurotransmitter

Struktur der Aminosäuren:

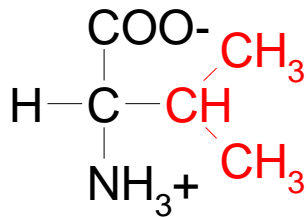
Aminosäuren mit apolaren Seitenketten:



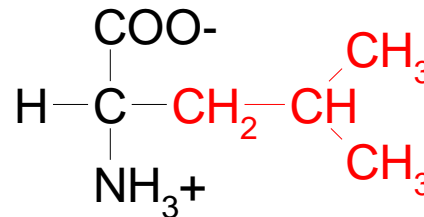
Glycin
Gly; G



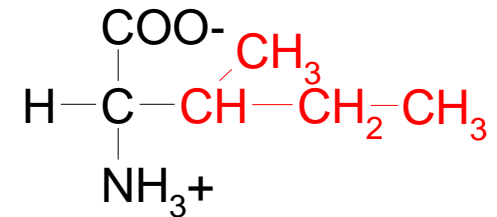
Alanin
Ala; A



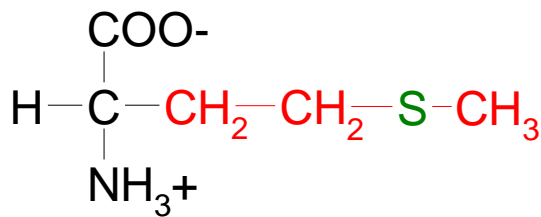
Valin
Val; V



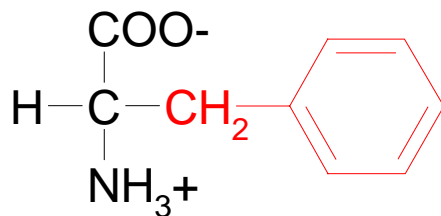
Leucin
Leu; L



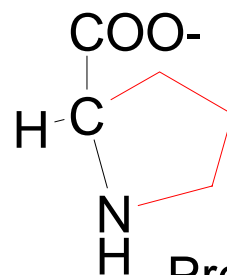
Isoleucin
Ile; I



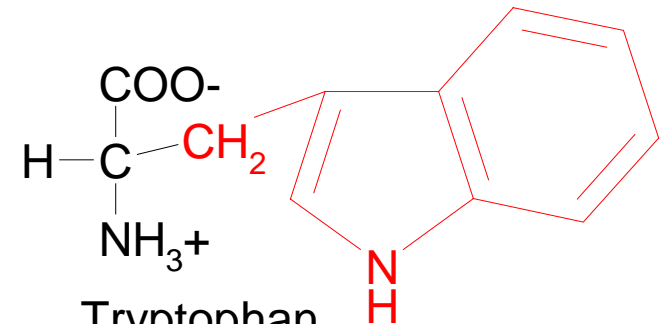
Methionin
Met; M



Phenylalanin
Phe; F



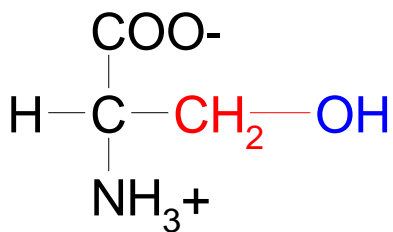
Prolin
Pro; P



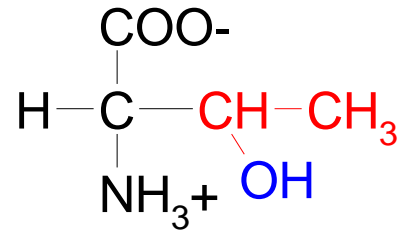
Tryptophan
Trp; W

Struktur der Aminosäuren:

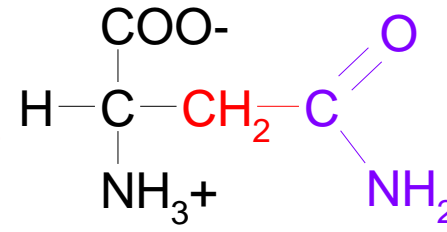
Aminosäuren mit ungeladenen polaren Seitenketten:



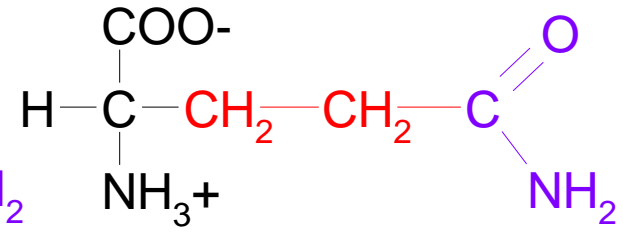
Serin
Ser; S



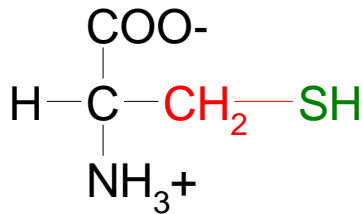
Threonin
Thr; T



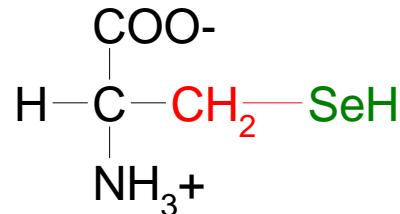
Asparagin
Asn; N



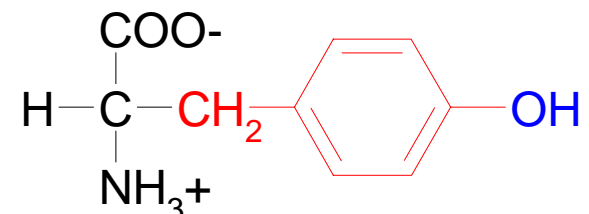
Glutamin
Gln; Q



Cystein
Cys; C



Selenocystein
Sec



Tyrosin
Tyr; Y

Einteilung der Aminosäuren:

- nach **Struktur** und **funktionellen Gruppen**
 - in **proteinogene** und **nichtproteinogene Aminosäuren**:
nicht proteinogen sind z. B.
 - Ornithin (Harnstoffzyklus)
 - Citrullin (Harnstoffzyklus)
 - 5-Hydroxytryptophan (Vorstufe von Serotonin)
 - β -Alanin (Teil von Coenzym A)
 - ...
- insgesamt sind 21 Aminosäuren proteinogen,
mehr als 100 sind nicht proteinogen

Einteilung der Aminosäuren:

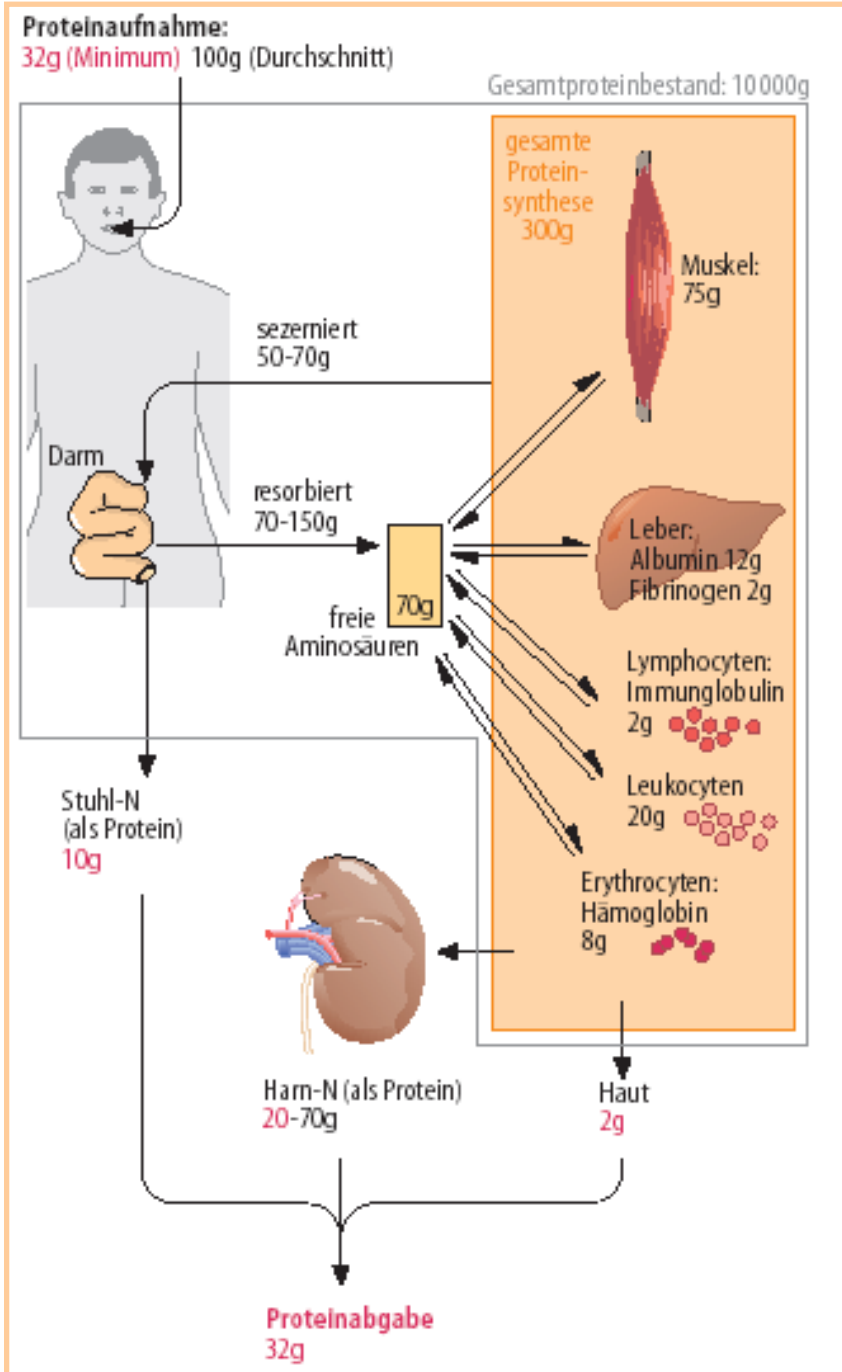
- in **essentielle** und **nichtessentielle** Aminosäuren:
 - essentiell sind Histidin; Isoleucin; Leucin; Lysin; Methionin; Phenylalanin; Threonin; Tryptophan; Valin
 - nichtessentiell sind Alanin; Arginin; Asparagin; Tyrosin; Glutamat; Glutamin; Glycin; Prolin
 - bedingt essentiell sind Serin; Cystein
- nach **Biosyntheseweg**

Grundzüge des Aminosäurestoffwechsels:

Tagesumsatz der Aminosäuren:

Werte für eine 70 kg schwere Person

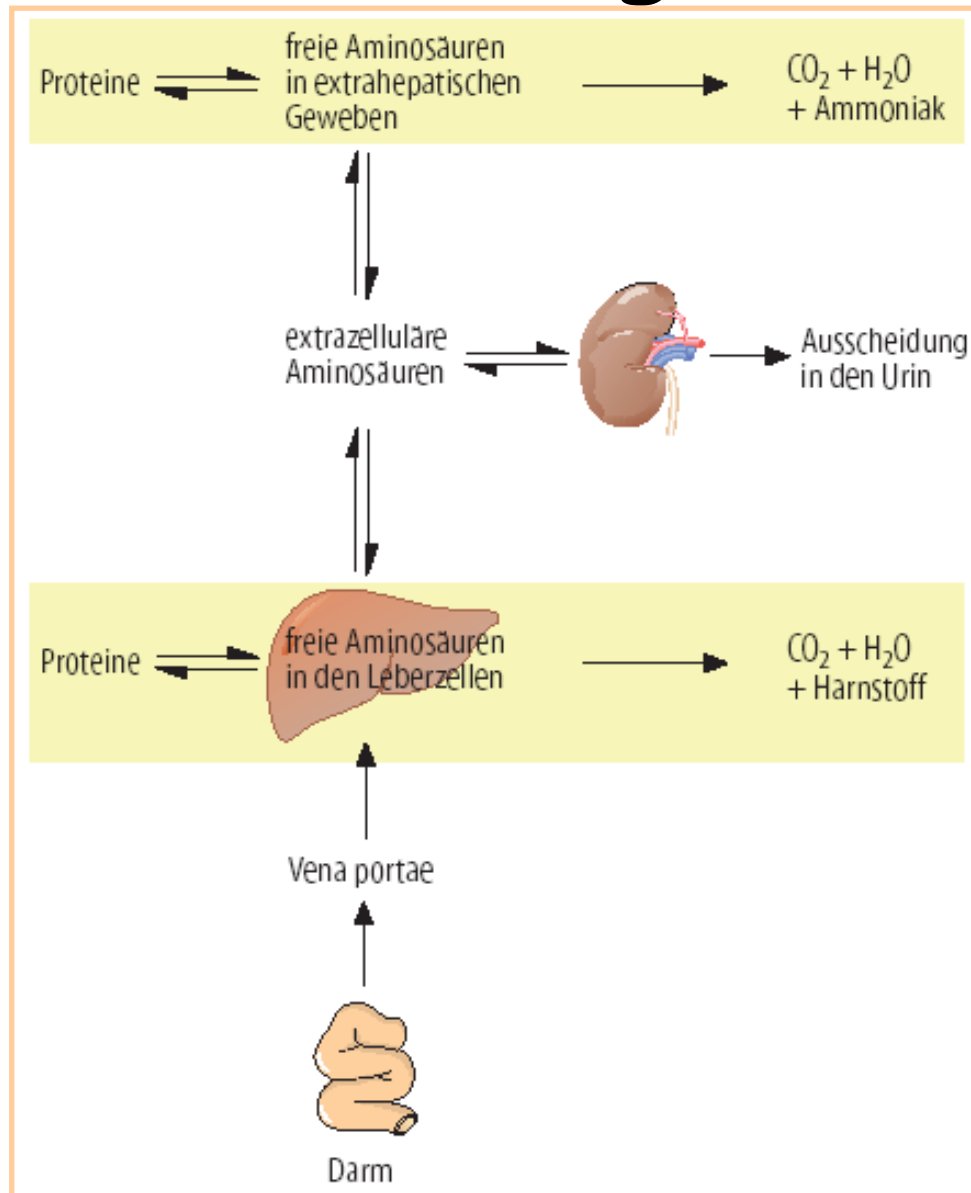
Stickstoffgleichgewicht bei täglicher Zufuhr von 32 g hochwertigem Protein



Zentrale Stellung der Leber:

- Aufnahme der über die Nahrung resorbierten Aminosäuren
- Biosynthese von Proteinen
- Umwandlung von Aminosäuren durch Abspaltung von Ammoniak
→ Bildung von Ketocarbonsäuren
- Umwandlung von Ammoniak in Harnstoff
- Kontinuierliche Abgabe von Aminosäuren an das Blut
(Pufferfunktion)

Zentrale Stellung der Leber:

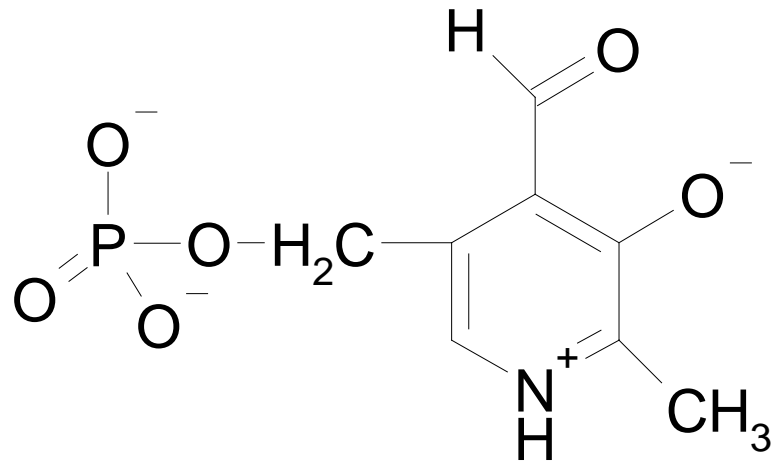


Intrazellulärer Aminosäurestoffwechsel:

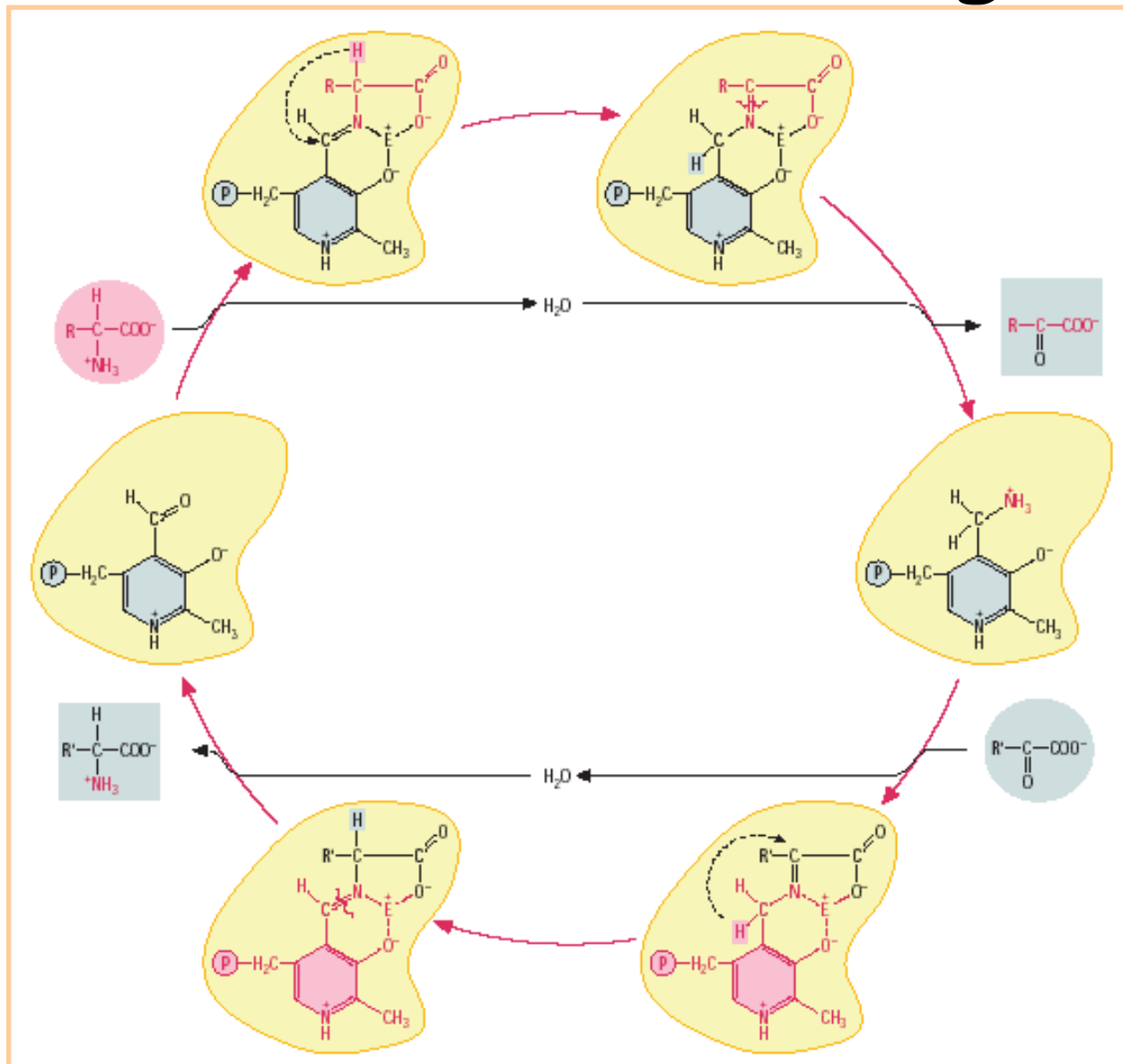
Es bestehen enge Verknüpfungen zwischen Aminosäure-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel.

Durch verschiedene Reaktionen können Aminosäuren z.B. in α -Ketocarbonsäuren wie Pyruvat oder Oxalacetat umgewandelt werden, die dann weiter verstoffwechselt werden können.

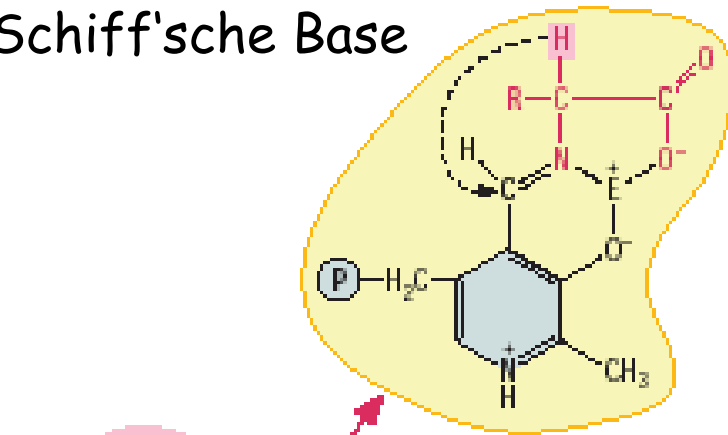
Besondere Bedeutung für den Aminosäurestoffwechsel hat das Pyridoxalphosphat (PALP).



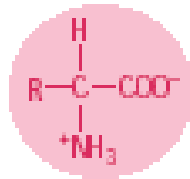
1. Transaminierung:



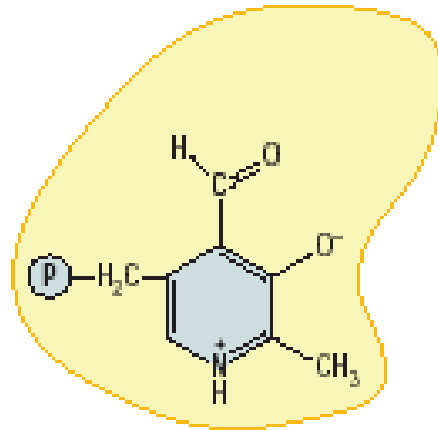
Austritt eines Protons, das sich an die Schiff'sche Base anlagert



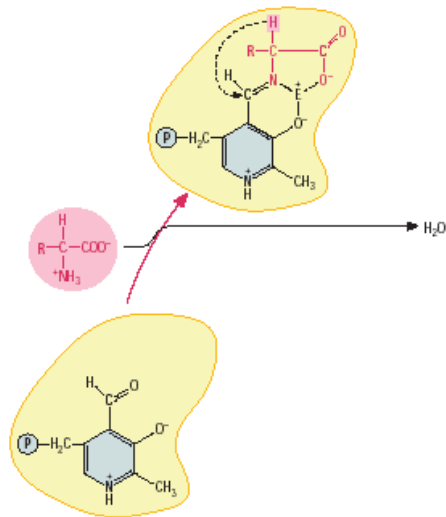
Stabilisierung der Schiff'schen Base durch eine kationische Gruppe des aktiven Zentrums des Enzyms E



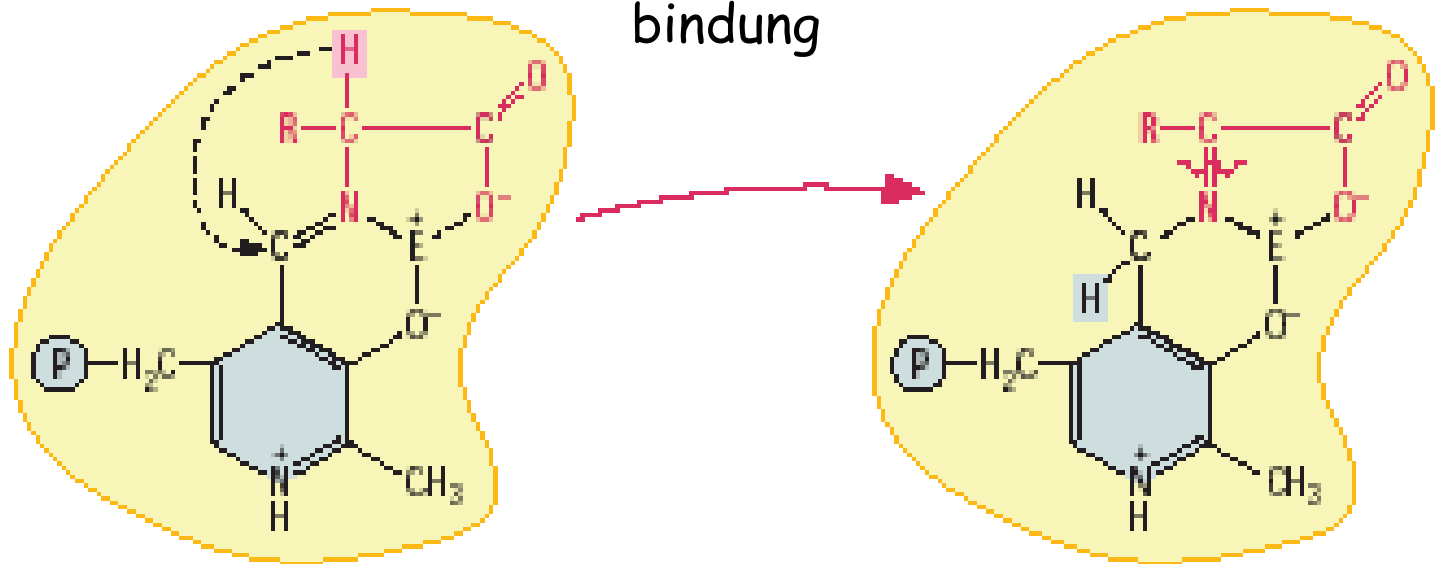
Bildung einer Schiff'schen Base zwischen PALP und der Aminogruppe der Aminosäure

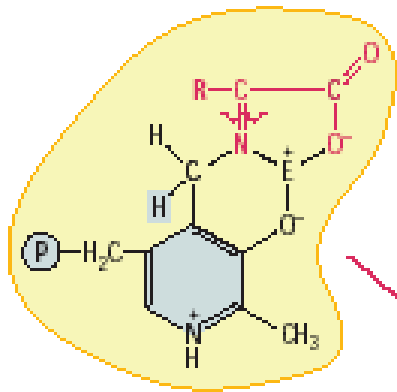
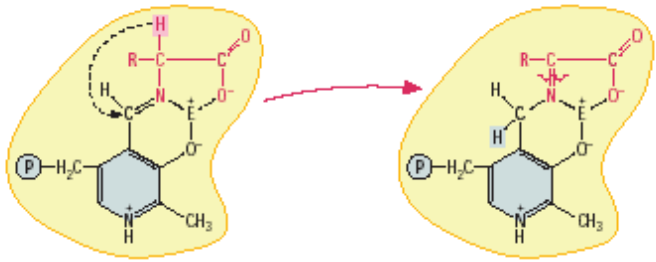


PALP (Pyridoxalphosphat)



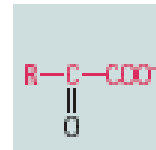
Anlagerung des Protons führt zum „Umklappen“ der Doppelbindung



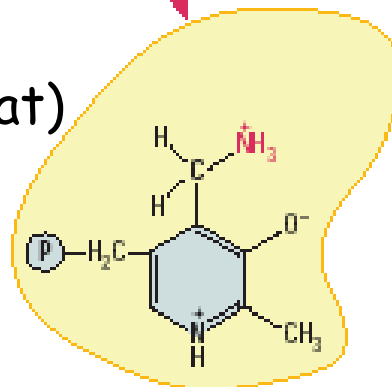


Hydrolyse der Schiff'schen Base, Freisetzung einer α -Ketosäure

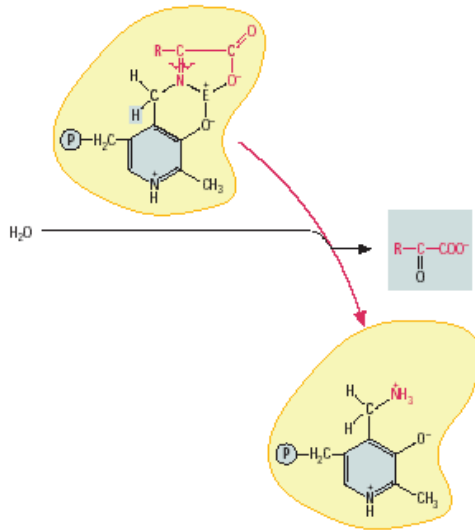
H_2O



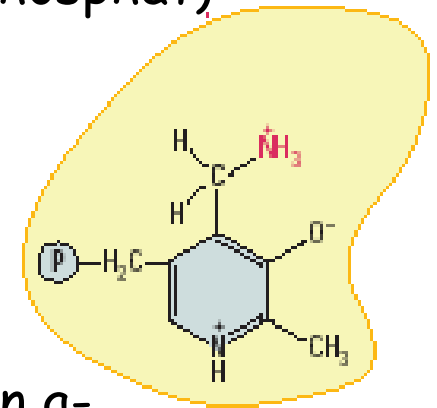
PAMP (Pyridoxaminphosphat)



Die Aminogruppe der ehem. Aminosäure bleibt kovalent gebunden.

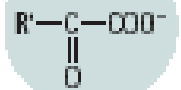


PAMP (Pyridoxaminphosphat)

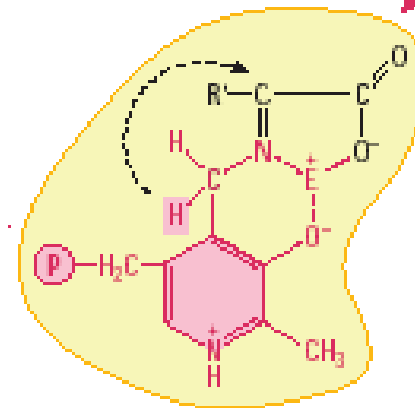


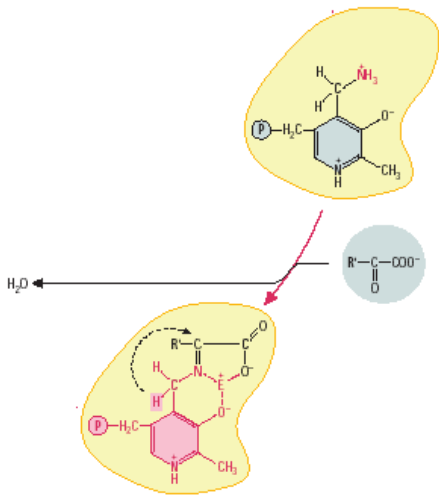
Bindung einer anderen α -Ketosäure, Bildung einer Schiff'schen Base

H_2O

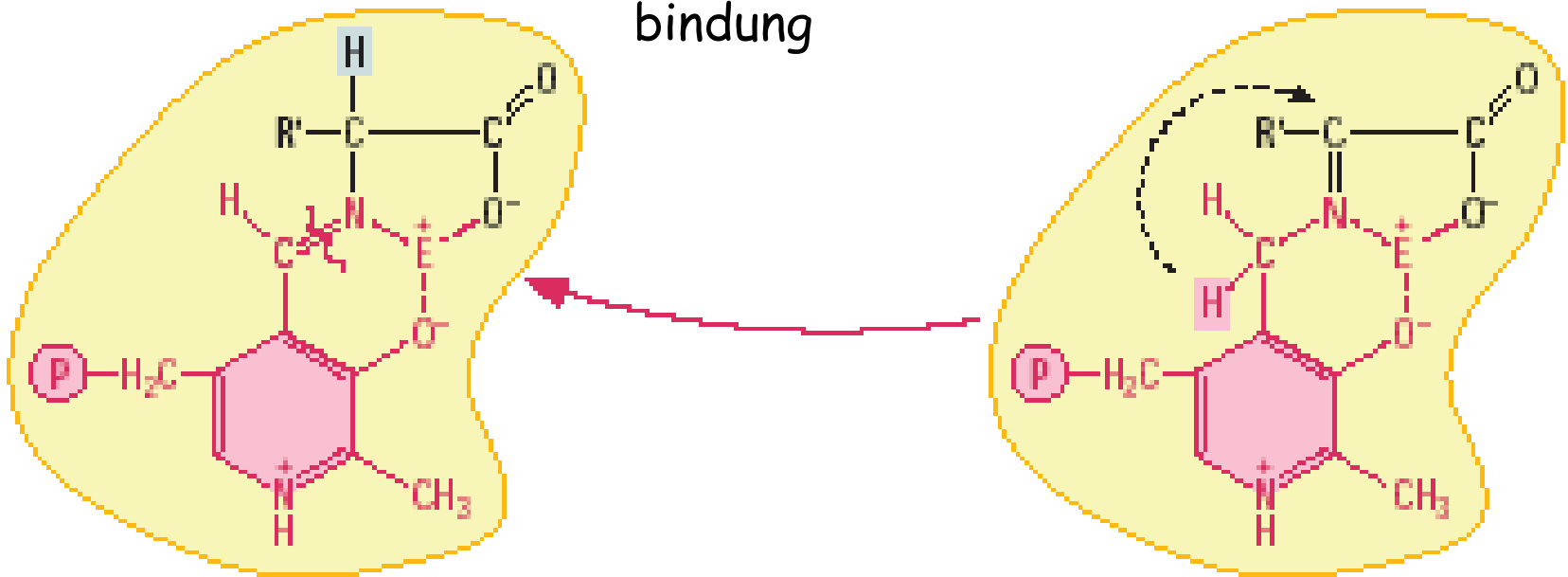


Austritt eines Protons, das sich an die Schiff'sche Base anlagert

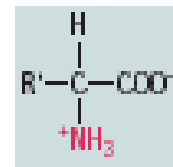
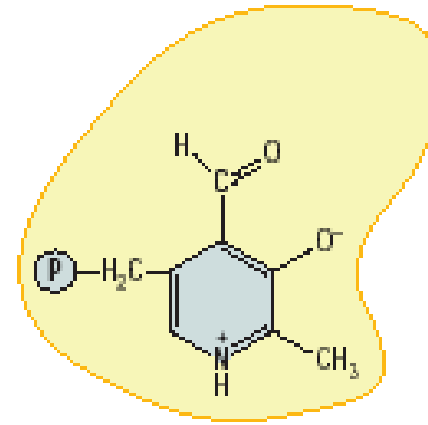
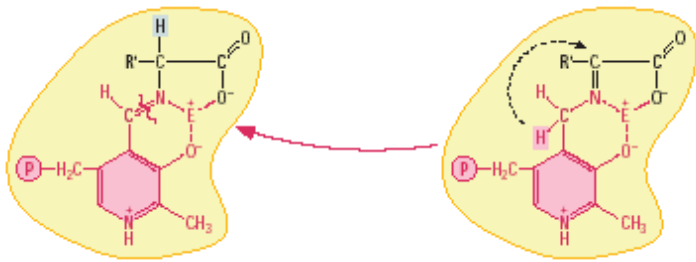




Anlagerung des Protons führt zum „Umklappen“ der Doppelbindung

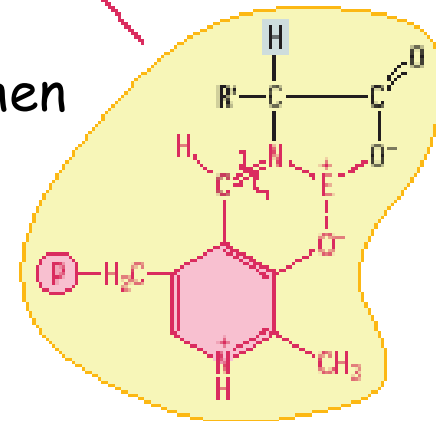


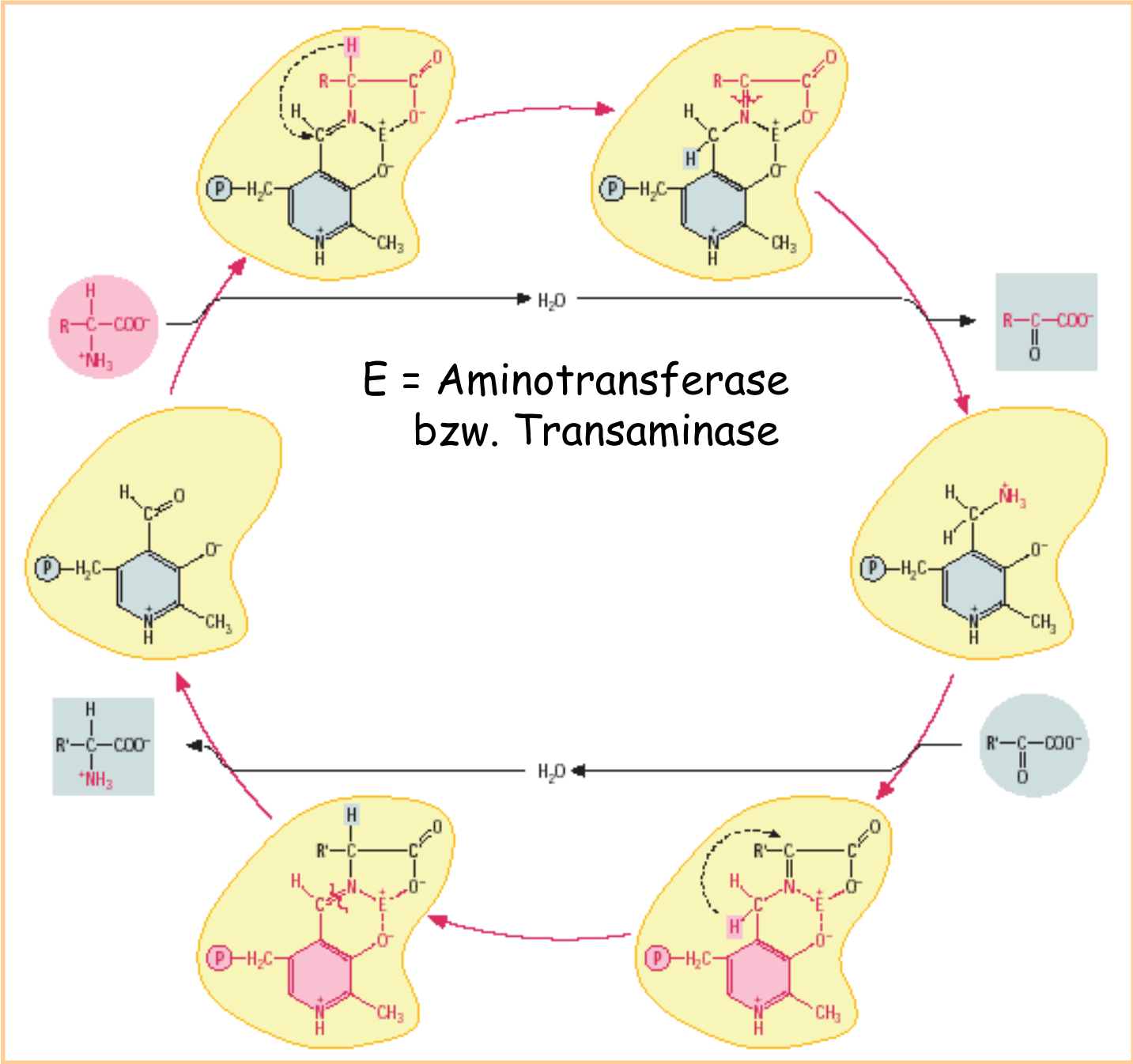
PALP (Pyridoxalphosphat)



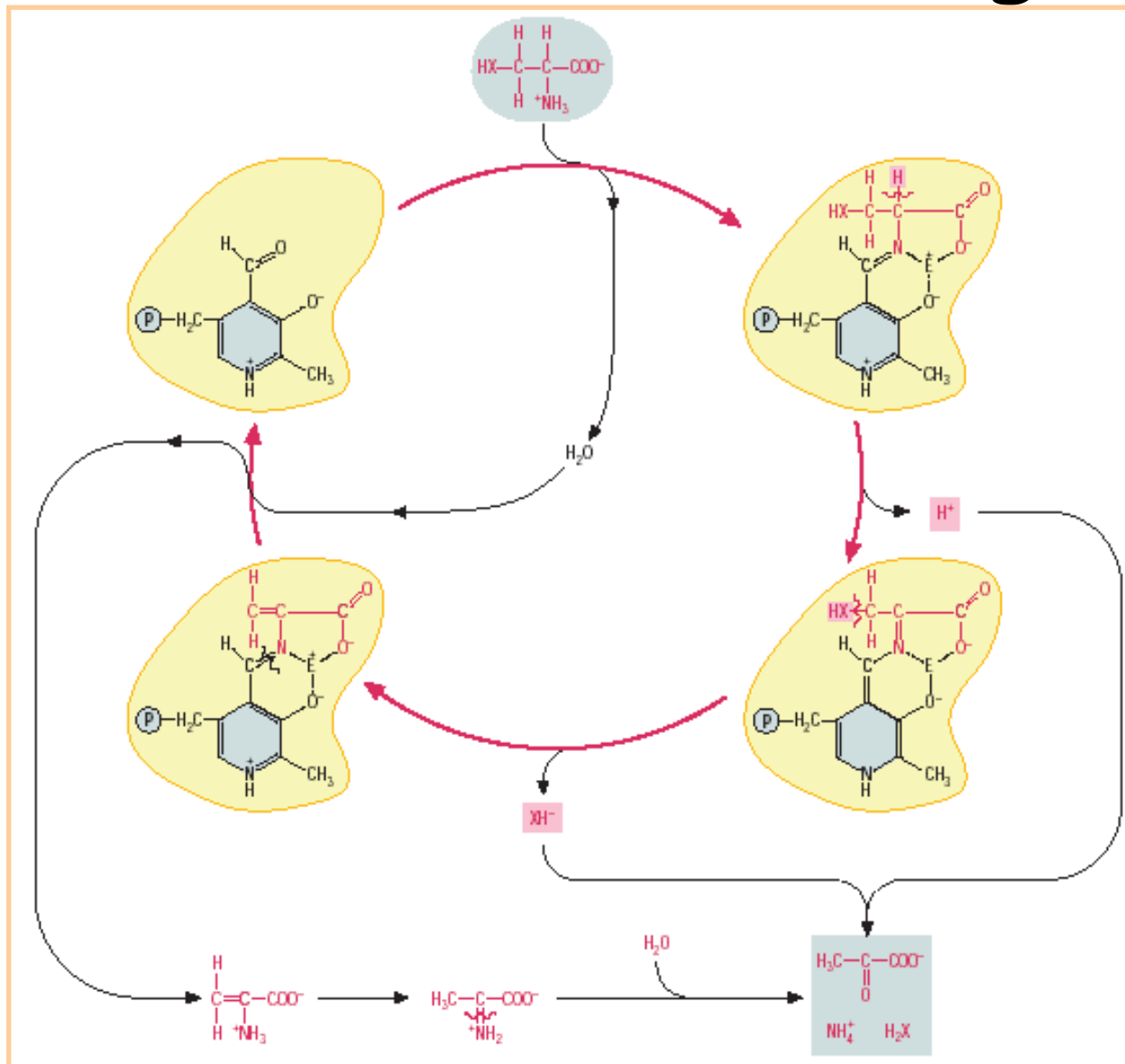
H₂O

Hydrolyse der Schiff'schen Base, Freisetzung einer Aminosäure

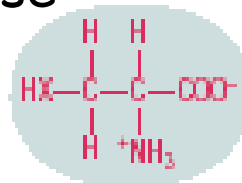




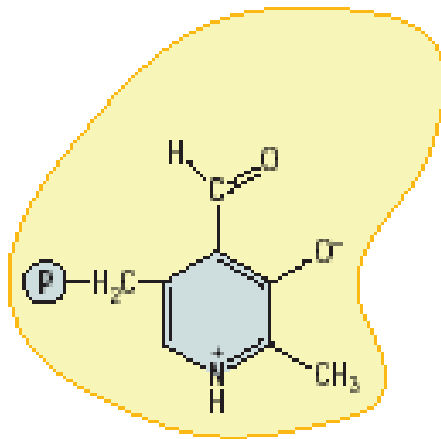
2. α -, β -Eliminierung:



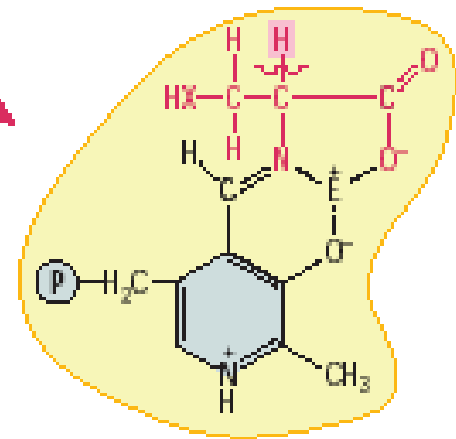
Bildung einer Schiff'schen Base
zwischen PALP und der
Aminogruppe der Aminosäure
(Serin: X = O; Cystein: X = S)

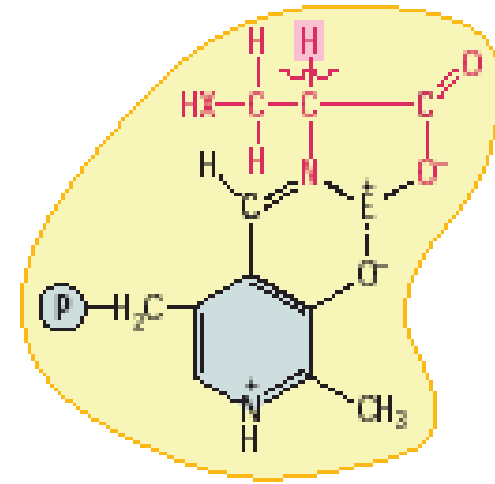
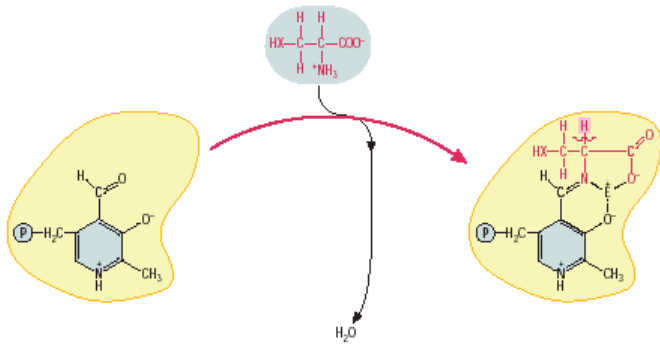


Stabilisierung der Schiff'schen
Base durch eine kationische
Gruppe des aktiven Zentrums
des Enzyms E

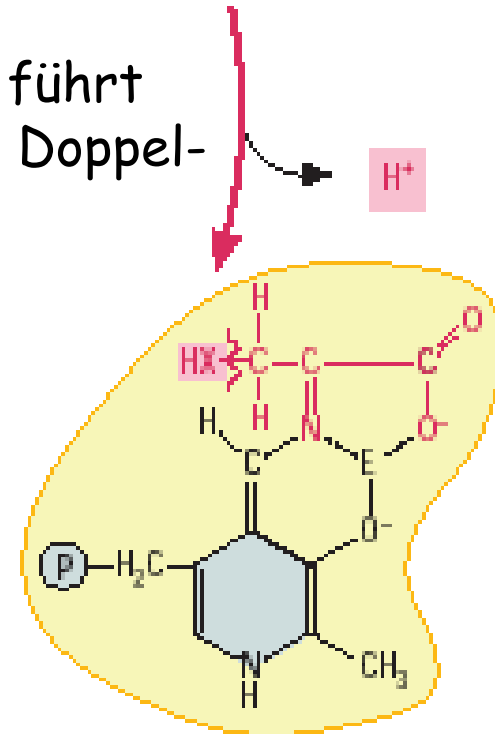


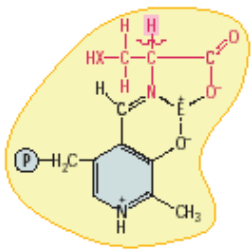
PALP (Pyridoxalphosphat)



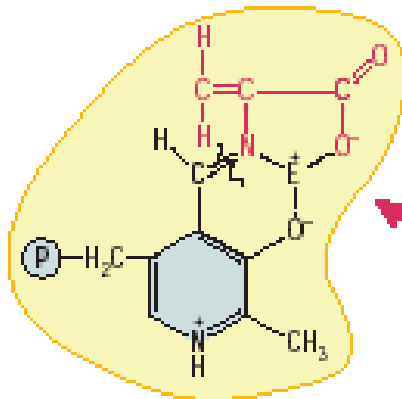
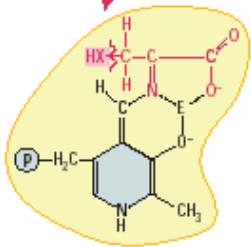


Austritt des Protons führt zum „Umklappen“ der Doppelbindung

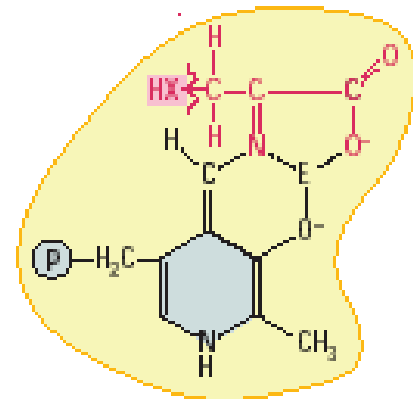




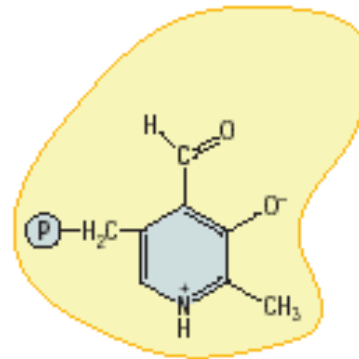
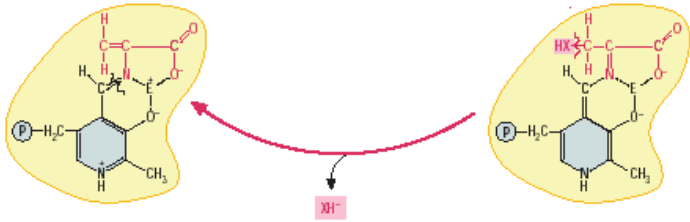
H⁺



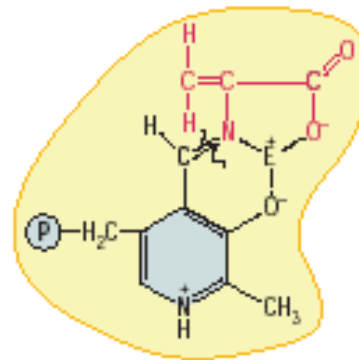
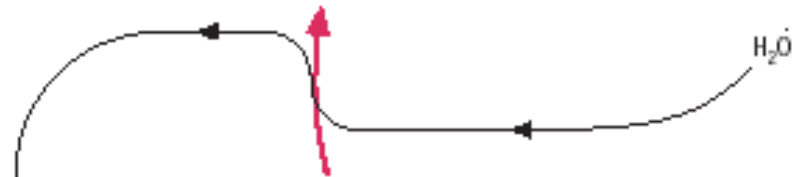
Austritt von XH⁻
 (Serin: X = O;
 Cystein: X = S)



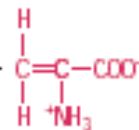
XH⁻

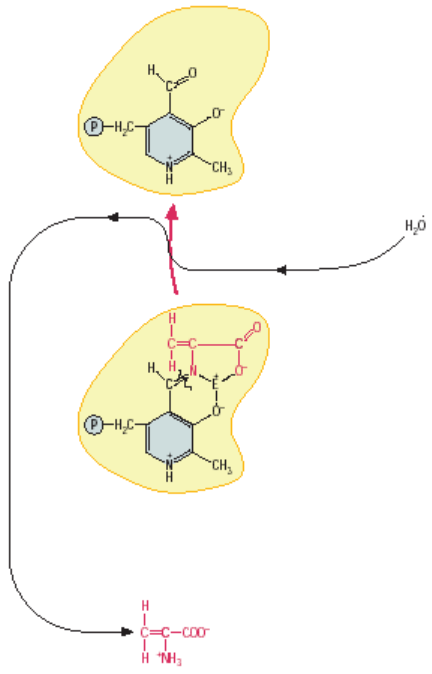


PALP (Pyridoxal-phosphat)

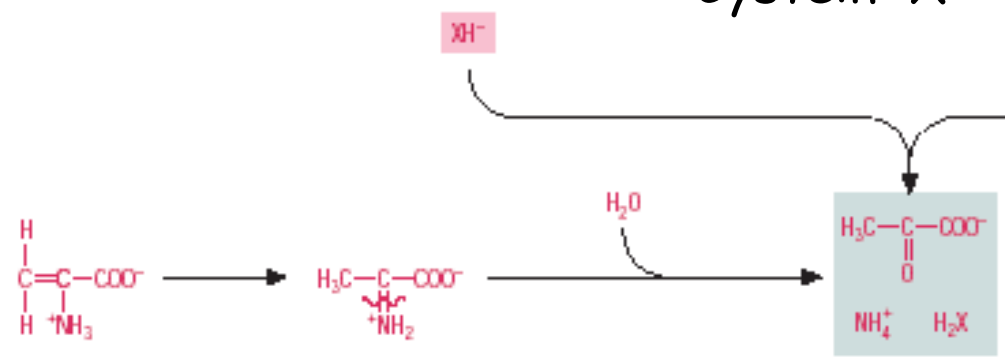


Hydrolyse der Schiff'schen Base,
Freisetzung einer Aminosäure



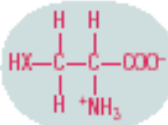


Bildung von H_2X
 (Serin: $X = O$;
 Cystein: $X = S$)

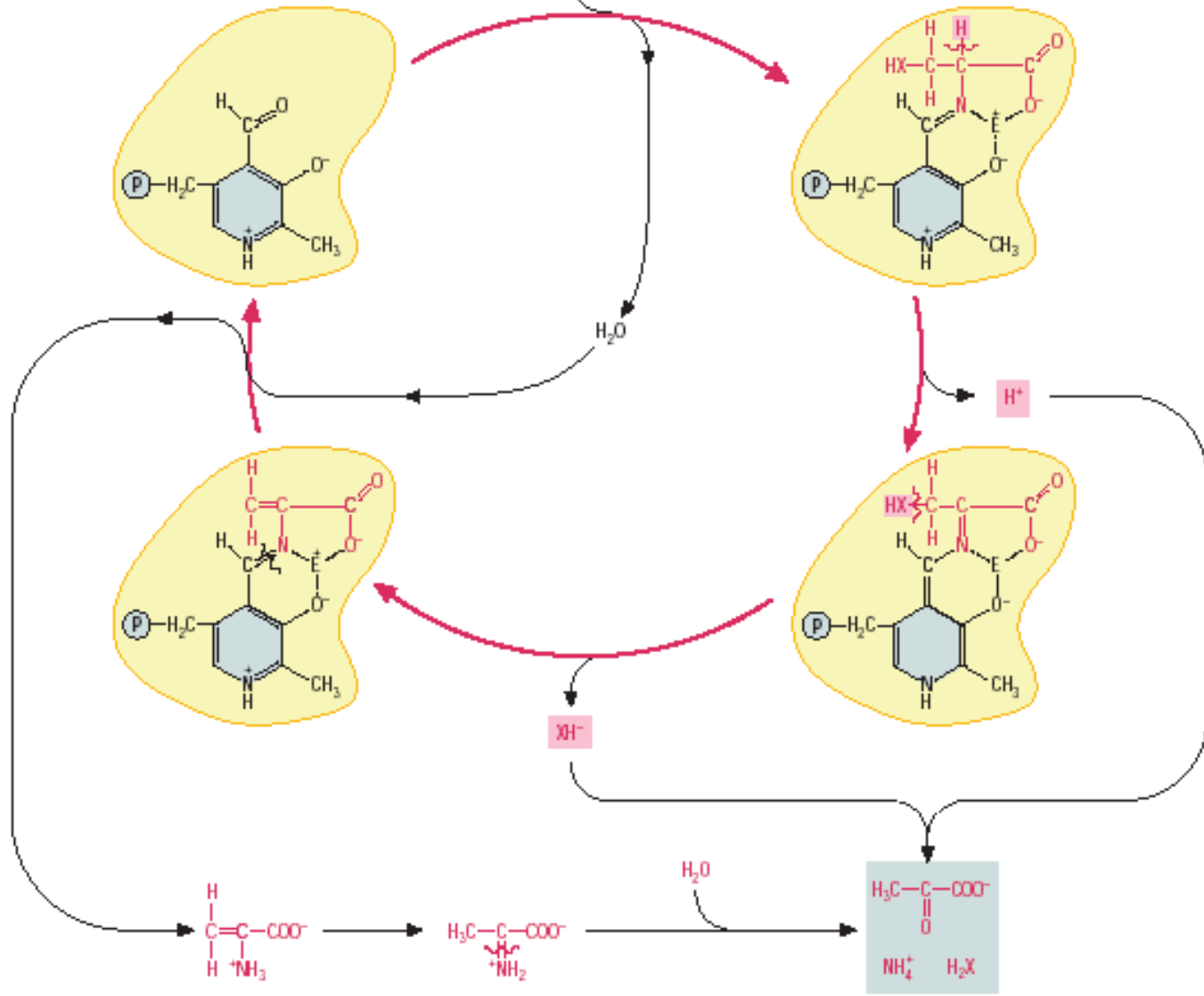
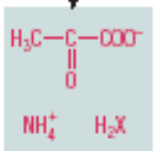
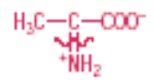
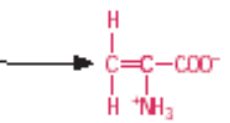
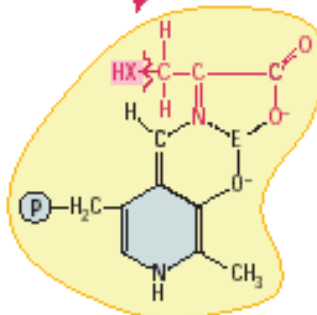
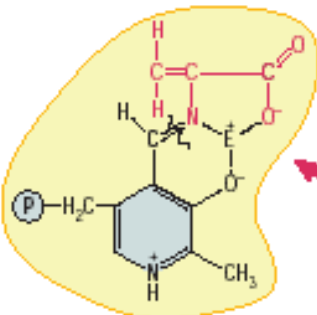
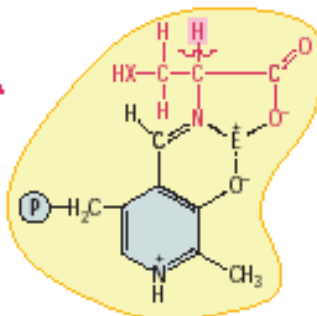
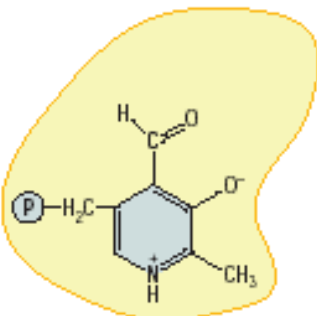


Abspaltung von Ammoniak;

Hydrolyse zur α -Ketosäure



E = Dehydratase

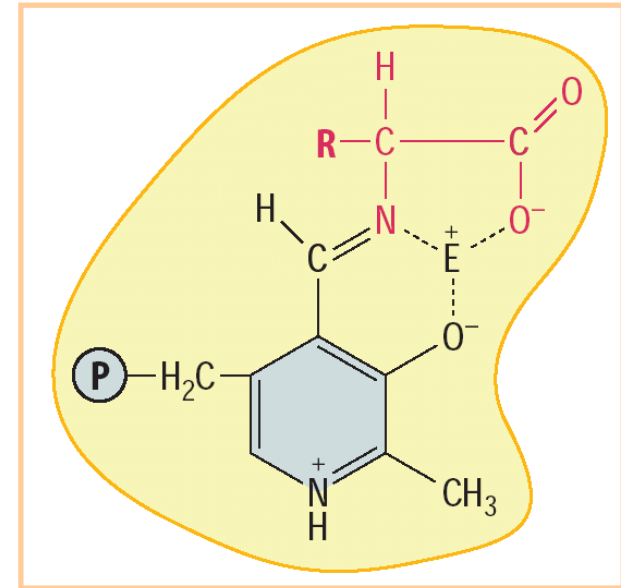


Weitere PALP-abhängige Reaktionen:

Decarboxylierung:

Durch Elektronenverschiebung Labilisierung der C-C-Bindung; Abspaltung der Carboxylgruppe; Hydrolyse der Schiff'schen Base bewirkt Freisetzung eines **Amins**.

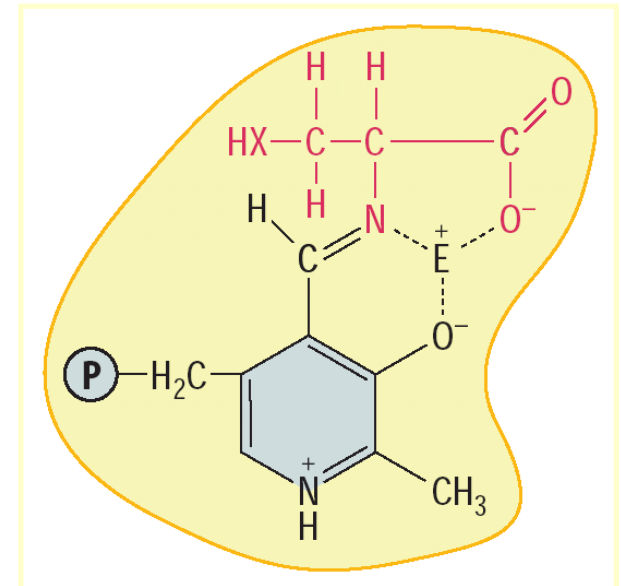
E = Decarboxylase



Aldospaltung:

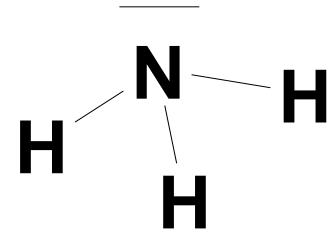
Durch Elektronenverschiebung Labilisierung der C-C-Bindung zwischen α - und β -C-Atom; Freisetzung einer **Aminosäure** sowie z.B. bei Threonin von **Acetaldehyd** bzw. bei Serin von einer **Hydroxymethylgruppe**.

E = Aldehydlyase bzw. Aldolase



Der Ammoniakstoffwechsel:

Ammoniak:



- nach der Definition von Broensted: Base
 - kann biologische Membranen gut passieren
 - liegt bei physiologischem pH-Wert (7,40 im Blut; 6,0-7,1 in Körperzellen) zu etwa 99% als NH₄⁺ vor
- Gefahr der Alkalisierung des Blutes bei erhöhter Ammoniakkonzentration

Ausscheidung von Ammoniak:

- nach Umbau durch die Leber als Harnstoff (90-95%)
- als freies Ammoniak (5-10%) mit dem Urin
- für fast alle Lebewesen essentiell

Verwendung von Ammoniak:

zur Biosynthese von

- Aminosäuren (insbesondere Gln, Asp, Gly)
- Porphyrinen
- Purinen
- Pyrimidinen
- Kreatin (als Phosphat wichtige Energiequelle in Muskeln)
- Aminosackern

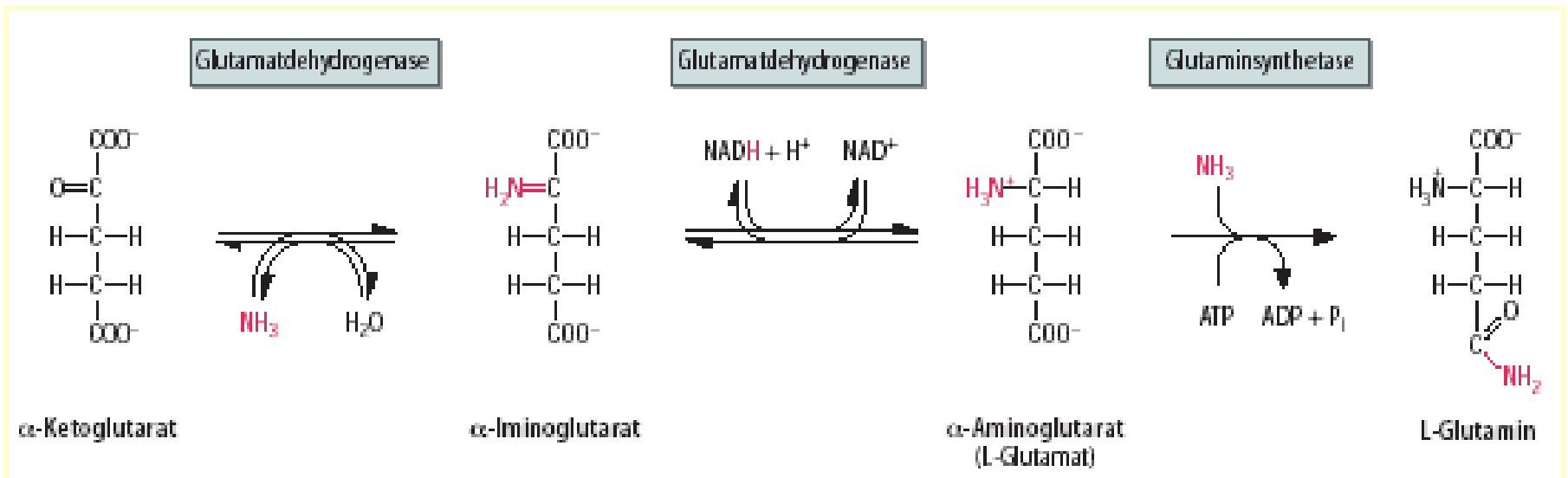
Toxizität von Ammoniak:

- schwere zerebrale Schäden schon bei geringen Mengen
 - Ammoniakvergiftung:
 - Flattertremor der Hände, verwaschene Sprache, Sehstörungen, in schweren Fällen Koma und Tod
- freies Ammoniak muss kovalent gebunden oder ausgeschieden werden!

„Entgiftung“ von Ammoniak:

z.B. durch die mitochondrialen Enzyme

Glutamatdehydrogenase (GLDH, v.a. in der Leber)
und die **Glutaminsynthetase** (in allen Geweben)



Reaktion der GLDH ist stark durch die freie Energie begünstigt (27,2 kJ/mol) \rightarrow keine Rückreaktion = Freisetzung von Ammoniak

Pathobiochemie & Therapie:

Ammoniak im Pfortaderblut stammt aus dem Stoffwechsel von Mikroorganismen, die Nahrung sowie Harnstoff durch das Enzym Urease in Ammoniak und CO_2 spalten können.

Diagnose (hier am Beispiel einer Infektion mit *Helicobacter pylori*): mittels **Atemtest**

Therapie: mit **Lactulose** (Disaccharid aus Galaktose und Fructose) → Bildung von Lactat, Acetat, Formiat und CO_2 → Abfall des pH-Wertes → Umwandlung von Ammoniak in Ammoniumionen → Ausscheidung der Ammoniumionen mit dem Stuhl

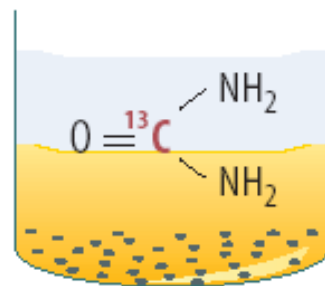
mit schwer resorbierbaren Antibiotika wie z.B. **Neomycin** → Eindämmung der Ammoniakproduktion



30 Minuten



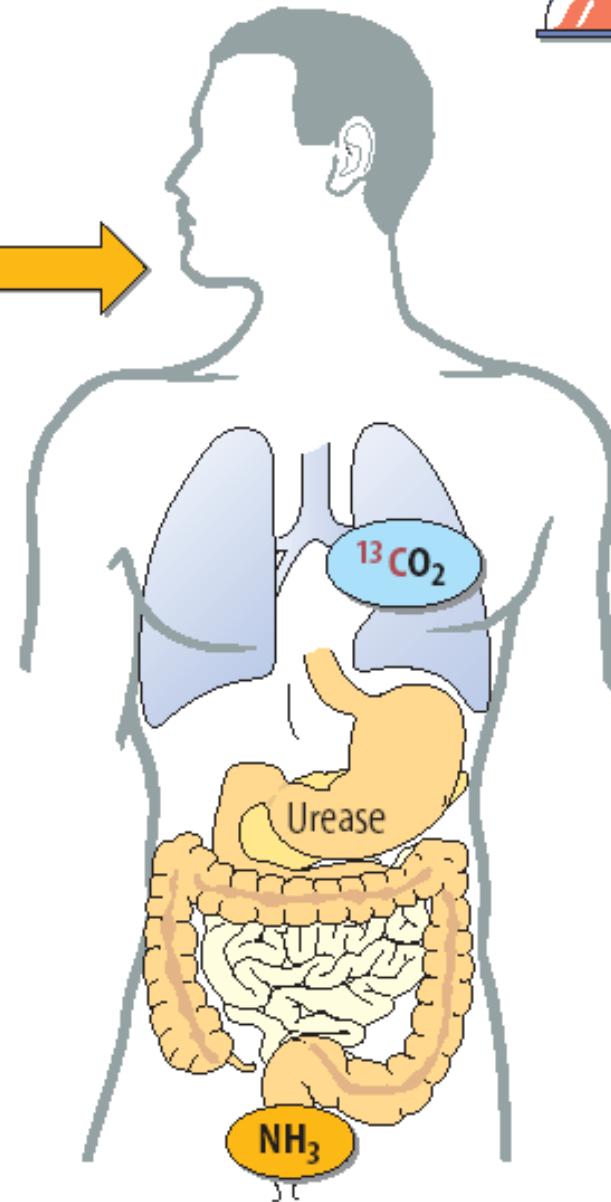
markierter
Harnstoff (^{13}C)



+ H_2O



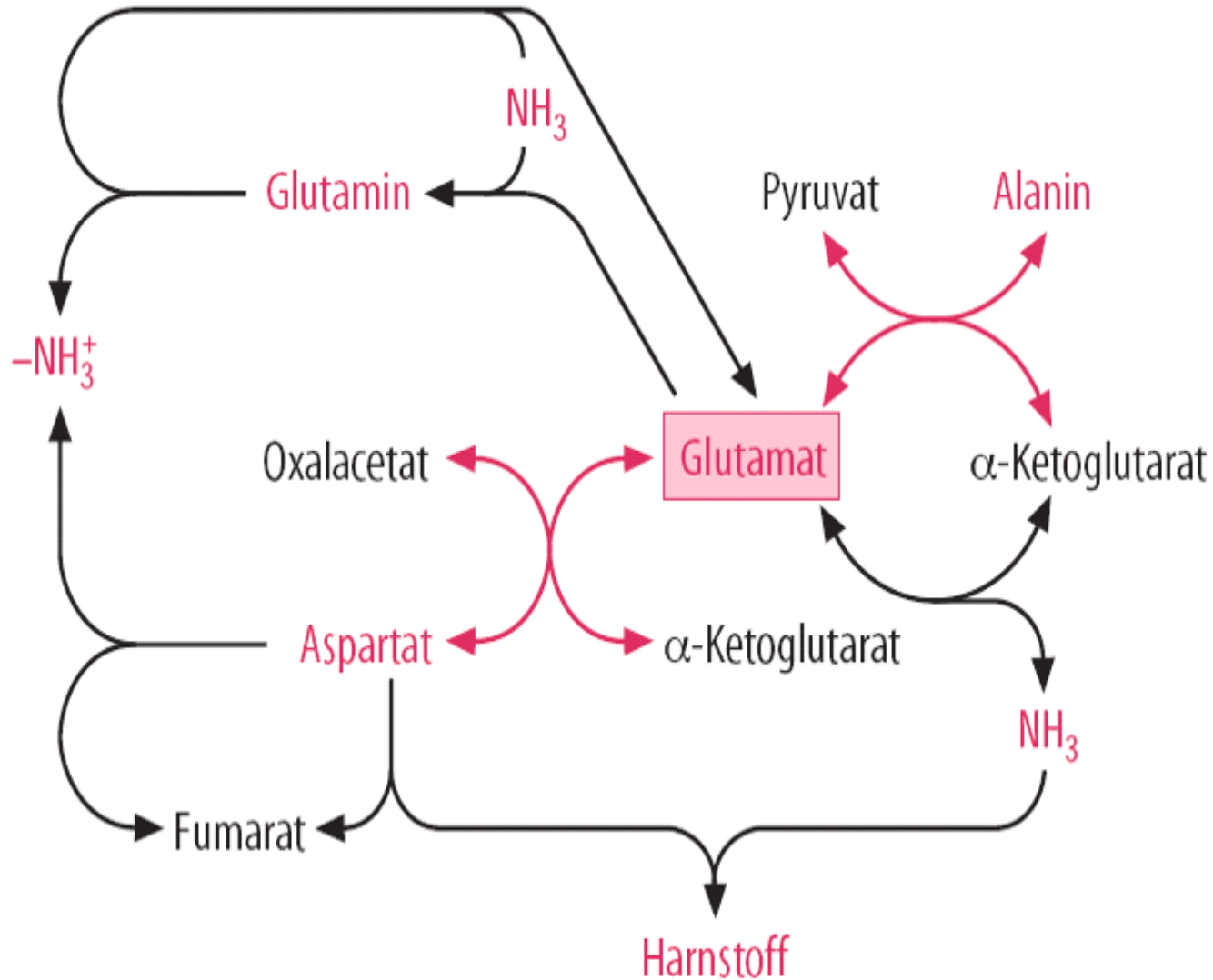
$^{13}\text{CO}_2 + \text{NH}_3$



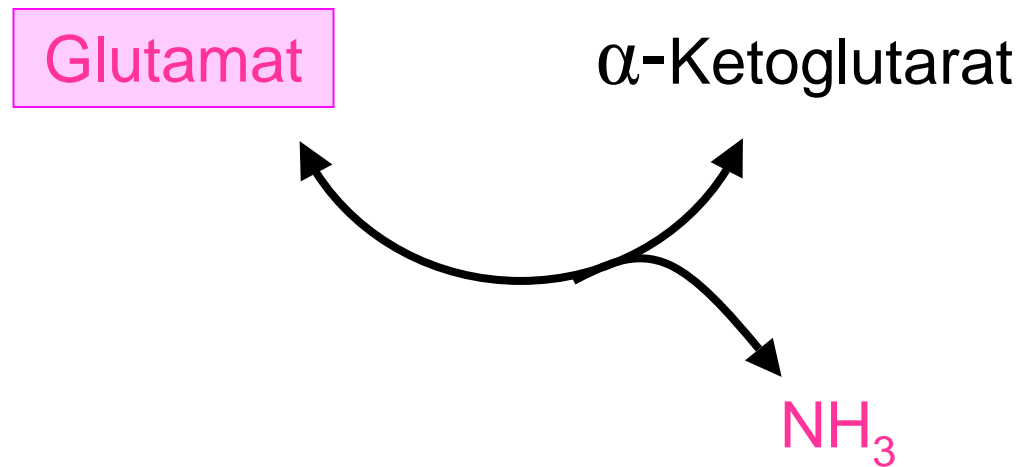
Aminostickstoff-Stoffwechsel

- Der Aminostickstoff der Aminosäuren kann durch Transaminierung in anderen Aminosäuren gesammelt werden
- Hauptsächlich in Alanin, Aspartat und Glutamat
- Diese wiederum stellen den Stickstoff für die Biosynthese und Harnstoffbiosynthese bereit
- Alanin, Aspartat und Glutamat bieten sich besonders an, weil ihre α -Ketosäuren ständig im Stoffwechsel produziert werden

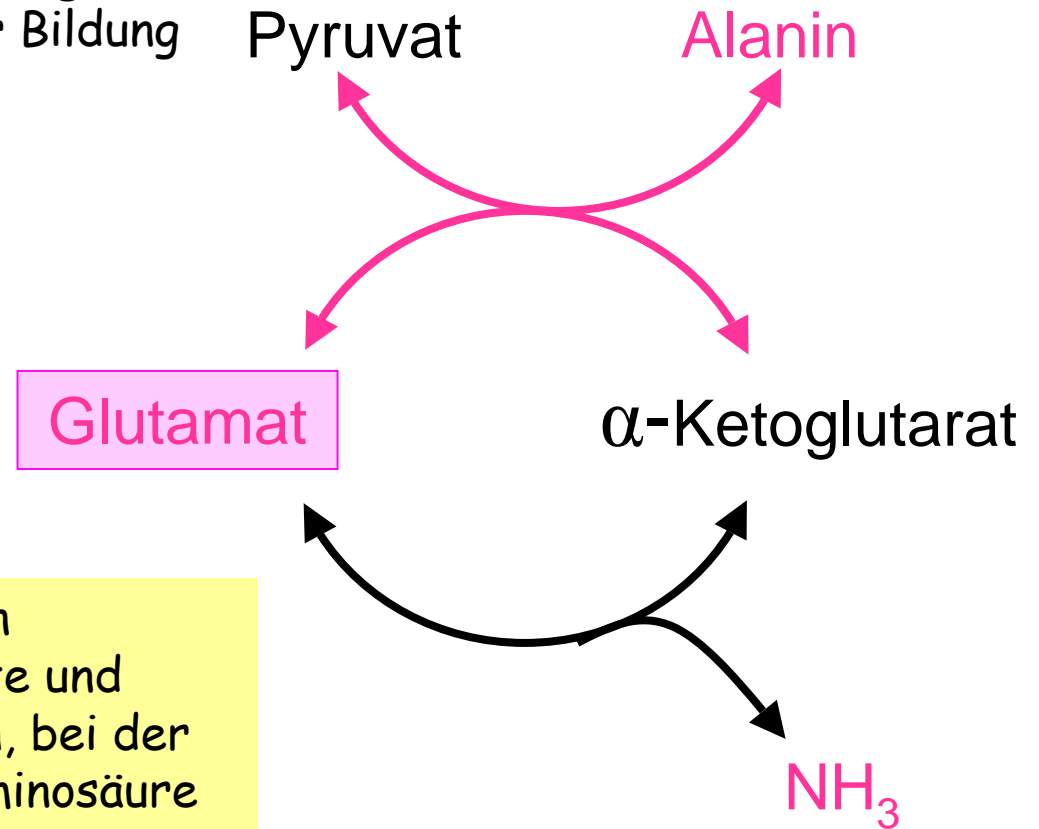
Glutamat als Drehscheibe des Aminostickstoff-Stoffwechsels



- freies Ammoniak bildet durch Fixierung an α -Ketoglutarat Glutamat

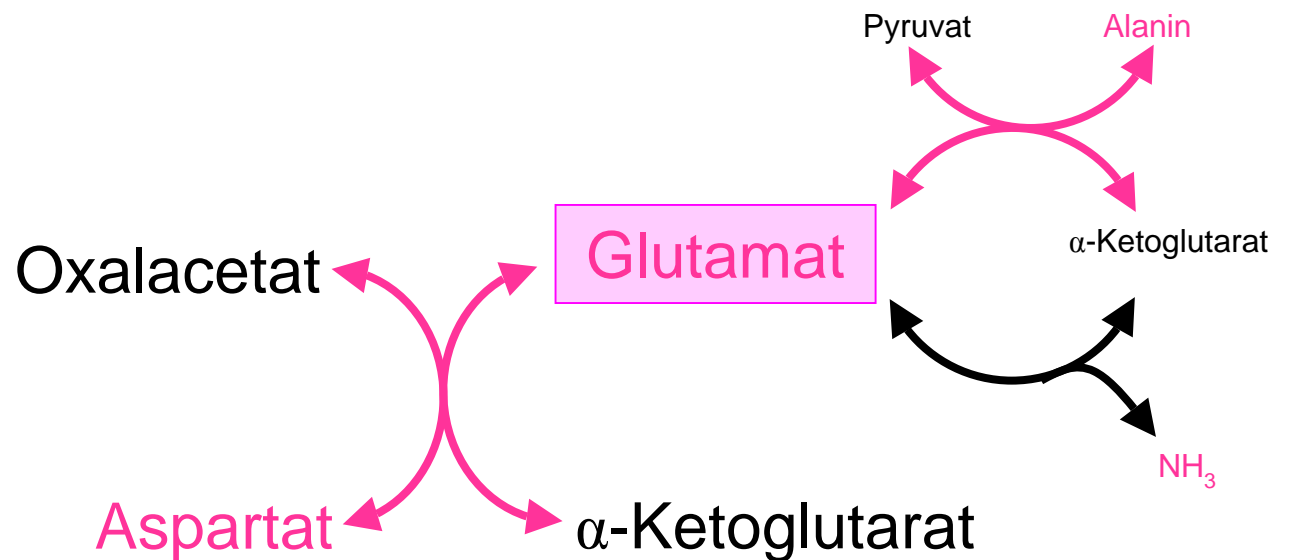


Die Aminogruppe von Glutamat kann durch reversible Transaminierung auf die α -Ketosäure Pyruvat unter Bildung von Alanin übertragen werden

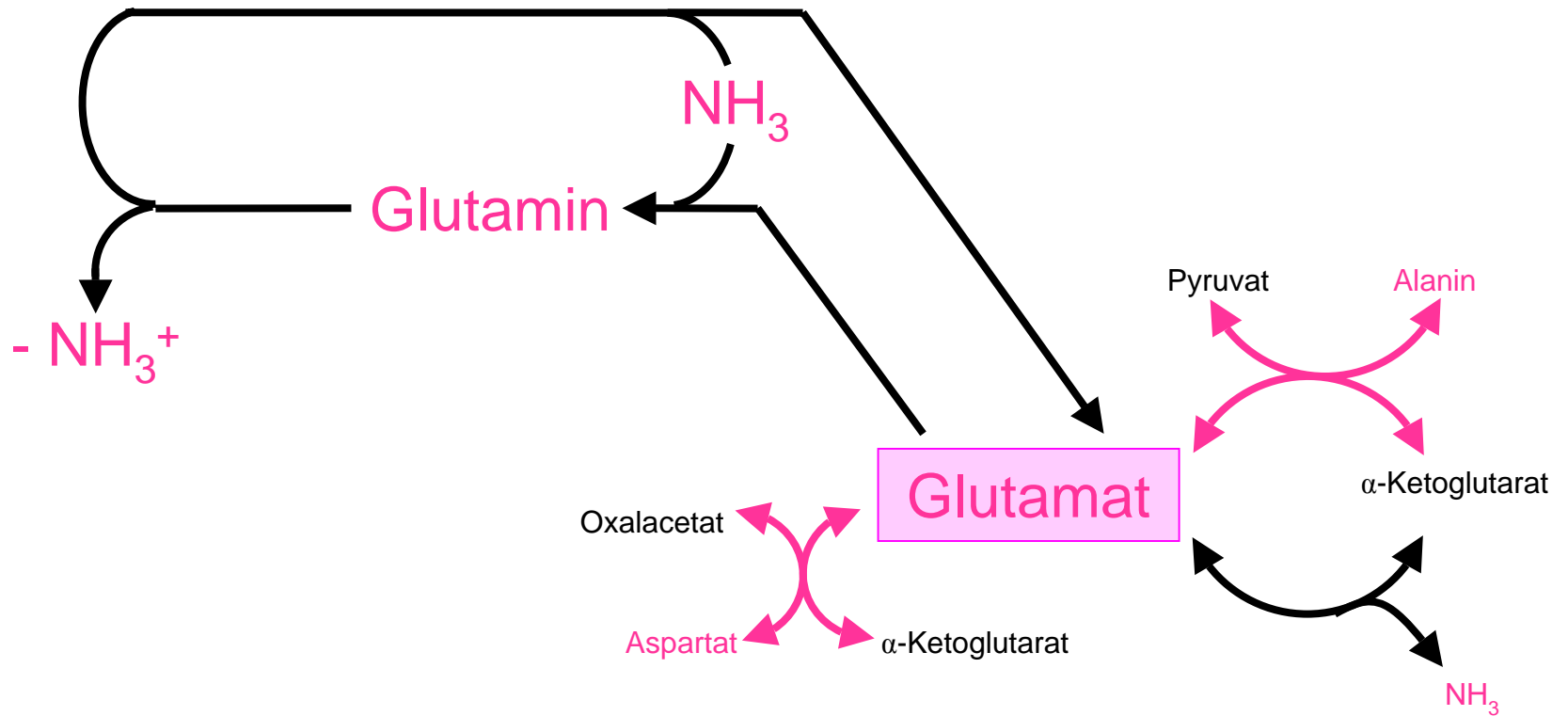


Transaminierung ist eine durch *Aminotransferasen* katalysierte und vollständig reversible Reaktion, bei der eine Aminogruppe von einer Aminosäure (Ketosäure) auf eine Ketosäure (Aminosäure) übertragen wird.

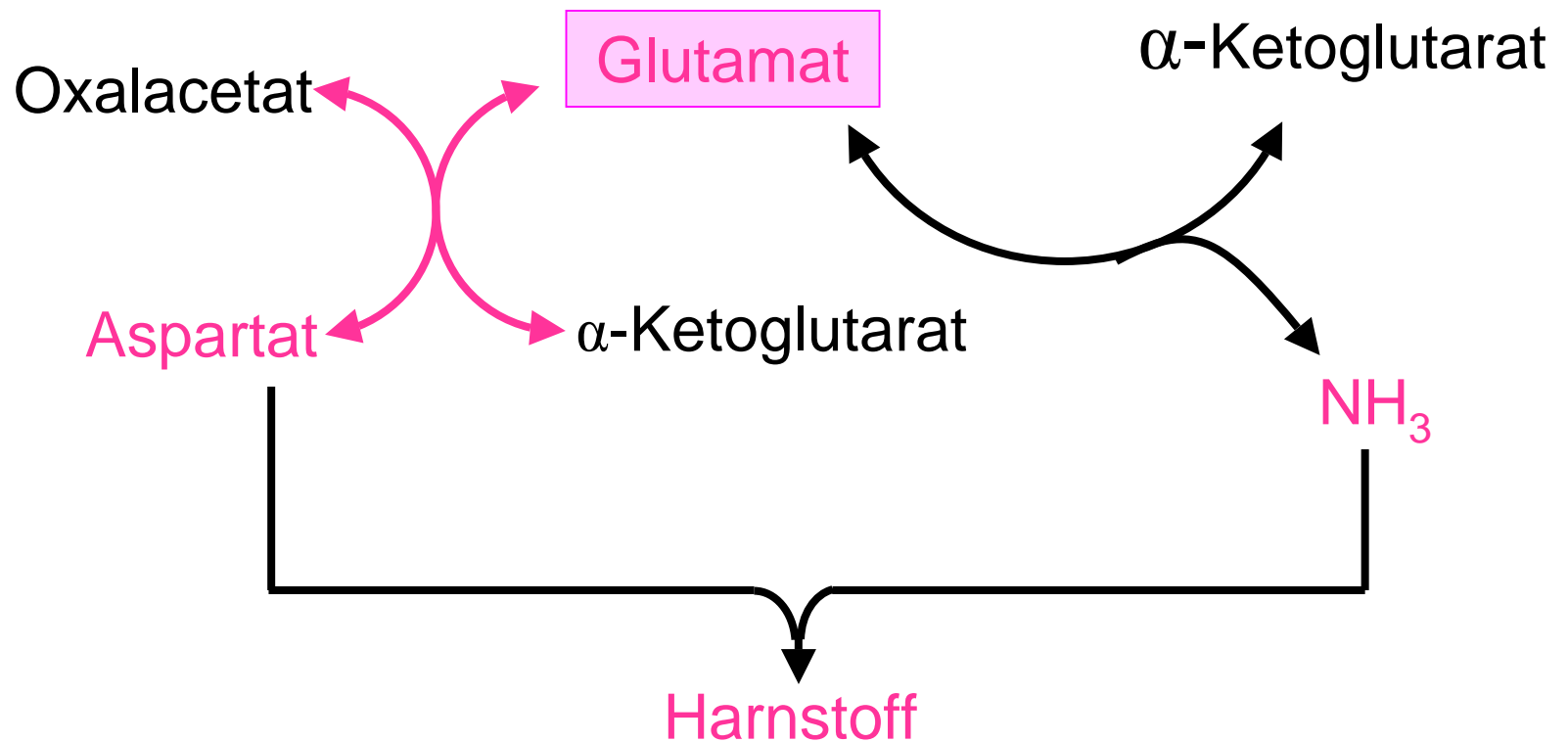
Oder die Aminogruppe wird auf die α -Ketosäure Oxalacetat unter Bildung der Aminosäure Aspartat übertragen, dessen Aminostickstoff für zahlreiche Biosynthesen und v.a. für die Bildung von Harnstoff verwendet wird

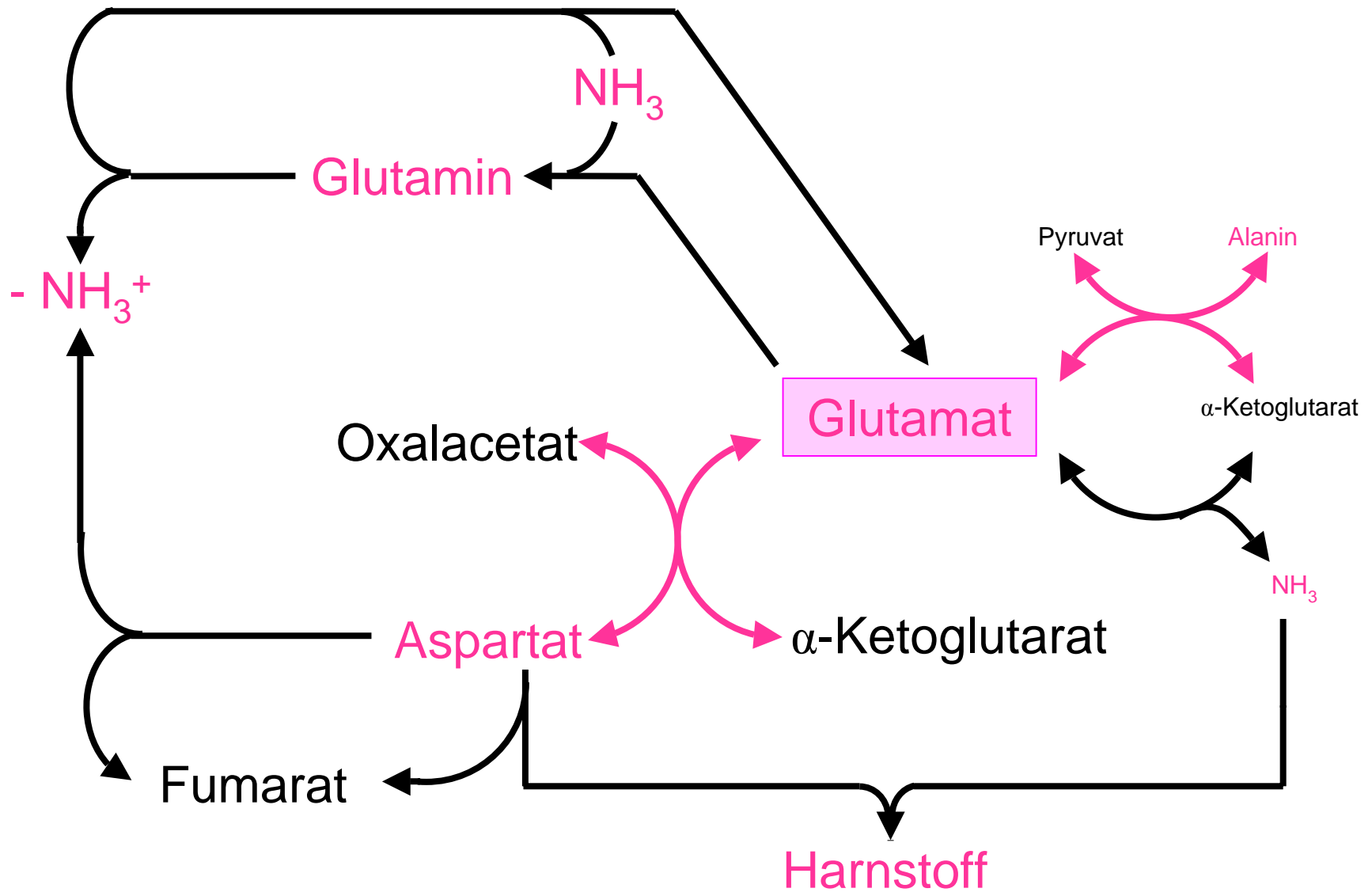


Durch Fixierung von Ammoniak an Glutamat bildet sich Glutamin (wirkt ebenfalls als Aminostickstoffdonator bei Biosynthesen und beim Stickstofftransport im Blutplasma)



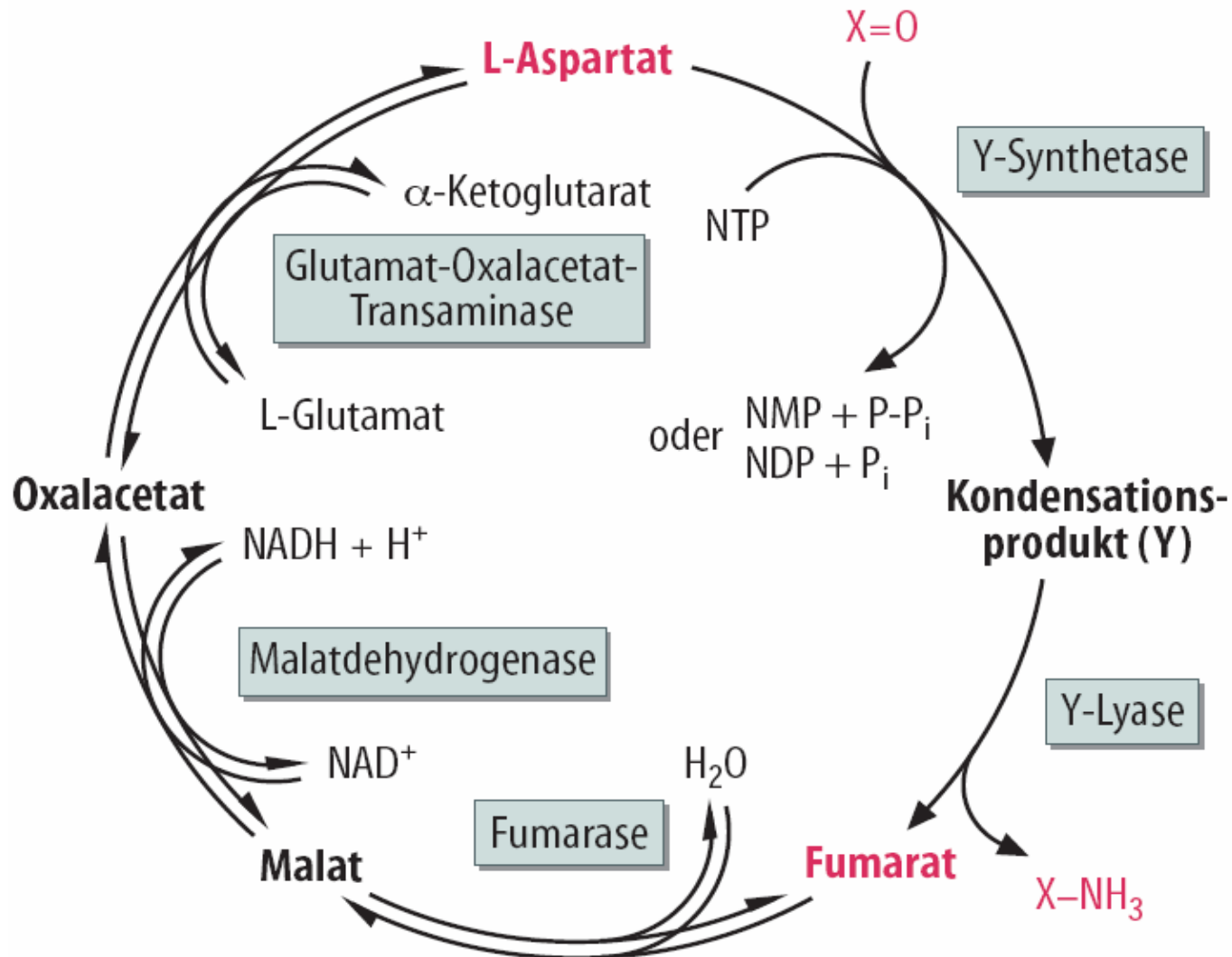
Aus Glutamat kann überschüssiges Ammoniak durch Desaminierung freigesetzt werden, welches bei der Harnstoffbildung benötigt wird.





Übertragung der Aminogruppen durch den Aspartatzyklus

Aspartatzyklus



- Im **Aspartatzyklus** werden die Aminogruppen von der Aminosäure Aspartat unter Bildung eines zwischenzeitlichen Kondensationsproduktes auf Ketoverbindungen übertragen.
- Neben der aminierten Verbindung entsteht auch Fumarat, welches über Malat und Oxalacetat durch Enzymreaktionen und unter Gewinn eines Reduktionsäquivalent ($\text{NADH} + \text{H}^+$) wieder zu Aspartat regeneriert werden kann.

Möglichkeiten der Ammoniakfreisetzung:

- Im Aspartatzyklus durch Hydrolyse des Kondensationsproduktes
- Durch enzymatische Überführung der Aminosäuren (und anderen stickstoffhaltigen Verbindungen) in ein Produkt, das durch Wasser leicht angegriffen werden kann (C=N Bindung)
- Bei den Aminosäuren Serin, Threonin, Cystein, Histidin und Homoserin über den irreversiblen Prozess der Pyridoxalphosphat-abhängigen Eliminierung (Nichtdehydrierende Desaminierung).
- Durch hydrolytischen Abbau der Pyrimidine und Purine
- Durch Aminosäureoxidasen (in Leber und Niere) werden Aminosäuren irreversibel durch Dehydrierung desaminiert.

Ammoniaktransport

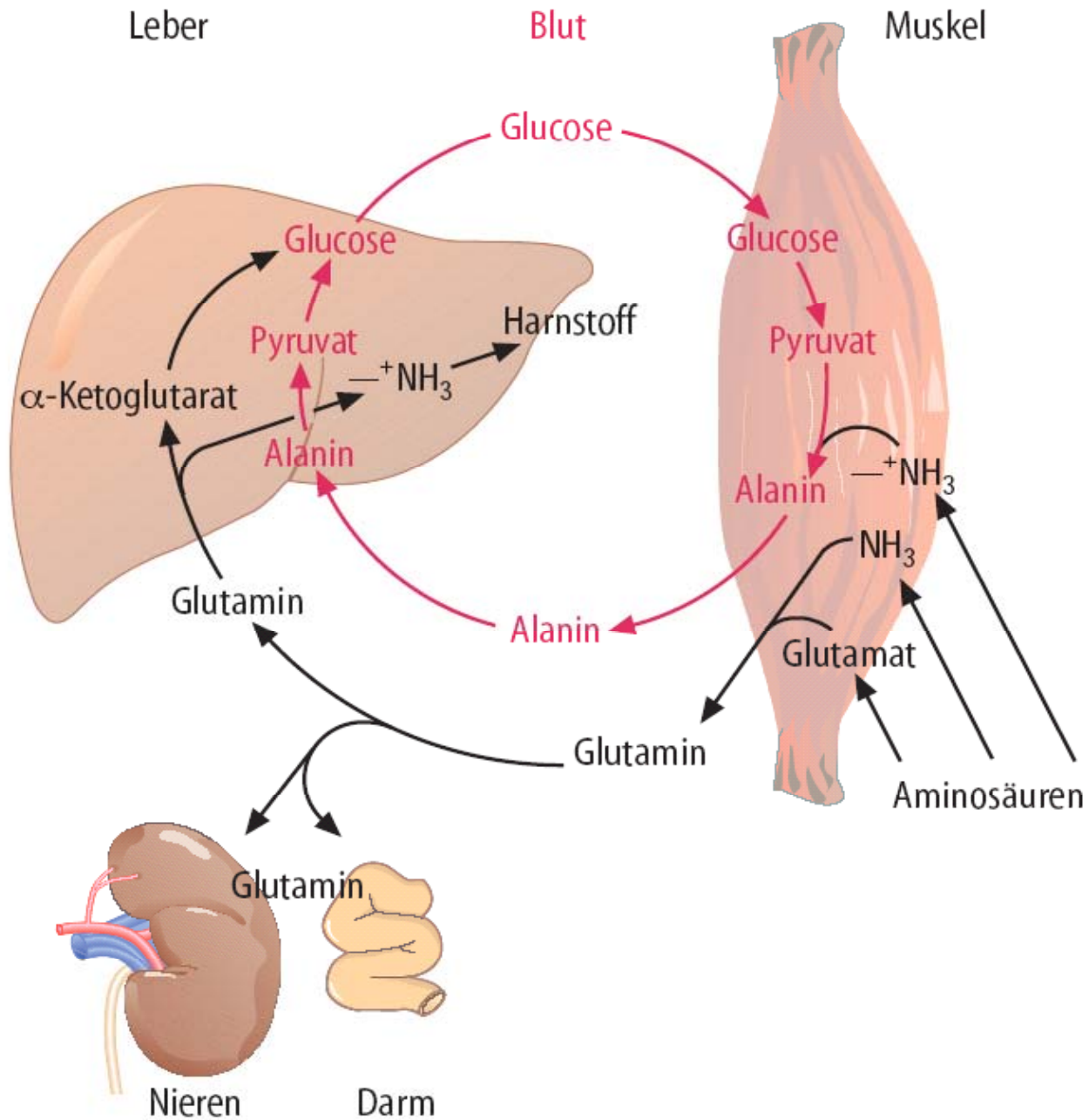
Alle Organe besitzen einen mehr oder weniger intensiven Aminosäurestoffwechsel, jedoch nur die Leber ist imstande, mit Hilfe der Harnstoffbildung überschüssiges Ammoniak zu entgiften.

Aus diesem Grund wird Ammoniak in Form von Alanin und Glutamin im Blutplasma von den peripheren Organen zur Leber transportiert.

Das zur Bildung von Alanin benötigte Pyruvat stammt aus dem Glucoseabbau (Glykolyse). In der Leber wird das Kohlenstoffskelett von Alanin zur Glucoseneubildung, der Aminostickstoff zusammen mit Bicarbonat und Energie zur Harnstoffsynthese verwendet (Glucose-Alanin-Zyklus).

Das Kohlenstoffgerüst des freigesetzten Glutamins hingegen stammt aus Aminosäuren, und zwar hauptsächlich aus Glutamat und Aspartat.

Der Großteil des Glutamins wird nicht wie Alanin in der Leber sondern von Darm- und Nierenzellen aufgenommen.



Ammoniakstoffwechsel von Leber, Gehirn und Nieren

Eine zentrale Bedeutung im Stoffwechsel der Aminosäuren besitzt die Leber, da nur sie die enzymatische Ausstattung für eine vollständige Biosynthese von Harnstoff aus Ammoniak und Bicarbonat besitzt.

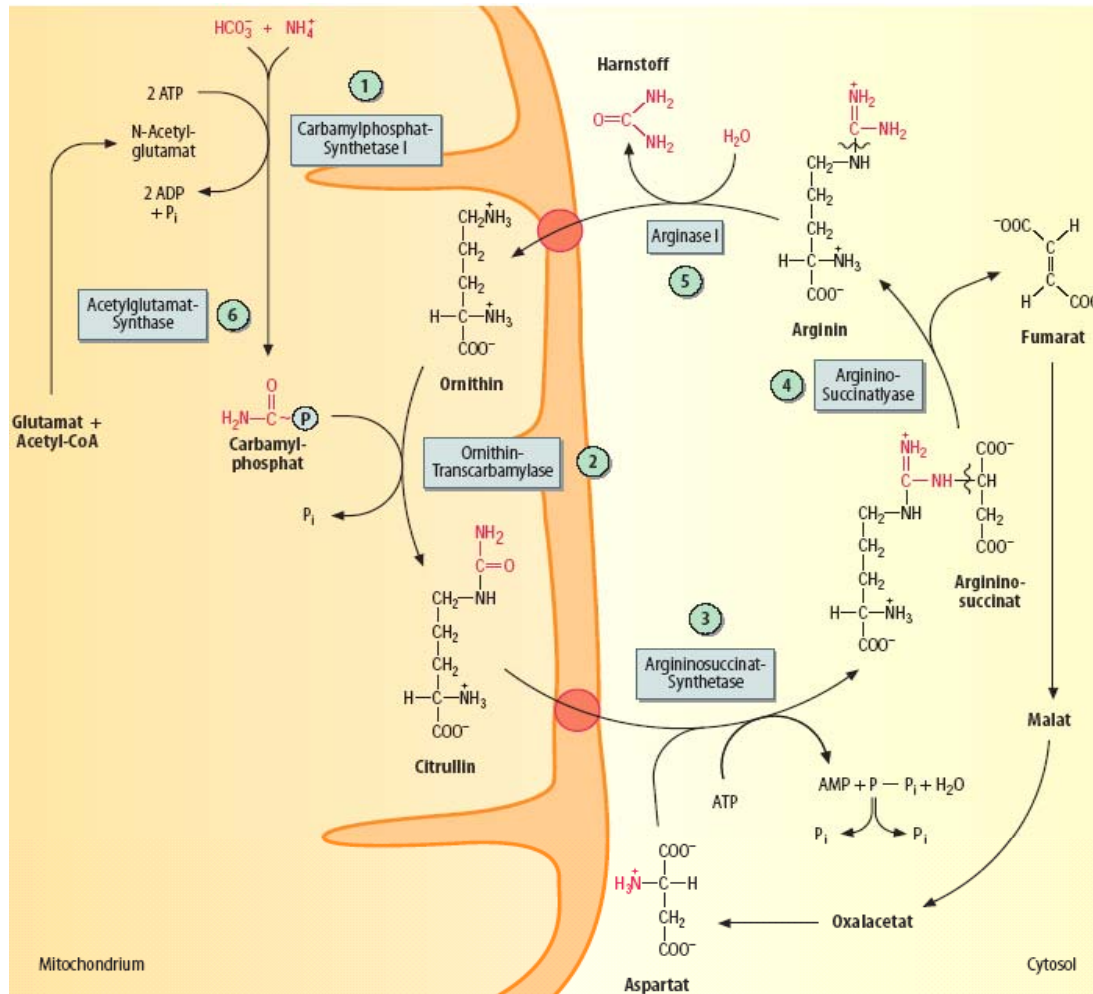
Die Synthese von Harnstoff erfolgt deshalb, weil Ammoniak eine äußerst toxische Substanz darstellt.

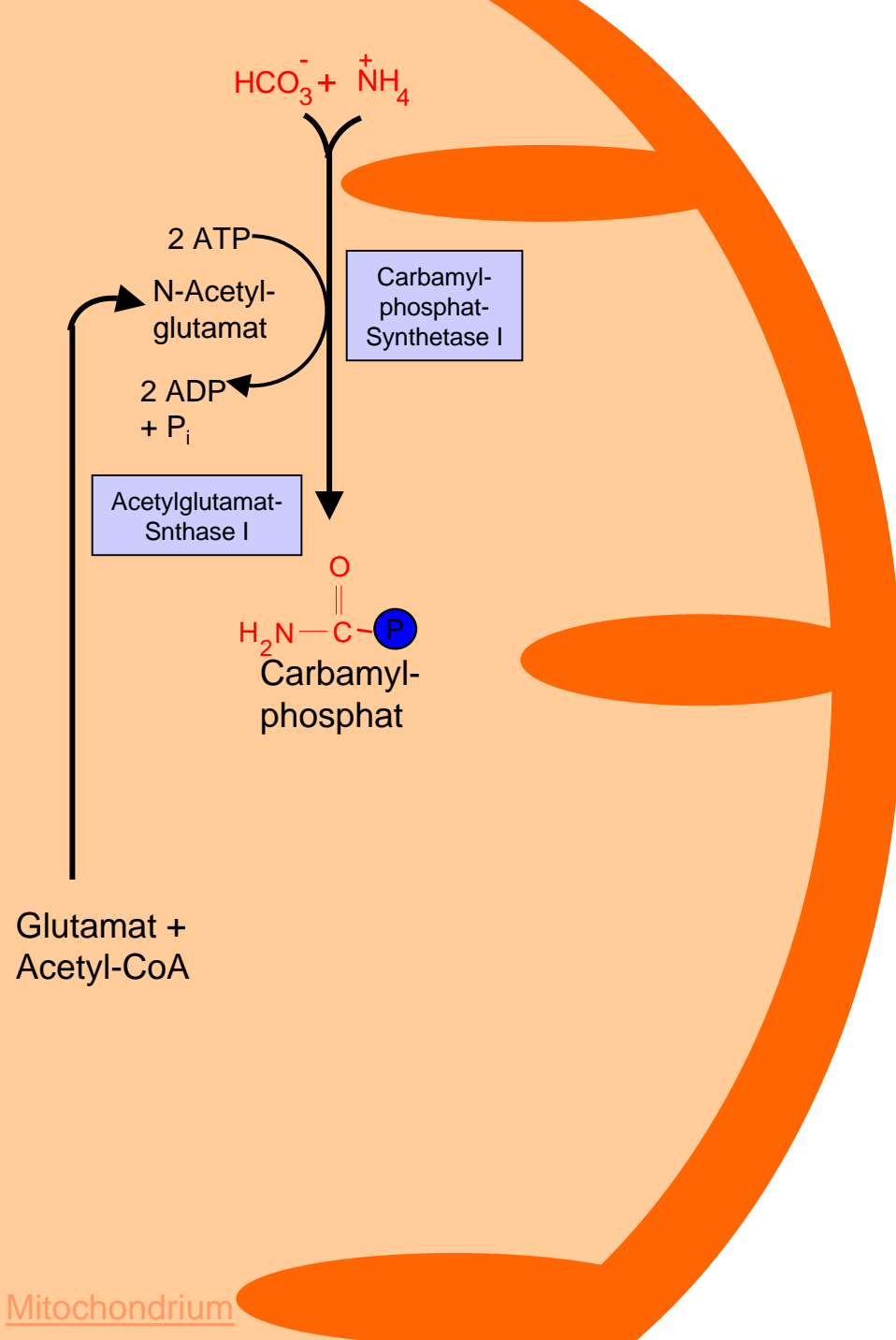
Eine 70kg schwere Normalperson bildet täglich etwa 30 g Harnstoff.

Somit steht die Harnstoffbildung im Vergleich zur Biosynthese anderer Stoffe quantitativ an erster Stelle.

Harnstoffsynthese (Krebs-Henseleit-Zyklus):

Die Harnstoffsynthese läuft in einem auf zwei Zellkompartimente verteilten Zyklus ab. Die ersten beiden Schritte finden im Mitochondrium, die übrigen im Cytosol ab.

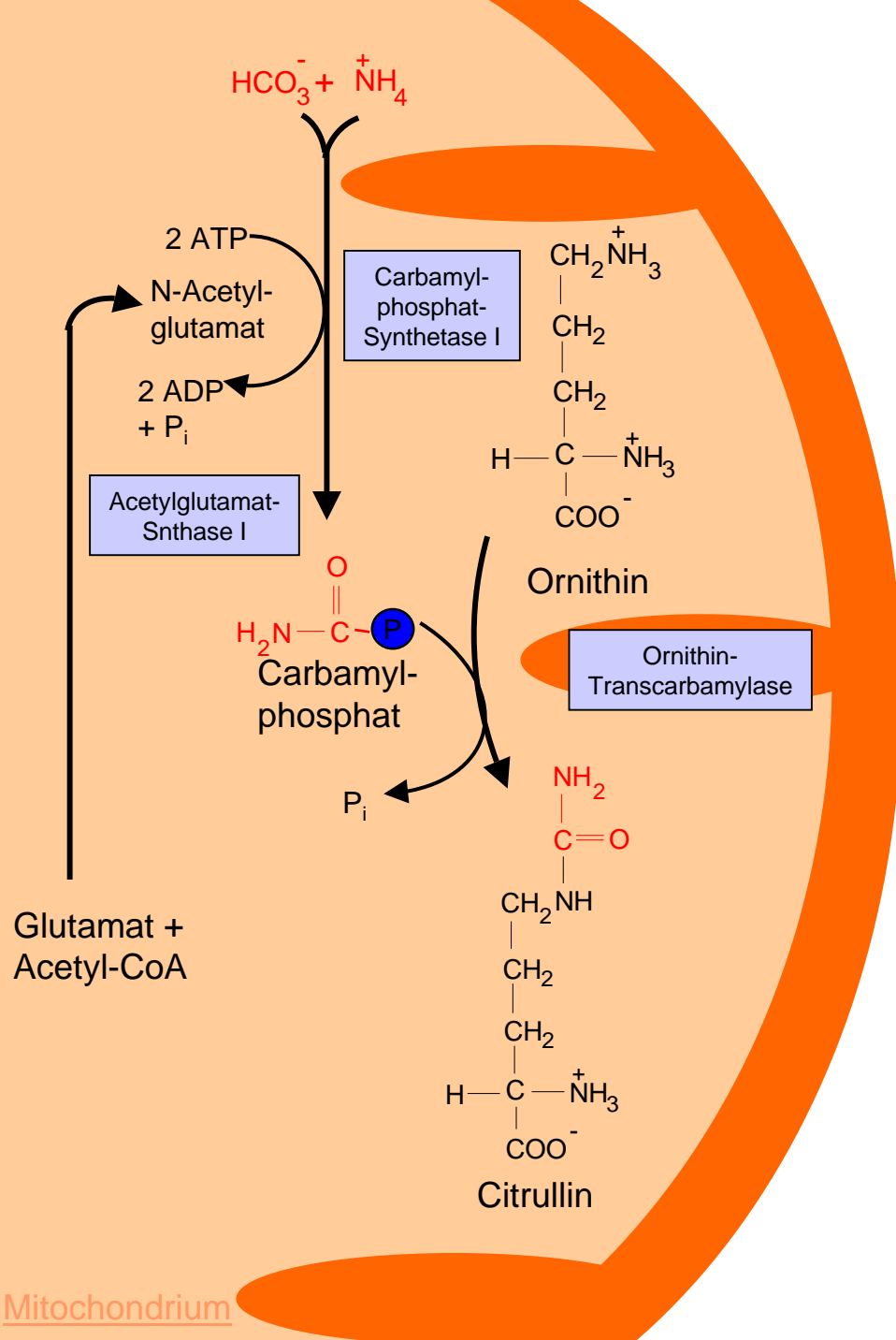




1. Schritt: (im Mitochondrium)

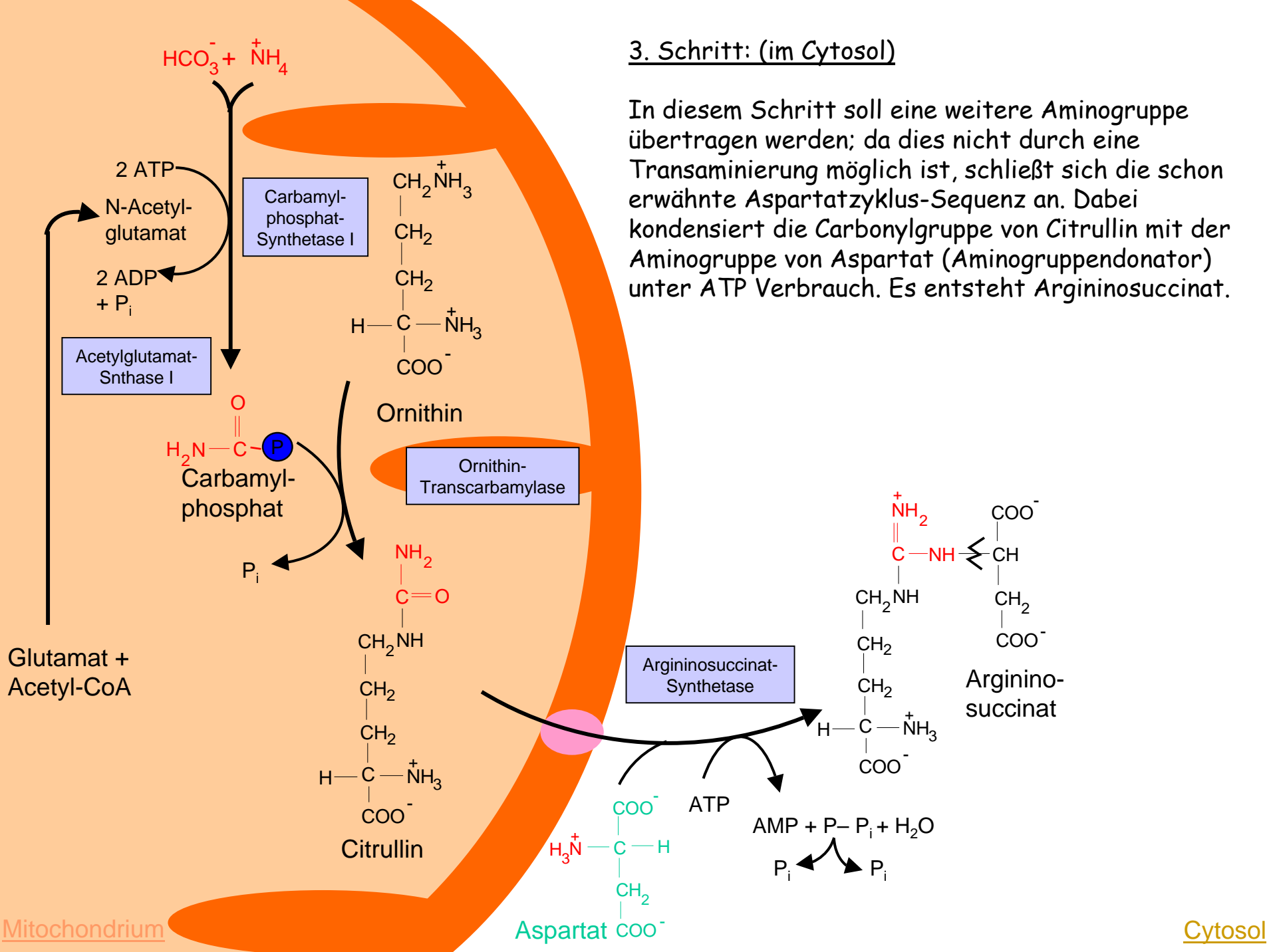
Durch das Enzym *Carbamylphosphat-Synthetase I* wird unter Verbrauch von zwei Molekülen ATP aus Bicarbonat und Ammoniak Carbamylphosphat gebildet. Unentbehrlicher Cofaktor dieser irreversiblen Reaktion ist *N-Acetylglutamat*, das wahrscheinlich als allosterischer Aktivator wirkt

Da die Mitochondrienmembran zwar für CO_2 , nicht jedoch für Bicarbonat (HCO_3^-) permeabel ist, muss CO_2 zunächst durch eine Carboanhydrase in Bicarbonat überführt werden.



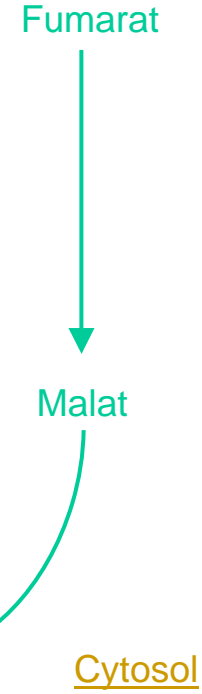
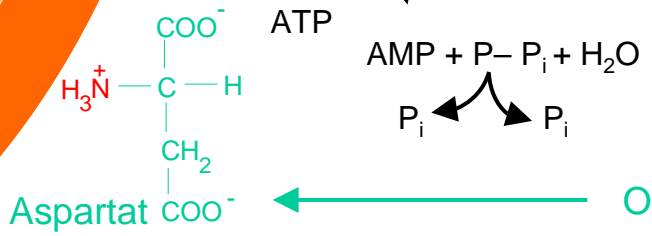
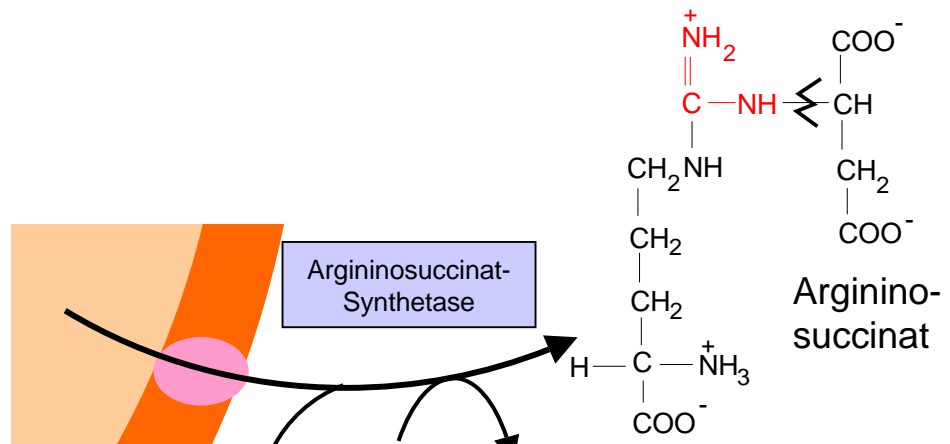
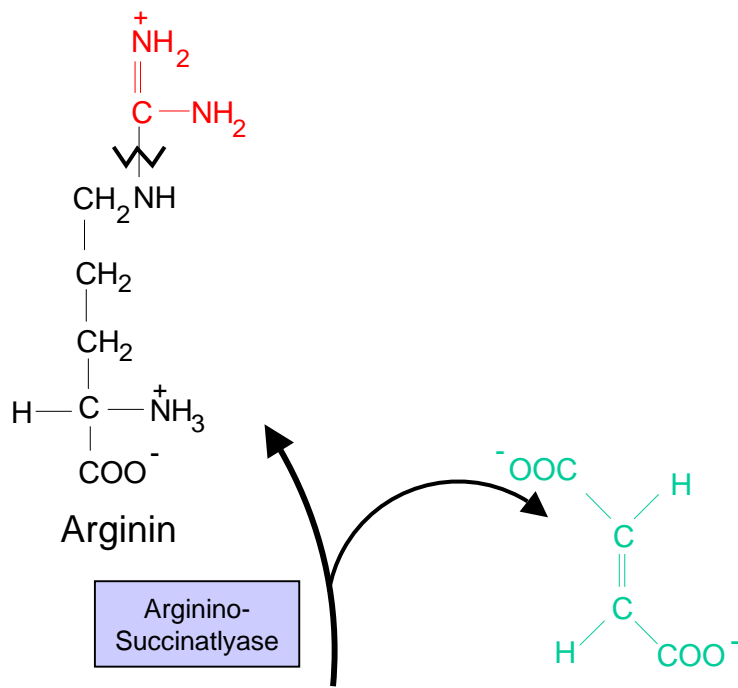
2. Schritt: (im Mitochondrium)

Der Carbamylrest ($\text{NH}_2\text{-CO-}$) wird auf ein Trägermolekül (Ornithin) übertragen. Dabei entsteht Citrullin (ebenfalls eine nicht proteinogene Aminosäure) und anorganisches Phosphat.



4.Schritt: (im Cytosol)

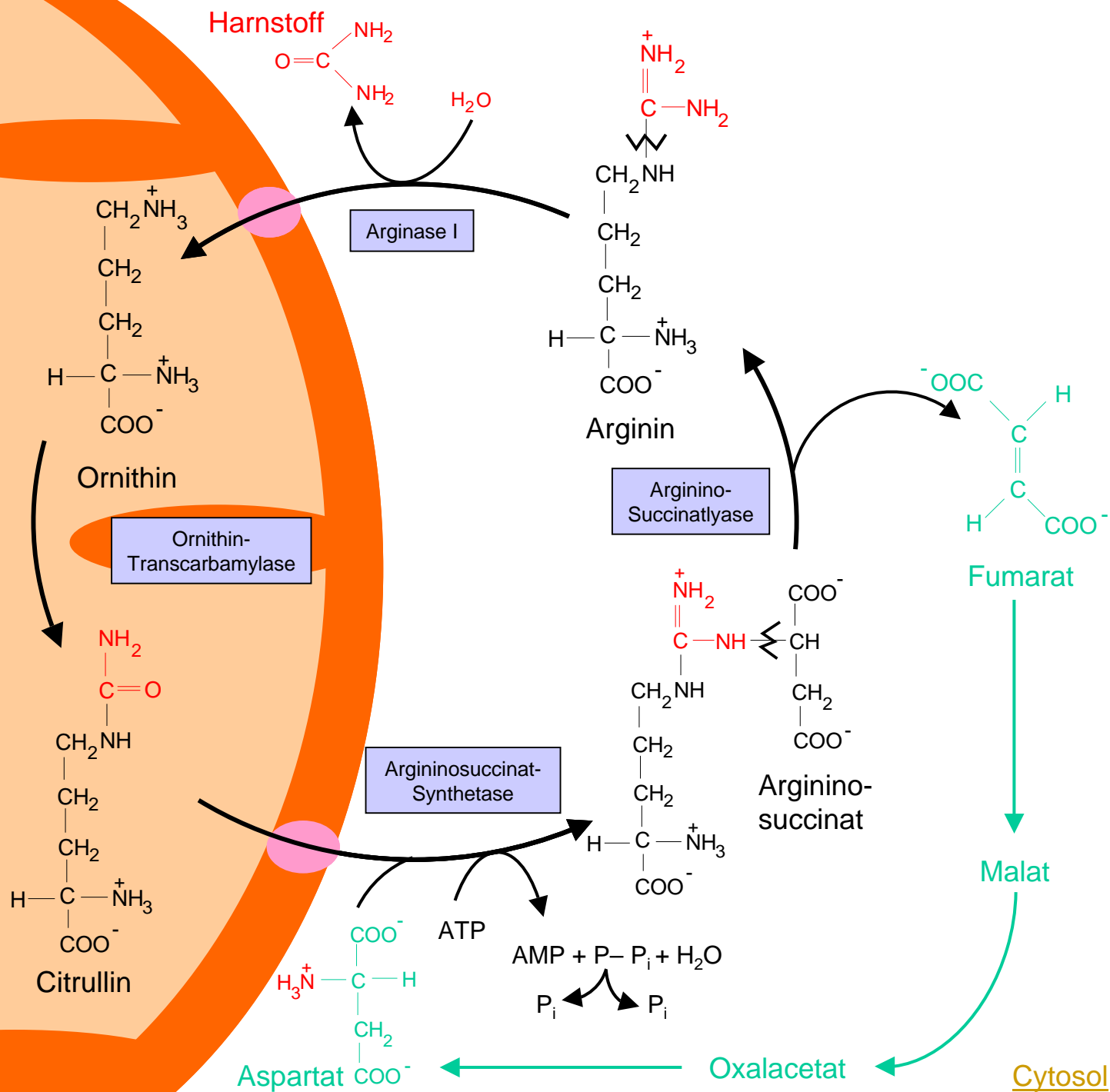
Die C-N Bindung wird reversibel gespalten und es entstehen die Produkte Fumarat und die proteinogene Aminosäure Arginin.

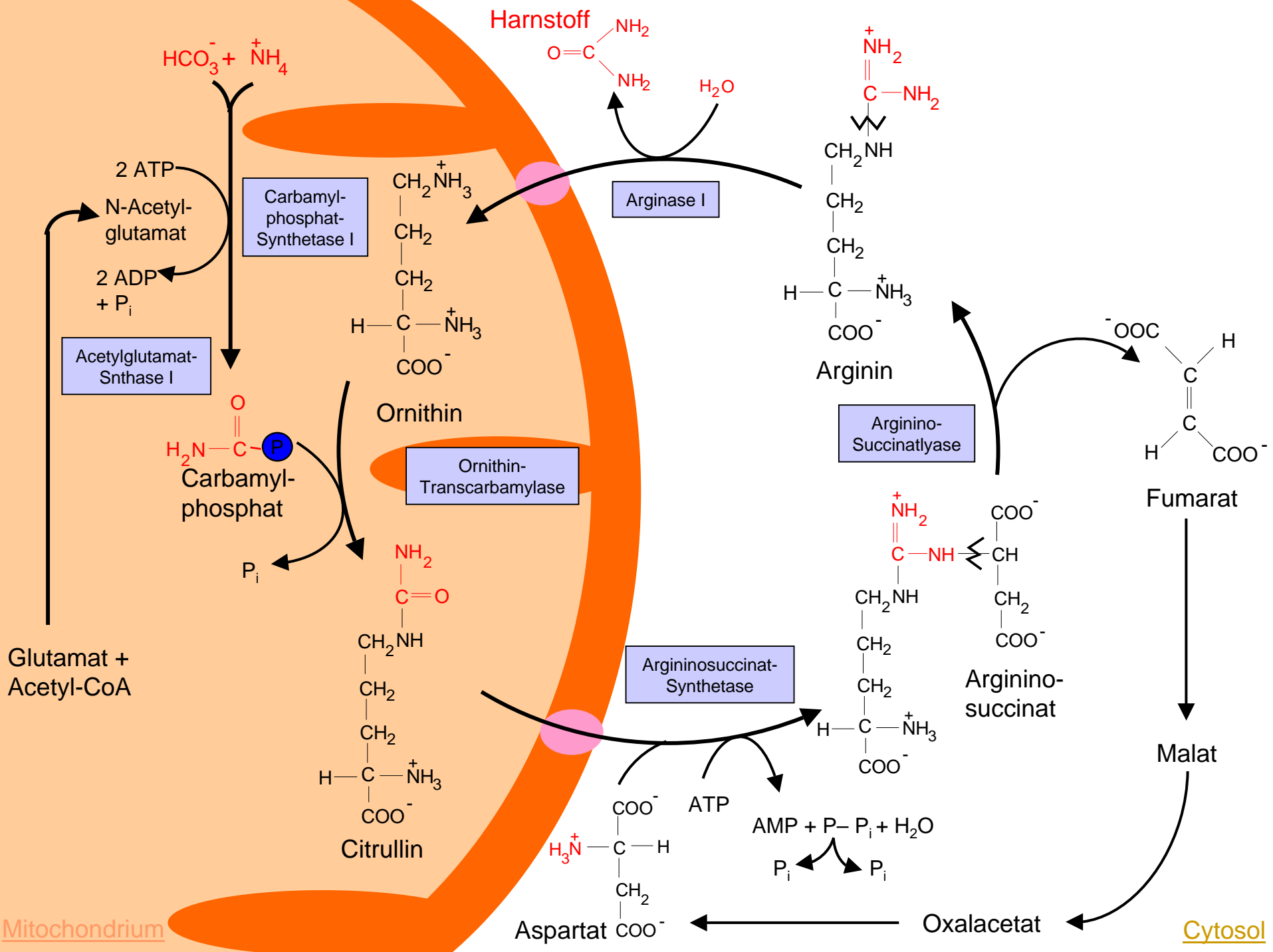


Mitochondrium

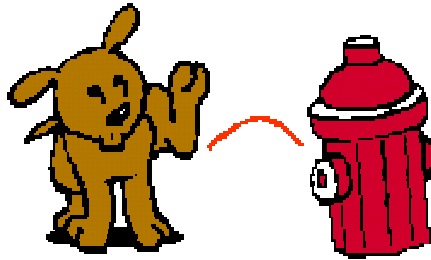
5. Schritt: (im Cytosol)

Der Kreisprozess der Harnstoffbiosynthese wird durch die hydrolytische Abspaltung der Guanidinogruppe von Arginin geschlossen. Dabei entstehen Harnstoff und Ornithin. Ornithin wird durch den Ornithincarrier wieder ins Mitochondrium zurücktransportiert und dient dort wieder als Trägermolekül.





Der in der Leber gebildete Harnstoff tritt ins Blut über und wird von den Nieren in den Urin ausgeschieden.



Energiebilanz des Harnstoffzyklus

Die Energiebilanz wird durch die Kopplung mit dem Aspartatzyklus bestimmt.

Zur Berechnung ist entscheidend, ob der verwendete Stickstoff vorwiegend covalent gebunden (d.h. als Aminogruppe in Alanin, Aspartat oder Glutamat) oder in freier Form (als Ammoniak) vorliegt, da die Fixierung von Ammoniak zur Glutamat- und Aspartatbiosynthese energieabhängig ist

Für die Biosynthese eines Harnstoffmoleküls aus einem Molekül Ammoniak und der α -Aminogruppe von Aspartat werden im Harnstoffzyklus **drei** Moleküle ATP verbraucht, von denen zwei in ADP und Pi und eines in AMP und Pyrophosphat gespalten werden.

Da eine Pyrophosphatase das entstandene Pyrophosphat weiter in 2 Pi umwandelt, werden zwar drei Moleküle ATP, jedoch **vier** energiereiche Bindungen (und damit 4 Mol ATP zur Regeneration) benötigt.

Bei der Regeneration von Aspartat aus Fumarat wird ein Reduktionäquivalent und damit **drei** Moleküle ATP gewonnen.

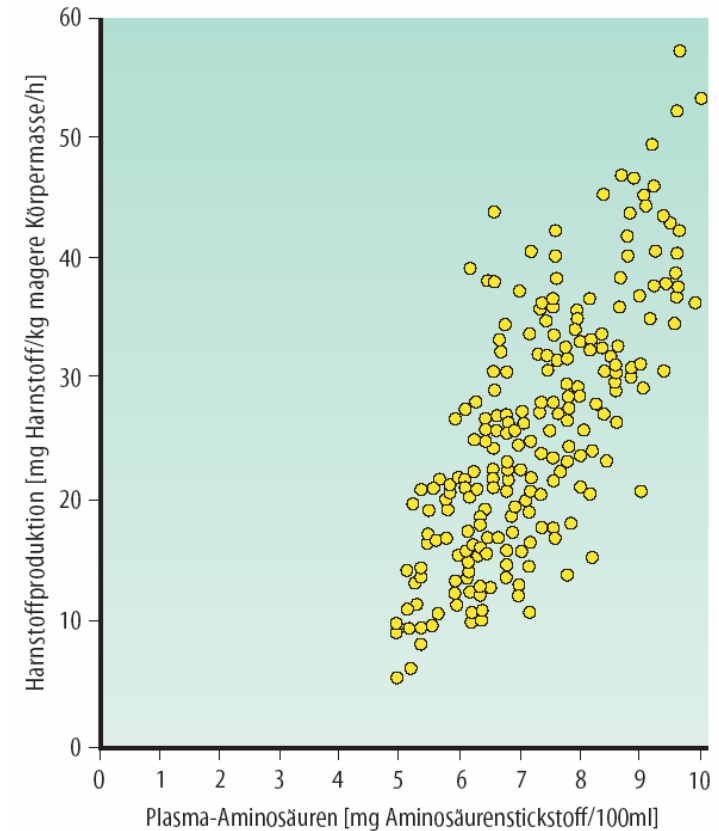
In der Bilanz wird für die Biosynthese von 1 mol Harnstoff aus einem Mol Ammoniak und der Aminogruppe von Aspartat 1 mol ATP verbraucht.

Regulation der Harnstoffsynthese

Die Harnstoffbildung ist proportional zur Aminosäurekonzentration im Blutplasma

Jedoch fällt die Harnstoffbildung proportional stärker als die Aminosäurekonzentration ab

Sie beträgt Null, wenn die Aminosäurekonzentration etwa 4,5 mg/100 ml beträgt (Dadurch wird eine zunehmende Verarmung des Aminosäurepools durch die Harnstoffbildung vermieden)



Harnstoffbildung gesunder Versuchspersonen in Abhängigkeit von der Gesamt-Aminostickstoffkonzentration im Plasma

N- Acetylglutamat spielt eine Schlüsselrolle bei der **schnell wirkenden** Regulation des Harnstoffzyklus

In Abwesenheit von N-Acetylglutamat ist die Carbamylphosphatsynthetase I vollständig inaktiv. Wahrscheinlich führt ein vermehrtes Aminosäurenangebot über eine **rasche Steigerung** des Glutamatspiegels zu einer vermehrten Bildung von Acetylglutamat, das als Signalmetabolit wirkt.

Dagegen nimmt die **Induktion** der Harnstoffzyklusenzyme bei kontinuierlich hoher Proteinzufuhr oder unter dem Einfluss von Glucocorticoiden Stunden bis Tage in Anspruch.

